

## Ultraestructura de las células adenohipofisarias de la rata blanca sometida al efecto de una benzodiazepina en forma crónica\*

Hilda Sancho Ugalde, Francisco Ureña Calderón

Departamento de Fisiología, Escuela de Medicina, Universidad de Costa Rica y Unidad de Microscopía Electrónica, Universidad de Costa Rica.

(Recibido el 18 de abril de 1985)

**Abstract:** The ultrastructure of the pars anterior (adenohypophysis), treated with diazepam (2.5 mg/Kg) has been studied by thin sections and electron microscopy. The structure of Tirotrophs, Corticotrophs, Gonadotrophs, and Mamotrophs cells were described. Ultrastructural modifications were not observed. It is concluded that the cronic treatment with diazepam did not produce any visible ultrastructural effects in the secretory cells of the adeno hypophysis; maybe because the diazepam has a short life time and due to the small effect of the diazepam metabolites in this species.

Las benzodiazepinas son drogas muy utilizadas por su efecto ansiolítico y músculo relajante (File, 1982). En su mecanismo de acción se ha establecido la estrecha interrelación que tiene con los neurotransmisores GABA y acetilcolina (Enna *et al.*, 1979), así como la interacción que tiene con los nucleótidos cíclicos (Biggio *et al.*, 1977; Nathanson, 1977; Clement-Cornier *et al.*, 1980; Williams, 1977; Flood, 1981).

En el presente trabajo se estudia la ultraestructura de las células secretoras de la adenohipófisis, ya que el efecto que el diazepam ejerce sobre el cAMP y cCMP podría manifestarse a nivel de la síntesis y la secreción de las hormonas de naturaleza peptídica.

### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratas blancas (*Rattus norvegicus*), de ambos sexos de la cepa Sprague Dawley, cuyos pesos oscilaron entre 200-300 g, distribuidas en los siguientes grupos:

Grupo A: 3 animales que recibieron una dosis diaria de diazepam 2,5 mg/kg de peso, i.p. durante 90 días.

Grupo B: 3 animales que recibieron una dosis diaria de diazepam 2,5 mg/kg de peso durante 40 días.

Grupo C: 6 animales que no recibieron ninguna droga.

Se estudió con Microscopía Electrónica de transmisión las células secretoras de la adenohipófisis (tirotropas, corticotropas, somatotropas, gonadotropas y mamotropas). La caracterización de los tipos celulares se hizo de acuerdo con la descripción de las células hipofisarias de la rata blanca hecha por Costoff (1973).

### Microscopía Electrónica

Al término del tratamiento, los animales fueron anestesiados con nembutal (40 mg/Kg de peso, i.p.), y luego se les perfundió por vía intracardiaca con 300 ml de solución fisiológica de cloruro de sodio seguida de 300 ml de una

\* Este trabajo fue apoyado por el Proyecto No. 422-84-022 de la Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Costa Rica.

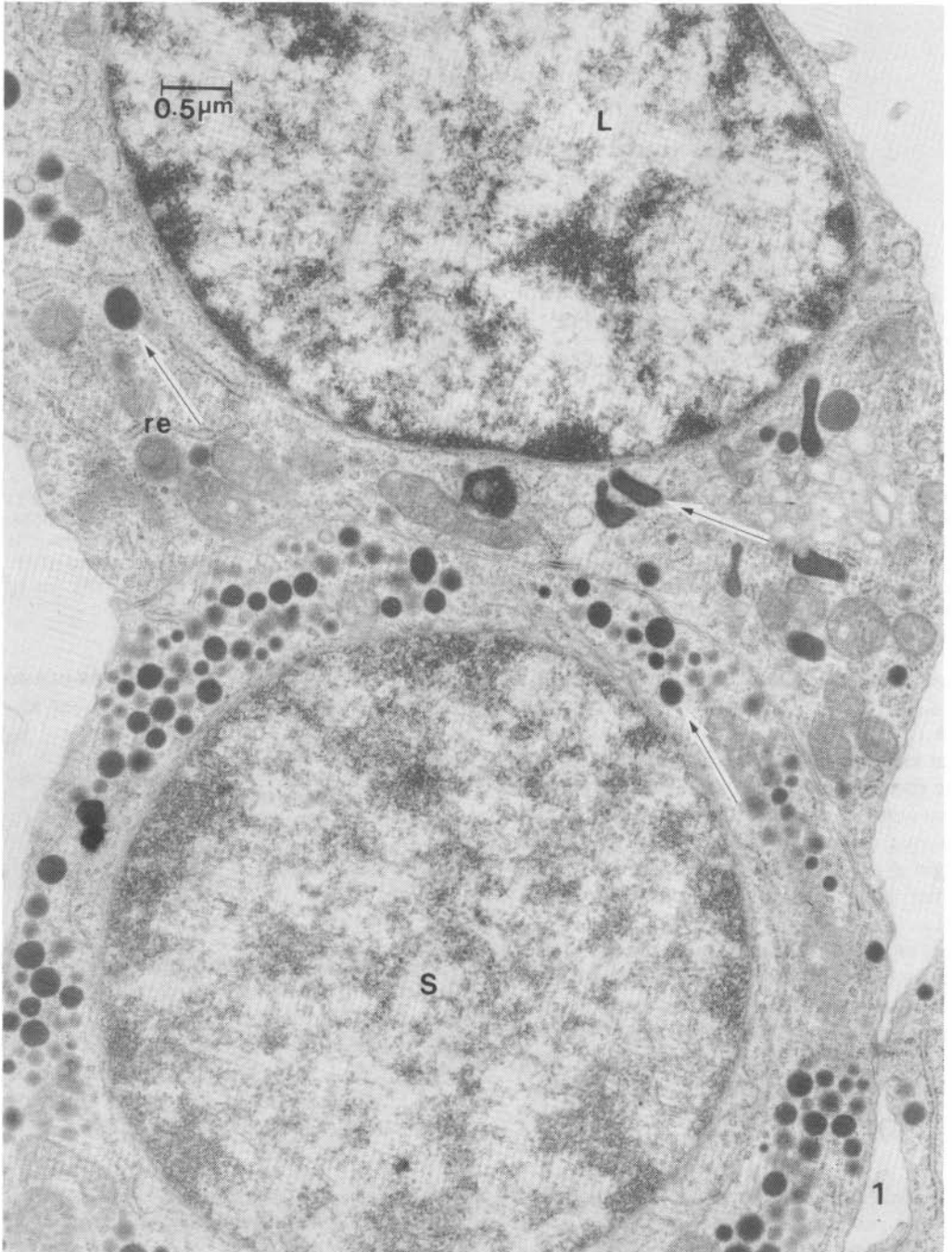


Fig. 1. Sección de hipófisis de rata tratada con 2,5 mg/kg de diazepam durante 90 días. L: Luteotrófica; re: Retículo endoplasmático; S: Somatotropa. Las flechas señalan gránulos de secreción. 18.000X.

solución fijadora de glutaraldehído al 2.5% en un amortiguador de fosfatos 0.1 M y pH 7.1.

Inmediatamente después los animales fueron decapitados y las hipófisis se sacaron rápidamente. Se colocaron muestras de 1-2 mm en glutaraldehído al 2.5% en solución amortiguadora de fosfatos por una hora a 4°C.

Luego se posfijaron en tetraóxido de osmio al 1% en amortiguador de fosfatos por una hora a 4°C. Los tejidos se deshidrataron mediante soluciones del alcohol en orden creciente desde 30° hasta 100° y se incluyeron en resina Spurr (fórmula TABB). Los tejidos se cortaron en secciones de color plateado con navaja de diamante con el ultramicrotomo Sorval MT2-B. Las secciones fueron teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo y examinadas con el microscopio electrónico marca Hitachi, modelo HU-12 A.

## RESULTADOS

A nivel ultraestructural se caracterizaron los diferentes tipos de células secretoras de la adenohipófisis, con base en los siguientes parámetros: el tamaño y la forma de las células, la posición del núcleo con respecto al citoplasma, la cantidad, el tamaño y la densidad electrónica de los gránulos de secreción.

Las células somatotropas, productoras de hormona de crecimiento, se caracterizan por presentar un núcleo grande, redondo y excéntrico, con abundantes gránulos secretores de gran densidad electrónica y distribuidos en las 3/4 partes del volumen citoplasmático. El retículo endoplasmático rugoso y abundante se encuentra localizado en la zona de mayor densidad de gránulos. Uno o varios complejos de Golgi se localizan cerca de la membrana nuclear (Fig. 1, 2).

Las células productoras de las hormonas adrenocorticotropas son muy grandes, de forma irregular; su citoplasma emite proyecciones que se localizan entre otras células de la adenohipófisis. Su núcleo es excéntrico y de una forma muy irregular. Presenta varios complejos de Golgi localizados cerca y alrededor del núcleo. Los gránulos de secreción son abundantes pero muy pequeños, de poca densidad electrónica y uniformemente distribuidos en todo el citoplasma (Fig. 5).

Las células tirotropas productoras de la hormona estimulante de la glándula tiroides son pequeñas, muy esféricas, con un núcleo central,

también muy esférico; su citoplasma es escaso. Presenta escasos gránulos de secreción de gran densidad electrónica, localizados cerca de la membrana citoplasmática. Su retículo endoplasmático liso y rugoso es escaso. El complejo de Golgi se localiza cerca del núcleo (Fig. 4).

Las células mamotropas productoras de prolactina, son grandes con un núcleo muy redondo y un retículo endoplasmático abundante; presenta un complejo de Golgi bien desarrollado. La característica más sobresaliente en estas células es que sus gránulos de secreción presentan diversidad de formas y tamaños, todos de gran densidad electrónica (Fig. 1).

Las células gonadotropas productoras de la gonadotropina, folículo estimulante y luteinizante, son grandes, alargadas, de forma poligonal, con un núcleo redondo. Los gránulos de secreción son abundantes, unos de mucha y otros de poca densidad electrónica. Uno o varios complejos de Golgi prominentes se localizan alrededor del núcleo (Fig. 3).

No hay diferencias en los hallazgos ultraestructurales descritos, entre los grupos control y los tratados con diazepam durante 30 ó 90 días.

## DISCUSION

Algunos autores han señalado que los bloqueadores de la síntesis proteica (Flood *et al.*, 1981) o los bloqueadores del complejo calmodulina calcio (De Lorenzo, 1981) provocan alteraciones ultraestructurales a nivel del complejo de Golgi, las mitocondrias y el retículo sarcoplásmico de las células nerviosas. De acuerdo con el efecto que el diazepam ejerce sobre los nucleótidos cíclicos, se podría esperar que al afectar la síntesis proteica se altere la síntesis de aquellas hormonas de naturaleza proteica o derivados de aminoácidos, relevante a modificaciones en la estructura fina de las organelas involucradas en estos fenómenos.

En nuestro estudio se utilizó un tratamiento crónico y dosis elevadas de benzodiazepina. Sin embargo, no se nota a nivel estructural cambios en las organelas celulares que indiquen afectación de los procesos de la síntesis proteica. Nuestros resultados corroboran lo que ha sido señalado por Igarit *et al.*, 1982, que indica que la concentración de benzodiazepina a nivel de las áreas del mesencéfalo en las ratas es muy baja, por lo cual su efecto es muy

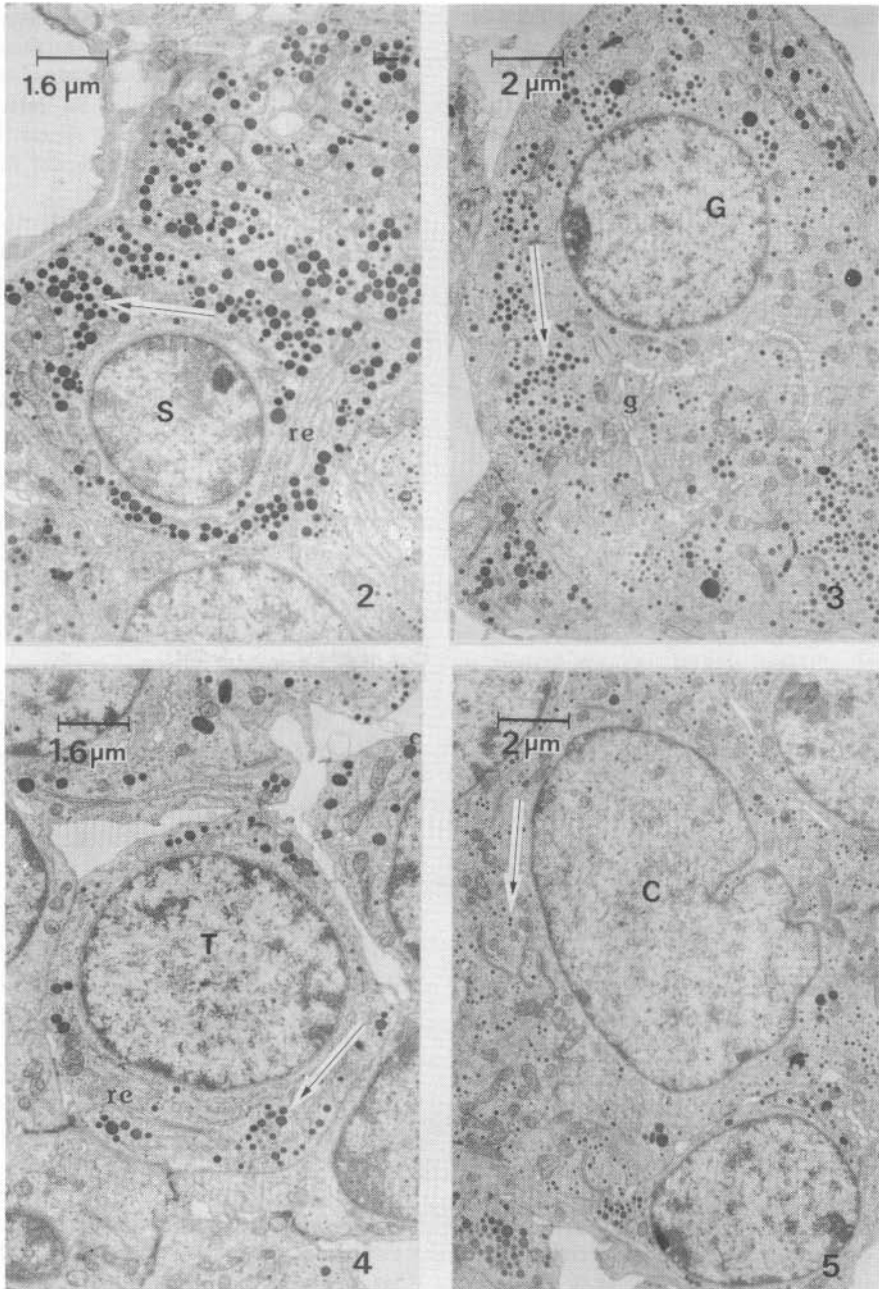


Fig. 2. Sección de hipófisis de una rata tratada con 2,5 mg/kg de diazepam durante 90 días. S: Somatotropa; re: Retículo endoplasmático. La flecha indica una población de gránulos de secreción. 6.000X.

Fig. 3. Sección de hipófisis de rata, tratada con 2,5 mg/kg de diazepam durante 90 días. G: Gonadotropa; g: complejo de Golgi. La flecha indica una población de gránulos de secreción. 5.000X.

Fig. 4. Sección de hipófisis de rata, tratada con 2,5 mg/kg de diazepam, durante 90 días. T: Tirotrópica; re: Retículo endoplasmático. La flecha indica una población de gránulos de secreción. 6.000X.

Fig. 5. Sección de hipófisis de rata, tratada con 2,5 mg/kg de diazepam, durante 90 días. C: Corticotrópica. La flecha señala gránulos de secreción. 5.000X.

leve en esas zonas, o también a que la vida media de las benzodiazepinas y sus metabolitos activos, en el cerebro de las ratas es de corta duración, tal como lo han señalado Hariton *et al.*, 1985.

## RESUMEN

Se estudia la estructura de las células adenohipofisarias de la rata blanca (*Rattus norvegicus*) sometida al efecto de una benzodiazepina, aplicada crónicamente. Se observa que en relación con los controles, las células mamotropas, somatotropas, tirotropas, gonadotropas, corticotropas, no muestran alteraciones ultraestructurales. Se concluye que en la rata, el tratamiento crónico con diazepam, no produce alteraciones ultraestructurales visibles en las células secretoras de las hormonas adenohipofisarias, debido probablemente al efecto de corta duración que tienen los metabolitos del diazepam en esta especie.

## REFERENCIAS

- Biggio G., B.B. Brodie, E. Costa & A. Guidotti. 1977. Mechanisms by diazepam, muscimol and other drugs change the content of cGMP in cerebellar cortex. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 47: 3592-3596.
- Costoff, A. 1973. Ultrastructure of rat adenohipofisis. Academic Press, New York and London. 220 p.
- Clement-Cornier, Y., S. De France, P. Divakara, J. Stanley, K. Taber, Marchand. 1980. Inhibition of cyclic nucleotide accumulation following hippocampal tetanic potentiation: Effects of diazepam. J. Neuros. Research 5: 531-536.
- De Lorenzo, R.J., M.S. Burdette & J. Holderness. 1981. Benzodiazepines inhibition of the calcium-calmoduline protein kinase system in brain membrane. Science 213: 546-549.
- Enna, S.J. & A. Maggi. 1979. Biochemical Pharmacology of Gabaergic Agonist. Life Science 24: 1724-1738.
- File, S. 1982. Clordiazepoxide-induced ataxia, muscimol, picrotosin and naloxone. Pharm. Bioch. Behav. 17: 1165-1170.
- Flood, J.F., D.W. Landry, E.L. Bennett & M.E. Jarvik. 1981. Long memory: description by inhibitors of protein synthesis and cytoplasmic flow. Pharm. Bioch. Behav. 15: 289-296.
- Hariton, C., G. Jadot, E. Mesdjian & P. Mandel. 1985. Diazepam: Kinetic profiles in various brain areas, plasma and erythrocytes after chronic administration in the rat. Euro. J. Drug Metab. Pharmacokin. 10: 105-111.
- Igarit, Y., Y. Sugiyama, Y.M. Sarvad, T. Iga & M. Hanano. 1982. Tissue distribution of <sup>14</sup>C-Diazepam and its metabolites in rats. Drug Metabolism and Disposition. 10: 676-679.
- Nathanson, J.A. 1977. Cyclic nucleotides and central nervous systems function. Physiol. Rev. 57: 157-256.
- Williams, M. & R. Rodnight. 1977. Protein phosphorylation in nervous tissue: possible involvement in nervous function and relationship to cyclic nucleotide metabolism. Prog. in Neurobiology 8: 183-250.