

1987 - B

REG. No. 084856584

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA NEUROHIPOFISIS DE LA
MUTANTE DE RATON " NUDE MOUSE " (Balb / c
An Bom Df Nu / Nu) DURANTE SU DESARROLLO POSNATAL.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

GABRIELA RAMOS PRECIADO

Las Agujas, Mpio. de Zapopan, Jal. Oct. 1993

ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA
NEUROHIPOFISIS DE LA MUTANTE
DE RATON "NUDE MOUSE" (Balb/c
Ar Bom Df Nu/Nu) DURANTE SU
DESARROLLO POSNATAL.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Morfología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara en colaboración con el Laboratorio de Neuropatología de la Unidad de Investigaciones Biomédicas de Occidente del IMSS, bajo la asesoría y dirección del M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.

... A DIOS, por darme el don de la vida y el amor a ella:

GRACIAS !

... A mis PADRES, por darme la oportunidad de crecer con una carrera profesional, por sus sacrificios y preocupaciones, por su apoyo e infinita paciencia. Con todo cariño, admiración y respeto:

GRACIAS !

... A mis HERMANOS, por enseñarme el valor de compartir, por su ayuda en cada momento, por su cariño y amistad.
Sinceramente:

GRACIAS !

... A ti HUGO ALFONSO, con todo mi amor, por estar a mi lado en cada momento brindándome tu gran apoyo, tu comprensión, tu compañía, por tu ayuda, por tu paciencia. Por formar parte de este trabajo, por tener siempre la palabra "ánimo" que me ha ayudado en los momentos más difíciles. Por caminar de la mano, por permitirme apoyarme en ti.
Por tu amor:

GRACIAS !

A MIS PADRES
A HUGO ALFONSO

Indice

CONTENIDO	PAGINA
Copia de la portada	i
Lugar de realización	ii
Agradecimientos	iii
Dedicatoria	iv
Indice	v
Introducción	1
Antecedentes	6
Justificación	15
Hipótesis	18
Objetivos	20
Material y Método	22
Resultados	25
Discusión	56
Conclusión	85
Apendices	87
Bibliografía	96
Carta de aceptación de tesis	101
Carta de terminación de tesis	102
Carta de aprobación para impresión de tesis	103

INTRODUCCION

Generalidades de Hipófisis

Por debajo del diencéfalo se encuentra un órgano pequeño pero de importancia fundamental. Es el principal órgano endócrino del cuerpo y se llama glándula pituitaria o hipófisis. En casi todos los vertebrados los tejidos de la hipófisis forman una masa compacta, contenida en una depresión: la silla turca (2,18,22,33). Esta estructura se encuentra en la cara superior del cuerpo del hueso esfenoides, situada en la base del cráneo, en contacto con el hipotálamo y cerca del quiasma óptico. La parte superior de la silla turca se separa de la cavidad craneal por una extensión de la duramadre, que se denomina diafragma de la silla, a través de la cual penetra el tallo hipofisario y los vasos sanguíneos que lo acompañan (10,44).

En realidad esta glándula es doble, cada porción tiene un origen embriológico distinto y funciona de manera diferente. Una porción se origina a partir del encéfalo del embrión, se extiende hacia abajo para formar una prolongación hueca digitiforme llamada infundíbulo. Para la formación de la segunda porción al mismo tiempo crece hacia arriba desde la boca del embrión, una bolsa del ectodermo llamada bolsa hipofisaria o de Rathke (18,33), que se extiende hacia la base del cerebro, en donde se une con una prolongación del piso del tercer ventrículo, destinada a ser la neurohipófisis que proviene del infundíbulo, y origina el tallo neural y la pars nervosa (10,22,44), (ver figura A).

El origen de la hipófisis anterior en el epitelio faríngeo explica el carácter epiteloide de sus células, mientras que el origen de la hipófisis posterior en el tejido nervioso explica la presencia de gran número de células de tipo glial en esta glándula (14), (ver figura B).

Aunque se han dado varios nombres a las divisiones de

la glándula hipófisis suelen distinguirse dos partes o lóbulos de acuerdo con los orígenes embrionarios del órgano. Se denominan: adenohipófisis, procedente de la bolsa hipofisaria, y neurohipófisis, formada a partir del tejido cerebral. La mayor parte de la adenohipófisis es la pars distalis o lóbulo anterior. Puede distinguirse, sobre todo en los mamíferos, una pars tuberalis que se encuentra alrededor del tallo del infundíbulo y una pars intermedia o lóbulo medio que puede estar unido con la parte neural de la glándula. La neurohipófisis está formada por el lóbulo neural o posterior, en algunas especies, pero el infundíbulo puede considerarse también como parte de la neurohipófisis (33).

La estructura de la hipófisis varía mucho entre algunos vertebrados inferiores. En los urocordados se encuentra un ganglio nervioso embebido en el manto entre los sifones, en el lado ventral del ganglio se localiza la glándula adneural o neural, que algunos investigadores consideran homóloga de la hipófisis, en particular de la pars nervosa, de los vertebrados superiores (18).

Se ha examinado la región cefálica del anfioxus. Las evidencias sugieren que una depresión ectodérmica, la foseta preoral, que se encuentra por delante de la boca de los individuos jóvenes, podría ser homólogo de la hipófisis (10,29).

En la lamprea no hay lóbulo neural como tal, su homólogo es simplemente una placa de tejido en el piso del diencéfalo. La adenohipófisis está formada de tejido proveniente de un tubo que se origina de la abertura nasal y se dirige hacia atrás por debajo del cerebro.

En los peces cartilagosos se encuentra un infundíbulo bien reconocible y un lóbulo neural bien formado. En éstos y en casi todas las demás especies superiores, la bolsa hipofisaria está cerrada y existe una adenohipófisis muy clara, en el tiburón y en los peces de

aletas de radio, no se encuentran subdivisiones claras de esta parte de la glándula.

En los peces pulmonados y en la mayor parte de los cuadrúpedos existe además del lóbulo anterior un lóbulo medio o pars intermedia bien diferenciado; en cambio la pars tuberalis es relativamente poco frecuente (33).

Excepto en algunos detalles pequeños, las glándulas hipófisis de otros vertebrados son básicamente semejantes.

Las aves, cetáceos, elefantes de la India y armadillos, carecen de lóbulo intermedio; sin embargo, sus glándulas secretan intermedina, la cual parece derivarse de la porción de la adenohipófisis que es adyacente al lóbulo posterior (43). La intermedina es producto único de la pars intermedia y su efecto es ejercido sobre los cromatóforos, particularmente en los animales poiquiloterms (2), (ver figura C).

Casi toda la secreción de la hipófisis es controlada por señales transmitidas desde el hipotálamo, que ejerce influencia sobre la hipófisis y en consecuencia sobre toda la actividad endócrina. Esta influencia se ejerce a través de: 1) vías nerviosas hacia la pars nervosa de la adenohipófisis, y 2) la combinación de una vía neural y una ruta vascular hacia la adenohipófisis. Estas influencias hipotalámicas están reguladas por interacciones recíprocas de muchas estructuras periféricas (hipófisis y glándulas endócrinas), por medio de sistemas de retroalimentación negativa y positiva. El sistema hipotálamo-hipofisario muestra características tanto de glándula endócrina como de estructura nerviosa: un lugar para la formación de productos de secreción (núcleos), una ruta para transportar los productos (tracto nervioso), y un órgano terminal para el almacenamiento y la liberación de las secreciones hormonales. Estas hormonas (entre otras) son los octapéptidos vasopresina (hormona antidiurética ADH) y oxitocina. El hipotálamo influye sobre la adenohipófisis a

través del sistema portahipofisario. No existen conexiones neurales entre el hipotálamo y el lóbulo anterior de la hipófisis, de hecho, este lóbulo ha sido descrito como una glándula desprovista de inervación, aunque bajo control neural a través del sistema porta-hipofisario (26).

La secreción de la hipófisis posterior está controlada por fibras nerviosas, originadas en el hipotálamo, que acaban en la hipófisis posterior. En contraste, la secreción de la hipófisis anterior está controlada por hormonas llamadas factores u hormonas hipotalámicas de liberación y de inhibición, secretadas dentro del propio hipotálamo y luego conducidos a la hipófisis anterior por vía de vasos portales hipotalámico-hipofisarios (ver figura D).

El hipotálamo recibe señales procedentes de casi todas las fuentes del sistema nervioso; es un centro de convergencia de información relacionada con el bienestar del cuerpo, a su vez mucha de esta información se utiliza para controlar la secreción de la hipófisis (14).

ANTECEDENTES

Neurohipófisis

La neurohipófisis incluye la eminencia media del tubex cinereum, el tallo infundibular y la prolongación infundibular (pars nervosa). Estas tres porciones tienen las mismas células características así como la misma inervación, riego sanguíneo, y contienen el mismo principio hormonal activo. A la neurohipófisis la inervan unas 100,000 fibras nerviosas amielínicas que constituyen el haz hipotálamo-hipofisario. Sus cuerpos celulares se encuentran en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo (3,22,33). La neurohipófisis tiene una subdivisión anterior, la eminencia media (no identificada en formas inferiores a los peces pulmonados) y una subdivisión posterior o ventral, la parte nerviosa (o lóbulo posterior de la glándula). La neurohipófisis difiere de las demás glándulas endócrinas en que está constituida principalmente por fibras nerviosas largas, que se originan en el hipotálamo. Su función es almacenar y liberar hormonas al flujo sanguíneo, elaboradas en el hipotálamo y transferidas a la neurohipófisis por una neurosecreción (18).

Las neuronas de los núcleos supraóptico y paraventricular son neurosecretoras y elaboran sustancias transportadas a lo largo de las fibras nerviosas amielínicas del haz hipotálamo-hipofisario hasta la terminación de éstas en la pars nervosa. En este lugar la secreción se acumula en las terminaciones nerviosas que se encuentran en íntima relación con la red capilar (42). Con el microscopio electrónico de transmisión se observa que las terminaciones nerviosas tienen gránulos rodeados de membrana con un diámetro de 100 a 200 nm. Estos gránulos de neurosecreción, forman grupos que se pueden ver al microscopio óptico como cuerpos de Herring (22). Esencialmente los cuerpos de Herring contienen tres distintos elementos: gránulos de neurosecreción, pequeñas

vesículas semejantes a las sinápticas y mitocondrias (42). El material de la neurosecreción es liberado por las terminales axónicas hacia el espacio perivascular por exocitosis, esto es, como respuesta a impulsos que descienden por los axones en los que se está almacenando (22,37).

El sistema hipotálamo-hipófisis posterior está integrado por neuronas magnocelulares que se localizan en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo. Estas tienen un sistema axonal que viaja a través del tallo hacia la hipófisis posterior, y termina en los espacios pericapilares de la glándula donde liberan las hormonas para alcanzar la circulación sistémica (10,43). Las hormonas producidas son la vasopresina (ADH) y la oxitocina. Estas dos hormonas son polipéptidos cíclicos por la presencia de un enlace disulfuro y tienen similitud química con otros péptidos neurohipofisarios de especies animales inferiores aunque su función es diferente. Ambas contienen 9 aminoácidos, el peso molecular de la vasopresina es de 1070 D mientras que el de la oxitocina es de 1006 D (10). Los sitios blanco principales de la vasopresina son las membranas semipermeables de los túbulos renales, e interviene en la regulación homeostática del equilibrio hídrico en todos los vertebrados terrestres. Los mecanismos de regulación varían en los distintos grupos (3,13). La ADH también se denomina vasopresina debido a su capacidad de constreñir los vasos sanguíneos (3,36). La oxitocina actúa sobre el músculo liso uterino, y vascular y mioepitelial de las glándulas mamarias, estimula al intestino e induce efectos sexuales en algunos vertebrados: por ejemplo, produce desove en ciertos peces (2,4,33).

Las neuronas magnocelulares del hipotálamo son activadas por una variedad de estímulos como hemorragia, aumento de presión osmótica en el plasma, parto, lactación, éstos mensajes llegan a la neurohipófisis por estímulos

sinápticos (16).

Es posible que la evolución de un lóbulo nervioso separado está relacionada con la existencia de un equilibrio hídrico para la vida terrestre, aunque han quedado evidentemente bajo su control un cierto número de actividades diferentes (lactación por ejemplo) (19).

Tanto la vasopresina como la oxitocina son sintetizadas, transportadas y liberadas a la circulación unidas a otros polipéptidos de peso molecular cercano a 10,000 D conocidos como neurofisinas, que son específicas para cada una de las dos hormonas: la neurofisina I se asocia con la oxitocina y la neurofisina II a la vasopresina (10). Las hormonas vasopresina y oxitocina son almacenadas en gránulos neurosecretorios separados, estos gránulos son muy semejentes en apariencia y hay pequeñas diferencias en cuanto a su tamaño. Existen razones precisas por las cuales las hormonas no pueden estar libres en el citoplasma, por ejemplo: la oxitocina ejerce un gran efecto sobre la actividad eléctrica de la célula neurosecretora. Estas hormonas son liberadas por exocitosis (25).

Estudios morfológicos en neurohipófisis de rata describen los compartimentos de la misma y los enumeran de la siguiente manera: 1) axones no dilatados, que contienen microtúbulos pero no (o muy pocas) vesículas sinápticas, 2) terminales (dilataciones terminales) que contienen microvesículas pero no neurotúbulos, 3) protuberancias (dilataciones no terminales) sin contener microvesículas ni neurotúbulos, 4) pituicitos, 5) vasos sanguíneos, 6) espacio extracelular, y 7) estructuras no clasificadas (30).

La clasificación de los pituicitos como células gliales se ha basado únicamente en criterios morfológicos, que los muestran como un solo y homogéneo tipo, que exhibe muchos estados funcionales. Se ha descrito la citomorfología bajo diferentes condiciones experimentales

por muchos autores, pero la caracterización histoquímica de los pituicitos es escasa (37).

Los pituicitos son células gliales, se originan por diferenciación de elementos endocelulares, y cubren el hueco infundibular, son células alargadas con un núcleo de aproximadamente 5 micras, contienen cuerpos electrodensos (inclusiones lipídicas). En la neurohipófisis hay tres tipos diferentes de células gliales: pituicitos parenquimatosos (o protoplásmicos), pituicitos fibrosos y microglia. Los pituicitos parenquimatosos son grandes, irregulares, con numerosos procesos que rodean parcialmente las terminales de los axones neurosecretorios y lindan con la lámina basal perineuronal. Los pituicitos fibrosos son menos numerosos y más pequeños, envuelven los axones neurosecretorios no dilatados localizados centralmente en los lóbulos del tejido neurosecretor. Los pituicitos parenquimatosos y fibrosos se asemejan en la configuración a astrocitos, tienen origen neuroectodérmico, propiedades antigénicas y presentan uniones comunicantes (16,32). En general los pituicitos se asemejan a las células de la neuroglia de otras partes del sistema nervioso central. Los pituicitos son células con prolongaciones ramificadas cortas que terminan en relación con los vasos sanguíneos o los tabiques de tejido conectivo. En el citoplasma hay gotitas de grasa, gránulos y pigmentos (22,41). El núcleo está compuesto principalmente de unos centenares de fibras largas asociadas con densos compuestos fibrilares, están presentes también compuestos que forman grandes masas en la periferia nucleolar (21).

Los pituicitos ocupan alrededor del 30% de la neurohipófisis y los axones del 20 al 25%. Los pituicitos cubren hasta el 60% de la lámina basal a la zona neurohemal, mientras que los axones ocupan aproximadamente el 20% (39). En contraste, las células de la microglia neurohipofisaria son pequeñas, a menudo localizadas a nivel

perivasculares. Una función principal de la microglia podría ser la de ordenar aquellas partes de los axones neurosecretorios que se han extendido en su posición (32).

En vertebrados superiores el gran polimorfismo de los pituicitos se clasifica de diferentes maneras: 1) muchos tipos de pituicitos, 2) solamente dos tipos de pituicitos, 3) dos tipos de pituicitos con tres diferentes estados morfofuncionales que parece ser la base celular de los componentes del lóbulo neural (20). Los pituicitos son moduladores para el proceso de neurosecreción en el lóbulo neural (40). Se sugiere que hay otras actividades de los pituicitos que aparecen ligadas a la secreción neurohipofisaria llamadas endocitosis implica dos posibles significados biológicos: uno, la absorción del material disuelto en el fluido, y dos la recuperación de todos los fragmentos de la membrana plasmática que fueron tomados por la célula. La fagocitosis es un significado de la disposición del acarreador de proteínas y la membrana circulante de gránulos neurosecretorios después de la liberación de las hormonas, y para la propia nutrición del pituicito (8,38).

En la ontogenia de la neurohipófisis de rata se observan los siguientes acontecimientos principales:

A los 12 días de vida embrionaria se observa una masa de células de forma redondeada y arreglo epiteloide, esta masa de células está compuesta por dos tipos diferentes: células subependimales, las cuales forman el piso del tercer ventrículo y los pituicitos. Durante el día 13 de desarrollo embrionario existe una zona formada de fibras nerviosas que delimita el piso del tercer ventrículo con los pituicitos en diferenciación, entre los cuales se observan amplios espacios intercelulares. Para el día 14, penetran los primeros vasos sanguíneos y fibras nerviosas, disminuyen los espacios intercelulares y los organelos intercelulares en los pituicitos aumentan en número. Al día

15 fetal el piso del diencéfalo consiste de 6 a 10 capas de células redondas u ovales. Las células de la región del hueco infundibular permanecen perpendiculares a la superficie ventricular. La neurohipófisis está desprovista de fibras. El citoplasma de las células es electrolúcido y contiene pocos organelos. La eminencia media es caracterizada por algunas células alargadas que se extienden de la superficie ependimal a la superficie externa. En secciones sagitales, la pars nervosa es vista como una masa de células, con su eje largo hasta el ángulo derecho del piso del diencéfalo. El eje gira aproximadamente 30 grados caudalmente durante el día 16 y 17 fetal cuando el tallo anatómico se vuelve discernible y la pars nervosa ha alcanzado su forma y disposición adulta. Las fibras nerviosas son vistas en gran número en la capa externa de la pars oralis infundibuli, algunas son encontradas más caudalmente próximas de la pars nervosa. Para el día 18 fetal, las células del tallo anatómico y pars nervosa son más ampliamente separadas y la diferenciación de las células de la pars nervosa en células claras y oscuras empieza a ser notable. Y para el día 20, la distinción entre las capas intermedias y de la eminencia media se vuelven aparentes. La capa intermedia comprende principalmente fibras orientadas longitudinalmente con vesículas granulares y fibras con vesículas granulares (9).

El día del nacimiento se observa una gran amplitud del espacio intercelular y escasez de gránulos neurosecretores. Los axones contienen muy pocos gránulos neurosecretores y abundantes neurotúbulos. Los pituicitos muestran un número de gruesas prolongaciones, otras son delgadas y largas. Los cuerpos celulares de los pituicitos permanecen cerca de los capilares. El día 1 posnatal hay disminución del espacio intercelular, mientras que los axones, las terminales nerviosas y los pituicitos se acercan unos a otros. El número de gránulos neurosecretores aumenta en los axones

tanto como en las terminales nerviosas. A los 7 días hay gran disminución del espacio intercelular. En algunas terminales nerviosas las vesículas sinápticas se agrupan cerca de la membrana. El día 10 el sistema hipotálamo-neurohipofisario no ha alcanzado su madurez completa. Los ácidos grasos se encuentran presentes en las células de la neuroglia, lo que indica que su origen no se encuentra necesariamente ligado a los procesos de neurosecreción. Para el día 14 los gránulos neurosecretorios, axones y sus terminales aumentan. En el día 21 los gránulos neurosecretorios son más numerosos. Aumenta el número de axones y muestran dilataciones completamente llenas de gránulos neurosecretorios. A los 30 días la aparición de grandes dilataciones de axones que contienen gránulos neurosecretorios se hace más evidente. Aparecen los cuerpos de Herring originados de estas dilataciones. El tejido conectivo crece adentro del processus infundibularis. Los pituicitos adquieren forma adulta y sus cuerpos celulares son vistos lejos de los capilares. Para el día 50 el tejido conectivo es más notable y empieza a dividir la neurohipófisis en pseudolóbulos. De los 90 a los 150 días la neurohipófisis es surcada por tejido conectivo que agrupa numerosos axones y terminales nerviosas. Los lisosomas en los axones aumentan en número y muchos cuerpos de Herring son observables. Las vesículas sinápticas en las terminales nerviosas aumentan en número y forman grupos compactos (6,35).

Durante estados embrionarios específicos, los pituicitos inmaduros ejercen algún papel todavía no identificado relacionado con funciones de Ca-mediador (1).

En edad avanzada, existe una significativa reducción de arriba del 25% en el transporte axonal neurohipofisario (11).

Los pituicitos derivan de las células gliales en la eminencia media. Esto significa que los pituicitos,

tanicitos y tanicitos astrocíticos tienen el mismo origen en términos de su desarrollo (34).

En el desarrollo del sistema nervioso intervienen numerosos factores de gran importancia, entre ellos, la presencia de aminoácidos esenciales, lípidos, concentración de glucosa y hormonas, que resultan particularmente importantes para nuestro estudio.

En los mamíferos, los niveles de hormonas durante el periodo perinatal determina en gran parte la futura actividad neuroendócrina del hipótalamo. Entre las hormonas de mayor importancia encontramos las hormonas tiroideas, hormonas de crecimiento y esteroides; y catecolaminas. Otro factor importante es el timo. Algunos estudios han demostrado que el timo participa en la ontogenia del sistema neuroendócrino de los mamíferos y en la regulación hipotalámica de las funciones endócrinas. Estos estudios se apoyan en los resultados de experimentos en los que se utiliza como modelo ratones timectomizados, los cuales muestran bajos niveles sanguíneos de tiroxina durante el periodo perinatal e influyen adversamente en el futuro desarrollo neuroendócrino (15,17,30,31).

Existe un modelo biológico; se trata de la cepa mutante ratón desnudo (Balb/c An Bon Df Nu/Nu), que presenta hipoplasia de timo, y esto, junto con la disminución que se observa en las hormonas de crecimiento y tiroxina en bases genéticas, lo hace un modelo útil para el estudio de desarrollo de la neurohipófisis (28,30,31).

JUSTIFICACION

El timo participa en la diferenciación funcional del cerebro y en la regulación de ciertas funciones endócrinas. Estos efectos básicos son ejercidos para cambiar el estado endócrino durante la vida fetal y perinatal del individuo. La secreción de tiroxina y gonadotropina son particularmente afectadas en ratones timectomizados y atímicos, y ésto trae mayores consecuencias sobre el desarrollo general.

En mamíferos los niveles de hormonas durante el periodo perinatal determinan en gran medida la futura actividad neuroendócrina del hipotálamo. En periodos tempranos de la vida embrionaria la tiroxina afecta el desarrollo completo del encéfalo. Los bajos niveles de tiroxina durante el periodo perinatal (6 y 14 días de vida) en ratones atímicos o neonatalmente timectomizados influyen adversamente en el futuro desarrollo neuroendócrino del animal. La persistencia de bajos niveles de tiroxina en ratones atímicos o neonatalmente timectomizados puede expresar una alteración en la función hipotalámica para la síntesis del factor liberador de tirotropina, consecuencia de la carencia de acción tímica sobre el desarrollo del hipotálamo en vida perinatal.

Para ampliar el conocimiento del funcionamiento del sistema nervioso se necesita describir el desarrollo de sus estructuras. Existen diversos factores que se encuentran involucrados en este desarrollo, entre ellos encontramos a la hormonas. Algunos estudios indican que el timo y algunas hormonas tiroideas participan de manera importante en el desarrollo del sistema nervioso central.

En función de lo anterior y debido a que la glándula hipófisis y en particular su parte neural tiene un desarrollo ligado al del sistema nervioso central, en este estudio se pretende analizar morfológicamente y describir las alteraciones mediadas por la influencia del timo en el desarrollo posnatal de la neurohipófisis de la mutante de

roedor "nude mouse" (Balb/c An Bom DF Nu/Nu).

HIPOTESIS

El desarrollo del sistema neuroendócrino está determinado por diversos factores, entre ellos los hormonales. El timo es una glándula que secreta hormonas las cuales intervienen en el desarrollo del sistema neuroendócrino, por lo que en condiciones de hipoplasia de timo (genética) se producirán alteraciones en la morfología de los elementos celulares que constituyen a la glándula hipófisis y en especial a la neurohipófisis.

OBJETIVOS

Objetivo general

- 1.- Realizar un estudio comparativo de la morfología de la neurohipófisis durante el desarrollo posnatal de la mutante de ratón desnudo (Balb/c An Bon Df Nu/Nu) y en ratones Balb/c normales.

Objetivos particulares

- 1.- Evaluar peso y talla del animal completo en los ratones Balb/c normales y Balb/c An Bon Df Nu/Nu, así como del encéfalo total y de la glándula hipófisis, en las edades de 5, 15, 30, 60 y 90 días.
- 2.- Analizar la citoarquitectura de la neurohipófisis de los ratones normales y de la mutante, en las edades mencionadas.

MATERIAL
Y
METODO

Se utilizaron 15 ratones de la cepa Balb/c normales que se usaron como testigos y 25 ratones de la cepa Balb/c An Bon Df Nu/Nu como experimentales. Estos animales se mantuvieron en estrictas condiciones de asepsia, (ya que los ratones desnudos presentan deficiencias en su sistema de defensa), periodos de luz-obscuridad normales (12:12), humedad relativa (23 a 30%) y temperatura (24°C) controladas, agua y alimento en abundancia.

Los estudios se hicieron a los 5, 15, 30, 60 y 90 días posnatales. Se formaron grupos de 5 ratones experimentales y 3 testigos para cada edad.

En la fecha que fueron sacrificados, los animales se anestesiaron con eter para posteriormente ser perfundidos por vía intracardiaca con dos soluciones: la primera a base de amortiguador de fosfato de sodio monobásico y dibásico 0.1 M, pH 7.4, a la cual se le agregó heparina sódica (1000 U.I./1000 ml) y clorhidrato de procaína (1 g/1000 ml), ésta se perfundió a través de un cateter por el ventrículo izquierdo a toda la circulación sistémica. El desague de esta solución se realizó al cortar la aurícula derecha. Esto se hizo por espacio de 1 a 2 minutos. La segunda solución a base de formaldehído al 4% amortiguado en fosfato de sodio monobásico y dibásico 0.1 M, pH 7.4 se hizo pasar inmediatamente después de la primera por espacio de 5 a 8 minutos con una presión de 1.40 m de agua.

Posteriormente se hizo la craneotomía para exponer en la cara superior del esfenoides, la hipófisis. A este se le separó la glándula hipófisis. Posteriormente se disecó la neurohipófisis y se colectó en cápsulas de Beam. Se procedió a lavar la neurohipófisis 3 veces con la solución de amortiguador de fosfato de sodio monobásico y dibásico para posteriormente deshidratar en soluciones crecientes de etanol (70%, 80%, 90% y absoluto) y posteriormente, en dos tiempos de 5 minutos se colocaron en óxido de propileno, después se colocaron en una solución de 1:1 de óxido de

propileno-resina polybed, por espacio de 12 horas a 4°C. Estos fragmentos se incluyeron en moldes de plástico con resina polybed por 24 horas a 60°C (polimerización de la resina).

De los bloques obtenidos se hicieron cortes semifinos en un ultramicrotomo Porter-Blum MT-1, estos cortes se tiñeron con azul de toluidina para posteriormente observarlos y fotografiarlos en un fotomicroscopio Leits/Wild para su estudio histológico.

De los resultados obtenidos se hicieron análisis estadísticos, en los cuales se utilizó la prueba de t-student.

RESULTADOS

Somatometría

Las mediciones hechas en ambos grupos (experimentales y testigos) en cada edad, muestran claras diferencias al compararlas entre sí. En las tablas 1 a 5 pueden observarse las diferencias estadísticamente significativas de peso y talla del animal completo, encéfalo y glándula hipófisis para cada edad.

Al comparar el peso somático de los animales testigo contra los experimentales, en todas las etapas de estudio, hay grandes diferencias, ya que es superior en todos los casos el de los animales normales.

La talla corporal es menor en el grupo experimental, esto es evidente en la gráfica 2 donde podemos observar que los grupos experimentales en todas las fechas son estadísticamente significativas.

En cuanto al peso del encéfalo apreciamos las claras diferencias existentes entre los dos grupos de estudio, ya que la carencia de tiroxina (entre otros) afecta el desarrollo entero del encéfalo (ver gráfica 3).

Las diferentes fechas de estudio muestran que el encéfalo sufre las consecuencias de la deficiencia hormonal de los atímicos, esto lo podemos observar en la gráfica 4, donde es claro que la talla del encéfalo se mantiene casi homogénea desde el día 30 posnatal.

El peso y talla de la glándula hipófisis son menores en los grupos experimentales en todas las fechas. En las gráficas 5 y 6 es claro que la hipófisis a partir del día 30 posnatal se ve evidentemente afectada.

En el primer parámetro que es el peso corporal se puede observar que a los 5 días de edad, el peso de los animales experimentales es de casi 30% menor que el de los animales testigo. A los 15 días de edad la diferencia es aproximadamente 25% menor el peso de el grupo experimental que el del testigo. No así a los 30 días donde el

porcentaje es alrededor de 35% menor en los animales experimentales comparado con el promedio del peso corporal de los animales normales. A los 60 días el peso del grupo experimental es 25% menor que los animales normales. Para el día 90 se observa que el peso del grupo de ratones atómicos es 35% menor que el promedio del peso del grupo normal, esto lo podemos observar en la gráfica 1.

Por otro lado, en la gráfica 2 podemos observar las diferencias de la talla corporal entre los ratones desnudos y los ratones normales. A los 5 días de edad observamos una gran diferencia de 40% menor que la talla de los animales testigo. Esta diferencia es menor al observar que para el día 15 de edad el grupo experimental es alrededor de 30% menor en cuanto a su talla corporal que el grupo testigo. Esta diferencia se mantiene en las siguientes fechas, cuando podemos observar a los 30 y 60 días de edad es 30% menor la talla del grupos atómicos en comparación con el grupos normales. A los 90 días de edad el promedio de la talla de los animales experimentales es 25% menor que la talla del grupo testigo.

Respecto a el promedio del peso del encéfalo podemos observar que a los 5, 15, 30 y 60 días de edad los grupos de ratones atómicos es alrededor de 30% menor que los grupos normales. Mientras que a los 90 días de edad se observa el porcentaje del peso del encéfalo 16% menor en los experimentales respecto a los testigo, esto se observa claramente en la gráfica 3.

Por otra parte, la talla del encéfalo también sufre diferencias en los dos grupos, como podemos observar que a los 5 días posnatales el grupo experimental es de casi 35% menor en cuanto a la talla del encéfalo del grupo testigo. En las dos edades siguientes que son los 15, 30 y 60 días de edad podemos observar diferencias de casi 25% en relación a la talla de los animales normales. A los 90 días la diferencia es de alrededor de 30% (ver gráfica 4).

En la gráfica 5 podemos observar el peso de la glándula hipófisis en ambos grupos y para cada edad, como a continuación se describe: En la primera fecha el grupo experimental la glándula hipófisis pesa 50% menos que la hipófisis del grupo testigo. A los 15 días tenemos una diferencia de casi 15% menor el peso de la hipófisis del grupo experimental respecto al testigo. Para el día 30 del promedio de peso de la hipófisis de los animales experimentales es 38% menor que el de los animales testigo. En los 60 días de edad tenemos una diferencia de pesos de 25% menor en el grupo experimental que en el testigo. Finalmente a los 90 días la diferencia es 50% menor el peso de la glándula hipófisis del grupo experimental respecto al testigo.

Por último, la talla de la glándula hipófisis también sufre grandes diferencias al compararla entre ambos grupos. Para el día 5, la talla de la hipófisis del grupo experimental es de alrededor de 50% menor que la del grupo testigo. Este porcentaje es menor a los 15 días de edad cuando se observa que es 20% menor en el grupo experimental respecto al testigo. Para el día 30 encontramos que el grupo experimental es 45% menor que el grupo testigo. A los 60 días la talla de la hipófisis en el grupo experimental es 35% menor que en el grupo testigo. A los 90 días de edad hay una menor diferencia de tallas, en el grupo experimental observamos que es sólo 10% menor que la talla hipofisaria del grupo testigo. Esto se puede observar con claridad en la gráfica 6 y en las tablas 1 a 5.

	PESO SOMATICO (g)	TALLA CORPORAL (cm)	PESO ENCEFALO(mg)	TALLA ENCEFALO (cm)	PESO HIPOFISIS (mg)	TALLA HIPOFISIS (mm)
GRUPO TESTIGO (Balb/c)	2,95 ± 0,39	5,83 ± 0,20	153 ± 0,65	0,92 ± 0,20	0,73 ± 0,1	0,96 ± 0,05
GRUPO EXP. (Balb/c Nu/Nu)	2,14 ± 0,15 (-27,39%)	3,42 ± 0,41 (-41,31%)	106 ± 6 (-30,71%)	0,61 ± 0,02 (-33,69%)	0,37 ± 0,04 (-49,31%)	0,5 ± 0,05 (-47,91%)

TABLA 1

Peso y talla del animal completo, del encéfalo y de la glándula hipófisis, y la relación de estos parámetros entre los ratones Balb/c y Balb/c Nu/Nu a los 5 días de edad posnatal.

	PESO SOMATICO (g)	TALLA CORPORAL (cm)	PESO ENCEFALO(mg)	TALLA ENCEFALO (cm)	PESO HIPOFISIS (mg)	TALLA HIPOFISIS (mm)
GRUPO TESTIGO (Balb/c)	8,2 ± 1,04	11,06 ± 0,83	319 ± 7	1,03 ± 0,05	0,63 ± 0,1	1,6 ± 0,20
GRUPO EXP. (Balb/c Nu/Nu)	6,18 ± 0,42 (-24,63%)	7,85 ± 0,47 (-29,02%)	224 ± 5 (-29,78%)	0,79 ± 0,15 (-23,30%)	0,55 ± 0,02 (-12,69%)	1,27 ± 0,10 (-20,62%)

TABLA 2

Peso y talla del animal completo, encéfalo y glándula hipófisis y la relación de estos parámetros entre los ratones Balb/c y Balb/c Nu/Nu a los 15 días de edad posnatal.

	PESO SOMATICO (g)	TALLA CORPORAL (cm)	PESO ENCEFALO(mg)	TALLA ENCEFALO (cm)	PESO HIPOFISIS (g)	TALLA HIPOFISIS (mm)
GRUPO TESTIGO (Balb/c)	19 ± 0,62	16,33 ± 0,15	393 ± 6	1,26 ± 0,11	1 ± 0,1	2,33 ± 0,20
GRUPO EXP. (Balb/c Nu/Nu)	12,72 ± 0,37 (-33,05%)	11,52 ± 0,4 (-29,45%)	272 ± 2 (-30,78%)	0,96 ± 0,05 (-23,80%)	0,62 ± 0,04 (-38%)	1,3 ± 0,23 (-44,20%)

TABLA 3

Peso y talla del animal completo, encéfalo y glándula hipófisis y la relación de estos parámetros entre los ratones Balb/c y Balb/c Nu/Nu a los 30 días de edad posnatal.

	PESO SOMATICO (g)	TALLA CORPORAL (cm)	PESO ENCEFALO(mg)	TALLA ENCEFALO (cm)	PESO HIPOFISIS (mg)	TALLA HIPOFISIS (mm)
GRUPO TESTIGO (Balb/c)	21 ± 0,6	17,7 ± 0,1	404 ± 3	1,26 ± 0,05	1,6 ± 0,15	2,6 ± 0,17
GRUPO EXP. (Balb/c Nu/Nu)	15,74 ± 0,72 (-25,04%)	12,42 ± 0,4 (-29,83%)	286 ± 1 (-29,20%)	0,94 ± 0,04 (-25,39%)	1,2 ± 0,1 (-25%)	1,74 ± 0,05 (-33,07%)

TABLA 4

Peso y talla del animal completo, del encéfalo y de la glándula hipófisis, y la relación de estos parámetros entre los ratones Balb/c y Balb/c Nu/Nu a los 60 días de edad.

	PESO SOMATICO (g)	TALLA CORPORAL (cm)	PESO ENCEFALO(mg)	TALLA ENCEFALO (cm)	PESO HIPOFISIS (mg)	TALLA HIPOFISIS (mm)
GRUPO TESTIGO (Balb/c)	23,3 ± 1,09	18,3 ± 0,26	436 ± 5	1,36 ± 0,05	2,0 ± 0,6	3,13 ± 0,11
GRUPO EXP. (Balb/c Nu/Nu)	15,72 ± 1,42 (-32,53%)	13,83 ± 0,9 (-24,42%)	365 ± 3 (-16,28%)	0,99 ± 0,01 (-27,20%)	1,0 ± 0,08 (-50%)	2,52 ± 0,43 (-9,48%)

TABLA 5

Peso y talla del animal completo, encéfalo y glándula hipófisis y la relación de estos parámetros entre los ratones Balb/c y Balb/c Nu/Nu a los 90 días de edad.

Análisis histológico

A los 5 días de edad posnatal en el grupo testigo, se observa en el parénquima de la neurohipófisis sobre un fondo grumoso, la presencia de células gliales, estas son de dos tipos: a) las células de la neuroglia (o células claras) que son células de núcleos grandes claros cuya cromatina apenas perceptible se encuentra sobre los bordes de la envoltura nuclear, se aprecia un nucleolo central y en algunas se ven dos. El citoplasma poco perceptible es claro. Estas células son de forma heterogéneas, y b) los pituicitos (o células oscuras) son células menos claras, de núcleos alargados y de cromatina apenas perceptible. No se observan nucleolos. El citoplasma en muchas de ellas alargado muestra prolongaciones finas (ver figura 1).

En la figura 2 podemos apreciar que el grupo experimental a la misma fecha, sobre un fondo menos denso y grumoso las células claras. Estas células de núcleos redondos grandes y poca cromatina no muestran alteraciones aparentes, su citoplasma en algunas células poco perceptible no muestra alteraciones. Los pituicitos, de núcleos alargados, con disposiciones perivasculares, su citoplasma muestra prolongaciones más cortas que las existentes en los animales testigo.

En el grupo testigo, a los 15 días de edad posnatal, se aprecian sobre un fondo grumoso y denso, los elementos celulares gliales que muestran sus núcleos más pequeños, no es perceptible su cromatina pero si un nucleolo central y denso (figura 3). En la mayoría de las células no se observa citoplasma. El núcleo de las células oscuras es menos denso asociado a la envoltura nuclear. Se observan pocas prolongaciones citoplásmicas.

A los 15 días en el grupo experimental se aprecian ambos tipos celulares, sobre un fondo claro. Las células claras de núcleo redondo y grande, presentan cromatina

apenas perceptible y se asocia a la envoltura del nucleolo grande y periférico, el citoplasma no se aprecia. Los pituicitos muestran por lo general un arreglo perivascular, su núcleo alargado presenta varios nucleolos y una cromatina grumosa y asociada a la envoltura. No se aprecian prolongaciones citoplásmicas, esto lo podemos ver en la figura 4.

En la figura 5 podemos observar, a los 30 días de edad que el grupo testigo presenta las células claras muy dispersas muestran núcleos grandes, redondos y un nucleolo periférico, citoplasma imperceptible en la mayoría. En los pituicitos se observan núcleos alargados e irregulares, muestran su nucleolo periférico y la cromatina está asociada a la envoltura nuclear, no se observa su citoplasma y estas células se encuentran contiguas a vasos sanguíneos.

En el grupo experimental a los 30 días de edad en la mayoría de las células claras el núcleo no es redondo como en las anteriores fechas, se encuentra presente un nucleolo periférico y en algunas células se aprecian dos (ver figura 6). El citoplasma no es perceptible ni se observan prolongaciones con esta metodología. Los pituicitos por lo general asociados a vasos sanguíneos muestran sus núcleos alargados e irregulares, presentan dos nucleolos en la mayoría, no se alcanza a apreciar el citoplasma.

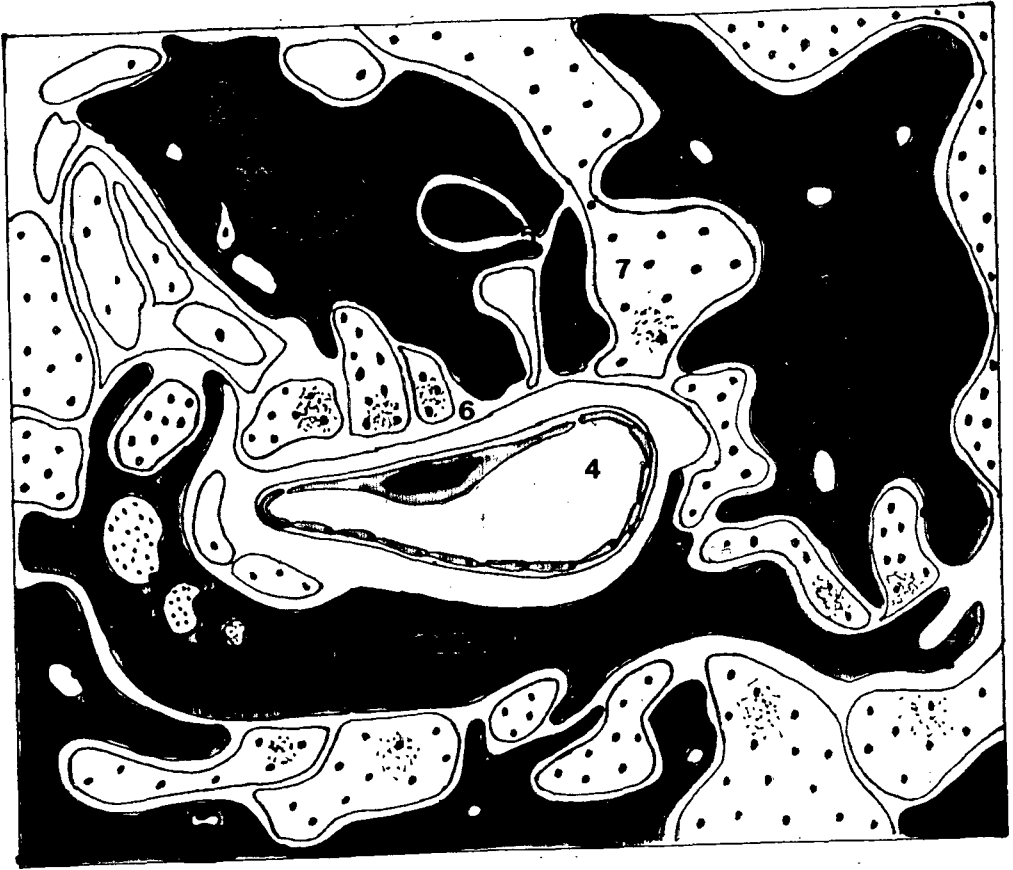
A los 60 días en el grupo testigo, sobre un fondo denso y grumoso, se observa que las células de la neuroglia con núcleos claros, grandes y redondos, muestran un nucleolo periférico, escasa cromatina que está asociada a la envoltura nuclear. En la mayoría de las células no se aprecia citoplasma. Los pituicitos se observan, la mayoría, asociados a vasos sanguíneos, muestran el núcleo alargado e irregular en la mayor parte se observan dos nucleolos (figura 7)

En un fondo claro y menos grumoso, en el grupo

experimental a la misma fecha, las células se encuentran muy dispersas. Las células claras muestran sus nucleolos grandes e irregulares, la cromatina se asocia a la envoltura nuclear se observa en poca cantidad. Se puede observar en la figura 8 que varias células presentan más de dos nucleolos, el citoplasma no es perceptible. Muy pocos pituicitos son perivascuales y muestran sus núcleos irregulares y alargados con grumos de cromatina dispersos y en la mayoría de estas células se aprecian dos nucleolos.

Finalmente a los 90 días en el grupo testigo, se observan en un fondo denso y grumoso, tanto las células claras como las oscuras (pituicitos) muestran las mismas características que en la fecha anterior. Los núcleos de los pituicitos son más delgados y alargados (ver figura 9).

Por último el grupo experimental a los 90 días presenta, sobre un fondo menos grumoso y claro, células claras con núcleos redondos y grandes, algunas presentan más de dos nucleolos, no se aprecia citoplasma. Los pituicitos se aprecian más delgados y alargados (figura 10).



- 1.- Pituicito fibroso
- 2.- Pituicito parenquimatoso
- 3.- Microglia
- 4.- Vaso capilar
- 5.- Axón
- 6.- Lámina basal
- 7.- Espacio intercelular

ESQUEMA QUE MUESTRA LA MORFOLOGIA GENERAL DE LA
NEUROHIPOFISIS. TOMADA DE POW, D.V. (1989).



Figura 1

Figura 1

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON NORMAL (Balb/c) A LOS 5 DIAS DE VIDA POSNATAL. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- ➡ Núcleo de célula oscura (pituicito)
- ★ Vaso sanguíneo
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

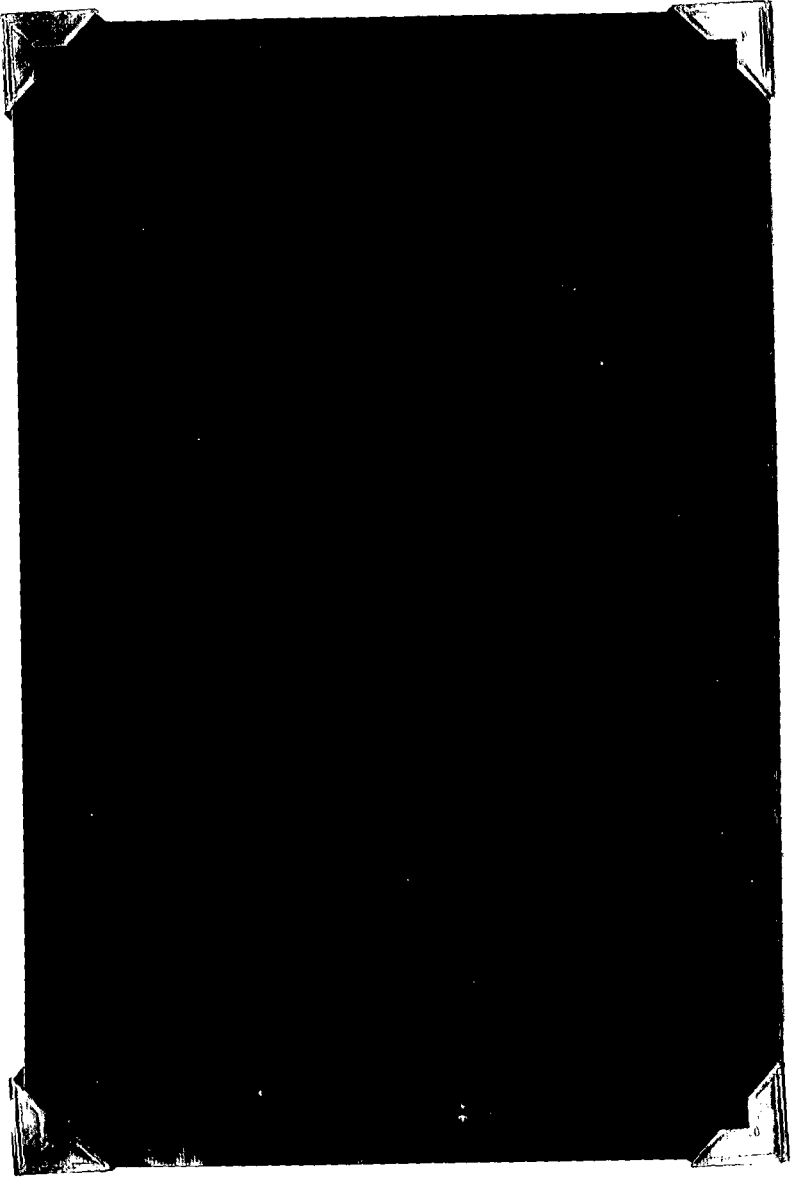


Figura 2

Figura 2

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON DESNUDO (Balb/c An Bom Df Nu/Nu) A LOS 5 DIAS DE VIDA POSNATAL. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- Núcleo de célula clara con dos nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 886.9X)

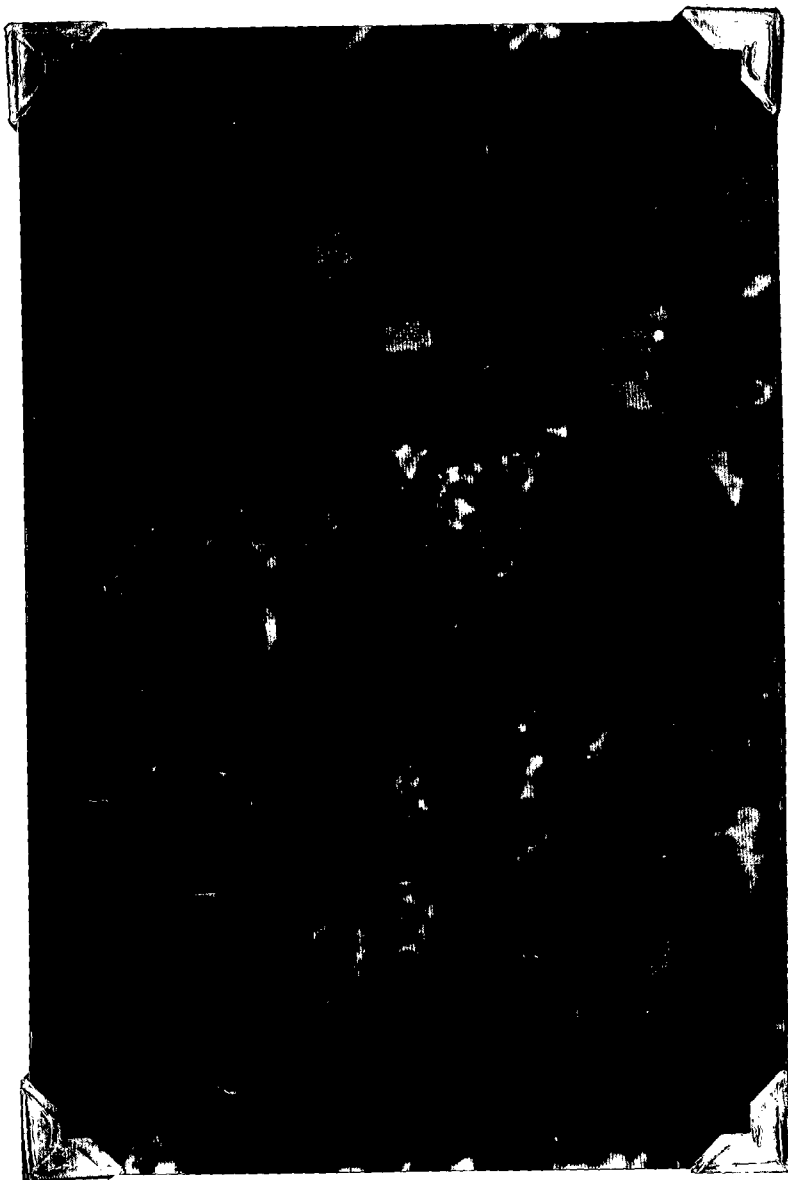


Figura 3

Figura 3

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON NORMAL (Balb/c) A LOS 15 DIAS DE EDAD POSNATAL. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- Núcleo de célula clara con dos nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

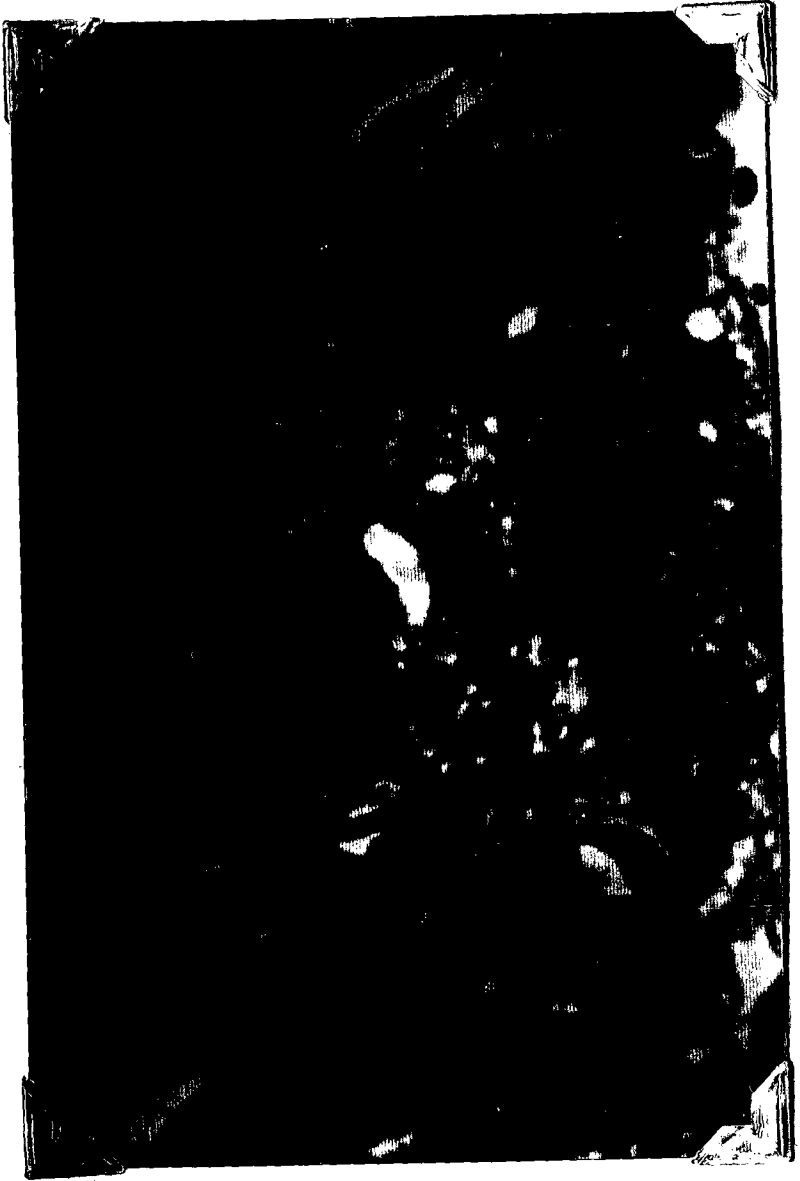


Figura 4

Figura 4

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON DESNUDO (Balb/c Nu/Nu) A LOS 15 DIAS DE VIDA POSNATAL. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- Núcleo de célula clara con más de dos nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

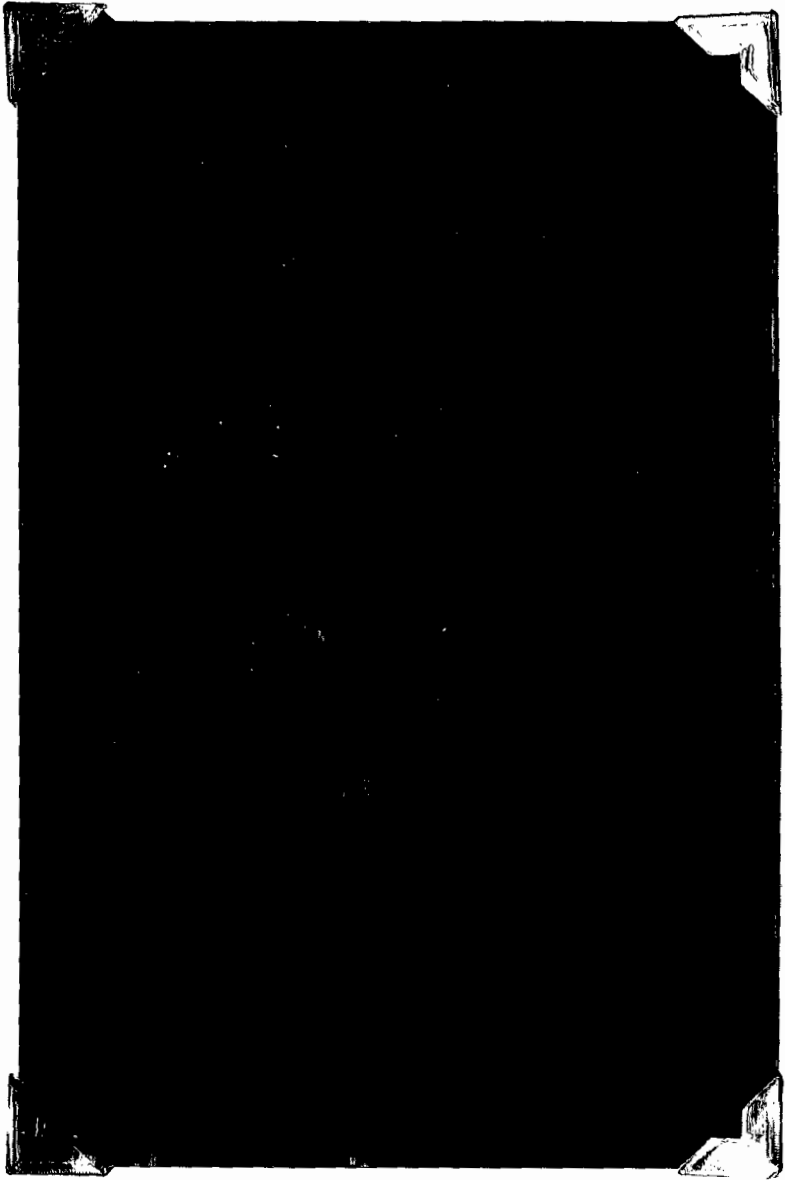


Figura 5

Figura 5

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON NORMAL (Balb/c) A LOS 30 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- * Célula endotelial
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

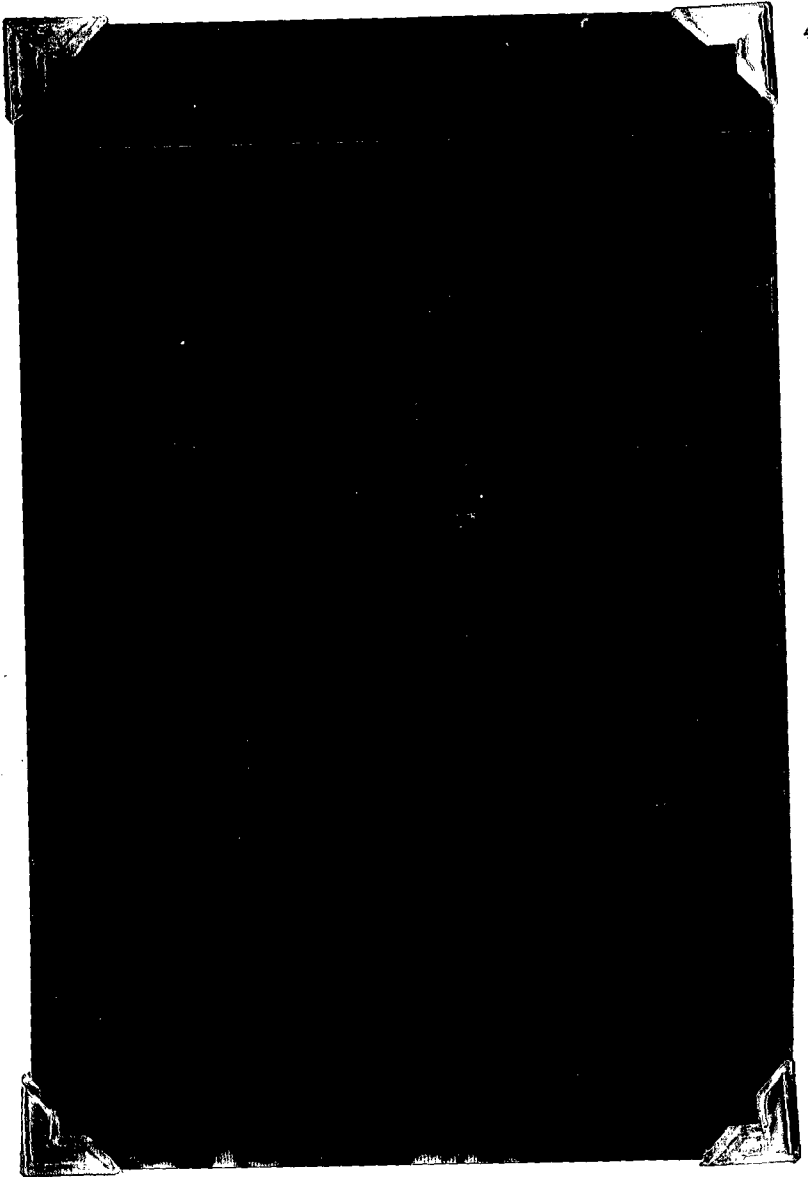


Figura 6

Figura 6

FIGURA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON DESNUDO
(Balb/c Nu/Nu) A LOS 30 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA
POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- Núcleo de célula clara con tres nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 866.9X)

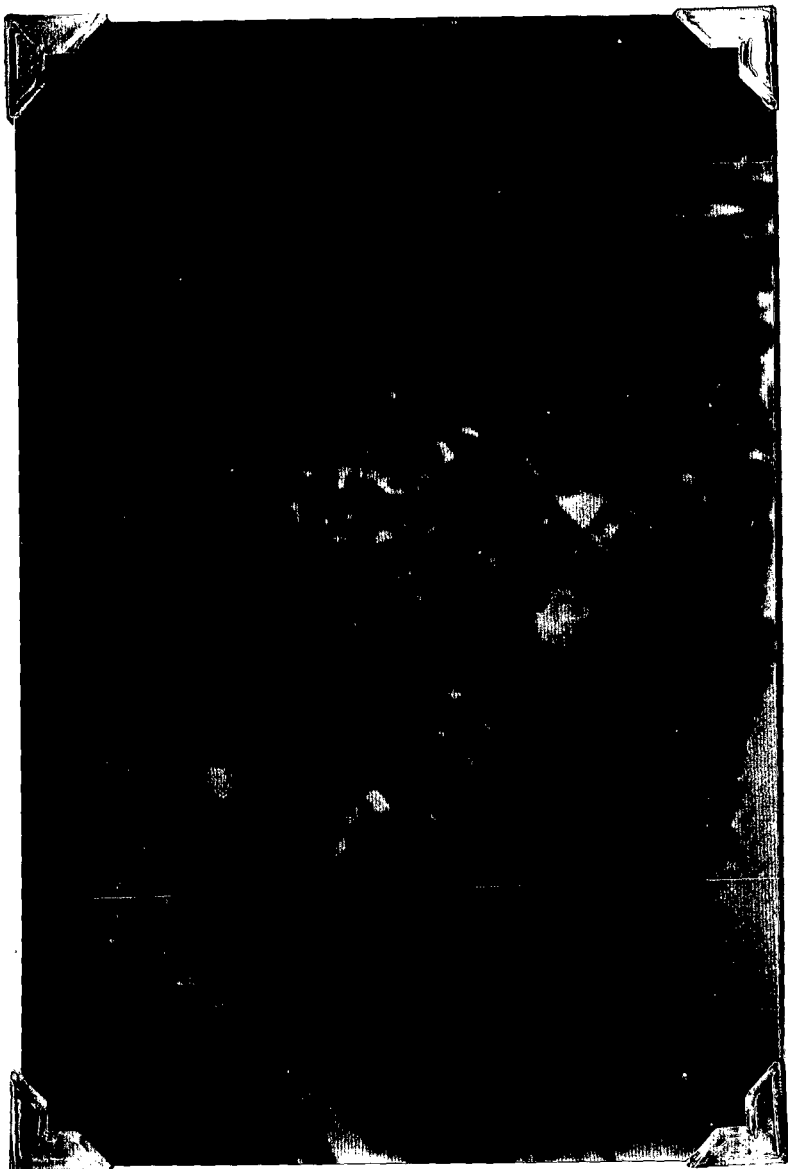


Figura 7

Figura 7

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON NORMAL (Balb/c) A LOS 60 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- * Célula endotelial
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

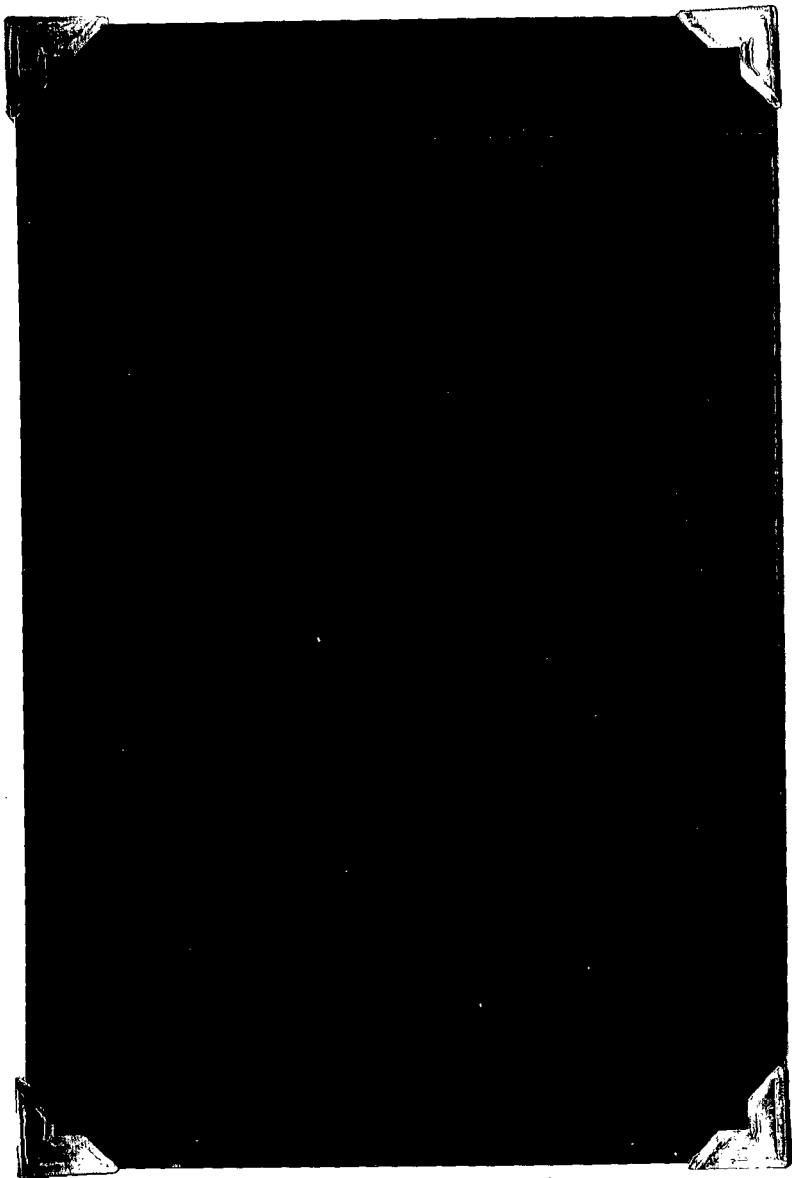


Figura 8

Figura 8

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON DESNUDO (Balb/c Nu/Nu) A LOS 60 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- * Célula endotelial
- Núcleo de célula clara con muchos nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

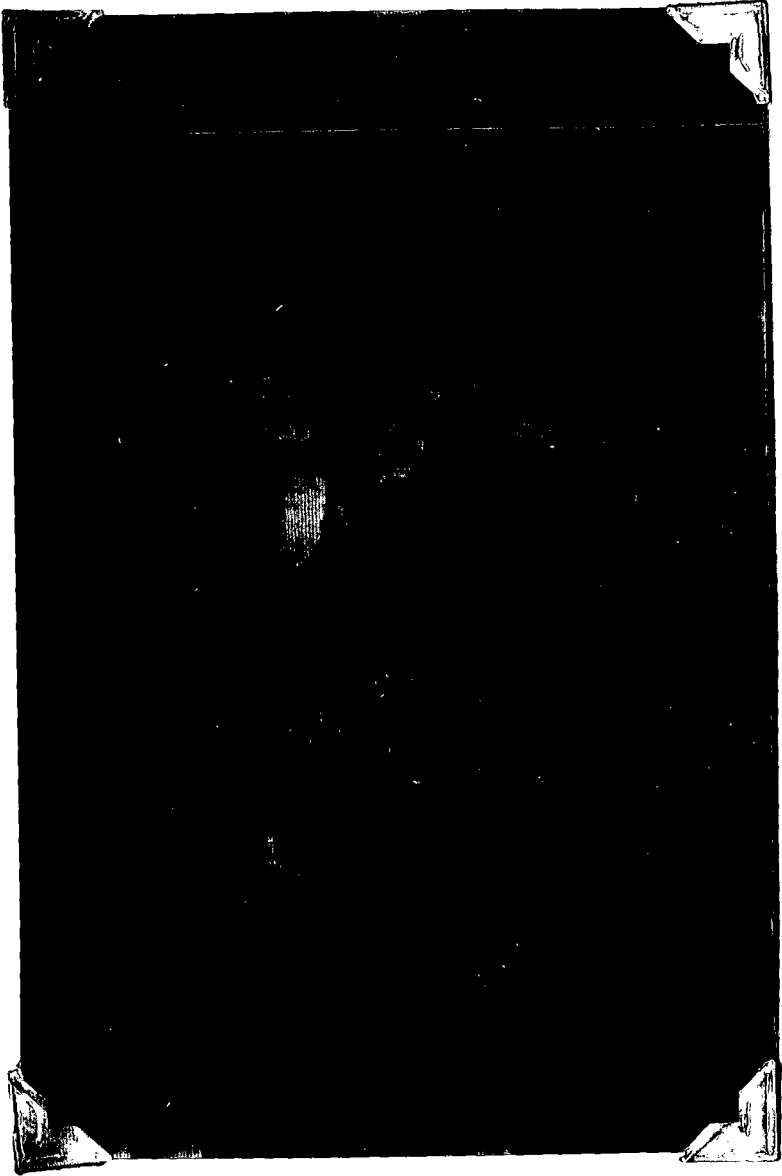


Figura 9

Figura 8

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON NORMAL (Balb/c) A LOS 90 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- ➡ Núcleo de pituicito
- ★ Vaso sanguíneo
- * Célula endotelial
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 666.9X)

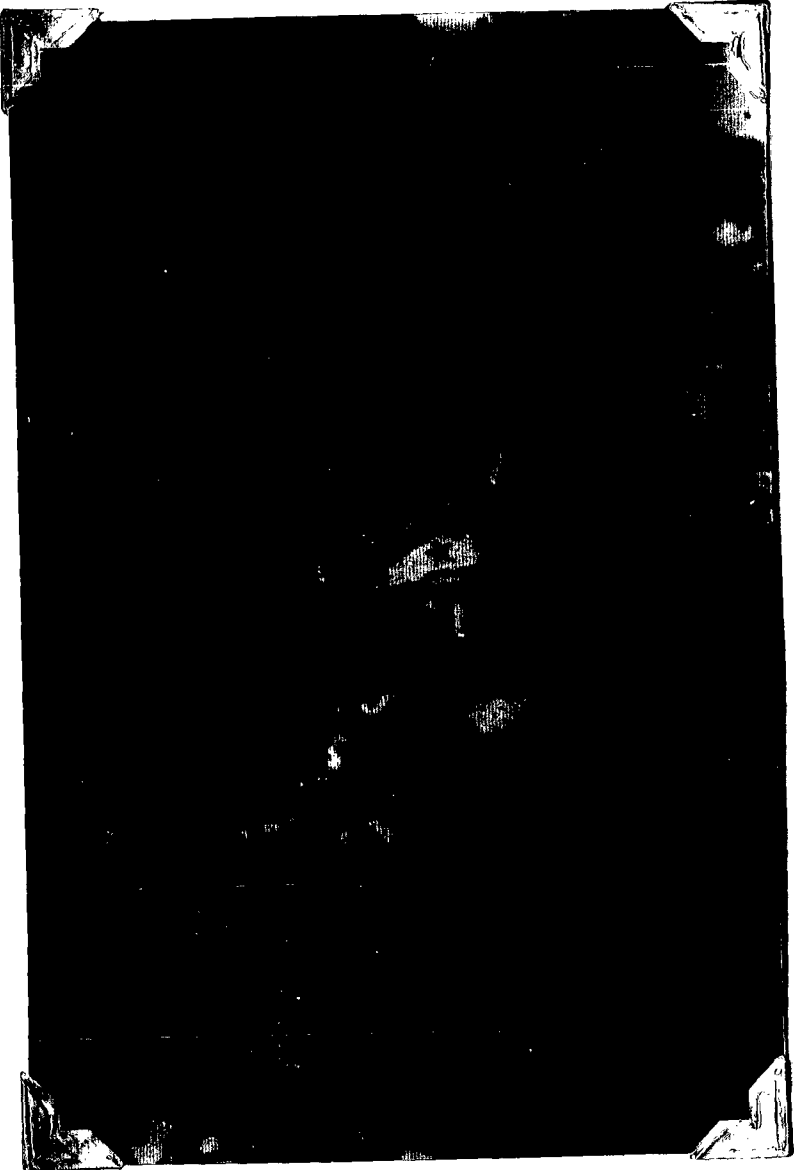


Figura 10

Figura 10

FOTOMICROGRAFIA DE UN CORTE DE NEUROHIPOFISIS DE RATON DESNUDO A LOS 90 DIAS DE EDAD. INCLUIDO EN RESINA POLYBED Y TENIDO CON AZUL DE TOLUIDINA.

- Núcleo de célula clara
- ➔ Núcleo de pituicito con dos nucleolos
- ★ Vaso sanguíneo
- * Célula endotelial
- Núcleo de célula clara con cuatro nucleolos
- Axón
- ☆ Espacio intercelular

(Ampliación 888.9X)

DISCUSSION

En la gráfica 1 podemos observar las evidentes diferencias en cuanto al peso corporal de los ratones atímicos contra los normales lo que es estadísticamente significativo en todas las edades de estudio. Esto se esperaba, ya que la deficiencia de hormonas provocada por la ausencia del timo da como resultado un crecimiento menor en el grupo experimental. Esta diferencia fluctúa entre 25%, registrado en las edades de 15 y 60 días, y 35% a los 30 días de edad. En las gráficas 1b y 1c vemos como al trazar una línea recta o curva de crecimiento, las líneas tienden a separarse, lo que indica que las posibilidades del grupo experimental, de recuperar peso no son favorables.

Por otra parte podemos observar, en la gráfica 2, las diferencias en lo que se refiere a la talla corporal. En este parámetro los porcentajes van de aproximadamente 25 a 40% mayor la talla de los animales normales comparadas con los atímicos. En este caso las posibilidades de recuperación de los ratones atímicos son más favorables (ver gráficas 2b y 2c).

En cuanto al encéfalo en las gráficas 3 y 4 apreciamos que éste también se encuentra afectado ya que hay diferencias significativas para todas las edades. Estas diferencias se mantienen entre 16 y 33%. Si evaluamos cada edad por separado observamos que al trazar una línea recta entre las diferentes edades podemos apreciar que las líneas son casi paralelas en cuanto al crecimiento del encéfalo en talla y peso (ver gráficas 3b y 4b). Esto nos indica que la carencia de timo afecta al encéfalo el cual tiende a mantenerse en un nivel estandar de crecimiento.

La hipófisis es la más afectada en cuanto a su peso, esto es evidente en las gráficas 5, 5b y 5c, donde apreciamos que las líneas tienden a separarse cuanto más tiempo de vida transcurre, lo que nos indica el grado de afección que sufre ésta glándula. En lo que se refiere a la

talla de la misma, ésta sorprendentemente tiende a recuperarse, esto lo podemos observar en las gráficas 6a, 6b y 6c. Este fenómeno sugiere que la glándula hipófisis, aunque pierde peso, mantiene su tamaño en una diferencia menor que el peso de la misma. J. Krsulovic y G. Bruckner (1969) mencionan en su estudio que en condiciones de deshidratación severa se observa un gran incremento en cuanto a la talla de la neurohipófisis, debido a un gran número de mitosis y un incremento en la vascularización de la misma. Aunque en este estudio no se hace este tipo de experimento (deshidratación) se observa que en la neurohipófisis hay un incremento en la vascularización lo que explica el mayor tamaño de esta parte de la glándula.

Por otro lado, el exámen histológico de la neurohipófisis muestra en todas las edades de estudio diferencias en cuanto a la forma de las células. En este estudio no se hizo una cuantificación de células de la neurohipófisis, por lo que no se puede hablar de un número específico de células, pero al observar las fotomicrografías que en los grupos experimentales el número de ellas es menor.

A través de cada edad, los pituicitos cambian en apariencia, alcanzan su talla mayor para el día 30 de edad en el grupo normal. Estos eventos sugieren un aumento en su actividad funcional. Los pituicitos gradualmente pierden su citoplasma y, se acercan a vasos sanguíneos. Para el día 60 posnatal, los signos de actividad continúan en el grupo testigo, así en el día 90, los pituicitos tienen apariencia de células inactivas, P. Galabov y T. H. Schiebler (1978) reportan que esto ocurre en ratones adultos normales. En los ratones atímicos se observan los mismos procesos sólo que se aprecian las células de menor tamaño, esto se debe a que no tienen una actividad funcional normal, pues la deficiencia hormonal contribuye a que las células se encuentren afectadas en su desarrollo normal.

I. Davies y colaboradores (1990) reportan en su estudio que los cambios asociados con la edad de la neurohipófisis pueden contribuir a la disminución de la capacidad de conservar el equilibrio hídrico. El volumen de la neurohipófisis aumenta significativamente con la edad, pero la cantidad de vasopresina en la glándula permanece constante. Los niveles de oxitocina disminuyen con la edad.

C. D. Tweedle y G. I. Hatton (1987) mencionan que bajo condiciones de baja demanda de liberación de hormonas neurohipofisarias, los pituicitos encierran muchas terminales axónicas. Ocupan un mayor espacio en la lámina basal y se acercan a los capilares de la neurohipófisis lo que provoca la disminución de la lámina basal y en el número de pituicitos que alcanzan espacios pericapilares (16,24).

En este estudio no se pueden diferenciar los tipos de pituicitos ya que no se utilizaron marcadores específicos para receptores de los pituicitos (anticuerpos monoclonales Thy 1.1, LB1, anti GD3, antisuero policlonal GFAP, y suero de pacientes con la enfermedad de Chagas, entre otros), C6 y D5 específicos para axones del tracto hipotálamo-neurohipofisario (5,28).

Se ha descrito la citomorfología bajo diferentes condiciones experimentales, tales como deshidratación y rehidratación por muchos autores, pero la caracterización histoquímica de los pituicitos es escasa.

Las células secretoras presentan una gran actividad celular en cuanto a la elaboración de proteínas, por este motivo estas células en ocasiones presentan más de un nucleolo. En los pituicitos de los ratones atímicos se presenta este fenómeno; esta células no son propiamente secretoras, pero si intervienen en la secreción hormonal, además cualquier célula que presente cualquier tipo de alteración metabólica o de carencia de sustancias necesarias para el funcionamiento normal, al responder a

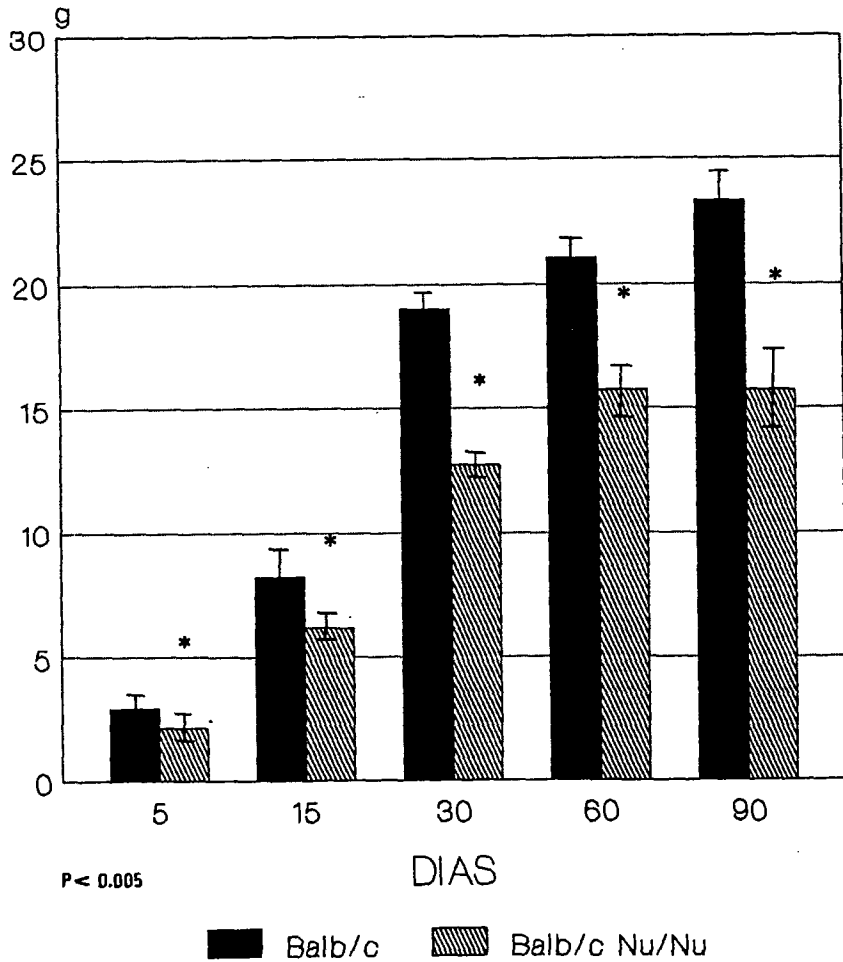
esta falta reacciona con una actividad mayor de la normal en su producción de proteínas y como consecuencia llega a presentar dos o incluso más nucleolos (20). En la neurohipófisis de ratón desnudo encontramos este fenómeno ya que se presenta no solo en los pituiticos sino también en las células claras.

W. Pierpaoli y H. O. Besedovsky (1975 y 1976) reportan en sus estudios hechos con ratones atímicos que la persistencia de bajos niveles de tiroxina en el ratón atímico adulto expresa una alteración en la función hipotalámica para la síntesis y secreción de factores liberadores de hormonas como por ejemplo: el factor liberador de tirotropina, consecuencia para la baja acción del timo sobre el desarrollo del hipotálamo en vida perinatal.

La influencia de las hormonas tiroideas juega un importante papel en el desarrollo del sistema hipotalámico, los niveles de estas hormonas determinan la actividad neuroendócrina del hipotálamo. Por lo que es de esperarse que el desarrollo en particular de la hipófisis se vea afectado por deficiencia hormonal de los ratones atímicos y que en consecuencia se vea alterado el desarrollo y funcionamiento del organismo en general.

Gráfica 1

Peso corporal



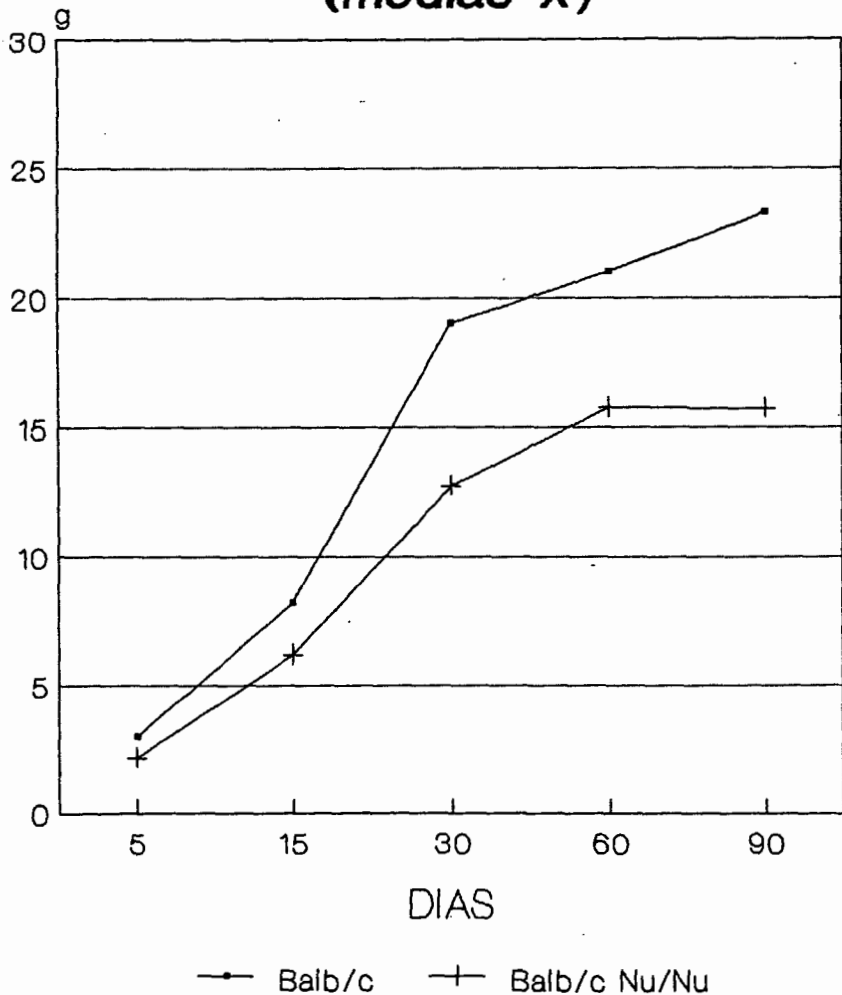
$P < 0.005$

PRUEBA T-STUDENT

Gráfica 1a

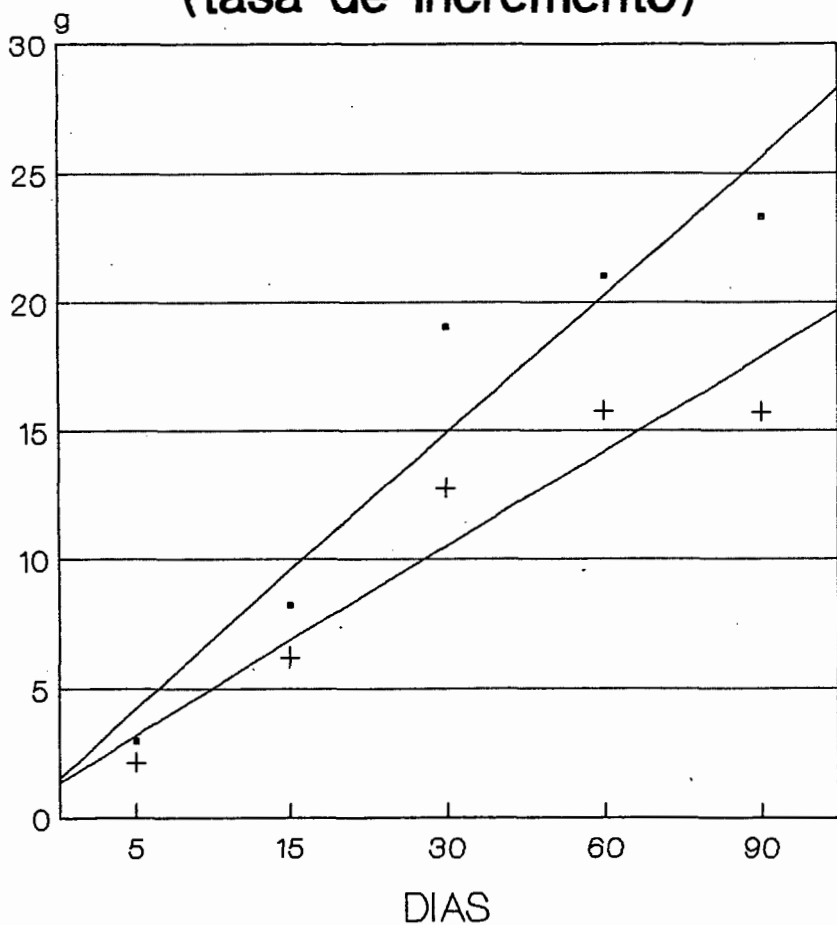
Peso corporal

(medias \bar{x})



Gráfica 1b

Peso corporal (tasa de incremento)

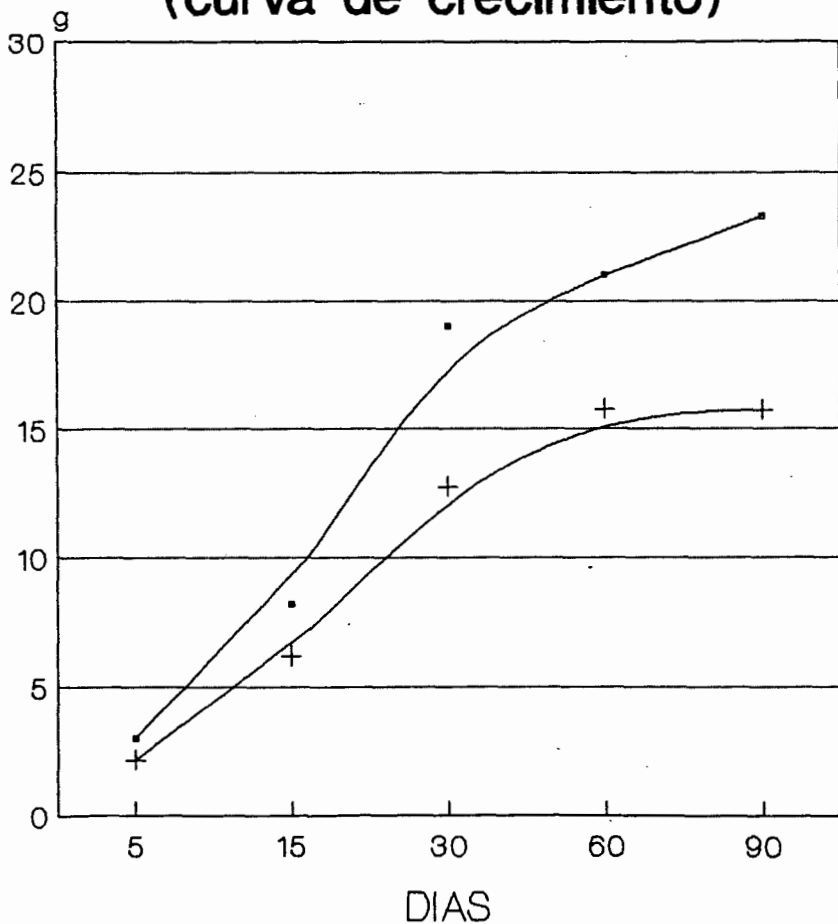


—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

Gráfica 1c

Peso corporal

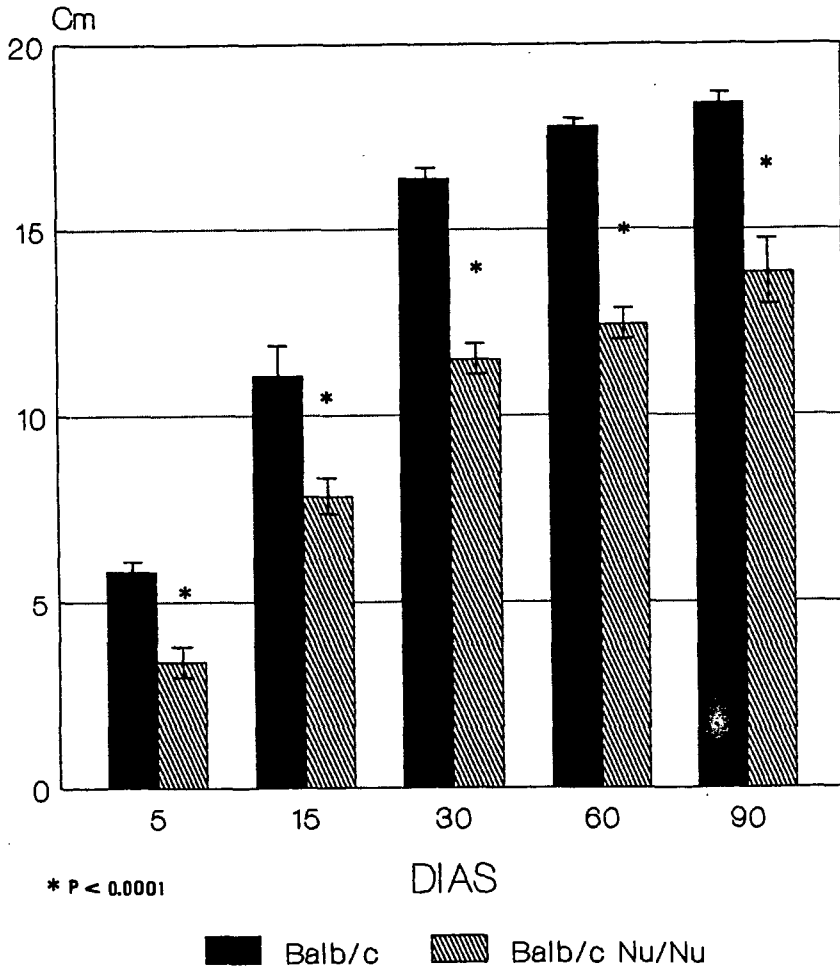
(curva de crecimiento)



—•— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

Gráfica 2

Talla Corporal

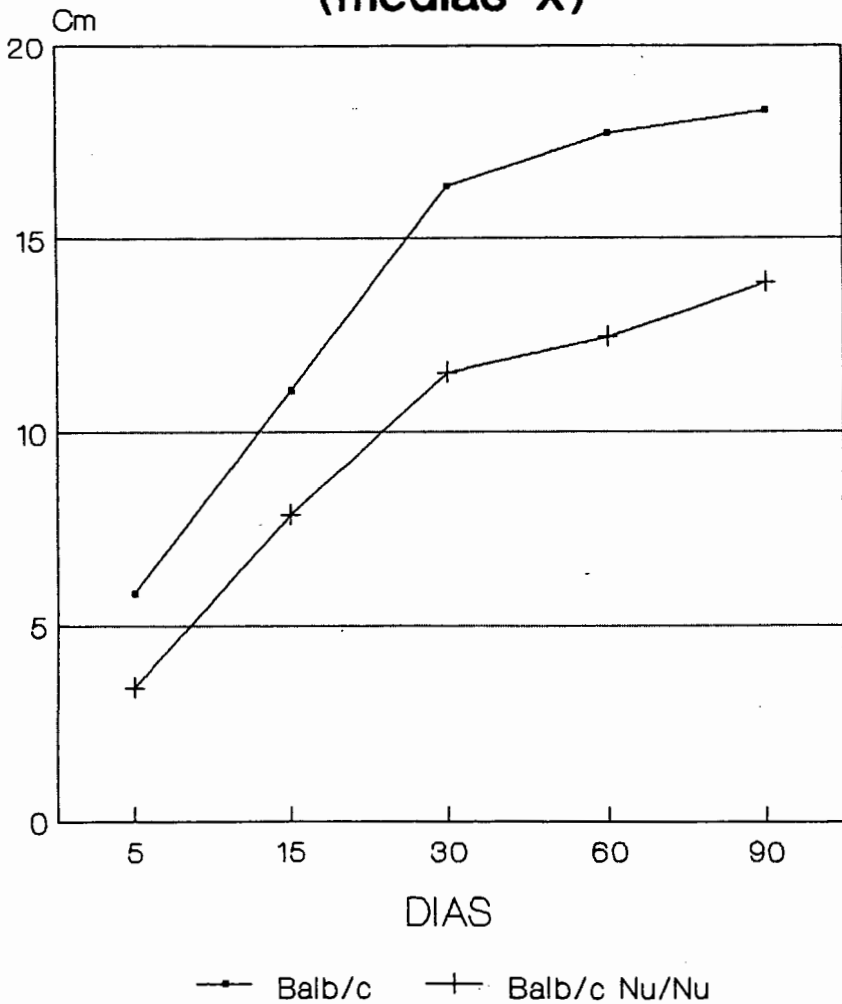


PRUEBA T-STUDENT

Gráfica 2a

Talla corporal

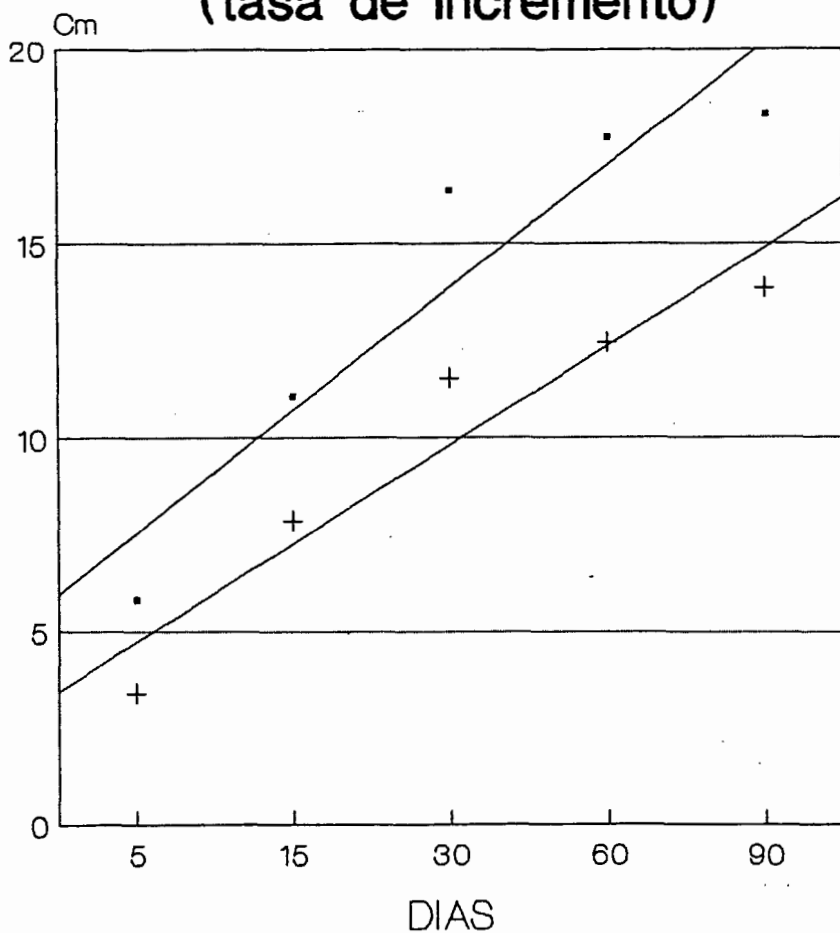
(medias \bar{x})



Gráfica 2b

Talla corporal

(tasa de incremento)

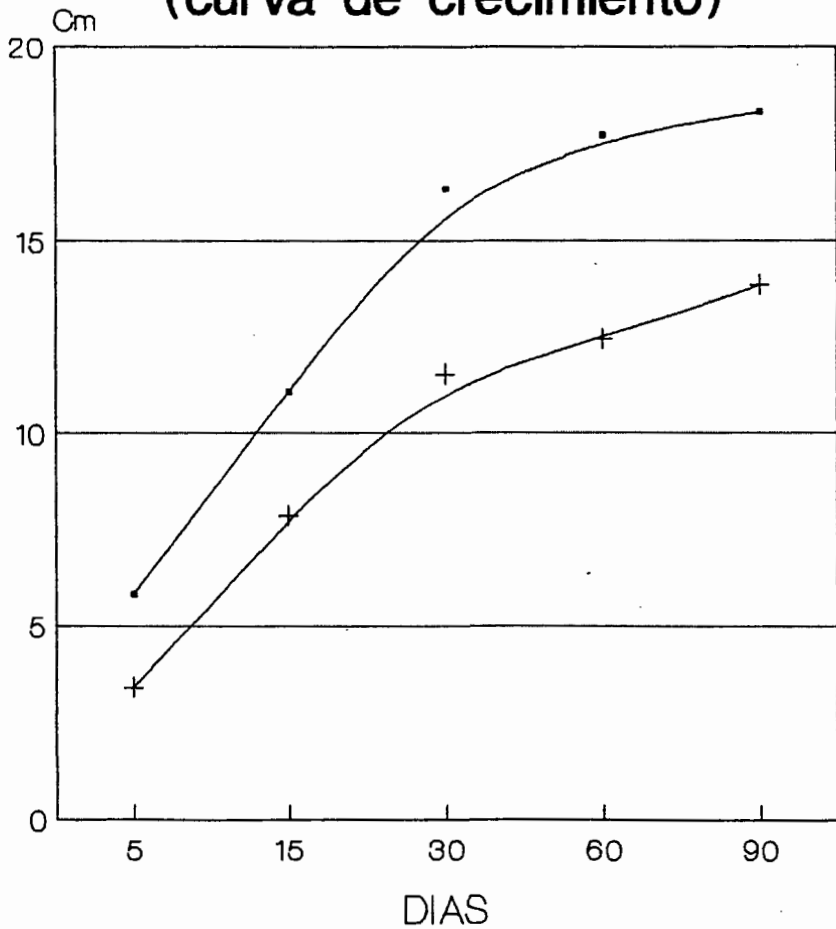


● Balb/c + Balb/c Nu/Nu

Gráfica 2c

Talla corporal

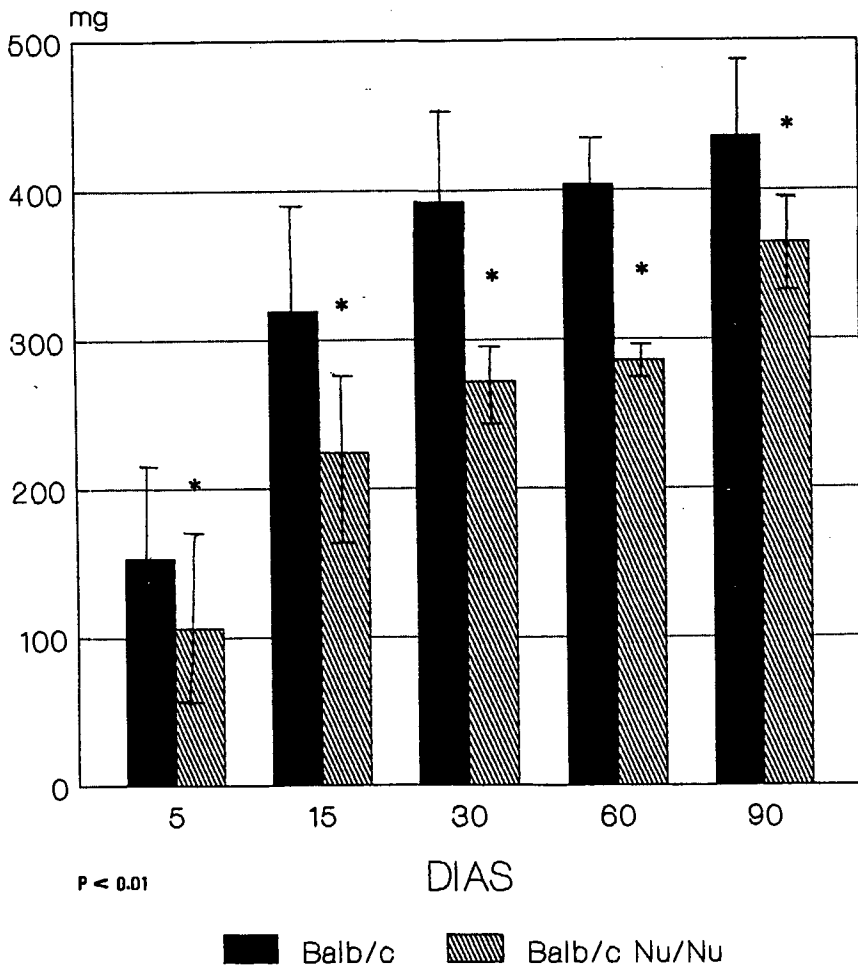
(curva de crecimiento)



—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

Gráfica 3

Peso del encéfalo

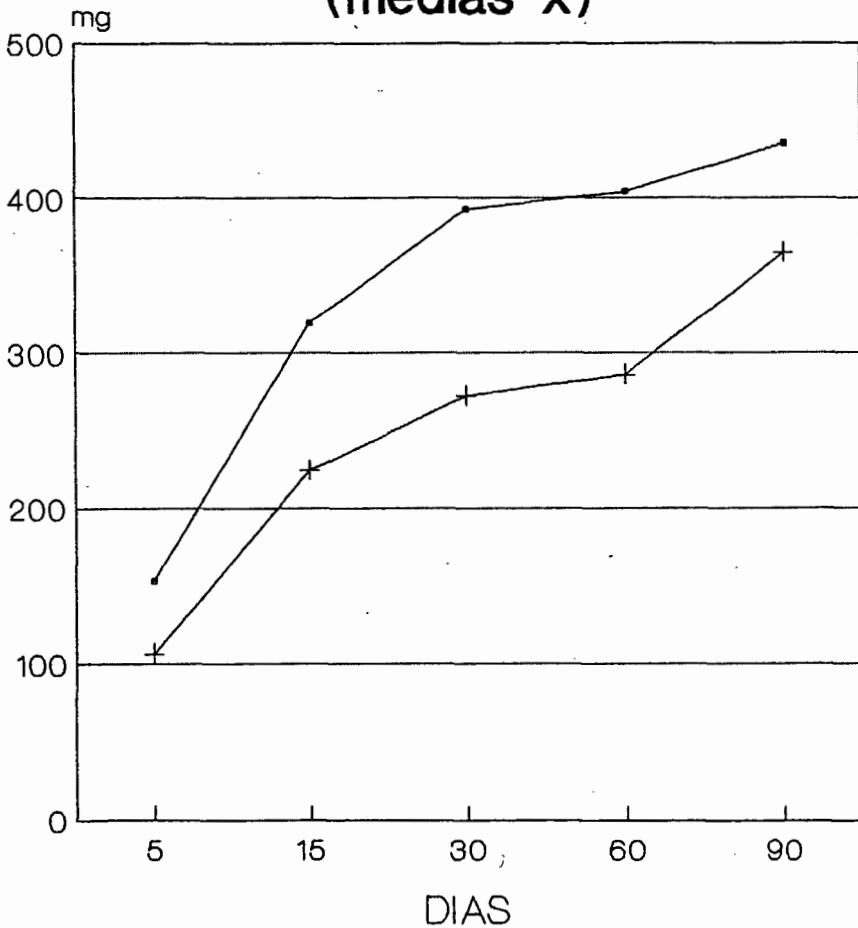


PRUEBA T-STUDENT

Gráfica 3a

Peso del encéfalo

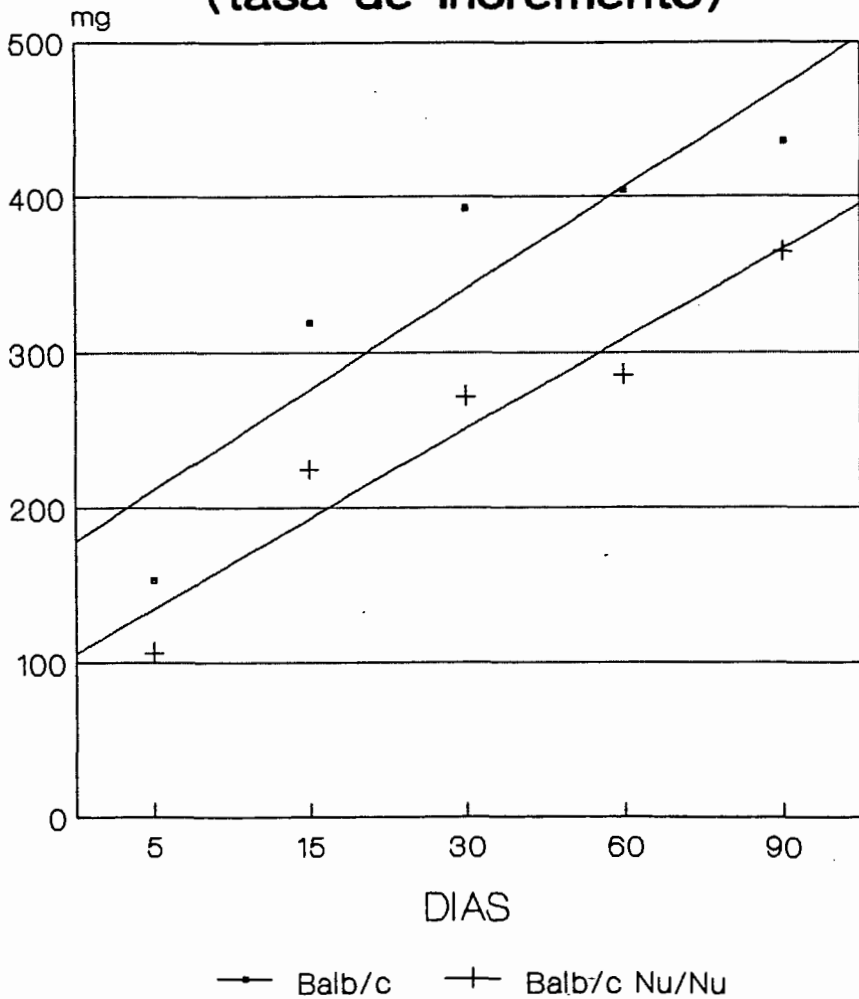
(medias \bar{x})



—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

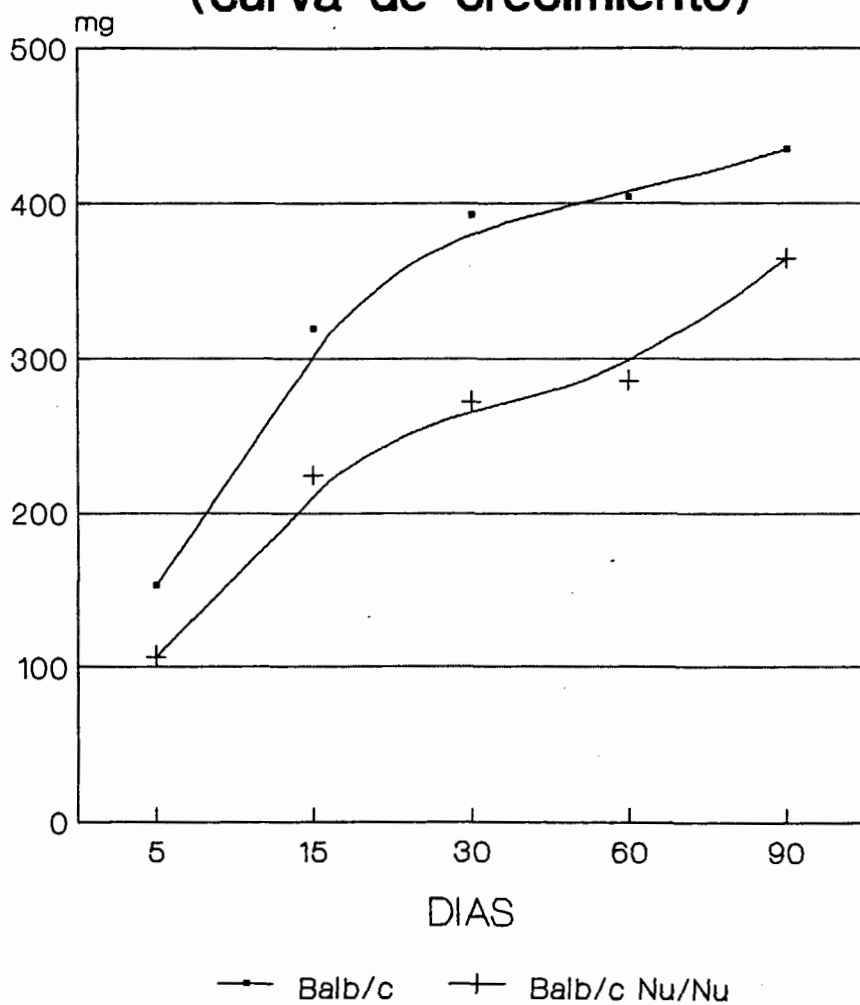
Gráfica 3b

Peso del encéfalo (tasa de incremento)



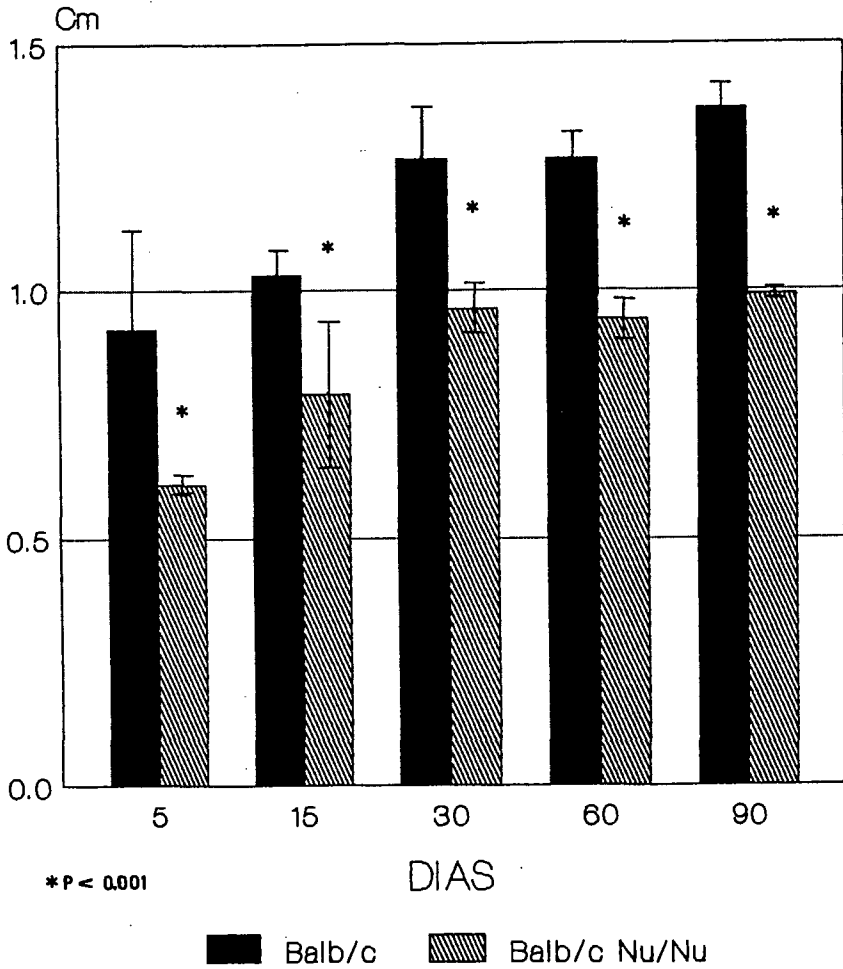
Gráfica 3c

Peso del encéfalo (curva de crecimiento)



Gráfica 4

Talla del encéfalo

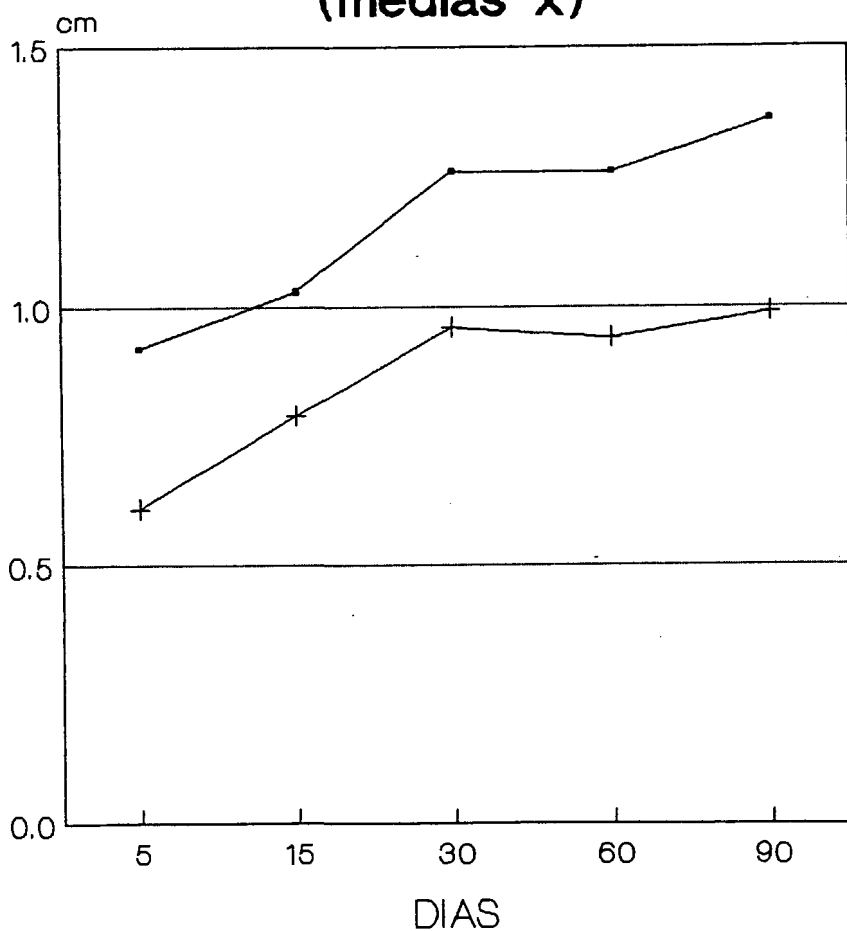


PRUEBA T-STUDENT

Gráfica 4a

Talla del encéfalo

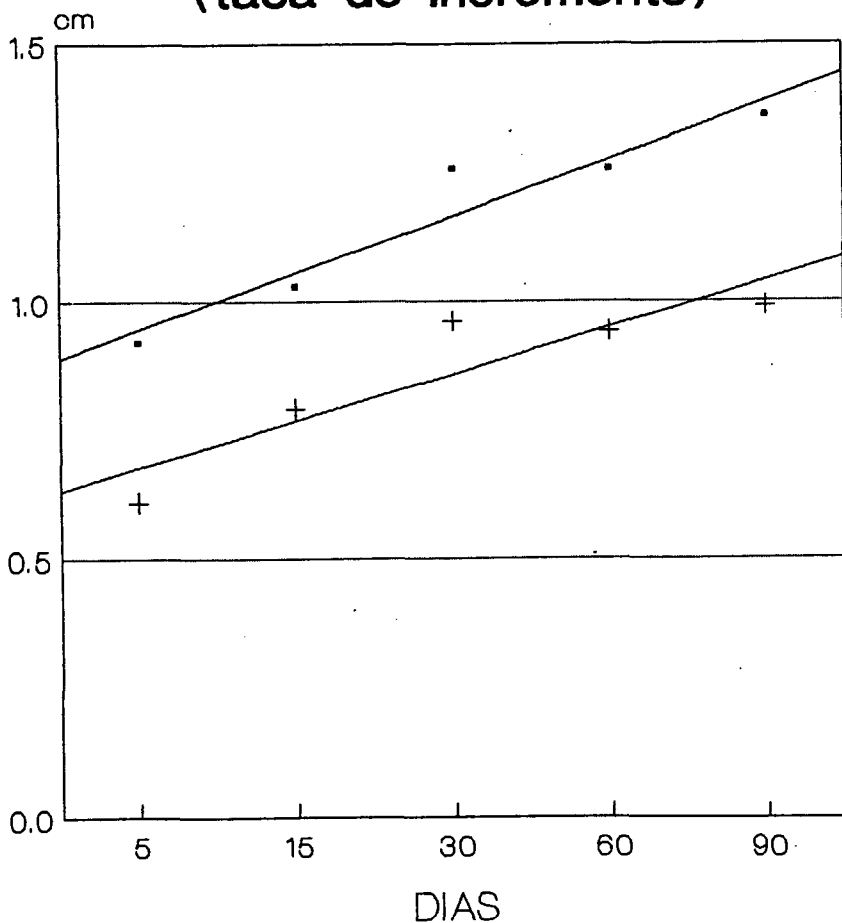
(medias \bar{x})



—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

Gráfica 4b

Talla del encéfalo (tasa de incremento)

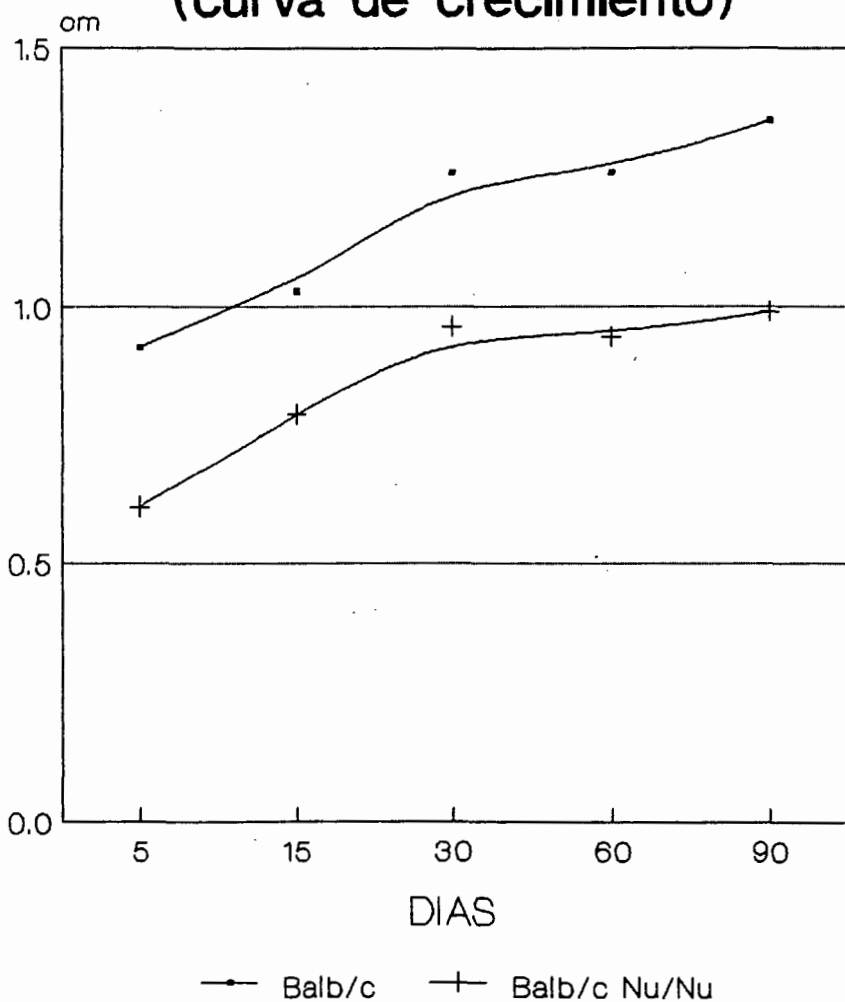


—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

Gráfica 4c

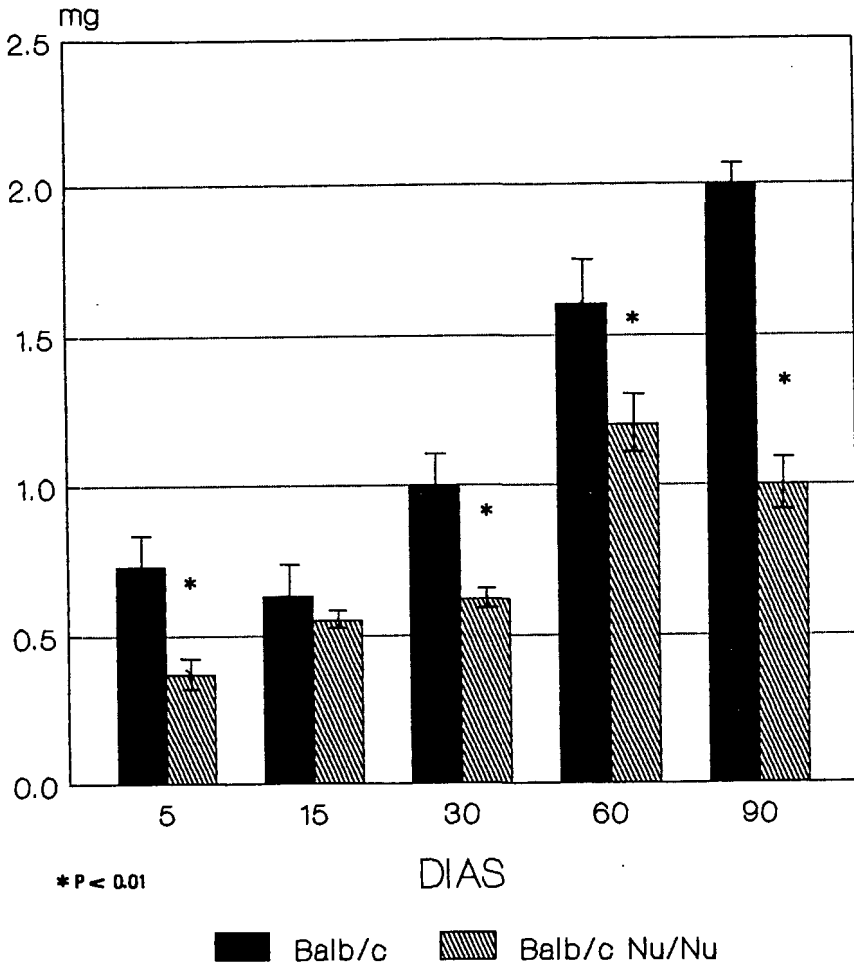
Talla del encéfalo

(curva de crecimiento)



Gráfica 5

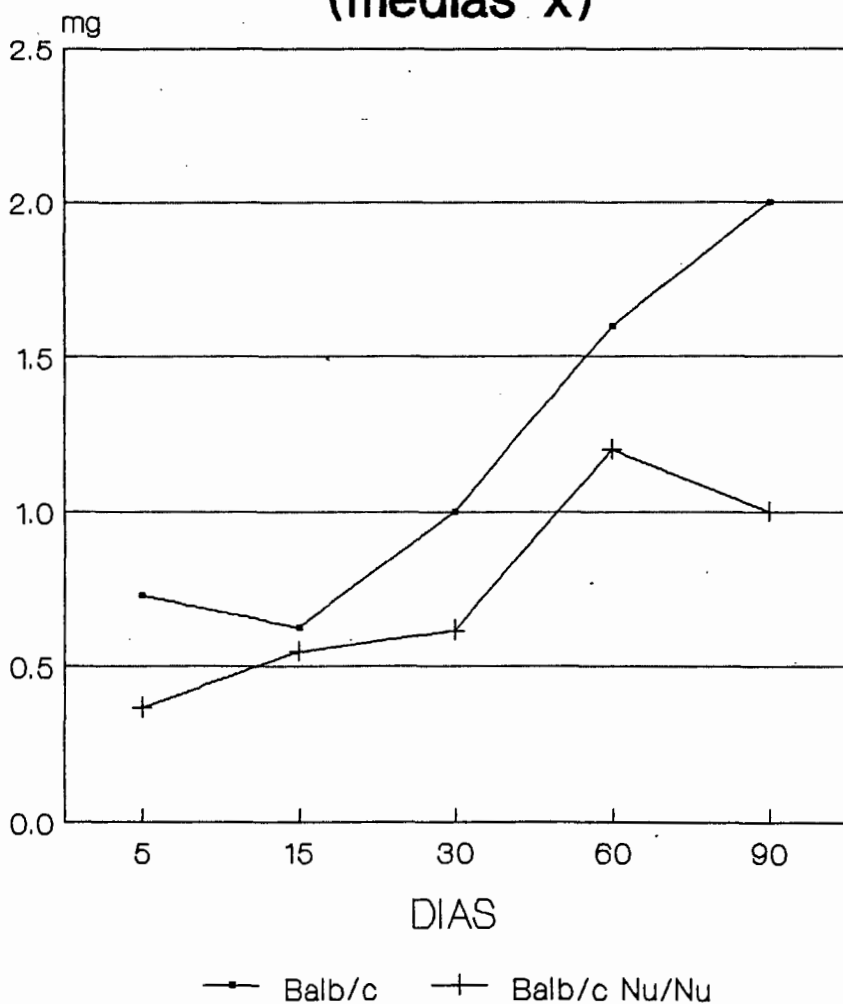
Peso de la hipófisis



PRUEBA T-STUDENT

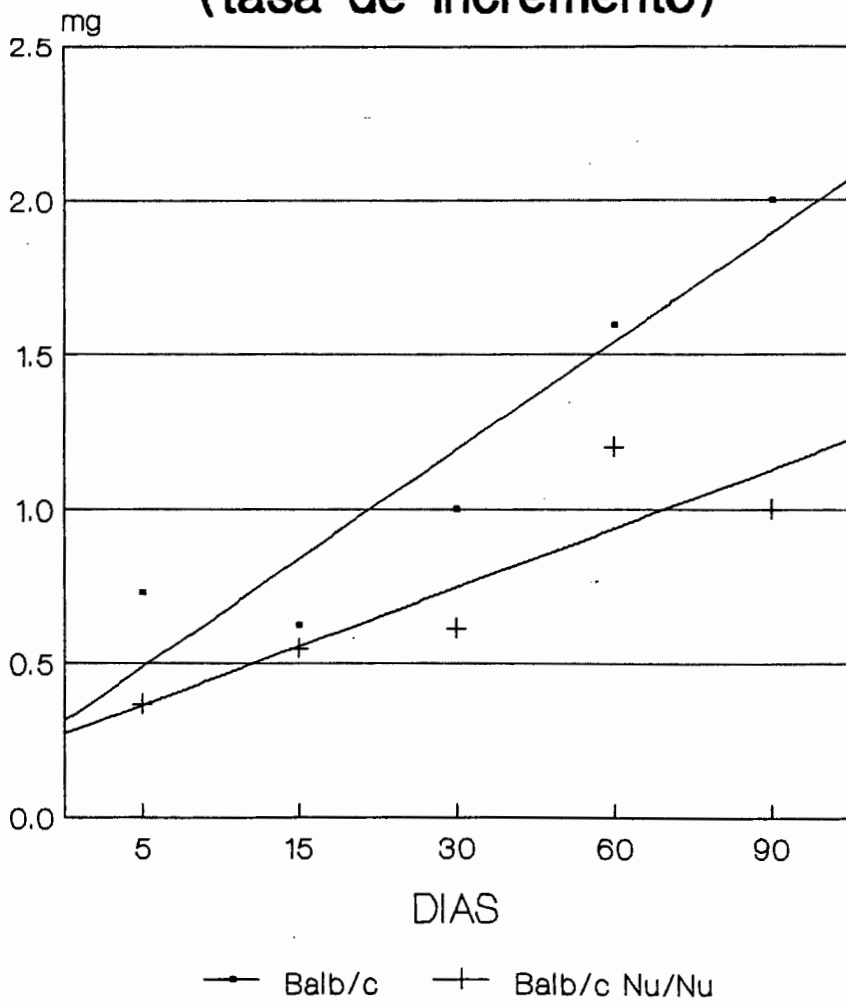
Gráfica 5a

Peso de la hipófisis (medias \bar{x})



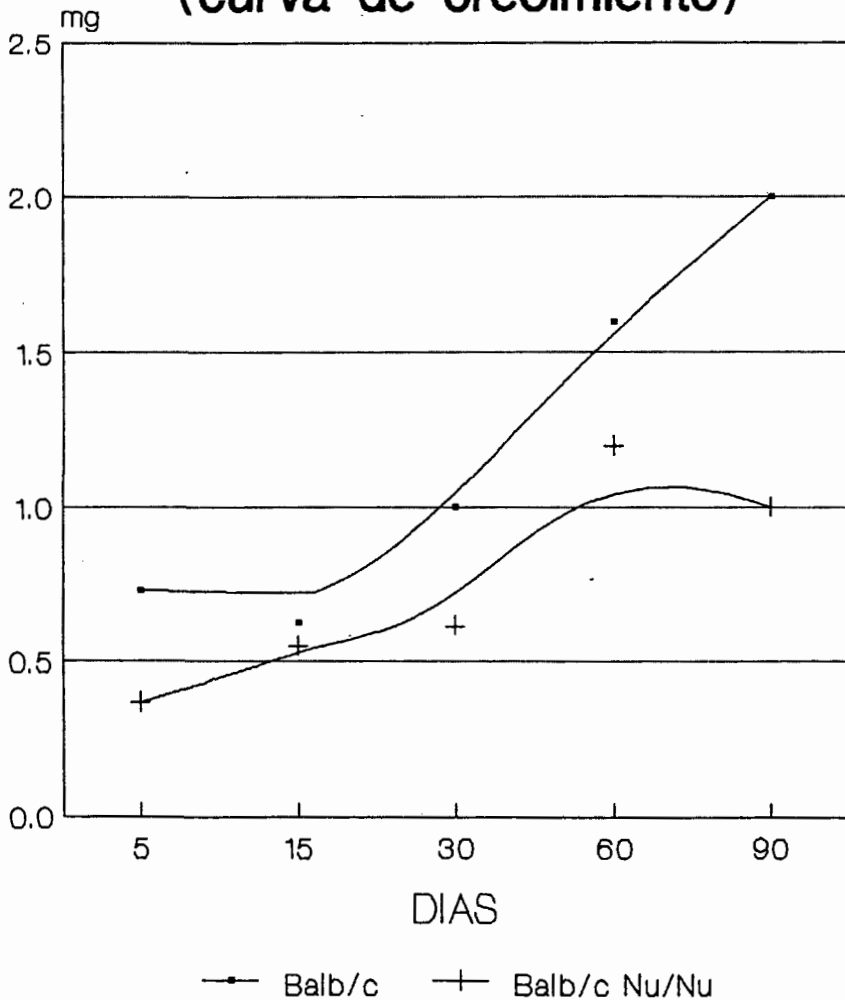
Gráfica 5b

Peso de la hipófisis (tasa de incremento)



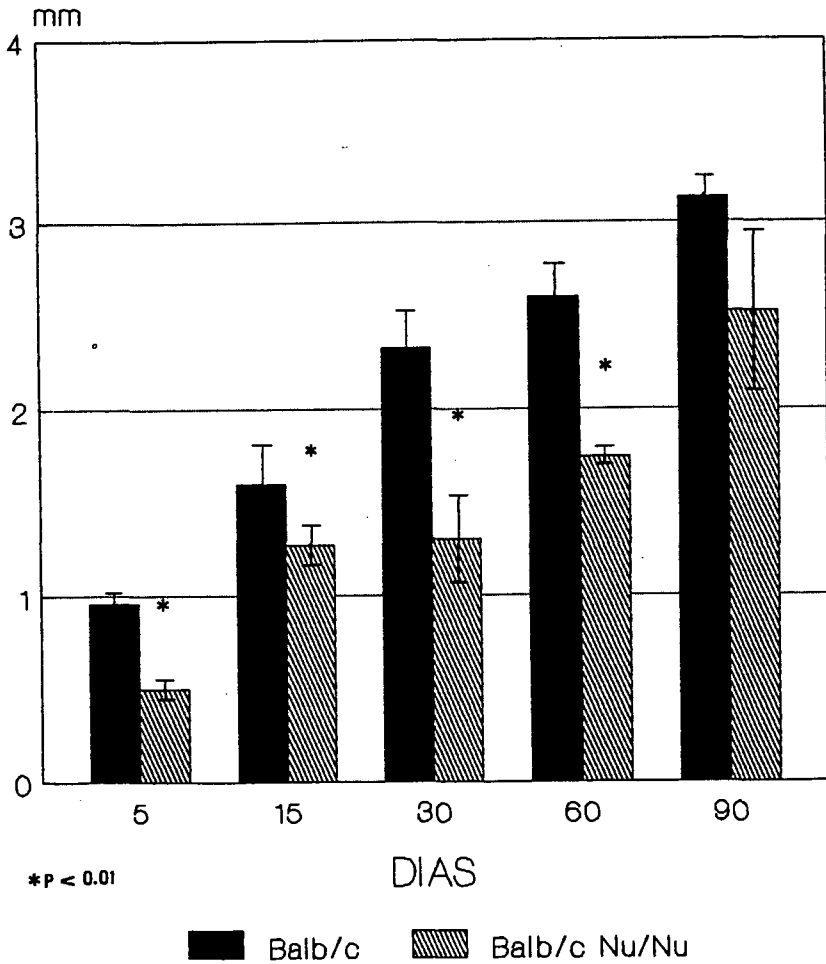
Gráfica 5c

Peso de la hipófisis (curva de crecimiento)



Gráfica 6

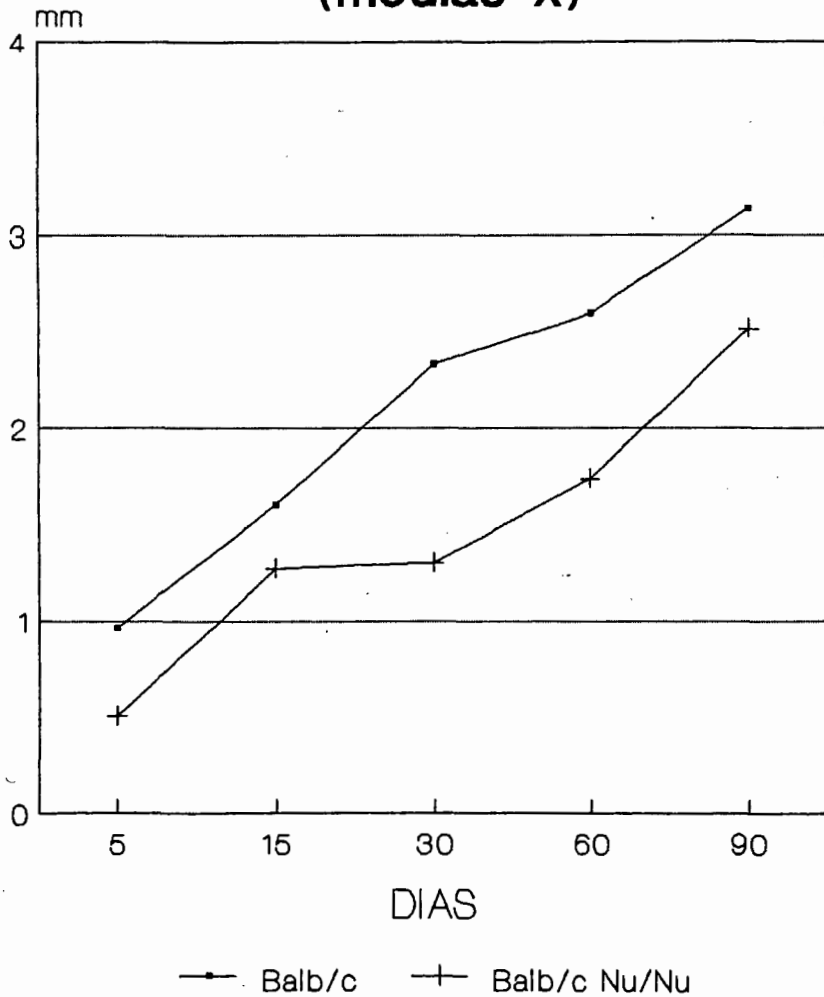
Talla de la hipófisis



PRUEBA T-STUDENT

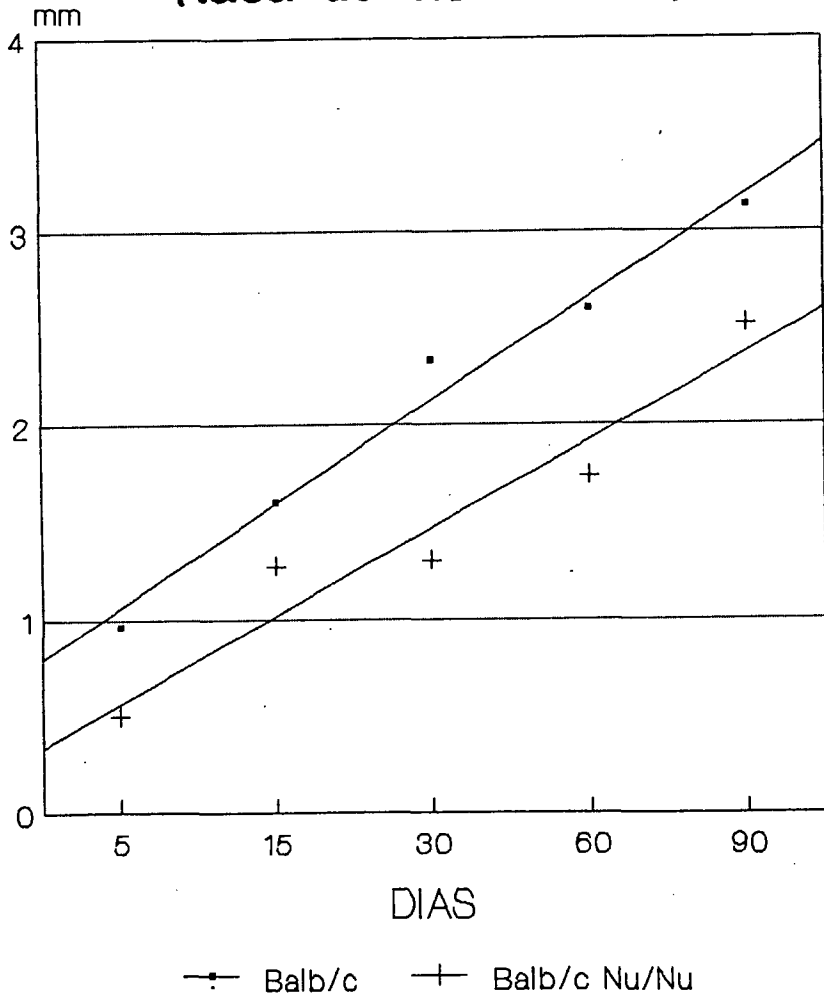
Gráfica 6a

Talla de la hipófisis (medias \bar{x})



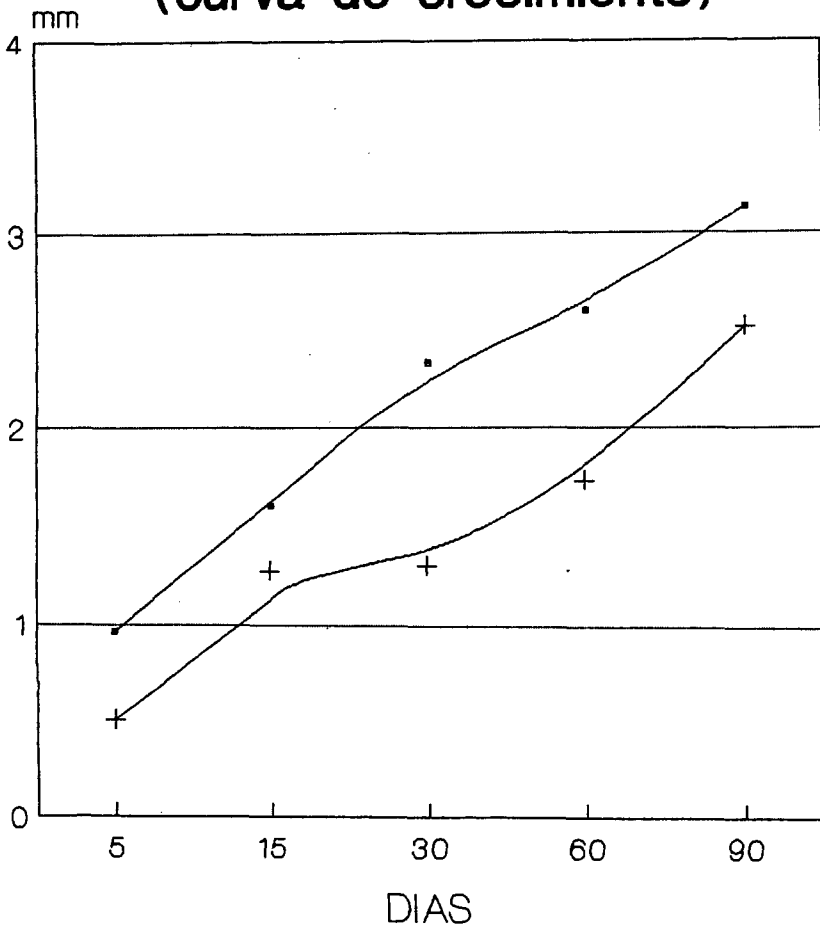
Gráfica 6b

Talla de la hipófisis (tasa de incremento)



Gráfica 6c

Talla de la hipófisis (curva de crecimiento)



—●— Balb/c —+— Balb/c Nu/Nu

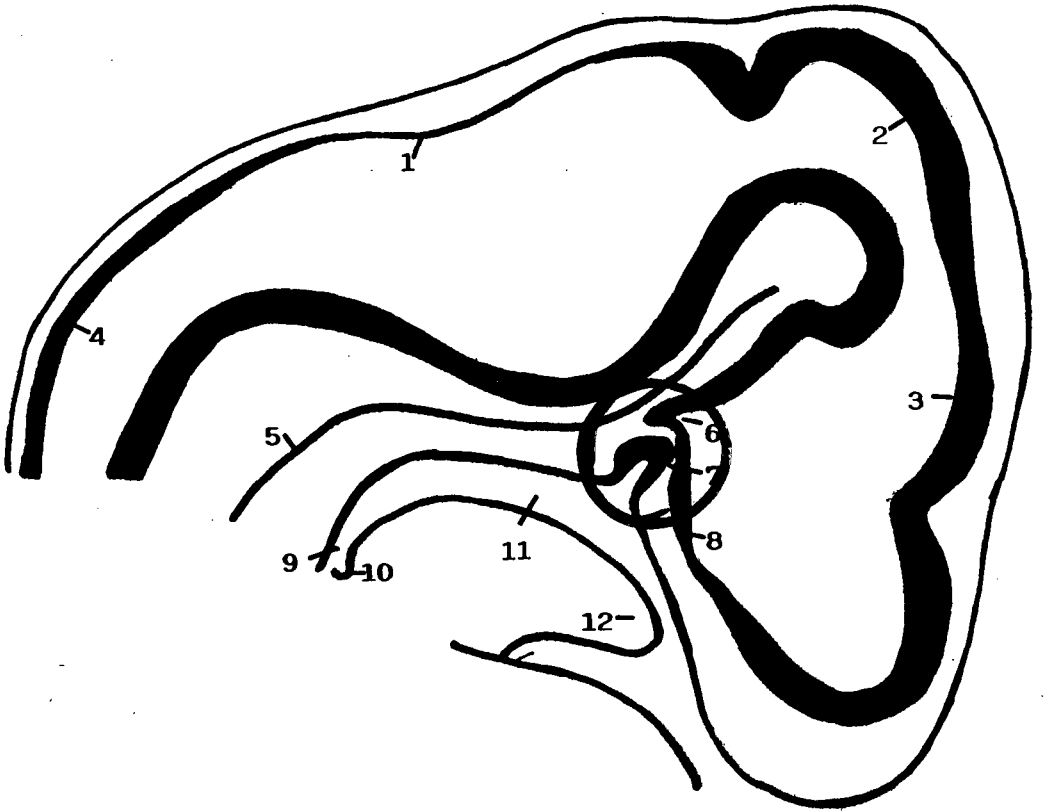
CONCLUSIONES

En condiciones de hipoplasia de timo en el ratón desnudo la neurohipófisis se ve afectada por lo siguiente:

* El peso y talla del cuerpo, encéfalo y de la glándula hipófisis es menor en los ratones atímicos que en los normales en todas las edades de estudio.

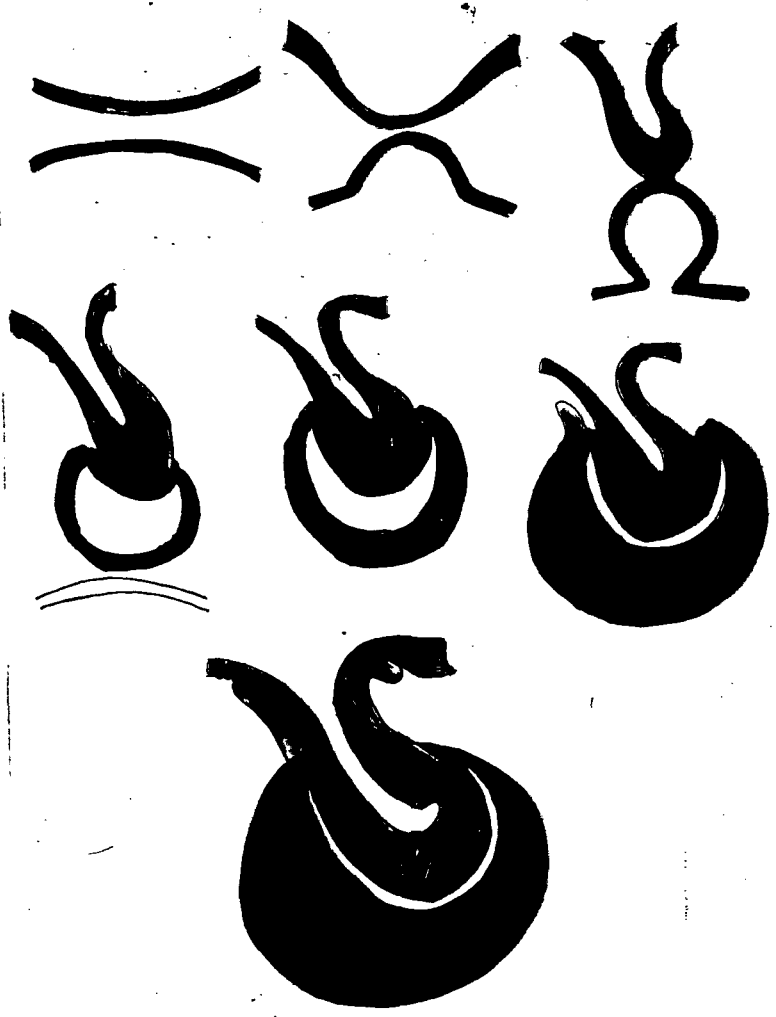
* Al comparar el tejido de la neurohipófisis de los ratones atímicos contra los normales, en todas las edades de estudio, ésta se ve alterada en su citoarquitectura por la apariencia de una menor población celular observada por campo visual, las células son de menor tamaño y se aprecian espacios intercelulares mayores.

APENDICES

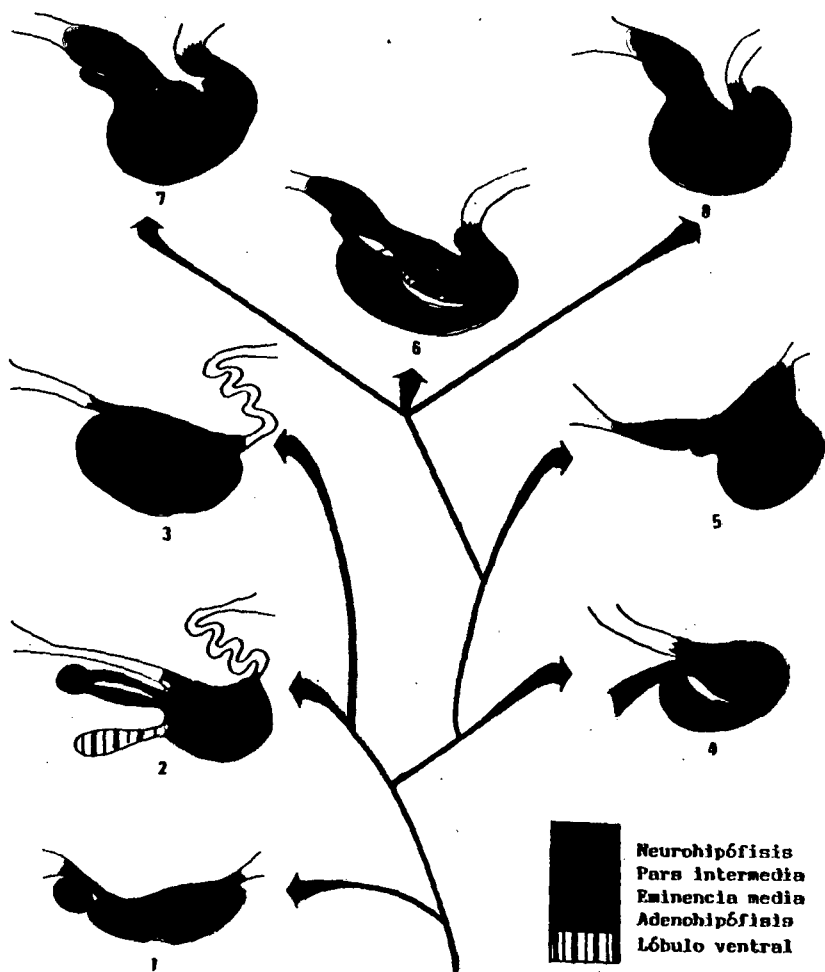


- 1.- Cerebro posterior
- 2.- Cerebro medio
- 3.- Diencéfalo
- 4.- Médula espinal
- 5.- Notocorda
- 6.- Infundíbulo
- 7.- Bolsa hipofisaria
- 8.- Quiasma óptico
- 9.- Esófago
- 10.- Divertículo tiroideo
- 11.- Cavidad bucal
- 12.- Lengua

Corte sagital de la cabeza de un embrión de manífero que muestra el origen embrionario de la hipófisis.

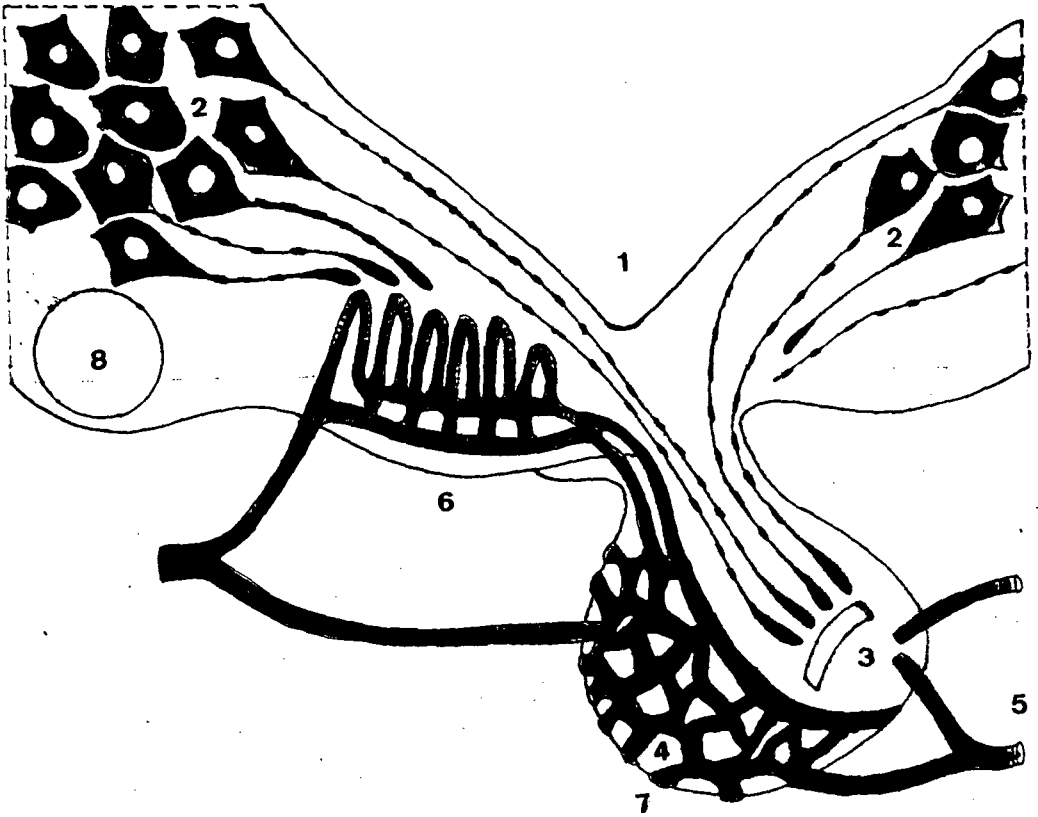


Esquema que muestra las fases del desarrollo de la hipófisis de un mamífero a partir de tejido cerebral y de la bolsa hipofisaria.



- 1.- Ciclostomos
- 2.- Elasmobranquios
- 3.- Teleósteos
- 4.- Peces pulmonados
- 5.- Anfibios
- 6.- Reptiles
- 7.- Aves
- 8.- Mamíferos

Esquema que muestra la probable evolución de la hipófisis en los vertebrados.



- 1.- Tercer ventrículo
- 2.- Células neurosecretorias en
núcleos hipotalámicos
- 3.- Neurohipófisis
- 4.- Adenohipófisis
- 5.- Venas
- 6.- Plexo primario
- 7.- Plexo secundario
- 8.- Quiasma óptico

Esquema que muestra las partes que intervienen en el proceso de neurosecreción.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abe, H. y col. Transient expression of a calcium/binding protein (spot 35-calbindin) and its mRNA in the immature pituicytes of embrionic rats. *Cell-Tissue-Res* 266:(2):325-30 (1991)
- 2.- Alvarez del Villar, J. Anatomía Comparada Básica. Ed. Trillas. pag. 548-549 (1979).
- 3.- Barr, M.L. El Sistema Nervioso Humano. Ed. Harla. pag. 174-175 (1975).
- 4.- Bone, J.F. Fisiología y Anatomía Animal. Ed. El Manual Moderna. pag. 299 (1983).
- 5.- Bunn, S.J. y col. Pituitary astrocytes from the neural lobe of rats. *Cell-Tissue-Res* 260:589-594 (1990).
- 6.- Cannata, M.A. y Tramezzani, J.H. Ultrastructural maturation of the neurohypophysis of the rat. *Acta anat.* 97:213-223 (1977).
- 7.- Davies, I. y col. The ageing hypothalamo-neurohypophysial system. An analysis of the neurohypophysis in normal hydration, osmotic loading and rehydration. *Mech-Ageing-Dev* 51(2):157-78 (1990).
- 8.- Dellman, H.D. y Owsley, P.A. Investigations on the hypothalamo-neurohypophysial neurosecretory system of the Grass Frog (*Rana pipiens*) after transection of the proximal neurohypophysis. *Z. Zellforseh.* 94:325-336 (1969).
- 9.- Fink, G. y Smith, G.C. Ultrastructural features of the developing hypothalamo-hypophysial axis en the rat. *Z. Zellforseh.* 119:208-226 (1977).
- 10.- Flores L.F. y Cabeza de Flores, A. Endocrinología. 2a. ed. Ed. Francisco Méndez Cervantes. pag. 21-58 (1988).
- 11.- Fotheringham, A.P. y col. Age associated changes in neuroaxonal transport in the hipothalamo-neurohypofysial system of the mouse. *Mech-Ageing-Dev* 60(2):113-21 (1991).
- 12.- Galabov, P y Schiebler, T.H. The ultrastructure of

- developing neural lobe. *Cell-Tissue-Res* 315-329 (1978).
- 13.- Gordon, M. *Fisiología Animal*. Ed. C.E.C.S.A. pag. 633, 666, 694-698 (1979).
 - 14.- Guyton A.C. *Tratado de Fisiología Médica*. 5a. ed. Ed. Interamericana. pag. 985-986 (1976).
 - 15.- Hatton, G.I. Emerging concepts of structure-function dynamics in adult brain: the hypothalamo-neurohypophysial system. *Prog. Neurobiol* 34(6):437-504 (1990).
 - 16.- Hatton, G.I. Pituicytes, glia and control of terminal secretion. *J.exp. Biol* 139:67-79 (1988).
 - 17.- Hatton, G.I. y col. Adrenalin activation of beta 2-adrenoreceptors stimulates morphological changes in astrocytes (pituicytes) cultured from adult rat neurohypophyses. *Brain Res. Bull* 26(5):765-9 (1991).
 - 18.- Hilderbrand, M. *Anatomía y Embriología de los Vertebrados*. Ed. Limusa. pag. 508-518 (1982).
 - 19.- Hoar, W.S. *Fisiología General y Comparada*. Ed. Omega. pag. 51-53 (1978).
 - 20.- Krsulovic, J. y Bruckner, G. Morphological characteristics of pituicytes in different functional stages. *Z. Zellforsch.* 99:210-229 (1969).
 - 21.- Lafarga, M. y col. Influence of age on nuclear bodies and nuclear volume in pituicytes of the rat neurohypophysis. *Anat Rec* 230(3):319-24 (1991).
 - 22.- Leesson, C.R. y col. *Histología*. 5a. ed. Ed. Interamericana. pag. 455-465 (1987).
 - 23.- Loesch, A. y Majkowska, J. Ultrastructural features of the neurohypophysis of reanimated rat in connection with experimentally induced clinical death lasting 15 min. A case report. *J. Hirnforsch* 31(1): 99-106 (1990).
 - 24.- Luckman, S. M. y Bicknell, R.J. Morphological plasticity that occurs in the neurohypophysis following activation of the magnocellular

- neurosecretory system can be mimicked in vitro by beta-adrenergic stimulation. *Neuroscience* 39(3):701-9 (1990).
- 25.- Morris, J.F. Hormone storage in individual neurosecretory granules of the pituitary gland: a quantitative ultrastructural approach to hormone storage in neural lobe. *J. Endocr* 68:209-224 (1976).
- 26.- Noback, C.R. *Sistema Nervioso Humano*. Ed. McGrawHill. pag. 260-263 (1980).
- 27.- Normand, J.J. ultrastructural morphometry of the neurohypophysis. *J. Anat.* 123(1):213-218 (1977).
- 28.- Paden, C.M. y Hapner, S.J. Monoclonal antibodies identify two novel protein associated with vasopressin secretory granules of the rat neurohypophysis. *Brain Res* 545(1-2):151-63 (1991).
- 29.- Pantelouris, E.M. y Sue Lintern Moore. *Physiological studies on the nude mouse in experimental and clinical research*. Ed by Jorgen Fogh and Beppino C. Giovanella. Acad Press 29-51 (1978).
- 30.- Pierpaoli W. y Besedovsky H.O. Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions. *Clin Exp Immunol* 20:323-338 (1975).
- 31.- Pierpaoli W. y col. Interdependence of thymic and neuroendocrine fuctions in ontogeny. *Clin Exp Immunol* 24:501-506 (1976).
- 32.- Pow, D.V. y col. Microglia in the neurohypophysis associate with and endocytose terminal portions of neurosecretory neurons. *Neuroscience* 33(3): 567-578 (1989).
- 33.- Romer y Parsons. *Anatomía Comparada*. 5a. ed. Ed. Interamericana. pag. 362-366 (1986).
- 34.- Rutzel, H. y Schiebler, T.H. Prenatal development of the glia cells in the median eminence of the rat. *Cell Tissue Res* 211:117-137 (1980).
- 35.- Somer, L y col. [Reactive characteristics of the

- neurohypophysis in the early postnatal period]. *Med Pregl.* 43(5-6):210-13 (1990).
- 36.- Stratton, D.B. *Neurofisiología*. Ed. Limusa. pag. 358 (1990).
- 37.- Suess, U. y Pliska, V. Identification of the pituicytes astroglial cells by indirect immunofluorescence-staining for the glial fibrillary acidic protein. *Brain Res* 221:27-33 (1981).
- 38.- Theodosis, D.T. Endocytosis in glial cells (pituicytes) of the rat neurohypophysis demonstrated by incorporation of horseradish peroxidase. *Neuroscience* 4:417-425 (1979).
- 39.- Tian, M. y col. Electron microscopic and immunocytochemical study of rapidly frozen, freeze-substituted neural lobes of rats. *J. Neurocytol* 20(2):79-96 (1991).
- 40.- Twedle, C.D. y Hatton, G.I. Evidence for dynamic interactions between pituicytes and neurosecretory axons in the rat. *Neuroscience* 5:661-667 (1980).
- 41.- Twedle, C.D. y Hatton, G.I. Morphological adaptability at neurosecretory axonal endings on the neurovascular contact zone of the rat neurohypophysis. *Neuroscience* 20(1):241-246. (1987).
- 42.- Vazquez, R. y Amat, O. The ultrastructure of the Herring bodies in rats subjected to different experimental conditions. *Cell Tiss Res* 189:41-51 (1978).
- 43.- Weichert y Presch. *Elementos de Anatomía de los Cordados*. 4a. ed. Ed. McGrawHill. pag. 430-432 (1981).
- 44.- Windle, W.F. *Histología*. Ed. McGrawHill. pag. 496-499 (1977).



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección

Expediente

Número

C. GABRIELA RAMOS PRECIADO
 P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA NEUROHIPOFISIS DE LA MUTANTE DE RATON NUDE MOUSE (Balb/c An Bom Df Nu/Nu) DURANTE SU DESARROLLO POSNATAL" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el M.en C. Genaro Gabriel Ortíz.

A T E N T A M E N T E
 " PIENSA Y TRABAJA "
 "AÑO DEL BICENTENARIO"
 Guadalajara, Jal., 28 de Julio de 1992.
 EL DIRECTOR



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C. JUAN LUIS CIFUENTES LEMUS

EL SECRETARIO

BIOL. JESUS ALBERTO ESPINOSA ARIAS

c.c.p.- M.en C. Genaro Gabriel Ortíz, Director de tesis pte.-
 c.c.p.- El expediente del alumno.

JLCL>JAEA>Cgr.

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS

DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T E :

Por medio de este conducto me es grato saludarle y a la vez comunicarle que el trabajo de tesis titulado: "ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA NEUROHIPOFISIS DE LA MUTANTE DE RATON NUDE MOUSE (Balb/c An Bom Df Nu/Nu) DURANTE SU DESARROLLO POSNATAL" desarrollado por la C. pasante de la Licenciatura en Biología GABRIELA RAMOS PRECIADO, (código 084856584) ha quedado debidamente concluido.

Se anexan a la presente ejemplares del escrito para su revisión y en su caso aprobación para la impresión del mismo, con el fin de programar fecha de examen de tesis y profesional.

Sin otro particular, le reitero la expresión de mi consideración más distinguida.

ATENTAMENTE

Guadalajara, Jal. 02 de Agosto de 1993



M. en C. GENARO GABRIEL ORTIZ
DIRECTOR DE TESIS

ccp Sinodales de evaluación de proyecto
ccp C. pasante de la Licenciatura en Biología
Gabriela Ramos Preciado.

DR. EULOGIO PIMIENTA BARRIOS
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

P R E S E N T E.

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó la Pasante Gabriela Ramos Preciado, código número 084056584 con el título ESTUDIO MORFOLOGICO DE LA NEUROHIPOFISIS DE LA MUTANTE DE RATON "NUDE MOUSE" (Balb/c An Bom Df Nu/Nu) DURANTE SU DESARROLLO POSNATAL consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior con los fines que haya lugar.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 15 de Septiembre de 1993

EL DIRECTOR

M. en C. GENARO GABRIEL ORTIZ

SINODALES

DRA. GALINA ZATZEVA PETROVNA

M. en C. DANIEL ORTUÑO SAHAGUN

M. en C. CARLOS BEAS ZARATE

