

ACTIVIDAD DE LA DEHIDROGENASA

I. EN EL OVARIO

ALVAN G. FORAKER, POLINÉSTOR AGUILAR y SAM W. DENHAM

Investigaciones recientes han puesto en evidencia la relación de las enzimas al almacenamiento y la puesta en libertad de la energía para los procesos vitales (6). La hipótesis de trabajo emitida es la siguiente: las hormonas producen su acción porque regulan la acción enzimática, sintetizando las enzimas, o son por sí mismas, enzimas o coenzimas.

Entre los grupos de enzimas íntimamente asociadas con el desarrollo y función celulares en el ovario están las dehidrogenasas. Meyed y McShan encuentran un alto nivel de actividad de la dehidrogenasa succínica en el cuerpo lúteo de los ovarios de ratas durante la preñez. Creen que esta alta actividad enzimática está relacionada con la función y desarrollo del cuerpo lúteo.

El uso de las sales de Tetrazolium como indicadores de la actividad de la dehidrogenasa en las células vivas es una adquisición reciente de la histoquímica (13). El Neotetrazolium (NT) es reducido en el sitio de la actividad del proceso metabólico a un compuesto de formazán, que es insoluble y de color negro azul (1). Si al substrato para la reacción se le añade un exceso de succinato, gran parte del depósito de formazán se supone estar relacionado con la presencia de dehidrogenasa succínica en las células (9,10). Cuando los ovarios de conejas sometidas a la prueba de Friedman fueron sometidas a NT con succinato, la dis-

(*) Trabajo realizado en el Grady Memorial Hospital y en la Emory University School of Medicine de Atlanta Ga., U.S.A. y presentado por el Dr. Polinéstor Aguilar Celi en el homenaje al Prof. Dr. Pedro Weiss H. (Traducido del original en inglés. Leído en la Sociedad Histoquímica de Chicago el 5 de Abril de 1953 y publicado en *Obstetrics and Gynecology* Vol. 2 No. 4, Octubre 1953, pág. 407).

posición y grado del depósito de formazán correspondieron a las áreas de proliferación celular (3). La reacción fué particularmente marcada en el cuerpo amarillo. Las conejas a las cuales se les había irradiado los ovarios izquierdos con una dosis de 400r, la técnica histoquímica ayudó a revelar las áreas de daños producidos por la radiación (4). Padykula encontró dehidrogenasa succínica en los ovarios de ratas localizada principalmente en el cuerpo amarillo, más notable durante la gestación que en estados no grávidos.

La presente investigación fué hecha con el propósito de estudiar, por una técnica histoquímica, la localización de los sitios con actividad de la hidrogenasa en el ovario humano. En los ovarios de 27 mujeres la actividad de la dehidrogenasa puesta de manifiesto por el depósito de formazán, correspondió estrechamente a lo que convencionalmente se ha descrito como áreas de crecimiento y actividad celular.

MATERIAL Y MÉTODOS

El tejido ovárico fué obtenido de 27 pacientes cuyas edades oscilaban de 21 a 72 años, y teniendo un promedio de 42 años. Los ovarios de las pacientes más jóvenes fueron en la mayoría resecados por procesos inflamatorios tubo-ováricos. Los de las pacientes de mayor edad fueron principalmente resecados en casos de histerectomías totales, debidas a leiomiomas con hemorragia.

Los fragmentos de tejido ovárico fresco, de no más de 3 mm. de grosor, fueron inmediatamente colocados en frascos (3) conteniendo 9 ml de NT al 1% en solución 0.1M de fosfato en solución salina normal amortiguada a un ph de 7.4. A cada frasco se puso 1 ml. de succinato de sodio 0.3M. Los frascos con los fragmentos de ovarios fueron incubados a 37°C en un agitador durante una hora, fijándolos después en formol neutro. Los cortes fueron hechos en el micrótopo de congelación (15 u) y montados en goma arábica. Fragmentos del ovario, del mismo nivel de los obtenidos para el estudio histoquímico, fueron fijados en Zenker, incluidos en parafina y coloreados con Floxina-Hematoxilina.

RESULTADOS

Después de la incubación con NT todos los fragmentos adquirieron un color morado intenso. Al examen macroscópico de los

fragmentos fué notable la ausencia de esta reacción de color a nivel de los cuerpos albicans. En los cortes de congelación se encontró formazán en gránulos o cristales cortos de color negro o castaño oscuro.

En general el estroma ovárico mostró depósito escaso y difuso de gránulos de formazán. En la región hiliar los vasos estaban claramente delimitados por los depósitos de formazán. En el estroma marcadamente celular, como se ve en la hiperplasia cortical en ovarios de personas de edad avanzada, fué abundante el depósito de formazán. Las inclusiones glandulares corticales en tales áreas de hiperplasia revelaron intenso depósito de formazán.

No se encontró gránulos de formazán en el óvulo de los folículos primordiales. La capa de células epiteliales de esta estructura contenía escasa cantidad de pigmento. Las células de la granulosa de los folículos maduros mostraron regular grado de reacción. La capa granulosa del cuerpo amarillo en su inicio mostró marcado depósito de pigmento formazán. Conforme el cuerpo amarillo alcanzaba su madurez, el depósito de formazán se volvió más intenso y prominente. No se encontró depósito de pigmento en el cuerpo albicans.

DISCUSIÓN

Los sitios de localización de la actividad de la dehidrogenasa establecidos en este estudio son en parte, probablemente, relacionados a los sitios de producción de hormonas en el ovario. Meyer y McShan, creen, por sus estudios realizados en ovarios de ratas preñadas, que la gran actividad de la dehidrogenasa succínica a través de la preñez fué principalmente debida al cuerpo amarillo. Esto es de interés desde que, en nuestro estudio histológico, la máxima actividad de dehidrogenasa succínica se estableció en el cuerpo amarillo. Meyer y McShan creen que la gran cantidad de enzimas (especialmente la dehidrogenasa succínica) en el cuerpo lúteo funcional está en relación con el desarrollo del cuerpo amarillo y la síntesis y secreción de los ketosteroides por las células luteínicas.

Con referencia a una función hormonal ovárica no muy bien establecida, los hallazgos de marcado depósito de formazán en las zonas de hiperplasia del estroma son de interés. Esas áreas

de hiperplasia cortical han sido descritas por Woll y colaboradores como uno de los cambios en las personas de edad avanzada. Este hallazgo hizo creer que tendría algún significado en la histogénesis de los tecomas del ovario, así como ser un fenómeno notable en los ovarios de mujeres con carcinoma endometrial.

Además de referirse a un sitio apropiado para la producción de hormona, es de interés considerar el patrón de reacción de las sales de Neotetrazolium en el ovario con un proceso que en general se refiere al crecimiento. La capacidad de las semillas de plantas a reaccionar con las sales de NT ha sido usado como un índice de su viabilidad (5). Las sales de NT han mostrado reacción con el desarrollo del tejido vegetal (8). También han mostrado reacción con ciertos tumores de mamíferos (11) y humanos (2). En los ovarios de conejas (3 y 4) la localización de formazán en las células foliculares, cuerpo amarillo y otras estructuras correspondieron generalmente a los resultados obtenidos por nosotros en los ovarios humanos.

Los sitios de actividad de la dehidrogenasa en los ovarios humanos, como se demuestra en nuestro estudio, se corresponden generalmente con las regiones de desarrollo celular, o con lugares probables de función celular intrínseca, tales como la producción de hormonas.

SUMARIO

La localización de los sitios de actividad de la dehidrogenasa, en las diferentes estructuras del ovario humano, fueron estudiadas por la incubación de fragmentos de tejidos en Neotetrazolium con succinato. Los resultados mostraron:

- 1.—Moderada actividad de la dehidrogenasa en el estroma.
- 2.—Actividad de la dehidrogenasa en las células foliculares y tecaes del folículo en desarrollo, aumentando rápidamente con la luteinización.
- 3.—No se encontró evidencia de actividad de la dehidrogenasa en los cuerpos albicans.

Este modo de actividad de la dehidrogenasa tiene relación con los sitios supuestos de producción de hormonas en el ovario, así como con una prueba más general de proliferación celular.