

Ultraestructura del ovario de la rata

Dora Mendoza de Lorusso M. D. * **

Presentamos los resultados obtenidos en estudios de la ultraestructura del ovario de la rata, mediante fotografías obtenidas con el microscopio electrónico Siemens Elmiskop, en diferentes circunstancias fisiológicas o inducidas experimentales.

Nuestro estudio, del cual la presente comunicación, es la etapa inicial, se agrega a una serie ya importante de trabajos (ver Bibliografía) tendientes a establecer una relación entre el aspecto morfológico y el estado funcional del eje hipotálamo-hipofiso-ovárico.

MATERIALES Y METODOS

A-Material biológico

En todos estos experimentos se usaron ratas Sprague-Dawley. Hembras.

Las primeras 24 ratas se distribuyeron así:

1—Tres, de 22 días de edad, inmaduras fueron sacrificadas por dislocación vertebral. Los ovarios removidos y fijados bajo un microscopio de disección.

2—Tres, de 70 días de edad, fueron fijadas in vivo por medio de in-

yeción intracardiaca de un líquido fijativo, y luego fueron removidos los ovarios y la Pituitaria.

3—Seis ratas embarazadas, fueron fijadas in vivo. Se removieron ovarios y Pituitaria, las ratas tenían 1, 4, 5, 12, 19 y 21 días de embarazo.

4—Ocho ratas lactantes sufrieron el mismo procedimiento. Tenían 1 día (2 ratas), 3 días (2 ratas), 7, 16, 20 y 21 días de lactancia. (1 rata cada una).

5—Cuatro ratas inmaduras fueron tratadas con una mezcla de medroxiprogesterona y etinil estradiol desde el día 25 de edad y por un período de 5 días, seguidas por 50 U. I. de HGC Gonadotrofina Corionica Humana (GCH) (el día 33 y a las 60 horas 25 UI de PMS por vía subcutánea.

Las ratas fueron fijadas in vivo 24 horas después de terminada la terapia estrógeno-progestánica.

B—Métodos físico-químicos

1—Fijación. Se usó el líquido fijativo de Karnovsky (16) modifica-

* Trabajo realizado en el Laboratorio de Zoología de la Universidad de Wisconsin.

** Dirección actual: Hammersmith Hospital, Londres W 12.

HGC: Hormona Gonadotrófica Coriánica Humana

PMS: Suero de yegua embarazada.

- do por Ris y compuesto de 25 ml. de Paraformaldehído al 4 p. 100, 10 ml. de glutaraldehído al 12.5 p. 100. 50 ml. de Tampon de Fosfato 0.2 M pH 7.1, y 15 ml. de agua desionizada por 100 ml. de volumen. La fijación fue prolongada durante 1 a 2 horas a temperatura ambiente. Los órganos después de extraídos fueron dejados en líquido de fijación durante una hora más, luego, fueron lavados seis veces, media hora cada vez, con tampon fosfato 0.2M pH 7.1, y postfijados con tetraóxido de Osmio al 2 p. 100, a 4 grados centígrados por 1 hora. Luego fueron lavados nuevamente con Tampon fosfato por 14 minutos, colocados en Acetato de Uranylen tampon de Kellemburger, lavados con el mismo tampon y agua desionizada.
- 2—Deshidratación. Por medio de concentraciones progresivamente crecientes de etanol, por períodos de 7 minutos y comenzando con etanol al 50 p. 100. En etanol al 100 p. 100 se dejaron 14 minutos y luego se pasaron a propileno por 1 hora.
- 3—Inclusión. Los tejidos fijados y deshidratados fueron incluídos en epoxy 812, Araldita 6005, DPM y DDSA. Se usaron diferentes concentraciones de estas resinas y dejando los tejidos en cada una por espacio de 24 horas. Al quinto día el material se introdujo en el horno a 30° por dos días y luego a 50° por dos días.
- 4—Sección.— Se hicieron cortes de 7 micras de espesor para el microscopio de fase, y de aproximadamente 60-70 milimicras para el electrónico. Los cortes se recogieron en rejillas de cobre —200 mesh— cubiertas de Formvar, carbón e ionizadas antes de ser usadas.
- 5—Coloración. Se usó la doble coloración de Frasca y Parks (19) seguida por el uso del Citrato de Plomo como indicado por Reynolds (18).
- 6—Estudio microscópico.— Después de observarlas en microscopía de fase, las zonas elegidas para el estudio fueron seccionadas para microscopía electrónica. Fueron observadas luego, como indicado previamente en el microscopio Electrónico Siemens Elmiskop.

RESULTADOS

Las figuras 1 y 2 corresponden a los cortes practicados en ovarios de ratas inmaduras. En la figura 1 se puede observar la pared externa del óvulo, el cual muestra en su interior signos de degeneración. Escaso número de células granulosa a su alrededor y ausencia de mitosis. En la figura 2 epitelio germinal y células intersticiales (aumento 1.400).

La figura 3 nos muestra una célula granulosa del ovario de una rata adulta. Podemos observar el núcleo y el citoplasma; éste presenta mitocondrias características en su morfología de células con síntesis esteroide.

Las figuras 4, 5 y 6, muestran diferentes aspectos del ovario de ratas embarazadas. La figura 4 corresponde al primer día de embarazo y muestra una célula luteínica típica. Abundantes mitocondrias, vacuolas de extracción de secreción esteroide, y células intersticiales con el núcleo alargado (aumento 7.200). La figura 5 corresponde a una fotografía obtenida con el microscopio ELMISKOP II y corresponde a una célula del cuerpo lúteo de rata en el día 12 de embarazo. Muestra una mitocondria en división, un endoplasma reticular rugoso, mitocondrias y vacuolas de secreción esteroide.

La figura 6 nos muestra el citoplasma de una célula en secreción del cuerpo lúteo de rata embarazada (12 día). Aumento 7.200. Abundantes gránulos de secreción esteroidea extraídos con el fijativo de tetraóxido de Osmio.

Las figuras 7, 8, 9 y 10 corresponden a ratas en diferentes días de lactación.

En la figura 7, correspondiente al primer día de lactación vemos peque-

ño aumento de cuerpos lúteos (aumento 1,400).

En la figura 8, aumento 7,200, corte de tejido que muestra células intersticiales, vasos sanguíneos y secreción de cuerpo lúteo.

En la figura 9, aumento 11,300, podemos observar célula de cuerpo lúteo a gran aumento. Se puede ver una gran vacuola de extracción lipídica con mitocondrias rodeando dicha vacuola. Mitocondrias típicas de secreción esteroide.

En la figura 10, célula de cuerpo lúteo en el día 20 de lactación. Núcleo con abundante cromatina, escasas mitocondrias, y vacuoles de secreción esteroide. Cuerpo opaco que recuerda Lisosoma.

La figura 11 corresponde a ovarios de ratas tratadas según lo explicado en el grupo 5. Se pueden apreciar signos de degeneración del óvulo tales como el número elevado de inclusiones de cuerpos opacos que recuerdan cuerda Lisosomas.

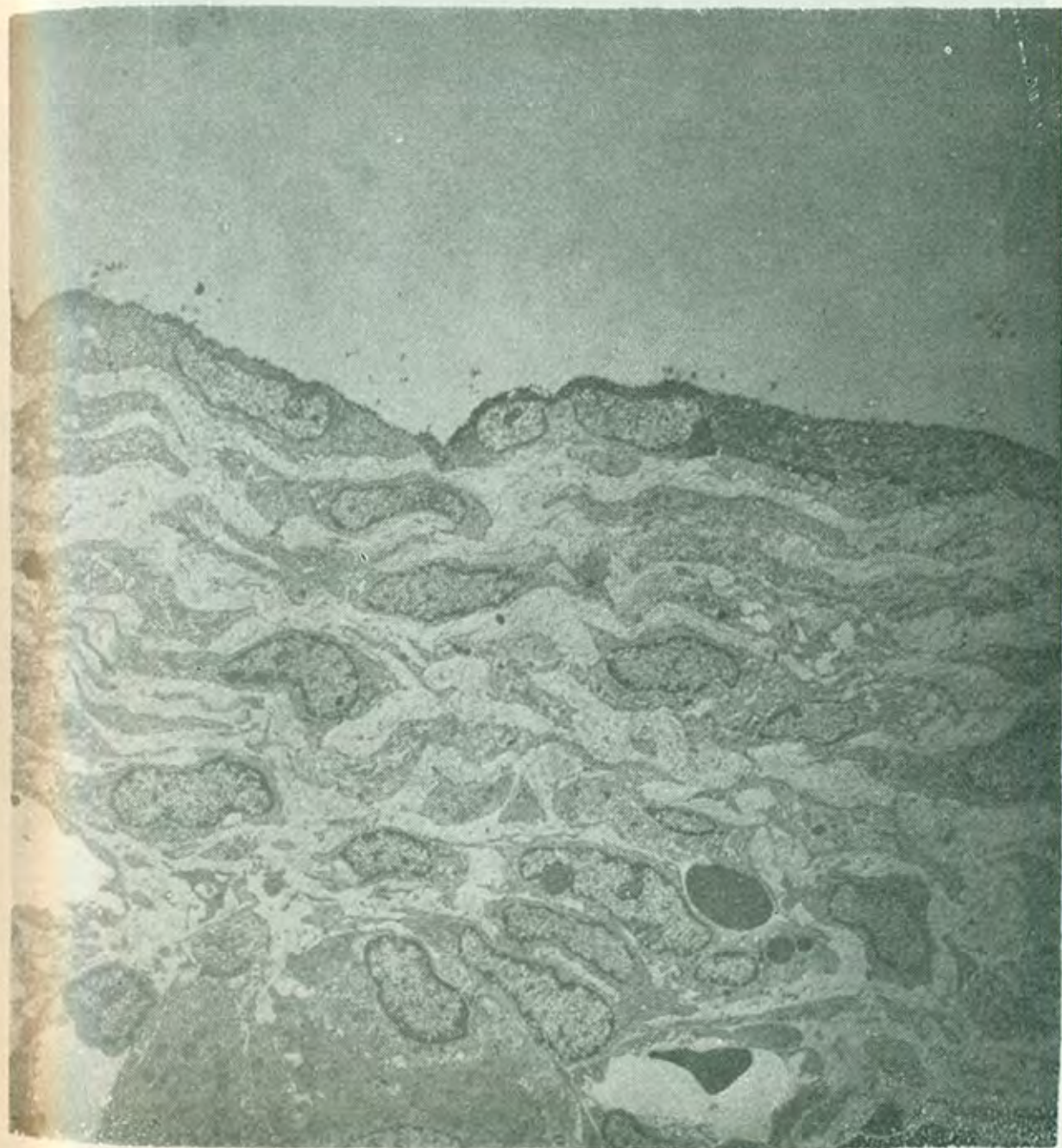
En la figura 12 vemos una célula luteínica en etapa inicial de secreción correspondiente al ovario de una rata inmadura tratada con 3 U.I. de PMS.

FIG. 1.



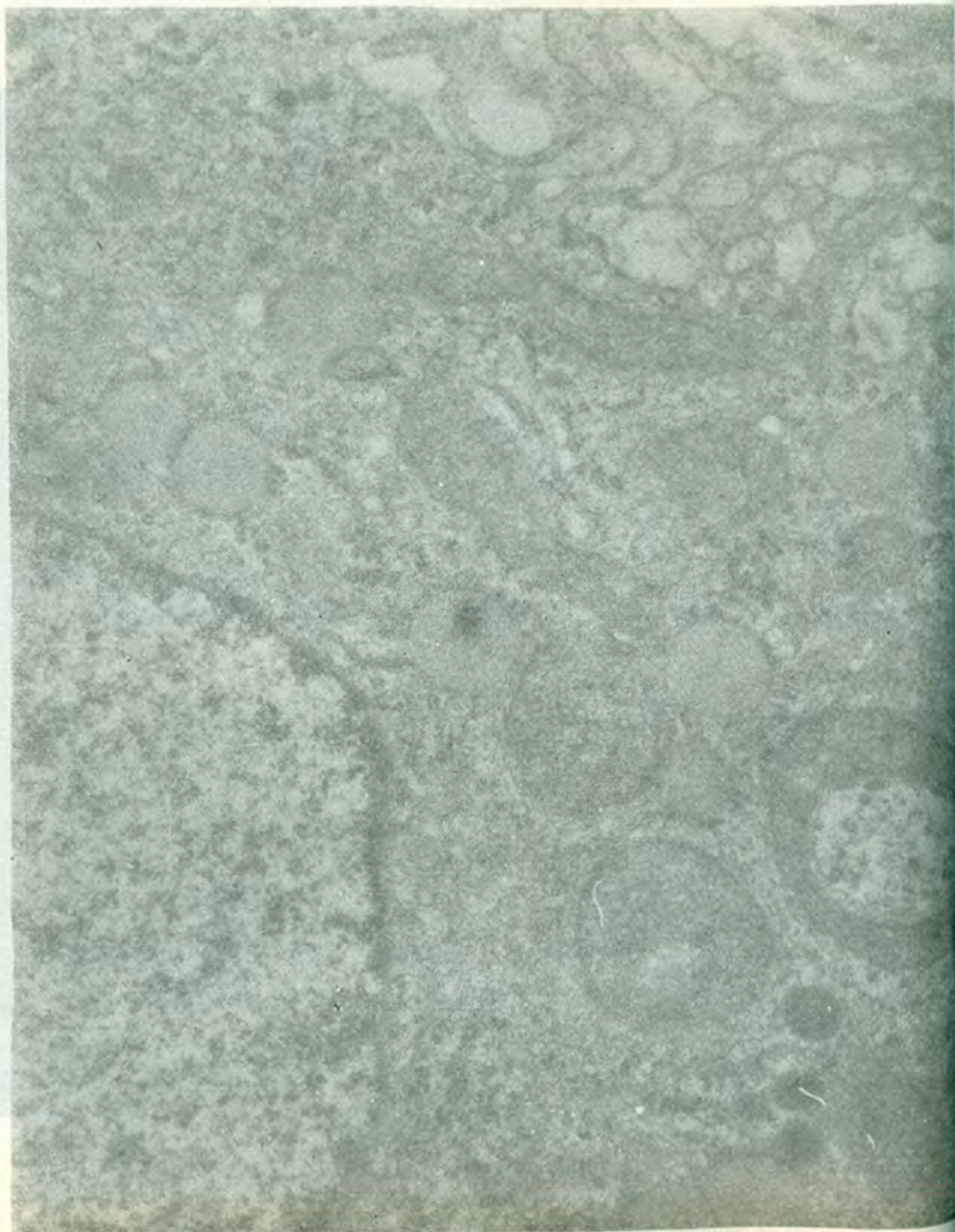
Corte de ovario de rata inmadura en el cual se puede observar la pared externa del óvulo el cual muestra en su interior signos de degeneración, escaso número de células de la granulosa a su alrededor y ausencia de mitosis (x 1.400).

FIG. 2.



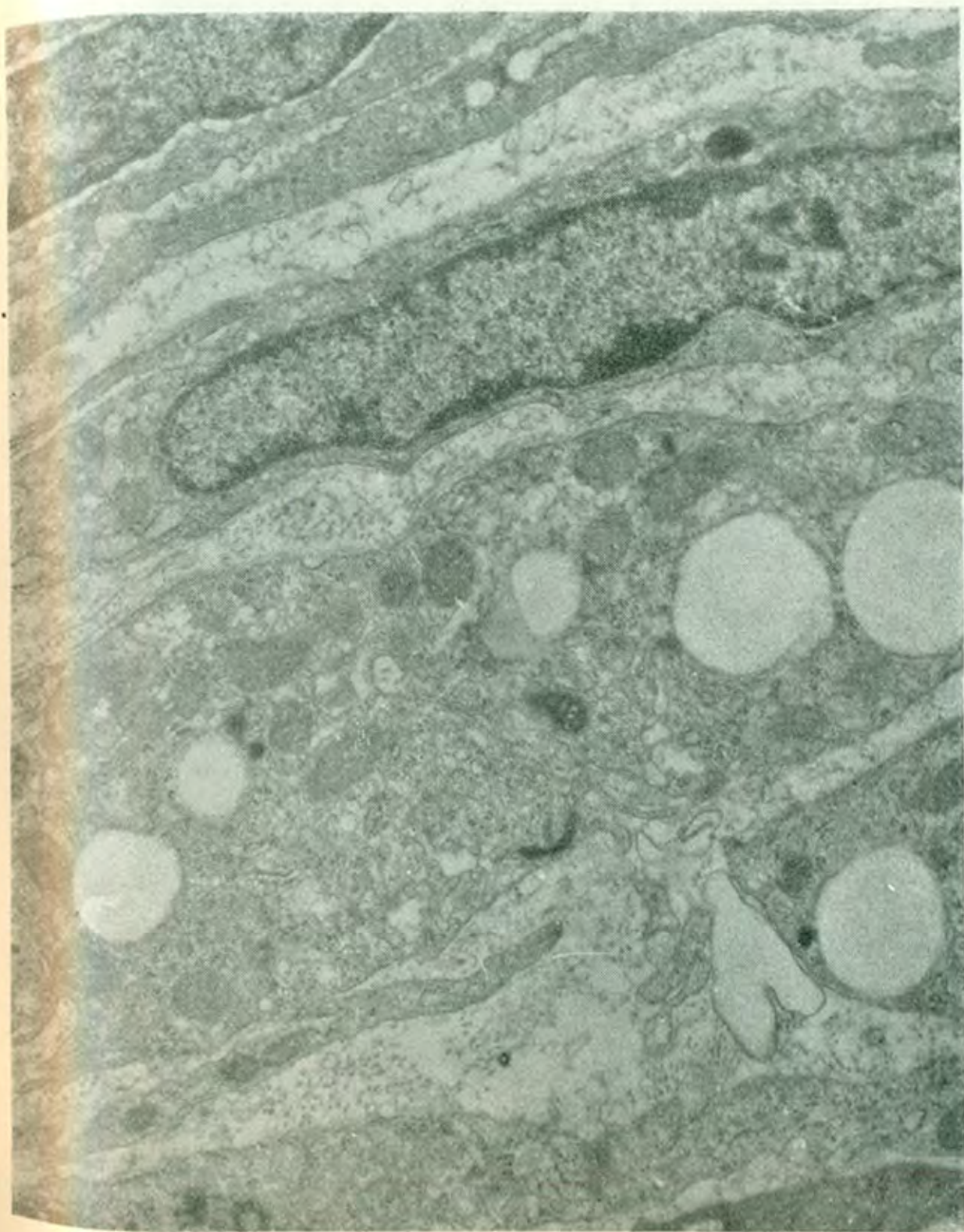
Corte de ovario de rata inmadura (x 1.400) en el cual se observa el epitelio germinal y células intersticiales.

FIG. 3.



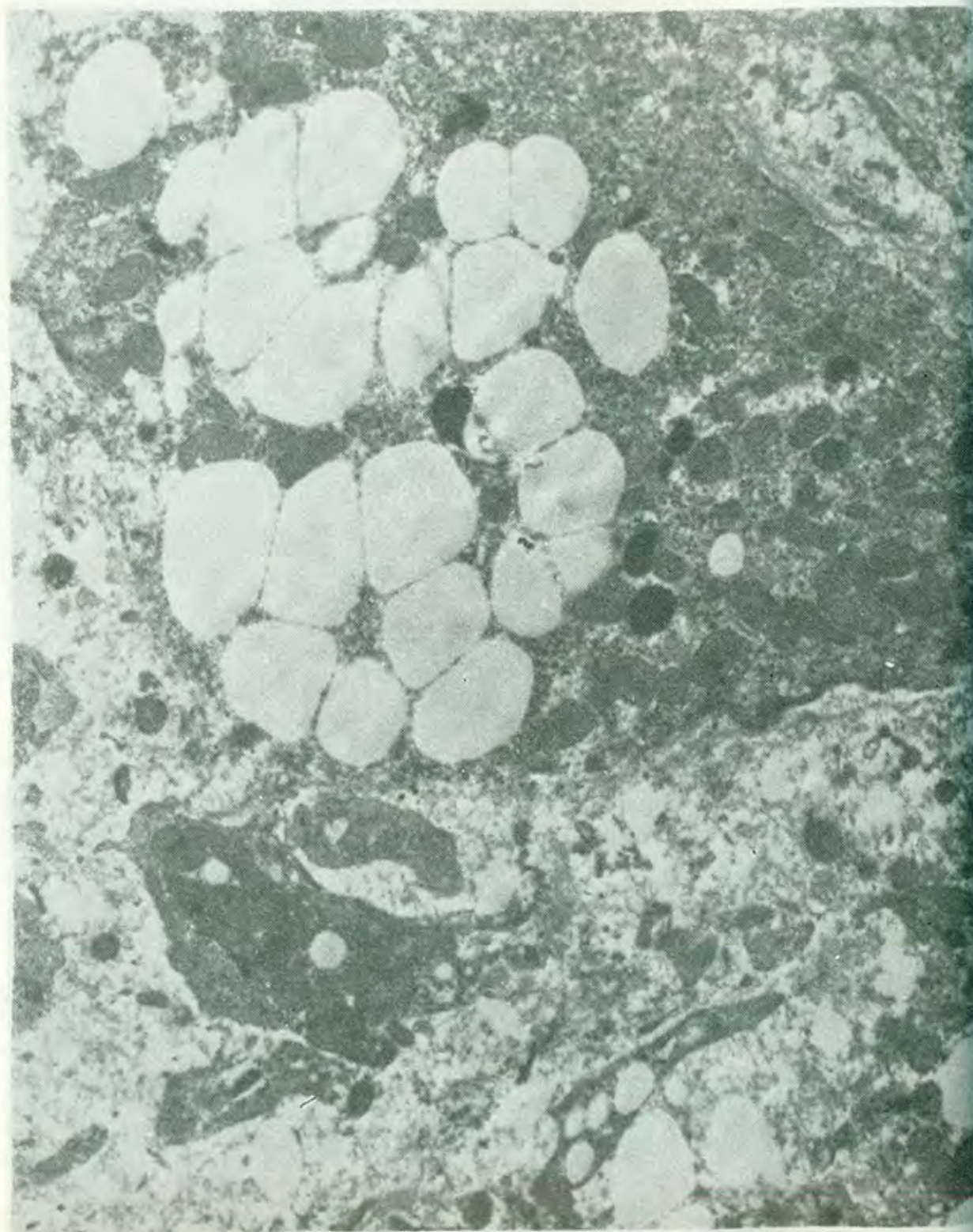
Célula granulosa del ovario de una rata adulta en donde se observa el núcleo el cito plasma y varias mitocondrias con morfología característica de células síntesis esteroide.

FIG. 4.



(x 7.200) Corte de ovario de rata, durante el primer día de embarazo, mostrando una célula lúteínica típica, mitocodrias y vacuolas de extracción de secreción esteroidea, células intersticiales de núcleo alargado.

FIG. 6.



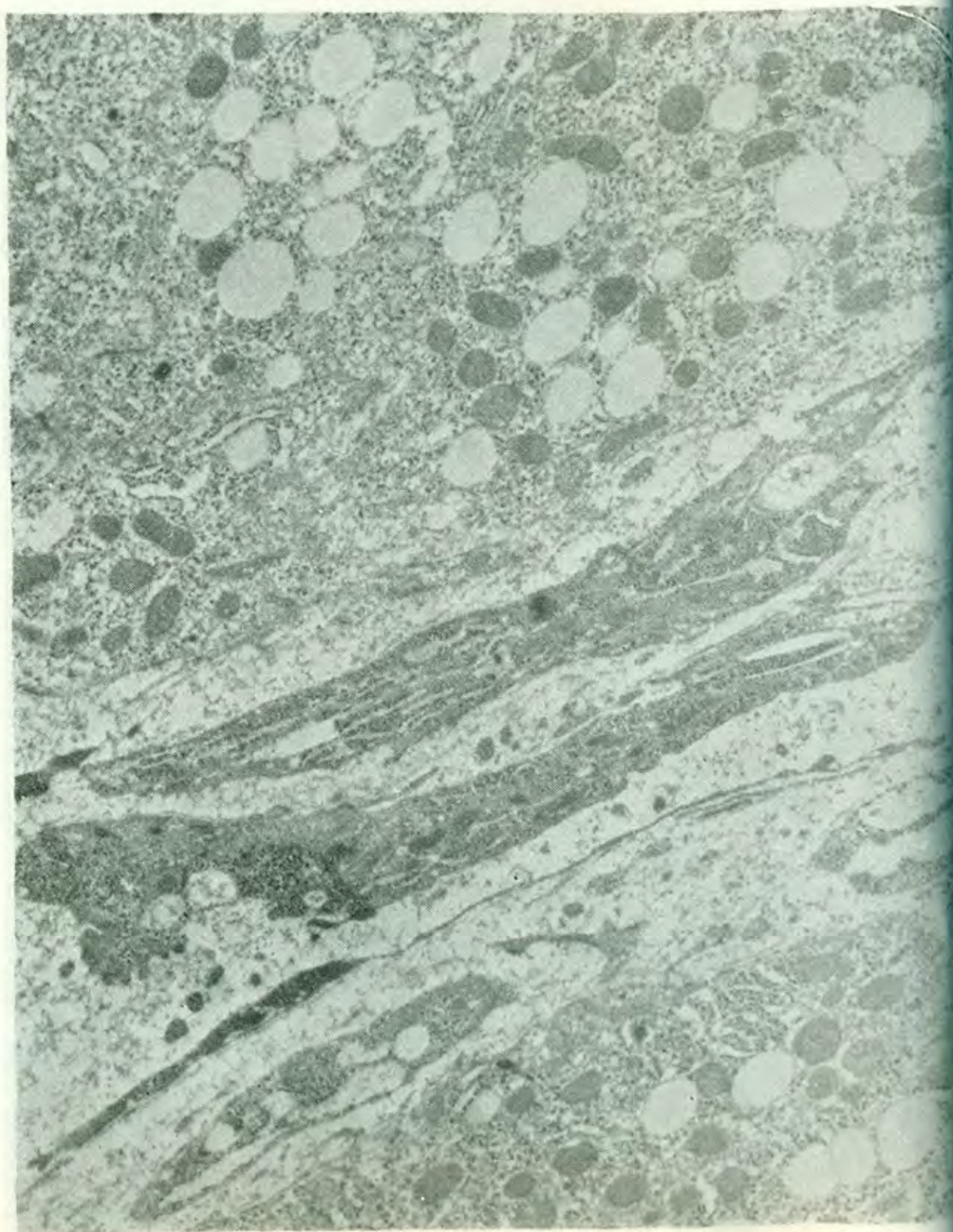
Corte de una célula del cuerpo lúteo de rata en el duodécimo día de embarazo. Se observan: una mitocondria en división, retículo endoplasmático rugoso y vacuolas de secreción esteroide.

FIG. 5.



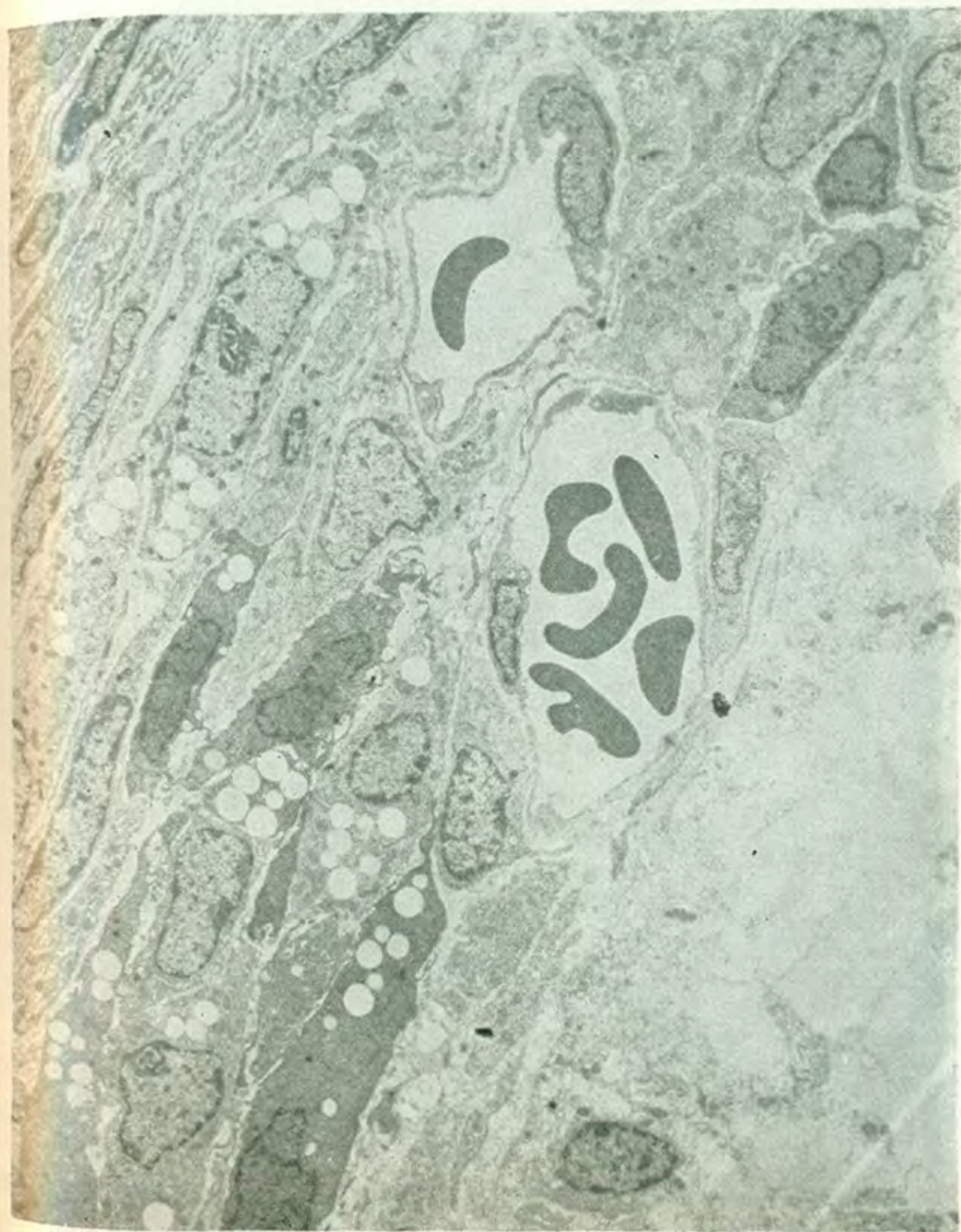
(x 7.200) La fotografía muestra el citoplasma de una célula secretora del cuerpo lúteo de una rata en el duodécimo día de embarazo. Se observan varios gránulos de secreción esteroide extraídos con tetraóxido de osmio.

FIG. 7.



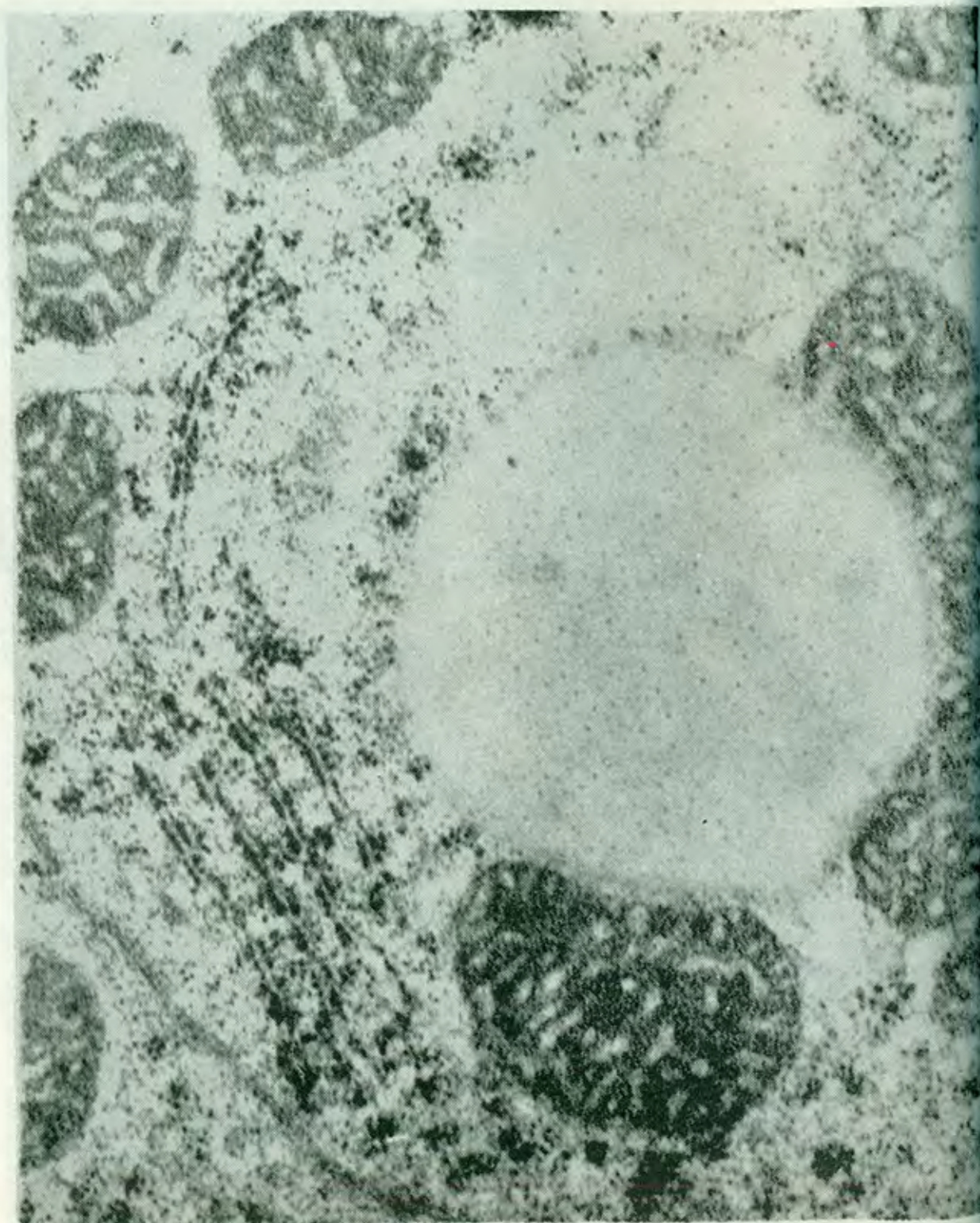
(x 1.400). La fotografía muestra un corte de ovario de rata durante el primer día de lactación. Se observan cuerpos lúteos con un menor aumento.

FIG. 8.



(x 7.200). Corte de ovario de rata mostrando células intersticiales, vasos sanguíneos y secreción de cuerpo lúteo.

FIG. 9.



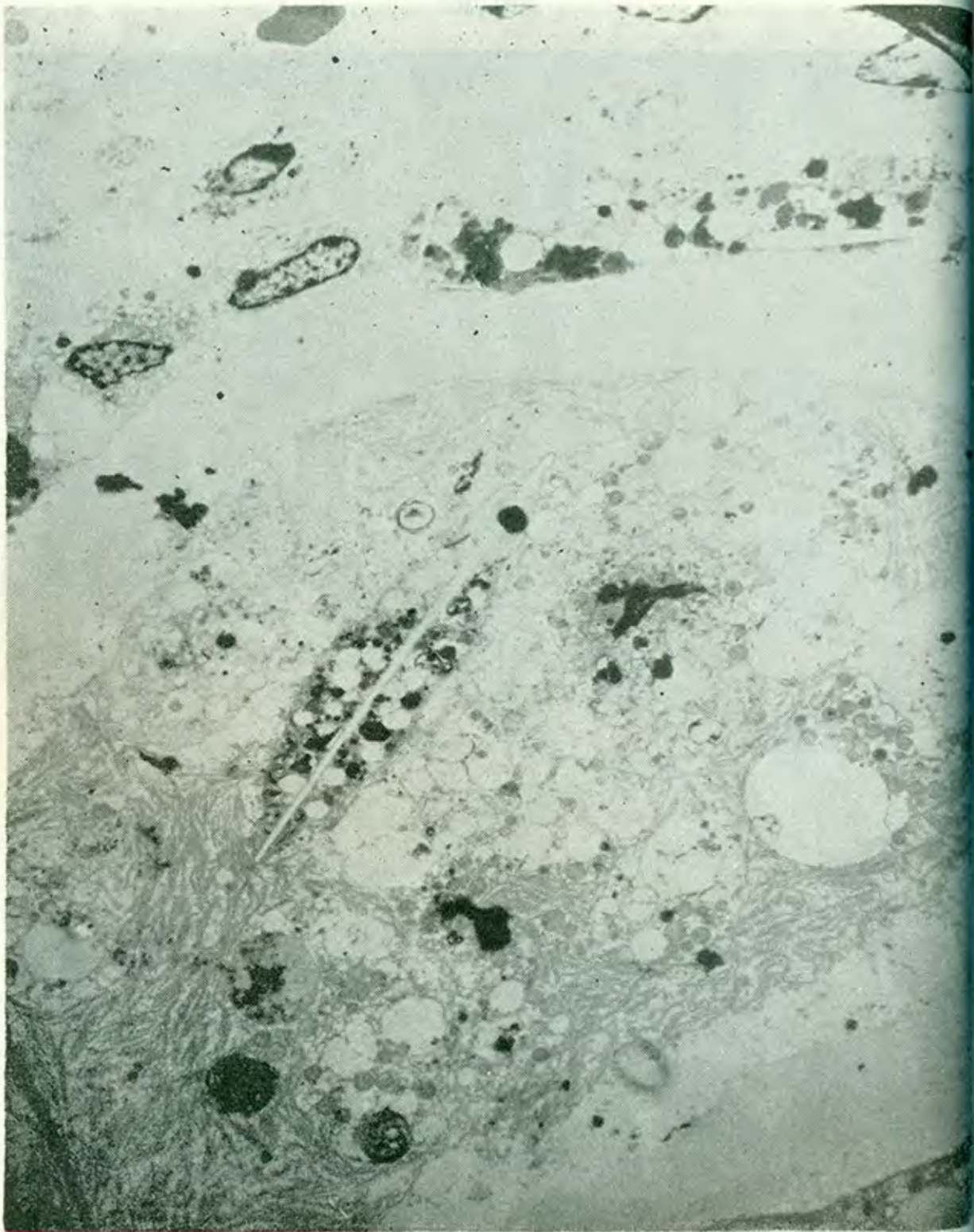
(x 11.300). Corte que muestra una célula del cuerpo lúteo del ovario a un mayor aumento. Puede observarse una gran vacuola de extracción lipídica con mitocandrias rodeando dicha vacuola, mitocandrias típicas de secreción esteroide.

FIG. 10.



Célula del cuerpo lúteo del ovario en el día 20 de lactación, mostrando el núcleo con abundante cromatina, escasas mitocondrias y vacuolas de secreción esteroide, cuerpo opaco que recuerda Lisosomas.

FIG. 11.



Corte de ovario de rata inmadura tratada con una mezcla de Medroxiprogesterona y Etinil-estradiol desde el día 25 de edad y por un período de 5 días seguidos por 50 UI. de GCH (el día 3) y a las 60 horas 25 UI de PMS por vía subcutánea. Pueden observarse signos de degeneración del óvulo, tales como el número elevado de inclusiones de cuerpos opacos que recuerdan Lisosomas.

FIG. 12.



Corte mostrando una célula luteínica en etapa inicial de secreción correspondiente al ovario de una rata inmadura tratada con 3 UI de PMS.

BIBLIOGRAFIA

1. Boling, J. L., Blandau, R. J., Soberball L. A., Young C. W., Growth of the Graafian follicle and the time of ovulation in the albino rat. *Anat. Rec.* 79-313-1941.
2. Kemp, N. E. Protoplasmic bridges between oocytes and follicle cells in Vertebrates, *Anat. Rec.* 130-324-1958.
3. Sotelo, J. R., Potter, R. K. An electron Microscope study of the rat ovum *J. Biophys & Biochem. Cytol.* 5-327-1959.
4. Anderson E., and Beams H. W. Cytological observation on the fine structure of the guinea pig ovary with special reference to oogonium, primary oocyte and associated follicle cells. *J. Ultrastructure Res.* 3-432-1960.
5. Odor D. L. Electron microscopic studies on ovarian oocytes and unfertilized tubal ova in the rat. *J. Ultrastructure Res.* 3-432-1960.
6. Franchi L. L. Electron Microscopic studies on ovarian oocytes *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 7-567-1960.
7. Chiquone A. D. The development of the zona pellucida of the mammalian ovum. *Amer. J. Anat.* 106-149-1960.
8. Enders A. C. observations on the fine structure of lutein cells *J. Cell Biol.* 12-101-1962.
9. B. Jörkman N. A. Study of the ultrastructure of the granulosa cells of the rat ovary. *Acta Anat.* 51-125-1962.
10. Enders A. C. Lyons W. R. Observations on the fine structure of lutein cells. II Effects of hypophysectomy and mammatrophic hormone in the rat. *J. Cell Biol.* 22-127-1964.
11. Wyburn G. M. Johnson H. S. Aithken R. N. fate of the granulosa cells in the hen follicle. *Z. Zellforsch.* 72-53-1966.
12. Anderson E. Formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. *J. Cell Biol.* 35-193-1967.
13. Bjersing L., Morphology & endocrine function of granulosa cell in ovarian follicle and corpora lutea. *Acta Endocrin. Copenh.* 56 suppl 125-1967.
14. Cohere G., Brechemacher C., Mayer G., Variation des ultrastructures de la cellule luteale chez la ratte au course de la grossesse. *J. Microscopie* 6-657-1967.
15. Bjersing L. Ultrastructure of follicles and Isolated Follicular and Granulosa Cells of porcine Ovary. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 82-173-1967.
16. Karnovsky J. M., A formaldehyde-Glutaraldehyde Fixative of High Osmolality for Use in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* 27 (2)-1965-Abstract No. 270.
17. Kellenberger. *Z. für Naturf.* 13b-597-1958.
18. Reynolds, E. The use of lead citrate at high pH as an electron - opaque stain in electron microscopy *J. Cell Biol.* 17(1) 1963. Briet note 208.
19. Frasca and Parks *J. Cell Biol.* 25-157-1965.