

MODIFICACIONES ULTRAESTRUCTURALES DE LOS ACINOS
DE LAS GLANDULAS SUBMANDIBULARES EN RATAS WISTAR
MACHO, CASTRADAS.

(ULTRASTRUCTURAL MODIFICATIONS OF ACINAR MUCOUS CELLS FROM SUBMAXILLARY
GLANDS IN CASTRATED WISTAR RATS).

por

Carrera Moreno, G*, M. Carpio González, S. Fuentes García, A. Baena Hi-
dalgo, C. García Ruz y T. Moyano Navarro**

* Profesores de histología y embriología gral. de la Facultad de medici-
na de la Universidad de Córdoba. España.

** Profesor de anatomía patológica e histología de la Facultad de veteri-
naria de la Universidad de Córdoba. España.

Keywords: Cytology. Histology. Electron microscopy. Laboratory animals.

Summary

We have studied the ultrastructural changes produced in the mucous cells of the submaxillary glands acini in male Wistar rats after castration. The most significant changes started 40 hours after castration, becoming greater through the experiment. In the acini we clearly detected abundance of binuclear cells as well as increase of nuclear volume through the experiment, which has been confirmed by morphometric study. In the cytoplasm, the changes are quantitative as well qualitative on the R.E.R. level, Golgi complex, the mitochondria and the secretion granules.

Resumen

Hemos realizado un estudio ultraestructural sobre las modificaciones producidas en las células de los acinos mucosos de las glándulas submandibulares en ratas Wistar macho, tras la castración, las cuales fueron sacrificadas periódicamente. Las alteraciones más significativas comienzan a partir de las 40 horas postcastración, acentuándose a lo largo de la experiencia. En estos acinos destacamos la abundancia de células binucleadas, así como el aumento del volumen nuclear, a lo largo de la

Recibido para publicación el 7-5-1984.

experiencia, confirmándolo mediante estudio morfométrico. En el citoplasma, las modificaciones son tanto de tipo cuantitativo como cualitativo a nivel del R.E.R., complejo de Golgi, mitocondrias y gránulos de secreción.

Introducción

La correlación existente entre las glándulas salivales y las gónadas masculinas la anunció, por primera vez, Lacassane^{11,12}, al comprobar la existencia de dimorfismo sexual en los conductos granulares de la glándula submandibular en rata, que presenta en los machos mayor desarrollo que en las hembras. Otros autores¹⁷ confirmaron, además, que tales diferencias en estos conductos no sólo eran morfológicas, sino también funcionales, ya que en el macho las glándulas submandibulares tienen una mayor capacidad enzimática proteolítica. Fue Reynolds¹³ quien observó que, tras la castración de las ratas macho, se produce una regresión espectacular en el tamaño de los citados conductos, que al cabo de 30 días toman la apariencia de los de las hembras normales; hecho confirmado también, al M.E., por diversos autores^{3, 4 y 13}. Definitivamente, la relación entre los conductos y las gónadas masculinas fue demostrada^{1,8,9 y 10} tras la administración de testosterona a ratas macho castradas y a hembras normales, observándose que sus conductos granulares toman, en pocos días, la apariencia que tienen en machos normales (figura 1). En nuestra experiencia, nos hemos propuesto estudiar si esta correlación granular, además, se extiende a las células de los acinos mucosos de estas glándulas.

Material y métodos

Hemos utilizado las glándulas submandibulares de 30 ratas Wistar macho, castradas, e igual número de ratas testigo sin castrar. Ambos grupos de animales fueron sacrificados periódicamente, desde 1 a 50 días después de la castración, distribuidos en 8 lotes de animales, pertenecientes a la misma camada y criados en igualdad de luz, temperatura y régimen alimenticio.

Las muestras se fijaron en glutaraldehído al 5 p.100, tamponado, siendo refijadas en tetróxido de osmio al 1 p.100 e incluidas en araldita (Durcupan A.C.M.). Las secciones ultrafinas se obtuvieron en un ultramicrotomo LKB III; fueron contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo. La observación se llevó a cabo en un M.E. Phillips 400; y

CARRERA ET AL.: MODIFICACIONES DE ACINI DE GLANDULAS SUBMANDIBULARES.

las imágenes, fotografiadas en film Scientia 23 D 6'59 x 9 cm. El estudio morfométrico se ha realizado sobre cortes semifinos, de 1 micra de grosor, y teñidos con azul de toluidina. Para ello, hemos utilizado el morfómetro Leitz A.S.M. Este sistema se compone de un planímetro magnético con su correspondiente plumín electrónico, adaptado a un microordenador y un impresor alfanumérico.

Resultados

Las primeras alteraciones se observaron 78 horas después de la castración, encontrando en el parénquima de estas glándulas dos imágenes totalmente diferenciadas: unos acinos aparentemente normales y otros alterados, en los que la modificación más evidente consiste en la presencia de numerosas células binucleadas, en las que se observa una densificación progresiva de los núcleos, con varios nucleolos; y en el citoplasma, una fuerte dilatación de las cisternas del R.E.R., así como lisosomas que pueden ser de gran tamaño (de hasta 7 micras de diámetro), que suelen aparecer en escaso número con un contenido finamente granular y muy denso a los electrones, o de pequeño tamaño, siendo en este caso muy abundantes, con frecuentes estructuras membraniformes, de gran densidad electrónica, que se asemejan a las figuras demielina (figura 2).

A los 7 y 9 días postcastración, las células de los acinos mucosos sufren profundas modificaciones: en esta etapa, la mayoría de las células son mononucleadas, con el núcleo localizado en la porción basal, de contornos sumamente irregulares, muy voluminoso ("gigante") con varios nucleolos (figura 3). En el citoplasma, uno de los elementos que muestra mayor grado de alteración es el R.E.R., que en unos casos aparece con las cisternas en una disposición irregular y con sus luces muy dilatadas, mientras que en otros todas sus cisternas se disponen en estratificaciones concéntricas (figuras 4 y 7)). Estas disposiciones concéntricas son muy frecuentes, pudiéndose observar hasta más de 10 por célula, habiendo alcanzado en ellas, a lo largo de la experiencia, la aparición de luces dilatadas en algunas de sus cisternas, junto a zonas de fuerte densidad electrónica que darán lugar a figuras de mielina.

A partir de los 30 días postcastración, en las células mononucleadas de los acinos, las mitocondrias muestran claros signos de tumefacción, con pérdida parcial de las crestas, siendo los granos sumamente pleomórficos. En las células binucleadas de los acinos se hace más patente el aumento del volumen nuclear, así como sus formas irregulares, conjunta-

mente con la abundancia de nucleolos. Además de estas alteraciones citológicas, se observa un segundo elemento alterativo, consistente en una modificación del lecho vascular (figura 5), donde se evidencian grandes dilataciones de las luces capilares, con extravasación de abundante plasma sanguíneo hacia los tejidos intersticiales, originándose grandes lagunas.

En los lotes correspondientes a los últimos días, los núcleos de las células binucleadas se hacen más voluminosos, con bordes tortuosos y con numerosas invaginaciones de su envoltura.

En las células mononucleadas el núcleo aumenta igualmente de tamaño y además suele presentar en su envoltura numerosas invaginaciones, que al corte se muestran como anillos que contienen estructuras citoplasmáticas (figura 6).

Para confirmar el aumento de volumen nuclear, hemos realizado un estudio morfométrico, en el que hemos tenido en cuenta el área y el diámetro máximo y mínimo, así como el análisis de la varianza de ambas magnitudes, lo que nos demuestra que existen diferencias significativas entre el grupo testigo y los lotes de experimentación, tal como nos muestran las tablas I, II, III y IV.

En ambos tipos celulares se observan alteraciones citoplasmáticas similares, evidenciándose una disociación entre las mitocondrias, que muestran signos de tumefacción, con pérdida parcial de sus crestas, y el R.E.R., cuyas cisternas aparecen muy dilatadas, de contenido homogéneo y desprovisto de ribosomas.

Los gránulos de secreción, igualmente, van a presentar dos tipos de modificaciones: una cuantitativa, ya que en los últimos lotes prácticamente han desaparecido (figura 7), y otra cualitativa, ya que a consecuencia de las alteraciones del metabolismo proteico, anteriormente descritas, aparecen con distintos tamaños y contornos irregulares, así como con numerosas imágenes de fusiones (figura 8).

Discusión

La morfología troncopiramidal de las células de los acinos mucosos, descrita por Scott y Peasse¹⁶ y Tamarin y Sreebny¹⁷ y vista por nosotros en los primeros días del experimento, se va modificando debido al aumento, y en algunos casos disminución, de sus organoides citoplasmáticos y núcleos, transformándose las células en elementos globulosos que desfiguran el contorno de los acinos, lo que motiva la presencia de un parénquima glandular totalmente atípico en los últimos lotes de experimenta-

ción, cuya arquitectura no tiene parecido con la descrita en los primeros lotes experimentales ni con la de los lotes testigo. Hemos observado un progresivo aumento del número de células binucleadas en los procesos de castración, así como ocasionales células polinucleadas, no habiendo encontrado en la literatura consultada autores que describan las alteraciones del núcleo. En todos los tipos celulares, a lo largo del experimento, se aprecia un incremento del volumen nuclear, lo que nos hace pensar en fenómenos de poliploidía, que relacionamos con las alteraciones del metabolismo proteico. Para confirmar el aumento del volumen nuclear, hemos realizado un estudio morfométrico.

En el citoplasma las modificaciones más manifiestas se evidencian en el R.E.R. Así mismo, coincidimos con Sandritter¹⁵, para quien estas alteraciones no sólo indican una disminución de la síntesis proteica, sino que también están relacionadas con procesos degenerativos celulares, sobre todo con la degeneración vacuolar. La disposición en estratificaciones concéntricas de las cisternas del R.E.R., según Blanco², está relacionada con el aumento de actividades de la síntesis proteica, adquiriendo su mayor significado cuando se transforman en figuras de mielina por autodestrucción de sus componentes membranosos. Chrétien⁵ describe en el R.E.G. las mismas alteraciones que nosotros hemos encontrado, pero localizadas en las células de los conductos glandulares, indicando que a consecuencia de las mismas se produce una alteración de la síntesis proteica, lo que nos induce a pensar que el déficit del metabolismo proteico no es localizado, sino general, manifestándose tanto en el conducto granular como en el parénquima glandular. Consideramos que las células, en un primer momento intentan paliar el déficit de síntesis de las proteínas mediante el aumento y disposición, en estratificaciones concéntricas, de las cisternas del R.E.G. Conforme éstas son incapaces de suplir dicho déficit, entran en agotamiento, pierden su relación con los ribosomas y mitocondrias y sufren profundas alteraciones, a consecuencia de las cuales se hace mucho más acusada la disminución de síntesis proteica.

El complejo de Golgi de las células de los conductos granulares, según Cutler y Chaubhry⁶ disminuye de tamaño en los animales castrados, así como como sus vesículas de condensación; hecho también observado en nuestra experiencia, en las células de los acinos. Respecto a las mitocondrias, hemos descrito una tumefacción turbia, similar a la descrita por Sandritter en procesos de anoxia celular. Coincidimos con lo descrito por Chretien⁵ en lo referente a las alteraciones de los gránulos de secreción, igualmente observadas por nosotros en los últimos lotes de experimentación; sobre todo en la disminución del número de gránulos

y en las cuantiosas fusiones que se producen entre ellos, lo que relacionamos con las modificaciones descritas en la síntesis proteica. Todo ello ocasiona una pérdida de actividad de los elementos celulares.

ESTUDIO MORFOMETRICO

Tabla I		Tabla II	
<u>Grupos</u>	<u>Células mucosas</u>	<u>Grupos</u>	<u>Células mucosas</u>
Control	85'23 + 1'44	Control	9'21 + 0'095
S ₂	100'20 + 1'56	S ₂	9'96 + 0'115
S ₅	103'90 + 1'70	S ₅	10'30 + 0'102
S ₁₀	112'74 + 2'15	S ₁₀	10'82 + 0'114
S ₁₅	118'38 + 2'12	S ₁₅	10'85 + 0'108
S ₂₀	135'25 + 1'98	S ₂₀	11'68 + 0'098
S ₃₀	113'43 + 1'69	S ₃₀	10'68 + 0'096
S ₄₀	122'35 + 2'64	S ₄₀	11'06 + 0'127
S ₅₀	129'15 + 3'13	S ₅₀	11'38 + 0'158

Tabla I. Area media nuclear de las células de los acinos mucosos de la glándula submandibular tras la castración ($\bar{X} \pm \sigma_{\bar{X}}$).

Tabla II. Diámetro mínimo nuclear de las células de los acinos mucosos de la glándula submandibular tras la castración ($\bar{X} \pm \sigma_{\bar{X}}$).

Tabla III. Análisis de varianza del área media nuclear de las células de los acinos mucosos de la glándula submandibular, tras la castración.

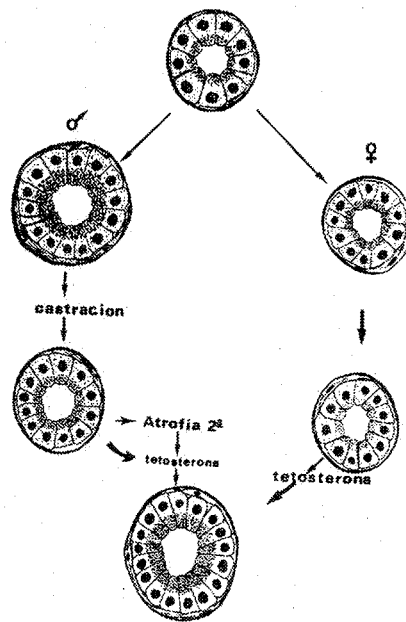
GRUPOS	S ₂	S ₅	S ₁₀	S ₁₅	S ₂₀	S ₃₀	S ₄₀	S ₅₀
Control	*	*	*	*	*	*	*	*
S ₂		N.S.	*	*	*	*	*	*
S ₅			N.S.	*	*	*	*	*
S ₁₀				N.S.	*	*	*	*
S ₁₅						N.S.	N.S.	*
S ₂₀						*	*	N.S.
S ₃₀						N.S.		*
S ₄₀								N.S.

Tabla IV. Análisis de varianza del diámetro medio mínimo de las células de los acinos mucosos de la glándula submandibular, tras la castración.

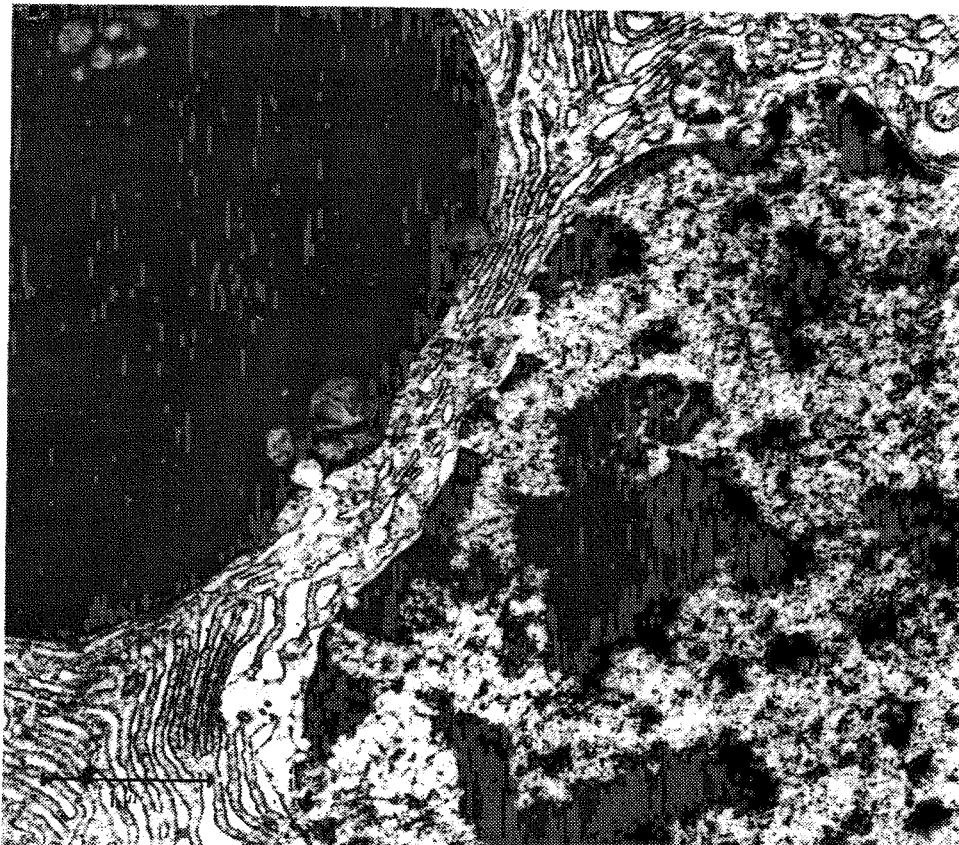
GRUPOS	S ₂	S ₅	S ₁₀	S ₁₅	S ₂₀	S ₃₀	S ₄₀	S ₅₀
Control	*	*	*	*	*	*	*	*
S ₂		N.S.	*	*	*	*	*	*
S ₅			*	*	*	*	*	*
S ₁₀				N.S.	*	N.S.	*	*
S ₁₅					*	N.S.	N.S.	*
S ₂₀						*	*	N.S.
S ₃₀							*	*
S ₄₀								N.S.

Palabras clave: * Existen diferencias significativas. N.S.= No existen diferencias significativas. S = Grupo de experimentación estudiado formado por dos animales castrados, con cuatro glándulas submandibulares.

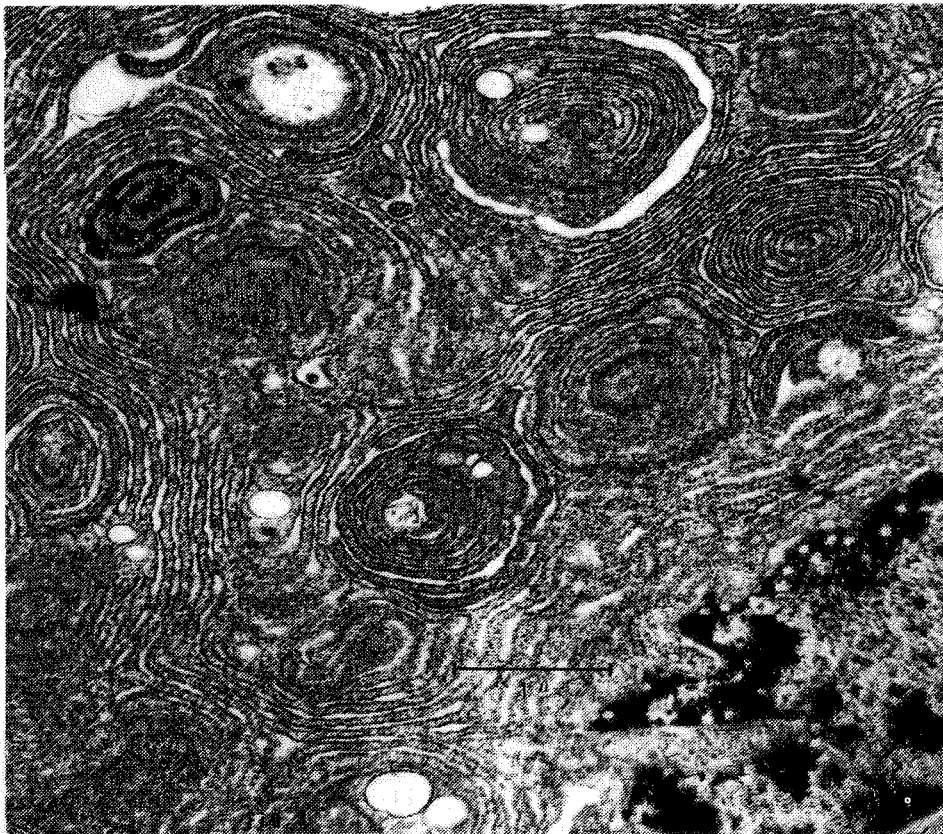
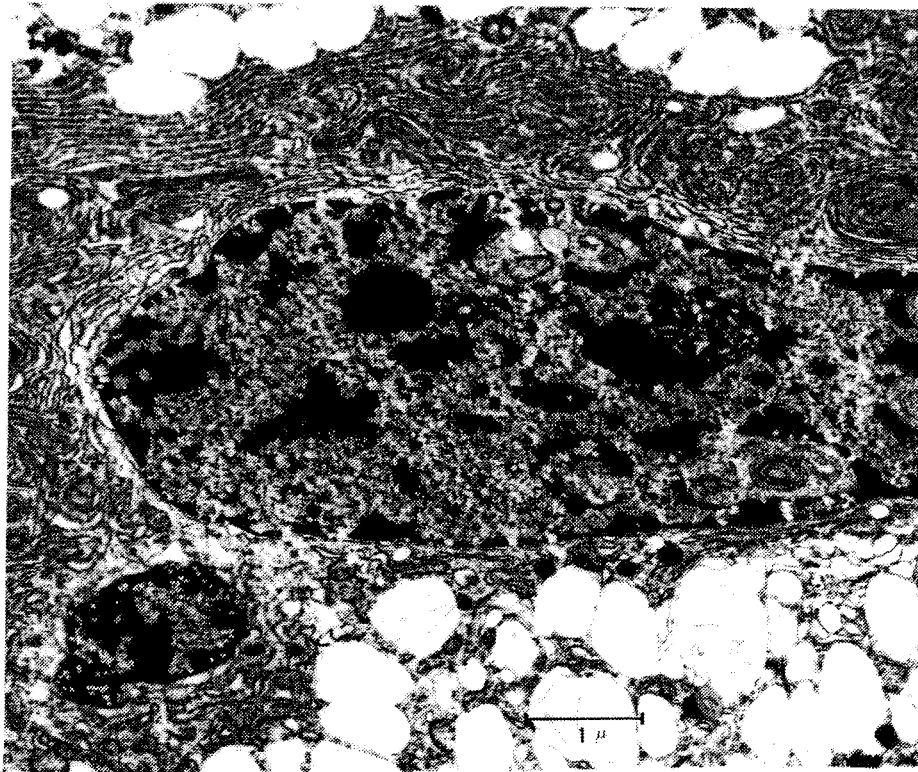
- Figura 1. Dimorfismo sexual de los conductos glandulares de la gándula submandibular. Efecto de la testosterona en estos conductos, en hembras normales, y de la castración, en machos normales.
- Figura 2. Detalle de célula mucosa con lisosoma gigante. 32.500 \emptyset .
- Figura 3. Célula mucosa que muestra un sólo núcleo gigante. 21.500 \emptyset .
- Figura 4. Detalle de célula con disposición de su retículo endoplasmático rugoso en estratificaciones concéntricas. 31.500 \emptyset .
- Figura 5. Detalle de edema intersticial con grandes dilataciones de las luces capilares y extravasación de abundante plasma sanguíneo. 29.500 \emptyset .
- Figura 6. Detalle de núcleo muy voluminoso que presenta anillo en su interior con estructura citoplasmática y un retículo endoplasmático rugoso muy dilatado con grandes lagunas y degranulación de sus ribosomas. 25.500 \emptyset .
- Figura 7. Detalle de célula mucosa que presenta un retículo endoplasmático rugoso muy dilatado, con lagunas entre sus cisternas, con un contenido homogéneo de escasa densidad electrónica y disminución cuantitativa de sus gránulos de secreción. 22.500 \emptyset .
- Figura 8. Detalle de gránulos de secreción de distinto tamaño con contornos irregulares y numerosísimas imágenes de fusión. 24.500 \emptyset .



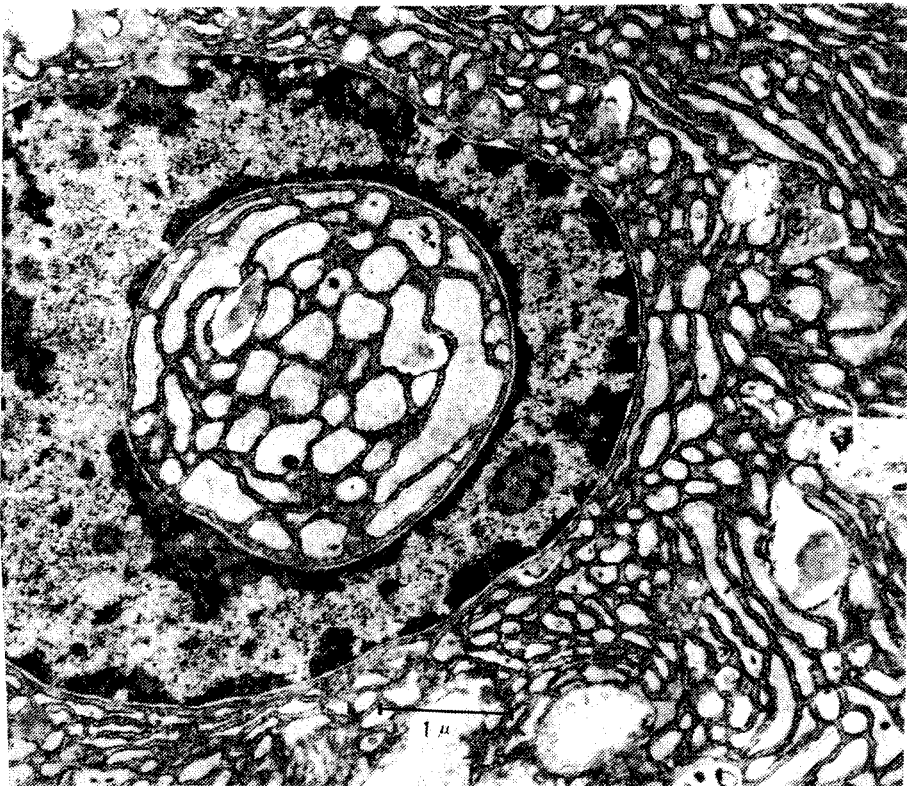
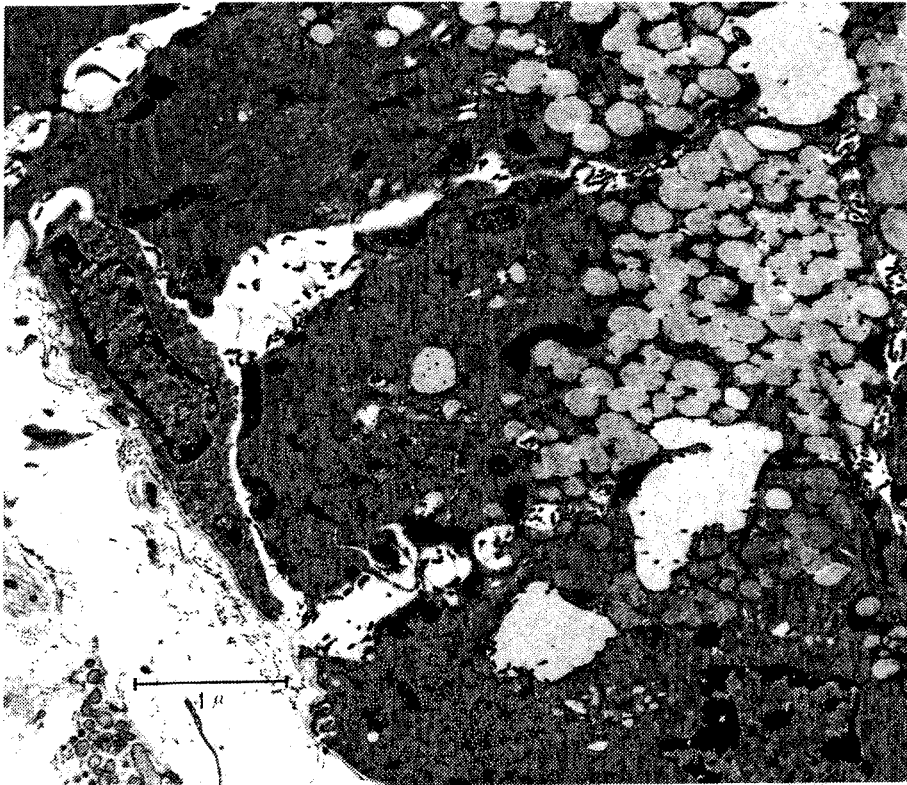
Esquema 1



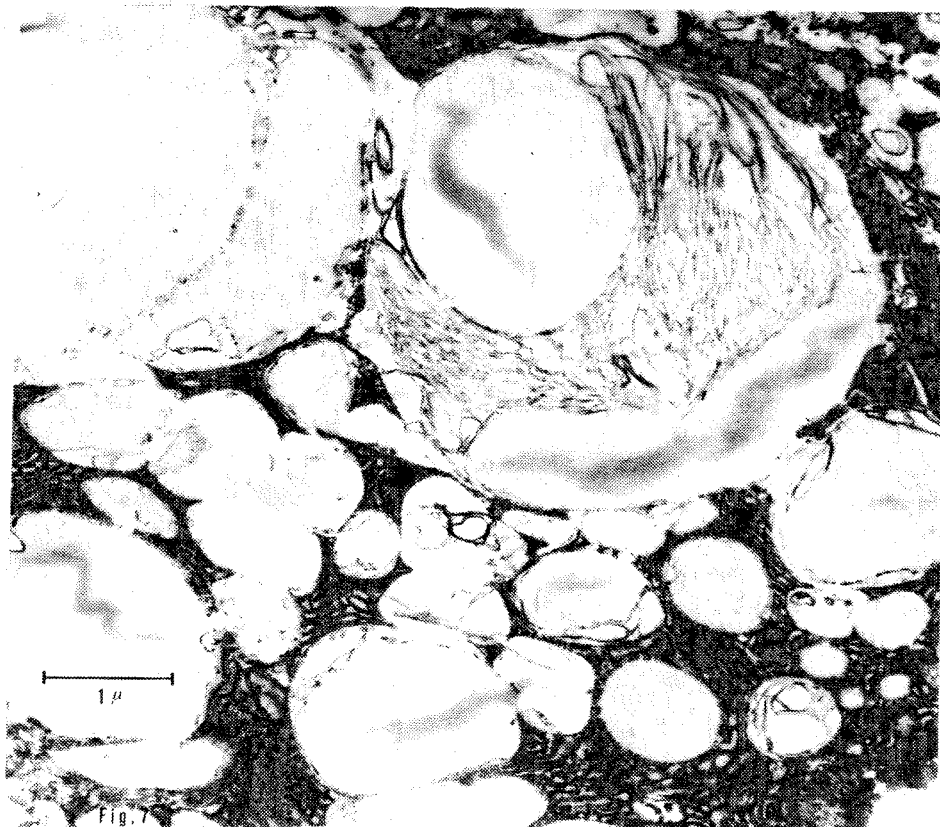
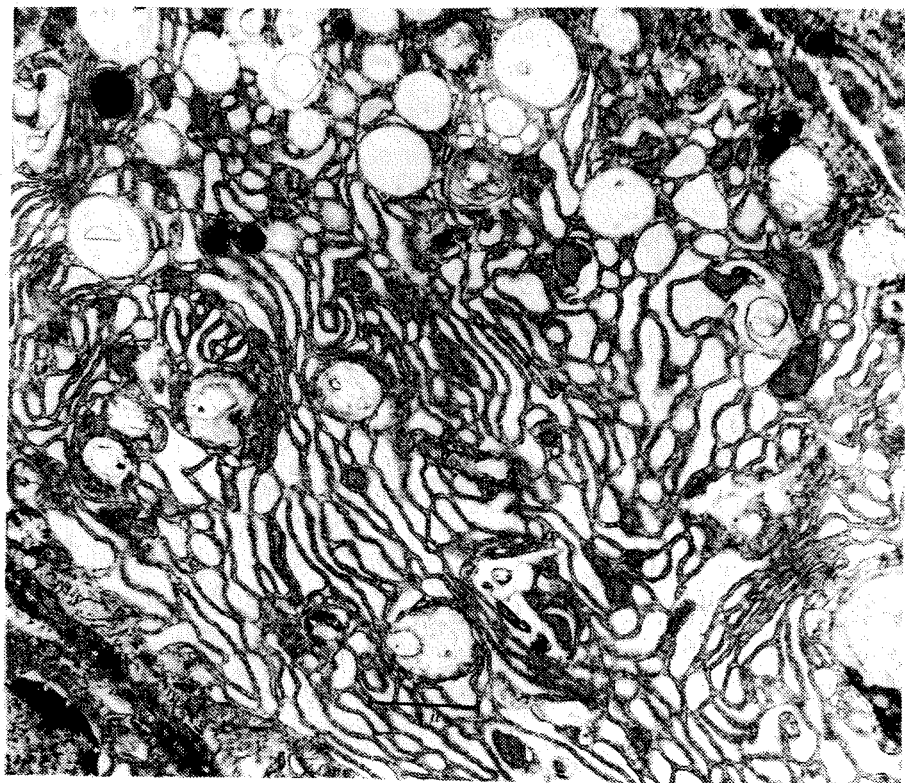
Figuras 1 y 2



Figuras 3 y 4



Figuras 5 y 6



Figuras 7 y 8

CARRERA ET AL.: MODIFICACIONES DE ACINI DE GLANDULAS SUBMANDIBULARES.

Bibliografía

1. Berkman, M.D. and A. Kronman. A histochemical study of the effects of castration and testosterone administration on the major salivary glands of Swiss mice. Acta Anat. 76, 200-219 (1970).
2. Blanco, A. Estructura y ultraestructura de la adenohipófisis del cerdo. Arch. Zootec. 22, 103-138 (1973).
3. Caramia, F. Ultrastructure of mouse submaxillary gland. I. Sexual differences. J. Ultrastr. Res. 16, 503-523 (1966 a).
4. Caramia, F. Ultrastructure of mouse submaxillary gland. II. Effect of castration in the male. J. Ultrastr. Res. 16, 524-535 (1966 b).
5. Chretien, M. Action de la testosterone sur la structure fine d'un effecteur: la glande sous-maxillaire de la souris male. I. Morphologies des tubes secreteurs avant et apres castration. J. Microscopie. 14, 35-54 (1972).
6. Cutler, L.S. and Chambhry. Cytodifferentiation of the acinar of the rat submandibular gland. Develop. Biol. 41, 31-41 (1974).
7. Dustin, P. Leçons d'anatomie pathologique générale. Paris (1966).
8. Kaiho, Nakamura and Kumegawa. Morphological studies on the synthesis of secretory granules in convoluted tubules of mouse submandibular gland. Anat. Rec. 183, 405-420 (1975).
9. Kronman and Chauncey. Hormonal influence on rat submandibular gland histochemistry. J. Dent. Res. 42, 520-527 (1964).
10. Kronman and Spinale. A histochemical study of testosterone induced changes in the submandibular and sublingual gland of mice. Amer. J. Nat. 117, 217 (1965).
11. Lacassagne, A. Dimorphisme sexual de la glande sous-maxillaire chez la souris. C.R. Soc. Biol. T. 133, 180-181 (1940).
12. Lacassagne, A. Mesure de l'action des hormones sexuelles sous-maxillaire chez la souris. C.R. Soc. Biol. 133, 227-228 (1940).
13. Renaud, J. Etat du developpement du segment tubuleux de la glande sous-maxillaire chez les souris castrés à la naissance. Ann. d'Endocrinol. 5, 94 (1944).

14. Sreebny, Mebr, Bachem and Weinmann. Postnatal changes in proteolytic activity and in the morphology of the submaxillary gland in male and female albino rats. Growth, 19, 57-74 (1955).
15. Sandritter, W. Histopatología. E. Científico Médica. Barcelona (1974)
16. Scott y Peasse. Electron microscopy of induced changes in the salivary gland of the rat. Salivary glands and secretions. Int. Ser. Monogr. Oral Biology. Pergamon Press, 3, 13-44 s.d.
17. Tamain y Sceebing. The rat submaxillary gland: a correlative study by light and electron microscopy. Journal Morph. 117, 295-352 (1965).