

COMPORTAMIENTO HISTOLÓGICO DE LAS CÉLULAS A Y NA EN EL SHOCK ENDOTÓXICO EXPERIMENTAL

Gázquez, A.; Redondo, E.; Roncero, V.; Durán, E.

Histología y Anatomía Patológica. Departamento de Medicina y Sanidad Animal.
Facultad de Veterinaria. Cáceres.

Summary: Gázquez, A.; Redondo, E.; Roncero, V.; Durán, E. Histopathological changes of the cells A and NA in experimental septic shock. Acta Veterinaria 2, 21-27, 1988.

In the present paper, the structure and ultrastructure of cells A and NA in adrenal medulla of Wistar rats inoculated with *E. coli* neurotoxin, have been studied. 28 animals distributed in four groups, 3 experimentals and one control have been utilized. We have observed reactions in the cells of adrenal medulla, with degranulation of A cells firstly and NA cells subrequeently.

Key words: Septic shock, Adrenal Medulla, A Cells, Na Cells, Rats.

Palabras clave: Shock séptico, médula adrenal, células A, células NA, Ratas.

INTRODUCCIÓN.

El interés del estudio morfológico, del comportamiento de determinados grupos de células ante agentes endotóxicos, y en especial de aquellas células de carácter endocrino, resultan imprescindibles para la comprensión del fenómeno del shock y posteriormente su relación con el Síndrome General de Adaptación (S.G.A.).

Han sido numerosas las investigaciones morfológicas del proceso de shock en riñón (1), pulmón (2) e hígado (3), órganos todos de fuerte vascularización sin embargo hasta la fecha son escasos los estudios sobre la histopatología de los tejidos endocrinos en proceso de choque, y cuando se han realizado atendían fundamentalmente a los componentes del estroma y del sistema vascular. Tal es el caso de Fernández et al. (4), que realizan un estudio morfológico de la adenohipófisis de pollos inoculados con *E. coli* vivo, de Gázquez et al. (5), en adrenales de ratas wistar tratadas con neurotoxina de *E. coli*, Mausle (6) en sus estudios sobre las adrenales de cerdos inoculados con toxina diftérica. Incluso Nozdrin-Plotnicki (7), analizan el comportamiento del eje hipotálamo-hipófisis-adrenales en el shock endotóxico experimental.

Pero en cualquier caso, no han sido analizadas las modificaciones histopatológicas que experimentan las células endocrinas en el proceso de choque endotóxico; por ello planteamos esta experiencia, con la cual pretendemos

estudiar las alteraciones morfológicas de las células productoras de adrenalina (A) y noradrenalina (NA) de la médula adrenal de ratas wistar en el shock neurotóxico experimental.

MATERIAL Y MÉTODOS.

En el presente trabajo de investigación utilizamos 28 ratas wistar libres de gérmenes patógenos, de 150 días de edad. Los animales han sido distribuidos en dos grupos: uno experimental de 24 ratas y otro control de 4 ratas. El grupo experimental se dividió en 4 lotes cuya distribución se expone en la Tabla I.

A los animales a tratar se les inoculó neurotoxinas de *E. coli* EB 179, serotipo 0 139:k 82:(B). La inoculación fue realizada en la vena caudal dorsal a dosis de 0,06 ml, realizado a partir de una suspensión de 100 mg. de neurotoxina en 100 cc de agua apirógena.

Las ratas fueron sometidas a narcosis mediante 0,2 ml de Vetalar y 0,5 ml de Rompun por animal, una vez narcotizadas se realizó

Lotes	animales inoculados	animales control	numero de inoculaciones	tiempo de shock
I	8	1	1	2 días
II	4	1	2	8 días
III	4	1	3	20 días
IV	8	1	4	42 días

Tabla I.- Desarrollo de la experiencia.

perfusión vascular con glutaraldehído al 5% en tampón fosfato. Inmediatamente después se extrajeron las adrenales que fueron fijadas en glutaraldehído al 5%, procesándose según la metodología usual de microscopía óptica y electronmicroscopía.

De los bloques obtenidos se hicieron cortes de 1 μ de grosor que fueron teñidas con azul de toluidina para su estudio estructural mediante un microscopio óptico Nikon optiphot.

Posteriormente se refijaron con tetróxido de osmio al 1%, se realizaron cortes de 400-600 Å de espesor, que fueron contrastados con citrato de plomo y acetato de uranilo para su estudio ultraestructural mediante un microscopio electrónico Jeol 2000.

RESULTADOS.

En el análisis de resultados expondremos por separado el examen estructural y ultraestructural, sin tener en cuenta la separación en lotes expuesta en el capítulo de material y métodos, y siempre considerando que las lesiones morfológicas encontradas a lo largo de la experiencia, cualitativamente son iguales, existiendo sólo diferencias de tipo cuantitativo entre los distintos grupos experimentales.

Examen estructural.

El parénquima de la médula adrenal, está constituido por dos grupos de células: A (productoras de adrenalina) y NA (productoras de noradrenalina), distinguibles por su morfología.

Las células A son de citoplasma claro, homogéneo y con ligeras vacuolizaciones; los núcleos se presentan en posición central. Por el contrario las células NA, evidencian un citoplasma basófilo.

Ambas poblaciones celulares en los análisis de óptico-microscopía, no demuestran signos alterativos que determinen cambios fundamentales (Fig. 1 y 2). Tan sólo en los últimos lotes experimentales (III y IV), se evidencian signos de hipertrofia celular sobre todo en las células A, y en cualquier caso no muy significativos.

Examen ultraestructural.

Con el microscopio electrónico, contrariamente a lo observado con el microscopio óptico, las células A y NA evidencian importantes cambios tanto en sus organoides celulares como en los gránulos de secreción.

Análisis del comportamiento morfológico de los organoides celulares (Células A).

Las células A al comienzo de la experiencia, Lotes I y II, muestran una fuerte activación de los componentes del Sistema Vacuolar Citoplasmático. El retículo endoplásmico se configura en cortos canalículos de variable dilatación, bien dispersos por el citoplasma o en agrupaciones próximas a acúmulos de mitocondrias. Las luces de este organoide muestran un contenido pseudogranular y de moderada electrodensidad (Fig. 3 y 4).

El complejo de Golgi presenta un ligero desarrollo y aparece configurado por una serie de sáculos y cisternas, en número de 3 a 5, con una dilatación considerable. Los restantes organoides citoplasmáticos, no presentan en estos lotes experimentales (I y II) cambios importantes.

En el lote III, las células A comienzan a presentar cambios en su morfología (Fig. 5). A los 20 días de sometimiento a shock endotóxico, estas células A muestran una pérdida de las agrupaciones de retículo endoplásmico; sin embargo se sigue manteniendo la dilatación sacular con contenido de moderada electrodensidad.

Por otra parte es destacable la presencia de lisosomas primarios, que en los lotes experimentales I y II no se presentaban. En cuanto al resto de organoides citoplasmáticos no sufren cambios evidenciables.

En el último lote experimental, animales con 42 días de sometimiento a shock endotóxico, las células A muestran un contenido en lisosomas primarios más abundante que en lotes anteriores; asimismo se siguen evidenciando signos de actividad del retículo endoplásmico. Por lo que respecta al resto de organoides celulares presentan una morfología normal, con la excepción de ligera tumefacción presente en las mitocondrias.

Análisis del comportamiento morfológico de los gránulos de secreción (células A).

Los cambios morfológicos que se detectan en los gránulos de secreción de las células A, es el hecho más significativo de todos los observados.

En el inicio de la experiencia se evidencia una disminución de los mismos (Lotes I y II) (Figura 7), permaneciendo algún que otro gránulo en el citoplasma celular. Los gránulos que se observan, presentan una tendencia a locali-

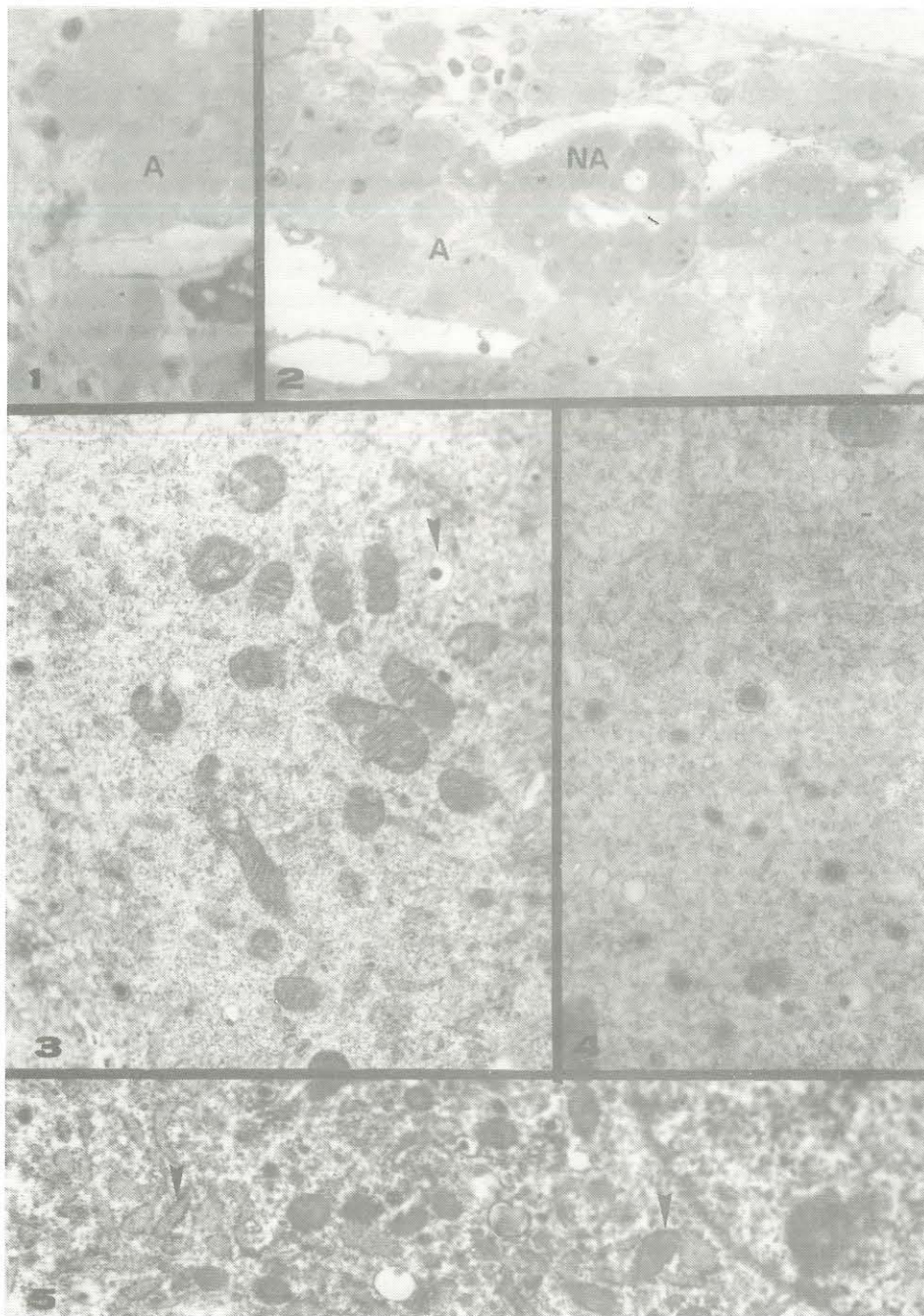


Figura 1.- Lote I. Detalle de parénquima medular donde se aprecian células A (A).

Figura 2.- Lote III. Células A (A) con vacuolizaciones citoplasmáticas. Agrupaciones de células NA (NA).

Figura 3.- Lote I. Detalles de célula A. Se aprecian fenómenos de desgranulación, conservando algún gránulo aislado (flecha).

Figura 4.- Lote II. Detalles de célula A con fenómenos de desgranulación y acúmulos de material finamente granular y electrodensos en la luz del retículo endoplásmico granular.

Figura 5.- Lote III. Células A con presencia de gránulos inmaduros y acúmulo de retículo endoplásmico granular.

zarse hacia el interior de la célula, próximos al complejo de Golgi (Fig. 3 y 4), mientras que la periferia se encuentra exenta de los mismos.

En el lote III la población de gránulos de secreción es más numerosa (Fig. 5), pero lo que más destaca es la presencia de gránulos con un contenido de moderada electrodensidad, indicativo de inmadurez.

Los animales sometidos a 42 días de shock (lote IV), muestran una población de gránulos en las células A que se puede catalogar de normal (Fig. 6 y 7).

Análisis del comportamiento morfológico de los organoides celulares (células NA).

No son muy significativas las modificaciones de los organoides celulares de las células NA a lo largo de la experiencia.

Las células NA presentan un citoplasma granular y en algunos casos espumoso, con núcleo esférico algo polarizado. Por otro lado contienen vacuolas de contornos irregulares que están rodeadas de un delgado halo citoplasmático.

En los lotes experimentales I, II y III, se evidencian procesos acumulativos en el retículo endoplásmico granular, acumulaciones que están representadas por un contenido pseudo-granular electrodensito (Fig. 9). En el lote IV, se observa incremento en desarrollo del retículo endoplásmico granular. Por lo que respecta al complejo de Golgi, se mantiene en los lotes experimentales I y II, presentando un ligero incremento en los lotes III y IV.

Análisis del comportamiento morfológico de los gránulos de secreción (células NA).

Estos elementos celulares evidencian en los lotes experimentales I y II, una población granular moderada, caracterizada por gránulos pseudocristalinos electrodensos y dispuestos excéntricamente en su envoltura (Fig. 9). Sin embargo, en los lotes III y IV, se pueden detectar fenómenos de desgranulación disminuyendo considerablemente su número.

DISCUSIÓN.

En la primera fase del choque o fase de centralización se aprecia la salida al torrente circulatorio de catecolaminas como expone Schulz (8). Hecho que se ratifica, desde el punto de vista morfológico, ya que en los lotes I y II observamos que el parénquima de médula adrenal está constituido por células A con pronunciada desgranulación. Asimismo estas células presentan modificaciones acusadas de sus organoides citoplasmáticos, que vienen significadas, fundamentalmente, por un gran desarrollo de los organoides que constituyen el Sistema Vacuolar Citoplasmático, preferentemente del retículo endoplásmico granular.

En estos dos lotes primeros, junto a células casi totalmente desgranuladas, existen otras que tienen una dotación de gránulos de secreción elevada, pero la mayoría son inmaduros, hecho que se mantiene en los lotes restantes. Para Penney et al. (9) esta morfología representa células en fase activa.

Según Hovarth y Kovacs (10) en estudios sobre isquemia adrenal y procesos de choque se produce una alteración metabólica de las células productoras de catecolaminas que se traduce por la aparición de cuerpos electrodensos intracitoplasmáticos, imágenes que nosotros hemos observado en todos los lotes, aunque en especial en los primeros.

En las células A o productoras de adrenalina, se produce una hiperplasia e hipertrofia del retículo endoplásmico granular, así como de las mitocondrias, las cuales se disponen focalmente entre los gránulos inmaduros. Esto ocurre principalmente en los lotes I, II y III. Para Hokfelt et al. (11) es indicativo de fenómenos de hiperactividad celular.

Si bien generalmente la formación de gránulos inmaduros se localiza en la zona del complejo de Golgi, en las células A de los cuatro lotes analizados se observan en todo el citoplasma, lo que se corresponde con un fenómeno de hiperactividad celular.

Es significativo señalar que en los lotes III

Tiempo de shock	CÉLULAS A			CÉLULAS NA		
	R.E.G.	C. GOLGI	GRÁNULOS	R.E.G.	C. GOLGI	GRÁNULOS
2 días	+++	-	-	+	+	++
8 días	++	-	-	+	+	++
20 días	++	++	+	++	++	-
42 días	+	+++	+++	+++	++	-

Tabla II: Comportamiento histológico de las células A y NA

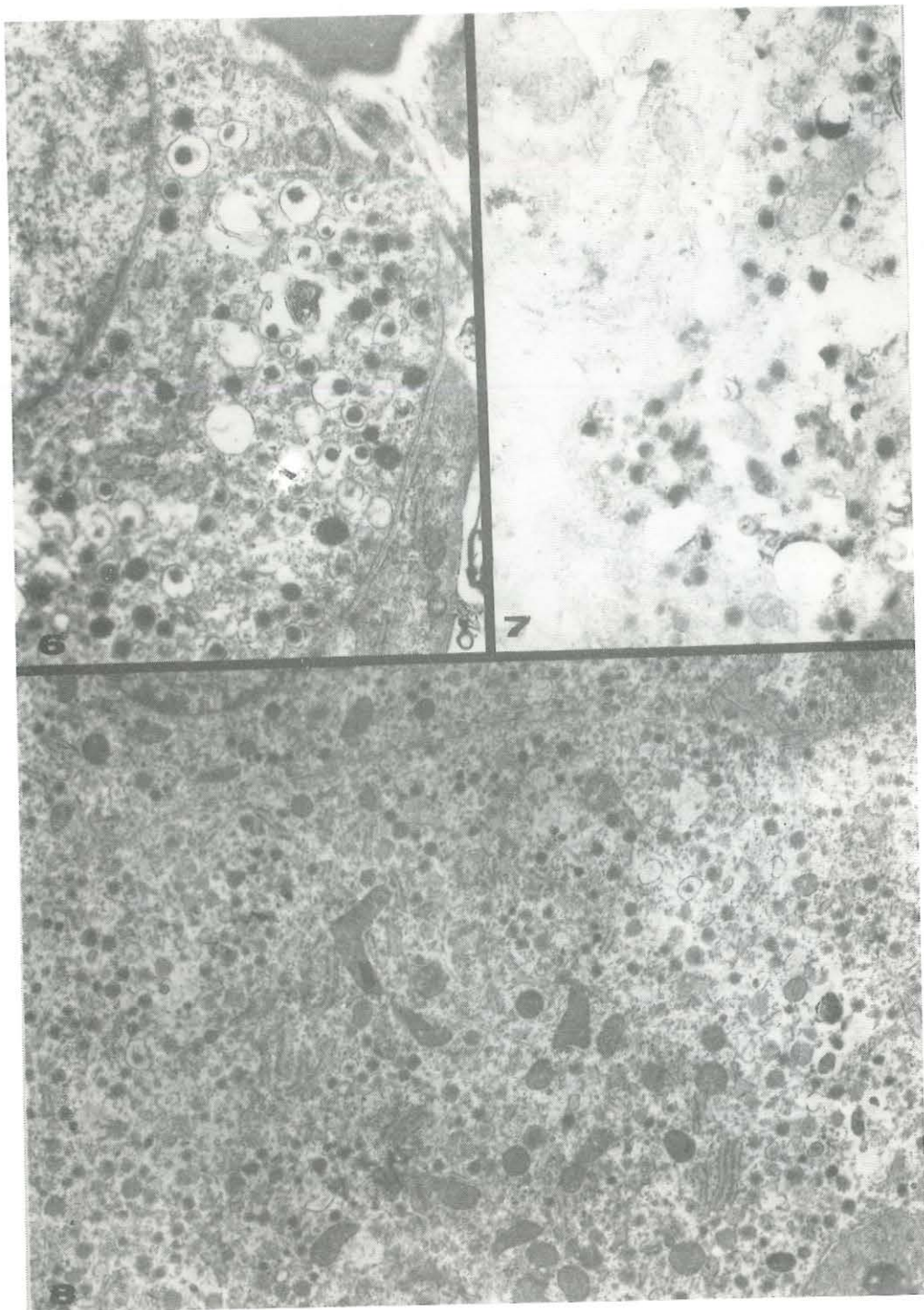


Figura 6.- Lote IV. Signos de actividad en las células A, junto a una población granular normal.
Figura 7.- Lote IV. Detalle de célula A con fenómenos de desgranulación.
Figura 8.- Lote IV. Detalle de célula A con abundantes gránulos de secreción uniformemente distribuidos por todo el citoplasma.

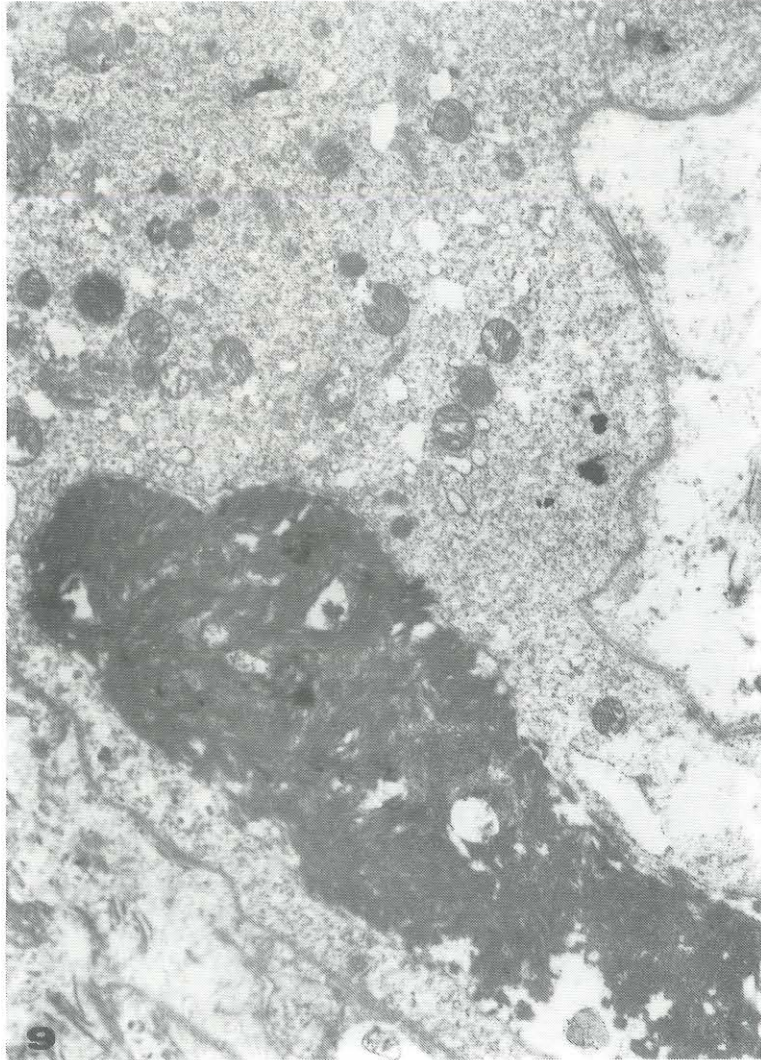


Figura 9.- Lote IV. Células NA con acumulaciones seudofibrilares electrodensas en el retículo endoplásmico.

y IV se presentan modificaciones en las células NA tanto en sus organoides (hipertrofia) como en su población de gránulos (desgranulación), lo que no venía ocurriendo en los lotes anteriores. Esto está de acuerdo con los estudios realizados por Seley (12) sobre stress y por Schulz (8) sobre choque séptico. Así mismo Gázquez (13) detecta tales alteraciones en estudios sobre stress en ratas sometidas a hambre y sed.

En resumen en procesos de choque producido por inoculación de neurotoxinas *E. coli* se detecta reacción de las células de la médula adrenal. Esta reacción se presenta tanto en células A como NA y viene significada por desgranulación de las células A, lo que confirma lo descrito por Hokfelt et al. (13), al estudiar el aumento de catecolaminas en sangre en estudios histoquímicos sobre shock endotóxico en glándulas adrenales. Posteriormente se aprecia una activación de las células medulares, significada por hipertrofia tanto de células A como NA.

RESUMEN.

En el presente trabajo se realiza un estudio estructural y ultraestructural de las células A y NA de la médula adrenal de ratas wistar inoculadas con neurotoxinas *E. coli*. Se han utilizado 28 animales distribuidos en tres grupos experimentales y uno control.

Se ha observado reacción en las células de la médula adrenal, con fenómenos de desgranulación en células A primeramente y células NA posteriormente.

BIBLIOGRAFÍA.

- (1) REDONDO, E.; GUARDA, F.; GÁZQUEZ, A.; RONCERO, V. (1987): Shock renal endotóxico. Studio strutturale e fisiopatologico. *Clin. Vet.* 110 (3-4): 157-206.
- (2) RONCERO, V.; GÁZQUEZ, A.; REDONDO, E.; MOYANO, M.C. (1987): Etude lésionnelle du poumon du rat wistar inoculé avec *E. coli*. *Rec. Méd. Vet.* 163, (5): 579-582.
- (3) NORDSTOGA, K; AASEN, A.O. (1986): Liver phagocytosis i late stages of lethal canine endotoxin shock. *Acta path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. A*, 94: 195-200.
- (4) FERNÁNDEZ, A; GÁZQUEZ, A.; MÉNDEZ, A; MOZOS, E; JOVER, A. (1985): Morphopathology of the adenohypophysis of chickens in shock induced by *Escherichia coli*. *Avian diseases* 30, (2): 247-254.
- (5) GÁZQUEZ, A; DROMMER, W.; BLANCO, A.; ROSENBRUCH, M. (1982): Structural and ultrastructural study of the adrenal glands of wistar inoculated with *E. coli* neurotoxin. *Morfología normal y patológica*. Sec. B. 6: 313-326.
- (6) MAUSLE, E. (1974): Histological, histochemical and electron microscopic studies on effect of diphtheria toxin on the adrenal of guinea pigs. *Beitr. Path. Bd.* 151: 248-267.
- (7) NOZDRYN-PLOTNICK, Z. (1978): Relation of the hypotalamo hypophyseal adrenal system to experimental endotoxin stress and aedema disease in swinw. *An Univer. Marie Curie Skodowska. Secc. DD.* 33: 117-138.
- (8) SCHULZ, L.C.; DROMMER, W. (1985): Fisiopatología del shock. En: *Tratado de anatomía patológica general para veterinarios y estudiantes de veterinaria*. KITT, T.; SCHULZ, L.C. ed. pp 263-272. Labor S.A. Barcelona.
- (9) PENNEY, D.P.; BROWNN, G.M. (1971): The fine structural morphology of adrenal cortices of normal and stressed squirrel monkeys. *J. Morph.* 134: 447-446.
- (10) HOVARTH, E.; KOVACS, K. (1973): Effect to temporary ischemia on the fine structure of the rat adrenal cortex. *Path. Europ.* 8: 43-60.
- (11) HOKFELT, B.; BYGDÉMAN, S.; SEKKENES, J. (1961): Die Beteiligung der Nebennieren am Endotoxinschok. *Schock Pathogenese und Therapie* 1: 169-179.
- (12) SELEY, H. (1950): Stress. *Acta Int. Montreal. Canada.*
- (13) GÁZQUEZ, A. (1978): Morfología de las glándulas adrenales. *Higia Pecoris* 9: 27-49.