

2. RESULTADOS.

1.- Ontogenia y desarrollo de la hipófisis.

El esbozo hipofisario se inicia como una evaginación del epitelio de la cavidad bucal ó estomodeo en el día 10 (E.10) cuando se produce una evaginación del epitelio de la cavidad bucal, estomodeo (ST) (Fig 1a). Esta evaginación, denominada bolsa de Rathke, constituye el esbozo de la futura adenohipófisis. La bolsa de Rathke, en su origen constituida por una sola capa de células cúbicas (Fig 1b), se dirige hacia la base del neuroepitelio diencefálico. De esta forma, la bolsa presenta un extremo cerrado, cuyas células están en estrecho contacto con la base diencefálica, y que constituye su extremo caudal, y un extremo abierto a la cavidad bucal (Fig 1a) que será el extremo rostral. Por otro lado, la bolsa presenta una cara dorsal, hacia el diencéfalo, y una cara ventral (Fig 1a).

1.1.- Desarrollo embrionario. Desarrollo de los lóbulos hipofisarios.

Los estadios siguientes a su formación, se caracterizan fundamentalmente por un aumento del número de las capas celulares que forman la bolsa de Rathke.

En el estadio E.12 se produce además un cambio en la morfología de la bolsa con el inicio de dos constricciones: Una primera, por debajo del extremo caudal (Fig 1c) que delimita las tres regiones en que se va a dividir la adenohipófisis: Región dorsocaudal (CDc), futuro lóbulo intermedio, región dorsorrostral (CDr), zona rostral del futuro lóbulo anterior y lóbulo tuberal, y región ventral (CV), zona caudal del futuro lóbulo anterior (Fig 1c,1f). Una segunda constricción delimita el cierre de la bolsa perdiendo esta su comunicación con la cavidad bucal (Fig 1c). Desde su formación, pueden observarse divisiones por toda la bolsa, en un primer momento por igual en las distintas zonas, como se observa en la (Fig 1d) realizada con Bromodeoxiuridina (BrdU) en un estadio E12.

Tanto en sección sagital (Fig 2a) como en sección transversal (Fig 2b), se observa en el estadio E.12 como desde la primitiva cara dorsorostral de la bolsa, que debido a la nueva

disposición adquirida por el esbozo se observa en la región ventral de la imagen, se extienden rostral y lateralmente dos expansiones las cuales constituyen el primer esbozo del futuro lóbulo tuberal; de esta forma en el E.12 quedan definidos los tres lóbulos adenohipofisarios. En este mismo estadio, se observa como se produce una mayor proliferación celular en la cara dorsorostral (Fig 2a). En esta región será donde posteriormente comience la diferenciación de las células secretoras.

En el estadio E.13, la segunda constricción en el extremo rostral de la bolsa, ha cerrado definitivamente la comunicación de la cavidad de la misma, ó hendidura hipofisaria (HH), con la cavidad bucal. El esbozo permanece sin embargo en conexión con la cavidad de la boca por medio de un cordón de células epiteliales, ó cordón bucohipofisario (Fig 2c). Este cordón desaparecerá posteriormente, independizándose completamente la glándula del epitelio bucal (Fig 2d).

A partir del estadio E.14 comienza el desarrollo de la neurohipófisis; esto implica que el neuroepitelio de la base diencefálica ,en contacto con el extremo caudal de la bolsa, se va a prolongar hacia la misma, formando el futuro lóbulo neural (Fig.2d).

1.1.1.- Lóbulo Anterior.

El desarrollo de la zona rostral del lóbulo es anterior al de la zona caudal. En ambas zonas ocurre una proliferación celular y posterior entrada de mesénquima y vasos sanguíneos en la zona proliferativa. Esto ocurre en primer lugar en la región rostral del lóbulo, en el estadio E.14 (Fig 2d,2e,2f) y en el estadio E. 15 en la región caudal (Fig 3a). De esta forma en el estadio E.15 queda organizado el lóbulo en cordones celulares rodeados de vasos

sanguíneos en ambas regiones (Fig 3a,3b) desapareciendo la hendidura hipofisaria que sólo permanece separando el lóbulo anterior del lóbulo intermedio (Fig.3c).

En este estadio también se produce la desaparición del cordón bucohipofisario, quedando definitivamente independizada la glándula de la cavidad bucal. En las etapas siguientes sólo va a haber un aumento de tamaño del lóbulo como consecuencia de la proliferación celular (Fig 3e).

En estas primeras fases del desarrollo hipofisario, ultraestructuralmente se puede observar que hay espacios entre las células (Fig 4a,4b). Estas células se caracterizan por un gran núcleo, de forma esférica ó alargada que ocupa prácticamente todo el volumen de las mismas (Fig 4b,4c), presentando un citoplasma escaso en el cual pueden observarse numerosos polirribosomas libres, mitocondrias y algún complejo de golgi, siendo escasa la presencia de retículo endoplasmático rugoso (Fig 4c); las células se encuentran unidas a través de uniones tipo desmosoma (Fig 4). Se observan además en estos estadios unas estructuras en espiral, casi siempre en estrecha asociación con el núcleo, llegando a parecer en ocasiones que son continuidad de la envuelta nuclear (Fig 4d). Las células en estos estadios pueden presentar cilios (Fig 4e) y numerosas microvellosidades (Fig 4e).

La presencia de inclusiones así como espacios en el interior de las mitocondrias, hace que estas presenten formas muy irregulares (Fig 5a); en ocasiones, algunas mitocondrias aparecen rodeadas de cisternas de retículo (Fig 5b) recordando un proceso de autofagia. De forma similar, otras estructuras pueden aparecer rodeadas de cisternas de retículo como por ejemplo ribosomas libres (Fig 5c). A partir de este estadio se pueden observar los primeros gránulos de secreción en el interior de algunas células (Fig 5d).

1.1.2.- Lóbulo Tuberul.

A partir del E.12, se pudieron observar, en cortes transversales, dos expansiones que se extienden rostroventralmente a la bolsa de Rathke. En estadios posteriores, las expansiones se van extendiendo rostralmente llegando a rodear completamente la eminencia media, primera parte de la prolongación hipotalámica, con la que mantiene un estrecho

contacto formando ambas estructuras el tallo hipofisario (Fig 3c,3d). Las células que constituyen el lóbulo tuberal mantienen su continuidad con la zona más rostral del lóbulo anterior (Fig 3e).

A nivel ultraestructural se puede observar desde el estadio E.15, la presencia de células secretoras, que corresponden a células TSH puesto que es el único tipo celular diferenciado en este estadio; por otra parte todas las células secretoras observadas se corresponden a un mismo tipo morfológico destacando el pequeño tamaño de sus gránulos de secreción (Fig 6a,6b). En estos primeros estadios es frecuente observar figuras de muerte celular (Fig 6c,6d) así como figuras de mitosis (Fig 6b).

1.1.3.- Lóbulo Intermedio.

El lóbulo intermedio se desarrolla a partir del extremo más caudal de la bolsa de Rathke formando parte de él todas las células que desde la formación de la evaginación estuvieron en contacto con la base diencefálica (Fig 2d). Su desarrollo implica más un crecimiento en longitud que en grosor, extendiéndose dorsalmente al lóbulo anterior del cual lo separa la hendidura hipofisaria y ventralmente al lóbulo posterior con el que mantiene un estrecho contacto en toda su extensión (Fig 3e, 3f).

Ultraestructuralmente, las células de este lóbulo presentan todos gránulos de secreción de gran tamaño y poco densos, no similares a cualquier tipo de gránulo secretor del lóbulo anterior (Fig 7a). En las secciones observadas no se encontraron folículos; sin embargo si pudimos mostrar la presencia de vasos sanguíneos (Fig 7c) además de fibras nerviosas (Fig 7b,7d).

1.1.4.- Lóbulo Posterior.

Paralelamente al desarrollo del lóbulo intermedio, se va formando el lóbulo neural a partir del extremo de la evaginación del epitelio diencefálico. El lóbulo posterior crece en longitud y grosor como consecuencia de la entrada de axones procedentes de núcleos

hipotalámicos además del desarrollo de vasos sanguíneos y pituicitos (Fig 3f, 8c). El tercer ventrículo penetra en el interior del lóbulo neural (Fig 3f, 8a). La porción de neuroepitelio justo anterior al lóbulo neural, va a constituir la eminencia media que, junto con una porción del lóbulo tuberal y tejido conjuntivo, está en contacto con la región rostral del lóbulo anterior (Fig 8a,8d,8e).

1.2.- Desarrollo posnatal.

Una vez terminada la etapa de proliferación, el número de divisiones va disminuyendo progresivamente durante los últimos estadios embrionarios (Fig 9a,9b) aunque siguen contribuyendo al engrosamiento de la adenohipófisis, fundamentalmente del lóbulo anterior, durante el desarrollo posnatal se siguieron observando divisiones tanto en el lóbulo anterior

como en el lóbulo intermedio (Fig 9c). El número de células en división fue disminuyendo, hasta que en el animal adulto se observaron escasas células Brdu-ir en el lóbulo anterior; sin embargo no pudieron observarse divisiones en las células del lóbulo intermedio (Fig 9d).

A nivel ultraestructural, en el desarrollo posnatal se observaron diferentes morfologías celulares y diferente densidad y tamaño granular (Fig 10a), dentro del mismo tipo en función de distintas etapas de maduración (Fig 10b) Se observan asimismo numerosas mitocondrias así como otros orgánulos celulares (Fig 10b,10c). Se observan también figuras de autofagia algunas incluyendo gránulos de secreción (Fig 10d). En el estado adulto se pudieron observar las características típicas de una célula secretora endocrina, es decir, la presencia de un retículo endoplasmático rugoso así como complejos de golgi bien desarrollados y numerosos gránulos de secreción que ocupan prácticamente todo el volumen celular (Fig 11a,11c,11d). Las células aparecen dispuestas alrededor de los vasos sanguíneos (Fig 11b). Se observan fenómenos de endocitosis así como fenómenos de exocitosis hacia los vasos (Fig 12a,12b). Además junto a células secretoras, también estuvieron presentes células carentes de gránulos en torno a espacios foliculares (Fig 12c).

