

# *Desarrollo postnatal de la glándula pineal de rata*

J. BOYA y J. CALVO

*Departamento de Histología. Facultad de Medicina.  
Universidad Complutense. Madrid*

## **INTRODUCCION**

La mayoría de los estudios morfológicos sobre la glándula pineal de rata se han realizado en animales adultos. La maduración postnatal de esta glándula es muy poco conocida. El aspecto de la pineal de rata en el momento del nacimiento es muy diferente tanto al M/O (Calvo y Boya, 81a), como con el M/E (Karasek, 74; Calvo y Boya, 81b), del observado en los animales adultos. La mayoría de los estudios existentes están dedicados fundamentalmente a una faceta concreta de la maduración pineal. Con el M/O, la transformación postnatal de la glándula pineal de rata ha sido estudiada sobre todo desde el punto de vista cuantitativo. Las modificaciones descritas se refieren a: mitosis (Quay y Levine, 57; Wallace y cols., 69), cambios en el volumen pineal (Izawa, 25; Quay y Levine, 57; Wallace y cols., 69; Blumfield y Tapp, 70) y de los pinealocitos (Blumfield y Tapp, 70). Los estudios de Tapp y Blumfield (70) y Kappers (60) proporcionan algunos datos sobre los cambios en la forma y situación de la glándula pineal y la diferenciación citológica de los pinealocitos. La secuencia general de cambios al M/O durante la maduración postnatal de la pineal de rata es muy poco conocida.

Los estudios al M/E sobre la pineal de la rata postnatal se han centrado también en algunos problemas concretos como los cambios en la proporción de organoides durante la maduración pineal (Bayerrova y Malinski, 72) o modificaciones de dichos organoides (centriolos y cilios: Lin, 70; dispositivos de unión: Zimmerman y Tso, 75; barras sinápticas: King y Dougherty, 80).

En el presente trabajo describimos con microscopía óptica y electrónica la maduración postnatal de la glándula pineal de rata desde el nacimiento a la pubertad.

## MATERIAL Y METODOS

Hemos utilizado para nuestro estudio 88 ratas albinas (Wistar) de ambos sexos. Los animales se sacrificaron por decapitación a los siguientes intervalos de edad: 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 45 y 60 días. Por cada intervalo se tomaron ocho pineales (cuatro de cada sexo) para su estudio al microscopio óptico y electrónico. Se tomaron también ocho pineales de ratas adultas (6 meses de edad) para comparar algunas características. Para el microscopio óptico, las pineales se fijaron en Bouin, se incluyeron en parafina y se cortaron en serie a siete micras. Las tinciones utilizadas fueron hematoxilina-eosina y técnicas argénticas para la reticulina. Para el estudio ultraestructural, las pineales se fijaron por inmersión en glutaraldehído 3 por 100 o en glutaraldehído 2 por 100 —paraformaldehído 2 por 100 en tampon fosfato 0.1 M, pH 7.4—. Después de un lavado en el mismo *buffer*, las pineales se postfijaron en tetraóxido de osmio al 1 por 100 en *buffer* fosfato y se incluyeron en Vestopal. Se obtuvieron cortes semi-finos en un ultramicrotomo LKB que fueron teñidos con azul de toluidina. Estos cortes se utilizaron para la determinación de la población celular, contando el número de núcleos de células parenquimatosas en ocho zonas de 0,021 mm<sup>2</sup> por cada pineal. Los cortes ultrafinos se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo y se examinaron en un M/E Philips 201.

## RESULTADOS

### *Un día postnatal*

La glándula pineal presenta una forma ovalada y está unida al techo del tercer ventrículo por una base amplia (Figs. 1 y 3). El receso pineal aparece en forma de una hendidura proximal muy estrecha. El parénquima pineal está formado por masas amplias de células pequeñas, de citoplasma escaso, muchas de las cuales aparecen en período de mitosis (Figs. 4 y 5). Los espacios conjuntivos son pequeños, poco abundantes y tienden a localizarse en la periferia pineal, sobre todo en el extremo distal de la glándula. En el centro quedan grandes masas celulares con escasa tabicación conjuntiva.

Con el M/E, el parénquima pineal aparece formado por células indiferenciadas o pinealoblastos (Fig. 6). Son células pequeñas de nú-

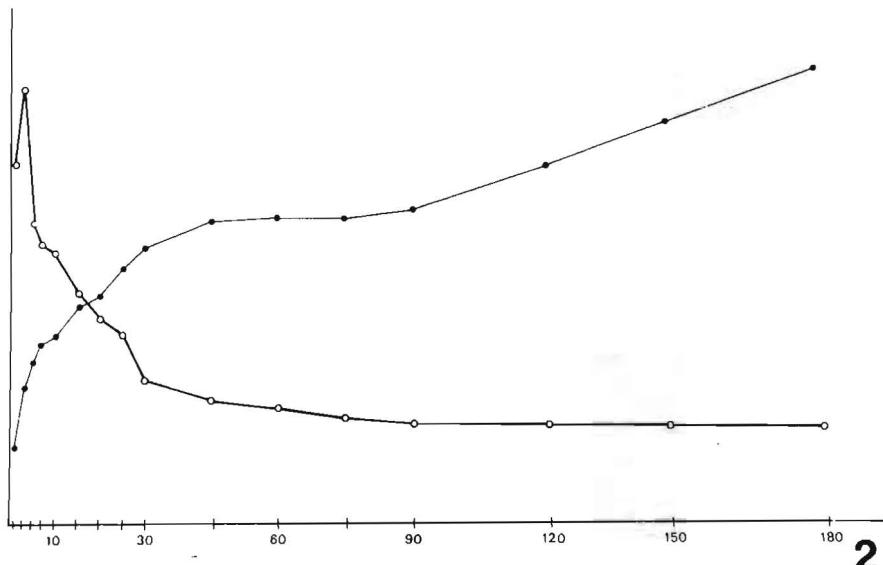
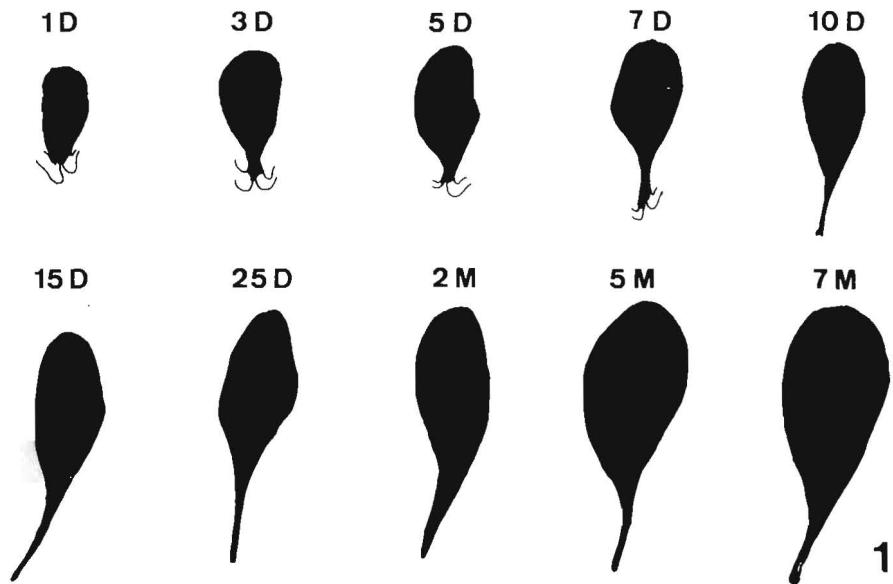


FIG. 1.—Esquema que muestra las variaciones del corte sagital medio pineal durante diversas fases de la vida postnatal. FIG. 2.—Variaciones en la cantidad de células parenquimatosas pineales por unidad de superficie según la edad. La línea de trazo grueso muestra los cambios en la celularidad pineal. Los valores se obtuvieron contando el número de núcleos de células parenquimatosas en ocho zonas de  $0,021 \text{ mm}^2$  por cada pineal. Los contejos se realizaron en cortes semifinos teñidos con azul de toluidina. La línea de trazo fino indica los cambios en la superficie del corte sagital medio pineal.

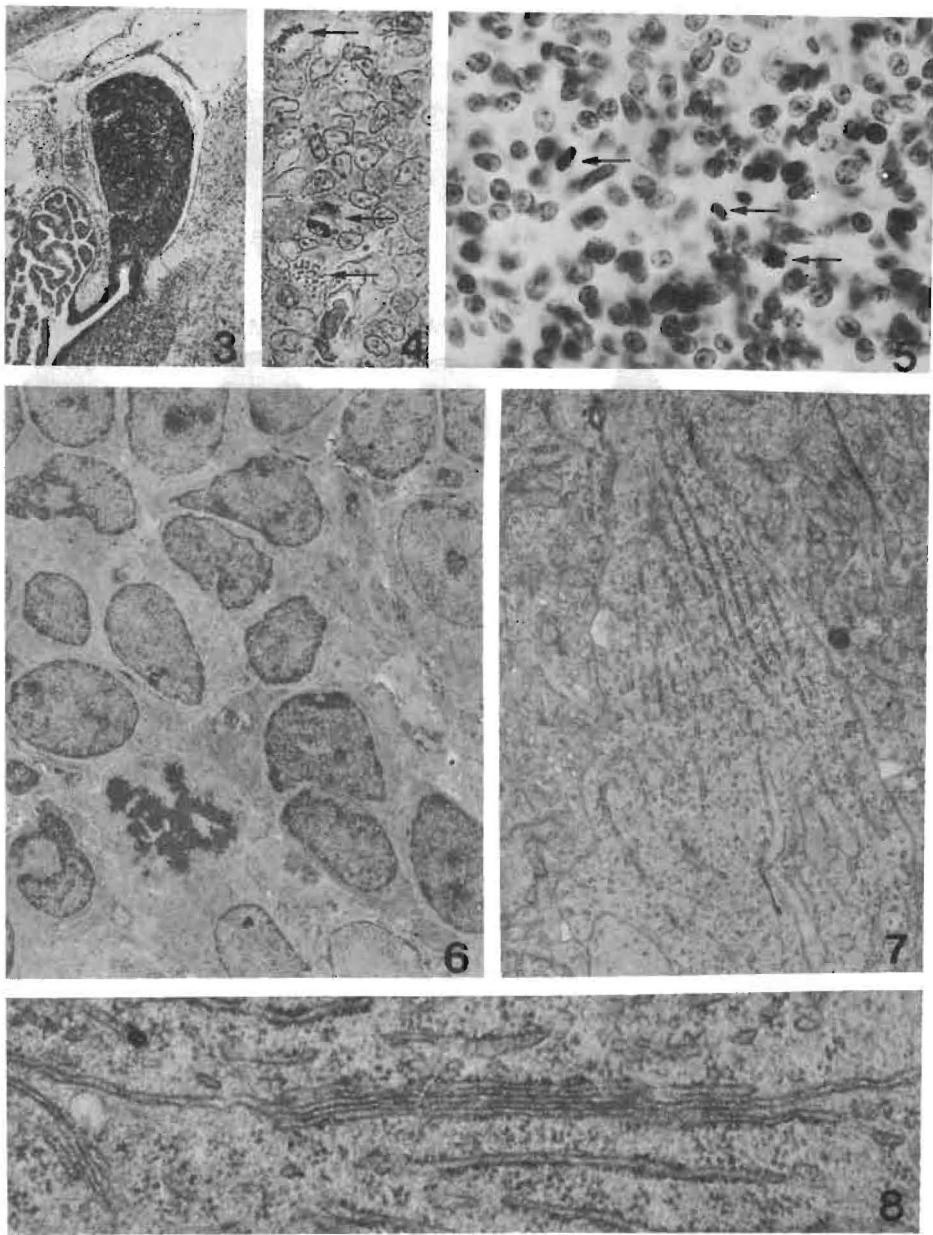


FIG. 3.—Un día. Corte sagital medio de la glándula pineal. Hematoxilina-eosina. 60 x. FIG. 4.—Un día. Pinealoblastos y mitosis (flechas). Corte semifino. Azul de toluidina. 1.000 x. FIG. 5.—Un día. Parénquima pineal formado por masas de células aparentemente indiferenciadas, entre las que se observan abundantes mitosis (flechas). Hematoxilina-eosina. 400 x. FIG. 6.—Un día. Pinealoblastos indiferenciados y mitosis. 3.800 x. FIG. 7.—Tres días. Pineatocito tipo I con acúmulos de cisternas paralelas del retículo endoplásmico rugoso. 17.000 x. FIG. 8.—Tres días. Cisternas subsuperficiales en dos pinealocitos I en contacto. 57.500 x.

cleo denso con grumos pequeños de cromatina. La ultraestructura de los pinealoblastos es similar a la descrita en las últimas fases del período embrionario (Calvo y Boya, 81).

### *Tres días postnatales*

El parénquima pineal es muy celular, alcanzándose en esta fase el pico máximo en el número de células por unidad de superficie (Fig. 2). Las mitosis parecen ser algo más frecuentes que en la fase anterior. En numerosas ocasiones, las células mitóticas se localizan en la vecindad de un espacio conjuntivo. A bajo aumento del M/O destaca la aparición de unos cordones celulares ramificados cuya distribución recuerda a la de los espacios conjuntivos. Están formados por células pequeñas de núcleo denso y aspecto indiferenciado, a las que se asocian con frecuencia imágenes mitóticas. Entre los cordones quedan amplias masas de células más claras y de citoplasma más abundante.

Con microscopía electrónica comienza en esta fase la diferenciación de los tipos celulares pineales, aunque todavía los pinealoblastos constituyen la población celular más abundante. En estas primeras fases de la diferenciación, los pinealocitos principales o pinealocitos tipo I se caracterizan por la aparición en su citoplasma de acúmulos de cisternas del retículo endoplásmico rugoso muy largas y que tienden a disponerse paralelas entre sí (Fig. 7). También es constante la presencia de cisternas subsuperficiales en este tipo celular (Fig. 8). Aparecen en la superficie de contacto entre dos células tipo I, siendo frecuente el que las cisternas se sitúen a la misma altura en las dos células. Otros organoides del pinealocito I en desarrollo son un aparato de Golgi bastante extenso, centriolos y, en ocasiones, cilios, cuerpos multivesiculares, generalmente con pocas vesículas en su interior, polirribosomas libres y mitocondrias. Las gotas lipídicas son poco frecuentes.

El segundo tipo celular pineal, o pinealocitos tipo II comienzan también a diferenciarse a los tres días. Aparecen como células alargadas, de citoplasma relativamente amplio y situadas generalmente en la vecindad de un espacio conjuntivo (Fig. 9). El núcleo es ovalado, de cromatina aún poco densa, destacando una lámina fibrosa muy nítida (Fig. 10). El citoplasma contiene abundante retículo endoplásmico rugoso de morfología diferente al del pinealocito tipo I. Las cisternas son más cortas, poco ordenadas, algo más dilatadas y ocupadas por un material poco denso (Fig. 11). La zona de Golgi suele ser amplia y rica en vesículas. No se ven cisternas subsuperficiales en los pinealocitos II ni tampoco en la superficie de los pinealocitos I en contacto con células tipo II. Por último, los pinealocitos II pre-

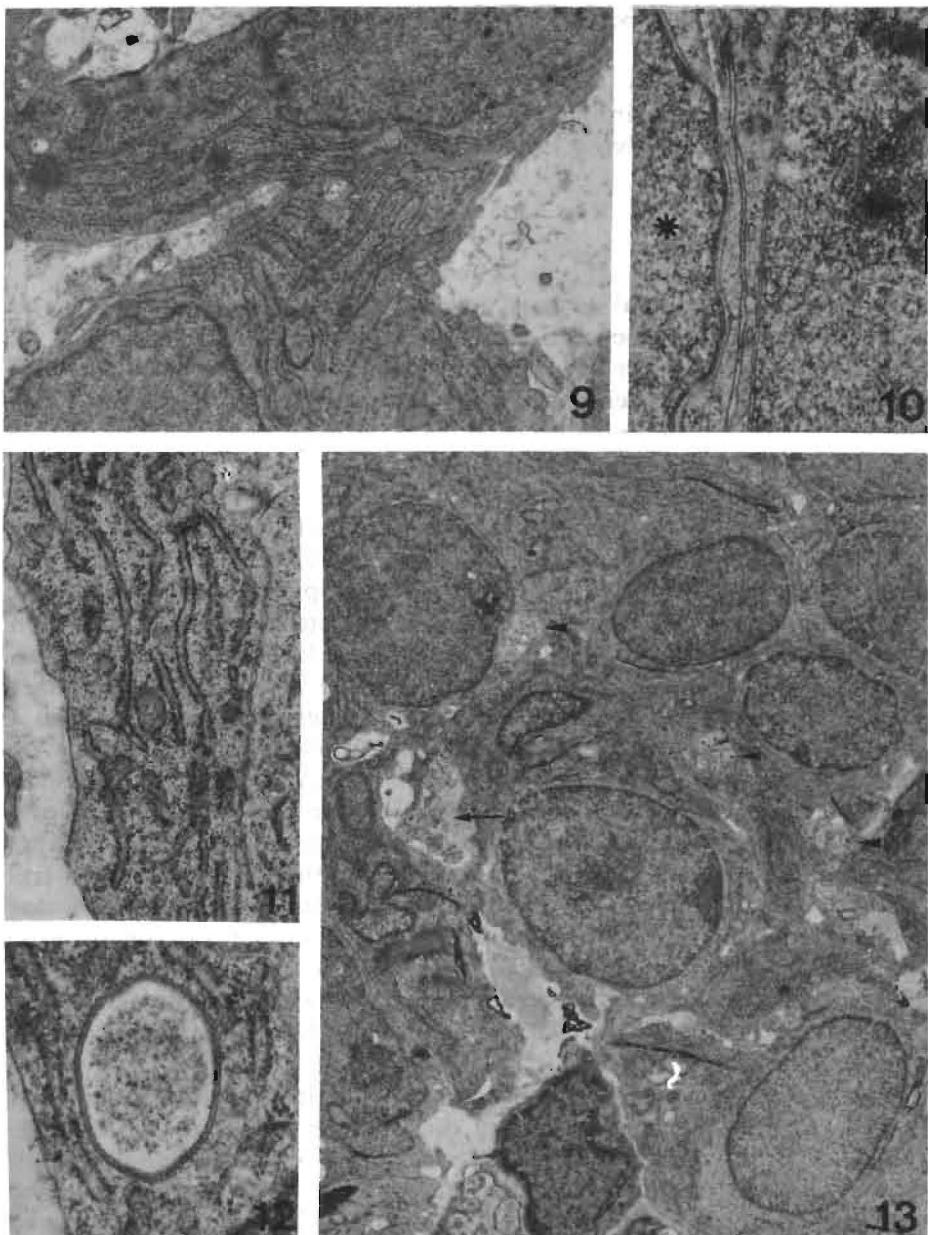


FIG. 9.—Tres días. Pinealocitos tipo II en la vecindad de un espacio conjuntivo. 12.800 x. FIG. 10.—Tres días. Núcleo de pinealocito II (asterisco) con una lámina fibrosa muy desarrollada. Compárese con el núcleo del pinealocito I vecino. 33.500 x. FIG. 11.—Tres días. Retículo rugoso del pinealocito tipo II con cisternas moderadamente dilatadas por un material denso. Compárese con la figura 7. 22.500 x. FIG. 12.—Tres días. Pinealocito tipo II. Imagen a gran aumento de una vacuola con doble membrana, cuyo aspecto recuerda a una unión gap. 48.000 x. FIG. 13.—Tres días. Axones amielínicos en el espacio conjuntivo (flecha) y entre los pinealocitos (puntas de flecha). 7.500 x.

sentan unas vacuolas de contenido claro, en el que se reconocen a veces restos de organoides celulares y rodeadas por dos membranas fusionadas (Fig. 12). Estas vacuolas son específicas de este tipo celular.

A los tres días de edad se encuentran por primera vez fibras nerviosas en los espacios conjuntivos de la glándula pineal de rata (Fig. 3). Son axones amielínicos delgados, reunidos en pequeños paquetes generalmente desprovistos de envoltura celular. Los axones situados en la vecindad del parénquima establecen frecuentemente contacto con los pinealocitos tipo II, quedando a veces parcialmente rodeados por estas células. En ocasiones se encuentran también axones aislados o en pequeños paquetes entre las células parenquimatosas (Fig. 13).

#### *Cinco-diez días postnatales*

El volumen de la glándula continúa aumentando (Fig. 1). En esta fase, el techo del tercer ventrículo se aleja de la posición más bien superficial que presentaba hasta ahora, permaneciendo la glándula pineal unida por su extremo a la confluencia de los senos venosos de la duramadre. En consecuencia, se produce una elongación marcada de la glándula que determina la formación del largo y delgado tallo pineal (Fig. 14). Asimismo, el eje pineal deja de ser vertical, inclinándose en sentido oblicuo hacia abajo y adelante. El cambio más marcado en la posición y forma de la glándula se produce sobre todo entre los siete y diez días de edad.

Los contajes del número de células por unidad de superficie muestran un descenso progresivo de dicho número, indicando el comienzo de una hipertrofia de los pinealocitos (Fig. 2). El número de mitosis desciende también en relación con la fase anterior. Los cordones de células inmaduras son muy patentes en esta edad (Fig. 15). El M/E confirma el carácter inmaduro de las células en los cordones, siendo el aspecto ultraestructural de las mismas similar a los pinealoblastos descritos en el día primero postnatal.

Durante las primeras fases de la maduración postnatal es constante la presencia de células degeneradas en el parénquima pineal (Fig. 16 a, b, c). Estas células abundan especialmente entre los cinco y los quince días. Presentan un núcleo pequeño, picnótico, con grupos gruesos de cromatina, pueden aparecer aisladas o formando pequeños grupos de dos o tres elementos. Se sitúan generalmente en la vecindad de un espacio conjuntivo.

Por último, a partir de los cinco días de edad, se produce un marcado aumento en el número y tamaño de los espacios conjuntivos pineales, los cuales se extienden además por toda la glándula (Fig. 17).

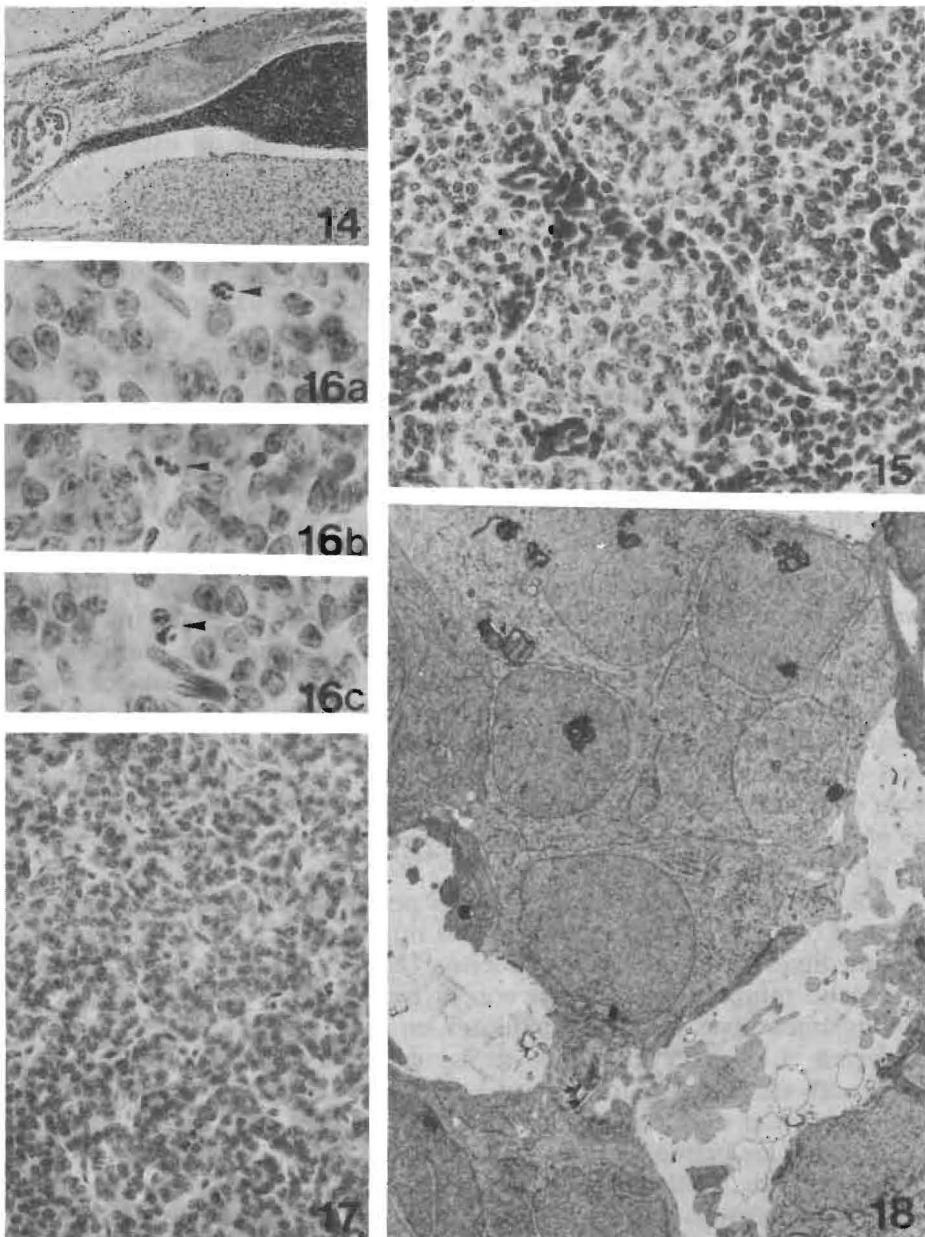


FIG. 14.—Diez días. Formación del tallo pineal. Comparar con la figura 2. Hematoxilina-eosina. 60 x. FIG. 15.—Diez días. Persistencia de células pequeñas de núcleo denso (pinealoblastos) formando cordones entre los pinealocitos. Hematoxilina-eosina. 450 x. FIG. 16, a, b, c.—Diez días. Células degeneradas en el parénquima pineal (puntas de flecha). Hematoxilina-eosina. 1.000 x. FIG. 17.—Desarrollo de los espacios conjuntivos. Hematoxilina-eosina. 350 x. FIG. 18.—Veinte días. Disposición cordonal del parénquima pineal. Nótese el desarrollo de los nucleolos en los pinealocitos I. 4.800 x.

Con el M/E, la mayoría de los espacios conjuntivos aparecen ocupados por vasos sanguíneos.

### *Quince-veinte días*

El parénquima pineal presenta ya el aspecto cordonal característico de esta glándula, debido en gran parte al mayor desarrollo y extensión de los espacios conjuntivos. En la zona periférica de la glándula comienzan a observarse «pseudorosetas». Están formadas por un acúmulo de células ordenadas radialmente alrededor de un pequeño espacio central. Con el M/O se advierte ya claramente la diferenciación de los tipos celulares, que se manifiesta por la diferente morfología nuclear de los dos tipos de pinealocitos. Ya no destacan los cordones de células inmaduras característicos de fases anteriores.

El M/E se comprueba la diferenciación generalizada de los pinealocitos (Fig. 18). Las células tipo I presentan ya citoplasmas amplios (Fig. 19). Comienzan a distinguirse dos variedades, clara y densa, del pinealocito I. La diferencia se debe más a la densidad de nucleoplasma y matriz citoplasmática que a la dotación de organoides, en donde las diferencias son menos evidentes. El retículo rugoso del pinealocito I aparece en forma de cisternas más cortas y menos agrupadas, destacando menos que en fases anteriores. Los lípidos son ya más abundantes y comienzan a observarse pequeños cuerpos densos, generalmente en relación con vacuolas (Fig. 19). Por último, los centriolos son menos frecuentes. Algunas células muestran signos de transformación de la estructura centriolar, sobre todo en forma de apertura de la pared del centriolo (Fig. 20 a, b, c).

Desde el primer día postnatal se encuentran acúmulos de dispositivos de unión entre los pinealocitos tipo I. El número de estos acúmulos se mantiene relativamente bajo hasta los quince días de edad, en que comienzan progresivamente a aumentar en número. Los acúmulos de dispositivos de unión se localizan en el punto de confluencia de varios pinealocitos tipo I, que quedan ordenados radialmente alrededor formando una pseudoroseta.

Los cambios en los pinealocitos tipo II afectan sobre todo a la forma celular. A partir de los quince-veinte días, los pinealocitos II aparecen como células aplanadas, situadas generalmente en el límite parénquima-estroma y dotadas de prolongaciones láminares que siguen dicho límite, aunque sin formar una capa continua. En ocasiones, las prolongaciones láminares se dirigen hacia el espacio conjuntivo, separándose del resto del parénquima. Por último, a veces se observan somas de pinealocitos II situados aparentemente aislados en un es-

pacio conjuntivo, aunque conservando algún contacto con el parénquima por medio de sus prolongaciones (Fig. 21).

En esta fase se observa aún células con citoplasma poco desarrollado, aunque generalmente clasificables dentro de uno de los dos tipos celulares. Sólo ocasionalmente se encuentra alguna célula indiferenciada, habiendo desaparecido los grupos de pinealoblastos visibles en días anteriores, seguramente por diferenciación de sus componentes. A partir de la segunda semana postnatal, los espacios conjuntivos de la glándula pineal de rata muestran un notable aumento de diámetro debido sobre todo a la aparición de espacios pericapilares amplios.

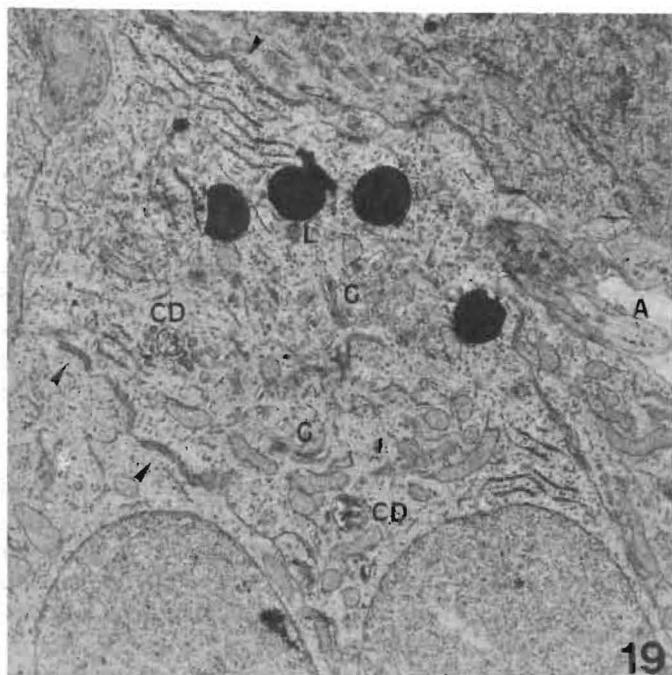
#### *Veinticinco-treinta días*

La glándula pineal alcanza ya un tamaño considerable, siendo el área del corte medio sagital de 3 a 3,5 veces mayor que en el día primero postnatal (Fig. 2). La hipertrofia de los pinealocitos es muy acusada respecto a fases anteriores de modo que el número de células por unidad de superficie es un 35-40 por 100 respecto a los primeros días postnatales (Fig. 2). Las mitosis son ya muy raras.

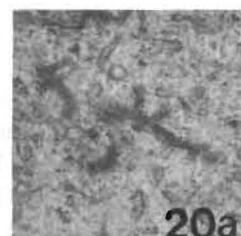
Ultraestructuralmente ha finalizado la diferenciación celular, pudiéndose incluir todas las células parenquimatosas dentro de uno de los dos tipos celulares descritos. El núcleo de los pinealocitos I presenta ya nucleolos prominentes e invaginaciones de la membrana nuclear. Ambas características sólo se esbozan en las fases anteriores. En el citoplasma destaca el mayor tamaño y número de las gotas lipídicas, el incremento en la cantidad de cuerpos densos y la aparición de zonas del citoplasma ricas en retículo endoplásmico liso y ribosomas libres. Los pinealocitos tipo II muestran pocos cambios.

#### *Cuarenta y cinco-sesenta días*

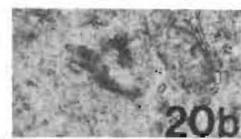
La glándula pineal presenta una forma que puede compararse a la de una castaña, aplana en dirección fronto-occipital (Figs. 1 y 22). De su extremo proximal surge un tallo muy delgado que la une al techo del III ventrículo. La comparación del corte sagital medio al principio y al final del período estudiado muestra claramente un aumento del volumen pineal (Figs. 1 y 2). Hay que resaltar, sin embargo, que, debido al notable crecimiento de la glándula en el plano lateral, el aumento real del volumen es superior al que sugieren los cortes sagitales medios. Por otro lado, la comparación del volumen pineal con el de los animales adultos muestra que a los dos meses no se ha alcanzado aún el volumen máximo de la glándula pineal (Fig. 1).



19



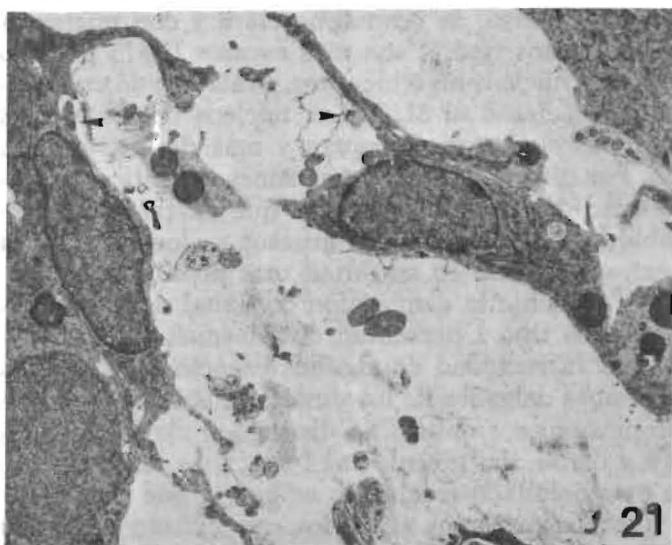
20a



20b



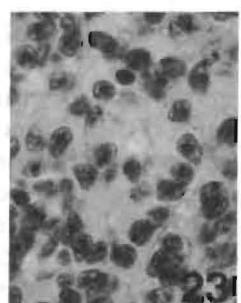
20c



21



22



23

FIG. 19.—Veinte días. Citoplasma de un pinealocito I claro dotado de abundantes organoides. G = aparato de Golgi; L = Lípidos; CD = cuerpos densos asociados a vacuolas. Puntas de flecha = cisternas subsuperficiales. A = axones. 10.000 x.  
 FIG. 20 a, b, c.—Veinte días. Centriolos modificados del pinealocito I. 28.000 x.  
 FIG. 21.—Veinte días. Pinealocitos tipo II situados en el límite parénquima-estroma y en el espacio conjuntivo. Fibras nerviosas en relación con los pinealocitos II (puntas de flecha). 6.500 x. FIG. 22.—Sesenta días. Corte sagital medio de la glándula pineal. Compárese con figuras 2 y 14. Hematoxilina-eosina. 60 x.  
 FIG. 23.—Sesenta días. Ordenación de los pinealocitos formando pseudorosetas. Hematoxilina-eosina. 840 x.

Los recuentos celulares muestran una continuación de la hipertrofia de los pinealocitos, aunque el índice de crecimiento se hace más lento respecto a fases anteriores (Fig. 2). La comparación con los animales adultos indica de nuevo que aún no se ha alcanzado el tamaño máximo de los pinealocitos. Desde los quince días de edad se advierte una mayor celularidad en las pineales de las ratas hembra, en relación a los machos de igual edad. Esta diferencia se mantiene a lo largo de todas las fases posteriores, así como en los animales adultos. El mayor tamaño de los pinealocitos en las ratas macho se acompaña además de un volumen pineal ligeramente superior al de las hembras.

El parénquima pineal aparece al M/O formado por cordones celulares irregulares separados por espacios conjuntivos dotados de vasos sanguíneos. En ocasiones se encuentran grupos de pinealocitos formando pseudorosetas, que parecen ser más abundantes en la zona periférica de la pineal (Fig. 23). A grandes aumentos se distinguen fácilmente los dos tipos de pinealocitos por sus características nucleares (Figs. 24 y 25). Los pinealocitos I, que suponen el 85-90 por 100 de las células parenquimatosas, muestran núcleos grandes, redondeados o a veces con contorno anguloso, de cromatina clara y con nucleolos muy patentes. Los pinealocitos tipo II son más escasos (10-15 por 100 de las células) y presentan núcleos algo menores, ovalados, de cromatina homogénea y algo más densa al M/O. Los núcleos de las células endoteliales y conjuntivas suelen ser menores y más densos que los de las células tipo II. Por último, las impregnaciones argénticas muestran una mayor cantidad de fibras conjuntivas que en fases anteriores (Fig. 26). Los tabiques conjuntivos más gruesos se localizan en la zona periférica pineal, sobre todo en su mitad más distal.

Con el M/E es muy evidente la disposición cordonal del parénquima pineal, los pinealocitos tipo I presentan citoplasmas amplios (Figura 27). Unicamente en la vecindad de algunos espacios conjuntivos se observan prolongaciones delgadas de los pinealocitos I. El resto son somas o perfiles citoplásicos amplios. Se distinguen claramente las dos variedades, clara y densa, del pinealocito I descritas anteriormente. Una observación más detallada revela, sin embargo, que esas variedades no son más que dos extremos entre los que existen todas las densidades intermedias. El núcleo de los pinealocitos I presenta invaginaciones profundas de la membrana nuclear, cromatina muy laxa y nucleolos muy patentes (Fig. 27). Suele observarse un grumo grueso de cromatina adherido al nucleolo. En el citoplasma destaca la abundancia de mitocondrias pequeñas. El retículo endoplásmico, tanto liso como rugoso, y los ribosomas libres se encuentran dispersos por toda la célula. Sin embargo, en ciertas zonas vecinas a la membrana celular se encuentran grandes acúmulos de retículo endoplásmico liso, a los

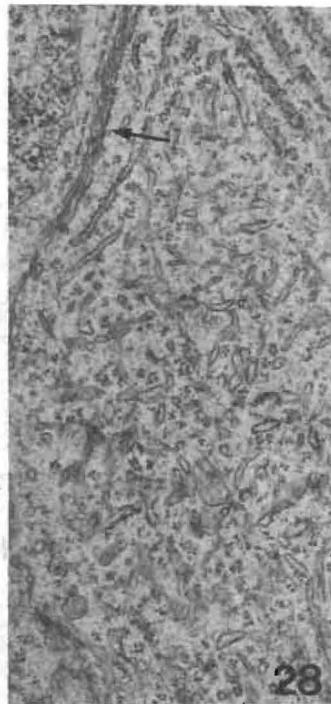
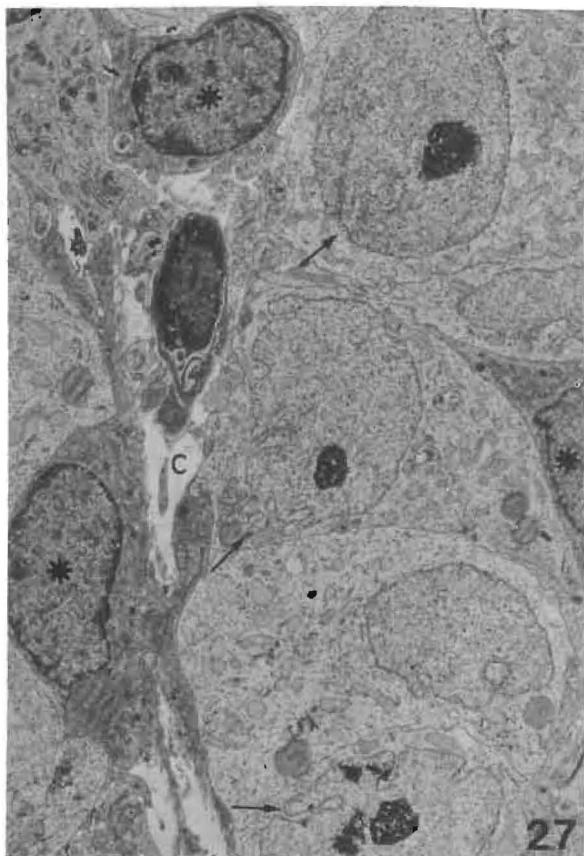
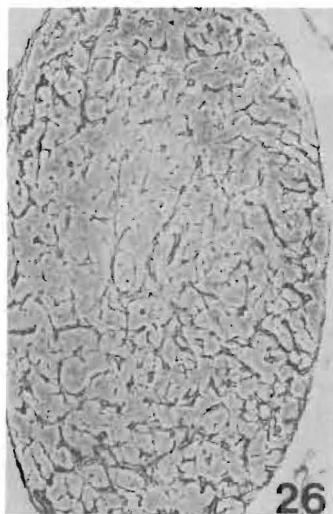
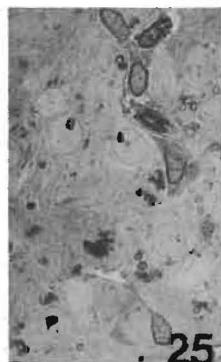
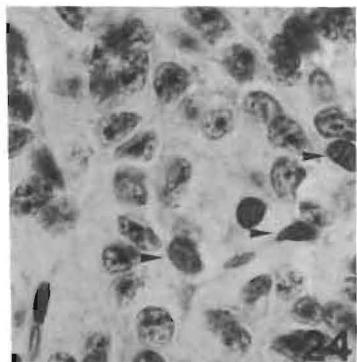


FIG. 24.—Sesenta días. Diferencias en la morfología nuclear entre los pinealocitos. Puntas de flecha = pinealocitos II. Hematoxilina-eosina. 940 x. FIG. 25.—Sesenta días. Corte semifino. Clara delimitación de los dos tipos de pinealocitos. Hipertrofia celular. Compárese con la figura 4. Azul de toluidina. 1000 x. FIG. 26.—Sesenta días. Abundancia de tabiques conjuntivos. Técnica argéntica para fibras reticulares. 170 x. FIG. 27.—Sesenta días. Imagen a bajo aumento de M/E que contiene un espacio conjuntivo (C) y parte de un cordón parenquimatoso. Asteriscos = pinealocitos I. 2.500 x. FIG. 28.—Sesenta días. Pinealocito tipo I. Acúmulo de retículo endoplásmico, mezcla de liso y rugoso. Flecha = cisternas subsuperficiales. 28.000 x.

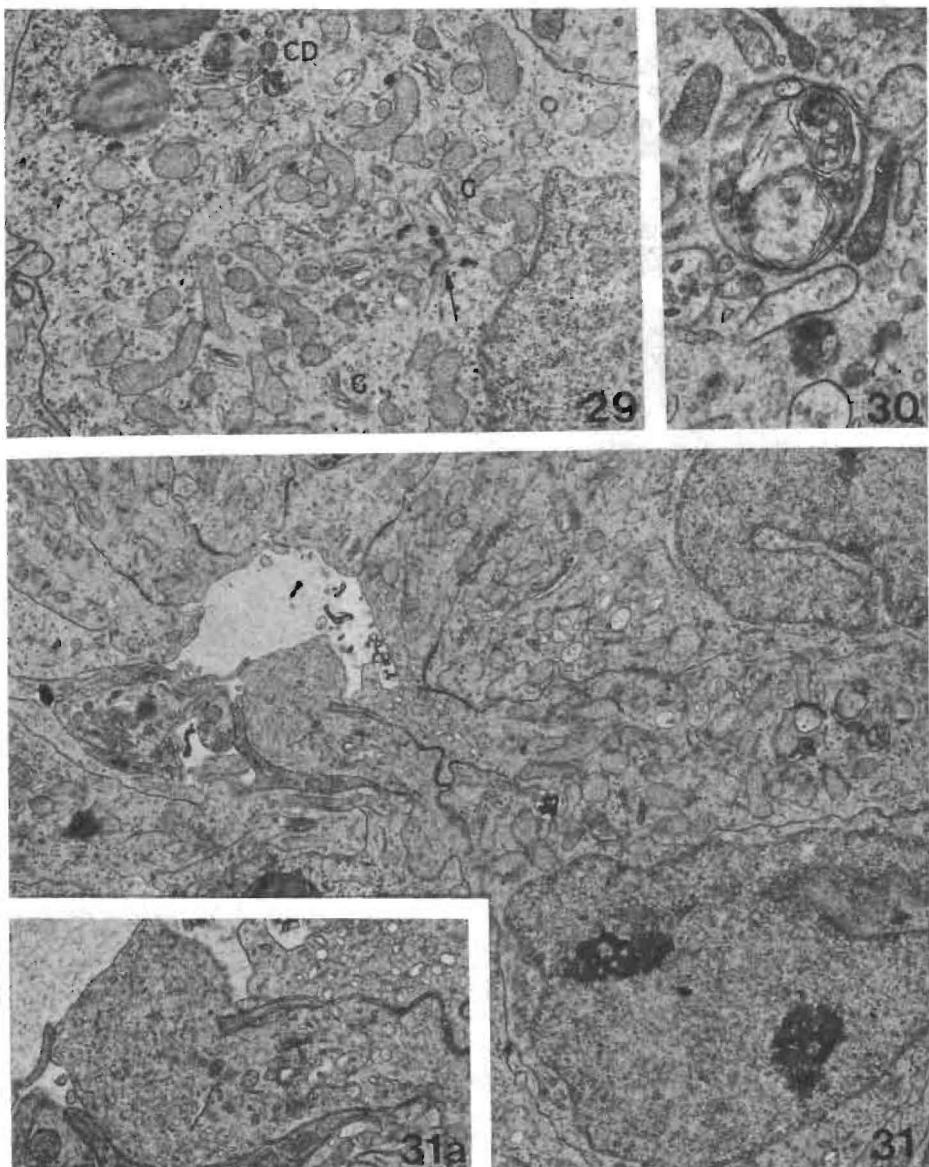


FIG. 29.—Sesenta días. Pinealocito tipo I. G = aparato de Golgi. CD = cuerpos densos. Flecha residuos centriolares. 12.800 x. FIG. 30.—Sesenta días. Pinealocito tipo I. Cuerpos densos en relación con vacuolas. 36.600 x. FIG. 31.—Sesenta días. Pinealocitos I formando una pseudoroseta, cuya luz está delimitada por mecanismos de unión. 9.500 x. FIG. 31 a.—Imagen a mayor aumento de la maza terminal de la figura 31. 17.500 x.

que se asocian con frecuencia gotas lipídicas (Fig. 28). El citoplasma entre los túbulos es muy rico en ribosomas libres. Todavía se observan cisternas subsuperficiales, más escasas y cortas que en fases anteriores. Las gotas lipídicas son mayores y más abundantes, pero todavía la mayoría de los perfiles celulares carecen de ellas. El aparato de Golgi suele contener dictiosomas pequeños y numerosos dispersos por una zona amplia vecina al núcleo (Fig. 29). Asociados a la zona de Golgi se encuentran frecuentemente los residuos centriolares. Aparecen en forma de racimos de microtúbulos, en los que todavía se reconoce a veces la ordenación en tripletes. Los racimos se orientan al azar y aparecen rodeados de un material denso que puede mostrar indicios de estriación transversal. Los cuerpos densos aparecen formando grupos en la mayoría de los pinealocitos I. Son pequeños, de contenido grumoso y forman grupos asociados a vacuolas y cuerpos multivesiculares. Las vacuolas contienen frecuentemente restos de organoides (Fig. 30). Cada pinealocito I posee varios grupos de cuerpos densos. Otros componentes del citoplasma de los pinealocitos I son microtúbulos, bastante abundantes, barras sinápticas localizadas en el soma o, más frecuentemente, en las prolongaciones delgadas situadas cerca de un espacio conjuntivo.

Las pseudorosetas citadas en fases anteriores son más numerosas y mejor diferenciadas a los cuarenta y cinco-sesenta días (Fig. 31). Los pinealocitos I que forman las pseudorosetas muestran una clara polarización celular hacia el acúmulo de dispositivos de unión. El contorno celular tiende a la forma piramidal. En la base ensanchada se sitúa el núcleo. El citoplasma supranuclear disminuye progresivamente de diámetro hasta mostrar un estrechamiento a nivel del cual queda unido mediante dispositivos de unión tipo *adherens* a los pinealocitos vecinos. Por encima del núcleo se sitúa la zona de Golgi y los grupos de cuerpos densos. Más arriba las mitocondrias suelen ordenarse longitudinalmente. En el estrechamiento o cuello abundan los microtúbulos. Por encima de los dispositivos de unión se observa una dilatación maza terminal repleta de vesículas claras, esféricas o aplandadas (Fig. 31 a). También pueden encontrarse alguna mitocondria, pequeñas gotas de lípidos y cuerpos multivesiculares. Los dispositivos de unión bordean incompletamente una cavidad, muchas veces prácticamente virtual, que suele situarse cercana a un espacio conjuntivo, quedando con frecuencia en contacto directo con dicho espacio. Esta situación explica la frecuente localización de mazas terminales libres en un espacio conjuntivo. Cuando la cavidad es virtual, las mazas se sitúan en una depresión de una de las células vecinas.

Los pinealocitos II muestran, igual que las células tipo I variaciones en la densidad que tampoco se acompañan de diferencias en la dotación de organoides. El núcleo es ovalado y presenta un ribete delgado

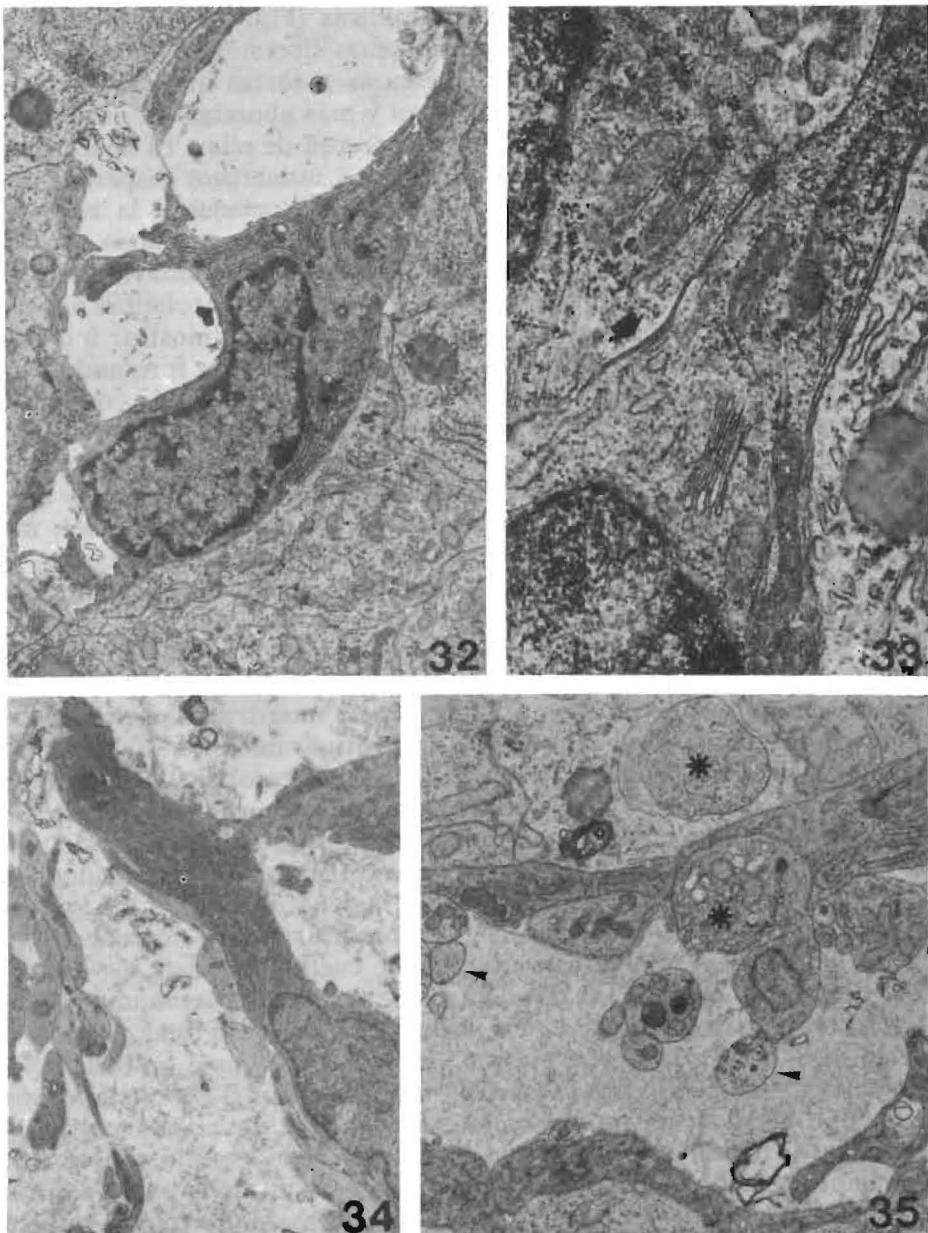


FIG. 32.—Pinealocitos tipo II en el límite parénquima-estroma. 10.000 x. FIG. 33.—Dispositivo de unión tipo gap entre pinealocitos II (flecha). 43.500 x. FIG. 34.—Axones amielínicos en el espacio conjuntivo y en relación con la superficie de un pinealocito tipo II. 7.800 x. FIG. 35.—Mazas terminales (asteriscos) en el parénquima y en relación con un espacio conjuntivo que también contiene fibras nerviosas (puntas de flecha). 12.800 x.

de cromatina periférica, un nucleolo pequeño y nucleoplasma denso (Fig. 32). El retículo rugoso sigue siendo el organoide más desarrollado. Se observan además, aparato de Golgi, mitocondrias y, raramente, gotas lipídicas y cuerpos densos. En numerosos pinealocitos II se encuentran las vacuolas descritas anteriormente como características de este tipo celular. Pueden aparecer varias en una sola célula e incluso vacuolas que contienen otras en su interior. La pared de la vacuola está formada por dos membranas unidas que, a gran aumento, recuerdan el aspecto ultraestructural de las uniones gap con las técnicas de rutina del M/E. Se observan también uniones similares entre pinealocitos II (Fig. 33). En alguna rara ocasión la unión se forma entre una prominencia gruesa de un pinealocito II y la depresión de la célula tipo II vecina en que se aloja. En estos casos, el contenido de la prominencia suele ser más claro que el resto del citoplasma.

A los cuarenta y cinco-sesenta días de edad los espacios conjuntivos son abundantes y relativamente amplios. En el límite con el parénquima suelen situarse los pinealocitos II con sus prolongaciones laminares formando una capa discontinua (Fig. 34). En ocasiones las prolongaciones e incluso la propia célula pueden hacer prominencia hacia el espacio conjuntivo (Fig. 34). La membrana basal parenquimatosa es fragmentaria y puede faltar en algunas zonas.

En los espacios conjuntivos encontramos abundantes capilares de endotelio fenestrado, fibras conjuntivas, tanto colágenas como oxitálanas (Calvo y Boya, 82), células conjuntivas y algunas células emigrantes presentan un contorno celular irregular y en ocasiones pueden observarse penetrando en el parénquima. Las fibras nerviosas aparecen generalmente aisladas o formando pequeños haces. Sólo en los haces mayores y en el nervio conarii y sus ramas se observan células Schwann típicas. Las fibras nerviosas próximas al parénquima muestran una clara relación con los pinealocitos II (Fig. 34). Se observan pocas fibras en el seno de los cordones parenquimatosos, por lo que es probable que finalicen cerca del límite parénquima-estroma, sin penetrar muy profundamente. El último componente visible en los espacios conjuntivos son las mazas terminales de los pinealocitos I (Figura 35). A diferencia de las fibras nerviosas, son más grandes, carecen de vesículas granulares y presentan numerosas vesículas claras y, frecuentemente, otros organoides del pinealocito I.

Además de los espacios conjuntivos grandes, se encuentran numerosos espacios de tamaño mínimo en el seno de los cordones parenquimatosos, que corresponden a prolongaciones digitiformes de un espacio mayor. Con frecuencia se observan prolongaciones de pinealocitos II relacionadas con esos espacios, además de la membrana basal parenquimatosa. El contenido más frecuente de los espacios pe-

queños son algunas fibras conjuntivas y fibras nerviosas, que suelen relacionarse con las prolongaciones de células tipo II.

## DISCUSION

Según muestran nuestros resultados, la maduración postnatal de la glándula pineal de rata se desarrolla en tres fases: proliferación, diferenciación y crecimiento o hipertrofia. La proliferación es intensa durante los tres primeros días, desciende rápidamente entre los cinco y diez días y más lentamente hasta los veinte días, a partir de los cuales las mitosis son muy raras. Estos resultados coinciden con los descritos previamente (Quay y Levine, 57; Wallace y cols., 69; Trakulrungsi y Yeager, 77).

La diferenciación de los tipos celulares pineales comienza a los tres días postnatales. Karasekm (74) sólo encuentra células indiferenciadas a los tres días, situando la diferenciación en la siguiente fase estudiada (diez-catorce días). Steinberg y cols. (81) describen células claras y densas en ratas de dos días. Sin embargo, las células densas de estos autores tienen un aspecto idéntico a los pinealoblastos densos descritos por nosotros en el desarrollo embrionario (Calvo y Boya, 81 b) y en el primer día postnatal. Las células claras sí podrían corresponder a pinealocitos I en diferenciación. Durante las primeras fases de la diferenciación, el tipo celular principal o pinealocito I se caracteriza por el desarrollo de su retículo rugoso y la aparición frecuente de cisternas subsuperficiales. Según Bayerova y Malinski (72), el retículo rugoso es el organoide que muestra el mayor aumento durante la maduración postnatal, especialmente en la fase de cinco a diez días, las cisternas subsuperficiales han sido descritas en el adulto (Wolfe, 65). Nuestros resultados muestran que estas estructuras aparecen tempranamente y en cantidad importante durante el desarrollo de los pinealocitos I.

Los pinealocitos II aparecen a los tres días. No hemos podido identificar con seguridad una célula precursora de los pinealocitos II en las ratas de un día o durante el desarrollo embrionario (Calvo y Boya, 81 b). No existe en la literatura ningún dato sobre la diferenciación de este tipo celular. Desde el principio, los pinealocitos tipo II muestran características similares a las encontradas en la célula diferenciada (situación vecina a un espacio conjuntivo, retículo rugoso desarrollado de morfología característica, presencia de vacuolas claras, etc.). En fases posteriores, los cambios afectan fundamentalmente a la forma y electrodensidad de estas células. Esta aparición brusca de pinealocitos II bastante diferenciados coincide con la penetración de fibras nerviosas en la glándula pineal. Estas fibras establecen ade-

más desde el principio una relación estrecha con los pinealocitos II, que se mantendrá en fases posteriores. Parece posible, por tanto, que la diferenciación de este tipo celular sea inducida por las fibras nerviosas pineales. Steinberg y cols. (81) han estudiado el desarrollo de pinealocitos neonatales (no inervados) en cultivo. A los cinco, once y diecisiete días de cultivo, las células muestran las características de pinealocitos tipo I. A los veintiún días citan la presencia de células claras y densas. Sin embargo, como se ha señalado anteriormente, las células densas de estos autores pueden corresponder más bien a pinealoblastos. Parece pues que, en ausencia de inervación no se desarrollan pinealocitos I típicos.

La diferenciación de los tipos celulares pineales iniciada a los tres días continúa hasta los veinte-veinticinco días en que todas las células parenquimatosas pueden incluirse en uno de los dos tipos de pinealocitos descritos. Los estudios bioquímicos indican también que la mayoría de las indolaminas pineales y los enzimas relacionados con ellas se desarrollan en las tres primeras semanas postnatales (Hansson y cols., 67; Ellison y cols., 72; Klein y cols., 81). Durante las primeras fases, las células no diferenciadas o pinealoblastos forman cordones fácilmente visibles al M/O y M/E. Estos cordones han sido descritos previamente al M/O por Tapp y Blumfield (70).

Las variaciones en la superficie del corte sagital medio pineal nos muestran el aumento de volumen de la glándula durante la vida postnatal. Dicha superficie se multiplica por seis en los primeros seis meses de vida. El crecimiento muestra dos fases: un aumento rápido hasta los cuarenta y cinco días y otro más lento desde los cuarenta y cinco días a los seis meses. Blumfield y Tapp (70) y Walker y cols. (78), estudiando las variaciones del peso pineal, describen también estas dos fases. Quay y Levine (59) y Wallace y cols. (69) han estudiado el aumento en el área del corte medio pineal hasta los tres-cuatro meses. Los valores obtenidos en nuestro estudio son ligeramente superiores a los de estos autores, aunque la forma de la curva es similar. Wallace y cols. (69) describen una disminución en el área desde los sesenta a los ciento veinte días. En nuestro material, sin embargo, el área sigue creciendo al menos hasta los seis meses. Las variaciones en el peso pineal parecen seguir también una curva similar (Izawa, 25; Blumfield y Tapp, 70; Walker y cols., 78).

A partir de los tres días se produce una marcada disminución en el número de núcleos de células parenquimatosas por unidad de superficie, que indica una hipertrofia de estas células. Varios autores han estudiado la hipertrofia de los pinealocitos en la rata postnatal, aunque los valores obtenidos varían. Así, según Izawa (25), el número de núcleos desciende un tercio entre los veinte días y los cinco meses. Según Wallace y cols. (69) y Blumfield y Tapp (70), entre el nacimiento y la

fase adulta el descenso es de un 50 por 100. Según Quay y Levine (57), a las diecisésis semanas el número de núcleos es un 35 por 100, aproximadamente, respecto a los primeros días postnatales. Nuestros resultados indican que a los seis meses el número de núcleos por unidad de superficie es alrededor de un 20 por 100 respecto a los primeros días postnatales. Las diferencias pueden deberse en gran parte a la técnica empleada por nosotros (inclusión en plástico y cortes semifinos) que permiten una identificación más segura y una menor distorsión durante el procesamiento de las muestras.

Los cambios en el número de células por unidad de superficie explican en gran parte la curva seguida por el área de sección media. El número de núcleos por unidad de superficie aumenta entre los días primero y tercero. Esta fase es la de máxima proliferación celular, como lo demuestran los estudios de Quay y Levine (57) y Wallace y cols. (69), así como nuestras propias observaciones. A partir de los tres días, aunque la proliferación celular continúa, comienza una hipertrofia de las células parenquimatosas ya diferenciadas. Desde los tres a los veinte días, en que las mitosis ya son muy raras, la diferenciación progresiva de los pinealoblastos y la hipertrofia asociada explican el descenso en el número de núcleos y el crecimiento de la glándula. La contribución de la proliferación celular a este crecimiento, aunque importante en la primera semana, es ya escasa posteriormente. Los pinealocitos jóvenes presentes a los veinte días continúan su hipertrofia hasta que a los cuarenta y cinco-sesenta días alcanzan una morfología similar a la de la célula adulta. Con ello finaliza la fase rápida de descenso en el número de núcleos y de aumento del área de sección pineal. A partir de los sesenta días, aunque la hipertrofia continúa, lo hace ya a un ritmo muy lento.

Durante la vida postnatal se producen también cambios marcados en la forma y posición de la glándula pineal. En la rata neonatal, la glándula pineal presenta una forma ovoide. El crecimiento postnatal es intenso según los ejes sagital y transversal u horizontal (aumento de dos o tres veces) y menos marcada según el eje vertical (1,5 veces, aproximadamente), lo que da lugar a una forma aplanada, similar a una castaña. El cambio en la posición implica la modificación del eje pineal desde una situación casi vertical a otra muy oblicua, casi horizontal. La inclinación de la glándula pineal ha sido citada previamente por Kappers (60). Nuestros resultados indican que estos cambios se producen sobre todo entre los siete y los diez días postnatales.

Por último, hemos encontrado diferencias en el tamaño de los pinealocitos y el volumen pineal entre ratas macho y hembra. Estas mismas diferencias han sido señaladas por Blumfield y Tapp (70).

La hipertrofia de los pinealocitos I se acompaña de cambios marcados tanto en el aspecto del núcleo como en el número y tipo de

organoides celulares. Apenas existen descripciones previas de estos cambios. Para Bayerova y Malinski (72), la mayoría de los cambios en el volumen citoplasmático y en los organoides se producen entre los cinco y diez días, existiendo pocas variaciones entre los diez días y la fase adulta. Steinberg y cols. (81) también encuentran pocos cambios en los organoides entre los cuatro y veintiocho días, final de su período de estudio. Nuestros resultados indican, sin embargo, una transformación gradual de los pinealocitos I durante los primeros sesenta días de edad. A los sesenta días ya están presentes todas las características ultraestructurales descritas en la pineal adulta (Wolfe, 65; Arstila, 67). Sin embargo no se ha alcanzado aún el volumen máximo de la glándula ni de los pinealocitos. Las modificaciones entre los sesenta días y la fase adulta serán probablemente de naturaleza cuantitativa y corresponderán a la fase final del período de crecimiento o hipertrofia indicado anteriormente.

Una característica de los pinealocitos I durante la maduración postnatal es una tendencia a formar pseudorosetas, quedando polarizados alrededor de una cavidad bordeada incompletamente por dispositivos de unión. Estas formaciones sólo han sido descritas al M/O previamente por Tapp y Blumfield (70) como pseudoalveolos. Con el M/E, se han descrito en la rata adulta («circuluminal arrays» de Wolfe, 65) y también durante el desarrollo (Zimmerman y Tso, 75; King y Dougherty, 80; Steinberg y cols., 81). Unicamente Zimmerman y Tso (75) estudian en profundidad estas estructuras, comparándolas con las células fotorreceptoras de la retina en desarrollo. Nuestros resultados difieren respecto a las conclusiones de estos autores. Así, Zimmerman y Tso (75) encuentran pseudorosetas con mazas terminales situadas en la luz en ratas de cuatro a doce días. Desde los diecisiete a los noventa y seis días encuentran acúmulos de dispositivos de unión, pero no luces ni mazas terminales. En nuestro material, las pseudorosetas están poco diferenciadas en los primeros quince días y alcanzan su máximo desarrollo al final del período estudiado (cuarenta y cinco-sesenta días). Durante todas las fases se observan mazas terminales. Es decir, la evolución en nuestro material indica un desarrollo y no una involución de las pseudorosetas y sus mazas asociadas con la edad. Zimmerman y Tso (75) tampoco encuentran una relación de las pseudorosetas con los espacios conjuntivos, salvo en un solo caso. Nuestros resultados indican que esta relación es muy frecuente, explicando así la situación de mazas terminales en los espacios conjuntivos, situación que se conserva en la fase adulta (Wolfe, 65; Arstila, 67). Por último, Zimmerman y Tso (75) describen una relación de los centriolos y cilios con la cavidad central de la pseudoroseta, localizando los cilios en las mazas terminales. La mayoría de los centriolos observados por nosotros se sitúan en el citoplasma

somático; los cilios, poco frecuentes, se localizan en espacios intercelulares no bordeados por dispositivos de unión, los centriolos y cilios desaparecen a partir de los quince días, transformándose los centriolos en racimos de microtúbulos unidos por un material denso, según ha descrito también Lin (70).

Los pinealocitos II están unidos entre sí por dispositivos de unión que recuerdan a las uniones gap. No se observan mecanismos de unión entre pinealocitos I y II. Las uniones entre los pinealocitos II se establecen en ocasiones entre una protusión de una célula que queda incluida en una depresión de la célula vecina. El corte transversal de esta unión tendría el aspecto de las vacuolas claras descritas en los pinealocitos II. Sin embargo, dado el número y situación, generalmente profunda de las vacuolas claras, parece difícil admitir que todas sean cortes transversales de una unión intercelular, aunque con las técnicas utilizadas esto no se puede excluir. La naturaleza de estas vacuolas, su posible relación con los dispositivos de unión y sus significados necesitan más estudio. Las vacuolas de los pinealocitos II han sido descritas en la rata adulta por Wolfe (65).

## BIBLIOGRAFIA

- ARSTILA, A. U. (1967): «Electron microscopic studies on the structure and histochemistry of the pineal gland of the rat». *Neuroendocrinology*. 2: suppl, 1-101.
- BAYEROVA, G., y MALINSKI, J. (1972): «Quantitative ultrastructural study of rat pineal ocytes during postnatal development». *Folia morphologica*. 20: 56-59.
- BLUMFIELD, M., y TAPP, E. (1970): «Measurements of pineal parenchymal cells and their nuclei in the albino rat at different ages». *Acta morphologica neerlando-scandinavica*. 8: 1-8.
- CALVO, J., y BOYA, J. (1981a): «Ultrastructural study of the embryonic development in the rat pineal gland». *Anatomical Record*. 199: 543-553.
- CALVO, J., y BOYA, J. (1981b): «Ultrastructural study of the embryonic development in the rat pineal gland». *Anatomical Record*. 199: 543-553.
- CALVO, J., y BOYA, J. (1983): «Oxytalan fibres in the rat pineal gland». *Journal of Anatomy*. 193: 363-366.
- ELLISON, N.; WELLER, J. L., y KLEIN, D. C. (1972): «Development of a circadian rhythm in the activity of pineal serotonin N-acetyltransferase». *Journal of Neurochemistry*. 19: 1335-1341.
- HAKANSON, R.; DES GOUTTES, H. N. L., y OWMAN, C. (1967): «Activities of tryptophan hydroxylase, DOPA-decarboxilase and monoamine oxidase as correlated with the appearance of monoamines in developing rat pineal gland». *Life Sciences*. 6: 2577-2585.
- IZAWA, Y. (1925): «Studies on the pineal body. I. On the postnatal growth of the pineal body of the albino rat with observations on its histology». *Journal of Comparative Neurology*. 39: 1-15.
- KAPPERS, J. A. (1960): «The development, topographical relations and innervation of the epiphysis cerebri in the albino rat». *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*. 53: 163-215.

- KARASEK, M. (1974): «The dependence of white rat pineal gland ultrastructure on age». *Endocrinologia Polska*. 25: 275-287.
- KING, T. S., y DOUGHERTY, W. J. (1980): «Neonatal development of circadian rhythm in synaptic ribbon numbers in the rat pinealocyte». *American Journal of Anatomy*. 157: 335-343.
- KLEIN, D. C., NAMBOODIRI, M. A. A., y AUERBACH, D. A. (1981): «The melatonin rhythm generating system: developmental aspects». *Life Sciences*. 28: 1975-1986.
- LIN, H. S. (1970): «The fine structure and transformation of centrioles in the rat pinealocyte». *Cytobios*. 2: 129-151.
- QUAY, W. B., y LEVINE, B. E. (1957): «Pineal growth and mitotic activity in the rat and the effect of colchicine and sex hormones». *Anatomical Record*. 129: 65-67.
- STEINBERG, V. I.; ROWE, V.; WATANABE, I.; PARR, I., y DEGENHARDT, M. (1981): «Morphologic development of neonatal rat pinealocytes in monolayer culture». *Cell and Tissue Research*. 220: 337-347.
- TAPP, E., y BLUMFIELD, M. (1970): «The parenchymal cells of the rat pineal gland». *Acta morphologica neerlando-scandinavica*. 8: 119-131.
- TRAKULRUNGSI, W. K., y YEAGER, V. L. (1977): «Effect of photoperiod on early changes in neonatal rat pineal gland». *Experientia*. 33: 84.
- WALLACE, R. B.; ALTMAN, J., y DAS, G. D. (1969): «An autoradiographic and morphological investigation of the postnatal development of the pineal body». *American Journal of Anatomy*. 126: 175-184.
- WALKER, R. F.; McMAHON, K. M., y PIVORUN, E. B. (1978): «Pineal gland. structure and respiration as affected by age and hypocaloric diet». *Experimental Gerontology*. 13: 91-99.
- WOLFE, D. E. (1965): «The epiphyseal cell: an electron microscopic study of its intercellular morphology in the pineal body of the albino rat». *Progress in Brain Research*. 10: 332-376.
- ZIMMERMAN, B. L., y TSO, M. O. M. (1975): «Morphologic evidence of photoreceptor differentiation of pinealocytes in the neonatal rat». *Journal of Cell Biology*. 66: 60-75.