

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

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

Gómez, M. A.\*; Navarro, J. A.\*; Bernabé, A.\*; Sánchez, J.\*; Carrasco, L.\*\*; Sierra, M. A.\*\*

\* 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 gonadotropas de la «pars distalis» adenohipofisaria 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 gonadotropas (GN) son un 10% del total de células glandulares, y se distribuyen en corte sagital principalmente por la zona anterior, «zona vascular o del sexo», en menor cantidad hacia la porción caudodorsal y son escasas en la porción ventral. En corte transversal, su distribución es periférica. El tamaño medio estimado de las células marcadas con anti-LHh es de 13,98  $\mu\text{m}$  y para las marcadas con anti-FSHh es de 14,89  $\mu\text{m}$  en machos y de 14,53  $\mu\text{m}$  en hembras. Con el microscopio electrónico se han diferenciado tres tipos celulares según el tamaño y electrodensidad de los gránulos de secreción esféricos, y el grado de dilatación del retículo endoplásmico granular. La célula GN I, presenta gránulos muy electrodensos con un tamaño medio estimado de 373 nm en machos y de 436 nm en hembras, y gránulos con contenido finamente granular y moderadamente electrodensos con un diámetro medio de 392 nm en machos y de 362 nm en hembras, junto a una ligera dilatación del retículo endoplásmico. En la célula GN II, los gránulos son muy electrodensos y su tamaño medio es de 312 nm en machos y de 338 nm en hembras, presentando a su vez dos subtipos celulares; en el primer subtipo el retículo endoplásmico está constituido por pequeñas vesículas distribuidas por todo el citoplasma, en tanto que el segundo presenta grandes dilataciones cisternales intercomunicadas.

*Palabras clave:* Células Gonadotropas. «Pars distalis». Adenohipofisis. Inmuncitoquímica. Ultraestructura. Cabritos.

**SUMMARY**

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

Gonadotropic cells are a 10% and are distributed more frequently in sagittal section by the anterior area (vascular or sex zone), whereas are less common towards the caudodorsal region and are scarce in the ventral region; in trasversal sections they are distributed peripherically. Mean cell size of cells labelled with anti-LHh is 13,98  $\mu\text{m}$  whereas with anti-FSHh is 14,89  $\mu\text{m}$  in males and 14,53  $\mu\text{m}$  in females. With electron microscopy three cellular types have been differentiated according to size and electrodensity of granules and degree of development of granular endoplasmic reticulum. Type I cell shows very electrodense granules with a mean size of 373 nm in males and 436 nm in females, and others with a fine granular content which is moderately

electrodense and a mean diameter of 392 nm in males and 362 nm in females; endoplasmic reticulum is slightly dilated. Type II cell has very electrodense granules with a mean size of 312 nm in males and 338 nm in females; two subtypes can be distinguished, one with the granular endoplasmic reticulum made up of small vesicles distributed by the whole cytoplasm, the other with large cisternal intercommunicated dilatations. All granules found in gonadotropic cells are spherical.

*Key-words:* Gonadotropic cells. Adenohypophysis. «Pars distalis». Immunocytochemical. Ultrastructure. Kids.

## INTRODUCCIÓN

La secreción de las dos hormonas gonadotróficas LH y FSH ha estado supuestamente localizada en distintas células (WARBRITTON y MCKENZIE, 1937; HERLANT, 1960, 1963, 1973). BARNETT et al., ya habían sugerido en el año 1956 que dichas hormonas se encontraban en la misma célula y esta hipótesis la corroboran hoy día numerosos trabajos con inmunocitoquímica en la rata (INOUE y KUROSUMI, 1984; NAKAMURA et al., 1985), en el cerdo (DACHEUX, 1978, 1981), en ovino (DACHEUX y DUBOIS, 1978), en el perro (EL ETREBY y EL BAB, 1977), en el hombre (GROSS, 1984; VAN NOORDEN et al., 1986), en monos (HALMI, 1981; GIROD et al., 1981), en el murciélago (RICHARDSON, 1981) y en otros vertebrados no mamíferos (BEAUVILLAIN et al., 1975; ZUBER-VOGELI y LEMIRE, 1982). Sin embargo, hay un desacuerdo en la existencia de células que sólo contienen una hormona, para unos LH (BATTEN y HOPKINS, 1978; RICHARDSON, 1981; DADA et al., 1983, 1984; GROSS, 1984; GROSS et al., 1984), para otros, LH y FSH (MORIARTY, 1975; CHILDS et al., 1980; NAKAMURA et al., 1985; VAN NOORDEN et al., 1986); y por último, sólo FSH (OSAMURA, 1983). Para algunos autores la existencia de sólo FSH o sólo LH se debe a una baja concentración de la hormona, por lo que no es detectable inmunocitoquímicamente (NAKANE, 1975; EL ETREBY y EL BAB, 1977;

DACHEUX, 1978; TOUGARD et al., 1980); para DACHEUX (1981) en el cerdo, además de ello los factores liberadores de FSH y LH son los mismos. Por otra parte, algunos autores observan que ambas hormonas están en el mismo gránulo (BATTEN y HOPKINS, 1978) y otros, en distintos (INOUE y KUROSUMI, 1984).

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

## MATERIAL Y MÉTODOS

La metodología es similar a la empleada para el estudio de las células ACTH (GÓMEZ et al., 1988) con la variación en la dilución para cada hormona y el tiempo de incubación (cuadro 1).

## OBSERVACIONES

### Estudio estructural

Las células gonadotropas de los cabritos son basófilas, PAS positivas, Azul Alcian positivas, y con el tetracromo de Herlant toman una coloración azul claro (figs. 1-5, 12-16).

Estas células representan el 10% del total de

CUADRO 1  
ANTISUEROS, DILUCIONES Y TIEMPOS DE INCUBACIÓN UTILIZADOS PARA EL INMUNOMARCAJE DE LAS CÉLULAS GONADOTROPAS EN CORTES EN PARAPLAST

ANTISUERO	DILUCIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN
Anti-FSH humana (DAKO)	1:250	3 horas t. <sup>a</sup> ambiente
	1:500	4 horas t. <sup>a</sup> ambiente
Anti-LH humana (DAKO)	1:250	3 horas t. <sup>a</sup> ambiente
	1:500	4 horas t. <sup>a</sup> ambiente

las células glandulares y se distribuyen por toda la «pars distalis», encontrándose en corte sagital más numerosas en la porción anterior, zona vascular o «zona del sexo», así como en la porción dorsocaudal (figs. 6, 7). En corte transversal, las células marcadas con suero anti-FSHh se localizan periféricamente y en la zona ventral, en tanto que las células marcadas con suero anti-LHh, menos numerosas, lo hacen principalmente en la porción dorsal (figs. 17, 18).

Los dos tipos celulares presentan una forma poliédrica, a veces triangular, alargada o estrellada, generalmente aisladas (figs. 8, 11, 20, 23) y, en porciones craneales, agrupadas en número de tres o más células (figs. 9, 19).

El tamaño medio estimado de las células inmunoteñidas con suero anti-FSHh (GN I) es de 14'89  $\mu\text{m}$  en los machos, pudiendo llegar hasta los 22'36  $\mu\text{m}$ , y de 14'53  $\mu\text{m}$  (máx. 22'36  $\mu\text{m}$ ) en las hembras. Para las células marcadas con suero anti-LHh (GN II), el tamaño medio es de 13'98  $\mu\text{m}$  y pueden llegar a medir 21'83  $\mu\text{m}$  en los machos y 22'39  $\mu\text{m}$  en las hembras (cuadro 2).

El núcleo es esférico y grande, con la cromatina distribuida por el nucleoplasma a modo de gruesos grumos y asociada a la envoltura nuclear; tiene un tamaño medio estimado en las células marcadas con suero anti-FSHh (GN I) de 7'97  $\mu\text{m}$ , alcanzando los 11'26  $\mu\text{m}$ , en los machos y de 7'64  $\mu\text{m}$ , hasta los 11'34  $\mu\text{m}$ , en las hembras respectivamente; en tanto que para las células marcadas con suero anti LHh (GN II)

el tamaño es de 7'31  $\mu\text{m}$  de media estimada. Con 10'55  $\mu\text{m}$  de máxima, en los machos y de 7'68  $\mu\text{m}$ , con 11'89  $\mu\text{m}$  de máxima, en las hembras (cuadro 2). Generalmente se encuentra en un extremo de la célula y presenta un nucléolo pequeño.

El citoplasma muestra con el PAP una gran variabilidad en la inmunotinción, encontrándose una inmunorreacción desde débil a fuerte, así como la presencia de un halo periférico mucho más teñido y un citoplasma vacuolizado (fig. 21).

#### Estudio ultraestructural

Las células gonadotropas tienen un hialoplasma moderadamente electrodensito, aunque pueden existir células con el hialoplasma más claro.

Hemos diferenciado dos tipos celulares dependiendo de los gránulos de secreción y del desarrollo del retículo endoplásmico granular y, dentro del segundo, dos subtipos por el mayor o menor grado de dilatación de sus cisternas (fig. 24).

#### Gonadotropas tipo I (GN I)

Tienen un núcleo irregular, con tendencia a la esfericidad, pero puede presentarse también, alargado, y a veces con una profunda invaginación. Generalmente, la heterocromatina es escasa y asociada a la envoltura nuclear; el nucléolo es pequeño y reticulado (figs. 25, 26).

CUADRO 2  
DIÁMETROS MEDIOS Y DATOS ESTADÍSTICOS DEL CITOPLASMA Y NÚCLEOS DE LAS CÉLULAS LH Y FSH DE CABRITOS (MACHOS Y HEMBRAS) EN  $\mu\text{m}$

ESTADÍSTICOS	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA. S.	COEF. VARIAC.	ERROR MEDIA	INTERVALO CONFIDENCIAL
Cito	14.89	1.82	12.24	0.06	14.76-15.02
Cél. FSH Macho					
Núcleo	7.97	0.98	12.30	0.03	7.90- 8.04
Cito	14.53	2.45	16.90	0.11	14.31-14.75
Cél. FSH Hembra					
Núcleo	7.64	1.20	15.70	0.05	7.54- 7.75
Cito	13.74	1.95	14.22	0.12	13.50-13.98
Cél. LH Macho					
Núcleo	7.31	0.93	12.78	0.05	7.20- 7.42
Cito	14.22	2.31	16.27	0.17	13.89-14.56
Cél. LH Hembra					
Núcleo	7.68	1.26	16.40	0.09	7.49- 7.86

CUADRO 3  
DATOS ESTADÍSTICOS DE LOS GRÁNULOS DE SECRECIÓN DE LAS CÉLULAS GONADOTROPAS DE CABRITOS (MACHOS Y HEMBRAS) EN  $\mu\text{m}$

ESTADÍSTICOS	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA. S.	COEF. VARIAC.	ERROR MEDIA	INTERVALO CONFIDENCIAL
Elect.	0.373	0.083	22.388	0.0034	0.366-0.380
Macho					
Mod. Elect.	0.392	0.070	17.889	0.0035	0.385-0.399
Cél. GN1					
Elect.	0.436	0.110	25.183	0.0077	0.421-0.451
Hembra					
Mod. Elect.	0.362	0.086	23.779	0.0073	0.348-0.376
Macho	0.312	0.077	24.879	0.0034	0.305-0.318
Cél. GN2					
Hembra	0.338	0.062	18.592	0.0035	0.331-0.345

Lo más característico de estas células es la presencia de dos tipos de granulaciones: unas muy electrodensas, esféricas, con un diámetro medio de 373 nm en los machos (cuadro 3, fig. 36), donde el 86'98% se encuentran entre 175-466 nm y el 13'02% entre 466-660 nm, y de 436 nm en las hembras (cuadro 3, fig. 38), donde el 84'08% se sitúa entre 250-556 nm y el 15'42% entre 556-760 nm, presentando generalmente un estrecho halo claro periférico delimitado por una membrana festoneada; y otras menos electrodensas y contenido finamente granular y homogéneo, con un tamaño medio de 392 nm en los machos (cuadro 3, fig. 37), donde el 91'39% se encuentra entre 255-498 nm y el 8'60% entre 498-660 nm, y de 362 nm en las hembras (cuadro 3, fig. 39), en las que el 83'45% se sitúa entre 210-465 nm y el 15'83% entre 465-635 nm; al igual que ocurría con los gránulos muy electrodensos, éstos también pre-

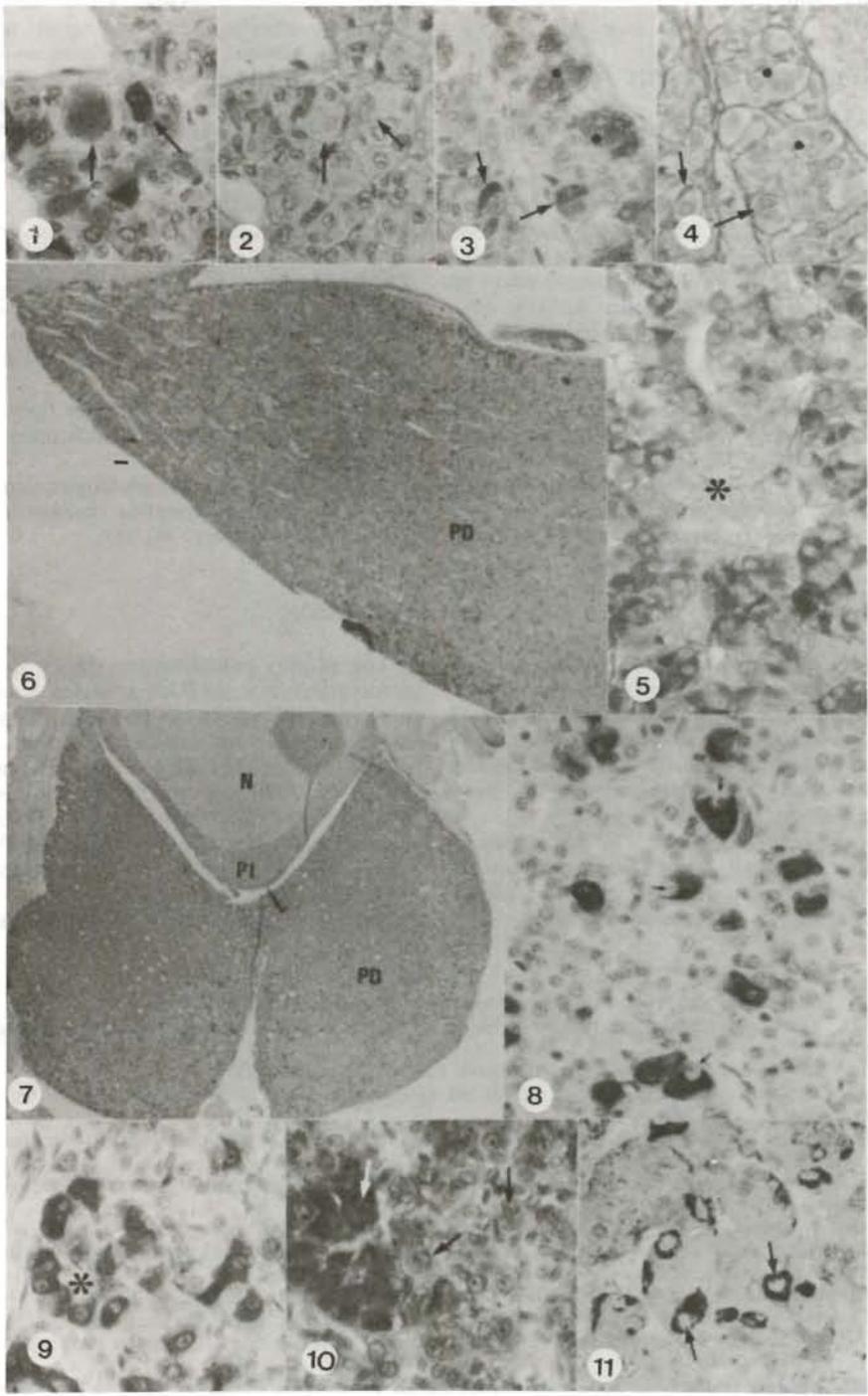
sentan el halo claro y la membrana festoneada (fig. 27). A veces se observan fenómenos de coalescencia granular.

El retículo endoplásmico se encuentra de moderado a ligeramente dilatado y formado por cisternas cortas, a veces interconectadas, o por pequeñas vesículas sin contenido aparente, y con escasos ribosomas adosados a sus membranas (fig. 26).

El complejo de Golgi, no siempre visible, es pequeño o se encuentra escasamente desarrollado (fig. 28).

Las mitocondrias tienen una forma variable, generalmente esférica o globosa, con escasas crestas y la matriz es relativamente electrodensa. El tamaño medio en los machos es de  $0'82 \times 0'54 \mu\text{m}$  y puede alcanzar valores de  $1'98 \times 0'9 \mu\text{m}$ , y en las hembras de  $0'89 \times 0'73 \mu\text{m}$  pudiendo llegar a medir  $1'46 \times 1'37 \mu\text{m}$  (fig. 28).

- FIGURA 1. Células Gonadotropas (GN) marcadas con suero anti-FSHh (flechas). 700 x.  
 FIGURA 2. Corte adyacente al anterior donde las células GN son PAS positivas (flechas). PAS. 700 x.  
 FIGURA 3. Células GN marcadas con suero anti-FSH h (flechas y asterisco). 700 x.  
 FIGURA 4. Corte adyacente al anterior en donde las células marcadas con suero anti-FSHh son Azul Alcian positivas (flechas y asterisco). AA-PAS-OG. 700 x.  
 FIGURA 5. Las células GN se tiñen de coloración azul (asterisco). Cleveland-Wolfe. 700 x.  
 FIGURA 6. Distribución de las células GN marcadas con suero Anti-FSHh en corte sagital. Localización preferente en la porción rostral o «zona del sexo». PD= «pars distalis». 31,5 x.  
 FIGURA 7. Distribución periférica de las células GN marcadas con suero Anti-FSHh en corte transversal. N= Neurohipófisis, PI= «pars intermedia», PD= «pars distalis». 31,5 x.  
 FIGURA 8. Las células marcadas con suero Anti-FSHh de formas muy diversas, y rodeando a otras células no inmunoteñidas (flechas). 700 x.  
 FIGURA 9. Células inmunoteñidas con suero anti-FSHh formando grupos (asterisco). 700 x.  
 FIGURA 10. Inmunotinción doble. Células inmunorreactivas con suero Anti-FSHh y reveladas con DAB de coloración marrón (flecha negra) y células marcadas con suero Anti-GHh y reveladas con EAC (flecha blanca). 700 x.  
 FIGURA 11. Corte semifino marcado con suero anti-FSHh (flechas). 700 x.



Finalmente, también hemos observado en algunas células cilios, lisosomas y cuerpos multivesiculares (fig. 24).

#### Gonadotropas tipo II (GN II)

Estas células se caracterizan por presentar un solo tipo de gránulo, de gran densidad y con un tamaño medio en los machos de 312 nm (cuadro 3, fig. 40), donde el 86'65% se encuentra entre 180-398 nm y el 13'34% entre 398-725 nm, y en las hembras de 338 nm (cuadro 3, fig. 41), donde el 91'86% está comprendido entre 210-426 nm y el 7'82% entre 426-600 nm.

Dentro de este tipo hemos encontrado dos subtipos:

— *Subtipo III* (fig. 29). Presentan un retículo endoplásmico granular dispuesto a modo de cortas cisternas o pequeñas vesículas distribuidas al azar; el complejo de Golgi es prominente y ocupa una gran zona circular próxima al núcleo; las mitocondrias son alargadas o redondas, con escasas crestas, matriz moderadamente electrodensa y un tamaño medio de  $1'02 \times 0'34 \mu\text{m}$  ( $3'68 \times 0'61 \mu\text{m}$ ) en los machos y de  $0'98 \times 0'54 \mu\text{m}$  ( $2'09 \times 0'99 \mu\text{m}$ ) en las hembras; el núcleo es ovoide o esférico, a veces irregular, y con la cromatina adosada a la envoltura nuclear. En el citoplasma pueden encontrarse vacuolas de distinto tamaño que alcanzan los 0'8 ó 1  $\mu\text{m}$  de diámetro y con un contenido finamente granular y moderadamente electrodensa, así como lisosomas de 571 nm o ligeramente menores.

— *Subtipo IIII* (fig. 32). Tienen como característica principal presentar un retículo endoplásmico constituido por cisternas ligeramente dilatadas, y contenido adieletrónico o

moderadamente electrodensa y finamente granular, que pueden llegar a constituir grandes vacuolas interconectadas entre sí, quedando espacios citoplásmicos con gran número de gránulos, aunque en menor número que en el anterior. El complejo de Golgi, próximo al núcleo, es pequeño o se encuentra moderadamente desarrollado. Las mitocondrias, de forma ovoidea, pueden ser cortas o a veces muy alargadas, con crestas perpendiculares y matriz moderadamente electrodensa, aunque en las células con amplias dilataciones del retículo endoplásmico son grandes y globosas. Este tipo celular presenta un gran núcleo, irregular y con variable cantidad de heterocromatina, el nucleolo prominente y reticulado y un elevado número de lisosomas de unos 254 nm de tamaño medio (fig. 33).

Además de estos dos subtipos fundamentales existen otros subtipos transicionales intermedios (figs. 30, 31).

Todas las células gonadotropas tienen, como nexos de unión, pequeños desmosomas entre células vecinas (figs. 34, 35).

#### DISCUSIÓN

Las células gonadotropas de los cabritos se caracterizan por ser PAS positivas o débilmente positivas y Azul Alcian positivas. Con el tetracromo de Herlant toman una coloración azul claro, aunque para BLANCO (1973) en cerdo y MOLINA (1984) en cordero las células FSH se tiñen de azul claro y las células LH de violeta. Sin embargo, para TOUGARD et al. (1980) en la rata, aplicando a la vez técnicas inmunocitoquímicas, todas son azules.

En corte sagital tienden a distribuirse por

FIGURA 12. Células Gonadotropas marcadas con suero anti-LHh (flechas). 700 x.

FIGURA 13. Corte adyacente al anterior en donde las células marcadas con suero Anti-LHh son PAS positivas (flechas). 700 x.

FIGURA 14. Célula GN inmunomarcada con suero Anti-LHh (flecha). 700 x.

FIGURA 15. Corte adyacente al anterior donde las células GN toman una coloración Azul Alcian positiva (flecha). AA-PAS-OG. 700 x.

FIGURA 16. Con el tetracromo de Herlant las células GN toman una coloración azul violácea. «Zona del sexo». Tetracromo de Herlant. 700 x.

FIGURA 17. Distribución de las células marcadas con suero anti-LHh en la porción rostro-dorsocaudal en corte sagital. PD= «pars distalis». 31,5 x.

FIGURA 18. Distribución en corte transversal de las células marcadas con suero Anti-LHh, en la porción dorsal (flecha gruesa), presentando mayor inmunotinción en las porciones periféricas de los lóbulos laterales (flechas pequeñas). PI= «pars intermedia», PD= «pars distalis». 31,5 x.

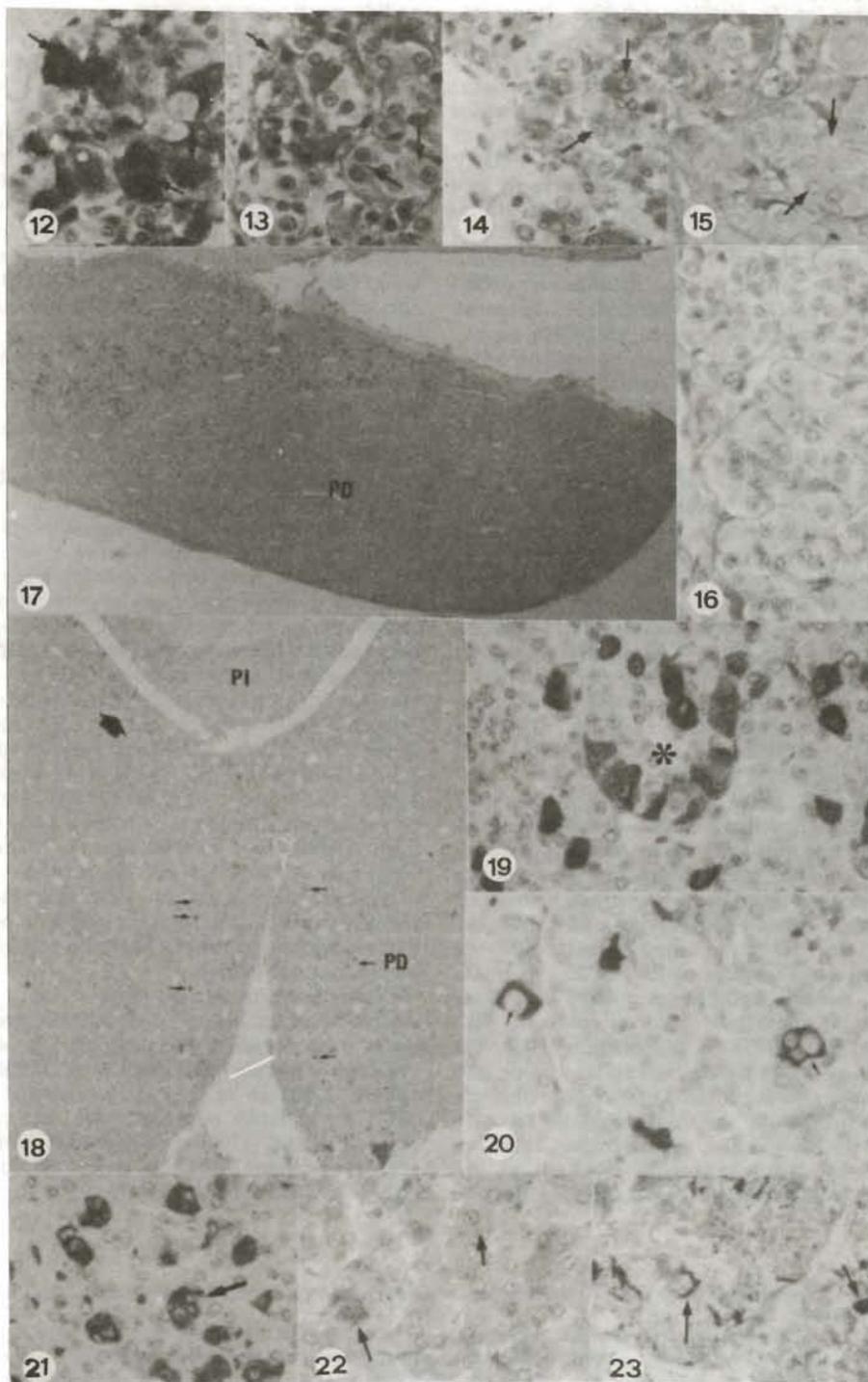
FIGURA 19. Grupo de células GN inmunoteñidas con suero Anti-LHh (asterisco). 700 x.

FIGURA 20. Células GN marcadas con suero Anti-LHh rodeando a células (flechas). 700 x.

FIGURA 21. Células GN inmunoteñidas con suero Anti-LHh presentando el citoplasma vacuolizado (flechas). 700 x.

FIGURA 22. Doble inmunotinción con sueros Anti-FSHh y Anti-LHh donde se observa una coloración que resulta de la mezcla de ambos reveladores (DAB y AEC). 700 x.

FIGURA 23. Corte semifino inmunoteñido con suero Anti-LHh. 700 x.



toda la pars distalis, pero tienen tendencia a acumularse en la porción anterior, concretamente en la «zona vascular» o «zona del sexo», lo que coincide con las observaciones de la mayoría de los autores. En el resto de la glándula, DADA et al. (1984) en la rata no encuentran diferencias significativas entre la región dorsal y la ventral, mientras que OSAMURA (1983) y GIROD (1984) observan un incremento de gonadotropas en la región dorsal. En cortes transversales, nosotros hemos visto que los elementos celulares que reaccionan fuertemente con el suero anti-FSHh se localizaban preferentemente en las zonas periféricas, mientras que los marcados con suero anti-LHh se encontraban en la región dorsal, aunque se aprecian ambas en la porción central, pero en menor número las LH, mientras que SINGH y DHINGRA (1979) sitúan estas últimas en el centro de la glándula.

Representan el 10% del total de células glandulares, porcentaje inferior al encontrado por BERNABÉ et al. (1985) en la rata macho (21%) y MOLINA (1984) en corderos (22%).

Las células gonadotropas presentan una forma poliédrica, a veces triangular, alargada o estrellada, como las observadas por la mayoría de los autores consultados en las diversas especies estudiadas; mientras que, para INOUE y AGINO (1984), la forma estrellada sólo corresponde a las células LH, y para SINGH y DHINGRA (1979) en la cabra, las células FSH tendrían una forma ovalada.

En relación con el tamaño no hemos encontrado diferencias significativas entre las células marcadas con anti-LHh de los machos y de las hembras con un diámetro medio estimado de 13'98  $\mu\text{m}$ , en tanto que sí las hemos hallado en las células inmunoteñidas con anti-FSHh, teniendo un diámetro medio estimado de 14'89  $\mu\text{m}$  en el macho y de 14'53  $\mu\text{m}$  en la hembra, considerándolas las células más grandes de la «pars distalis». Por el contrario MOYANO et al. (1973) en la coneja y BLANCO (1973) en el cerdo hallan las células LH de mayor tamaño que las FSH. Otros autores coinciden en afirmar que las variaciones de forma y tamaño de las células gonadotropas están en relación con su localización (BAKER et al., 1972; TOUGARD et al., 1980; RICHARDSON,

1983; WATANABE, 1985). Nosotros no hemos podido confirmar este dato.

El núcleo presenta la cromatina dispersa y asociada a la envoltura nuclear con un tamaño de 7 a 8  $\mu\text{m}$  de diámetro, coincidiendo con las dimensiones dadas por WARBRITTON y MCKENZIE (1937) en las células LH de oveja, y por MOLINA (1984) en corderos, pero son muy superiores a los 3'4 y 4'9  $\mu\text{m}$  que dan SINGH y DHINGRA (1979) en la cabra. Estos últimos autores observan el núcleo situado centralmente lo mismo que GIROD (1984) en las células LH de la rata. Nosotros en cambio lo hemos encontrado generalmente desplazado, al igual que la mayoría de los autores.

Atendiendo a las características ultraestructurales hemos diferenciado dos tipos de células gonadotropas.

El tipo 1 se asemeja a las células FSH de KUROSUMI y OOTA (1968) en la rata, ya que nosotros también hemos observado en ellas dos tipos de gránulos, unos con contenido homogéneo y electrodensos, con tamaños medios estimados de 373 nm en los machos y 436 nm en las hembras y otros con contenido menos electrodensos y finamente granular, con un tamaño de 392 nm en los machos y 362 nm en las hembras, ambos repartidos por todo el citoplasma. Estos valores no coinciden con la mayoría de los autores, ya que ellos dan unos tamaños a los primeros entre 200-250 nm y a los segundos desde 450-700 nm. Asimismo, no coinciden con los de BARNES (1962, 1963) en el ratón, NAKANE (1970) en la rata y BEAUVILLAIN (1977) en el loro que otorgan a las células FSH un solo tipo granular de 150-200 nm de diámetro y contenido moderadamente electrodensos.

Ninguno de los autores anteriormente mencionados reseñan el estrecho halo que nosotros hemos descrito entre el contenido granular y la membrana del mismo.

Según nuestras observaciones, las cisternas del retículo endoplásmico granular se presentan ligera o moderadamente dilatadas, y esta descripción coincide con las de KUROSUMI y OOTA (1968) en la rata y de BARNES (1962, 1963) en el ratón para las FSH, sin embargo para MIKAMI (1970) en bóvidos, BLANCO (1973) en cerdo, MOYANO et al. (1973) en coneja y MOLINA (1984) en cordero, las células

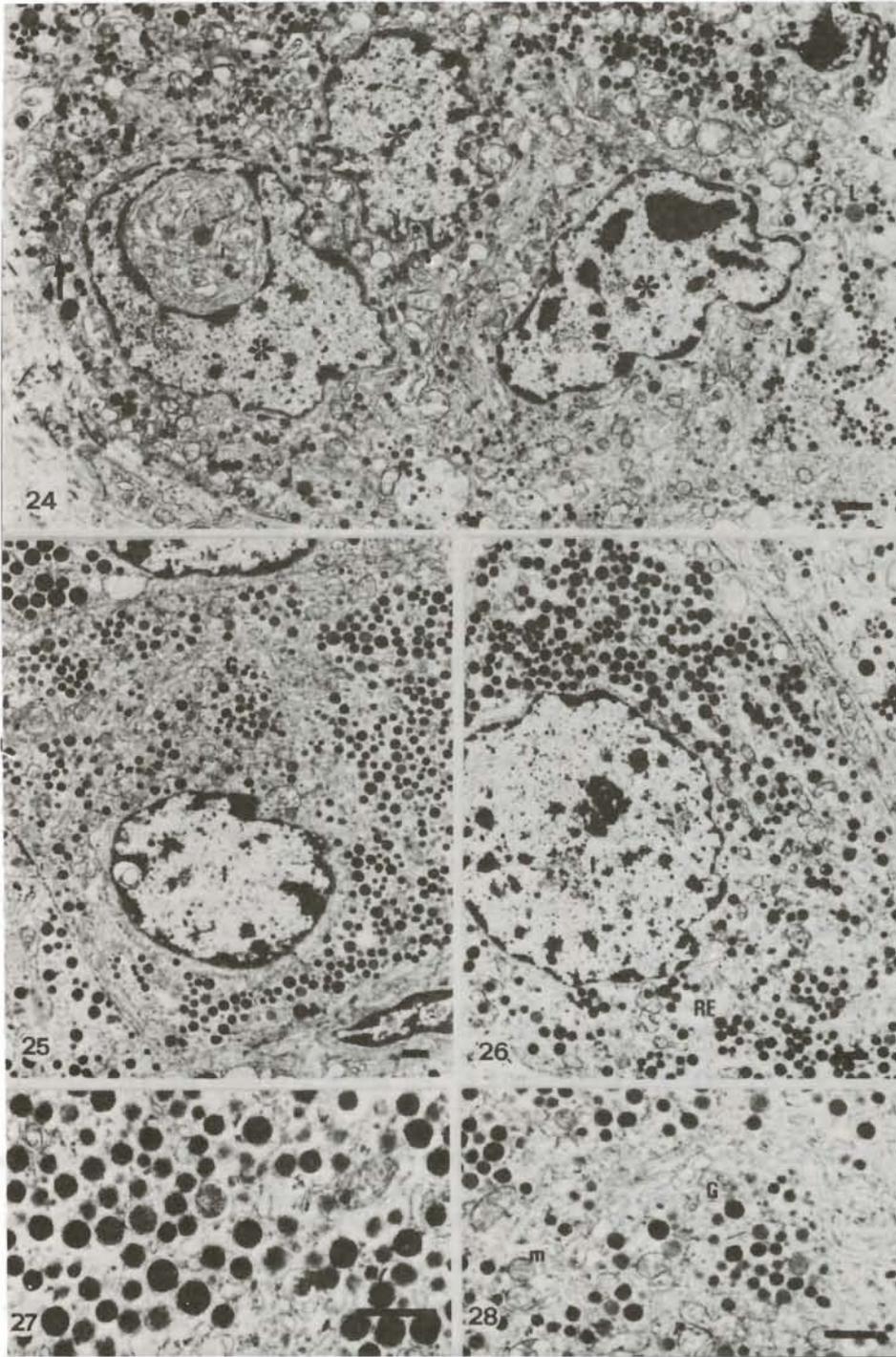
FIGURA 24. Campo de células GN (asteriscos). i= invaginaciones nucleares, flecha= cuerpo multivesicular, L= lisosomas. Barra= 1  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 25. Célula GN tipo I (I) con dos poblaciones de gránulos. G= Complejo de Golgi. Barra= 1  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 26. Célula GN tipo I (I) con retículo endoplásmico granular (RE) ligeramente dilatado. Barra= 1  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 27. Detalle de la figura 25, donde se observan dos poblaciones de gránulos de secreción. Barra= 1  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 28. Detalle de la figura 26. G= Complejo de Golgi, m= Mitocondrias. Barra= 1  $\mu\text{m}$ .



FSH no presentan dilataciones del retículo endoplásmico granular.

El complejo de Golgi es pequeño, en contraposición al descrito por KUROSUMI y OOTA (1968) en la rata, HERLANT y ECTORS (1969) en el cerdo, MIKAMI (1970) en bóvidos y MOLINA (1984) en corderos.

Las gonadotropas *tipo II*, se caracterizan por presentar una sola población de gránulos, las cisternas del retículo endoplásmico granular dilatadas y el complejo de Golgi generalmente prominente, por lo que se asemeja a la descripción que la mayoría de los autores aplican a las células LH.

Las células GN II presentan una sola población de gránulos que tienen de media estimada 317 nm en los machos y 338 nm en las hembras, por lo que se parecen a las células LH descritas por BLANCO (1973) en el cerdo, MOYANO et al. (1973) en coneja y MOLINA (1984) en corderos. Sin embargo, existen discrepancias en cuanto a su densidad; aunque para la mayoría de los autores esta última es variable, nosotros los hemos encontrado electrodensos.

En relación con el retículo endoplásmico granular tenemos que decir que está constituido por sacos aplanados, pequeñas vesículas o cisternas ligeramente dilatadas interconectadas entre sí, y que ha sido motivo de la clasificación de estas células GN II en dos subtipos. Uno, el *subtipo III*, en el que el retículo endoplásmico granular se constituye en cortos túbulos o pequeñas vesículas distribuidas al azar y un Golgi prominente, y otro, el *subtipo II/II*, en las que el retículo endoplásmico se dispone en cisternas de ligera a moderadamente dilatadas e interconectadas entre sí; el complejo de Golgi es pequeño o moderadamente desarrollado.

Para las células gonadotropas, YOSHIMURA et al. (1981) detallan una serie de tipos celulares dependiendo de tres parámetros principalmente, a saber, el tamaño de los gránulos, la disposición de los túbulos y cisternas del retículo endoplásmico granular y el desarrollo del complejo de Golgi. Nosotros, solamente hemos considerado dos tipos celulares: las GN tipo I y

las GN tipo II. Los dos tipos celulares I y II los hemos aplicado a las células clásicamente denominadas FSH y LH, mientras que para estas últimas hemos considerado dos subtipos atendiendo fundamentalmente a sus distintas características ultraestructurales, pero sin considerar todos los posibles tipos intermedios que se pueden encontrar y que complicarían bastante su clasificación. También hemos tenido en cuenta el tamaño y electrodensidad de los gránulos solo en relación con la clasificación de los tipos principales (GN I y GN II).

Las mitocondrias presentan las características propias de estas células suficientemente descritas en la literatura consultada.

Al igual que en otras especies las células gonadotropas de cabritos poseen escaso o gran número de lisosomas según se trate del tipo I o del tipo II, con un tamaño aproximado a los 254 nm, no tan grandes como los encontrados en la oveja por DACHEUX y DUBOIS (1978).

También hemos encontrado cuerpos multivesiculares descritos por HERLANT y ECTORS (1969) y BATTEN y HOPKINS (1978) en el cerdo, al igual que vacuolas de contenido granular y electrodensidad parecidas a las reseñadas por diferentes autores en las distintas especies. Asimismo, hemos observado la presencia de cilios, encontrados también por von LAWZEWITSCH et al. (1972) y GIROD (1984).

Los tipos de células gonadotropas descritas por nosotros coinciden en general, con los observados por KUROSUMI y OOTA (1968) y TOUGARD et al. (1980) en la rata, MIKAMI (1970) en bóvidos, MOYANO et al. (1973) en la coneja, BLANCO (1973) en el cerdo, MOLINA (1984) en corderos y WEBB (1981) en el feto ovino en relación con los tipos de gránulos de secreción. Sin embargo, SHIRASAWA et al. (1985) sólo especifican un tamaño granular de  $212 \pm 63$  nm en la cabra y DACHEUX y DUBOIS (1978) en la oveja, al igual que DACHEUX (1978) en el cerdo, con un tamaño de 250 nm de diámetro. En este mismo sentido hemos encontrado un rango mucho mayor que el propuesto por SHIRASAWA et al.

FIGURA 29. Célula GN tipo II/I (II/I) repleta de gránulos, escasa dilatación del retículo endoplásmico granular. n= nucléolo excéntrico. Barra= 1  $\mu$ m.

FIGURA 30. Célula GN transicional entre los tipos II/I y II/II (i) donde comienza la dilatación del retículo (RE) con un contenido moderadamente denso a los electrones y disminución paulatina de los gránulos de secreción. Barra= 1  $\mu$ m.

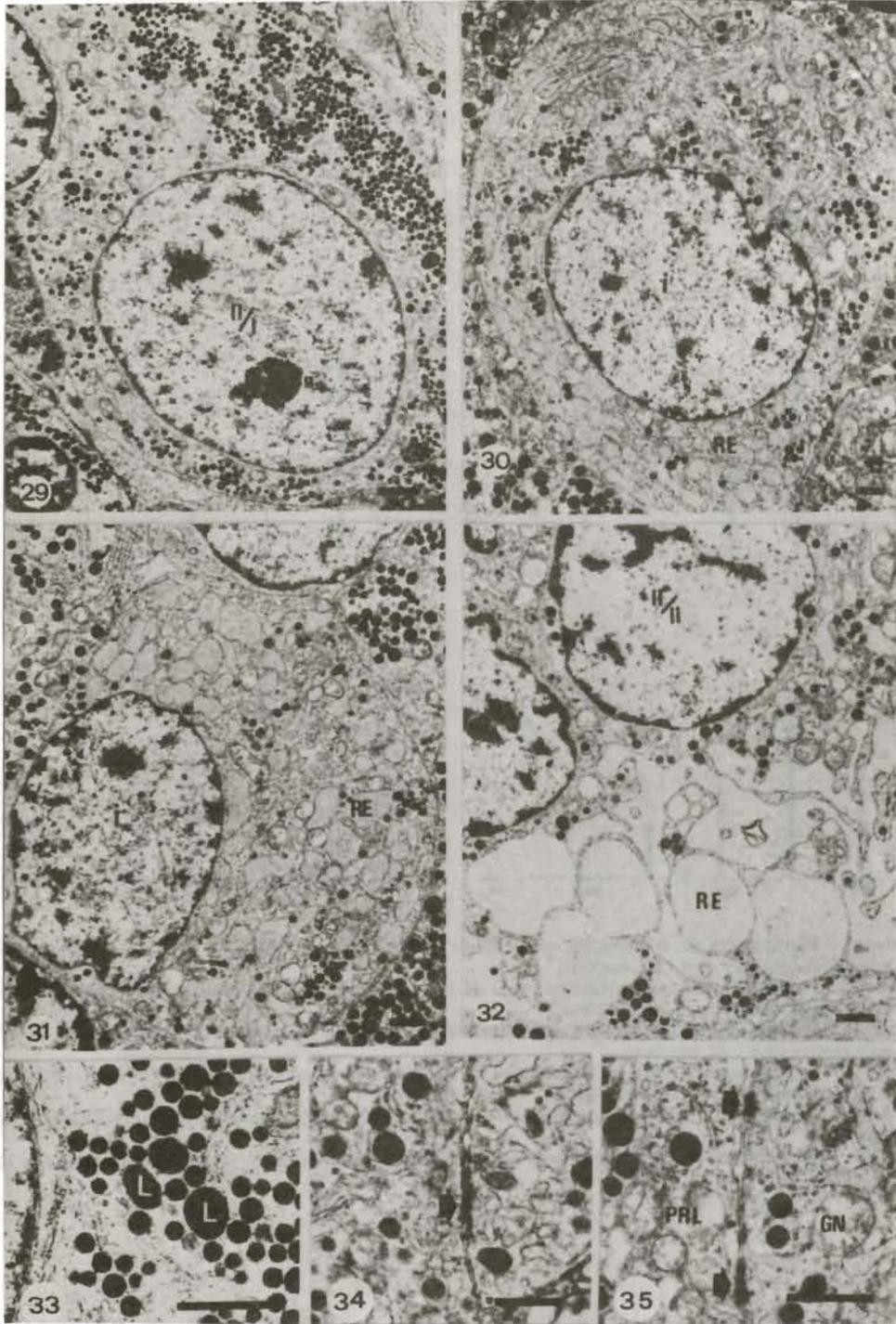
FIGURA 31. Célula GN transicional (i). RE = retículo endoplásmico. Barra= 1  $\mu$ m.

FIGURA 32. Célula GN tipo II/II (II/II) con grandes dilataciones del retículo endoplásmico granular (RE) a modo de cisternas interconectadas entre sí y con un contenido de menor electrodensidad que en las fases intermedias. Barra= 1  $\mu$ m.

FIGURA 33. Detalle de la figura 29. Lisosomas (L) y una población de gránulos de secreción. Barra= 1  $\mu$ m.

FIGURA 34. Uniones entre células GN (flecha). Barra= 1  $\mu$ m.

FIGURA 35. Uniones entre células GN y PRL (flechas). Barra= 1  $\mu$ m.



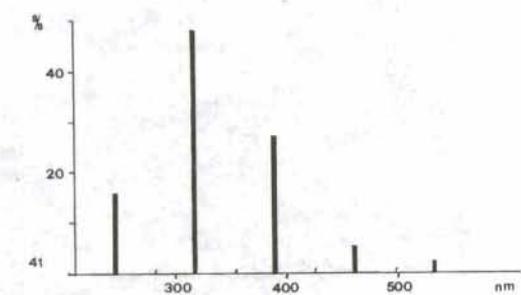
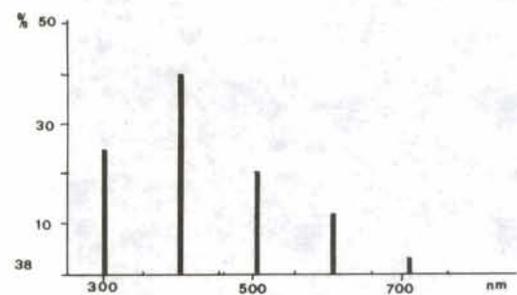
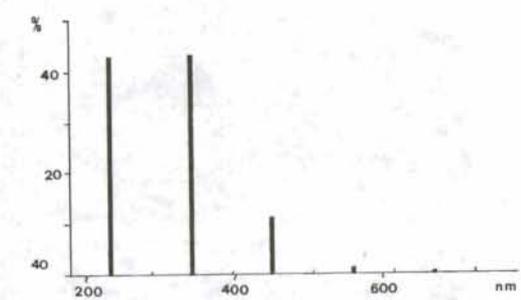
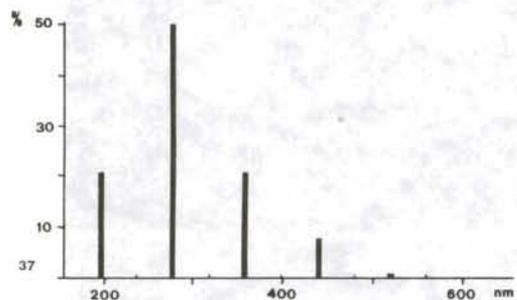
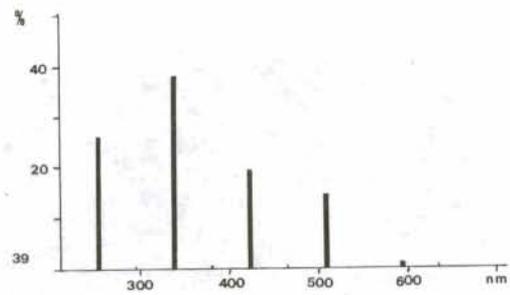
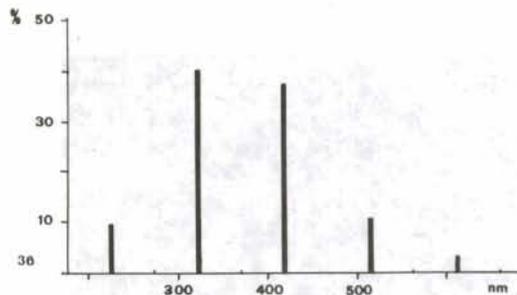


FIGURA 36. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción muy electrodensos de las células gonadotropas tipo I de machos.

FIGURA 37. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de menor electrodensidad de células gonadotropas tipo I de machos.

FIGURA 38. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción muy electrodensos de células gonadotropas tipo I de hembras.

FIGURA 39. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de menor electrodensidad de células gonadotropas tipo I de hembras.

FIGURA 40. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de células gonadotropas tipo II de machos.

FIGURA 41. Distribución de frecuencias muestral de los gránulos de secreción de células gonadotropas tipo II de hembras.

(1985) en la cabra y dos tamaños para los gránulos que dependen del contenido, al igual que lo hacen KUROSUMI y OOTA (1968) en la rata, MIKAMI (1970) en vacuno, MOYANO et al. (1973) en la coneja, BLANCO (1973) en el cerdo y MOLINA (1984) en el cordero.

## BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, B. L.; PIERCE, J. G.; CORNELL, J. S. 1972: The utility of antisera to subunits of TSH and LH for immunochemical staining of the rat hypophysis. *Am. J. Anat.* 135: 251-268.
- BARNES, B. G. 1962: Electron microscope studies on the secretory cytology of the mouse anterior pituitary. *Endocrinology* 71: 618-628.
- 1963: The fine structure of the mouse adenohypophysis in various physiological states. En: *Cytologie de l'Adenohypophyse* (ed. J. Benoit y Ch. Da Lage), pp. 91-103. CNRS, París.
- BARNETT, R. J.; LADMAN, A. J.; MCALLASTER, N. J.; SIPERSTEIN, E. R. 1956: Localization of glycoprotein hormones in the anterior pituitary glands of rats investigated by differential protein solubilities, histological stains and bioassays. *Endocrinology* 59: 398-418.
- BATTEN, T. F. C.; HOPKINS, C. R. 1978: Discrimination of LH, FSH, TSH and ACTH in dissociated porcine anterior pituitary cells by light and electron microscope immunocytochemistry. *Cell Tissue Res.* 192: 107-120.
- BEAUVILLAIN, J. C.; MAZZUCA, M.; DUBOIS, M. P. 1977: The prolactin and growth-hormone producing cells the guinea pig pituitary. *Cell Tissue Res.* 184: 343-358.
- BEAUVILLAIN, J. C.; TRAMU, G.; DUBOIS, M. P. 1975: Characterization by different techniques of adrenocorticotropin and gonadotropin producing cells in lerot pituitary (*Eliomys quercinus*). *Cell Tissue Res.* 158: 301-317.
- BERNABÉ, A.; BLANCO, A.; SIERRA, M. A.; MOZOS, E. 1985: Alteraciones morfológicas de la adenohipofisis de ratas Wistar macho tratadas con estradiol y acetato de trenbolona. *An. Vet. (Murcia)* 1: 151-162.
- BLANCO, A. 1973: Estructura y ultraestructura de la adenohipofisis 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.
- CHILDS, G. V.; ELLISON, D. G.; GARNER, L. L. 1980: An immunocytochemist's view of gonadotropin storage in the adult male rat: Cytochemical and morphological heterogeneity in serially sectioned gonadotropes. *Am. J. Anat.* 158: 397-409.
- DACHEUX, F. 1978: Ultrastructural localization of gonadotropic hormones in the porcine pituitary using the immunoperoxidase technique. *Cell Tissue Res.* 191: 219-232.
- 1981: Ultrastructural localization of gonadotropin-releasing hormone in the porcine gonadotropic cells. *Cell Tissue Res.* 216: 143-150.
- 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.
- DACHEUX, F.; DUBOIS, M. P. 1978: LH-producing cells in the ovine pituitary. An electron microscopic immunocytochemical study. *Cell Tissue Res.* 188: 449-463.
- DADA, M. O.; CAMPBELL, G. T.; BLAKE, C. A. 1983: A quantitative immunocytochemical study of the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone cells in the adenohypophysis of adult male rats and adult female rats throughout the estrous cycle. *Endocrinology* 113: 970-984.
- 1984: The localization of gonadotrophs in normal adult male and female rats. *Endocrinology* 114: 397-406.
- EL ETREBY, M. F.; FATH EL BAB, M. R. 1977: The utility of antisera to canine growth hormone and canine prolactin for immunocytochemical staining of the dog pituitary gland. *Histochemistry* 53: 1-15.
- GABE, M. 1968: *Techniques histologiques*. Masson, París.
- GIROD, C. 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.
- GIROD, C.; DUBOIS, M. P.; TROUILLAS, J. 1981: Immunohistochemical localization of FSH and LH in the pars distalis of vervet (*Cercopithecus aethiops*) and babbon (*Papio hamadryas*) pituitaries. *Cell Tissue Res.* 217: 245-257.
- GÓMEZ, M. A.; NAVARRO, J. A.; BERNABÉ, A.; CAMARA, P.; FERNÁNDEZ, A. J.; GÓMEZ, J. A. 1987: Estudio citológico, inmunocitoquímico y ultraestructural de la «Pars distalis» adenohipofisaria de cabritos (*Capra hircus*): Células ACTH. *An. Vet. (Murcia)* 3: 17-27.
- GROSS, D. S. 1984: The mammalian hypophysial pars tuberalis: a comparative immunocytochemical study. *Gen. Comp. Endocrinol.* 56: 283-298.
- GROSS, D. S.; TURGEON, J. L.; WARING, D. W. 1984: The ovine pars tuberalis: A naturally occurring source of partially purified gonadotropes which secrete luteinizing hormone in vitro. *Endocrinology* 114: 2.084-2.091.
- HALMI, N. S. 1981: Immunoperoxidase staining of primate pituitaries with antibodies against the beta subunits of human pituitary glycoprotein hormones. *J. Histochem. Cytochem.* 29: 837-843.
- 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.
- 1963: Apport de la microscopie électronique a l'étude du lobe antérieur de l'hypophyse. En: *Cytologie de l'Adenohypophyse* (Ed. J. Benoit y Ch. Da Lage), pp. 73-86. CNRS, París.
- 1973: L'hypophyse en traite de zoologie. Tomo XVI, fascículo V, volumen II (Ed. P. P. Grassé), pp. 298-447. Masson, París.
- HERLANT, M.; ECTORS, F. 1969: Les cellules gonadotropes de l'hypophyse chez le porc. *Cell Tissue Res.* 101: 212-231.
- INOUE, K.; HAGINO, N. 1984: Comparative immuno-

- cytochemical demonstration of ACTH-, LH- and FSH-containing cells in the pituitary of neonatal, immature and adult rats. *Cell Tissue Res.* 235: 71-75.
- INOUE, K.; KUROSUMI, K. 1984: Ultrastructural immunocytochemical localization of LH and FSH in the pituitary of untreated male rat. *Cell Tissue Res.* 235: 77-83.
- KUROSUMI, K.; OOTA, Y. 1968: Electron microscopy of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary glands of persistent estrous and diestrous rats. *Z. Zellforsch.* 85: 34-46.
- 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 gonadotropas de la adenohipófisis de corderos de raza «Merina» tratados con estradiol y acetato de trenbolona. *INIA, Anals. Ser. Ganad.* 20: 57-63.
- MORIARTY, G. C. 1975: Electron microscopic-immunocytochemical studies of rat pituitary gonadotrophs: A sex difference in morphology and cytochemistry of LH cells. *Endocrinology* 97: 1.215-1.225.
- MOYANO, T.; BLANCO, A.; JOVER, A. 1973: Células gonadotropas de coneja. *Arch. Zootec.* 22: 271-278.
- NAKAMURA, F.; TAYA, K.; SASAMOTO, S.; YOSHIMURA, F. 1985: Relationship between characteristics of immunoreactive LH/FSH cells and the levels of gonadotropin in the female rat. *Acta Anat.* 124: 104-110.
- NAKANE, P. K. 1970: Classifications of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* 18: 9-20.
- 1975: Identification of anterior pituitary cells by immunoelectronmicroscopy. En: *The anterior pituitary* (Eds. A. Tixier-Vidal and M. G. Farquhar) pp. 45-61. Academic Press, New York.
- OSAMURA, R. Y. 1983: Histology, ultrastructure and immunocytochemistry. En: *Endocrine System* (ed. T. C. Jones, U. Mohr, R. D. Hunt), pp. 121-129. Springer y Verlag, Berlín.
- 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.
- RICHARDSON, B. A. 1981: Localization of gonadotrophic hormones in the pituitary gland of the California leaf-nosed bat (*Macrotus californicus*). *Cell Tissue Res.* 220: 115-123.
- SHIRASAWA, N.; KIHARA, H.; YOSHIMURA, F. 1985: Fine structural and immunohistochemical studies of goats adenohypophysial cells. *Cell Tissue Res.* 240: 315-321.
- SINGH, Y.; DHINGRA, L. D. 1979: Morphogenesis of the hypophysis cerebri in goats. 4. Pars distalis and pars infundibularis adenohypophysis. *Indian J. Anim. Sci.* 49: 1.067-1.075.
- TOUGARD, C.; PICART, R. TIXIER-VIDAL, A. 1980: Immunocytochemical localization of glycoprotein hormones in the rat anterior pituitary. *J. Histochem. Cytochem.* 28: 101-114.
- VAN NOORDEN, S.; STUART, M. C.; CHEUNG, A.; ADAMS, E. F.; POLAK, J. M. 1986: Localization of human pituitary hormones by multiple immunoenzyme staining procedures using monoclonal and polyclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.* 34: 287-292.
- VON LAWZEWITSCH, I.; DICKMANN, G. H.; AMEZUA; PARDAL, C. 1972: Cytological and ultrastructural characterization of the human pituitary. *Acta Anat.* 81: 286-316.
- WARBRITTON, V.; MCKENZIE, F. F. 1937: The pituitary glands of ewes in various phases of reproduction. *Res. Bull.* 257: 3-59.
- WATANABE, Y. G. 1985: An immunohistochemical study on the mouse adenohypophysis with reference to the spatial relationship between GH cells and other types of hormone-producing cells. *Anat. Embryol.* 172: 227-280.
- WEBB, P. D. 1981: The pars distalis (Anterior pituitary) in the fetal sheep: an ultrastructural study. *J. Develop. Physiol.* 3: 319-332.
- YOSHIMURA, F.; NOGAMI, H.; SHIRASAWA, N.; YASHIRO, T. 1981: A whole range of fine structural criteria for immunohistochemically identified LH cells in rats. *Cells Tissue Res.* 217: 1-10.
- ZUBER-VOGELI, M.; LEMIRE, M. 1982: L'ultrastructure de différentes cellules de l'adénohypophyse du lézard saharien (*Uromastix acanthinurus* Bell 1825). *Gen. Comp. End.* 46: 333-344.