

APORTACIONES AL ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LA
MEDULA ADRENAL DE RATON BLANCO (*MUS MUSCULUS*)

(ELECTRON MICROSCOPICAL STRUCTURE OF THE ADRENAL MEDULLA IN
THE WHITE MOUSE)

por

GAZQUEZ ORTIZ, A., A. BLANCO RODRIGUEZ, A. JOVER MOYANO, T. MOYANO NAVARRO,
C. GARCIA ALFONSO, F. GRACIA NAVARRO, L. MOYA JIMENEZ y M. A. SIERRA PLANA*

Introducción

La médula adrenal de los animales mamíferos es considerada por Melmon (1974) como un traductor neuroendocrino, debido a que a ella llegan fibras nerviosas preganglionares que inervan sus células glandulares, las cuales convierten el impulso nervioso en hormonal.

Los primeros estudios realizados, desde el punto de vista ultraestructural, de las células de médula fueron los de Lever (1955) en rata. Estos estudios dieron lugar a una discusión en cuanto a diferenciar los distintos tipos celulares que se encuentran en médula adrenal, de tal modo que Eranko y Hanninen (1960) describen tres formas de células cromafines; Michelbechet y col. (1963) describen cuatro tipos de células. Sin embargo otros autores determinan sólo dos tipos, entre ellos Wetzstein (1957), que expone que los demás tipos son diferentes estados funcionales.

En los últimos años años se ha intentado estudiar la secreción de la médula adrenal. Diner (1967) describe el acercamiento de los gránulos cromafines hacia la membrana citoplasmática y su fusión con la membrana de los gránulos. Esta teoría ha sido respaldada por los estudios de numerosos autores (De Robertis y Vaz Ferreira, 1957; De Robertis y Sabatini, 1960, y Beneczky y Smith, 1971).

* Universidad de Córdoba. Facultad de veterinaria. Departamento de Morfología. Córdoba (España).
Recibido para publicación el 20-4-76.

En el presente trabajo, estudiaremos la médula adrenal de ratón blanco (*Mus musculus*) desde el punto de vista de su ultraestructura, intentando relacionar los organoides citoplasmáticos implicados en el mecanismo de secreción.

Material y métodos

En este trabajo, hemos utilizado como material de estudio glándulas adrenales de ratón blanco (*Mus musculus*) adulto, de peso que oscila entre 40-50 g. El número de animales sacrificados ha sido de 10, dispuestos en dos lotes de 5 individuos.

El sacrificio de los ratones se realizó mediante decapitación e inmediatamente se extrajo la médula adrenal que fue fijada en glutaraldehído al 5 p. 100 tamponado según el proceder de Sabatini y col. y se refijaron en tetróxido de osmio. La deshidratación se realizó en acetona, y el paso de acetona de 70° contiene acetato de uranilo. La inclusión fue hecha en Durcupan A. C. M. (araldita).

Obtenidos los bloques se realizaron los cortes de 400 a 500 Å de espesor, en un ultramicrotomo L. K. B. El contraste de los cortes se efectuó posteriormente con acetato de uranilo y citrato de plomo. Han sido observados y electrografiados dichos cortes en un microscopio electrónico Philips modelo 300 del Servicio de Microscopía Electrónica de la Facultad de veterinaria de Córdoba.

Observaciones

Las células parenquimatosas de médula adrenal de ratón blanco se disponen a manera de cortos cordones y acúmulos de células que se encuentran rodeados por una trama de tejido conectivo con gran abundancia de fibras colágenas que adoptan diferentes direcciones en el espacio. Rodeando a los grupos de células cromafines se localiza una red de capilares cuyas paredes están formadas por células endoteliales.

El citoplasma de las células endoteliales presenta discontinuidades a manera de fenestraciones, en donde se observan un delgado diafragma. En la membrana citoplasmática podemos observar la formación de vesículas de pinocitosis, que desprendiéndose de ella se introducen hacia

el citoplasma. El núcleo es alargado y la cromatina se dispone a manera de gruesos grumos adosados a la envoltura nuclear. El complejo de Golgi es yuxtannuclear y está constituido por sacos aplanados y microvesículas de contenido claro. El retículo endoplásmico, de variedad granular, se localiza disperso por todo el citoplasma, formado por cortas cisternas y en escaso número. El hialoplasma es poco opaco a los electrones, donde se aprecian en pequeño número polirribosomas. Rodeando la célula endotelial se observa una membrana basal moderadamente electrodensa. El espacio limitado por la membrana basal y citoplasmática de las células cromafines, se halla constituido por una trama de fibras colágenas y a veces apreciamos células histiocitarias

Las células parenquimatosas de médula adrenal de ratón blanco, por sus características morfológicas, las podemos dividir en dos tipos: células A (productoras de adrenalina) y células NA (productoras de noradrenalina).

1. Células A (productoras de adrenalina).

Las células A, de un tamaño de 8-10 micras, presentan una morfología poliédrica y a veces oval. En el núcleo, más o menos esférico, se dispone la cromatina, por una parte, en pequeños grumos, adosados a la envoltura nuclear o dispersos por todo el nucleoplasma, y por otra parte, en un granulado homogéneo que ocupa todo el núcleo, cuando se observa, se localiza en las proximidades de la envoltura nuclear, en la que podemos apreciar numerosos poros (ver fig. n.º 1).

Al estudiar detenidamente los organoides del sistema vacuolar citoplasmático, podemos apreciar un retículo endoplasmático de variedad granular constituido por cortas cisternas dilatadas en las que se adosan ribosomas, disponiéndose por todo el volumen celular (ver fig. n.º 1).

El complejo de Golgi, de localización yuxtannuclear, se constituye por sacos aplanados, cisternas y microvesículas. En sus proximidades hemos observado gránulos de secreción de diferente densidad electrónica y rodeados por una membrana, que se forma a partir de los sacos aplanados o cisternas del complejo de Golgi. Rodeando a éste se observan mitocondrias (ver fig. n.º 6).

Las mitocondrias, de formas alargadas, presentan una cámara externa de contenido claro y una cámara interna que alberga una matriz poco densa a los electrones, en la que se proyectan unas crestas de morfolo-

gía laminar. Se encuentran en escaso número y dispersas por todo el volumen celular (ver fig. n.º 1),

Dispersos por el citoplasma, se aprecian microtúbulos, rodeando a las mitocondrias (ver fig. n.º 1). Asimismo se encuentran microcuerpos osmiófilos, con una membrana aparente, de dimensiones 270 \AA de ϕ , en número de 2 a 4 por célula (ver fig. n.º 1).

En las cercanías del complejo de Golgi, observamos dos cuerpos basales de los que parte un cilio de configuración $9 + 2$ que se proyecta hacia la superficie celular (ver fig. n.º 5 y 7).

Las células A presentan un hialoplasma escasamente denso a los electrones.

Las células A presentan unos gránulos de secreción de aspecto esférico, con un contenido granular y moderada electrodensidad, aunque se observan gránulos con material poco denso junto a otros de densidad mayor; en cuanto a la forma, suele ser esférica, pero podemos encontrarla oval o más o menos irregular. Todos ellos presentan una membrana envolvente muy electrodensa y en algunos puntos parece observarse una verdadera unidad de membrana (dos capas densas a los electrones y una clara), de dimensiones entre $80-90 \text{ \AA}$ de espesor. El diámetro medio de los gránulos de secreción, entre $200-250 \text{ \AA}$. Los gránulos se localizan dispersos por todo el volumen celular (ver fig. n.º 3).

La membrana citoplasmática tenemos que estudiarla teniendo en cuenta dos regiones celulares:

a) las zonas de contacto entre células parenquimatosas, en las que observamos desmosomas.

b) zonas próximas a las células endoteliales, en las que se presentan, a veces, prolongaciones de la membrana a modo de microvellosidades.

Cuando la membrana citoplasmática contacta con vesículas sinápticas, aquélla presenta interdigitaciones y desmosomas para mejor y mayor contacto con la membrana de la vesícula sináptica. Esta, en su interior, contiene microvesículas de contenido claro y de contenido electrodensa; asimismo, mitocondrias de crestas laminares que se introducen en una matriz poco opaca a los electrones (ver fig. n.º 12).

En las proximidades y junto a la membrana citoplasmática existen gránulos de secreción que llegan a contactar su membrana envolvente con la citoplasmática, dando lugar a la expulsión del contenido electrodenso del gránulo fuera del citoplasma celular.

Al observar la expulsión de los gránulos de secreción, debemos estudiar en primer lugar la zona de contacto entre células glandulares: esta zona, durante la expulsión de los gránulos, no varía de espesor, siendo de 100-150 Å, tan sólo la membrana citoplasmática presenta pequeñas invaginaciones (ver fig. n.º 13, 14, 15 y 16).

En segundo lugar, en la zona aquella en que la membrana citoplasmática contacta con la región subendotelial, hemos observado que la membrana citoplasmática presenta invaginaciones, así como existen gránulos de secreción expulsados con su membrana envolvente (ver figuras 2, 3 y 15).

Hemos observado, en la membrana citoplasmática externa de la célula endotelial, que presenta una pequeña excavación, la cual alberga un gránulo de secreción. De igual manera hemos encontrado gránulos, con su membrana envolvente en el interior del citoplasma endotelial. Junto a las fenestraciones de la célula endotelial y en la luz del capilar sinusoidal se aprecian gránulos de secreción, presentando en ambas localizaciones membrana envolvente. (Ver figs. 8, 9, 10, 11 y 12).

Los gránulos que se encuentran en el espacio subendotelial, los intraendoteliales y los hallados en la luz capilar presentan una morfología y dimensiones idénticas a los gránulos de secreción intracitoplasmáticos.

2. Células NA (productoras de noradrelina).

Las células de tamaño 8-10 micras presentan una morfología parecida a las anteriormente citadas. El núcleo, de disposición central, dispone su cromatina de forma idéntica a las de las células A, observándose en su envoltura nuclear numerosos poros (ver fig. 4).

El complejo de Golgi, de localización yuxtannuclear, adopta una morfología idéntica al de las células A; de igual modo observamos en las proximidades gránulos de secreción de diferente electrodensidad.

Las mitocondrias, más o menos alargadas, presentan unas crestas laminares que se introducen en una matriz poco densa a los electrones y se localizan por todo el volumen celular.

También, en estas células, hemos encontrado microtúbulos, pero en escaso número. Así mismo se observan microcuerpos osmiófilos de dimensiones 270 Å de ϕ , rodeados por una membrana envolvente, disponiéndose de 2 a 4 por célula. La presencia de cilios ha sido observada siendo de configuración 9 + 2.

El hialoplasma, en estos elementos celulares, se aprecia muy denso a los electrones, constituido por una sustancia homogénea.

Los gránulos de secreción, de forma esférica u oval, se localizan ex-céntricamente en el interior de su membrana envolvente. El material granular que se observa es muy denso a los electrones. La membrana envolvente que rodea al gránulo parece estar representada por una membrana unidad. Las dimensiones medias de los gránulos oscila entre 200-300 Å de ϕ (ver figs. 4 y 14).

La membrana citoplasmática de las células NA presenta idénticas características que las de las células A. Así como ha sido observado en las primeras los gránulos de secreción en zonas periféricas, se disponen junto a la membrana citoplasmática y en contacto con ella, dando lugar a la expulsión del contenido electrodenso de dichos gránulos al espacio extracelular.

Discusión.

Es un hecho comprobado la síntesis de adrenalina y noradrenalina por parte de las células de médula adrenal (Melmon, 1974). Wetzstein (1957) identificaba cada una de las células precursoras de dichos principios activos por sus características morfofuncionales; a idénticas conclusiones hemos llegado utilizando como material de estudio médula adrenal de ratón blanco.

A diferencia de Greep (1975) creemos que los vasos capilares de la médula adrenal se constituyen por sinusoides y estamos de acuerdo con Rhodin (1974) al identificar las células endoteliales como células del sistema retículo endotelial.

La síntesis de principios activos de las hormonas adrenalina y noradrenalina se realiza según el esquema general descrito por Palade (1956), en el que el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi intervienen activamente.

Coupland (1965), Diner (1967) y Benecky y Smith (1972) han expuesto que la secreción de las hormonas de las células A y NA se realiza por exocitosis, por el contrario nosotros encuadramos este proceso como células de secreción «endoplasmocrina»; término que ha sido utilizado por Rhodin (1971) al estudiar la secreción de los elementos celulares de corteza adrenal de rata sometidas a la administración de dexametasona y ACTH.

La presencia de gránulos en el citoplasma de las células endoteliales, hecho que no ha sido señalado por autor alguno, pensamos que se deba a un proceso aislado de fagocitosis por parte de las células endoteliales y no a un modo normal de salida al torrente sanguíneo de las hormonas adrenalina y noradrenalina. Sin embargo creemos que el modo habitual se realiza por las fenestraciones del citoplasma de la célula endotelial.

Resumen

En el presente trabajo se estudia la diferente morfología, al microscopio electrónico, de las células A y NA de la médula adrenal del ratón blanco (*Mus musculus*) y el mecanismo de secreción de los elementos celulares cromafines.

Summary

In this paper, an electron microscopic study of the morphology of the cells A and Na of the adrenal medulla of white mouse (*Mus musculus*) was carried out and the origin and fate of the secretory granules is discussed.

Bibliografía

- Al-Lami, F. 1970.—Follicular Arrangements in Hamster Adrenomedullary cells; Light and electron microscopic study. *Anat. Rec.* 168: 161-178.
- Benedeczky, I. y A. D. Smith 1972.—Ultrastructural studies on the adrenal Medulla of Golden Hamster: Origin and fate of secretory granules. *Z. Zellforsch.* 124: 367-386.

- Bloodworth, J. M. B. y K. L. Powers, 1968.—The ultrastructure of the normal dog adrenal. *J. Anat.* 102: 457-476.
- Coupland, R. E., 1965.—Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. *J. Anat.* 99: 231-254.
- Diner, O. 1967.—L'expulsion de granules de la médulla surrénale chez le Hamster. *C. R. Acad. Sc. Paris.* 265: 616-619.
- Greep, R. O., 1975.—Histología. Edt. El Ateneo. Barcelona.
- Hortnagl, H., H. Winkler y H. Lochos, 1972.—Membrane proteins of chromaffin granules. *Biochem. J.* 129: 187-195.
- Jover, A. y A. Blanco, 1972.—Presencia de cilios en la adenohipófisis del cerdo. *Arch. zootec.*
- Krau, R. y J. Martinez, 1972.—Nerve Ending in the adrenal Medulla under normal and experimental conditions. *Folia Morph.* N. 3, 22: 231-235.
- Magalhaes, M. M. y M. C. Magalhaes, 1971.—Microbodies (peroxisomes) in rat adrenal cortex. *J. Ultr. Res.* 37: 563-573.
- Palade, G. E., 1956.—The endoplasmic reticulum. *J. biophys. biochem. Cytol.* 2 Supl. 85-98.
- Plattner, H., H. Wikler, H. Hortnagl y W. Pfaller, 1969.—A study of the adrenal Medulla and its subcellular organelles by the freeze etching Method. *J. Ultr. Res.* 28: 191-202.
- Rhodin, J. A. G. 1974.—Histology. Oxford University Press. London.

Iconografía

Figura 1.—Célula A. Se observa su núcleo esférico (N). Las mitocondrias (M) alargadas con crestas laminares, el retículo endoplasmico (REr) rugoso dilatado, y dispersos por el citoplasma microtúbulos (mt). Se aprecian numerosas vesículas sinápticas (vs) rodeando la célula.

Figura 2.—Detalle de la figura 1. Nervio amielínico y en la membrana citoplasmática de la célula se observan diversos gránulos de secreción.

Figura 3.—Detalle de la célula A. Diversos gránulos en las proximidades de la membrana.

Figura 4.—Célula NA. Se observa su núcleo (N) con la cromatina adosada a la envoltura nuclear. El retículo endoplasmático está dilatado (REr). El hialoplasma es muy denso.

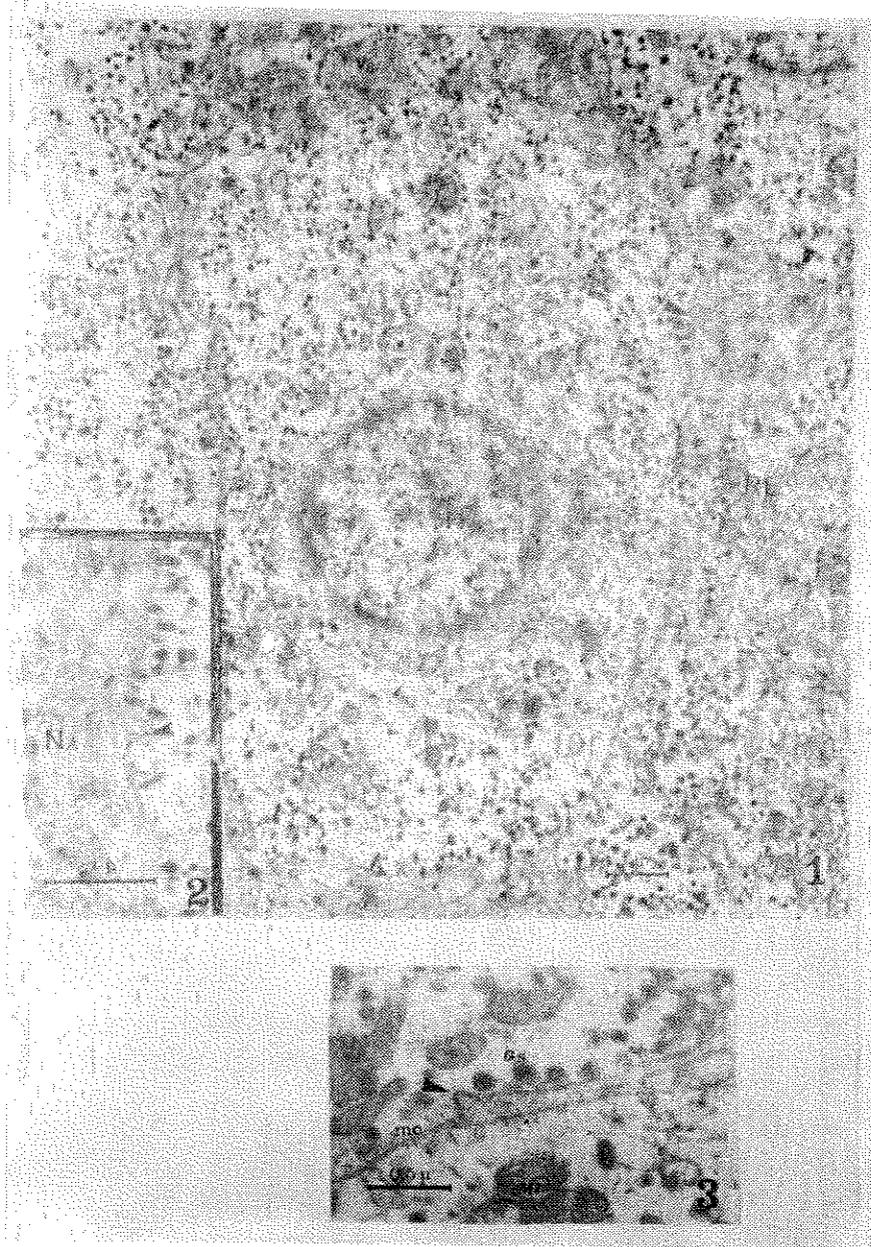
Figura 5.—Detalle de la célula NA. Cuerpos multivesiculares (CM) y un cilio (C) en las proximidades del núcleo.

Figura 6.—Complejo de Golgi: en las proximidades de sus cisternas se observan gránulos de secreción de diferente electrodensidad. También se observa un centriolo (CE).

Figura 7.—En la región de Golgi se observan dos cuerpos basales de los que emerge un cilio (CC).

Figura 8.—Se observa en el citoplasma de la célula endotelial un gránulo de secreción; y en el espacio subendotelial, fibras de colágena (CO).

GAZQUEZ: ULTRAESTRUCTURA DE LA MEDULA ADRENAL DEL RATON.



GAZQUEZ: ULTRAESTRUCTURA DE LA MEDULA ADRENAL DEL RATON.



GAZQUEZ. ULTRAESTRUCTURA DE LA MEDULA ADRENAL DEL RATON.

Figura 9.—Observéanse gránulos de secreción en el espacio subendotelial y en la luz del capilar.

Figura 10.—Se observa un gránulo de secreción en una excavación de la membrana externa de la c. endotelial, también numerosos gránulos en el espacio subendotelial.

Figura 11.—Salida de varios gránulos por un poro de la célula endotelial; también se observa una vesícula sináptica (Vsp).

Figura 12.—Detalle de una vesícula sináptica. Se observan la microvesícula de contenido claro y alguna de contenido electrodenso. Se aprecian también mitocondrias y numerosos desmosomas.

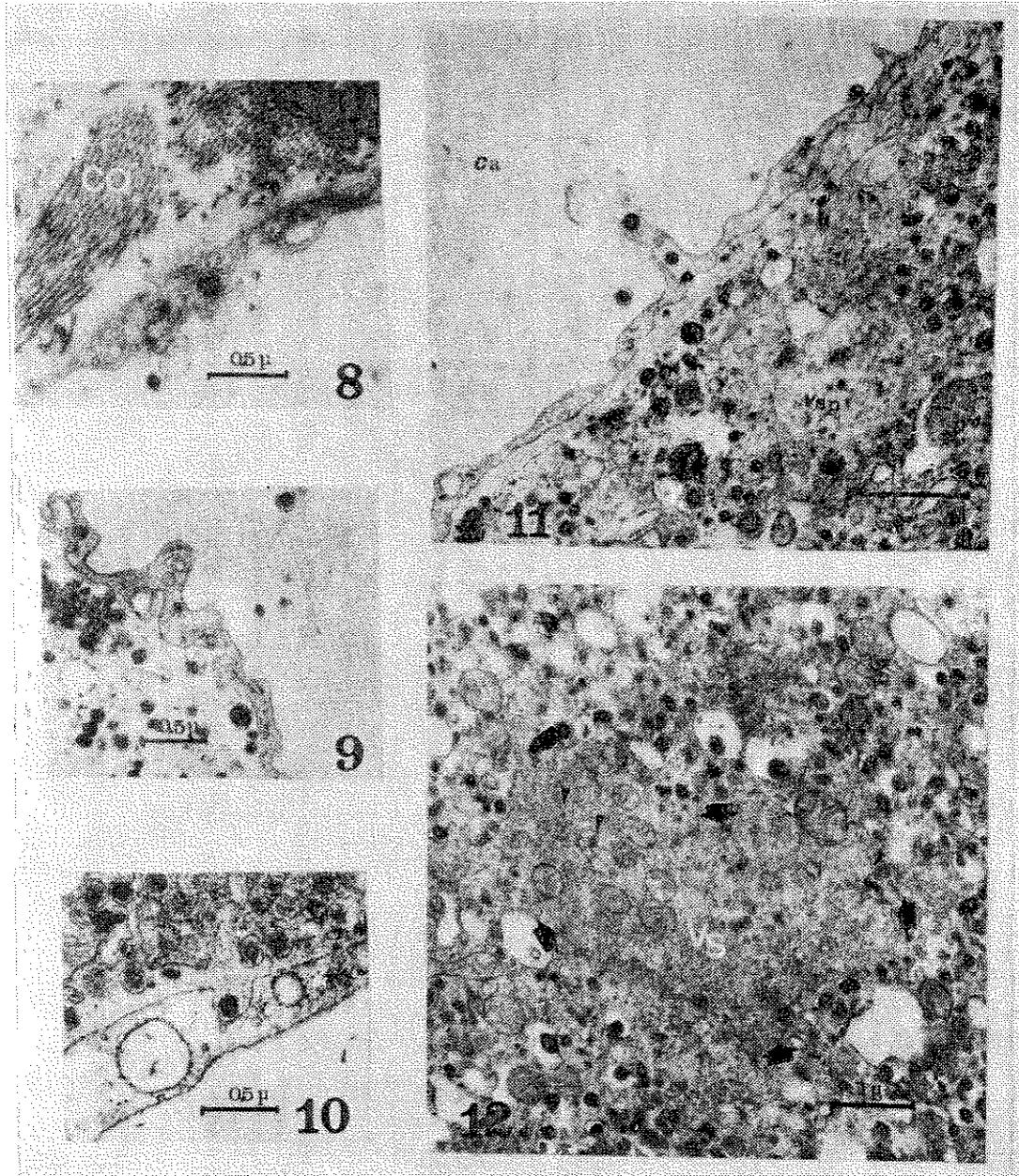
Figura 13.—En el espacio intercelular de dos células A, se aprecia la salida de algunos gránulos de secreción.

Figura 14.—Detalle de células NA. Expulsión de gránulos de secreción al espacio subendotelial.

Figura 15.—Detalle de células NA. Se aprecia la imagen final de salida de los gránulos de secreción.

Figura 16.—Detalle de célula NA. Secreción de sus granulaciones.

GAZQUEZ: ULTRAESTRUCTURA DE LA MEDULA ADRENAL DEL RATON.



GAZQUEZ. ULTRAESTRUCTURA DE LA MEDULA ADRENAL DEL RATON.

