

APORTACIONES AL ESTUDIO HISTOLOGICO DEL EFECTO DE LA
OVARIECTOMIA SOBRE LA ZONA RETICULAR DE LAS GLANDULAS
ADRENALES DE RATAS WISTAR

(HISTOLOGICAL EFFECTS OF OVARIECTOMY ON THE RETICULAR ZONE OF THE
ADRENAL GLANDS OF WISTAR RATS).

por

A. BLANCO, A. JOVER, L. RIVAS y A. GAZQUEZ

Introducción.

Se han emitido diversas teorías sobre el origen, estructura y función de la corteza adrenal, tanto desde el punto de vista embriológico como arquitectónico y funcional. Gottschan (1883) emite la teoría de la migración celular, ratificada por Bennett (1940), y que De Robertis y Sabattini (1962) explican como un proceso de citomorfosis de fuera dentro, en que la zona reticular sería una zona de desgaste de las zonas glomerular y fascicular. Otros autores, entre ellos Blanco y col. (1976) sin embargo, no están de acuerdo en que la zona reticular sea una zona de desgaste o degeneración y le dan un significado de zona activa y funcional. Lo ratifica también las diversas investigaciones encaminadas a descifrar la respuesta de esta zona reticular y su conexión con las glándulas sexuales.

Han sido diversos autores los que han intentado localizar morfológicamente las características de las células secretoras de hormonas sexuales, de tal manera que Masui y Tamuka (1926) fueron los primeros en intentar describir una "zona sexual" en la corteza adrenal, que Grollmann (citado por Cano, 1946) la considera androgénica. Son Howard y Deanesly (citados por Cano, 1946) quienes la identifican como zona X de la corteza adrenal. Sin embargo, Botella Llusía (citado por Cano, 1946) llega a la conclusión de que estas diferentes denominaciones se deben a utilizar diversos métodos de experimentación y son en sí la misma estructura, es decir, la zona reticular.

La íntima relación existente entre la corteza adrenal y las gónadas ha sido estudiada por diversos autores que basan tal afirmación en que las glándulas adrenales presentan diformismo sexual particularmente evidente en la zona fascicular exter-

* Departamento de citología. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba (España).

Recibido para publicación el 18-11-1977.

na, en la rata, y en la zona reticular, en el hámster (Zieger y col. 1974). Las hormonas masculinas poseen una acción frenadora sobre la corteza adrenal, en la que provocan una disminución de su tamaño. Mientras que las hormonas femeninas inducen el desarrollo de la corteza (Selye, 1950).

En las hembras gonadolectomizadas, los liposomas aumentan de tamaño pero no de número. El estado de hidratación del hialoplasma, el número de perfiles del retículo endoplásmico rugoso, el volumen mitocondrial así como el nuclear, presentan una marcada reducción con respecto a las hembras durante el estro (Mausler y Schterrer, 1974).

Material y métodos.

En el presente trabajo hemos utilizado corteza adrenal de ratas adultas hembras Wistar, ovariectomizadas. A dichos animales se les ha practicado la siguiente intervención quirúrgica:

a) Tiempo pre-operatorio:

A los animales a intervenir quirúrgicamente les hemos sometido a una dieta absoluta durante las 24 horas precedentes al acto operatorio.

b) Tiempo operatorio:

Nuestra intervención quirúrgica se ha reducido a la ovariectomía doble.

La anestesia se ha realizado sometiendo los animales a una atmósfera de éter etílico al 35 p. 100. Una vez conseguida una hipnosis profunda se colocó al animal en decúbito supino. Vía transperitoneal realizamos una incisión infraumbilical media de unos tres trasveses de dedo. Rechazando hacia un lado el paquete intestinal, hemos puesto al descubierto ambos ovarios, los cuales ligamos y posteriormente seccionamos. Inmediatamente después, dejamos el paquete intestinal libre en el interior, cerramos peritoneo y planos musculares con sutura continua; y la piel, con puntos entrecortados.

En la fecha de iniciación de la experiencia, de un total de 39 animales adultos hembras, fueron ovariectomizados 26 y 13 quedaron como testigos.

El sacrificio se realizó en los grupos y días que indica el cuadro I.

Los animales fueron sacrificados mediante decapitación e inmediatamente se procedió a la extracción de las glándulas adrenales. En dichas glándulas se realizó un corte transversal a nivel de la zona interna de la corteza, próxima a médula, tomamos cuatro muestras de ambas mitades, de 1 a 2 mm de espesor, aproximadamente.

Con el fin de obtener cortes histológicos semifinos se realizó el siguiente proceso.

BLANCO *et al.*: OVARIECTOMIA Y ZONA RETICULAR DE LAS ADRENALES DE RATA.

Las muestras obtenidas fueron fijadas en glutaraldehído al 5 p. 100 según el proceder de Sabattini y col., volviéndose a fijar posteriormente en tetróxido de osmio

La deshidratación fué realizada con una serie ascendente de acetonas; y la inclusión la hemos llevado a cabo mediante mezclas de óxido de propileno y Durcupan A. C. M. (Araldita) hasta su inclusión definitiva.

Obtenidos los bloques, realizamos cortes histológicos de un grosor de 0.5 a 1 micras de espesor. Una vez desplastificados los cortes, según el proceder de Paul-Casanova, hemos teñido por el método de hematoxilina-eosina, modificado para cortes semifinos.

Los cortes se han efectuado en un ultramicrotomo L. K. B. II y han sido observados en un microscopio Leitz modelo Dialux, que lleva un sistema fotográfico incorporado.

Observaciones.

Primer grupo (día primero post-ovariectomía).

Las células de esta zona reticular se disponen en cordones de distribución normal, son de forma poliédrica, algunas con liposomas de gran tamaño y otras con claros signos de degeneración.

Segundo grupo (día segundo post-ovariectomía).

Las células reticulares se disponen en cordones irregulares de distribución normal. En las regiones más superficiales de esta zona existen células poliédricas con liposomas poco numerosos y de gran volumen, pudiendo éstos llegar a medir de 3 a 4 micras de diámetro.

En las más profundas, próximas a médula, existen células de bordes irregulares, con núcleos pequeños, picnóticos y de bordes dentados. Estas células se encuentran en escaso número. También existen células en vías de degeneración.

Tercer grupo (día tercero post-ovariectomía).

Las células de esta zona reticular se disponen en cordones dispersos de distribución irregular. Estas células son muy voluminosas, de bordes poco netos y núcleos con nucleolos prominentes. Presentan gran cantidad de liposomas de gran tamaño y sumamente irregulares, dispersos por todo el citoplasma. Dan sensación de células en degeneración.

CUADRO I. Distribución de las ratas en lotes.

Grupo número	Fecha sacrificio a partir de la iniciación	Número animales ovariectomizados	Número animales enteros (testigos)
1	1. día	2	1
2	2. "	2	1
3	3. "	2	1
4	4. "	2	1
5	5. "	2	1
6	6. "	2	1
7	8. "	2	1
8	10. "	2	1
9	12. "	2	1
10	15. "	2	1
11	18. "	2	1
12	24. "	2	1
13	30. "	2	1

Cuarto grupo (día cuarto post-ovariectomía).

Las células de la zona reticular se disponen en cordones de distribución irregular, son ampulosas y poseen escasos liposomas.

Quinto grupo (día quinto post-ovariectomía).

Las células de esta zona reticular se disponen en cordones dispersos de distribución irregular. Se aprecian figuras de mitosis que, junto con la presencia de células binucleadas y de un citoplasma rico en mitocondrias, nos dan sensación de gran actividad.

Sexto grupo (día sexto post-ovariectomía).

Por una parte se detectan células con pocos liposomas, de citoplasma basófilo homogéneo, dispuestas en cordones irregulares y, por otra parte, células con gran riqueza en liposomas, que son de gran tamaño y se disponen en grandes acúmulos. También se presentan liposomas de pequeño tamaño, dispersos irregularmente por todo el citoplasma. Abunda el número de células binucleadas.

La impresión general es de una gran actividad.

Séptimo grupo (octavo día post-ovariectomía).

Los resultados observados no difieren de los del día anterior.

Octavo grupo (décimo día post-ovariectomía).

La zona reticular se dispone en cordones irregulares de células de gran tamaño, cuboides o poliédricas. Todas estas células presentan liposomas de pequeño tamaño dispersos por todo el citoplasma. En otras regiones de esta zona existen células con liposomas de gran tamaño distribuidos de forma circunscrita.

Las células reticulares de este grupo presentan signos de actividad.

Noveno grupo (décimosegundo día post-ovariectomía).

En la zona reticular de corteza adrenal perteneciente a este grupo se aprecian imágenes diversas. Por un lado, se disponen en cordones irregulares de células poliédricas, con liposomas de gran volumen dispersos por todo el citoplasma, y junto a este tipo de células existen otras con escasos liposomas y núcleos muy picnóticos, que presentan dilataciones en la envoltura nuclear.

Podemos decir que existen células en diversas fases de actividad junto a otras escasamente activas.

Décimo grupo (día décimoquinto post-ovariectomía).

La zona reticular se encuentra constituida por gran número de células, dispuestas en cordones dispersos de distribución irregular y gran vascularización. Las células son de gran tamaño, poliédricas, y de núcleo central y esférico. El citoplasma es acidófilo y en él se detectan abundantes liposomas de formas regulares y dispersos por toda su matriz.

Se trata de elementos celulares sumamente activos.

Undécimo grupo (día décimooctavo post-ovariectomía).

Las células de esta zona reticular se disponen en cordones dispuestos irregularmente, observándose una disminución de células con relación al grupo anterior. Por otro lado, las células presentan escasos liposomas y abundantes gránulos de lipofucsina.

Destacamos en este grupo la presencia de cordones enteros de células en vías de degeneración o necrosis.

Décimo segundo grupo (día vigésimocuarto post-ovariectomía).

La zona reticular se encuentra constituida por cordones dispuestos irregularmente, formados por células pleomórficas de pequeño tamaño, con escaso número de liposomas pero de gran tamaño. Es muy marcada la presencia de gránulos de lipofucsina.

Podemos decir que se trata de una zona en fase de regresión la que observamos en este grupo.

Décimo tercer grupo (día trigésimo post-ovariectomía).

Las características morfológicas dan signos de regresión mucho más marcados que en el grupo anterior.

Discusión.

Tradicionalmente, la zona reticular es para unos autores una zona de desecho celular, según la teoría de Gottshan (1883), mientras que para otros tendría entidad propia de síntesis (Blanco y col., 1976). Los elementos celulares se deben presentar

con escasos liposomas, sin que haya estimulación inicial. Imagen similar hemos encontrado en el primer grupo (primer día post-ovariectomía), al observar que las células tienen escasa actividad.

En la bibliografía consultada sobre el tema hemos observado que los distintos autores no describen los efectos producidos sobre la zona reticular en los primeros días post-castración. Nosotros hemos querido, por el contrario, observar sus efectos inmediatamente y a corto espacio de tiempo después de haber sido realizada la ovariectomía. Como resultado hemos podido comprobar que ya en el grupo segundo (segundo día post-ovariectomía), la zona reticular muestra un aumento de la actividad, la cual viene marcada por una hiperplasia celular, como cita Buchner (1962), observándose grandes núcleos que recuerdan a los procesos regenerativos hepáticos, junto con un aumento de los liposomas como cita Greep (1970). Ahora bien, existe una estasis sanguínea a nivel de los capilares sinusoides que puede motivar procesos degenerativos posteriores, según cita Sandritter (1974). Al mismo tiempo, en esta fase se aprecian células que por sus elementos constituyentes son consideradas en vías de degeneración. En resumen, existe un estado de actividad por parte de unas células y de degeneración en otras.

En tercer y cuarto grupo (día tercero y cuarto post-ovariectomía), por las características morfológicas que presentan estas células en vías de degeneración, se trata de un conjunto de elementos en vía de necrosis, persistiendo sus liposomas inespecíficos (escasos y con gran pleomorfismo). Ya en el quinto día se puede observar iniciación de actividad celular, al contrario de los resultados obtenidos en ratón por KiroKawa e Ishikawa (1975), en donde no existen cambios destacables en la morfología de las células reticulares. Por una parte, hemos encontrado, como indica Carr (1959), procesos de mitosis; junto con gran cantidad de células binucleadas, lo que puede indicar la existencia de hiperplasia celular. Pero lo que llama poderosamente la atención es que junto a los liposomas, que son muy numerosos, existe un citoplasma espumoso con microvesículas nítidas que corresponden a un aumento de las mitocondrias que para Belt y Pease (1956) significan actividad celular.

En el período de tiempo comprendido entre los grupos seis y siete (días sexto y octavo post-ovariectomía) de la experiencia hemos observado claros signos de aumento de actividad en la zona reticular, significado por una parte en una hiperplasia o aumento del número de células, disposición cordonal de suselementos y, finalmente, existe un aumento en el número de liposomas que expresan el marcado significado hacia el aumento de la síntesis de esteroides. Estos fenómenos de aumento de actividad de la zona reticular vienen motivados por la falta en el torrente sanguíneo de hormonas sexuales provenientes de las gónadas femeninas. La corteza adrenal, y concretamente la zona reticular, trata de paliar de alguna forma este déficit funcional.

Todos estos fenómenos vicariantes se acentúan y alcanzan su punto álgido hacia el grupo décimo (día décimoquinto post-ovariectomía) que nosotros, junto con el aumento del número de células de la zona reticular, valoramos como manifestaciones de la gran actividad de esta zona, significadas sobre todo por un aumento del número de liposomas, distribuidos de forma regular por todo el citoplasma celular, junto a una mayor vascularización. Todos estos procesos se venían significando hacia los días 10 y 12, mostrando los comienzos de todos los elementos morfológicos que hemos destacado anteriormente.

Morfológicamente, en los estudios realizados en el grupo once (día décimo-octavo post-ovariectomía) destacamos una estasis sanguínea marcada, que no hemos encontrado descrita en la bibliografía consultada, y pudiera significar la iniciación de procesos degenerativos de las células de esta zona reticular. En este período de tiempo, como estudia Dustin (1969), encontramos células que presentan núcleos picnóticos y despegamiento de la envoltura nuclear. Pudiera tratarse de células en vías degenerativas.

Delost (1952) describe que, a partir del día veintiuno post-castración, en *Microtus arvalis* P. macho, la parte interna de la corteza adrenal se modifica. Las células se hacen más pequeñas, fuertemente eosinófilas, y los núcleos son irregulares, de aspecto deprimido y picnóticos.

A partir del grupo doce (día vigésimocuarto post-ovariectomía) de nuestra experiencia, hemos detectado procesos regresivos de toda la zona reticular, significadas fundamentalmente por células en vías de degeneración, escasos liposomas y, lo que es más importante, por la presencia de gránulos de lipofucsina. Todo esto viene a significar que existen fenómenos de agotamiento de la zona reticular, debido a la falta de control hormonal progresivo por parte de las gónadas.

Los fenómenos regresivos se hacen mucho más acentuados en el grupo decimotercero (día trigésimo post-ovariectomía), donde no existen indicios de actividad de la zona reticular, con una disminución en el número de células, degeneración de las mismas, disminución de los liposomas y, finalmente, aumento de la lipofucsina en dichas células.

Martín Pinto (1945), en sus trabajos sobre glándulas adrenales de ratas hembras ovariectomizadas, afirma la existencia de una atrofia en las capas internas de la corteza adrenal, en especial en la zona reticular, por falta de acción fisiológica de la hormona ovárica.

Deanesly (1928) cita que el aumento y diferenciación de la glándula adrenal en ratón hembra no es dependiente de la presencia del ovario; sólo después de la 30 semana post-castración existe una degeneración total en la zona sexual de la corteza. Por el contrario, cita la existencia de una degeneración celular gradual en la rata; tesis que corroboran los resultados obtenidos en nuestra experiencia.

Resumen.

En el presente trabajo hemos estudiado, a microscopía óptica, las modificaciones ocurridas en la zona reticular de glándulas adrenales de ratas hembras ovariectomizadas.

Summary.

In this report we have studied through optical microscopy, the modifications that have taken place in the reticular zones of the adrenal glands of ovariectomised female rats.

Bibliografía.

- Adam, S. W. 1970.—Microscopic anatomy of the dog. Charles C. Torns Publisher. Illinois.
- Aruy, L. 1974.—Histoenzimology of the endocrine glands. Histoenzimology Laboratory Faculty of Medicine, París. Ed. Pergamo Press. Oxford.
- Barka, T., P. J. Anderson, 1967.—Histoquímica. Editorial Atika, S. A. Madrid.
- Blanco, A. y col. 1976.—Estudio ultraestructural de la zona reticular de la glándula adrenal de ratón blanco (*Mus musculus*) Arch. zoot., 25: 63-71.
- Corset, J. 1960.—Atlas d'Histologie animale. Editions N. Boubée et Cie. París.
- Deanesly, R. 1928.—A study of the adrenal cortex in the mouse and its relation to the gonads. Pro. Roy. Soc. London, 103: 523.
- Delost, P. 1952.—Le cortex surrenal du campagnol des champs (*Microtus arvalis* P.) et ses modifications après castration. C. R. Soc. Biol., 146: 27.
- Delost, P. 1952.—Modifications histochemiques du cortex surrenal du campagnol des champs (*Microtus arvalis* P.) après castrations. C. R. Soc. Biol., 146: 1080.
- Dustin, P. 1969.—Leçons d'anatomie pathologique generale. París.
- Gázquez, A. 1974.—Contribución al estudio estructural y ultraestructural de las glándulas adrenales de conejo (*Oryctolagus cuniculus*). Tesina. Universidad Córdoba. Fac. veter.
- Greep, R. O. and H. W. Deane, 1970.—Histología. Ed. Ateneo. Buenos Aires.
- Hirokawa, N. and H. Ishikawa, 1975.—Electron microscopic observations on the castration induced X zone in the adrenal cortex of male mice. Cell Tiss. Res. 162: 119-130.

BLANCO *et al.*: OVARIECTOMIA Y ZONA RETICULAR DE LAS ADRENALES DE RATA.

Idelman, S. 1970.—Ultrastructure of the mammalian adrenal cortex. *Int. Rev. Cytol.* 27: 181-281.

Mausle, E. 1970.—Zur Frage eines ultraturktuellen Geschlechtsdimorphismus der Nebennierenrinde der Ratte. *Symp. dtsh. Ges. Endokrin.* 16: 254-255.

Patt, D. I., G. R. Patt, 1969.—Comparative vertebrate histology. Harper and Row, Publishers. New York.

Penney, D. and G. M. Brown, 1971.—The fine structural morphology of adrenal cortices of normal and stressed squirrel Monkeys. *Jour. Morphol.* 134: 447-466.

Rhodin, J. A. G. 1974.—Histology, a text and atlas. Oxford University Press.

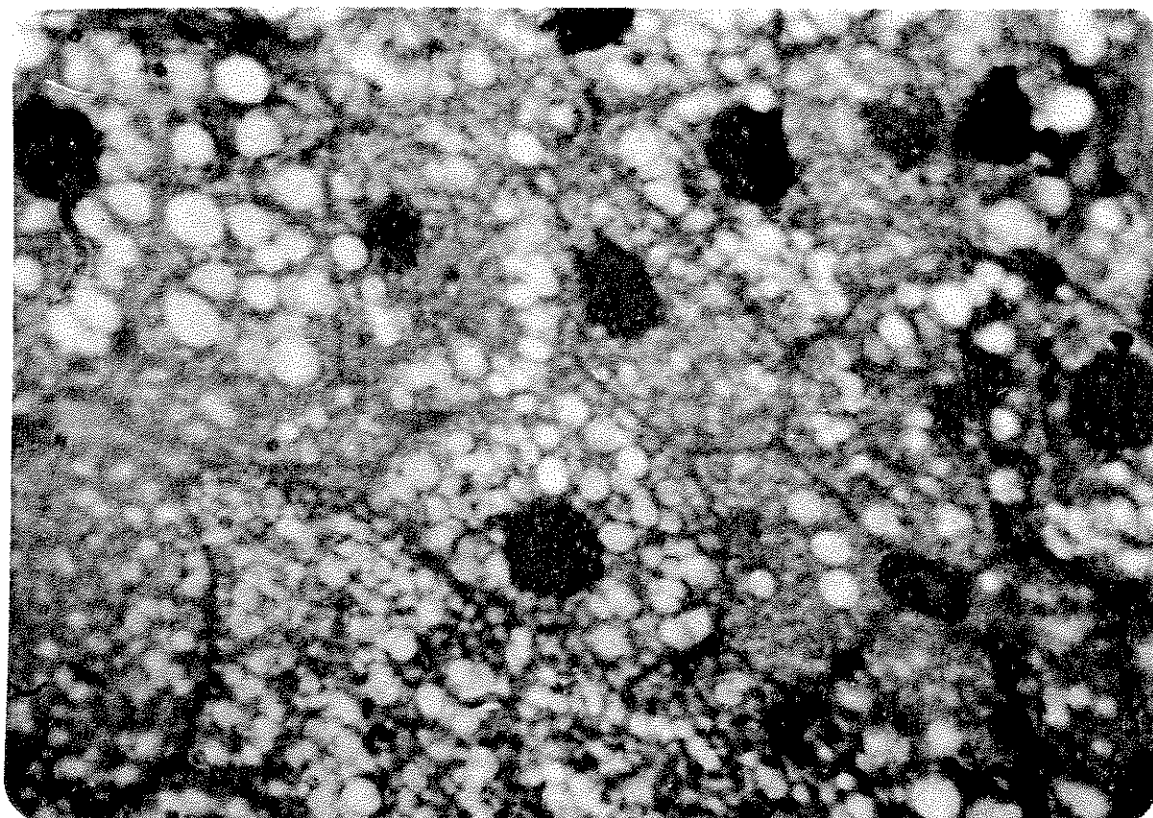


FIGURA 1. Apreciamos los liposomas de formas irregulares y el núcleo de las células picnótico y de contorno dentado, que corresponde a células de degeneración (día tercero post-ovariectomía). Hematoxilina-eosina. 980 diámetros.

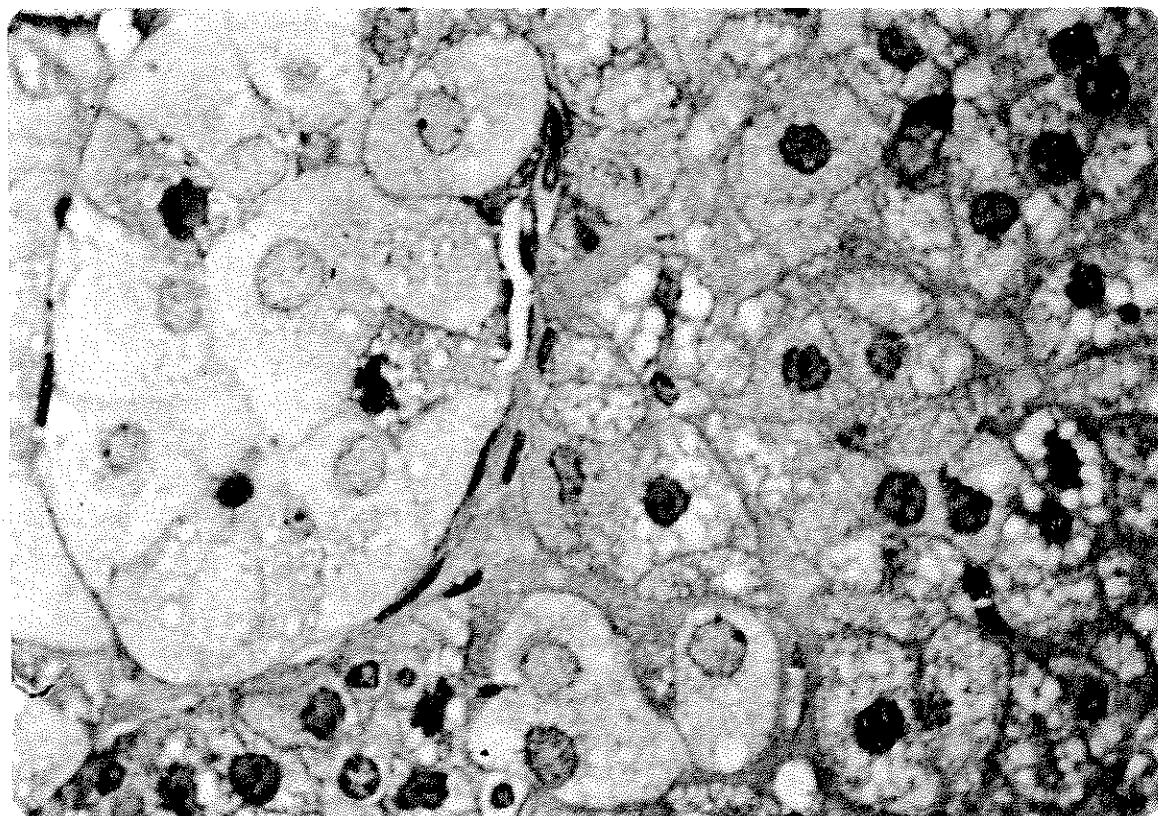


FIGURA 2. Detalle de la zona reticular, cuyas células presentan un citoplasma finamente vacuolizado (día quinto post-ovariectomía). Hematoxilina-eosina. 710 diámetros.

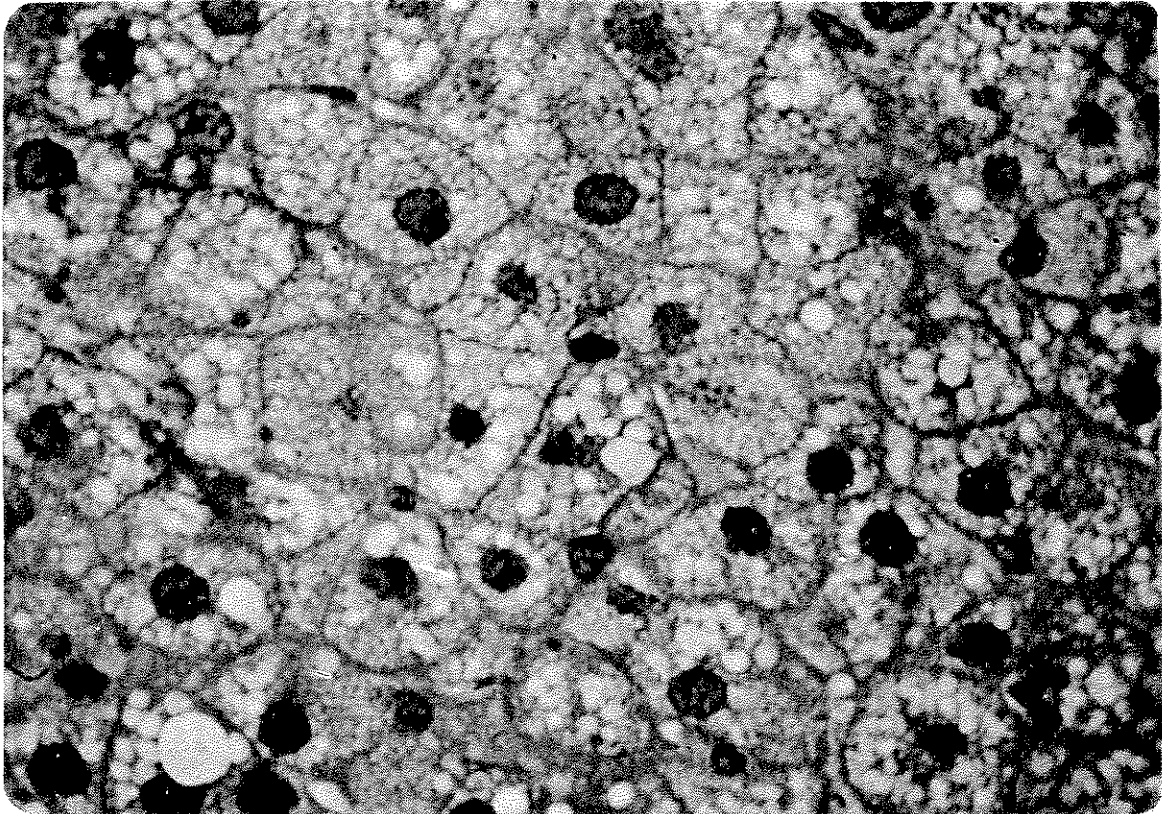


FIGURA 3. Detalle de la zona reticular. Junto a células de gran actividad se observan otras que presentan núcleos picnóticos con iniciación de la degeneración celular (día décimo octavo post-ovariectomía). Hematoxilina-eosina. 710 diámetros.

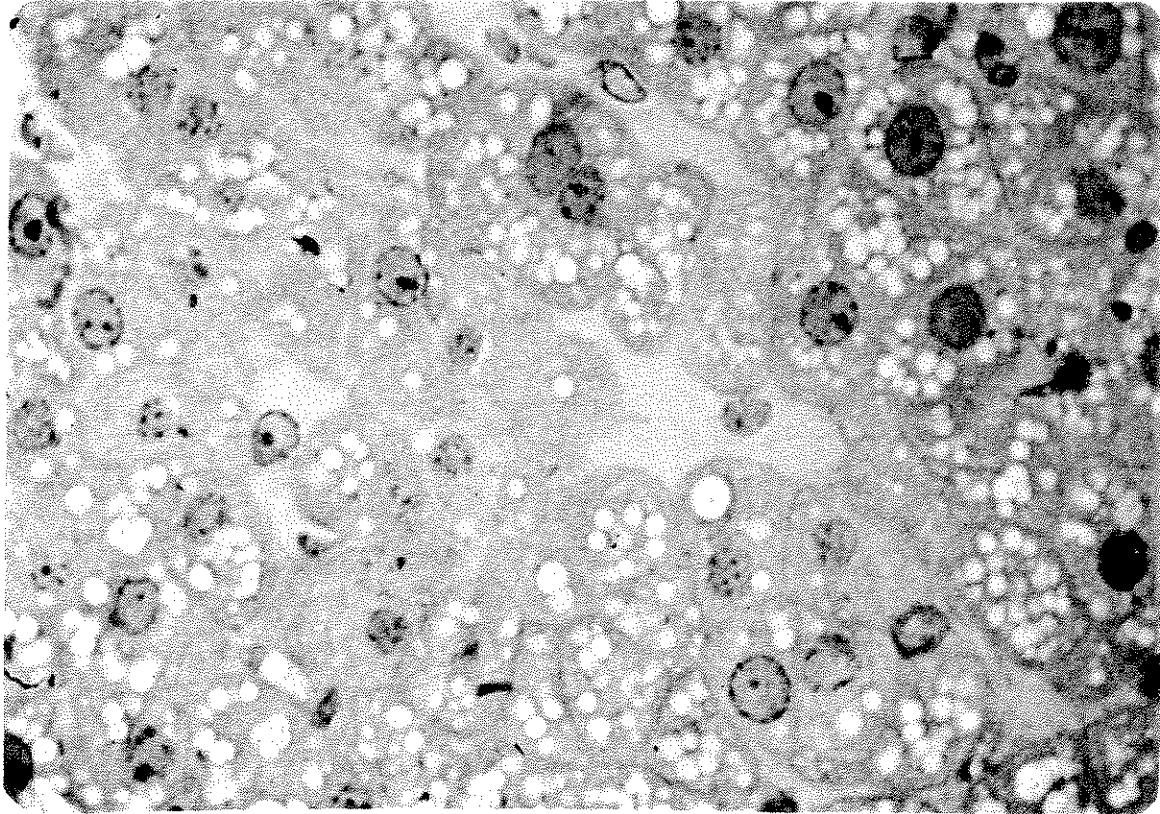


FIGURA 4. Detalle de la zona reticular. Se aprecian los capilares sinusoides muy dilatados y se observa una disminución en el número de liposomas (día vigésimocuarto post-ovariectomía). Hematoxilina-eosina. 710 diámetros.

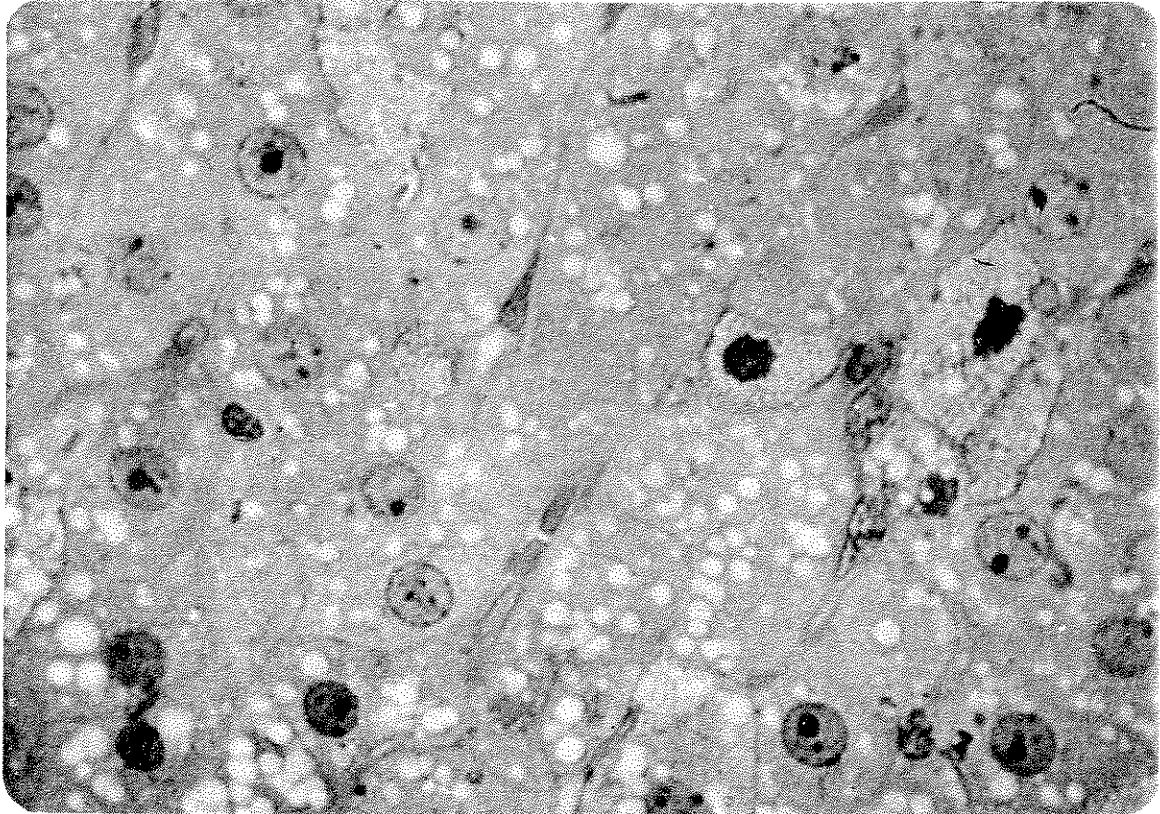


FIGURA 5. Detalle de la zona reticular. Junto a células aparentemente normales, apreciamos la existencia de nichos celulares en vías de desintegración (día vigésimocuarto post-ovariectomía). Hematoxilina-eosina. 710 diámetros.