

BD.T 4034

UNIVERSIDAD DE VALENCIA
FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS

**ESTUDIO MORFOLOGICO DE LAS CELULAS
INTERSTICIALES TRAS PRACTICAR VASECTOMIA EN LA
RATA ALBINA**

JOSE SANCHEZ FRUTOS

VALENCIA, 1991

R. 29.690

UMI Number: U607459

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



UMI U607459

Published by ProQuest LLC 2014. Copyright in the Dissertation held by the Author.
Microform Edition © ProQuest LLC.

All rights reserved. This work is protected against
unauthorized copying under Title 17, United States Code.



ProQuest LLC
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106-1346

BID. T 4034

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGIA

DEPARTAMENTO CIENCIAS MORFOLÓGICAS

Autor JOSÉ SANCHEZ FRUTOS

Título completo de la tesis

ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LAS CELULAS
INTERSTICIALES TRAS PRACTICA URJECTOMIA
EN LA RATA ALBINA

Calificación APTO CUM LAUDE POR UNANIMIDAD

Fecha de lectura 10 - Julio - 1991

Tribunal (Nombre y apellidos de los componentes)

ARSENIO REMUELL MARTINEZ

TERESA ANGULO CARRERE

ROSARIO ZURRIAGA LORENS

VICENTE ALMENAR GARRIN

LUIS APARICIO BELLVER

Director de la tesis

M^{ra} ANGELES SARTI MARTINEZ

Dirección particular y teléf. del autor.

AVDA. DE ARAGON N.º 3 - 17 46010 - ORIENTE

T/ 360-68-69

Mª ANGELES SARTI MARTINEZ , PROFESORA TITULAR DE ANATOMIA HUMANA DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MORFOLOGICAS DE LA UNIVERSIDAD DE VALENCIA.

CERTIFICO : Que la Tesis Doctoral que lleva por título " Estudio Morfológico de las Células Intersticiales tras practicar Vasectomía en la Rata Albina " es fruto del trabajo de investigación de D. José Sánchez Frutos, Licenciado en Medicina y Cirugía, habiéndose realizado en el Departamento de Ciencias Morfológicas y bajo mi dirección, estando plenamente de acuerdo con su presentación para que sea oportunamente juzgado.

Y para que conste, donde convenga surta los efectos oportunos, se extiende la presente certificación en Valencia a siete de Junio de mil novecientos noventa y uno.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mª Sarti', with several horizontal lines drawn across it.

Fdo.: Mª ANGELES SARTI MARTINEZ

*Esta Tesis ha sido realizada con la colaboración del
Centro de Investigaciones Biotecnológicas de la
Diputación Provincial de Valencia*



*A la memoria de
mi padre*

PREFACIO

Existe un principio que se resiste a toda información, que se resiste a toda argumentación, que nunca deja de mantener al hombre en una ignorancia perenne; ese principio es el de desestimar lo que no se ha investigado....

Herbert Spencer

TESTIMONIOS DE GRATITUD

Con placer y profundo sentido de gratitud deseo destacar la ayuda extraordinaria del Servicio de Microscopía Electrónica de la Universidad de Valencia (Burjassot) y al Centro de Investigación del Hospital General de Valencia, que tanto han contribuido a completar esta Tesis Doctoral.

No hay palabras que puedan expresar adecuadamente mi gratitud y lo que para mi significó la ayuda y lealtad tan amablemente brindadas. En primer lugar están aquellos a quienes más debo como a la Dra. D^a M^a Angeles Sarti Profesora Titular del Departamento de Ciencias Morfológicas por su inestimable dirección y ayuda ilimitada que he recibido siempre y en todo momento, quiero hacer extensivo éste agradecimiento a la persona del Dr. D. Luis Antonio Villaplana por su constante estímulo en mi trabajo.

A mis amigos y compañeros D. Juan Vicente Vilar y Dr. D. Luis Hoyas por el soporte moral y material que han contribuido a que se hiciera realidad una ilusión.

Al Dr. D. Miguel Angel Calvo y a D^a Remedios Rubio por su inestimable ayuda en la realización de ésta Tesis.

Quiero hacer una mención particular a D^a Hortensia García perteneciente al Departamento de Ciencias Morfológicas por el apoyo y aliento que me ha prestado a lo largo de todo el tiempo de realización de éste trabajo.

A quienes involuntariamente haya omitido presento mis disculpas.

S U M A R I O

1.- INTRODUCCION	1
1.1.- ANATOMIA DEL TESTICULO HUMANO	1
1.2.- FUNCION ENDOCRINA DEL TESTICULO	7
1.3.- ANATOMIA DEL TESTICULO DE LA RATA	8
1.4.- ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS	10
1.4.1.- Células Intersticiales del Testículo	10
1.4.2.- Historia de la Vasectomía	27
1.4.3.- Autores que no observan repercusiones sobre el Organismo	33
1.4.4.- Autores que observan repercusiones sobre el organismo	36
1.4.5.- Resumen de conocimientos actuales sobre la Vasectomía tras el estudio bibliográfico	53
1.5.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	55
2.- MATERIAL Y METODOS	56
2.1.- ANIMAL UTILIZADO	57
2.2.- TECNICA QUIRURGICA	58
2.3.- NECROPSIA Y OBTENCION DE PIEZAS	60
2.4.- TECNICAS HISTOLOGICAS PARA EL ESTUDIO A MICROCOPIA OPTICA	65
2.5.- METODOS DE TINCION A MICROSCOPIA OPTICA	70

2.6.- TECNICA FOTOGRAFICA PARA MICROSCOPIA OPTICA	78
2.7.- TECNICAS PARA EL ESTUDIO A MICROSCOPIA ELECTRONICA	78
2.8.- METODO ESTADISTICO	88
3.- CASUISTICA Y PROTOCOLOS	90
4.- RESULTADOS	105
4.1.- ESTUDIO DE LA CURVA PONDERAL	106
4.2.- ESTUDIO ANTROPOMETRICO DE LOS TESTICULOS	114
4.3.- ESTUDIO A MICROSCOPIA OPTICA DE LA ZONA CENTRAL DEL TESTICULO	141
4.4.- ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CELULAS DE LEYDIG	166
5.- DISCUSION	209
6.- CONCLUSIONES	216
7.- BIBLIOGRAFIA	219

INTRODUCCION

1.- INTRODUCCION

1.1.- ANATOMIA DEL TESTICULO HUMANO

1.1.1.- EMBRIOLOGIA

Los testículos se desarrollan a partir del mesotelio celómico de la pared abdominal posterior entre el mesonefros de cada lado y el mesenterio dorsal. Los túbulos del mesonefros se transforman en los conductos eferentes y la cabeza del epidídimo. El conducto mesonéfrico se transforma en el conducto deferente.

Los testículos están fijados por su polo inferior en una masa mesodérmica, el *gubernaculum*. Durante el desarrollo, los testículos descienden precedidos por el *gubernaculum* penetrando en el conducto inguinal.

Al nacer se sitúan en el escroto. El conducto peritoneo vaginal pasa al escroto junto con el testículo en descenso. Su suelo suele obliterarse al nacer, pero la parte distal persiste como la túnica vaginal del testículo.

Los dos testículos son órganos glandulares ovalados. Cada uno está suspendido en el escroto por el cordón espermático y mide unos cuatro centímetros de largo y dos y medio centímetros de diámetro.

Tiene un polo superior y otro inferior.

El epidídimo, con el conducto deferente sobre el lado medial, se adapta a su cara posterolateral. Las otras caras de la glándula y los lados del epidídimo están recubiertos por la capa visceral de un saco seroso cerrado, la *túnica vaginal* el extremo inferior del conducto peritoneo vaginal.

La túnica vaginal, los testículos, el epidídimo y el conducto deferente están rodeados por prolongaciones de las cubiertas del cordón espermático:

- La fascia espermática interna
- El músculo cremaster y la fascia cremastérica
- La fascia espermática externa
- La fascia superficial, que contiene el músculo liso dartos
- La piel escrotal

Los testículos están separados por el tabique escrotal mediano. Los vasos y nervios penetran en la glándula por el polo inferior por detrás.

El epidídimo es un tubo flexuoso de unos seis centímetros de longitud acoplado a la cara posterolateral del testículo. Consta de una Cabeza, un Cuerpo y una Cola. La cabeza está unida al polo superior del testículo mediante los conductos

eferentes del testículo. La luz del tubo se continúa con estos conductos eferentes por encima y el conducto deferente por debajo

1.1.2.- IRRIGACION SANGUINEA

La irrigación sanguínea corre a cargo de la arteria espermática rama de la aorta, y en menor grado de la arteria deferencial, una rama de una arteria vesical.

La sangre venosa drena por el plexo pampiniforme hacia las venas espermáticas derecha e izquierda. La derecha drena hacia la vena cava inferior y la izquierda hacia la vena renal izquierda.

1.1.3.- INERVACION

Las fibras simpáticas, que se originan en el décimo segmento dorsal, llegan a la glándula siguiendo a la arteria espermática. Las fibras aferentes penetran en la médula espinal por los nervios raquídeos, especialmente por los nervios genitocrural y abdominogenital menor.

1.1.4.- DRENAJE LINFATICO

Los vasos linfáticos llegan con las arterias hasta los ganglios paraaórticos de la región de las arterias renales.

1.1.5.- ESTRUCTURA MICROSCOPICA DEL TESTICULO

La cubierta superficial del testículo es una capa de células mesoteliales planas.

La estructura glandular interna está formada por los lobulillos del testículo, su número se calcula en el testículo humano, entre doscientos y trescientos. Estos lobulillos difieren de tamaño de acuerdo con su posición, siendo los del centro del testículo más grandes y más largos.

Cada lobulillo contiene a su vez de uno a tres o más túbulos seminíferos, están formados como un asa completa, cuyos dos extremos se abren a los túbulos seminíferos rectos que van a la red de Haller.

Están inmersos en un tejido conjuntivo laxo que contiene grupos dispersos de células intersticiales, que contienen gránulos de pigmento amarillo.

Los túbulos son de color pálido en la juventud, pero en los ancianos contienen mucha materia grasa, por lo que adquieren un tinte amarillo oscuro.

Cada túbulo está constituido por una membrana basal formada por tejido conjuntivo laminar, que contiene numerosas fibras elásticas, con células aplanadas entre las capas y recubierta externamente por una capa de células epiteloides aplanadas. Conforme se avanza en la edad la basal se hace más gruesa y densa.

Por dentro de la membrana basal está el epitelio del túbulo seminífero, que está constituido por dos elementos, uno *espermiogénico* y otro de *sosten*.

El primer grupo incluye, en el testículo activo, unas células ordenadas desde la espermatogonia y sus formas derivadas, espermocitos, y espermátides hasta su último producto, los espermatozoides maduros.

Entre las espermátides pueden haber también cuerpos residuales, estructuras esféricas, derivadas de las espermátides, de las cuales se han separado los cuerpos que contienen residuos membranosos y mitocondriales, así como numerosos ribosomas libres. Su papel exacto en la espermatogénesis no está clarificado todavía, pero parece ser están involucrados en la regulación de la espermatogénesis; sufren una autólisis y quizás una fagocitosis por las células de sostén a medida que los espermatozoides maduros son liberados.

Las espermatogonias son las células base de las que derivan todos los espermatozoides.

En el testículo completamente diferenciado están situadas a lo largo de la membrana basal de los tubos seminíferos.

Los tipos básicos de espermatogonias son : *tipo oscuro A*, *tipo pálido A* y *tipo B* el tipo oscuro A se divide para mantener la reserva básica de espermatogonias, dando origen a algunas células pálidas tipo A, las cuales a su vez se dividen y diferencian en espermatogonias tipo B, las inmediatas precursoras de los espermocitos.

Los *espermocitos primarios*, se dividen para formar los *espermocitos secundarios*, a su vez los espermocitos secundarios sufren la segunda división meiótica para formar las *espermátides* que maduran gradualmente y se convierten en espermatozoides a través de una serie de modificaciones nucleares y citoplasmáticas.

Las células de sosten o soporte (Células de SERTOLI), son células algo polimórficas, situadas en la membrana limitante de los túbulos, ocupándola casi toda, con exclusión de alguna espermatogonia ocasional. En cortes tangenciales son célu-

las poligonales; en cortes transversales son casi irregulares, pero aproximadamente cilíndricas. Sus perfiles apicales son más complicados por presentar recesos en los que las espermátides y espermatozoides se acomodan hasta que estos últimos están lo suficientemente maduros para liberarse; también se extienden prolongaciones citoplásmicas entre las espermatogonias y espermatocitos.

El núcleo es irregular a veces dentado, contiene uno o dos nucléolos.

El citoplasma contiene abundantes organelas, particularmente mitocondrias, retículo endoplásmico, gránulos de secreción, complejos de Golgi, ribosomas, microfilamentos y microtúbulos.

Estas células ejercen una influencia metabólica en relación con los elementos germinales, se consideran como fagocitos, y quizás tengan una función endocrina ya que sufren cambios considerables durante el ciclo, espermático y están influidas por las hormonas hipofisarias LH y FSH, jugando también cierto papel en el mecanismo de la barrera testículo - hemática.

1.1.6.- CICLO ESPERMÁTICO

Estadio . I : caracterizado por la presencia de dos generaciones de espermátides, unas recién formadas con núcleos esféricos y otras más antiguas con núcleos alargados, estas últimas células están profundamente invaginadas en grupos en el citoplasma de las células de sosten.

Estadio . II : contiene dos estadios de maduración de espermátides, pero están más avanzados y las espermátides más antiguas están próximas a su modificación final en espermatozoos y de aquí la presencia de cuerpos residuales.

Estadio . III : las espermátide más antiguas han alcanzado el final de la espermatogénesis y se han convertido en espermatozoides(espermiogénesis).

Estadio. IV : los núcleos de las espermátides comienzan a alargarse, pero son de forma irregular.

Estadio. V : grupos de espermátides con núcleos alargados se despliegan orientándose en sentido centrífugo hacia la periferia del túbulo.

Estadio. VI : son visibles grupos de espermátides en maduración entre los espermatocitos primarios sometidos a la división en espermatocitos secundarios.

1.1.7.- TEJIDO INTERSTICIAL

El componente endocrino del testículo, las células de Leydig, se localizan en los espacios angulosos situados entre los tortuosos túbulos seminíferos.

En el ser humano, el tejido intersticial extravascular es un tejido conjuntivo laxo excepcionalmente rico en líquido extracelular.

Además de pequeños grupos de células de Leydig, hay unos pocos fibroblastos, macrófagos, ocasionales célula cebadas y algunas células, relativamente indiferenciadas, de origen mesenquimatoso, que son capaces de desarrollarse a células de Leydig en respuesta a un estímulo gonadotrópico.

Las células intersticiales de Leydig aparecen en grupos de tamaño variable, a veces estrechamente unidas a los vasos sanguíneos.

Son de forma poliédrica irregular, de 14 a 20 milimicras de diámetro, cuando están apretadas unas con otras, pero en la periferia de los grupos o cuando aparecen separadas pueden ser alargadas o fusiformes.

El gran Núcleo esférico contiene una pequeña cantidad de heterocromatina dispuesta periféricamente y uno o dos nucléolos llamativos. Son frecuentes las células binucleadas. Junto al núcleo, hay un área grande y clara que en la micrografías electrónicas aparece ocupada por un aparato de Golgi bien desarrollado. Aunque el complejo de Golgi es grande y responde agrandándose a la estimulación gonadotrópica, no es conocido el papel de éste orgánulo en los procesos biosintéticos de éste tipo celular.

La Mitocondrias son abundantes y muy variables de forma y tamaño.

El Citoplasma es acidófilo en las preparaciones ordinarias y puede contener varias vacuolas, de las que han sido extraídas las gotas de lípido.

El rasgo más llamativo ultraestructural de las células es su retículo endoplásmico liso tan extenso. También hay perfiles cisternales de retículo rugoso, pero la masa del citoplasma está ocupada por un sistema ramificado y anastomosado de túbulos de superficie lisa. Estas membranas contienen las enzimas necesarias para varios pasos de biosíntesis de los esteroides androgénicos. Se encuentran abundantes peroxisomas y lisosomas, pero su función en la economía de éstas células no está explicada.

Hay en las células de Leydig depósitos de pigmento lipocrómico pardo dorado en individuos de todas las edades, pero se hacen cada vez más abundantes a medida que avanza la edad.

1.2.- FUNCION ENDOCRINA DEL TESTICULO

La función endocrina del testículo reside fundamentalmente en las células intersticiales de Leydig. Estas sintetizan y liberan la hormona sexual masculina Testosterona, que es necesaria en una concentración local alta para mantener la espermatogénesis de los túbulos seminíferos.

Además la testosterona que circula en la sangre es esencial para mantener la función de las glándulas accesorias del aparato reproductor masculino: las vesículas seminales, la próstata y las glándulas bulbouretrales. La testosterona es también responsable del desarrollo y mantenimiento de los rasgos sexuales secundarios masculinos: la distribución masculina del vello púbico, el crecimiento de la barba, la voz de tono grave y la arquitectura muscular del cuerpo.

La producción de testosterona depende en primer lugar de la Hormona Luteinizante Hipofisaria (LH).

La acción de la LH sobre las células de Leydig exige la fijación a receptores específicos de la membrana plasmática de éstas. Con ello, se induce la formación de AMP cíclico y la activación de las protein-quinasas.

La colesterol-esterasa produce colesterol libre a partir de los ésteres de colesterol contenidos en las gotitas lipídicas de las células de Leydig. Las enzimas mitocondriales escinden la cadena lateral del colesterol para formar pregnenolona y ciertas enzimas del retículo endoplásmico liso llevan a cabo una serie de pasos biosintéticos para transformar esta molécula en testosterona.

En la rata, en la que constituyen sólo el 1 % del volumen testicular las células de Leydig, se calcula que hay 22 millones de células de Leydig por gramo de testículo. Su retículo endoplásmico liso, que contiene las enzimas esteroideogénicas tiene una área calculada de 10.500 milimicras cuadradas y las mitocondrias alcanzan la cifra de 600 por célula.

De éstos datos morfométricos, se deduce que una célula de Leydig ordinaria puede producir unas 10.000 moléculas de testosterona por segundo. Se piensa que la testosterona se produce a medida que se necesita, pues no se almacena en gránulos de secreción para su liberación.

Se sabe que la liberación de la LH por parte de las gonadotropas hipofisarias es un proceso discontinuo, que ocurre fundamentalmente durante la noche, de forma pulsátil, a intervalos de unos 90 minutos. Además, otras hormonas distintas de la LH parecen tener influencia sobre la producción de testosterona. La prolactina se liga a receptores específicos de las células de Leydig con lo que se reduce el número de receptores de éstas para la LH y perturba su capacidad para almacenar ésteres de colesterol, precursores de la testosterona. La hormona liberadora de la LH (LHRH) no sólo afecta a las gonadotropas de la hipófisis, sino que también parece actuar directamente sobre las células de Leydig, modificando sus receptores para la LH y sus capacidad esteroidogénica.

Parece que las células de Sertoli producen un péptido semejante a la LHRH, que inhibe a las células de Leydig. Una lesión local de los túbulos seminíferos parece suprimir esta inhibición y da por resultado una hipertrofia de las células de Leydig vecinas.

13.- ANATOMIA DEL TESTICULO DE LA RATA

El testículo de la rata es un órgano ovalado, de un tamaño entre 18 - 22 milímetros de longitud, de 13 - 16 milímetros de diámetro y un peso 1'5 y 2'5 gramos, situado en la bolsa escrotal, envuelto en la serosa vaginal y con un conducto peritoneo vaginal permeable, que le permite al órgano ascender gracias a la contracción del cremaster, que se une distalmente al polo caudal del testículo.

Su aporte vascular difiere poco del humano, aunque la disposición septada y lobulillar de éste contrasta con el de la rata, cuya pulpa testicular no está compartimentada y, así mismo, la distribución vascular presenta notables diferencias.

El epidídimo tiene una cabeza adherida, entre una masa grasa, al polo cefálico del testículo, un segmento adelgazado que surca la pared del testículo íntimamente unido a ella y una cola engrosada adherida al polo caudal del testículo, de la que parte, mediante una aguda curvatura, el "Conducto Deferente".

Un corte histológico, nos muestra, los túbulos seminíferos seccionados a través, rodeados de una lámina basal y con la luz rellena de espermatozoides. Entre los túbulos encontramos pequeños acúmulos de células rodeadas de vasos, que constituyen el tejido intersticial de Leydig.

ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

1. 4. - ANTECEDENTES BIBLIOGRAFICOS

1. 4. 1. - CELULAS INTERSTICIALES DEL TESTICULO

A finales del siglo XIX y principios del XX, FRANZ VON LEYDIG (116), en su libro " **Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane und Anldrüsen der Säugetiere** " dice textualmente :

" En los estudios comparativos de los testículos aparecen células que rodean a los túbulos seminíferos, vasos y nervios. Estas células especiales son poco numerosas en el trayecto de los vasos sanguíneos, pero aumentan considerablemente en masa cuando están rodeando a los túbulos seminíferos. Son de carácter lipoi-deo , pueden ser incoloras o marcadas con colorantes amarillos y presentan un núcleo vesicular claro. "

Desde los primeros trabajos realizados a finales del siglo XIX hasta nuestros días, la investigación sobre estas células no ha cesado. Entre los estudios morfológicos y de acuerdo con los objetivos de nuestra experiencia, citamos como más relevantes, las que a continuación se describen.

BOUIN P. : ANCEL P. (1903) (23) y DUESBERG J. (1918) (52). Llevaron a cabo trabajos de experimentación sobre diversos animales.

En 1963 LEESON R. C. (112) estudia la ultraestructura de las células intersticiales de la rata adulta.

Las células de Leydig, son de morfología poligonal, varían de densidad electrónica, apareciendo unas claras y otras oscuras.

La estructura más prominente es el Retículo Endoplásmico Liso, el cual ocupa la mayor parte del citoplasma, consiste en ramas de superficie tubular anastomosadas entre sí.

El complejo de Golgi ocupa el espacio yuxtannuclear y está compuesto por un número variable de elementos de Golgi, 3 - 5 sacos con pequeñas vesículas.

Las mitocondrias son numerosas y contienen pequeños gránulos.

En el citoplasma también hay depósitos de pigmentos lipídicos y cuerpos esféricos u ovoides.

CRABO B. (1963) (34), hizo una descripción de las distintas poblaciones celulares intersticiales en el conejo :

- Células Intersticiales Claras: son las más frecuentes, largas, claras, poligonales, de núcleo claro y la mayoría de las veces redondeado, el citoplasma está atestado de pequeñas interconexiones, ribosomas libres son comunes en el citoplasma, comunmente dispuestos en forma de rosetas. Las mitocondrias son largas y abundantes. El aparato de Golgi se observa cerca del núcleo, pero algunas veces se encuentra en el medio del citoplasma lejos del núcleo. Los glóbulos lipídicos están presentes siempre en las células intersticiales claras, en ocasiones se disponen en grupos de superficie lisa o rugosa.

Rodeando al aparato de Golgi, se encuentran cuerpos densos de matriz densa y granular, rodeados por una simple membrana.

- Células Intersticiales Oscuras : el citoplasma es muy osmófilo, el contorno de estas células es muy irregular, con proyecciones reminiscentes de microvillis, con muchas y pequeñas vesículas que comunican con el espacio intercelular. El núcleo se muestra arrugado, plegado comparado con los núcleos de las células intersticiales claras.

El fino calibre de los componentes del Retículo Endoplásmico, ocupan una larga área mayor que en las células claras, en ocasiones ocupan la mayor parte del citoplasma.

La apariencia oscura de estas células, depende de la abundancia de estas membranas, siendo también el suelo del citoplasma oscuro y granular.

Estas células que han sido clasificadas como oscuras, no muestran una imagen uniforme, algunas de ellas se asemejan a células claras, en ultraestructura, mientras que otras muestran señales de degeneración.

El espacio perinuclear es dilatado y las vesículas o cisternas del Retículo Endoplásmico están agrandadas y vacías.

Las mitocondrias están hinchadas y a menudo contienen membranas oscuras, con inclusiones osmófilas. Tienen un diámetro que oscila entre 0'3 y 0'6 - 0'9 micras.

- Células Mesenquimales Indiferentes : Son células elongadas finas, con poco citoplasma. El núcleo es largo y similar al de los fibroblastos. El retículo endoplásmico está representado por una pequeña cantidad de vesículas granulares. Cerca del núcleo hay un pequeño aparato de Golgi, las pocas mitocondrias que existen tienen un tamaño de 0'1 - 0'2 micras.

La transición entre las células inmaduras y las células intersticiales es gradual. El tamaño de las mitocondrias parece ser una buena medida para el estadiage evolutivo de las células.

- Células Pigmentadas : algunas veces se observan células de tamaño y forma similar a los fibroblastos o células indiferentes mesenquimales.

Las mitocondrias son del mismo tamaño y estructura a las vistas en las células intersticiales inmaduras.

El retículo endoplásmico, muestra una estructura simple muy a menudo tubular, la mayor diferencia entre estas células y las células intersticiales inmaduras es la aparición de inclusiones osmófilas, de estructura y formas variadas. Algunas veces se presentan figuras y otras consisten en grupos densos, conteniendo gránulos de gran osmofilia. Ocasionalmente se han observado las mitocondrias, en íntimo contacto con estas inclusiones.

AHMAD K. N. ; LENNOX B. ; MACK W. S. (1969) (1), estiman que el volumen normal de las células de Leydig en el hombre es de 0'5 a 1'5 milímetros por testículo.

En 1970 BELT W. D. ; CAVAZOS L. F. (16), estudian las células intersticiales del javalí, observando que el volumen del citoplasma que estaba ocupado excéntricamente por el núcleo, consiste en un paquete de retículo endoplásmico liso anastomosado.

Las mitocondrias eran abundantes, como un racimo en el centro del citosoma. Rodeándolas habían cuerpos densos, muchos de los cuales estaban limitados por una simple membrana. El interior de estos cuerpos exhibía una apariencia variable.

Entre las células contiguas se observaron uniones celulares del tipo mácula ocludens y algunos desmosomas, pero más raramente. Así mismo se observaron vesículas cerca y continuando con el plasmalema. especialmente con el aparato de Golgi.

KOTHARI L. y cols.. (1972) (102), observa que las células de Leydig constituyen aproximadamente el 15 % del volumen testicular del perro, siendo comparativo éste número en el hombre.

CONNELL C. J. : (1973) (30), estudia la ultraestructura del tejido intersticial del testículo de perro.

Aparecen células de Leydig cerca de los capilares y un grupo de ellas están rodeadas de extensiones citoplasmáticas "células límite".

Las células de Leydig están separadas por un espacio intercelular variable y unidas por lo que parecen uniones GAP.

La lámina basal de anchura variable envuelve a muchas células de Leydig.

Estas células contienen peroxidasa y fosfatasa positivas, largas inclusiones sudanófilas, abundantes microfilamentos y microtúbulos, retículo endoplásmico rugoso, con mitocondrias, núcleo y buen desarrollo de los nucléolos.

CONNELL C. J. ; CHRISTENSEN A. K. (1975) (31), tras estudiar el tejido intersticial del testículo de perro, encuentran grupos de células de Leydig cubiertas por una lámina basal y separadas por un espacio intercelular variable.

Las células de Leydig estaban unidas por uniones GAP y por desmosomas rudimentarios.

El retículo endoplásmico liso, está constituido por túbulos o cisternas simples, separadas por microfilamentos en las células menos desarrolladas.

En el testículo de perro aparecen otro tipo de células que tienen las características de las células de Leydig, estas células se localizan entre el límite del tejido de los túbulos seminíferos, entre las células musculares y el endotelio linfático, pueden representar un estadio de células de Leydig en diferenciación.

WING T. ; LIN H. (1977) (210) describe una estructura citoplasmática no usual, en su estudio ultraestructural de las células de Leydig en hamsters dorados adultos. Está compuesta de una matriz filamentosa, de opacidad electrónica moderada y estructuras laminares densas, localizadas en medio de la matriz.

Aparece generalmente en la proximidad del complejo de Golgi, y puede extenderse sobre la porción citoplasmática cercana. Está a menudo bien circunscrita por cisternas planas o túbulos del RE, mitocondrias o elementos del complejo de Golgi.

El tipo de estructura citoplasmática descrita no ha sido recogida posteriormente en las células de Leydig de otras especies animales.

En 1979 OHATA M. (154), realizó un estudio con microscopía electrónica de las células intersticiales del ratón, observando que el tejido intersticial contiene células de Leydig maduras e inmaduras, fibroblastos y macrófagos.

Las células de Leydig maduras presentan numerosas prolongaciones citoplasmáticas en las porciones dilatadas del espacio intercelular. Poseen abundante retículo endoplásmico liso en forma tubular y vesicular. El primero está compuesto de túbulos interconectados que pueden formar cisternas parcialmente fenestradas y planas en algunas áreas. El segundo está compuesto de vesículas de tamaños variables. Los túbulos probablemente se transforman en la forma vesicular, reflejando las distintas fases funcionales de las células de Leydig.

El retículo endoplásmico rugoso es escaso y sus cisternas pueden estar dilatadas.

Los polisomas están distribuidos en el RER y por todo el citoplasma entre las membranas del REL.

Las mitocondrias poseen crestas tubulares y ocasionalmente tienen gránulos parecidos a los ribosomas.

El aparato de Golgi es yuxtannuclear y contiene un diplosoma.

De igual forma se aprecia que el contenido lipídico varía de una célula a otra, esto sugiere, la existencia de distintas intensidades de vacuolas, probablemente derivadas del REL, que contienen testosterona, situadas muy cerca de la membrana plasmática, indicando la liberación del contenido al exterior.

MORI H ; CHRISTENSEN A. K. (1980) (135) ; MORI H y cols.. (1982) (136), realizaron un análisis morfométrico de las células de Leydig de ratones adultos machos normales, concluyen que el tejido intersticial ocupa el 10'7 % del volumen total y existen 24'9 millones de estas células por centímetro cúbico de tejido.

Estas células presentan numerosas gotas de lípidos, con un promedio de 147 por célula, ocupando un 5'1 % del volumen total celular.

CRUZ-HOFLING ; ALICE M. ; DA CRUZ-LANDIM C. (1984) (35), realizan un estudio ultraestructural de las células de Leydig y de Sertoli en los testículos de *Tiportheus elongatus* y en *Mylossoma aureum*.

Las células de Leydig son grandes agrupadas en racimos, en el área intertubular, asociados a los capilares sanguíneos.

Son de forma poligonal, abundante citoplasma, núcleo grande y claro, gránulos PAS positivos.

A microscopía electrónica el retículo endoplásmico liso, era abundante, mitocondrias, Golgi pobremente desarrollado, el citoplasma contenía lípidos, lisosomas libremente distribuidos y ribosomas.

SODERSTROM (1986) (190), estudian las diferencias entre las células de Leydig hiperplásicas y las células de Leydig normales.

Las células de Leydig hiperplásicas presentan menos retículo endoplásmico, menos pigmento lipofucsina y las membranas nucleares, con muescas o depresiones.

Se necesita el M. E. , para hacer el diagnóstico diferencial entre las células de Leydig normales, hiperplásicas y tumores.

NISTAL M. y cols. (1986) (150) obtuvieron muestras testiculares de biopsias y autopsias de periodos comprendidos desde el nacimiento a adultos en el hombre.

El examen ultraestructural revela cuatro tipos celulares:

- Tipo fetal de células de Leydig (desde el nacimiento hasta el año de edad), con núcleo redondo, retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares.

- Células de Leydig Infantiles (desde el nacimiento hasta ocho o diez años de edad), muestran núcleos multinucleados, moderadamente abundante el retículo endoplásmico liso, algunos depósitos de lípidos y mitocondrias con crestas paralelas.

- Células Prepuberales (desde seis años en adelante), con núcleo de contorno regular, abundante retículo endoplásmico liso, mitocondrias con crestas tubulares, algunos depósitos de lípidos y gránulos de lipofucsina.

- Células de Leydig Maduras (desde ocho a diez años en adelante).

Interesados por la información existente en la literatura sobre las células de Leydig, objeto de nuestro estudio, pensamos que era importante, no sólo el conocimiento morfológico descriptivo sino todo aquel conocimiento que pudiera orientarnos , sobre el comportamiento morfofuncional de las células de Leydig en la estructura unitaria del organismo humano . Conocimientos que nos son revelados mediante investigaciones en distintas especies de animales y bajo condiciones de experimentación y estudio diferentes, ya sean quirúrgicas, cambios estacionales o de maduración sexual, o bien tras la administración de distintas sustancias.

Con la finalidad de hacer llegar al lector del presente trabajo la información actualizada de las células intersticiales del testículo de manera dinámica y

concreta, agrupamos las experiencias recogidas en la revisión bibliográfica en varios apartados:

- A) Integración de la fisiología de las células de Leydig en el círculo endocrino
- B) Descripciones celulares en relación a la maduración sexual.
- C) Descripciones celulares en relación a los cambios estacionales.
- D) Aplicación de distintas técnicas experimentales sobre el testículo.

A) INTEGRACION DE LA FISILOGIA DE LAS CELULAS DE LEYDIG EN EL CIRCULO ENDOCRINO

En 1910 CUSHING H. W. y ASCHNER B. (37), ponen de manifiesto la relación existente entre la hipófisis y las gónadas, siendo en el año 1927 cuando ASCHEIM S. y ZONDEK B. (10), demuestran que en la hipófisis se segregan dos hormonas: Prolan A (Estimulante de Folículos Ováricos) y Prolan B (Efectos Luteinizantes), que serán definidas con posterioridad por FEVOLD H. y cols. en 1931(56), como FSH (Hormona Folículo Estimulante) y LH (Hormona Luteinizante) respectivamente.

Continuando con ésta línea GREEP R. ; FEVOLD H. e HYSAN I. en 1936 (76), estudian el efecto de la FSH y LH, sobre el sistema reproductor de la rata macho viendo que son encargadas del desarrollo de los testículos y de los órganos sexuales accesorios.

Para completar estos estudios GREEP R. y FEVOLD H. en 1937(77) estudian la espermatogénesis y la función secretora de los testículos, tratando a los animales con FSH y LH, llegando a la conclusión al igual que años antes lo hicieron de que ambas hormonas gonadotrópicas actúan sinérgicamente y son necesarias para un total desarrollo del sistema reproductor.

MASSON G. (1945) (125), afirmó que la LH actúa sobre las células de Leydig, produciendo la secreción de testosterona, que a su vez actúa sobre la espermatogénesis, ejerciendo los efectos androgénicos fuera de la propia glándula.

En 1958 DEANE H. (48), nos habla de la función y del significado de los lípidos intracelulares, detectando la existencia de colesterol en las inclusiones lipídicas de las células de Leydig.

WILLIAMS R. G. (1959) (208) y MORI (1980 - 1982) (135 - 136), describieron la presencia de depósitos de lípidos en las células de Leydig.

MORRIS M. ; CHAIKOF I. (1959) (137), comparan el contenido de colesterol de las células adrenocorticales y de las células de Leydig de la rata, afirmando que la cápsula adrenal toma sistemáticamente todo el colesterol (más del 92 %) del plasma sanguíneo, mientras que el tejido intersticial sintetiza el 60 % del colesterol por sí mismo, para una posterior producción de andrógenos a partir de éste.

Será a partir de los años sesenta con el uso del microscopio electrónico, cuando se lleven a cabo los estudios más importantes de relación entre la ultraestructura y fisiología de los testículos.

En 1960 TONUTTI E. y cols. (199), dicen que los efectos de la testosterona durante la organogénesis, no inducen al sexo, ni a la aparición de testículos, siendo a partir de la duodécima semana de vida embrionaria, cuando la testosterona segregada por los testículos que han sido activados por la gonadotrofina placentaria, inducen a la formación y desarrollo de las vesículas seminales, conducto deferente, escroto y pene.

CHRISTENSEN A. y FAWCETT D. (1961 - 1966) (41 - 43), describen las células intersticiales de la Zarigüeya sana, así como las células de Leydig del ratón. Las células de Leydig al igual que otras células secretoras de esteroides tienen gran cantidad de retículo endoplásmico liso, el cual se relaciona con las gotas de lípidos y mitocondrias que se hallan esparcidas por todo el citoplasma, sugiriendo que es en esta conjunción de organelas donde se realiza la síntesis de andrógenos.

En 1965 CHRISTENSEN A. (42) y posteriormente MORI H. (1980) (135), identifican al retículo tubular como el lugar de síntesis de colesterol, sintetizándose los andrógenos en las mitocondrias de las células de Leydig.

FRANCHIMONT P. (1971) (63), afirma que la testosterona se sintetiza en las células de Leydig del testículo, con el estímulo de la LH, por el siguiente mecanismo; un RH (releasing Hormone), es sintetizado en el hipotálamo, la RH, emigra a través de las neuronas hipotalámicas hacia la hipófisis, estimulando en ésta la síntesis de LH.

La LH liberada a la circulación, llega al testículo donde al estimular las células de Leydig van a segregar Testosterona cuyo nivel en la sangre sirve como mecanismo de feed-back negativo, para la síntesis de LH-RH.

CHRISTENSEN A. (1975) (44), estudia la fisiología de las células de Leydig, viendo que aquellos animales que acumulan gotas de lípidos (Ácidos grasos y colesterol), sintetizan testosterona, mientras que los animales, en los que disminuyen las células de Leydig, se encuentra bloqueada tanto la síntesis de testosterona como de sus precursores.

MORI H. ; CHRISTENSEN A. (1980) (135), realizaron un estudio morfométrico de las células de Leydig en la rata normal, viendo que dichas células de Leydig eran el manantial de testosterona producida por el testículo.

El promedio de secreción de testosterona por las células de Leydig era de 0'44 picogramos de testosterona al día o de 10'600 moléculas de testosterona por segundo.

La biosíntesis de testosterona es catalizada por enzimas localizadas predominantemente en la membrana del Retículo endoplásmico liso y el citoplasma adyacente, en el interior de las membranas mitocondriales.

BILINSKA B. (1989) (22), estudia la relación existente entre las células de Sertoli y las células de Leydig, viendo in vitro, que las células de Sertoli, tienden a adoptar la misma disposición que lo hacen in vivo, es decir en forma de empalizada, hecho que es debido a la acción que sobre ellas ejercen los andrógenos sintetizados por las células de Leydig.

En los años cincuenta, los trabajos experimentales tienden a establecer las acciones hormonales sobre las gónadas y la identificación de las organelas que configuran las células de Leydig, así SIMPSON M. ; LI C. ; y EVANS H. (1951) (188) estudian en ratas macho y hembra el sinergismo entre la hormona FSH y la HCG (Hormona Gonadotropina Coriónica).

Para esto utilizan ratas machos hipofisectomizadas, a los cuarenta días de vida, a los cuales se les inyectaba HCG y FSH durante quince días, siendo sacrificados al día siguiente de la última dosis, llegando a la conclusión de que la FSH causa diferenciación de los túbulos seminíferos testiculares, con la consiguiente formación de espermatozoides.

Para que se produzca la estimulación de las células de Leydig, se necesita de 5 a 10 veces las dosis que estimula a los túbulos.

Con las inyecciones de HCG, no se consigue estimular a los túbulos seminíferos, ni a las células intersticiales.

WOODS M. y SIMPSON M. (1961) (211), realizaron un estudio en tres tipos de ratas machos adultos; en el primero les extirpan la hipófisis a los 40 días de edad, ese mismo día y durante 15 días, les inyectan LH intraperitoneal o subcutánea o ambas a la vez a dosis crecientes. Los resultados son los siguientes :

- Tras la inyección de LH, el peso de los testículos , la fisiología de los túbulos y de las células de Leydig se mantiene.
- Tras la inyección de FSH sólo se aprecian ligeros efectos en el peso testicular.
- Tras la inyección de LH y FSH combinadas, incrementan el tamaño testicular.

En el segundo grupo, después de hipofisectomizados les dejan 14 días sin tratamiento y consiguen la regresión testicular. A partir de entonces, les inyectan las hormonas gonadotrópicas solas o combinadas, siendo los resultados:

- La LH no actúa como gonadotrofina completa, ya que repara las células de Leydig, pero no los túbulos seminíferos.
- La FSH no produce efecto en la restauración
- La unión LH y FSH, produce diferenciación tubular, apareciendo en algunos casos esperma y aumento de los órganos accesorios.

El tercer grupo lo forman ratas controles, unas intactas y otras hipofisectomizadas e inyectadas con suero fisiológico.

En 1972 CONELL C. (29); y en 1975 AOKI A. y MASSA E. (8), estudian el efecto de la LH sobre las células de Leydig del pollo el primero y sobre la rata el segundo.

NAGAYAMA Y. (1977) (139) inyecta el factor liberador de la LH (LH-RH), por vía intravenosa a hombres sanos en intervalos sucesivos de una semana, con incremento en las cantidades de hormona inyectada y estudia los efectos sobre la LH y testosterona antes y después de las sucesivas estimulaciones.

La línea base semanal de niveles de LH del plasma descendió progresivamente durante siete días después de la administración de cantidades en aumento de LH-RH, la línea de base semanal de valores del incremento de testosterona aumentaba siguiendo el aumento de LH-RH.

Los valores de testosterona 24 horas después de la administración, permanecieron elevados en cada ocasión y los valores de LH decrecieron inversamente con los aumentos en los niveles de testosterona.

Estos datos sugieren que inyecciones únicas de LH-RH, han prolongado las acciones en el incremento de la testosterona.

La testosterona endógena puede inhibir las respuestas de la hipófisis a la LH-RH.

LEFEBVRE F. y cols. (1980) (113), estudian la presencia de receptores específicos de LH-RH en una población enriquecida de células de Leydig, sugiriendo que estos receptores podrían jugar un papel no sólo en los efectos antifertilidad de los antagonistas de la LH-RH, sino también en el control fisiológico de las funciones testiculares.

NANKIN H. y cols. (1980) (141) reconocen a la LH como el factor que estimula las células de Leydig para la producción de testosterona.

NANKIN H. y cols. (1980) (141 - 142), estudiaron las respuestas de las células de Leydig humanas por la mañana y por la tarde, comparando los patrones de respuesta de la 17- hidroxiprogesterona y la testosterona a la inyección intramuscular de HCG. La respuesta máxima se obtiene por la mañana, alcanzándose a las pocas horas de la estimulación con gonadotrofina y parece estar relacionada con la hora del día, esto sugiere una variación diurna de la respuesta de la célula de Leydig humana. La estimulación más intensa de los testículos probablemente

máxima de ambos esteroides se consiguen entre las 5 y 72 horas en los estudios realizados antes y después del mediodía, ya que cada uno muestra las mismas concentraciones circulantes.

SHARPE R. y FRASER H. (1980) (182), indican que el tratamiento diario de las ratas macho inmaduras (30 días de edad), durante 40 días con 50 nanogramos, de un antagonista de la LH-RH deterioraba el desarrollo normal de la función de la célula de Leydig, inhibiendo parcialmente o totalmente los incrementos madurativos; los niveles de testosterona sérica y la capacidad de respuesta esteroidogénica testicular in vitro. En contraste el tratamiento dos veces por semana en ratas adultas o inmaduras con 50 nanogramos del antagonista de la LH-RH, tenía sólo efectos secundarios sobre la función de las células de Leydig, aunque siempre reducía de forma significativa el anclaje de la HCG.

CUSAN L. y cols. (1982) (36), estudian la inhibición de la espermatogénesis y esteroidogénesis durante el tratamiento prolongado con HCG humana en la rata. Observaron una hipertrofia de las células de Leydig tras la administración de HCG durante una semana y por la pérdida casi completa de los sitios de unión de LH, así como una marcada estimulación de los niveles de esteroides testiculares, junto con incremento en el peso de los órganos reproductores mencionados excepto para la morfología testicular y el peso de los testículos, son completamente reversibles en el intervalo de la octava a la duodécima semana.

HUTANIEMI I. ; CLAYTON R. y CATT K. (1982) (91), analizan la ocupación de los receptores de la LH testicular y midieron las respuestas esteroidogénicas en ratas machos adultas, después de inyecciones intracardíacas con HCG marcada con yodo 125, mezcladas con cantidades conocidas de HCG no radiactivas. Los niveles de testosterona sérica y testicular llegan al máximo a la hora de la inyección, independientemente de la dosis de HCG usada.

La ocupación del receptor in vitro después de la inyección de HCG, elevó significativamente (tres veces) la testosterona sérica.

HUNTER M. y cols. (1982) (90), observaron que las células de Leydig purificadas de ratas cultivadas en presencia de LH-RH, después de un periodo inicial (dos horas), produjo una marcada estimulación de la producción de testosterona durante 32 horas. La respuesta a la LH, sólo aumentó con un tiempo de cul-

tivo superior a las 10 horas, la LH-RH incrementó la estimulación de la producción de testosterona.

KEEL B. y ABNEY T. (1982) (99), investigan los efectos de la administración de estradiol in vivo, sobre la producción de testosterona, en dos poblaciones I y II de células de Leydig de rata, siendo aparentemente ambas sensibles a los efectos inhibitorios directos de los estrógenos en la producción de testosterona.

No existe diferencia funcional entre las dos poblaciones de células de Leydig, con respecto a la acción de los estrógenos.

LEON M. D. y cols. (1990) (115) afirman que la inyección intravenosa de HCG en las ratas jóvenes, tiene un efecto trófico sobre los precursores mesenquimales, promoviendo su diferenciación, es decir induciendo un cambio en la composición del intersticio, hacia la maduración celular. Siendo la respuesta en ancianos a la administración de HCG, mucho menor que en los individuos jóvenes. NANKIN H. y cols. (1980) (142).

B) DESCRIPCIONES CELULARES EN RELACION A LA MADURACION SEXUAL

CHRISTENSEN A. (1959) (40), dice que las células intersticiales, en la pubertad pierden los lípidos y las mitocondrias disminuyen de tamaño.

AXELROD L. (1965) (11), al estudiar los testículos humanos, afirma que en el nacimiento, las células de Leydig entran en un reposo hasta poco antes de la pubertad, teniendo un tiempo de acción máxima, para empezar a declinar en el envejecimiento, siendo posible que la menor síntesis de testosterona en éste tiempo fuera debida a un fallo de los enzimas necesarios para la síntesis hormonal.

Para WING T. ; LIN H. (1977) (210) las células de Leydig del hamster dorado adulto, en actividad reproductiva, contienen abundante REL y numerosas mitocondrias.

El retículo aparecía en la forma tubular y lisa, las cisternas son extremadamente extensas, siendo una parte granular y una parte agranular, las cuales continúan con el retículo tubular.

Las mitocondrias que intervienen entre las cisternas, están estrechamente asociadas con la porción granular de éstas últimas.

Junto al complejo de Golgi y continuándose con el centrosoma se suele observar un único cuerpo de filamentos con núcleo denso laminar.

En los testículos regresivos las células de Leydig, muestran una reducción del volumen citoplasmático y un marcado declive de las organelas, especialmente de los túbulos granulares.

Fueron NISTAL M. (1986) (150) y ZIRKIN B. R. ; EWING L. L. (1987) (214), los que describieron que después del periodo neonatal aumentan las células de Leydig, así mismo NISTAL M. (1986) (150), dice que a menor edad menor número de células de Leydig y que el envejecimiento aumenta el número de células de Leydig multinucleadas, mientras que hay un descenso del volumen de las células de Leydig. HARBITZ T. B. (1973) (85) y KALER L. W. ; NEAVES W. B. (1978) (96).

C) DESCRIPCIONES CELULARES EN RELACION A LOS CAMBIOS ESTACIONALES

BELT W. y CAVAZOS L. (1970) (16), que ya en el año 1967 habían estudiado la ultraestructura de las células intersticiales del testículo de javalí, estudian en ésta ocasión la ultraestructura de las células intersticiales del testículo del mono ardilla (*Samiri Scireus*), durante el tiempo de no alimentación del año, cuando los testículos están azoospermicos. Las células de Leydig poseen las características de las células que sintetizan y segregan hormonas esteroideas: un REL abundante, en la forma de túbulos anastomóticos, mitocondrias con crestas laminares y tubulares, muy poco RER, un aparato de Golgi, vesículas asociadas, gotas lipídicas y cuerpos densos.

Encuentran unas inclusiones en forma de panal de miel no descritas anteriormente, localizadas cerca de la periferia celular o en las protusiones del citoplasma.

REITER R. (1973 - 1975) (171 - 172), estudia el control de la glándula pineal sobre el ritmo reproductivo estacional en hamsters dorados machos expuestos a la luz solar y temperatura normal. Observa que cuando los hamsters dorados adultos intactos son expuestos a las condiciones anteriormente mencionadas, du-

rante los meses de invierno, sus órganos reproductivos degeneran y los niveles de LH descienden significativamente.

Sin embargo los hamsters pinealectomizados y mantenidos bajo condiciones idénticas, no experimentan el descenso invernal en la actividad reproductiva. Conforme se acercaba la primavera las gónadas de los hamsters intactos regeneran hasta su estado maduro funcional.

Si los hamsters con glándulas pineales están en oscuridad continúa hasta el mes de mayo (después de haber experimentado la atrofia reproductiva en el invierno), sus sistemas reproductivos no regeneran.

Estos resultados indican que el eje neuroendocrino gonadal puede normalmente ser refractario a los productos secretores pineales, durante los meses de verano o la glándula pineal puede estar "cansada" fisiológicamente después de un periodo de actividad. Los hallazgos muestran que :

- El fotoperiodo normalmente controla el ritmo reproductivo estacional en estas especies
- Los efectos están mediatizados vía glándula pineal.

ANDERSEN K. (1978) (5), estudia la correlación entre las alteraciones ultraestructurales y el presente cambio en la actividad endocrina de las células de Leydig de 17 zorros azules, castrados en diferentes épocas del año.

Durante la estación reproductiva (marzo - abril), las células de Leydig, tienen núcleos grandes y claros y pocas gotas lipídicas, mitocondrias ovoides con crestas tubulares y REL bien desarrollado.

Durante la primera regresión, las mitocondrias se hacen grandes y pleomórficas y el REL se dispone en espiras concéntricas.

Cuando la actividad parece haber alcanzado niveles basales, los núcleos son pequeños y oscuros, aumenta el número de gotas lipídicas, las mitocondrias se hacen como bastones, con crestas laminares y decrecen las espiras del REL.

Durante el periodo de actividad los núcleos se agrandan, el RE muestra perfiles granulares y agranulares, las mitocondrias a veces oscuras y en forma de copa y el número de gotas lipídicas decrece gradualmente.

En 1980 NILSON G. (148), estudió el ciclo reproductivo de las víboras Europeas machos (*Vípera berus*) y su relación con los periodos de actividad anual, apreciando con respecto a las células de Leydig que su número es máximo durante los periodos de verano y apareamiento.

En éste mismo año 1980 SURINA M. (194), estudia los cambios morfológicos de los testículos de fetos humanos (periodo de embriogénesis desde la octava a la vigésimo octava semana), durante su diferenciación.

Se demuestra que el ciclo completo de transformación del tejido intersticial, se puede dividir en dos periodos principales:

- El primero se acompaña de un incremento gradual en la actividad y diferenciación en las células de Leydig (8 - 12 semana).
- El segundo periodo de involución gradual de las células de Leydig (15 - 28 semanas).

Concluye diciendo que en el curso del desarrollo prenatal de los testículos, de los fetos humanos, las células de Leydig atraviesan un número de etapas sucesivas, caracterizándose cada una por un determinado nivel de actividad funcional de estas células.

KALER L. y NEAVES W. (1981) (97), estudiaron la capacidad esteroi-dogénica del testículo de ratas viejas, viendo que aparentemente no declina con la edad, ya que ni el número ni la afinidad de unión de los receptores testiculares para la gonadotrofina coriónica cambiaron.

La conversión testicular del colesterol a pregnenolona, así como las gona-dotropinas permanecieron en la edad avanzada cerca de los niveles encontrados en ratas jóvenes adultas.

LACETA J. ; BARRUTIA M. y FERNANDEZ J. (1982) (110), realizan un estudio ultraestructural de las células de Leydig en el lagarto (*Lacerta muralis*), sacrificándolos en primavera, verano y otoño. Desde el otoño al final de primavera estas células presentaban gran cantidad de retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares. Estos hechos los relacionan con la síntesis y secreción de andrógenos.

Al final de la primavera y después del apareamiento decrece el REL y las mitocondrias presentan crestas laminares.

Estas modificaciones ultraestructurales son típicas de un periodo latente, en el cual, la secreción de andrógenos permanece inactiva.

En ambos periodos se discute la función del aparato de Golgi y los cuerpos densos a los electrones (Lisosomas).

SUN JIM HSING (1982) (192), analiza la ultraestructura de las células de Leydig de ratas apreciando un REL muy desarrollado en forma de túbulos ramifi-

cados, cisternas achatadas y vesículas de contenido lanoso. En algunas porciones de ésta organela se encuentran ribosomas adheridos a su membrana, existiendo continuidad entre los túbulos, las vesículas y las cisternas del mismo.

La morfología de estas células no parece variar con la época del año en que se captura el animal, aunque si existe una disminución de las organelas en invierno.

Las cisternas del REL, sólo se observan en invierno y pueden o no tener mitocondrias unidas a sus membranas, mientras que las vesículas y túbulos son más numerosos en los animales estudiados en primavera. El aparato de Golgi, está bien desarrollado, las mitocondrias tienen crestas tubulares y laminares, variando su número y tamaño. Así mismo también se observan uniones GAP y filamentos citoplasmáticos.

D) TECNICAS EXPERIMENTALES SOBRE TESTICULOS

NISTAL M. ; PANIAGUA R. y ABURREA M. (1981) (149), estudian la histología de 23 biopsias testiculares de hombres adultos con criptorquidias, revelando la presencia de células de Leydig multivacuoladas en doce casos. Estas células muestran abundantes inclusiones lipídicas, escasos lisosomas secundarios y granos de lipofucsina.

Esta alteración de la célula de Leydig está relacionada con el calor o con lesiones congénitas.

VILLAPLANA L. (1984) (206), tras la irradiación hipofisaria con luz coherente (Laser He-Ne), en la rata albina macho adulta, el estudio a microscopía óptica y electrónica de las células de Leydig de los animales experimentales revela

- Las células tipo I ; Tienen muestras de actividad inespecífica celular, en todas las series, manifestándose morfológicamente por numerosas mitocondrias, junto con algunas gotas lipídicas en el citoplasma. El núcleo de estas células presentan como dato constante una morfología irregular.

- Las células tipo II :Se hace patente la actividad específica de las células secretoras de esteroides con : gran cantidad de gotas lipídicas y vesículas de distinta densidad electrónica, gran desarrollo de las organelas específicas de estas células.

Las células de Leydig presentan manifestaciones celulares no típicamente hiperfuncionantes, sino de aceleración en la maduración celular y de la actividad no específica a la propia función secretora de estas células. Hechos acordes a la hiperactividad hipofisaria no selectiva tras la irradiación.

MARTIN Y. (1988) (122), tras la estimulación de la adenohipófisis, el estudio a microscopía óptica de las células intersticiales del testículo de rata, muestra unos espacios intersticiales de la zona central del testículo, donde se aprecian dos tipos de células, células que hemos denominado como Tipo I (Oscuras) y tipo II (Claras), presentan aspectos morfológicos distintos :

- Células tipo I (oscuras) : Son numerosas y de situación perivascular. Las de tipo II se presentan aisladas y más alejadas de los vasos que las de tipo I.

- Células tipo II (claras) : Presentan su carioteca perfectamente delimitada. En las tipo I, se identifica el núcleo claramente por su mayor densidad de tinción, con respecto al citoplasma, pero no tienen una membrana nuclear tan definida como las de tipo II.

KOSCO M. S. ; LOSETH K. J. ; CRABO B. G. (1989) (107) realizaron un estudio del tejido intersticial del javalí hemicastrado en época neonatal, la masa relativa del tejido intersticial era 151 % mayor en el grupo de animales hemicastrados, que en el grupo de animales sanos.

Las células de Leydig de los javalies de 10 días de edad aumentaban en su número cuando éstos eran castrados.

FURUYA TETSUO (1990) (64), tras realizar hemicastración en ratas estudia el tejido intersticial y las células de Leydig, observando que tan sólo las ratas castradas a los cuarenta días de edad mostraban una hipertrofia compensadora del tejido intersticial y de las células de Leydig.

Según la edad de las ratas no había diferencia en el número de células de Leydig entre las ratas hemicastradas y las sanas, siendo el volumen de las células de Leydig de las ratas hemicastradas el doble al de las ratas sanas.

La concentración en el plasma de testosterona, era superior a los cincuenta días de edad en los animales control que en los animales hemicastrados.

A los setenta días de edad, las ratas hemicastradas mostraban niveles de testosterona en el plasma superiores a los controles.

Entre los cincuenta y setenta días de edad se observó un incremento en la FSH, en las ratas hemicastradas, siendo los niveles de LH prácticamente similares.

De toda la revisión bibliográfica realizada hasta el momento se deduce, que la función endocrina del testículo reside en las células intersticiales de Leydig, por ser estas las células encargadas de sintetizar y liberar la hormona sexual masculina (Testosterona).

1. 4. 2- HISTORIA DE LA VASECTOMIA

La vasectomía, es la técnica quirúrgica mediante la cual se interrumpe la vía seminal en el varón, constituye un método anticonceptivo sencillo, eficaz y de fácil realización, por lo que es aceptado y adoptado por un gran número de personas como método contraceptivo en todo el mundo. Pero la vasectomía también se practica sistemáticamente en toda adenomectomía prostática con fines profilácticos frente a las infecciones orquiepididimarias secundarias y en los casos de epididimitis recurrentes por infección urinaria descendente.

COOPER A. (1830) (32), puso en marcha sus trabajos experimentales en perros, ligaba un vaso deferente y en el testículo contralateral ligaba la arteria.

Los testículos a los cuales les ligó la arteria se gangrenaban y caían.

Los perros fueron sacrificados seis años después, durante éste tiempo realizaron el coito dos veces, sin tener descendencia. El estudio postmortem mostró que los testículos vasectomizados tenían los epidídimos notablemente aumentados de tamaño, estando el extremo del deferente repleto de espermatozoides.

La oclusión de los conductos era completa y el final de los extremos del conducto deferente estaba separado.

Como conclusión se demuestra que al ocluir la luz de los conductos deferentes, se producen efectos en la porción germinal del testículo; la espermatogénesis continuó durante seis años y el epidídimo acomodó los productos de su actividad germinal.

GOSSELIN P. (1847) (72), disecó cadáveres observando algunos casos en los cuales el conducto deferente se encontraba totalmente obstruido, el epidídimo agrandado, conteniendo grandes cantidades de espermatozoides. Gosselin, realizó

el estudio de los efectos de la ligadura y resección del vaso deferente , usando para ello perros y observando una espermatogénesis normal a los cuatro o seis meses después de la operación.

BRISSAUD E. (1884) (24), trabajó en conejos y perros, observando que la oclusión de los conductos deferentes no influía en la espermatogénesis.

SIMMONDS J. (1921) (187), en autopsias humanas encontró la oclusión de los conductos deferentes , de años de antigüedad, sin ninguna injuria. Ninguno de los testículos degenerados perdió el epitelio germinal, los epidídimos estaban engrosados por un gran número de espermatozoides.

Los extensos estudios de las glándulas sexuales realizados por **BOUIN F.** y **ANCEL P.** (1903 - 1904) (23), fueron el factor decisivo de cambio de corriente, en cuanto a la opinión de los efectos de la oclusión de los vasos deferentes.

Para estos autores el cierre de la salida de los conductos deferentes por ligadura y resección, invariablemente producía una degeneración de los tejidos germinales de los testículos.

Trabajaron en conejos de Indias, perros, conejos jóvenes y adultos, observando que la ligadura de los conductos deferentes antes de la pubertad no interfería la diferenciación de las células germinales, pero después de éste, los túbulos seminíferos se convierten en túbulos similares a los encontrados en las criptorquídias naturales, formados por una simple línea columnar de células de Sertoli, no habiendo células germinales en formación.

SHATTOCH y SELIGMAN (1904) (183), realizaron vasectomías dobles y estudiaron los resultados transcurridos dieciocho meses desde la operación, el tamaño testicular era normal, la espermatogénesis continuaba, el epidídimo era más largo de lo normal, por retención de productos de la espermatogénesis, notaron que los testículos podían estar anormales siempre y cuando los vasos sanguíneos fueran ligados junto a los conductos deferentes.

KUNTS Z. (1921) (108) , después de realizar vasectomías unilaterales en perros, observó que treinta días después de la vasectomía, algunos testículos presentaban degeneración, encontrando de la misma manera degeneración en los testículos contralaterales, no vasectomizados, sugiriendo que el sistema nervioso influía en la etiología de la degeneración testicular.

El mayor auge en la concepción de la degeneración de los túbulos seminíferos tras la oclusión de los conductos deferentes, desde BOUIN y ANCEL, (23) fue notable con STEINACH E. (1910 - 1920) (191), culminando en sus trabajos de rejuvenecimiento.

En 1921 después de la ligadura de los vasos deferentes en ratas, muestran una degeneración del epitelio germinal acompañado de una hipertrofia de las células intersticiales, con el consiguiente aumento de producción de hormonas masculinas.

La ligadura de los vasos deferentes, produce degeneración del epitelio germinal, epitelio que después de transcurrido un tiempo se va a regenerar.

TIEDJE P. (1921) (197), siguió a STEINACH E. (191) en el postulado de la degeneración del epitelio germinal y su regeneración tiempo después de la vasectomía.

WHEELON C. H. (1921) (207), observó que nueve meses después de la oclusión de los vasos deferentes en perros, los testículos contenían todos los elementos del epitelio germinal. En su opinión no se degeneraban cada uno de los túbulos, o se producía una regeneración de los mismos.

SAND K. (1921) (178), estudió los efectos de la vasectomía en una serie de conejos, analizando los testículos a intervalo de treinta días a seis meses después de la operación, no encontraron la evidencia principal de que ocurriera la degeneración del epitelio germinal, seguida de una regeneración del mismo.

OSLUND R. (1924) (158), realizó un detallado estudio de los cambios en el tejido germinal de ratas y conejos de Indias, después de la vasectomía. Dividió el experimento en dos partes: en el primero no tuvo especial miramiento en la posición de los testículos, encontrando degeneración en algunos casos, continuando la espermatogénesis en otros. Durante uno de éstos experimentos notó que los testículos después de la vasectomía comenzaban a ocupar una posición intraabdominal, posición como resultado de una ascensión por la ruta abdominal.

En el segundo grupo controlaba la posición de los testículos, en algún caso uno de los testículos ascendió al abdomen, permaneciendo el otro en el escroto.

Los animales fueron sacrificados 2 - 3 semanas después, OSLUND R. (158) concluyó diciendo que la vasectomía no causaba degeneración y que la condición

observada que hacía que los testículos pasaran a abdomen eran criptorquídias artificiales.

GORDON G. (1953) (71) aportó muchos casos clínicos, en los cuales la precocidad sexual, estaba asociada con un tumor de las células intersticiales. También cito casos en los cuales asociaba la deficiencia testicular con la ausencia o escasez de células de Leydig.

Esta asociación de la hormona testicular con las células de Leydig, prestó soporte a las observaciones de STEINACH E. (191) (STEINACH denunció que la vasectomía por presión de los túbulos seminíferos conduciría a la degeneración del epitelio germinal, incrementándose la correspondencia entre el tejido intersticial y que la proliferación de éste tejido intersticial incrementaba las cifras de testosterona y el rejuvenecimiento del individuo).

WRIGHT S. (1952) (213) aportó que la función sexual estaba relacionada con la actividad del tejido intersticial.

En 1954 fueron los trabajos acerca de los cambios histológicos en los testículos de ratas postvasectomía, después de periodos variables de tiempo los que llevaron a la conclusión final de que la espermatogénesis era temporal e incompletamente baja.

Las células intersticiales mostraron una proliferación definitiva la cual, podría ser la causa de la reseña del mejoramiento sexual y físico en los casos clínicos. Se hicieron estudios de la excreción de los 17 cetosteroides en orina antes y después de la vasectomía.

A finales del siglo XIX, la vasectomía comienza a ser usada por cirujanos genitourinarios en unión o conexión con operaciones de próstata, OSCHNER A. J. (1899) (157) observó que sus pacientes no presentaban cambios después de la vasectomía.

SHARP H. C. (1937) (181) un fisiólogo en el penal de Jeffersonville, tuvo un paciente, hombre joven, el cual se lamentaba de su exceso de masturbación y el cual insistió en ser castrado. SHARP (181) aconsejó no sufrir dicha operación mutilante y le recomendó la vasectomía. Seis meses después el paciente relató que había parado la masturbación y que presentaba poco deseo de hacerlo. Esto

encaminó a SHARP (181) a realizar trabajos en ésta línea. En diez años realizó 456 operaciones, no teniendo ningún caso desfavorable.

MORSON C. (1933) (138) describió las complicaciones que seguían a la vasectomía, concluyendo que no habían efectos malos en la división del conducto deferente y que los resultados adversos obtenidos eran debidos a una falta en la técnica quirúrgica.

MATHEW K. V. (1947) (126), realizó vasectomía en 106 casos para rejuvenecimiento, entre 1931 y 1946, publicando las fotografías y comentando los prodigios de dicha operación.

PHADKE L. (1953) (165) comentó favorable la vasectomía como método de esterilización masculina.

KENNETH W. (1953) (100), argumentó que la vasectomía no tenía efectos adversos físicos o mentales para el bienestar de los pacientes.

Durante un periodo de treinta años no se apreciaron efectos adversos. En 1958 realizó un trabajo de seguimiento a intervalo variables, observando que las complicaciones ocurrían por causa de una técnica errónea.

CAMERON (1945) (26) en un accidente sufrido durante una intervención de hernia, llevó al primer intento de anastomosar el vaso deferente seccionado.

TWYMAN E. J. y NELSON C. S. (1941) (201) aportó un caso en el que la anastomosis de los vasos fue realizada diez años después de la vasectomía, con completa recuperación de la función quedando la mujer del paciente embarazada a los seis meses de la operación de reanastomosis.

PADHKE L. (1958) (166), dice que la función queda restaurada juntando los extremos de los vasos deferentes seccionados.

O'CONOR V. J. (1948) (153) describe la técnica de anastomosis en detalle.

DORSEY J. W. (1957) (51) comenta como favorable la cirugía correctora de la vasectomía.

La acción natural y recanalización del tubo deferente en humanos y animales han sido estudiados por EVRIDGE-VERNON (1956) (53) en 1958, éstos autores observaron que en algunos casos se producía de modo natural la recanalización del deferente, previamente seccionado .

La recanalización natural podría evitarse usando diferentes materiales quirúrgicos.

Tras este breve desarrollo histórico y estudiada la bibliografía mundial sobre el tema, podemos indicar que desde 1830 hasta ahora los trabajos experimentales sobre el epitelio germinal y los cambios en el tejido intersticial postvasectomía, son contradictorios e inacabados, encontrando autores que tras practicar ésta técnica quirúrgica, cuya orientación clínica es mayoritariamente un método anti-conceptivo masculino, no observan repercusiones en el organismo en contraposición con otros, que describen alteraciones orgánicas y a nivel testicular.

Para mejor comprensión del tema que nos ocupa separamos los trabajos de experimentación en dos bloques; el primero englobaría a aquellos que no observan repercusiones en el organismo tras la vasectomía y en el segundo aquellos autores que describen repercusiones orgánicas y/o locales.

1. 4. 3. - AUTORES QUE NO OBSERVAN REPERCUSIONES SOBRE EL ORGANISMO

GOSSELIN (1853) (73) realizó el estudio de los efectos de la ligadura y re-sección del vaso deferente en perros y observó una normal espermatogénesis a cuatro y seis meses después de la operación.

GRIFFITH (1894) (79) y BRISSAUD E. (1920) (25) trabajando en conejos y perros observaron que la obstrucción del conducto deferente no influía en la espermatogénesis.

JHAVER P. S. ; OHRI B. B. (1960) (93); GRAM I. T. ; MOLNE K. . (1986) (74); MAYOR J. y cols.. (1987) (127) y GREENBERG M. J. (1989) (75), realizaron estudios de vasectomías en humanos y ratas, observando que la vasectomía no tenía ningún efecto físico, mental ni sexual. No hallaron cambios hor-

monales en el plasma, considerando la vasectomía como un método aceptable de control del nacimiento, al ser un método inofensivo de esterilización masculina.

El fracaso de la técnica, puede ser debido a una mala identificación de los vasos, a la recanalización o a la presencia de vasos accesorios.

SMITH G. (1962) (189) estudió los efectos de la ligadura de los vasos eferentes y vasectomía en ratas adultas, las cuales fueron sacrificadas a intervalos comprendidos entre 3 horas y 90 días tras la vasectomía.

Los tejidos fueron sometidos a un tratamiento estándar para microscopía óptica y teñidas con PAS y otras técnicas para la identificación de los estadios del ciclo seminífero.

La vasectomía no afecta al proceso de la espermatogénesis, la operación se siguió por un aumento temporal el peso del epidídimo y por la formación de espermatoceles en la parte más próxima del conducto deferente.

FLICKINGER C. J. (1972) (59), estudió a nueve meses postvasectomía, la ultraestructura del testículo de la rata, permaneciendo normal .

VARE A. M. (1973) (204), después de realizar vasectomías en perros no observa cambios en las células de Leydig.

PLAUT S. M. (1973) (168), después de realizar vasectomías en las ratas adultas no aprecia reducciones en el tamaño testicular.

Se piensa que la mínima atrofia observada en el lado izquierdo es debida a las diferencias sistémicas izquierda derecha en los animales.

En 1974 DERRICA F. C. y cols. (49) , estudian perros vasectomizados a las dos o tres semanas de la intervención, observando que la espermatogénesis permanece normal, sin cambios relativos, encontrando espermatozoides acumulados en los túbulos.

Entre tres y seis semanas se observa una destrucción progresiva de la espermatogénesis, con pocos espermatozoides y disminución de las espermátides.

Entre las seis y doce semanas, aparecen figuras meióticas y reaparición de espermatoцитos, pero sin observarse espermatozoides en la luz tubular. Será entre cien y trescientos días, cuando se aprecia un retorno de la espermatogénesis denotado por la presencia de formas maduras dentro de los túbulos.

Estudios realizados sobre los efectos de la vasectomía en los niveles hormonales y la función accesoria de los órganos reproductivos en el hombre han mostrado que no hay alteraciones significativas en los niveles de FSH - LH Testosterona, en el suero, aunque la función de la glándula accesoria puede quedar afectada en cierto grado . WORTMAN y cols. (1974) (212); NAIK V. K. y cols. (1976) (140).

En 1977, SILBER S. J. (186), estudió noventa y dos pacientes vasectomizados, entre veintiuno y cincuenta y cinco años de edad, con intervalos postvasectomía que variaban desde un mes hasta los veintiocho años. Cuando se les practicó la vasectomía treinta y nueve de ellos presentaban granuloma espermático, siendo éste inofensivo, teniendo un efecto protector local, contra la gran presión en las caras testiculares, actuando como válvula de seguridad.

En 1978. HEIDEGER P. M. y cols. (88), estudiaron la morfología del testículo de mono tras la vasectomía.

La vasectomía no puede ir acompañada de atrofia testicular ni de disminución de la capacidad de espermatogénesis.

Algunos animales presentaron ciertos cambios degenerativos focales, sin causa conocida. Presentaron algunos túbulos seminíferos con epitelio germinal compuesto por espermatogonias y células de Sertoli, las cuales presentaban en su citoplasma espermátides tardías, lo que sugiere que estas células de Sertoli estaban implicadas en la actividad espermiófaga.

En 1984, SHIKARY Z. y cols. (184), realizaron un estudio bioquímico a largo plazo, después de la vasectomía.

Se produce un descenso en el total del LDL (*Lipoproteína de Baja Densidad*) y un incremento de las HDL (*Lipoproteína de Alta Densidad*), manteniéndose los Triglicéridos inmutables.

Los niveles de Glucosa mostraban un significativo descenso en el grupo de estudio, con un Acido Úrico inalterado.

No había diferencias entre los electromiogramas de los dos grupos, vasectomizados y de control.

PERRIN E. y cols. (1984) (164), investigaron la posible asociación de daño del tejido coronario y la vasectomía, en una población de diez mil seiscientos treinta y dos hombres, que estaban sometidos a vigilancia por factores de

riesgo coronario durante la participación de un programa de control en la Universidad.

El aumento relativo de riesgo de daño coronario, estaba asociado con la historia familiar de cardiopatía tales como : hipertensión arterial, el hábito de fumar. El riesgo relativo asociado a vasectomía no aumentaba en general, no aumentaba cuando los muchos vasectomizados eran clasificados por tiempo desde la vasectomía.

Igualmente los títulos de anticuerpos antiesperma en el suero no predecía el daño del tejido coronario en hombres vasectomizados.

En 1989, BICUDO S. D. ; MATERA A. (18) observan que a los noventa días postvasectomía el epitelio seminífero del testículo de perro comienza a regenerarse y treinta días después , la espermatogénesis es normal.

Mc DONAL S. W. SCOTHORNE R. J. (1989) (128), observaron que no se produce alteración en el ciclo espermático en la rata tras la vasectomía.

1.4.3.- AUTORES QUE OBSERVAN REPECUSIONES SOBRE EL ORGANISMO

BOUIN F. y ANCEL P. (1903 - 1904) (23), cerrando la salida de los conductos por ligadura y resección invariablemente se producía una degeneración de los tejidos germinales de los túbulos. Trabajaron con conejos de Indias, perros, conejos jóvenes y adultos. La ligadura de los vasos deferentes antes de la pubertad no interfiere la diferenciación de las células germinales, pero después estos túbulos seminíferos pierden rápidamente la línea epitelial y comienzan a convertirse en testículos enteramente similares a los testículos con criptorquidia, con túbulos reducidos, teniendo una simple línea columnar de células de Sertoli, no habiendo células germinales en formación.

En 1921, TIEDJE P. (197) y STEINACH E. (191), postulan por la degeneración de los túbulos seminíferos tras la vasectomía y sus regeneración tiempo después.

STEINACH E. , en 1921 (191) encontró que tras la vasectomía en la rata había una hipertrofia de las células intersticiales con el consiguiente aumento de hormonas masculinas.

En 1954, HARRISON R. C. ; MC MILLAN E. W. (86), estudiaron los efectos a nivel del testículo de la rata, tras la obstrucción total del epidídimo, observando que la atrofia testicular era sustancial, con un incremento en el total del volumen de células intersticiales, entre los días 28 y 189 postvasectomía, pasando de un 24 % a un 45 %.

El aumento absoluto a los 189 días parece estar asociado con la necrosis de los túbulos seminíferos.

En 1968 GREWAL R. S. ; SACHAN M. S. (78), realizan vasectomías unilaterales en perros, utilizando el testículo contralateral como testigo, estudiándolos a intervalos de 1, 3 y 6 meses después de la vasectomía, observando :

- a) A un mes postvasectomía : No eran evidentes los cambios en el epidídimo, en 5 perros se vio que los epitelios seminíferos presentaban atrofia, los cuales se mostraban como parches en la distribución de los túbulos, así mismo contenían un número moderado de espermias.

El estroma intertubular contenía células de Leydig poliédricas vasos sanguíneos y células inflamatorias locales.

Uno de los perros mostraba cambios regenerativos a nivel de los túbulos seminíferos, presentando el tejido intertubular gran número de vasos sanguíneos con una gran colección de linfocitos perivasculares.

- b) A tres meses postvasectomía : No se observaron cambios en el tamaño y consistencia testicular.

Microscópicamente se observaron cambios regenerativos en algunos de los túbulos seminíferos, rodeados de tejido fibroso.

- c) A seis meses postvasectomía : No se observaron cambios en el tamaño testicular.

Microscópicamente se detectaron cambios degenerativos de los túbulos seminíferos después del primer mes, teniendo los túbulos una colección de espermias.

Únicamente unos pocos túbulos fueron reemplazados por tejido fibroso.

Los cambios degenerativos, comienzan a las pocas días postvasectomía, apreciando que posteriormente estos cambios son reemplazados por los cambios regenerativos, coincidiendo con JHAVER P. S. ; OHRI B. B. (1960) (93).

En 1972, KOTHARI L. K. ; MISHRA P. (103), estudiaron la función endocrina del testículo tras la vasectomía, las células de Leydig aumentaron de volumen, pasando de un 15 % a un 25 %.

En 1973, JOSHI K. R. y cols. (95), las células de Leydig de perro postvasectomía sufren una hipertrofia en aquellos animales que experimentan un total déficit de la espermatogénesis, siendo progresiva la disminución de la espermatogénesis durante seis semanas.

KOTHARI L. K. ; MISHRA P. ; MISHRA R. K. (1973) (104), observan que la vasectomía produce una marcada degeneración de los túbulos seminíferos, una reducción del volumen testicular, un cese de la espermatogénesis y una hipertrofia e hiperplasia de las células de Leydig.

VARE A. M. (1973) (204), observó cambios degenerativos en los túbulos seminíferos durante los cuatro primeros meses después de la vasectomía en perros, después de éste periodo la regeneración tuvo lugar en la mayoría de los túbulos seminíferos, estando al final del sexto mes los túbulos con un aspecto normal. Sólo unos pocos sufrieron degeneración siendo reemplazados por tejido fibroso.

SACKLER A. y cols. (1973) (176), tras realizar vasectomías en ratas machos, observan la disminución del peso testicular con granulomas espermáticos a nivel del epidídimo caudal del conducto deferente.

Hay una disminución significativa de los 17 - Cetosteroides, quince semanas después de la vasectomía.

KWART A. ; COFFEY D. S. (1973) (109), tras la vasectomía en ratas machos, vieron que la aparición del granuloma espermático era invariable, no siendo del todo conocido el motivo de aparición del mismo, se piensa que podría deberse al filtrado de espermias en el momento de la operación, o antes de la cicatrización de los lugares donde se realiza la ligadura.

Para aclarar esto, utilizaron animales prepúberes a los que se les practicó vasectomía, observándose que si bien todos los animales adultos presentaban granulomas espermáticos, entre un 45 % y un 50% de los animales prepuberales también lo presentaban.

Estudiaron la evolución del granuloma espermático; en un primer momento, hay una acumulación de groseras masas de espermas, rodeadas por un borde de histiocitos epiteliales, éste borde es rodeado por una acumulación de células redondeadas, perivasculares. La lesión parece entonces progresar hacia un granuloma piógeno, con una marcada afluencia de neutrófilos polimorfonucleares, dentro de la masa de espermas, esto se acompaña de una destrucción de la masa central y una mayor respuesta histiocítica, con actividad fagocítica de espermas por los histiocitos.

Este proceso patológico descrito para el granuloma espermático de la rata, que sigue a la ligadura de los vasos deferentes, es similar al observado por GLASSY F. J. ; MOSTOFI F. K. (1956) (67), en humanos con granuloma idiopático.

Los espermas provocan la formación de autoanticuerpos antiesperma, habiéndose encontrado estos en ratas, monos, hombres después de la vasectomía.

También se apreció un descenso en el peso de los testículos, así como de los 17-cetosteroides en orina, no apreciándose cambios histológicos ni en la espermatogénesis. La disminución anteriormente comentada de los 17-cetos, no produjo alteraciones de la testosterona, ni en el tamaño de los tejidos sexuales accesorios.

En 1974, NEAVES W. B. (143), utilizaron seis grupos de ratas para realizar distintos procedimientos quirúrgicos; vasectomía escrotal con y sin ligadura, vasectomía abdominal con y sin ligadura y vasectomía abdominal simulada.

En éste trabajo se comprueba que la vasectomía de una forma general conlleva una pequeña influencia en el peso de los testículos y en la concentración espermática, siendo la vasectomía abdominal con ligadura la técnica quirúrgica que más alteraciones produce en ambos sentidos.

Mc GLYNN J. M. ; ERPINO M. J. (1974) (129), estudiaron los efectos de la vasectomía en la rata, observando incremento en el tamaño del epidídimo y aparición de granuloma espermático tras la vasectomía.

En 1975, FLICKINGER C. J. (60), realiza vasectomías en conejos, observando la salida de espermias del aparato reproductor, encontrándose acúmulos de fagocitos conteniendo espermias entre los testículos y el epidídimo.

Los animales sacrificados nueve meses después de la vasectomía, contenían gran número de espermátides multinucleadas.

GUPTA A. S. y cols. (1975) (80), investigaron los efectos a corto y largo plazo en cuarenta hombres vasectomizados. Un mes después de la vasectomía, una extensa degeneración del epitelio germinal tuvo lugar, con engrosamiento de la membrana basal y alguna fibrosis intertubular, la espermatogénesis cesó, siendo recuperada tiempo después.

El volumen total de las células de Leydig aumentaba ligeramente.

KINSON G. A. y cols. (1975) (106), grupos de ratas maduras fueron vasectomizadas o sometidas a intervención simulada, para subsiguientes estudios 18 meses después en orden a valorar las posibles consecuencias crónicas de la vasectomía. Los órganos fueron pesados y medidos, determinándose los niveles de testosterona y corticosterona. La función endocrina de los testículos fue evaluada, por medición de la testosterona y androstendiona en sangre venosa testicular.

El peso de las glándulas adrenales y la corticosterona circulante en animales vasectomizados, estuvo por debajo de los valores control, pero no de una manera significativa.

La vasectomía induce la disminución del peso testicular y de la función endocrina, como lo demuestra la marcada depresión de los niveles de androstendiona y en particular de la testosterona.

En 1976, ALEXANDER N. J. ; TUNG K. S. K. (3) después de realizar vasectomías unilaterales y bilaterales, la mitad de los conejos desarrollaron anticuerpos antiesperma.

El aumento de los niveles de anticuerpos particularmente seis meses después o más de la vasectomía, se acompaña algunas veces de orquitis.

Los túbulos seminíferos de bastantes animales mostraban células germinales multinucleadas, las cuales estaban sumergidas en los macrófagos.

Infiltrados mononucleares estaban ocasionalmente presentes. La lámina basal estaba envuelta, muy engrosada, pareciendo estar endocitada por las células de los túbulos seminíferos.

Cuatro meses después de la vasectomía, numerosos fagocitos se veían emigrar a través del epitelio intacto de la primera zona de la cabeza del epidídimo, esto era particularmente llamativo en animales que mostraban daño testicular. Estos macrófagos pueden llenar de antígenos a los linfocitos.

PURVIS K. y cols. (1976) (170), estudiaron la Pregnenolona, Dehidroepiandrosterona, Androstendiona, Testosterona, Dihidrotestosterona, Estrona, Estradiol, siendo analizados en dos ocasiones antes y a 1, 3, 6 y 12 meses después de la vasectomía.

La vasectomía parece estar asociada con un significativo descenso en los niveles plasmáticos de Pregnenolona, Dehidroepiandrosterona y Estrona, con un posible incremento del Estradiol a los 12 meses de la vasectomía, no antes.

No se hallaron cambios en la Testosterona ni en la FSH - LH.

En 1978, CHAPMAN F. S. y cols. (38), no encontraron alteraciones en el epitelio seminífero de los monos simulados de vasectomía, sólo lesiones locales en los animales vasectomizados. Estos cambios se correlacionaban con el tiempo transcurrido postvasectomía.

Todos los animales con ligadura del vaso deferente desarrollaron granuloma espermatóico.

La espermatogénesis aparecía normal, un animal mostró áreas en las cuales el epitelio seminífero consistía en células de Sertoli y espermatogonias únicamente.

El epitelio seminífero de una tercera parte de los animales mostraba semejantes alteraciones, como desarrollo de extensión envolviendo y duplicando dentro de la lámina basal y presencia dentro de las células basales de Sertoli, espermatídes tardías y colas de espermatozoides. Estas alteraciones, fueron observadas en animales con oclusión del deferente y animales con ligadura del deferente.

La presencia de semejantes células germinales tardías en la basal de Sertoli, se evidenciaban al microscopio de luz.

PERERA O. (1978) (163), estudia los testículos tras vasectomía de ratas machos, observando que los epidídimos presentaban múltiples granulomas espermatóicos.

La espermatogénesis se afectó cualitativa y cuantitativamente.

En 1980, UREÑA F. ; MALAVASI J. (202), detectaron alteraciones en la estructura del epitelio germinativo y en la membrana basal del testículo seminífero en la mayoría de los estadios del ciclo en el hamster vasectomizado.

La membrana basal aumentó de grosor por separación de las capas que la forman y por hipertrofia de las células que la componen. Algunas de estas células emiten proyecciones citoplasmáticas al espacio extratubular.

Las células de Sertoli, son las menos alteradas presentando gran cantidad de cuerpos residuales de gran densidad, con su citoplasma y una morfología muy variada.

La población de células germinales disminuye conforme avanza el tiempo transcurrido de la vasectomía, siendo la población más perjudicada.

La destrucción es parcialmente masiva en animales sometidos a vasectomías diez meses antes. En los recuentos de espermias aislados del túbulo, se observó que la población quedaba reducida al 15 % a los diez meses de la intervención.

La población de espermátides y de espermatozoides también disminuye considerablemente y presenta una ultraestructura muy alterada.

En 1981, MARINA S. ; VASQUEZ L. (121), estudian 156 pacientes vasectomizados, de edades comprendidas entre 25 y 40 años, se hicieron controles de eyaculación desde ocho a treinta y cinco semanas postvasectomía, mostrando azoospermia en todos los casos, excepto en uno, el cual presentaba a los dos meses 6'4 millones por milímetro de espermias, los cuales eran inmóviles.

Desde el punto de vista sistémico, no se han observado efectos colaterales, debidos a la vasectomía.

El paciente no notará cambios en el eyaculado, sólo se vuelve traslúcido después de la vasectomía, por carecer de los millones de espermatozoides que le da la opacidad a un semen normal. El volumen se reduce en menos de un 10 % (un semen normal está constituido en un 90 % de volumen por las secreciones de la próstata y vesículas seminales, que no se modifican con la vasectomía).

El extremo proximal del deferente se dilata a expensas de la pared muscular; la luz aumenta en un 70 % y el diámetro exterior no se modifica (SCHMIDT S. S. y BRUSCHKE E. E. 1976) (179).

En la luz del epidídimo y de los conos eferentes se dilata, aparecen espermiofagos que destruyen por fagocitosis los espermatozoides (PHADKE L. 1975) (167).

La espermatogénesis no se modifica con la vasectomía, al menos cualitativamente.

El mecanismo por el cual la vasectomía podría afectar la espermatogénesis, podría ser por aumento de la presión intratubular o por desarrollo de autoinmunidad antiespermática (NEAVES W. B. 1974) (143) (HEIDGER P. M. ; SAWATZKE C. L. 1977) (87).

La oclusión del deferente no produce aumento de la presión dentro de los túbulos seminíferos, ni cambio en la permeabilidad de la barrera hematotesticular (NEAVES W. B. 1974) (143). La barrera hematotesticular, está constituida por uniones entre las células de Sertoli, unas con otras a modo de desmosomas, que dividen el túbulo seminífero en dos compartimientos, basal y luminal FAWCET D. W. y cols. 1970) (54). La integridad de ésta barrera impedirá el paso de los anticuerpos antiesperma al compartimiento luminal que es donde sucede la meiosis y la espermatogénesis.

En un primer momento los espermatozoides que continúan produciéndose se almacenan en el epidídimo, lo distiende llegando a producir rotura del mismo y entrada de macrófagos que fagocitan los espermatozoides. Esto contribuiría a la autosensibilización a los antígenos espermáticos (NEAVES W. B. 1974) (143).

Entre los siete y los once días postvasectomía se han detectado en el 50 % de los hombres vasectomizados, autoanticuerpos antiespermáticos, aglutininas e inmovilinas (ANSBACHER R. 1971) (6).

El mayor título de aglutininas antiespermáticas se han detectado sobre los 18 meses de la vasectomía (SHULMAN S. cols. 1972) (185), (ANSBACHER R. 1974) (7), encontrándose los anticuerpos citados incluso diez años después de la vasectomía.

La formación de granuloma espermático favorece la aparición de anticuerpos antiespermáticos.

No se han detectado cambios significativos debidos a la vasectomía en los niveles plasmáticos de FSH-LH, Testosterona y Estradiol (WORTMAN J. S. y cols. 1974) (212).

En 1982, CAVALLARO G. y cols. (27) , realizaron un estudio de vasovasostomía termino-terminal, comparando los resultados de la sutura en monoestrato y en doble estrato, viendo que el granuloma espermático se presentaba en los dos tipos de suturas, siendo más frecuente en la sutura en monoestrato.

En 1983, CAVALLARO G. (28) , estudia la vasovasostomía termino-terminal en la rata, observando que las alteraciones del deferente y del epidídimo están relacionadas con el hilo de sutura empleado .

El granuloma espermático se piensa que está ligado a la presión elevada de la luz del deferente.

HAMIDINA A. ; BECK D. ; WRIGHT N. (1983) (83), estudiaron los cambios en los conductos deferentes después de la vasectomía en perros, observando que la cifra de espermias después de la vasectomía no alcanzó la cifra registrada antes de la misma.

SAHAHANI S. K. (1983) (177), estudió los efectos inmunológicos a largo plazo tras la vasectomía en el hombre. En un 37'7 % aparecieron anticuerpos anti-esperma, en un 12 % de los vasectomizados se encontraron inmunocomplejos circulantes.

La frecuencia de antígenos HLA en vasectomizados, no difiere de los individuos con o sin anticuerpos anti-esperma.

Había una dilatación en la cabeza o en la cola o en ambas del epidídimo, con aplanamiento de las células y pérdida de estereocilios.

La vasovasostomía restauraba la cifra de espermias a 400 millones por milímetro cúbico, tres meses después.

Si la obstrucción o la estrechez persisten, la maduración espermática puede verse alterada.

MEHROTA R. y cols. (1983) (131), el análisis a microscopía electrónica de biopsias testiculares en cinco hombres que habían sido vasectomizados entre 1'5 y 5 años antes, reveló fibrosis intersticial difusa en tres casos. No había evidencia de reacción inflamatoria en el tejido intersticial.

También fueron encontradas alteraciones ultraestructurales insignificantes de las células de Leydig maduras.

En 1984, MILLER R. J. ; KILLIAN G. J. ; VALISENKO P. (133) , estudiaron los efectos a corto y largo plazo de la vasectomía en la rata, observando un aumento de los autoanticuerpos antiespermas, así como un descenso en el total de las proteínas séricas siendo los niveles más bajos los de alfa globulinas. Hay un aumento de neutrófilos y linfocitos largos, un descenso de linfocitos pequeños y de los basófilos.

BALL R. Y. (1984) (13), estudió la reacción inflamatoria por extravasación de espermatozoides en ratones, viendo que el granuloma espermático se desarrolla varios días después probablemente como resultado de la naturaleza indistinguible de muchos componentes de los espermatozoides, persistiendo varios días antes de la curación.

Se consideran aspectos inmunológicos en la vasectomía tanto en el hombre como en animales.

En 1985, JAROW J. y cols. (92), para determinar los posibles cambios en los testículos humanos tras la vasectomía obtuvieron biopsias de 31 hombres sanos que sufrieron vasectomía reversible y de 21 hombres voluntarios.

El análisis morfométrico reveló un 100 % de incremento en el espesor de la pared del túbulo seminífero, en un 50 % aumentó el área de la sección tubular y una reducción significativa en el número de células de Sertoli y espermátides.

Se compararon secciones tubulares de grupos postvasectomía con los grupos control. Se observó en un 23 % del grupo de vasectomizadas una fibrosis intersticial y en uno de los individuos del grupo control.

Hay una correlación significativa entre la fibrosis y la infertilidad en los pacientes sometidos a vasectomía reversible.

Concluyen que tras la vasectomía hay cambios morfológicos significativos en el testículo humano. La presencia de fibrosis intersticial focal está asociada con una gran incidencia de infertilidad en estas series.

BELKER A. M. y cols. (1985) (15), en su estudio control de 892 pacientes vasectomizados, encontraron que 28 de ellos, entre 2 - 8 meses después de la vasectomía, presentaban azoospermia o una severa oligospermia.

LENZI A. G. ; VALENSINI G. ; DONDERO F. (1985) (114), detectaron la circulación de inmunocomplejos circulantes en el suero de los sujetos vasectomizados usando la fijación del complemento.

Aparentemente los inmunocomplejos son una característica del primitivo periodo postoperatorio y una consecuencia de inmunización de nuevos antígenos espermáticos. La progresiva desaparición de inmunocomplejos tres meses después de la vasectomía, con el simultáneo incremento del porcentaje de títulos de anticuerpos antiesperma, sugiere que los inmunocomplejos pueden ser temporalmente importantes en hombres vasectomizados, no conduciendo a daño crónico, se corresponde con una reacción de inmunidad del tipo - III.

NUÑEZ J. y cols. (1985) (151), realizaron un estudio a microscopía electrónica de ratas vasectomizadas, observando que a medida que pasa el tiempo postvasectomía se aprecia una afectación general del testículo.

Hay una destrucción de la hilera germinal, las espermátides junto con estructuras bien conservadas como el caparazón acrosómico, presentan un citoplasma esponjoso, con vacuolas a veces gigantes y otras de tamaño más reducido, algunas de las cuales se corresponden con mitocondrias destruidas, también se encuentran gotas de lípidos. El núcleo presenta profundas invaginaciones que pueden dividirlo en dos mitades. En la superficie basal de los túbulos seminíferos es frecuente observar un intenso plegamiento de su membrana basal, dando una imagen muy característica de " asta de ciervo ".

En 1986, NUÑEZ J. y cols. (152), realizan vasectomías unilaterales y bilaterales en ratas.

Hay una pequeña disminución en el tamaño y en el peso de los testículos vasectomizados.

Al microscopio los testículos aparecen atróficos, sensiblemente reducidos de tamaño, con una albugínea engrosada, buena vascularización y con un tinte azulado grisáceo en toda la superficie.

En general hay atrofia de los túbulos, una hipertrofia de los islotes de Leydig que a medida que crecen comprimen los túbulos, a los que no les quedan más que células de Sertoli, transformadas, arrugadas, faltas de contenido .

FLICKINGER C. J. y cols. en 1986 (61), realizan un estudio acerca de la incidencia del granuloma espermático y su relación con el peso testicular después de la vasectomía y vasovasostomía en la rata, viendo que la incidencia de granuloma progresa con el tiempo transcurrido desde la vasectomía, igualmente se demostró in vitro que el líquido fluye a lo largo de los vasos deferentes reconectados.

La posible protección argumentada por algunos autores sobre el efecto beneficioso del granuloma espermático es discutida.

KAPUR P. y cols. (1985) (98), después de la vasectomía bilateral en el conejo, la circulación de inmunocomplejos se incrementó significativamente, considerando que el total de proteínas y de albúmina no se afectaba significativamente.

El aislamiento de inmunocomplejos y de sus fracciones por cromatografía indica que la vasectomía induce la liberación de antígenos específicos, posiblemente originados a partir de los espermatozoides.

Tales antígenos pueden ser inductores de la infertilidad, estudios histológicos y de inmunofluorescencia indican que la vasectomía bilateral produce depósitos de inmunocomplejos e infiltración de células mononucleares principalmente linfocitos en el hígado, corazón, riñones y testículos.

Del mismo modo observó degeneración y exfoliación de las células epiteliales de revestimiento de los túbulos seminíferos de los testículos de conejos vasectomizados.

TEMMERMAN M. y cols. (1986) (196), evaluaron un centenar de vasectomías, presentando recanalización espontánea en dos casos.

El granuloma espermático sin orquialgia fue visto en un 23'9 %.

La vida sexual fue mejorada en 21 pacientes. Solo un hombre mencionó dolor durante la relación sexual desde que fue sometido a vasectomía.

GRAM I. T. ; MOLNE K. . (1986) (74), investigaron la influencia de la vasectomía en 22 hombres, apareciendo autoanticuerpos antiesperma aproximadamente en la mitad de los casos.

FELLER J. A. ; SOUTHWICK G. J. ; TEMPLESMITH P. D. (1986) (55), estudian los efectos a corto plazo de la vasectomía en la rata macho a borde abierto y la vasoligación del conducto deferente observando granulomas espermáticos en el epidídimo en un 2/5 de las ratas, a las que se les ligó el deferente y en un 1/5 parte en las ratas a las cuales se les practicó vasectomía a borde abierto.

Una observación inesperada en el grupo de ratas vasectomizadas a borde abierto, fue la aparición de que en dos de cada cinco animales el borde proximal del vaso deferente había sido temporalmente obstruido por el supercrecimiento de una capa fibromuscular. El diámetro tubular del epidídimo caudal incrementado en estos animales, sugería una presión intratubular aumentada.

En 1987 FLICKINGER C. J. y cols. (62), utilizaron ratas machos comprendidas entre 200 y 250 gramos de peso, se les practicó una vasectomía bilateral, además existía un grupo de animales control y otro a los que después de realizarles la vasectomía se les practicó una vasovasostomía, así mismo había animales simulados de vasectomía y de vasovasostomía.

El estudio se llevó a intervalos de 3, 4, y 7 meses, la vasectomía fue abdominal con ligadura, la vasovasostomía realizada tres meses después se llevó a cabo abdominalmente, utilizando el tornillo de vasovasotomía de Weck, para aproximar los extremos del vaso seccionado previamente.

Aparecían dos grupos de resultados, unos testículos de bajo peso, menor al normal, con importantes alteraciones en los tubos seminíferos, en contraste con los de peso normal, los cuales tenían una estructura normal.

Los testículos de los animales simulados, se asemejaban a los testículos normales de la rata.

En los testículos más alterados, es decir en los pequeños, los tubos seminíferos eran estrechos, muchos estaban casi faltos completamente de células germinales. Consecuentemente el epitelio del túbulo seminífero se componía de células de Sertoli, entremezcladas con estas había un número variable de células pequeñas redondas u ovaladas con organelas esparcidas, algunas tenían un núcleo oval eucromatínico, mientras que otras contenían una masa de heterocromatina, sugiriendo que tales células representaban las espermatogonias del tipo A y tipo B respectivamente.

La lámina basal de los túbulos alterados tenía un borde sinuoso o arrugado. Algunos tubos contenían células germinales multinucleadas, las cuales han sido referidas como espermátides fundidas, ya que tienen múltiples núcleos redondeados y residuos de acrosomas.

Quizás como resultado de la disminución en el diámetro de los túbulos seminíferos, la porción de testículo ocupada por tejido intersticial era grande en los testículos más alterados.

Hay varios mecanismos como posible origen de las alteraciones testiculares tras la vasectomía, se ha pensado en el incremento de la presión hidrostática en el túbulo seminífero, pero se ha comprobado que la presión en los túbulos seminíferos de los hamsters, no aumenta tras la vasectomía JOHNSON A. L. y HOWARDS S. S. (1975) (94).

Se atribuye a un mecanismo autoinmune como causa del origen en otras especies, como el conejo de Indias BIGAZZI P. E. y cols. (1976) (20), ALEXANDER N. J. ; TUNG K. S. K. (1977) (3), así mismo en la rata Lewis son conocidos el desarrollo de grandes niveles de anticuerpos antiesperma, tras la vasectomía. BIGAZZI P. E. y cols. (1977) (21).

MAYOR J. y cols. (1987) (127), realiza un control de 140 hombres vasectomizados, con controles seminográficos a 4 y 12 semanas, no existiendo espermatozoides en ningún caso.

Como complicaciones locales aparecen: infecciones de la herida en un 7'4 %, epididimitis en el 17'85 %.

En 1988, ARANGO O. y cols. (9) , realizaron 500 vasectomías con la técnica de la incisión escrotal de TILAK G. H. (1963) (198), habiéndose conseguido la azoospermia en todos los casos en un periodo de 2 a 6 meses.

Las complicaciones fueron : granulomas deferenciales, hematomas de reabsorción espontánea en 5 casos, epididimitis en tres casos e infecciones de la herida quirúrgica en 4 casos.

LOPEZ A. ; CASTIÑEIRAS J. ; VILCHES J. (1988) (117), observan que en ratas vasectomizadas se produce de forma sectorial y progresiva una atrofia del epitelio seminífero, observándose células de Sertoli vacuoladas.

En los túbulos seminíferos hay calcificaciones distróficas como expresión del depósito de sales de calcio, sobre las células y restos celulares que aparecen en la luz de los túbulos lesionados, siendo un signo de mal pronóstico.

LLARENA R. (1988) (119), estudia la vasectomía según la incisión escrotal de SCHMIDT (1975) (180), encontrando como complicaciones :

- Hematoma ; Superficial escrotal
 - Funicular
 - Escrotoinguinal
- Celulitis incisional escrotal
- Absceso (superficial o profundo)
- Epididimitis traumáticas (siendo la más frecuente)
- Funiculitis o infección del cordón espermático
- Orquitis

- Granuloma espermático
- Fístula cutánea espermática

Se considera que a los cinco años de realizada la vasectomía, las posibilidades de obtener un embarazo, reanastomosando los deferentes son mínimas y transcurridos diez años es prácticamente imposible.

SURABOTE A. (1988) (193), estudia 870 vasectomías bilaterales, en un intervalo de 11 años, determinando que se trata de un proceder quirúrgico con muy pocas complicaciones, tan sólo el 1'7 % tuvieron dilatación al principio de la aspermia y el 0'46 % presentaron granuloma espermático.

En 1989, BICUDO S. D. ; MATERA A. (19) , denotan que la vasectomía en perros lleva a una progresiva degeneración del epitelio germinal, esto se puede ver a los catorce días de la vasectomía, alcanzando la mayor degeneración a los sesenta días postvasectomía.

A partir de los noventa días el epitelio comienza a regenerarse, siendo a los ciento veinte días la espermatogénesis normal.

FISH H. y cols. (1989) (57), estudian la correlación entre las anormalidades endocrinas y los anticuerpos antiesperma, tras la vasectomía en el hombre.

Los niveles de FSH-LH, Testosterona no fueron significativamente diferentes entre los vasectomizados y los animales control.

Se vio que la respuesta a 100 mg en inyección intravenosa de FSH-LH era significativamente mayor en los hombres vasectomizados, no existiendo relación entre ésta respuesta y el intervalo de tiempo después de la vasectomía.

Los anticuerpos antiesperma se observaron en un 52 %, encontrando una correlación entre la presencia de anticuerpos antiesperma y una normal respuesta a la estimulación de gonadotropinas.

Los hombres vasectomizados tienen anormalidades en los túbulos seminíferos y en la función de las células de Leydig, estas anormalidades están relacionadas con el intervalo postvasectomía y no son detectables con medidas rutinarias de hormonas.

Los anticuerpos antiesperma suelen estar presentes en aquellos hombres, que se se puede demostrar una normal actividad de los túbulos seminíferos después de la vasectomía.

NIKKANEN V. ; LEHTONEN A. (1989) (147), observaron que la concentración en el suero del colesterol al año de la vasectomía disminuía, la LDL disminuye aproximadamente en un 16 % al año, estando la concentración de Ácidos grasos libres más aumentada antes de la vasectomía que después de ella.

ORR D. ; MOORE B. (1989) (155), controlaron 1000 vasectomías realizadas en hombres de edades comprendidas entre 30 y 39 años, a los que se les resecó 20 milímetros del conducto deferente.

El 99 % no tuvieron complicaciones técnicas.

El 1 % presentó problemas psico-sexuales;tales como descenso de la libido, problemas de eyaculación, depresión.

ALDERMAN P. M. (1989) (2), no se encuentra ningún patrón aceptado del tiempo necesario hasta lograr la esterilización después de la vasectomía.

Se examinaron 5233 pacientes de vasectomía a los cuales se les practicó un test completo del semen, después de eyacular 12 veces por lo menos. El 70 % pudieron satisfacer un criterio de éxito a los 4 meses después de la vasectomía, cerca del 90 % , a los 6 meses y casi un 99 % al año.

También se encontró un número de anomalías individuales, incluyendo cinco ejemplos de reparaciones transitorias de espermatozoides, cuatro inversiones espontáneas tardías, después de dar satisfactoria la prueba.

En 1990 GLAVIND K. ; NIELS-PETER LAURITSEN (68), estudiaron las complicaciones físicas que seguían a la vasectomía, encontrando que el 86 % de los hombres vasectomizados tuvieron dolores testiculares durante los diez días siguientes a la intervención quirúrgica, 27 % tuvieron dolores durante tres meses después, 12 % los dolores duraron más de tres meses, el 35 % presentaron granulomas espermáticos, siendo éste quizás el causante de los dolores temporales a nivel testicular.

HIRSCH I. H. ; CHOI H. (1990) (89), realizaron biopsias testiculares de obstrucciones congénitas o adquiridas del tracto genital, observando que la obstrucción congénita del tracto genital está asociada con alteraciones histológicas comparables a las ocasionadas por la vasectomía.

Cuantitativamente el análisis de los túbulos seminíferos muestra un significativo aumento del espesor de la pared en los individuos vasectomizados.

No había significativas diferencias entre los grupos, con referencia al número de espermátides por túbulo seminífero, al número de túbulos por campo y al número de células de Sertoli.

A pesar de la obstrucción duradera como puede ser una agenesia de los vasos, se demuestra un estado más favorable histológico, que el que se presenta en los testículos vasectomizados.

URRY R. L. y cols. (1990) (203), estudian el semen de pacientes vasectomizados quince años antes.

El total de espermatozoides era normal, con un promedio de 91.000.000 millones por eyaculación.

Progresivamente la motilidad de los espermatozoides se fue reduciendo, así como su número.

El porcentaje de vida de los espermatozoides, fue descendiendo, los valores de hiposmolaridad, indicaban que solamente el 41 % de los espermatozoides tenían membranas normales.

Aproximadamente el 50 % de los pacientes tenían títulos positivos de aglutinación y/o anticuerpos antispermatozoides.

La morfología de los espermatozoides indica que la cola y cabeza, muestran defectos con incremento en ambas y en el número de espermatozoides inmaduros.

Se demuestra la alteración tras vasectomía de la motilidad espermática, la alteración en la membrana espermática, la alteración en la morfología y en la capacidad fertilizadora de los espermatozoides.

1.4.5.- RESUMEN DE CONOCIMIENTOS ACTUALES SOBRE LA VASECTOMIA
TRAS EL ESTUDIO BIBLIOGRAFICO

A) NO ENCUENTRAN REPERCUSIONES PATOLOGICAS EN EL ANIMAL DE
EXPERIMENTACION

1. - Tras la vasectomía no hay efectos adversos físicos ni mentales.
2. - No hay aumento de riesgo relativo de daño coronario tras la vasectomía.
3. - No hay cambios anatómicos macroscópicos a nivel testicular.
4. - La ultraestructura del testículo de rata postvasectomía permanece normal, no habiendo cambios en las células de Leydig.
5. - La oclusión del conducto deferente, no afecta a la espermatogénesis.
6. - En la vasectomía hay una afectación inicial del ciclo espermático seguida tiempo después de una regeneración del mismo.
7. - No hay afectación de los niveles hormonales (FSH, LH, Testosterona) hay un descenso de las LDL y un aumento de la HDL tras la vasectomía.
8. - Se forma un granuloma espermático, que es inofensivo y que actúa como válvula de seguridad.
9. - No hay alteración de las glándulas accesorias tras la vasectomía.

B) SI ENCUENTRAN REPERCUSIONES PATOLOGICAS EN EL ANIMAL
DE EXPERIMENTACION

1. - Tras la vasectomía hay una dilatación del extremo proximal del conducto deferente.

2. - Se forma el Granuloma espermático
3. - Hay degeneración del epitelio germinal y alteración de los túbulos seminíferos, afectándose por tanto la espermatogénesis.
4. - Hay disminución de peso y atrofia testicular.
5. - Hay hipertrofia de las células de Leydig
6. - Hay formación de anticuerpos antiespermas e inmunocomplejos circulantes.
7. - Hay cambios de los niveles hormonales y metabólicos tras la vasectomía ; descenso de Pregnenolona, Dehidroepiandrosterona, Estrona, aumento de Estradiol, aumento de los Acidos Grasos Libres.
8. - Aparecen problemas psico-sexuales postvasectomía.
9. - La capacidad fertilizadora de los espermatozoides, se ve alterada por los cambios morfofuncionales que acontecen en su estructura tras la vasectomía.
10. - No hay acuerdo del tiempo que debe transcurrir después de la vasectomía para lograr la esterilidad completa.
11. - Aparecen complicaciones locales tras la vasectomía (Hematoma, Celulitis incisional escrotal, Epididimitis traumática Funiculitis Orquitis, Fístulas espermáticas).
12. - Tras realizar una vasectomía, la capacidad fertilizadora de los espermatozoides a los diez años es prácticamente nula.

1.5.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

En la actualidad el método contraceptivo dirigido al hombre, se conoce con el nombre de **VASECTOMIA**, que consiste en la sección del conducto deferente, con el fin de impedir que lleguen los espermatozoides, desde el interior del testículo al exterior, impidiendo así la posibilidad de fecundar cualquier óvulo.

Como resultado de la revisión bibliográfica, podemos concluir, que no existe acuerdo en los resultados de las investigaciones sobre los efectos adversos de la vasectomía.

Con estos datos en nuestras manos nos planteamos, el estudio morfológico de las células intersticiales del testículo y entre estas concretamente las Células de Leydig, por ser las células implicadas en la secreción de hormonas masculinas, y a través de ellas de las posibles repercusiones que supondría esta técnica en el aparato genitourinario masculino.

Para llevar a cabo éste estudio, realizamos :

- Estudio Morfológico, en el que incluimos los datos de Microscopía Óptica y Microscopía Electrónica de las células de Leydig.
- Análisis estadístico de los datos antropométricos, obtenidos sobre el testículo, de los animales vasectomizados y simulados.
- Control de la Curva ponderal de los animales experimentales y simulados.

MATERIAL Y METODOS

2.- MATERIAL Y METODOS

2.1.- ANIMALUTILIZADO

Como animal para nuestra experiencia, hemos elegido la rata albina macho de la Cepa Wistar, principalmente por su docilidad y fácil manejo, así como por su buena respuesta a las infecciones y a las intervenciones quirúrgicas.

Los animales proceden del criadero existente en el Departamento de Ciencias Morfológicas de la Facultad de Medicina de Valencia.

Los animales se encontraban en jaulas clasificadas según las distintas experiencias y se mantenían a una temperatura ambiente de veintiocho grados centígrados, mediante un acondicionador de aire. Todos los animales seguían la misma dieta.

Se utilizaron un total de cincuenta y cinco machos adultos, cuyos pesos oscilaban entre 260 g. y 317 g., observando previamente que ninguno de los animales presentaba malformaciones o cualquier otra alteración que inhabilitara dicho animal para la experimentación.

Utilizamos ratas machos de seis meses de edad, por estar en plena madurez sexual, al igual que la gran mayoría de hombres que se someten a vasectomía.

Los animales están distribuidos en tres grupos de forma aleatoria :

1.- Animales sometidos a *Vasectomía escrotal bilateral* sacrificados a intervalo de ;una, dos, seis, diez, y catorce semanas postvasectomía.

2.- Animales sometidos a *Vasectomía escrotal bilateral Simulada* sacrificados a intervalo de; una, dos, seis, diez y catorce semanas postvasectomía.

3.- *Animales Testigos*

2.2.- TECNICA QUIRURGICA

En primer lugar se procede al peso de los animales, para poder calcular la dosis de anestésico que debemos utilizar.(Fig.- 1)

Como anestésico, empleamos el *Nembutal* en solución fisiológica al 10 %, a una dosis de 40 miligramos por kilogramo de peso, mediante inyección intraperitoneal.

Transcurridos de cinco a diez minutos, tiempo que tarda en hacer efecto la anestesia, procedemos a inmovilizar al animal en una tablilla, en decúbito supino, fijando tanto sus cuatro extremidades, como los incisivos superiores, mediante una goma elástica.(Fig.- 2)

Una vez que tenemos al animal correctamente anestesiado e inmovilizado estamos en condiciones de comenzar con la vasectomía, técnica quirúrgica que hemos seguido según la descripción que sobre la misma realizó NUÑEZ TAPIA en (1985).(151)

Comenzamos rasurando la región escrotal, seguida de una incisión longitudinal en cada bolsa escrotal, de unos 1'5 centímetros de longitud. (Fig.- 3)

Con unas tijeras de punta roma se disecciona el escroto de los planos profundos, abriendo a continuación el saco vaginal, exponiéndose el testículo, el epidídimo y el conducto deferente.

Una vez que hemos localizado el conducto deferente y a un centímetro aproximadamente de la cola del epidídimo, diseccionamos la arteria deferencial del conducto deferente, para evitar que sea ligada y seccionada por error, hacemos dos ligaduras del conducto deferente, con hilo de seda de 4/0 (Fig.- 4), dejando entre ambas un espacio de unos cinco milímetros de separación. Después de ligar el conducto deferente dejando intacta la arteria deferencial, se procede a la sección del mismo, observando que ambos extremos dejan de estar en conexión.

Posteriormente se cierra la bolsa escrotal junto a la piel, utilizando para ello hilo de seda del 3/0.

Con los animales pertenecientes al grupo de *Vasectomía escrotal bilateral Simulada*, se procede a efectuar una ligera manipulación del

FIGURA nº 1

BALANZA DE TRIPLE BRAZO

FIGURA nº 2

**RATA SUJETA SOBRE UNA TABLILLA PREPARADA
PARA SER INTERVENIDA**

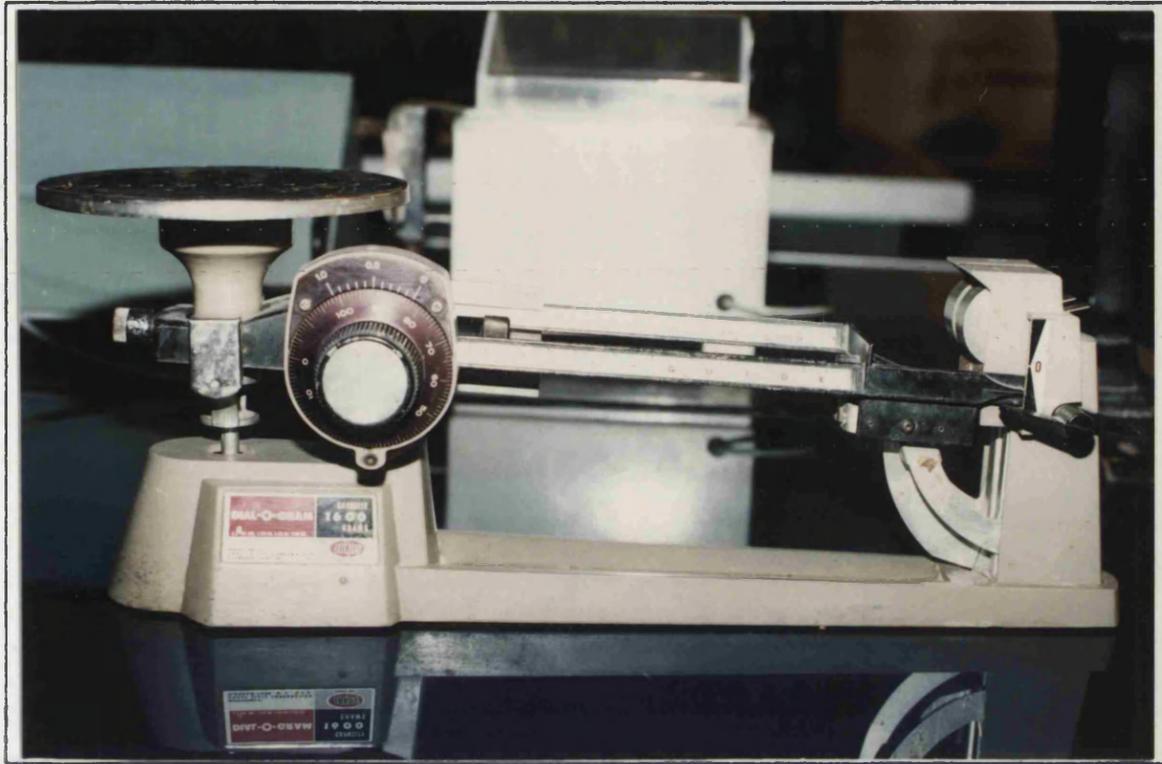


Figura nº 1

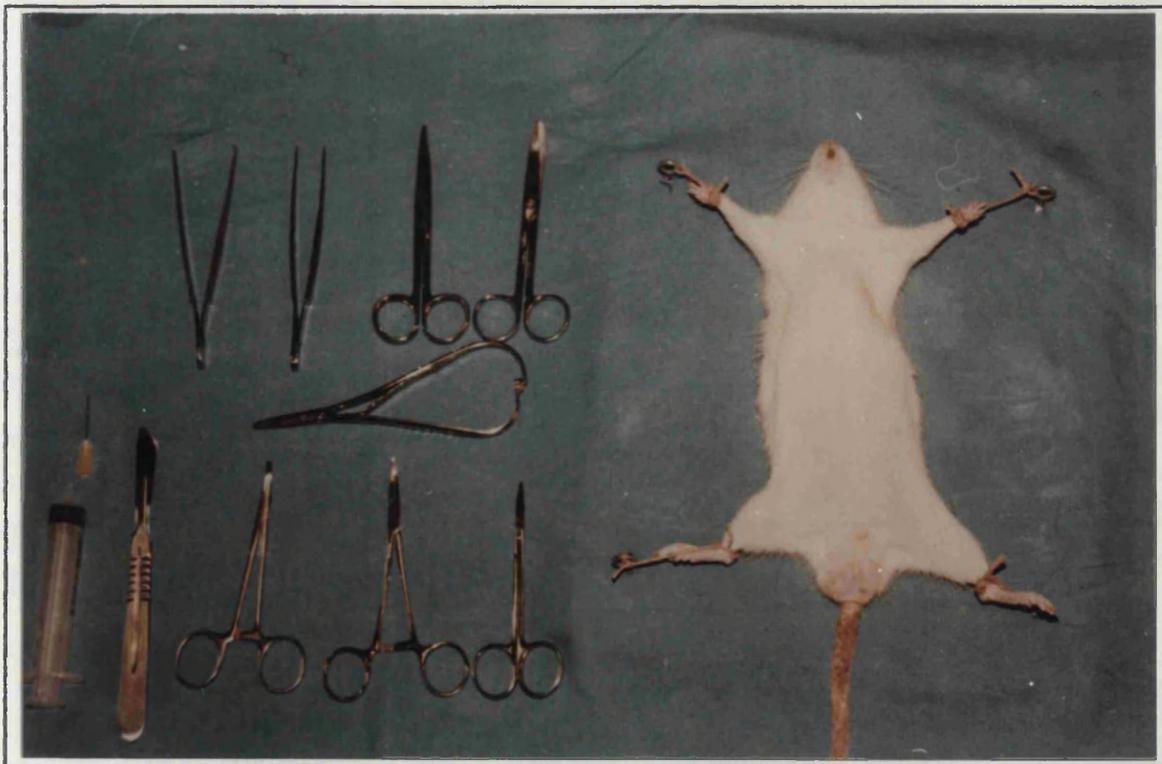


Figura nº 2

conducto deferente mediante la punta roma de una tijera, cerrando posteriormente y del mismo modo que en los animales experimentales la bolsa escrotal

Los animales son señalados, para su posterior identificación, mediante diversas marcas en las orejas.

Una vez que se han recuperado de la intervención quirúrgica, se introducen en jaulas junto a ratas hembras, para comprobar la correcta realización de la técnica quirúrgica, no quedando ninguna preñada durante el tiempo que duró la experimentación, permaneciendo en dichas jaulas hasta que se procedió a su necropsia.

2.3.- NECROPSIA Y OBTENCION DE PIEZAS

Para anestesiar el animal, lo introducimos dentro de una campana con Eter etílico, que hemos colocado previamente en un algodón. Una vez que tenemos el animal completamente dormido, procedemos a pesarlo.

A continuación es inmovilizado de igual manera que lo hicimos para la intervención quirúrgica, estando listos para comenzar la perfusión intracardíaca.

Realizamos una *laparotomía media*, que se extiende desde el hipogastrio hasta la apófisis xifoides del esternón, una vez que hemos seccionado la piel, se procede a disecar la misma de la pared abdominal con unas tijeras de punta roma, observando que no exista ninguna anomalía que invalide el trabajo.

Pinzamos en hipogastrio con unas pinzas de dientes y traccionamos hacia arriba, permitiéndonos cortar la musculatura abdominal mediante un corte transversal, que será seguido de un corte longitudinal ascendente hasta el diafragma, el cual utilizando unas tijeras de punta fina es traccionado desde la apófisis xifoides y seccionado en su totalidad, a continuación realizamos una *toracotomía lateral*, a ambos lados del esternón, con dirección a la articulación acromioclavicular, levantando el peto costal hacia la cara del animal y sujetándolo con una pinza de Cocher.

FIGURA nº 3

**TECNICA QUIRURGICA : Incisión Longitudinal escrotal
bilateral de aproximadamente 1,5 Cm de longitud.**

- 1.- Bolsa Escrotal**
- 2.- Conducto Deferente y Arteria Deferencial**

FIGURA nº 4

TECNICA QUIRURGICA:

- 1.- Doble ligadura del Conducto Deferente efectuada con
seda 4/0,dejando un espacio entre ambas de
aproximadamente 5 mm.**
- 2.- Conducto Deferente en condiciones de ser seccionado**

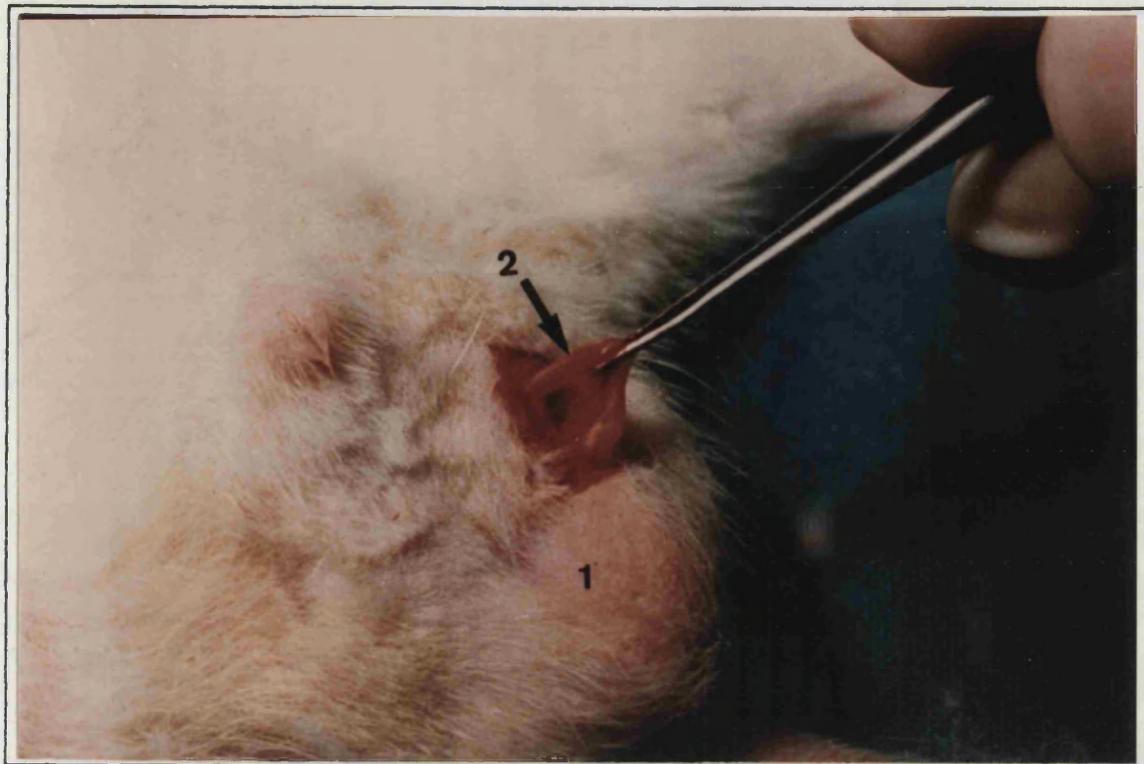


Figura nº 3

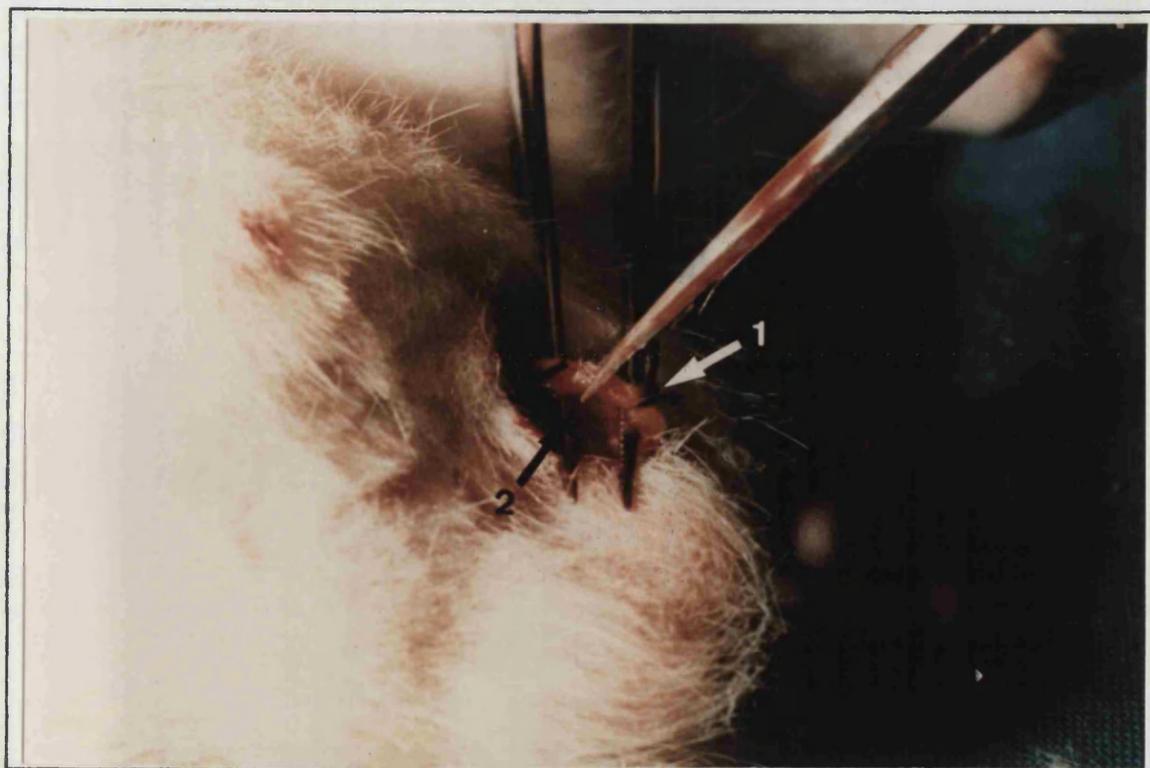


Figura nº 4

Mediante una ligera tracción con unas pinzas finas liberamos al corazón de su grasa pericárdica, de modo que nos permita diferenciar todas las partes anatómicas de dicho órgano, así localizaremos el ventrículo izquierdo, el cual será canalizado con una aguja de 0'8 milímetros de diámetro, previamente seccionada por la mitad reduciendo así su longitud, para evitar el introducirnos por error en la aurícula izquierda, la aguja se sujeta mediante un mosquito curvo que clampa en conjunto las paredes del ventrículo izquierdo y la aguja, una vez asegurada ésta, seccionamos mediante una tijera la orejuela de la aurícula derecha, permitiendo así la salida en primer lugar de la sangre del animal y posteriormente de los líquidos de lavado y fijado.

A través de la cánula que hemos colocado en el ventrículo izquierdo, hacemos pasar entre 300 y 500 mililitros de Suero Fisiológico templado mediante un sistema de gotero, hasta que observamos que el líquido que sale a través de la aurícula derecha, es transparente y tomando como referencia, los vasos mesentéricos, que nos indicarán cuando el animal está perfectamente lavado, ya que estos habrán perdido su color, mostrándose casi transparentes.

Una vez que el animal está correctamente lavado, pasamos a la fijación del mismo, utilizando para ella distinto líquido fijador dependiendo, si el animal es destinado a microscopía óptica, para la cual usamos como fijador el *Formol al 10 %*, o si el animal es destinado a microscopía electrónica, para la cual utilizamos *Glutaraldehído en Buffer al 50 %*.

A medida que el fijador penetra en los tejidos observamos las fasciculaciones de las fibras musculares, y la posterior rigidez del animal, signos que nos indican que la fijación se ha realizado correctamente.

Terminada la perfusión, procedemos a la extracción de las piezas (Fig.- 5), separamos los testículos de las estructuras adyacentes y a continuación los pesamos en una Balanza de Precisión Mod. METTLER - H35 (Fig.-6), y los medimos longitudinalmente y transversalmente mediante un pte de Rey (Fig.- 7 - 8). Una vez que hemos llevado a cabo el protocolo antropométrico de los testículos, los seccionamos transversalmente cogiendo la región central de ambos testículos, secciones de aproximadamente 5 mm. de espesor en aquellas piezas destinadas a

FIGURA nº 5

PIEZA DE NECROPSIA:

- 1.- Testículo
- 2.- Cabeza de Epidídimo
- 3.- Cola de Epidídimo
- 4.- Vesículas Seminales
- 5.- Vejiga Urinaria
- 6.- Próstata
- 7.- Conducto Deferente

FIGURA nº 6

BALANZA DE PRECISION. Mod. METTLER - 435

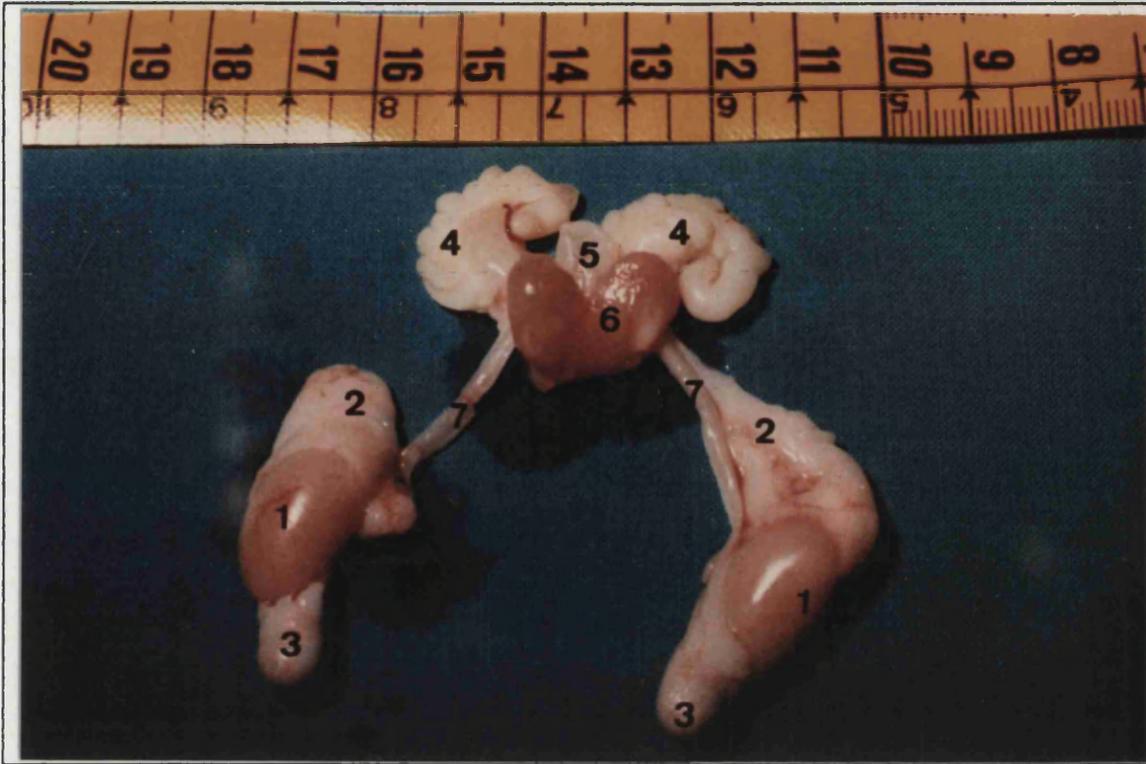


Figura nº 5



Figura nº 6

FIGURA nº 7

MEDIDA LONGITUD TESTICULOS

FIGURA nº 8

MEDIDA DIAMETRO TRANSVERSAL TESTICULOS

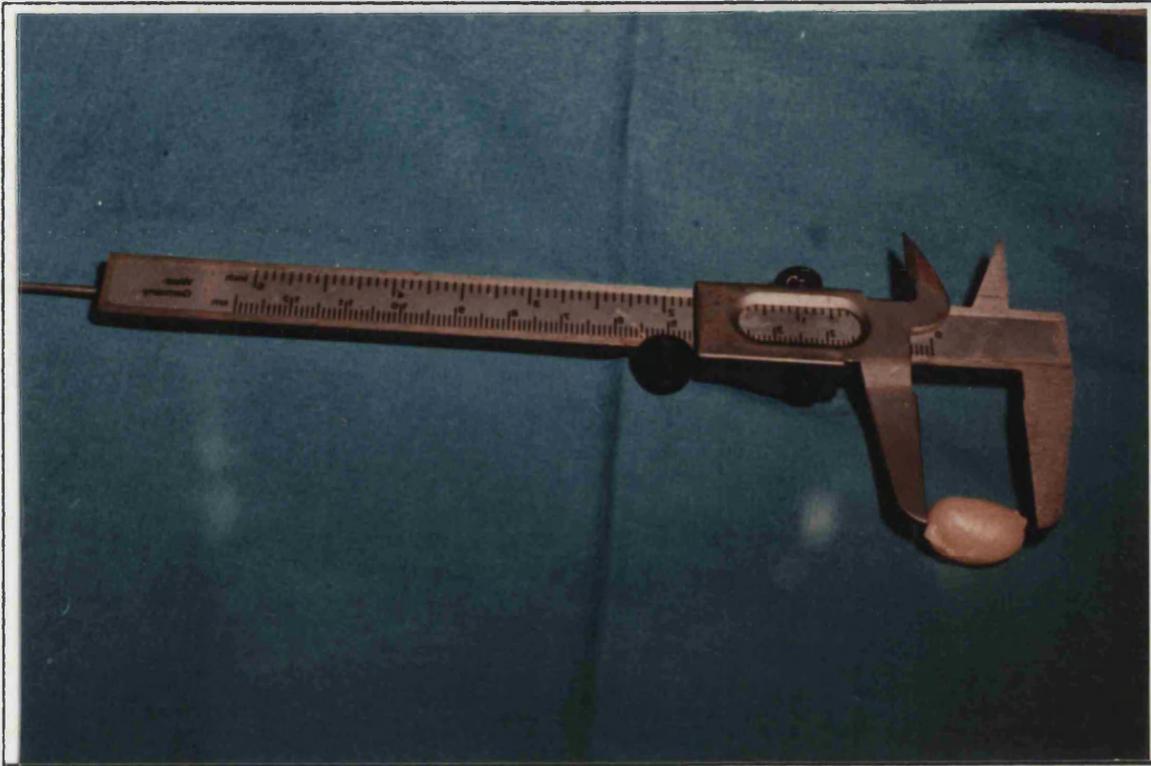


Figura nº 7



Figura nº 8

microscopía óptica, que son introducidas en recipientes distintos según se trate del testículo derecho o del izquierdo, recipiente que contiene *Formalina Neutra*, o *Glutaraldehído al 50 %* para mejorar la fijación de las piezas, lugar donde permanecen hasta el momento de la inclusión en parafina dentro de una estufa a veinticuatro grados centígrados.

2.4.- TECNICAS HISTOLOGICAS PARA EL ESTUDIO A MICROSCOPIA OPTICA

2.4.1.- FIJACION

Utilizamos soluciones de formol al 10 %, cuya composición es la siguiente :

- Formaldehído al 40 % 10 ml.
- Agua destilada 90 ml.

El formol prepara deficientemente la tinción, pero rápidamente, por lo que puede fijar piezas de un tamaño considerable, con lo que se evita una minuciosa disección del material a fijar. No provoca fenómenos de superfijación, por lo que las piezas pueden permanecer en formol durante mucho tiempo.

Estas condiciones de empleo tan sencillas hacen que el formol sea el mejor fijador de conjunto (MARTOJA, 1970).(123)

La solución de formaldehído es inestable transformándose con el tiempo en ácido fórmico por lo que debe neutralizarse mediante la adición de una solución de sosa o carbonato sódico, comprobando su pH con el papel indicador.

A continuación colocamos las piezas en un frasco que contiene agua corriente durante veinticuatro horas. Asegurando así su hidratación.

2.4.2.- DESHIDRATAACION

Las piezas fijadas e hidratadas, tienen que pasar por una serie de alcoholes creciente, utilizando los siguientes tiempos

- Alcohol I - 95 gradosde 20 a 35 minutos
- Alcohol II - 95 gradosde 20 a 35 minutos
- Alcohol absoluto I de 60 a 90 minutos
- Alcohol absoluto II..... de 60 a 90 minutos

Para favorecer la penetración del alcohol en los tejidos utilizamos un agitador. Estos alcoholes se cambian periódicamente, debido a la hidratación de los mismos tras el paso de las piezas y por consiguiente , la pérdida progresiva de su efecto.

2.4.3.- DIAFANIZACION

Consiste en la eliminación del alcohol mediante la introducción de las piezas en un líquido intermediario previo a la inclusión, utilizando para esa finalidad el " Tolueno " con los siguientes pasos :

- Tolueno I de 20 a 30 minutos
- Tolueno IIde 20 a 30 minutos
- Tolueno IIIde 20 a 30 minutos

De esta forma obtenemos unas piezas translúcidas signo de que el alcohol ha sido sustituido por el tolueno.

Los tiempos utilizados deben ser estrictos ya que su prolongación llevarían consigo un endurecimiento de las piezas, lo que se traduciría por un resquebrajamiento de las mismas en el momento de los cortes en el microtomo.

2.4.4.- INCLUSION

Las piezas se sacan del tolueno y se sumergen en parafina pura y líquida que está contenida en una cubeta de cristal, a continuación la guardamos en una estufa a 65 grados centígrados, donde realizamos los siguientes pasos:

- Parafina I..... de 6 a 12 horas
- Parafina II de 6 a 12 horas
- Parafina III de 6 a 12 horas

Es conveniente no alargar el tiempo, ya que el calor perjudicaría la integridad de las piezas.

La inclusión se consigue introduciendo las piezas en unos moldes metálicos destinados a este fin, llenándolos a continuación de parafina líquida pura y orientando la pieza mediante un punzón calentado a la llama de un mechero " Bunsen ". Si durante esta maniobra observamos la formación de alguna burbuja de aire en la parafina todavía líquida, podemos eliminarla mediante la introducción del punzón caliente que la dilata y de ésta forma la burbuja sube a la superficie y desaparece.

A continuación dejamos enfriar la parafina a temperatura ambiente hasta que se solidifique; sumergimos el molde en agua corriente durante 10 ó 20 minutos; al cabo de los cuales podemos retirar el bloque de parafina que ya se encuentra listo para realizar los cortes en el microtomo.

Utilizamos para la obtención de los cortes un microtomo de la casa LEITZ, modelo 1515 de deslizamiento vertical, eléctrico con cuchilla de doble bisel.(Fig.-9)

Moldeamos el bloque de parafina en forma de un tronco de pirámide mediante la espátula caliente y un bisturí, de forma que una vez realizados los cortes puedan ser identificados unos de otros; ya que la base mayor de unos se continúa con la menor del siguiente. Una vez moldeado el bloque de parafina lo fijamos a una platina mediante parafina líquida que obtenemos calentando la base del mismo con una espátula caliente. Este soporte se coloca en el microtomo atornillándolo de forma que quede totalmente perpendicular a la cuchilla y realizamos cortes seriados de un grosor de 10 micras, que son colocados en bandejas de forma ordenada, para su posterior montaje.

FIGURA nº 9

**MICROTOMO DESLIZAMIENTO VERTICAL LEITZ
Mod.1515**

FIGURA nº 10

**MICROSCOPIO AXIOSCOP de ZEISS con cámara fotográfica
automática, Zeiss, M - 35 W**

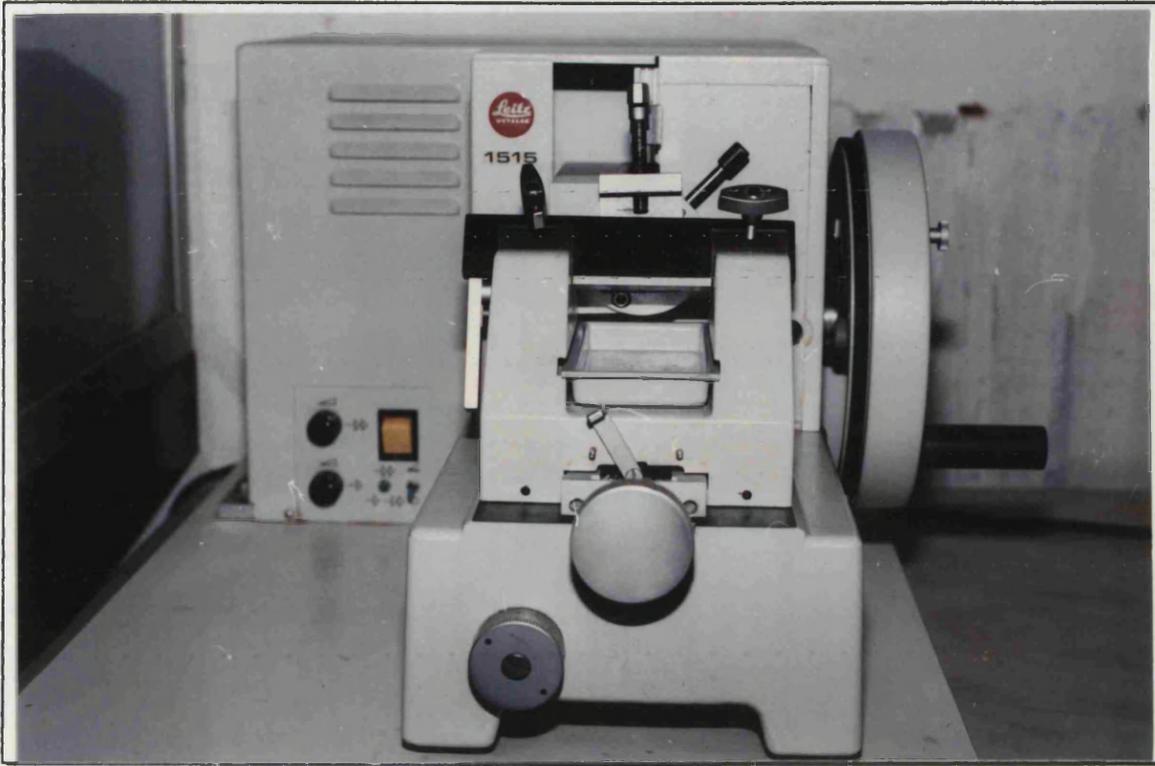


Figura nº 9

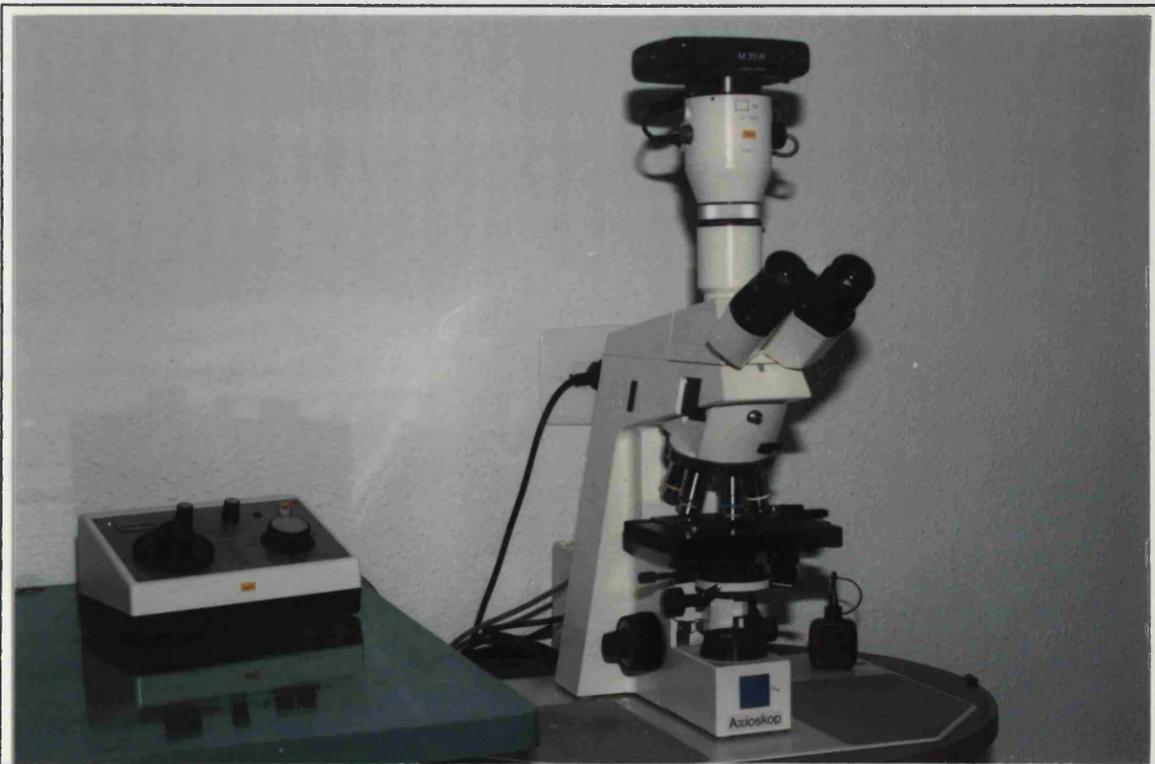


Figura nº 10

2.4.5- MONTAJE DE LOS CORTES

Los cortes se colocan sobre portaobjetos que hemos limpiado correctamente con anterioridad y que hemos rotulado según el protocolo, para la identificación de la pieza. Los portaobjetos son colocados sobre una plancha metálica que se encuentra a una temperatura de 40 a 45 grados centígrados, sobre ellos añadimos unas gotas de Albúmina de Mayer (100 centímetros cúbicos de agua y 25 gotas de Albúmina de huevo), que va a servir para adherir los cortes al portaobjetos, los cortes los depositamos cuidadosamente con un pincel, lo hacemos en pequeñas tiras de cuatro cortes, utilizando punzones para que su extensión sobre el portaobjetos sea correcta.

Una vez escurrida la albúmina sobrante de los portaobjetos, colocamos sobre estos un papel vegetal que previamente ha sido humedecido en agua destilada, y deslizamos sobre el portaobjetos un rodillo, consiguiendo una extensión perfecta de los cortes y la eliminación de las posibles burbujas que pudieran existir entre el cristal y el corte.

Una vez montados los cortes, los dejamos en gradillas dentro de una estufa a 35 ° C de temperatura un mínimo de 24 horas, con el fin de que se sequen y proceder a las tinciones correspondientes.

2.4.6.- DESPARAFINIZACION

Consiste en el proceso de eliminación de la parafina que nos ha servido de soporte en el montaje de la pieza. Es un requisito imprescindible para poder llevar a cabo la tinción.

Para ello introducimos la gradilla que contiene los portaobjetos en una cubeta de cristal que contiene " Xilol 100 % " I - II - II, manteniendo durante 5 ó 7 minutos en cada una de ellas.

A continuación y para eliminar el xilol, pasamos la gradilla, por los siguientes alcoholes :

- Alcohol de 100 grados de 3 a 4 minutos
- Alcohol de 96 grados de 3 a 4 minutos
- Alcohol de 70 gradosde 3 a 4 minutos

2.4.7.- REHIDRATACION DE LOS CORTES

Consiste en introducir la gradilla que contiene los portaobjetos en una cubeta de agua destilada durante un tiempo de 15 a 20 minutos, con la finalidad de hidratar la pieza y de ésta forma facilitar la actuación de los colorantes , ya que la mayoría son hidrosolubles.

2.5.- MÉTODOS DE TINCION A MICROSCOPIA OPTICA

Para el estudio morfológico que hemos realizado en todos los animales, utilizamos los siguientes métodos de tinción:

Métodos Histológicos Generales

- Hematoxilina - Eosina
- Tricómico de Masson ; Variante de Goldner
- Técnica de Azan de Heidenhain
- Método de Nissl

Métodos Histoquímicos

- Método del Acido Peryodico de Schiff (PAS)

2.5.1.- HEMATOXILINA-EOSINA**A) - Reactivos**

- Hernalumbre de P. Mayer

1.- Solución A . Disolver en caliente :

Hematoxilina	1 gramo
Alcohol 90 %	50 cc.

2.- Solución B.

A lumbre potásico	50 gramos
-------------------------	-----------

Agua destilada	100 cc.
----------------------	---------

Mezclar la solución A y B, y filtrar en frío

- Eosina al 1 %.

Eosina amarillenta soluble en agua 0'1 g..

Agua destilada100 cc.

B) - Técnica

- 1.- Teñir 5 -10 minutos en la solución de Hematoxilina de P. Mayer.
- 2.- Lavar en agua corriente durante 10 a 15 minutos.
- 3.- Lavar con agua destilada durante 1 minuto.
- 4.- Coloración con solución de Eosina al 1 % durante 5 a 7 minutos.
- 5.- Lavado con agua destilada durante 1 minuto.
- 6.- Deshidratación con alcoholes "crecientes" de 70 °, 96 ° 100 grados, durante 5 a 10 minutos en cada uno de ellos.
- 7.- Pasar por Xilol, I, II, III, durante 5 minutos cada uno de ellos.
- 8.- Montaje del cubre ayudándonos de EUKITT y evitando que no queden burbujas de aire entre el porta y el cubreobjetos.

C) - Resultados

Los Núcleos se tiñen de azul oscuro.

El Citoplasma se colorea desde una tonalidad rosa a un rojo intenso.

2.5.2.- TRICROMICO DE MASSON.VARIANTE DE GOLDNER

Este método ha sido durante muchos años la coloración topográfica de elección de los laboratorios de investigación citológica, gozando de una fama y prestigio indiscutible. Suscitando una gran cantidad de modificaciones entre las que cabe destacar la variante de Goldner, por la gran belleza que confiere a los cortes.

A) - Reactivos

- Hematoxilina de Groat.

Preparación en frío

Solución A :

- Acido sulfúrico concentrado0'8 ml
- Alumbre férrico 1 gramo
- Agua destilada 50 ml.

Solución B:

- Hematoxilina0'5 gramos
- Alcohol de 95 grados50 ml.

Se mezclan las soluciones A y B y las dejamos reposar durante una hora, al término de la misma , se filtran y puede conservarse durante tres meses.

- Fucsina ácida de Ponceau.

Preparación en frío

- Ponceau S 0'2 gramos
- Fucsina ácida0'1 gramos
- Agua destilada300 ml.

Después de obtenida la disolución añadir ácido acético 0'6 ml, conservación indefinida.

- Acido fosfomolibdico - Orange.

Preparación en frío

- Orange G2 a 3 gramos
- Ac. Fosfomolibdico1 gramo
- Agua destilada100 ml.

Conservación ilimitada.

- Verde luz acético.

Preparación en frío

- Verde luz0'2 ml.

- Ac. acético glacial puro0.2 ml.
- Agua destilada100 ml.

- Solución acuosa de ácido acético al 1 %.

B) - Técnica

- 1.- Teñir con hematoxilina de Groat durante 2 minutos
- 2.- Lavado en agua corriente durante 5 minutos
- 3.- Lavado en agua destilada durante 1 minuto
- 4.- Teñir con Fucsina Ponceau durante 5 minutos
- 5.- Diferenciar en agua acética al 1 %
- 6.- Lavado en agua destilada durante 1 minuto
- 7.- Teñir con Naranja - G- molibdato durante 5 minutos
- 8.- Diferenciar en agua acética al 1 %
- 9.- Lavado en agua destilada durante 1 minuto
- 10.- Tinción con Verde luz durante 5 minutos.
- 11.- Diferenciar en agua acética al 1 %
- 12.- Lavado en agua destilada durante 1 minuto
- 13.- Deshidratar con alcoholes " crecientes" de 70, 96, 100 grados durante 5 minutos en cada uno.
- 14.- Diafanización con Xilol, I, II, III, durante 5 minutos en cada uno de ellos.
- 15.- Montaje

C) - Resultados

- Núcleo se tiñe de negro
- Nucleolo se tiñe de rosa
- Citoplasma acidófilo se tiñe rosa
- Fibras de colágena y estructuras ricas en polisacáridos se tiñe de verde
- Ergastoplasma se tiñe de gris
- Secreciones se tiñen de rojo o verde
- Fibras musculares se tiñen de rojo

2.5.3.- TECNICA DE AZAN DE HEIDENHAIN

Esta técnica une las ventajas del azul de anilina en tanto que colorea las fibras de colágena, con una tinción nuclear de precisión que iguala a la de las lacas regresivas de hematoxilina y la de los reactivos nucleares; por otra parte, pocas técnicas aseguran una coloración tan diferenciadora de los gránulos de secreción.

A) - Reactivos

- Solución Acuosa de Azocarmin.

- Azocarmin - G 0'05 - 0'1 %
- Acido Acético 1 - 2 ml.
- Agua destilada 100 ml.

- Alcohol de Anilina.

- Alcohol de 70 grados 100 ml
- Anilina 1 ml

- Alcohol Acético

- Alcohol de 96 grados 100 ml
- Acido Acético 1 ml

- Solución acuosa de Acido Fosfotungstico

- Acido Fosfotungstico 5 gramos
- Agua destilada 100 ml

- Azul de Heidenhain

(Disolver en caliente)

- Azul de Anilina 0'5 gramos
- Naranja - G 2 gramos
- Agua destilada 100 ml.

Dejar enfriar , luego añadir :

- Acido Acético 8 ml.

Diluir en el momento de usar con 2 ó 3 volúmenes de

agua destilada

B) - Técnica

- Desparafinar, Colodionar, Hidratar.
- Colorear con Azocarmín previamente calentado a 60 grados en estufa durante 1 hora.
- Lavar con agua destilada sin dejar enfriar
- Diferenciar bajo microscopio con alcohol de anilina. Se puede tener de 2 a 3 minutos, la diferenciación se puede detener metiendo los cortes en alcohol acético el tiempo que sea necesario.
- Bañar en alcohol acético de 30 segundos a 1 minuto
- Lavar en agua destilada
- Acido Fosfotungstico de 30 a 60 minutos, dependiendo de la diferenciación :
 - ... Si la diferenciación ha sido larga, se tendrá poco tiempo en el ácido fosfotungstico (20 - 30 minutos)
 - ... Si la diferenciación ha sido corta, se tendrá más tiempo en el ácido fosfotungstico.
- Lavar en agua destilada
- Azul de Heidenhain durante 30 a 60 minutos
- Deshidratar con alcohol de 96 grados o directamente con alcohol absoluto.(El paso con agua destilada no está indicado salvo que se quiera disminuir la intensidad de la luz).
- Aclarar con xilol
- Montar con Eukitt

C) - Resultados

- Núcleos se tiñen de color rojo brillante.
- Citoplasmas, se tiñen de color amarillo
- Fibras de colágena se tiñen de color azul oscuro.
- Secreciones se tiñen de color rojo, azul oscuro o violeta.

- Las fibras muscular estriada se tiñe de color naranja o amarillo
- Las fibras elásticas son incoloras
- La fibroglía se tiñe de color rojo pálido.

2.5.4.- METODO DE NISSL

- Desparafinar
- Hidratar:
 - ... Acetona de 100 5 minutos
 - ... Acetona de 90 5 minutos
 - ... Acetona de 70 5 minutos
- Lavar en agua destilada
- Teñir con Azul de Toluidina (3 g. por 300 cc de buffer)
durante 5 a 10 minutos
- Lavar en agua corriente
- Lavar en agua destilada
- Lavar en agua acética durante 50 a 75 segundos.
- Deshidratar con alcoholes de 70, 96, 100 grados durante 5 minutos cada uno de ellos.
- Pasar por Xilol;I, II, III, durante 5 minutos cada uno de ellos.

2.5.5.- METODO DEL ACIDO PER-IODICO DE SCHIFF (PAS)

A) - Reactivos

- Reactivo de Schiff :

Disolver en 200 mililitros de Agua destilada hirviendo

1 gramo de Fucsina Básica, dejar enfriar , filtrar y añadir :

... Metabisulfito potásico 2 gramos

... Acido Clorhídrico Normal 10 ml.

Dejar que la solución se decolore, agitando
de vez en cuando durante 12 a 24 horas, y
añadir :

... Carbón activado 0'5 gramos.

Agitar, dejar sedimentar y filtrar

- Acido Per-iódico en solución acuosa al 1 %

B) - Técnica

- 1.- Desparafinar, Hidratar
- 2.- Tratar en Acido Per-iódico durante 10 minutos
- 3.- Lavar con agua corriente durante 10 minutos
- 4.- Lavado rápido en agua destilada.
- 5.- Tratar con el reactivo de Schiff durante 10 minutos
- 6.- Enjuagar en agua destilada

Coloración de los Núcleos con Azul de Toluidina

- 7.- Tratar con Azul de Toluidina durante 2 minutos
- 8.- Lavar con agua Acética al 0'3 %
- 9.- Diferenciar el alcohol de 95 grados
- 10.- Deshidratar y montar.

C)- Resultados

Los carbohidratos se colorean en magenta o en púrpura.

Los materiales teñidos con la reacción del PAS se denominan PAS-positivos. Los que no se colorean se denominan PAS-negativos.

2.6.- TECNICA FOTOGRAFICA PARA MICROSCOPIA OPTICA

Para las microfotografías hemos utilizado el microscopio AXIOSCOP de ZEISS con cámara fotográfica automática, para velocidad, apertura de diafragma y arrastre de película, Zeiss M - 35 W, con obturador 10 X , y objetivos Zeiss Plan - Neofluar de 2'5 x / 0'075 ; 10 x / 0'030 ; 20 x / 0'050 ; 40 x / 0'075 ; 100 x / 1'30.(Fig.- 10)

Los objetivos utilizados han sido 100 x 1'25 x ocular 10 x .

Para las fotografías y diapositivas en color las películas usadas han sido. AGFACOLOR XRG 100 ASA; AGFACOLOR ULTRA 50 ASA.

2.7.- TECNICAS PARA EL ESTUDIO A MICROSCOPIA ELECTRONICA

De cada serie de animales tanto experimentales, como simulados, hemos elegido uno al azar para su estudio a microscopía electrónica.

2.7.1.- OBTENCION DE PIEZAS Y FIJACION

Anestesiarnos al animal en la campana con éter etílico, a continuación lo pesamos en una balanza de triple brazo y lo perfundimos del mismo modo que lo hicimos según la técnica descrita anteriormente, utilizando como fijador una solución de Glutaraldehído en Buffer al 5 %.

Preparación del Fijador :

- Solución de Glutaraldehído al 25 % 1 Volumen
- Solución de Buffer fosfato (pH 7'5)4 Volúmenes.

Una vez fijado el animal, procedemos a la extracción de ambos testículos, siendo pesados y medidos al igual que lo fueron los testículos de los animales destinados a microscopía óptica.

Troceamos los testículos, utilizando unas tijeras de Weber, bisturí, pinzas y una lupa esteroscópica para conseguir fragmentos de uno a dos milímetros cúbicos de espesor de la región central del testículo, y que posteriormente depositaremos en unos pocillos llenos de líquido fijador.

Los mantenemos durante dos horas a cuatro grados centígrados en nevera, durante éste tiempo y a intervalos periódicos se remueven para que queden bien impregnados de la solución fijadora.

A continuación, lavamos las piezas mediante dos pasos consecutivos en solución " Buffer ", durante quince minutos cada uno:

- Solución A : Fosfato Potásico, 98 g. en 100 cc de agua destilada.
- Solución B : Fosfato Sódico o disódico, 23'76 g. en 200 cc de agua destilada.

Se mezclan ambas soluciones e el momento de su uso, hasta conseguir un pH de 7'5.

A continuación y para completar la fijación de las proteínas y lípidos utilizamos el Tetraóxido de Osmio, manteniendo las piezas en contacto con él durante dos horas. Su preparación se consigue disolviendo el contenido de una ampolla de 0'25 g. de Tetraóxido de Osmio en 25 cc, de una solución de sacarosa en 100 cc de una solución de Buffer. Obteniéndose una solución de Tetraóxido de Osmio al 2 % .

Lavamos en dos pasos sucesivos de quince minutos cada uno en solución de Buffer, eliminando así los restos de tetraóxido de osmio.

2.7.2.- DESHIDRATACION

Se realiza en tres pasos sucesivos, de 30 minutos cada uno, en Acetonas progresivas al 30 %, al 50 % y al 75 % .

Contrastamos los cortes mediante un paso en Acetato de Uraniilo al 2 %, en Acetona al 75 %, durante 2 horas y a 4 ° C ; a continuación se siguen los pasos por las Acetonas de 90 % y dos pasos por Acetonas de 100 %, con una duración de 30 minutos cada uno de ellos.

2.7.3.- INCLUSION

Utilizamos DURCUPAN (de la casa FLUKA), que es una resina hidrosoluble, incolora, de poca viscosidad y que se filtra fácilmente en los tejidos, sin producir retracción de los mismos. Presenta además la ventaja de que al haber

sido realizada la fijación con un aldehído (Glutaraldehído al 50 %), la hidrólisis enzimática y la coloración electrónica se efectúan muy bien, al quedar algunos grupos activos que se combinarán con los colorantes.

El proceso se realiza en varios pasos de dos horas cada uno :

1º .- Durcupan I. en Acetona al 100 % a 4 ° C.

... Acetona al 100 %3 Volúmenes
... Durcupan I1 Volumen

2º .- Durcupan I. en Acetona al 100 % a 4° C.

... Acetona al 100 %1 Volumen
... Durcupan I.1 Volumen

3º .- Durcupan I. en Acetona al 100 % a 4 ° C.

... Acetona al 100 %1 Volumen
... Durcupan I3 Volúmenes

4º.- Durcupan I.

Dos pasos de 2 horas cada uno

5º.- Durcupan II.

El tercer paso podemos dejarlo durante 12 horas en pequeños frascos de cristal cubiertos para que se evapore la Acetona, permaneciendo al igual que los pasos sucesivos a temperatura ambiente.

Preparación del Durcupan I y II.:

La casa FLUKA tiene éste preparado, envasado en cuatro frascos marcados con las letras A/M, B, C, D, al combinarlos entre sí obtenemos el Durcupan I y II.

- Durcupan I :

Componente A /M (*Epoxirresina*) 10 cc

Componente B (*Endurecedor 964, anhídrido de ácido
decarboxílico con cadena lateral alifática*) . 10 cc

Componente D (*Plastificante, dibutilftalato*)0'15 cc

- Durcupan II :

Además de los componentes del Durcupan I., lleva el componente C (*Acelerador 960, derivado fenólico con un grupo amino*) 0'45 cc.

La mezcla se realiza en un matríz de Erlenmeyer, utilizando un agitador magnético y sometiendo varias veces al vacío, para eliminar posibles burbujas de aire que pudieran existir.

2.7.4.- POLIMERIZACION

Introducimos el Durcupan II en unos moldes de goma preparados al efecto (Mod. 11039 y 11035), moldes que presentan unos huecos en forma de pirámide cuadrangular, en los que tras colocar el Durcupan II, introducimos las piezas orientadas con la superficie de corte próxima a la base inferior.

La temperatura a la que se realiza este proceso es de 60 °C, en estufa, durante un tiempo de 72 horas. Terminado el proceso, se extraen del molde el Durcupan endurecido que contiene las piezas y las etiquetamos para su identificación evitando el contacto con la luz.

**2.7.5.- OBTENCION DEL ULTRACORTE Y TINCION CON AZUL DE
TOLUIDINA ALCALINO**

Una vez que ya tenemos el bloque de Durcupan que contiene la pieza incluida, es necesario reducir al máximo la cantidad de resina sobrante en la superficie, para lo cual tallaremos el bloque en forma de pirámide, en cuya base menor quedará situada la pieza, para ello utilizamos un *Piramitone* de la casa LKB tipo 11.800.(Fig.- 11)

El elemento cortante lo constituyen unos cuchillos de cristal, de sección triangular y fabricados mediante el corte de unas barras de cristal común, utilizando un *Knife Maker* (LKB) Mod. 7801 B (Fig.- 12), mediante el cual obtenemos un ángulo de borde cortante de 45 ° aproximadamente. Los cuchillos deben ser seleccionados mediante control microscópico de su filo.

FIGURA nº 11

PIRAMITONE DE LA CASA L.K.B. tipo: 11.800.

FIGURA nº 12

KNIFE MAKER L.K.B. Mod. 7801 B

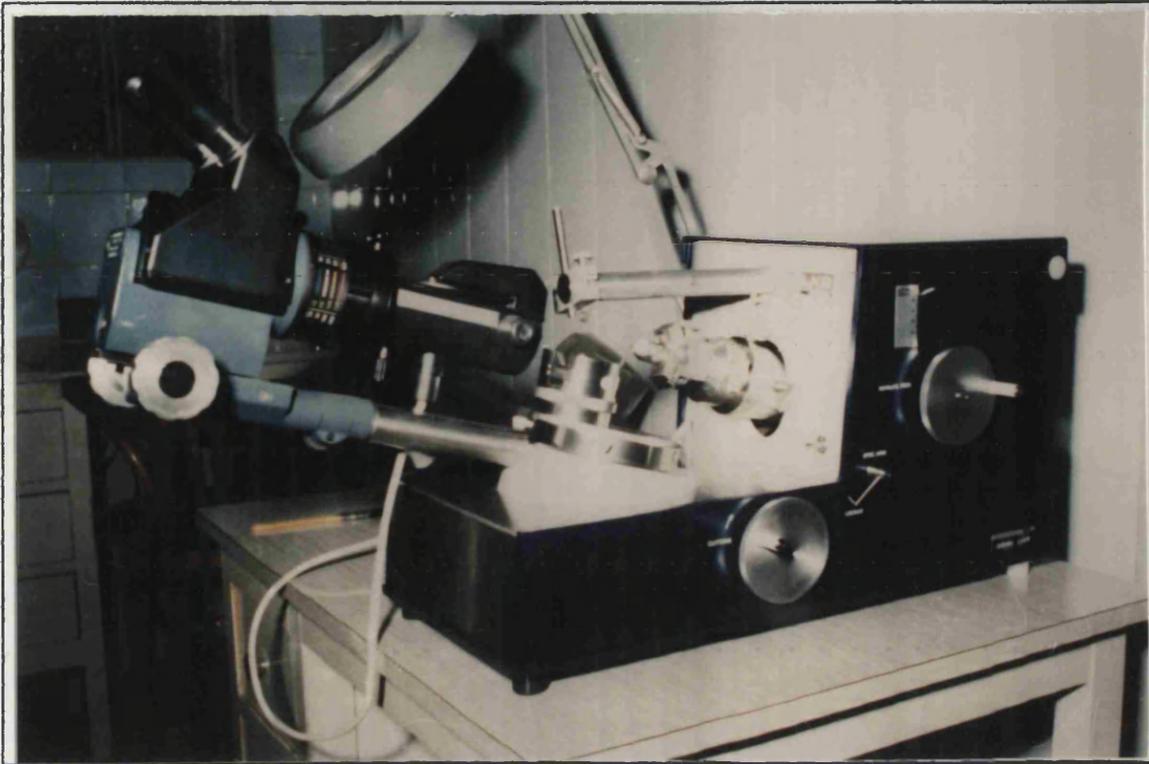


Figura nº 11



Figura nº 12

Seleccionado el cuchillo, acoplamos a él unos pocillos de plástico desechables que pegamos mediante parafina líquida, de modo que construimos un pequeño recipiente, en el que el borde anterior lo constituye el filo de la cuchilla y el cual llenaremos con agua destilada, siendo su misión recoger los cortes que vayamos realizando.

Ya nos encontramos en condiciones de cortar la pieza, utilizando para ello un *Ultramicritomo* de la casa SORVALL Mod. MT. 5000 (Fig.- 13) y un *Ultramicrotomo* de la casa JEOL Mod. JUM - 7.(Fig.- 14) A medida que los cortes semifinos (de 1μ) (cortes que nos van a servir como referencia de microscopía óptica previa y para selección de la zona de la pieza de la que obtendremos cortes ultrafinos), van cayendo al recipiente, los vamos pescando con una varilla de cristal fina y los depositamos sobre un portaobjetos que contiene unas gotas de agua destilada, a continuación se coloca el portaobjetos sobre una plancha metálica a 40°C , hasta que se evapora el agua destilada, añadimos unas gotas de Azul de Toluidina Alcalino sobre los cortes, permaneciendo el portaobjetos sobre la plancha hasta que aparece un halo dorado alrededor de la zona ocupada por el colorante, entonces eliminamos el exceso de colorante mediante un chorro de agua corriente, seguido de otro chorro de agua destilada.

- Reactivos :

- Borax al 1 % : se disuelven 2 g. (Borato sódico) en 200 cc de agua destilada.
- Se disuelven 0'5 g. de Azul de Toluidina en 100 cc. de Borax al 1 % filtrándose antes de su uso.

Secamos el portaobjetos y lo cubrimos con un cubreobjetos y EUKITT estando listos para su visualización al microscopio óptico.

Una vez elegida la zona adecuada al observar los cortes semifinos, se realizarán los cortes ultrafinos.

Para la obtención de los cortes ultrafinos ($< 600 \text{ \AA}$), el mecanismo es básicamente el mismo que para la obtención de semifinos, si bien la calidad de los cuchillos deber ser excelente y el tamaño de la pieza muy reducido, dependiendo de ello en mucho la calidad de los cortes obtenidos.

FIGURA nº 13

**ULTRAMICROTOMO DE LA CASA SORVALL
Mod. MT - 5000**

FIGURA nº 14

**ULTRAMICROTOMO DE LA CASA JEOL
Mod. JUM-7**

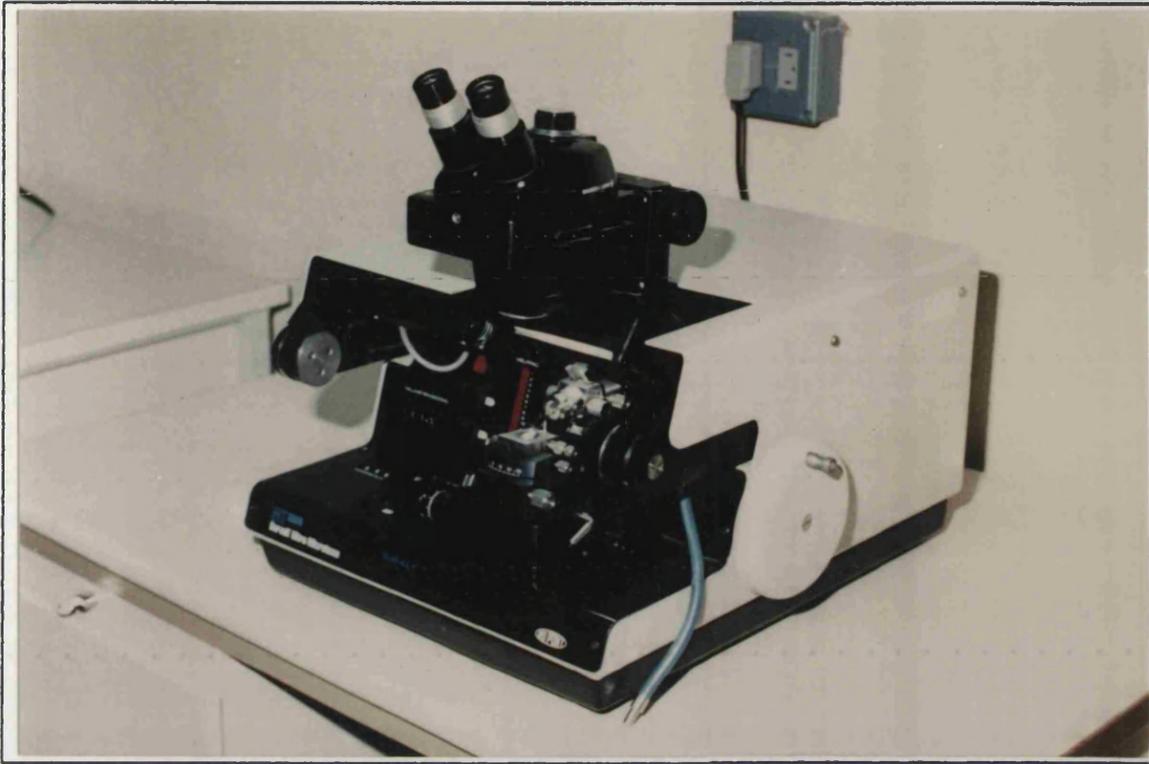


Figura nº 13

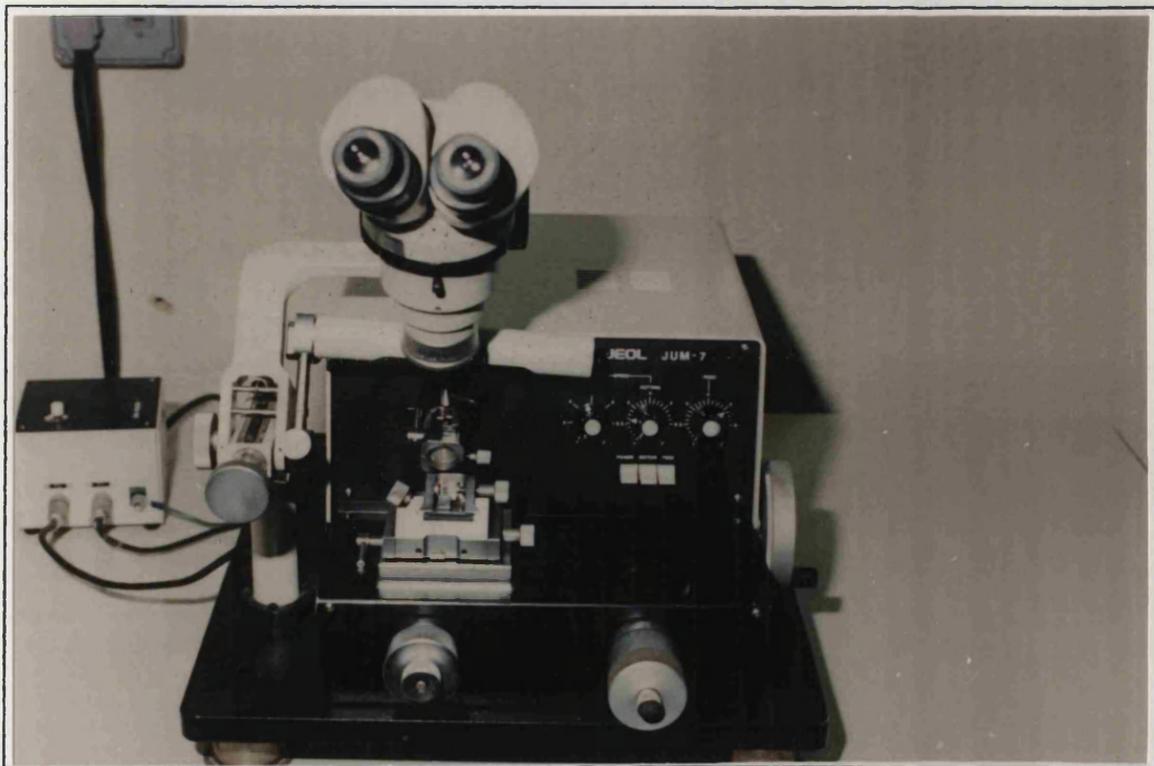


Figura nº 14

El espesor de los cortes se valora aproximativamente mediante el color de interferencia al ser observados, producido por la luz blanca que incide sobre los cortes que flotan en el agua destilada y al atravesar sustancias de distinto grosor, si bien el color puede variar ligeramente según el ángulo de incidencia de la luz con la que visualicemos los cortes y que no debe ser superior a los 45 °.

Para la determinación del espesor nos basamos en la escala de colores de Mercer y Birbeck (1974) :

COLOR	ESPESOR	UTILIDAD
Gris	< 600 Å	Alta Resolución
Plateado	600 - 900 Å	Muchos Propósitos
Dorado	900 - 1500 Å	Pocos Aumentos
Púrpura	1500 - 1900 Å	Muy Gruesos
Azul	1900 - 2800 Å	Muy Gruesos
Verde	2400 - 2800 Å	Muy Gruesos
Amarillo	2800 - 3200 Å	Muy Gruesos

Seguindo esta escala de colores, sólo recogemos los cortes cuyo color sea gris o plateado, para recoger los cortes utilizamos unas rejillas de soporte de soporte, muy delgadas de 0'25 milímetros de espesor máximo, generalmente de cobre. Utilizamos rejillas de Barras E.M. Specimen Grid Box de LKB, Mod. 5664829 A - 15 (R Mesh bar 5 µ), cuyo diámetro mayor es también de 3 milímetros y el orificio central presenta barras horizontales con una superficie útil de 117 x 11 µ.

Las rejillas son recubiertas con una película de FORMVAR (*Polivinilo rígido, 500 cc de Dicloroetano líquido con 125 mg. de Formvar en polvo*) que permite estabilizar el corte sobre la misma.

Sujetamos las rejillas con unos forceps finos y mediante un mecanismo de contacto aproximando la rejilla por la cara que contiene el

FIGURA nº 15

**MICROSCOPIO ELECTRONICO DE TRANSMISION
DE LA CASA JEOL Mod. 100 - S, con una capacidad
resolutoria de 4.0 Å. Ubicado en el Servei Central de
Microscopía Electrónica. Universitat de Valencia.
Burjassot.**

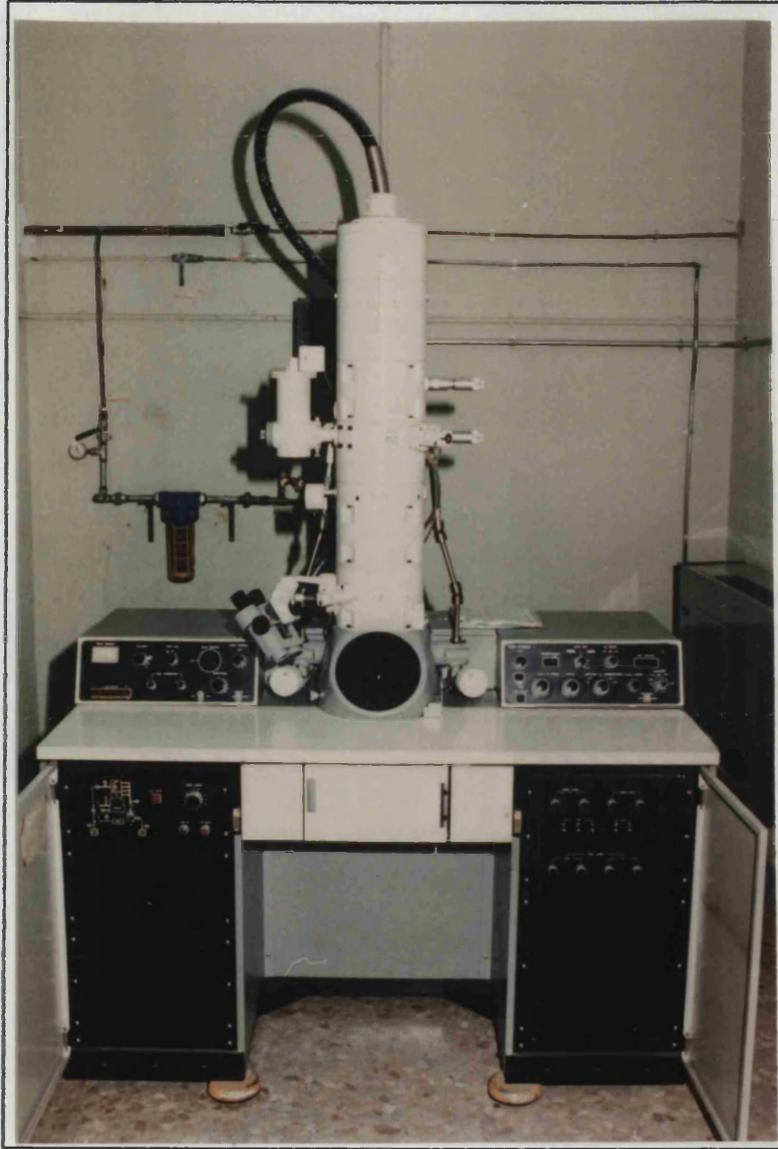


Figura nº 15

Formvar hasta que contacta con el corte seleccionado y así es extraído, las rejillas se dejan a secar y se colocan en una placa de Petri, en cuyo fondo pusimos previamente papel de filtro.

A continuación procedemos a contrastar los cortes con Citrato de Plomo según el método de REYNOLDS E. (1963) (175).

- Solución de Citrato de Plomo :

Nitrato de Plomo.....1'3 g.
Citrato Sódico.....1'76 g.
Agua destilada.....30 cc.

El agua destilada se hierve a fuego lento durante quince minutos, en un matríz tapado con un algodón estéril al fin de que se desprendan los gases contenidos en el (O_2CO). Pasados unos quince minutos se enfría bruscamente por inmersión del recipiente en agua fría y se añaden 8 cc. de solución normal de Hidróxido Sódico, agitando hasta que se haga totalmente transparente.

Colocamos unas gotas de Citrato de Plomo sobre una placa de Petri, que contiene cera de dentista en el fondo para hacer visibles las gotas, aplicamos las rejillas por el lado que están montados los ultracortes durante un tiempo de 15 - 30 minutos, pasado este tiempo recogemos las rejillas y se levantan en agua, secándolas con un papel de filtro, siendo depositadas en una placa de Petri con papel de filtro en el fondo, quedando listas para ser observadas al microscopio electrónico.

2.7.6.- APARATO UTILIZADO

El estudio y registro fotográfico de las muestras se ha llevado a cabo en un Microscopio Electrónico de Transmisión de la casa JEOL, Mod 100 - S, con una capacidad resolutoria de 4.0 \AA . (Fig.- 15)

Las electromicrografías han sido realizadas a los siguientes aumentos : 5 \AA , 6 \AA , 8 \AA , 10 \AA , 20 \AA y 30 \AA .

El material fotográfico utilizado han sido placas para negativo de la casa VALCA ($8'9 \times 12'7$ Valca - broval RC).

2.8.- METODOESTADISTICO

Se ha realizado la estadística descriptiva de cada grupo y parámetro (media, desviación estándar, rango ...), verificando si los datos cumplían las hipótesis de normalidad e igualdad de varianzas, pasando a valorar las posibles diferencias estadísticas entre ellos mediante el test t de Student para muestras dependientes o independientes según el caso.

Se ha utilizado el test ANOVA de una vía de clasificación, para las comparaciones globales entre los distintos grupos experimentales, junto el test Scheffe de comparación múltiple. En todos los casos el nivel de significación se estableció para un alfa = 0.05.

Todos los cálculos se realizaron con el programa Stat view ®, efectuando las representaciones gráficas con los programas Cricket Graph 1.3.1 y Delta Graph, para un ordenador Apple Macintosh Classic.

FIGURA nº 16

COMPUTADOR MACINTOSH CLASSIC



Figura nº 16

CASUSITICA Y PROTOCOLOS

3.- CASUISTICA Y PROTOCOLOS

Para nuestro trabajo experimental hemos utilizado, un total de 55 animales, ratas machos, cuyos pesos oscilaron entre 260 gramos y 317 gramos, animales que fueron distribuidos del siguiente modo :

- Grupo Experimentales : formado por 25 animales, sometidos a *Vasectomía Escrotal Bilateral*.

- Grupo Simulados : formado por 25 animales, sometidos a *Vasectomía Escrotal Bilateral Simulada*.

- Grupo Testigo : formado por 5 animales, cuatro de los cuales se dedicaron al estudio morfológico a microscopía óptica y uno al estudio a microscopía electrónica.

Los animales de los grupos Experimentales y Simulados, se agruparon en series de cinco ratas cada una, siendo estudiadas a intervalos de una, dos, seis, diez y catorce semanas postvasectomía.

De cada serie se seleccionó un animal al azar , para su estudio a microscopía electrónica, el resto de los animales de cada serie, se dedicó al estudio de microscopía óptica.

Hemos desechado y repuesto todos los animales fallecidos durante el aprendizaje de la técnica quirúrgica, los fallecidos durante los días siguientes a la intervención y también aquellos animales , que al realizar la necropsia, presentaban alteraciones locales (granuloma espermático, adherencias, etc...) o generales , que pudieran alterar el resultado del estudio morfológico de los testículos.

EXPERIMENTAL UNA SEMANA MICROSCOPIA OPTICA

Casuística y Protocolos

Estudio Morfológico de las Células Intersticiales
Tras practicar vasectomía en la rata albina.

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
1	27 - 4 - 88	308 g.	4 - 5 - 88	293 g.	1,74 g.	1,72 g.	20 mm.	18 mm.	13 mm.	13 mm.
2	27 - 4 - 88	303 g.	4 - 5 - 88	309 g.	1,66 g.	1,65 g.	18 mm.	17 mm.	12 mm.	11 mm.
3	4 - 5 - 88	262 g.	11 - 5 - 88	260 g.	1,65 g.	1,63 g.	15 mm.	15 mm.	9 mm.	8 mm.
4	4 - 5 - 88	305 g.	11 - 5 - 88	272 g.	1,76 g.	1,79 g.	20 mm.	22 mm.	12 mm.	12mm.

EXPERIMENTAL DOS SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
5	20 - 4 - 88	316 g.	4 - 5 - 88	320 g.	1,53 g.	1,48 g.	19 mm.	18 mm.	12 mm.	12 mm.
6	20 - 4 - 88	285 g.	4 - 5 - 88	295 g.	1,75 g.	1,50 g.	20 mm.	19 mm.	13 mm.	13 mm.
7	18 - 5 - 88	283 g.	1 - 6 - 88	295 g.	1,56 g.	1,45 g.	19 mm.	18 mm.	12 mm.	12 mm.
8	18 - 5 - 88	282 g.	1 - 6 88	290 g.	1,41 g.	1,31 g.	19 mm.	18 mm.	11 mm.	10 mm.

Casuística y Protocolos

Estudio Morfológico de las Células Intersticiales
tras practicar vasectomía en la rata albina.

EXPERIMENTAL SEIS SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

Casuística y Protocolos

Estudio Morfológico de las Células Intersticiales tras practicar vasectomía en la rata albina.

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
9	18 - 5 - 88	264 g.	29 - 6 88	280 g.	1,32 g.	1,35 g.	18 mm.	19 mm.	12 mm.	11 mm.
10	18 - 5 - 88	260 g.	29 - 6 - 88	278 g.	1,30 g.	1,38 g.	17 mm.	16 mm.	11 mm.	10 mm.
11	25 - 5 - 88	273 g.	6 - 6 - 88	291 g.	1,62 g.	1,56 g.	15 mm.	14 mm.	9 mm.	9 mm.
12	25 - 5 - 88	273 g.	6 - 6 - 88	290 g.	1,33 g.	1,34 g.	16 mm.	15 mm.	11 mm.	12 mm.

EXPERIMENTAL DIEZ SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
13	24 - 3 - 88	308 g.	1 - 6 - 88	311 g.	1,51 g.	1,63 g.	19 mm.	20 mm.	12 mm.	12 mm.
14	24 - 3 - 88	302 g.	1 - 6 88	350 g.	1,41 g.	1,51 g.	13 mm.	19 mm.	11 mm.	13 mm.
15	5 - 7 - 88	303 g.	13 - 9 - 88	316 g.	1,35 g.	1,34 g.	16 mm.	15 mm.	10 mm.	10 mm.
16	5 - 7 - 88	286 g.	13 - 9 - 88	293 g.	1,34 g.	1,33 g.	15 mm.	15 mm.	10 mm.	8 mm.

EXPERIMENTAL CATORCE SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
17	10 - 3 - 88	266 g.	15 - 6 - 88	365 g.	1,58 g.	1,76 g.	18 mm.	20 mm.	12 mm.	16 mm.
18	10 - 3 - 88	295 g.	15 - 6 - 88	404 g.	1,76 g.	1,68 g.	22 mm.	20 mm.	13 mm.	12 mm.
19	5 - 7 - 88	312 g.	11 - 10 - 88	420 g.	1,70 g.	1,75 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	12 mm.
20	5 - 7 - 88	278 g.	11 - 10 - 88	315 g.	1,59 g.	1,63 g.	15 mm.	17 mm.	10 mm.	11 mm.

SIMULADA UNA SEMANA MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
21	26 - 10 - 88	297 g.	2 - 11 - 88	302 g.	1,64 g.	1,68 g.	16 mm.	17 mm.	9 mm.	10 mm.
22	26 - 10 - 88	295 g.	2 - 11 - 88	300 g.	1,65 g.	1,69 g.	16 mm.	17 mm.	10 mm.	10 mm.
23	26 - 10 - 88	302 g.	2 - 11 - 88	308 g.	1,67 g.	1,65 g.	18 mm.	17 mm.	12 mm.	11 mm.
24	26 - 10 - 88	300 g.	2 - 11 - 88	307 g.	1,70 g.	1,69 g.	18 mm.	17 mm.	10 mm.	10 mm.

SIMULADA DOS SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
25	26 - 10 - 88	280 g.	9 - 11 - 88	283 g.	1,70 g.	1,69 g.	20 mm.	19 mm.	10 mm.	9 mm.
26	26 - 10 - 88	281 g.	9 - 11 - 88	283 g.	1,61 g.	1,59 g.	11 mm.	10 mm.	9 mm.	9 mm.
27	27 - 10 - 88	308 g.	9 - 11 - 88	314 g.	1,73 g.	1,71 g.	20 mm.	19 mm.	11 mm.	10 mm.
28	27 - 10 - 88	309 g.	9 - 11 - 88	316 g.	1,74 g.	1,73 g.	21 mm.	20 mm.	12 mm.	11 mm.

SIMULADA SEIS SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
29	8 - 10 - 88	290 g.	20 - 12 - 88	385 g.	1,80 g.	1,79 g.	22 mm.	21 mm.	13 mm.	12 mm.
30	8 - 11 - 88	292 g.	20 - 12 - 88	384 g.	1,73 g.	1,76 g.	18 mm.	20 mm.	11 mm.	13 mm.
31	8 - 11 - 88	288 g.	20 - 12 - 88	313 g.	1,43 g.	1,45 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	11 mm.
32	8 - 11 - 88	290 g.	20 - 12 - 88	315 g.	1,45 g.	1,47 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	12 mm.

SIMULADA DIEZ SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
33	15 - 7 - 88	253 g.	23 - 9 - 88	273 g.	1,73 g.	1,74 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	12 mm.
34	15 - 7 - 88	252 g.	23 - 9 - 88	272 g.	1,75 g.	1,77 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	12 mm.
35	15 - 7 - 88	258 g.	23 - 9 - 88	312 g.	1,63 g.	1,51 g.	18 mm.	13 mm.	11 mm.	8 mm.
36	15 - 7 - 88	260 g.	23 - 9 - 88	320 g.	1,52 g.	1,64 g.	19 mm.	20 mm.	12 mm.	12 mm.

SIMULADA CATORCE SEMANAS MICROSCOPIA OPTICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
37	15 - 7 - 88	279 g.	21 - 10 - 88	348 g.	1,42 g.	1,51 g.	20 mm.	21 mm.	11 mm.	11 mm.
38	15 - 7 - 88	280 g.	21 - 10 - 88	350 g.	1,41 g.	1,50 g.	19 mm.	21 mm.	10 mm.	11 mm.
39	15 - 7 - 88	273 g.	21 - 10 - 88	306 g.	1,51 g.	1,49 g.	21 mm.	20 mm.	11 mm.	11 mm.
40	15 - 7 - 88	275 g.	21 - 10 - 88	310 g.	1,63 g.	1,59 g.	21 mm.	20 mm.	11 mm.	10 mm.

EXPERIMENTALES MICROSCOPIA ELECTRONICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO

UNA SEMANA

41	26 - 9 - 88	302 g.	3 - 10 - 88	283 g.	1,56g	1,55 g.	17 mm.	16 mm.	11 mm.	10 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	-------	---------	--------	--------	--------	--------

DOS SEMANAS

42	19 - 9 - 88	296 g.	3 - 10 - 88	285 g.	1,62 g.	1,63 g.	16 mm.	17 mm.	12 mm.	13 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

SEIS SEMANAS

43	22 - 8 - 88	285 g.	3 - 10 - 88	320 g.	1,56 g.	1,53 g.	19 mm.	17 mm.	12 mm.	10 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

DIEZ SEMANAS

44	26 - 7 - 88	288 g.	3 - 10 - 88	295 g.	1,46 g.	1,48 g.	18 mm.	19 mm.	11 mm.	12 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

CATORCE SEMANAS

45	27 - 6 - 88	299 g.	3 - 10 - 88	296 g.	1,85 g.	1,80 g.	22 mm.	20 mm.	14 mm.	13 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

SIMULADAS MICROSCOPIAS ELECTRONICA

RATA NUMERO	FECHA VASECTOMIA	PESO RATA VASECTOMIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	TESTICULOS					
					PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
					DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO

UNA SEMANA

46	26 - 9 - 88	286 g.	3 - 10 - 88	295 g.	1,74 g.	1,73 g.	20 mm	18 mm.	12 mm.	12 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	-------	--------	--------	--------

DOS SEMANAS

47	19 - 9 - 88	295 g.	3 - 10 - 88	320 g.	1,56 g.	1,57 g.	19 mm.	17 mm.	12 mm.	11 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

SEIS SEMANAS

48	22 - 8 - 88	280 g.	3 - 10 - 88	328 g.	1,81 g.	1,79 g.	20 mm.	20 mm.	14 mm.	13 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

DIEZ SEMANAS

49	26 - 7 - 88	317 g.	3 - 10 - 88	354 g.	1,74 g.	1,72 g.	20 mm.	19 mm.	13 mm.	13 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

CATORCE SEMANAS

50	27 - 6 - 88	300 g.	3 - 10 - 88	315 g.	1,57 g.	1,58 g.	18 mm.	19 mm.	12 mm.	13 mm.
----	-------------	--------	-------------	--------	---------	---------	--------	--------	--------	--------

T E S T I G O S

RATA NUMERO	TESTIGO MICROSCOPIA	FECHA NECROPSIA	PESO RATA NECROPSIA	T E S T I C U L O S					
				PESO		LONGITUD		DIAMETRO	
				DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
51	OPTICA	3 - 10 - 88	295 g.	1,52 g.	1,59 g.	21 mm.	21 mm.	11 mm.	11 mm.
52	OPTICA	3 - 10 - 88	285 g.	1,34 g.	1,37 g.	18 mm.	20 mm.	11 mm.	11 mm.
53	OPTICA	3 - 10 - 88	295 g.	1,75 g.	1,76 g.	19 mm.	20 mm.	12 mm.	12 mm.
54	OPTICA	3 - 10 - 88	297 g.	1,76 g.	1,77 g.	20 mm.	20 mm.	12 mm.	12 mm.
55	ELECTRONICA	3 - 10 - 88	305 g.	1,75 g.	1,75 g.	21 mm.	20 mm.	14 mm.	14 mm.

RESULTADOS

4. 1. - ESTUDIO DE LA CURVA PONDERAL

Como ya hemos comentado en el apartado de Material y Métodos, utilizamos para nuestra experiencia ratas machos adultas de 6 meses de edad de pesos comprendidos entre 260 g. y 317 g., éste grupo homogéneo fue distribuido de forma aleatoria en las distintas series simuladas, experimentales y testigos.

4. 1. 1. - UNA SEMANA POSTVASECTOMIA

Grupo Simulado : Todos los animales que forman ésta serie sufrieron un aumento de peso con relación al peso que presentaban en el momento de la vasectomía, siendo la media de $296 \pm 6,20$ vs. $302 \pm 5,31$, aumento que no es estadísticamente significativo. Tabla nº1 ; Gráfica nº4.

Grupo Experimental : Los animales experimentan una pérdida de peso, con una media de $296 \pm 19,14$ vs. $283 \pm 18,87$, pérdida que no es estadísticamente significativa. Tabla nº2 ; Gráfica nº5

Grupo Simulado vs. Grupo Experimental : Al comparar los pesos de necropsia de los grupos simulados y experimental, se observa una diferencia estadísticamente significativa ($t = - 2,16$; $p < 0,05$), siendo menor el peso de los animales experimentales . Tabla nº27 ; Gráfica nº1 - 6

4. 1. 2. - DOS SEMANAS POSTVASECTOMIA

Grupo Simulado : A las dos semanas postvasectomía simulada los animales aumentan de peso siendo la media de $294 \pm 14,01$ vs. $303 \pm 18,36$ no siendo ésta diferencia estadísticamente significativa. Tabla nº3 ; Gráfica nº 4

Grupo Experimental : Al igual que en los animales simulados en éste tiempo de supervivencia postvasectomía, se produce un aumento de peso de los animales, con una media de $292 \pm 14,32$ vs. $297 \pm 13,50$ no existiendo diferencias estadísticamente significativas. Tabla nº4 ; Gráfica nº5

Grupo Simulado vs. Grupo Experimental : Al comparar los pesos de los animales simulados y experimentales que forman estos grupos a las dos semanas

postvasectomía no hay diferencias estadísticamente significativas. Tabla nº28
Gráfica nº6

4. 1. 3. - SEIS SEMANAS POSTVASECTOMIA

Grupo Simulado : En todos los animales se produce un aumento de peso con una media de $288 \pm 4,69$ vs. $345 \pm 36,51$, aumento de peso que sí es estadísticamente significativa, ($t = -2,95$; $p < 0,05$). Tabla nº5 ; Gráfica nº4

Grupo Experimental : Hay un aumento de peso en los animales que configuran ésta serie con una media de $271 \pm 9,66$ vs. $291 \pm 16,79$, siendo estadísticamente significativo éste aumento de peso. ($t = -2,39$; $p < 0,05$). Tabla nº6 ; Gráfica nº5

Grupo Simulado vs. Grupo Experimental : Al comparar el peso de los animales de ambos grupos se observa que los animales experimentales sufren un aumento de peso mayor que los simulados de la misma serie, aumento de peso que es estadísticamente significativo, ($t = -2,95$; $p < 0,05$). Tabla nº29 ; Gráfica nº6

4. 1. 4. - DIEZ SEMANAS POSTVASECTOMIA

Grupo Simulado : Los animales que forman éste grupo al igual que lo hicieron en las series anteriores sufren un aumento de peso, no siendo éste significativo con una media de $268 \pm 27,59$ vs. $308 \pm 35,17$. Tabla Nº7 ; Gráfica nº 4

Grupo Experimental : Se produce un aumento de peso en todos los animales, no siendo el mismo estadísticamente significativo, siendo la media $297 \pm 9,78$ vs. $313 \pm 22,94$. Tabla nº8 ; Gráfica nº5

Grupo Simulado vs. Grupo Experimental : Al comparar ambos grupos no hay diferencia que sean significativas desde un punto de vista estadístico. Tabla nº30 ; Gráfica nº6

4. 1. 5. - CATORCE SEMANAS POSTVASECTOMIA

Grupo Simulado : Al final del tiempo establecido para el control de nuestra experiencia, los animales experimentan un aumento de peso con una media de 281

$\pm 10,78$ vs. $325 \pm 21,42$, siendo éste aumento de peso estadísticamente significativo ($t = -4,13$; $p < 0,05$). Tabla nº9 ; Gráfica nº4

Grupo Experimental : Del mismo modo que ocurre a éste tiempo de experimentación en el grupo simulado, los animales aumentan de peso, siendo la media de $288 \pm 17,41$ vs. $360 \pm 54,04$, siendo éste dato estadísticamente significativo ($t = -2,82$; $p < 0,05$). Tabla nº10 ; Gráfica nº5

Grupo Simulado vs. Grupo Experimental : Comparando a las 14 semanas postvasectomía ambos grupos no hay diferencia significativa entre ellos. Tabla nº31 Gráfica nº6

TABLA:1 SIMULADA UNA SEMANA

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
21	297 g.	302 g.
22	295 g.	300 g.
23	302 g.	308 g.
24	300 g.	307 g.
46	286 g.	295 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	296 g. ± 6,20	302 g. ± 5,31

TABLA:2 EXPERIMENTAL UNA SEMANA

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
1	308 g.	293 g.
2	303 g.	309 g.
3	262 g.	260 g.
4	305 g.	272 g.
41	302 g.	283 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	296 g. ± 19,14	283 g. ± 18,87

TABLA:3 SIMULADA DOS SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
25	280 g.	283 g.
26	281 g.	283 g.
27	308 g.	314 g.
28	309 g.	316 g.
47	295 g.	320 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	294 g. ± 14,01	303 g. ± 18,56

TABLA:4 EXPERIMENTAL DOS SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
5	316 g.	320 g.
6	285 g.	295 g.
7	283 g.	295 g.
8	282 g.	290 g.
42	296 g.	285 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	292 g. ± 14,32	297 g. ± 13,50

TABLA:5 SIMULADA SEIS SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
29	290 g.	385 g.
30	292 g.	384 g.
31	288 g.	313 g.
32	290 g.	315 g.
48	280 g.	328 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	288 g.± 4,69	345 g. ± 36,51

TABLA:6 EXPERIMENTAL SEIS SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
9	264 g.	280 g.
10	260 g.	278 g.
11	273 g.	291 g.
12	273 g.	290 g.
43	285 g.	320 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	271 g.± 9,66	291 g. ±16,79

TABLA:7 SIMULADA DIEZ SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
33	253 g.	273 g.
34	252 g.	272 g.
35	258 g.	321 g.
36	260 g.	320 g.
49	317 g.	354 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	268 g. ± 27,59	308 g. ± 35,17

TABLA:8 EXPERIMENTAL DIEZ SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
13	308 g.	311 g.
14	302 g.	350 g.
15	308 g.	316 g.
16	286 g.	293 g.
44	288 g.	295 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	297 g. ± 9,78	313 g. ± 22,94

TABLA:9 SIMULADA CATORCE SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
37	279 g.	348 g.
38	280 g.	350 g.
39	273 g.	306 g.
40	275 g.	310 g.
50	300 g.	315 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	281 g. \pm 10,78	325 g. \pm 21,42

TABLA:10 EXPERIMENTAL CATORCE SEMANAS

RATA NUMERO	PESO VASECTOMIA	PESO NECROPSIA
17	266 g.	365 g.
18	295 g.	404 g.
19	312 g.	420 g.
20	278 g.	315 g.
45	290 g.	296 g.
MEDIA + DESVIACION ESTANDAR	288 g. \pm 17,41	360 g. \pm 54,04

4.2.-ESTUDIO ANTROPOMETRICO DE LOS TESTICULOS

Para la realización del estudio antropométrico de los testículos, procedemos a su extracción tras la necropsia de los animales tanto del grupo simulado como experimental, siendo pesados en una balanza de precisión y medimos su longitud y diámetro mediante un pie de Rey.

4.2.1.- UNA SEMANA POSTVASECTOMIA

A una semana postvasectomía tanto los animales simulados como los experimentales no presentan diferencias estadísticamente significativas, al igual que no las hay al comparar ambos grupos entre sí, respecto del peso, longitud y diámetro testicular. Tabla nº11-12-27 ; Gráfica nº 7-8-9-10-11-12

4.2.2.- DOS SEMANAS POSTVASECTOMIA

Los animales de los grupos simulados y experimental a las dos semanas postvasectomía, no presentan diferencias estadísticamente significativas respecto al peso, longitud y diámetro de los testículos. Tabla nº13-14; Gráfica nº 7-8-9-10-11-12

Al comparar entre sí los animales del grupo simulado y experimental, si aparecen diferencias estadísticamente significativas, que hacen referencia al peso del testículo izquierdo, ($t = - 3,02$; $P = < 0,05$) y al diámetro del mismo testículo , ambas medidas experimentan una disminución en los animales experimentales. ($t = 2,75$; $p < 0,05$). Tabla nº28 ; Gráfica nº 8 - 12

4.2.3.- SEIS SEMANAS POSTVASECTOMIA

Tanto en los animales simulados como en los experimentales no se presentan diferencias estadísticamente significativas, del peso, longitud y diámetro testicular. Tabla nº15-16 ; Gráfica nº 7-8-9-10-11-12

Si comparamos el grupo simulado con el experimental, encontramos diferencias significativas en el peso de ambos testículos, ($t = - 2,01$; $p < 0,05$) y ($t = - 2,40$; $p < 0,05$), para el testículo derecho e izquierdo respectivamente, así mismo la longitud es estadísticamente significativa con ($t = - 2,06$; $p < 0,05$) para el testículo derecho y ($t = - 3,83$; $p < 0,05$) para el izquierdo, así como

para el diámetro del testículo izquierdo ($t = - 2,84$; $p < 0,05$) diferencias que expresan la disminución del peso, longitud y diámetro de los testículos de los animales experimentales al compararlos con los simulados. Tabla nº29 ; Gráfica nº 7-8-10-12

4.2.4.- DIEZ SEMANAS POSTVASECTOMIA

A las diez semanas postvasectomía no hay diferencias estadísticamente significativas, para el peso, longitud y diámetro de los testículos de los animales simulados y experimentales. Tabla nº17-18 ; Gráfica 7-8-9-10-11-12

Al comparar ambos grupos entre sí hay diferencia significativa respecto al peso de ambos testículos, siendo ($t = - 4,75$; $p < 0,05$) para el testículo derecho y ($t = - 2,98$; $p < 0,05$) para el testículo izquierdo, como manifestación de la pérdida de peso de los testículos experimentales. Tabla nº 30 Gráfica 7-8

4.2.5.- CATORCE SEMANAS POSTVASECTOMIA

Al igual que en la serie anterior no hay diferencias significativas para el peso longitud y diámetro testicular de los animales simulados y experimentales. Tabla nº 19-20 ; Gráfica 7-8-9-10-11-12. Únicamente se observa una diferencia significativa estadísticamente, respecto del peso de los testículos al comparar los grupos simulado y experimental, diferencia que consiste en un aumento de peso por parte de los testículos de los animales experimentales ($t = 2,82$; $p < 0,05$) para el testículo derecho y ($t = 5,13$; $p < 0,05$) para el testículo izquierdo. Tabla nº31 ; Gráfica nº 2-3-7-8 .

TABLA 11: UNA SEMANA SIMULADA

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 296 ± 6,20	t = - 1,75
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 302 ± 5,31	P = 0,118 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,68 ± 0,04	t = - 0,35
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,68 ± 0,02	P = 0,72 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 17,6 ± 1,67	t = 0,51
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 17,2 ± 0,44	P = 0,62 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 10,6 ± 1,34	t = 0,01
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 10,6 ± 0,89	P = 0,9 (NS)

TABLA 12: UNA SEMANA EXPERIMENTAL

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 296 ± 19,14	t = 1,04
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 283 ± 18,87	P = 0,325 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,67 ± 0,07	t = 0,11
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,66 ± 0,09	P = 0,915 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 18 ± 2,12	t = 0,26
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 17,6 ± 2,70	P = 0,801 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 11,4 ± 1,51	t = 0,54
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 10,8 ± 1,92	P = 0,599 (NS)

TABLA 13: DOS SEMANAS SIMULADAS

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 294 ± 14,01	t = - 0,82
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 303 ± 18,56	P = 0,43 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,66 ± 0,07	t = 0,20
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,65 ± 0,07	P = 0,84 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 18,20 ± 4,08	t = 0,46
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 17 ± 4,06	P = 0,65 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 10,8 ± 1,30	t = 1,21
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 9,8 ± 1,30	P = 0,26 (NS)

TABLA 14: DOS SEMANAS EXPERIMENTAL

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 292 ± 14,32	t = - 0,52
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 297 ± 13,50	P = 0,61 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,57 ± 0,12	t = 1,32
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,47 ± 0,11	P = 0,22 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 18,6 ± 1,51	t = 0,80
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 18 ± 0,70	P = 0,44 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 12 ± 0,70	t = 0,001
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 12 ± 1,22	P = 0,9 (NS)

TABLA 15: SEIS SEMANAS SIMULADAS

PESO VASECTOMIA	MEDIA+DS: 288 ± 4,69	t = - 3,46
PESO NECROPSIA	MEDIA+DS: 345 ± 36,51	P = 0,009 (P < 0,05)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 1,64 ± 0,18	t = - 0,69
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 1,65 ± 0,17	P = 0,94 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 192 ± 1,78	t = - 0,67
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 198 ± 0,83	P = 0,51 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 12 ± 1,41	t = - 0,27
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 12,2 ± 0,83	P = 0,79 (NS)

TABLA 16: SEIS SEMANAS EXPERIMENTAL

PESO VASECTOMIA	MEDIA+DS: 271 ± 9,66	t = - 2,39
PESO NECROPSIA	MEDIA+DS: 291 ± 16,79	P = 0,04 (P < 0,05)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 1,42 ± 0,15	t = - 0,07
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 1,43 ± 0,10	P = 0,94 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 17 ± 1,58	t = 0,71
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 16,2 ± 1,92	P = 0,49 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 11 ± 1,22	t = 0,80
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 10,4 ± 1,44	P = 0,44 (NS)

TABLA 17: DIEZ SEMANAS SIMULADAS

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 268 ± 27,59	t = - 2,00
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 308 ± 35,17	P = 0,08 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,67 ± 0,09	t = - 0,03
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,67 ± 0,10	P = 0,97 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 18,6 ± 0,89	t = 0,45
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 18 ± 2,82	P = 0,66 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 11,6 ± 0,89	t = 0,20
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 11,4 ± 1,94	P = 0,84 (NS)

TABLA 18: DIEZ SEMANAS EXPERIMENTAL

PESO VASECTOMIA	MEDIA + DS: 297 ± 9,78	t = - 1,34
PESO NECROPSIA	MEDIA + DS: 313 ± 22,94	P = 0,20 (NS)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 1,41 ± 0,07	t = - 0,67
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 1,45 ± 0,12	P = 0,51 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 16,2 ± 2,38	t = - 0,92
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 17,6 ± 2,40	P = 0,38 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA + DS: 10,80 ± 0,83	t = - 0,20
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA + DS: 11 ± 2	P = 0,84 (NS)

TABLA 19: CATORCE SEMANAS SIMULADAS

PESO VASECTOMIA	MEDIA+DS: 281 ± 10,78	t = - 4,13
PESO NECROPSIA	MEDIA+DS: 325 ± 21,42	P = 0,03 (P < 0,05)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 1,50 ± 0,09	t = - 0,54
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 1,53 ± 0,004	P = 0,59 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 19,8 ± 1,30	t = 0,57
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 20,2 ± 0,83	P = 0,58 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 11 ± 0,70	t = - 0,34
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 11,2 ± 1,09	P = 0,74 (NS)

TABLA 20: CATORCE SEMANAS EXPERIMENTAL

PESO VASECTOMIA	MEDIA+DS: 266 ± 17,41	t = - 2,82
PESO NECROPSIA	MEDIA+DS: 360 ± 54,04	P = 0,02 (P < 0,05)
PESO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 1,69 ± 0,11	t = - 0,46
PESO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 1,72 ± 0,06	P = 0,65 (NS)
LONGITUD TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 19 ± 3	t = - 0,13
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 19,2 ± 1,3	P = 0,89 (NS)
DIAMETRO TEST. DERECHO	MEDIA+DS: 12 ± 1,58	t = - 0,71
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	MEDIA+DS: 12,8 ± 1,92	P = 0,49 (NS)

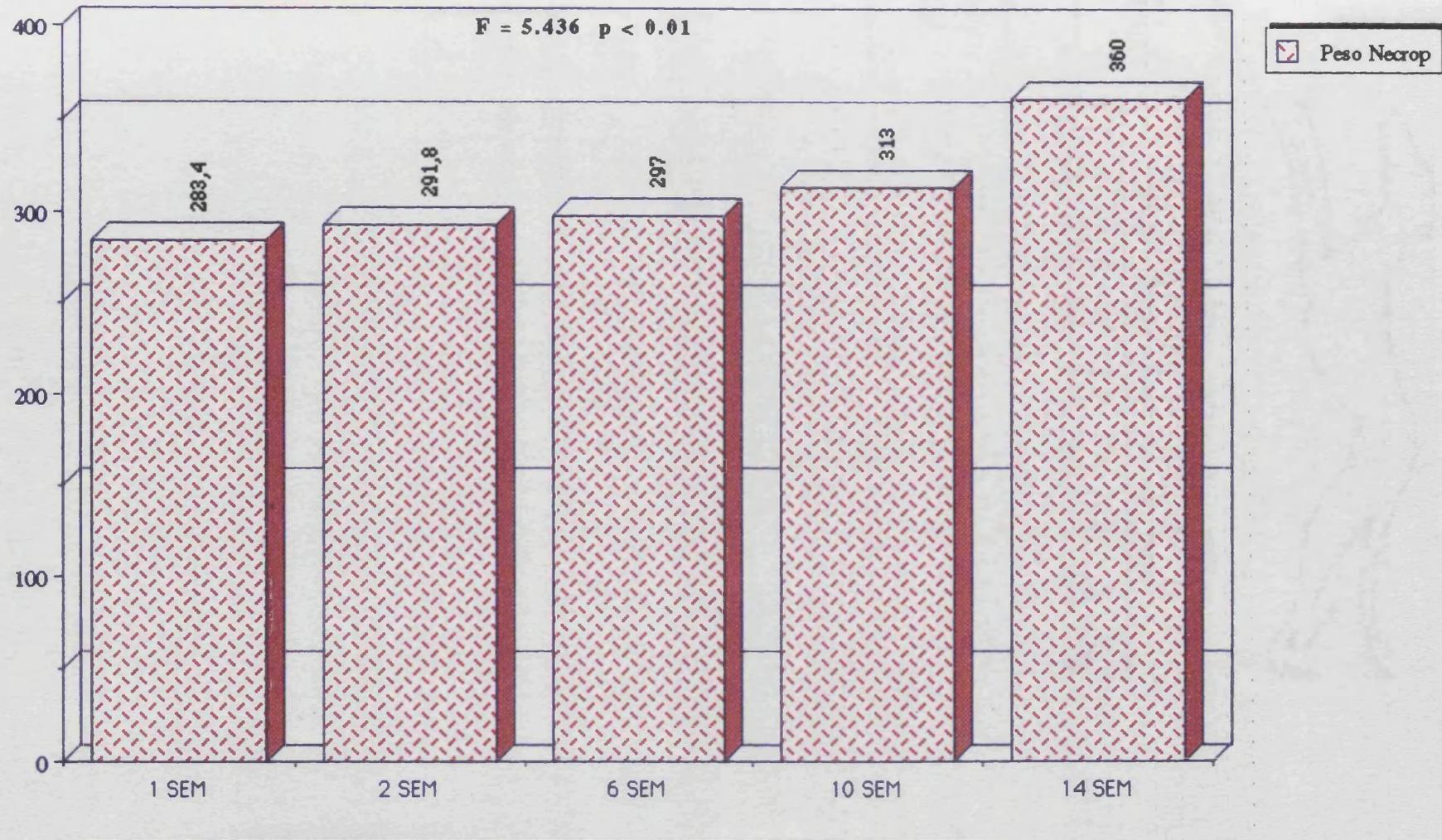
TABLA 21: ANALISIS DE LA VARIANZA (Peso Necropsia Experimental)

FUENTE	GdL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F- Test
Entre Grupos	4	18560.96	4640.24	5.436
Dentro Grupos	20	17072	853.6	p= .004
Total	24	35632.96		

TABLA 22: SCHEFFE F- TEST (Peso Necropsia Experimental)

COMPARACION	SCHEFFE F- test
1 semana vs. 14 semanas	4.296
2 semanas vs. 14 semanas	2.906
6 semanas vs. 14 semanas	3.406

Gráfica nº 1 PESO NECROPSIA GRUPO EXPERIMENTAL



Scheffe F-test ; 1 scm vs 14 scm= 4.296 ; 2 scm vs 14 scm= 2.906 ; 6 scm vs 14 scm= 3.406

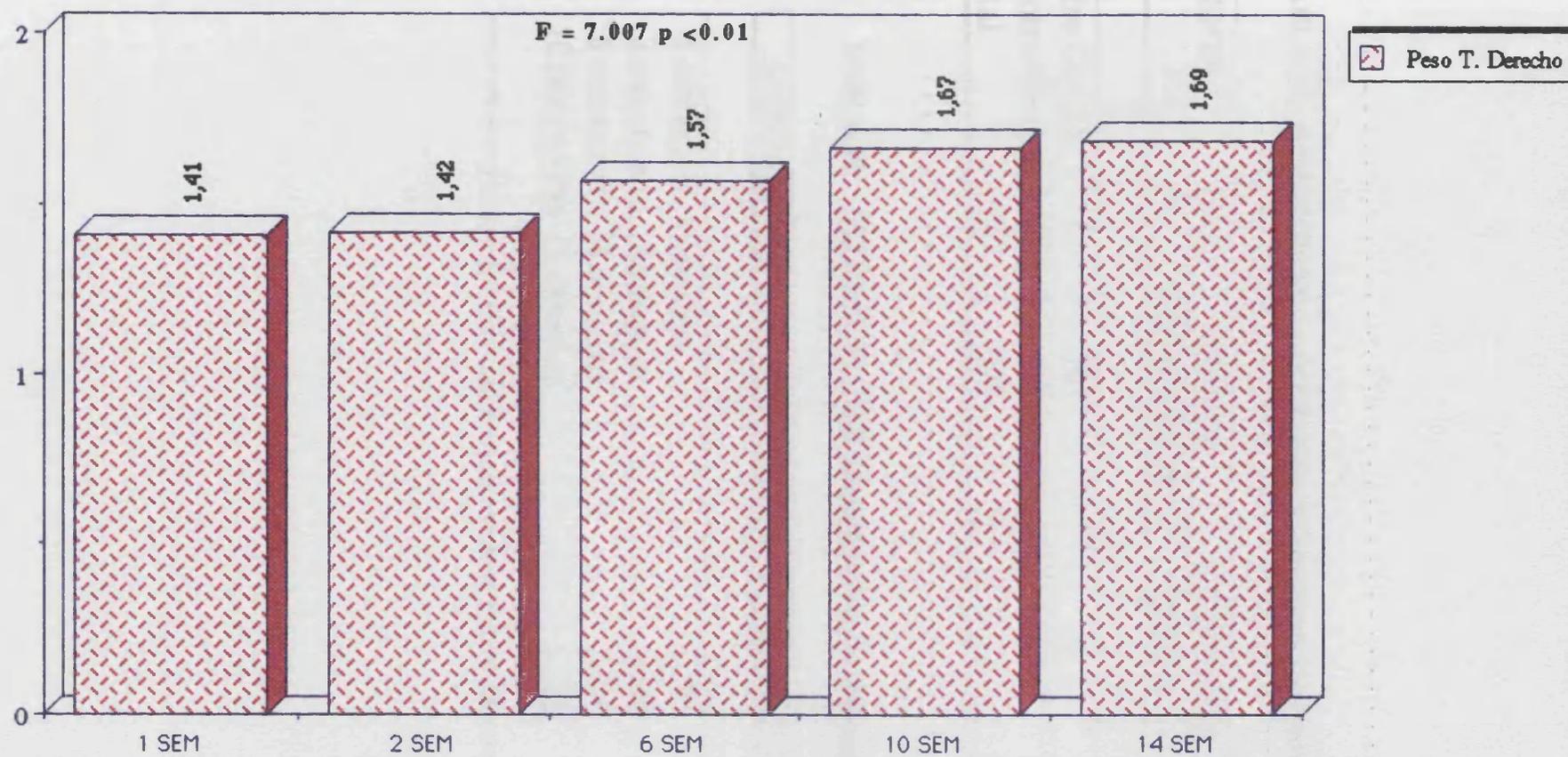
TABLA 23: ANALISIS DE LA VARIANZA (Peso Test Derecho Experimental)

FUENTE	GdL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F- Test
Entre Grupos	4	355	089	7.007
Dentro Grupos	20	253	013	p= .0011
Total	24	608		

TABLA 24: SCHEFFE F - TEST (Peso Test Derecho Experimental)

COMPARACION	SCHEFFE F- test
1 semana vs. 6 semanas	3.039
1 semanas vs. 10 semanas	3.34
6 semanas vs. 14 semanas	3.602
10 semanas vs. 14 semanas	3.929

Gráfica nº 2 PESO TESTICULO DERECHO EXPERIMENTAL



Scheffe F-test: 1 Sem vs 6 Sem= 3.039 ; 1 Sem vs 10 Sem= 3.34

6 Sem vs 14 Sem=3.602 ; 10 Sem vs 14 Sem= 3.929

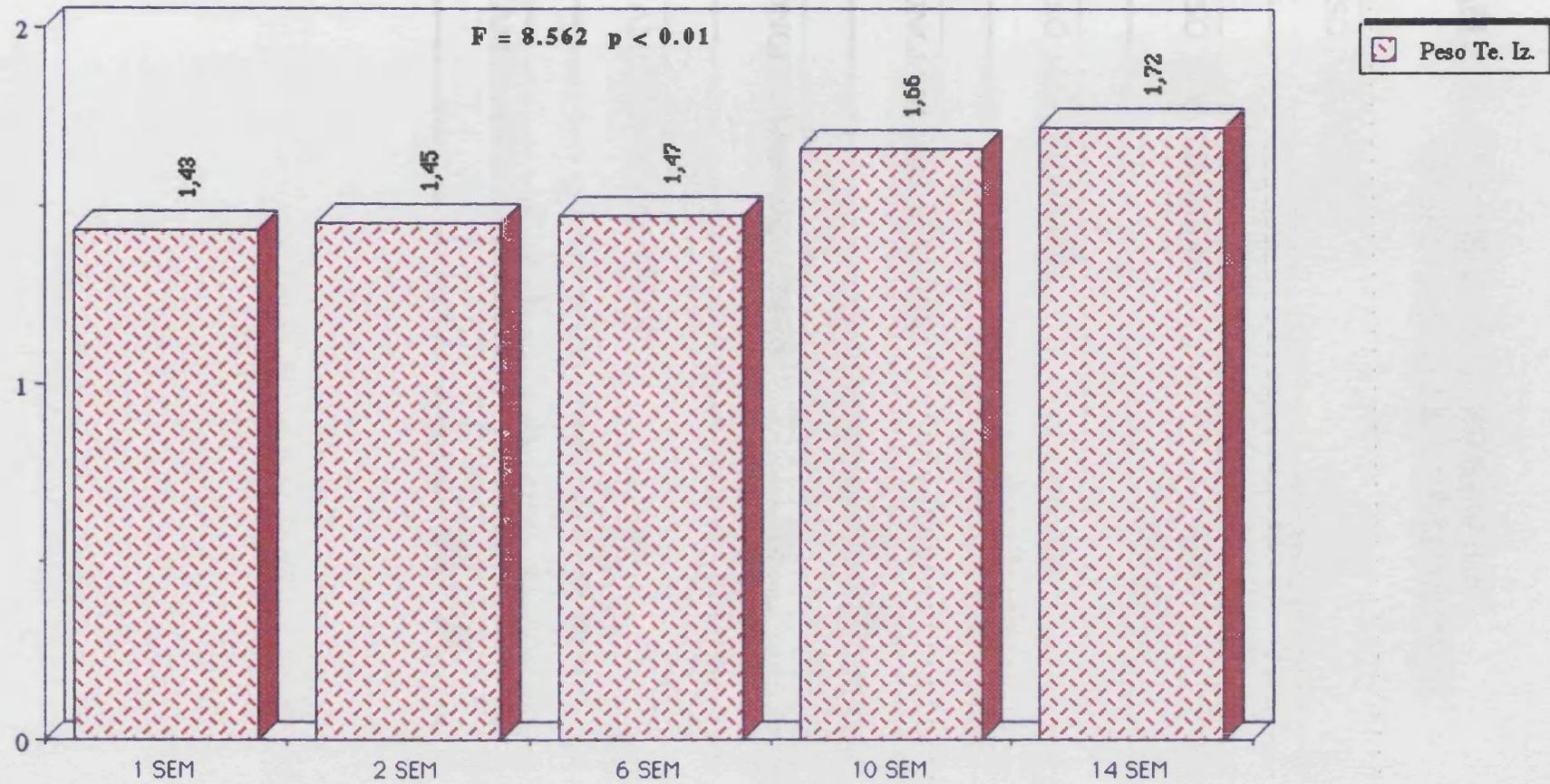
TABLA 25: ANALISIS DE LA VARIANZA (Peso Test Izquierdo Experimental)

FUENTE	GdL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F - Test
Entre Grupos	4	362	09	8.562
Dentro Grupos	20	211	011	p= .0003
Total	24	573		

TABLA 26: SCHEFFE F- TEST (Peso Test Izquierdo Experimental)

COMPARACION	SCHEFFE F- test
1 semana vs. 6 semanas	3.295
2 semanas vs. 14 semanas	3.698
6 semanas vs. 14 semanas	5.044
10 semanas vs. 14 semanas	4.186

Gráfica n° 3 PESO TESTICULO IZQUIERDO EXPERIMENTAL



Scheffe F-test: 1 Sem vs 6 Sem= 3.295 ; 2 Sem vs 14 Sem=3.698

6 Sem vs 14 Sem=5.044 ; 10 Sem vs 14 Sem=4.186

**TABLA 27: UNA SEMANA COMPARACION
ENTRE SIMULADA Y EXPERIMENTAL**

PESO NECROPSIA	t = - 2,16 P = 0,03 (p < 0,05)
----------------	-------------------------------------

PESO TEST. DERECHO	t = - 0,15 P = 0,44 (NS)
--------------------	-------------------------------

PESO TEST. IZQUIERDO	t = - 0,46 P = 0,32 (NS)
----------------------	-------------------------------

LONGITUD TEST. DERECHO	t = 0,33 P = 0,37 (NS)
------------------------	-----------------------------

LONGITUD TEST. IZQUIERDO	t = 0,32 P = 0,37 (NS)
--------------------------	-----------------------------

DIAMETRO TEST. DERECHO	t = 0,88 P = 0,20 (NS)
------------------------	-----------------------------

DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	t = 0,21 P = 0,41 (NS)
--------------------------	-----------------------------

**TABLA 28: DOS SEMANAS COMPARACION
ENTRE SIMULADA Y EXPERIMENTAL**

PESO NECROPSIA	t = - 0,60 P = 0,28 (NS)
-----------------------	---

PESO TEST. DERECHO	t = - 1,42 P = 0,96 (NS)
---------------------------	---

PESO TEST. IZQUIERDO	t = - 3,02 P = 0,008 (p < 0,05)
-----------------------------	---

LONGITUD TEST. DERECHO	t = 0,205 P = 0,42 (NS)
-------------------------------	--

LONGITUD TEST. IZQUIERDO	t = 0,54 P = 0,30 (NS)
---------------------------------	---

DIAMETRO TEST. DERECHO	t = 1,80 P = 0,054 (NS)
-------------------------------	--

DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	t = 2,75 P = 0,01 (p < 0,05)
---------------------------------	--

**TABLA 29: SEIS SEMANAS COMPARACION
ENTRE SIMULADA Y EXPERIMENTAL**

PESO NECROPSIA	t = - 2,95 P = 0,009 (P < 0,05)
----------------	--------------------------------------

PESO TEST. DERECHO	t = - 2,01 P = 0,03 (P < 0,05)
--------------------	-------------------------------------

PESO TEST. IZQUIERDO	t = - 2,40 P = 0,02 (P < 0,05)
----------------------	-------------------------------------

LONGITUD TEST. DERECHO	t = - 2,06 P = 0,03 (P < 0,05)
------------------------	-------------------------------------

LONGITUD TEST. IZQUIERDO	t = - 3,83 P = 0,002 (P < 0,05)
--------------------------	--------------------------------------

DIAMETRO TEST. DERECHO	t = - 1,19 P = 0,13 (NS)
------------------------	-------------------------------

DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	t = - 2,84 P = 0,010 (P < 0,05)
--------------------------	--------------------------------------

**TABLA 30: DIEZ SEMANAS COMPARACION
ENTRE SIMULADAS Y EXPERIMENTAL**

PESO NECROPSIA	t = 0,26 P = 0,39 (NS)
----------------	-----------------------------

PESO TEST. DERECHO	t = - 4,75 P = 0,0007 (P < 0,05)
--------------------	---------------------------------------

PESO TEST. IZQUIERDO	t = - 2,98 P = 0,0088 (P < 0,05)
----------------------	---------------------------------------

LONGITUD TEST. DERECHO	t = - 2,10 P = 0,34 (NS)
------------------------	-------------------------------

LONGITUD TEST. IZQUIERDO	t = - 0,24 P = 0,40 (NS)
--------------------------	-------------------------------

DIAMETRO TEST. DERECHO	t = - 1,4 P = 0,09 (NS)
------------------------	------------------------------

DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	t = - 0,32 P = 0,37 (NS)
--------------------------	-------------------------------

**TABLA 31 : CATORCE SEMANAS COMPARACION
ENTRE SIMULADA Y EXPERIMENTAL**

PESO NECROPSIA	t = 1,31 P = 0,11 (NS)
----------------	-----------------------------

PESO TEST. DERECHO	t = 2,82 P = 0,01 (p < 0,05)
--------------------	-----------------------------------

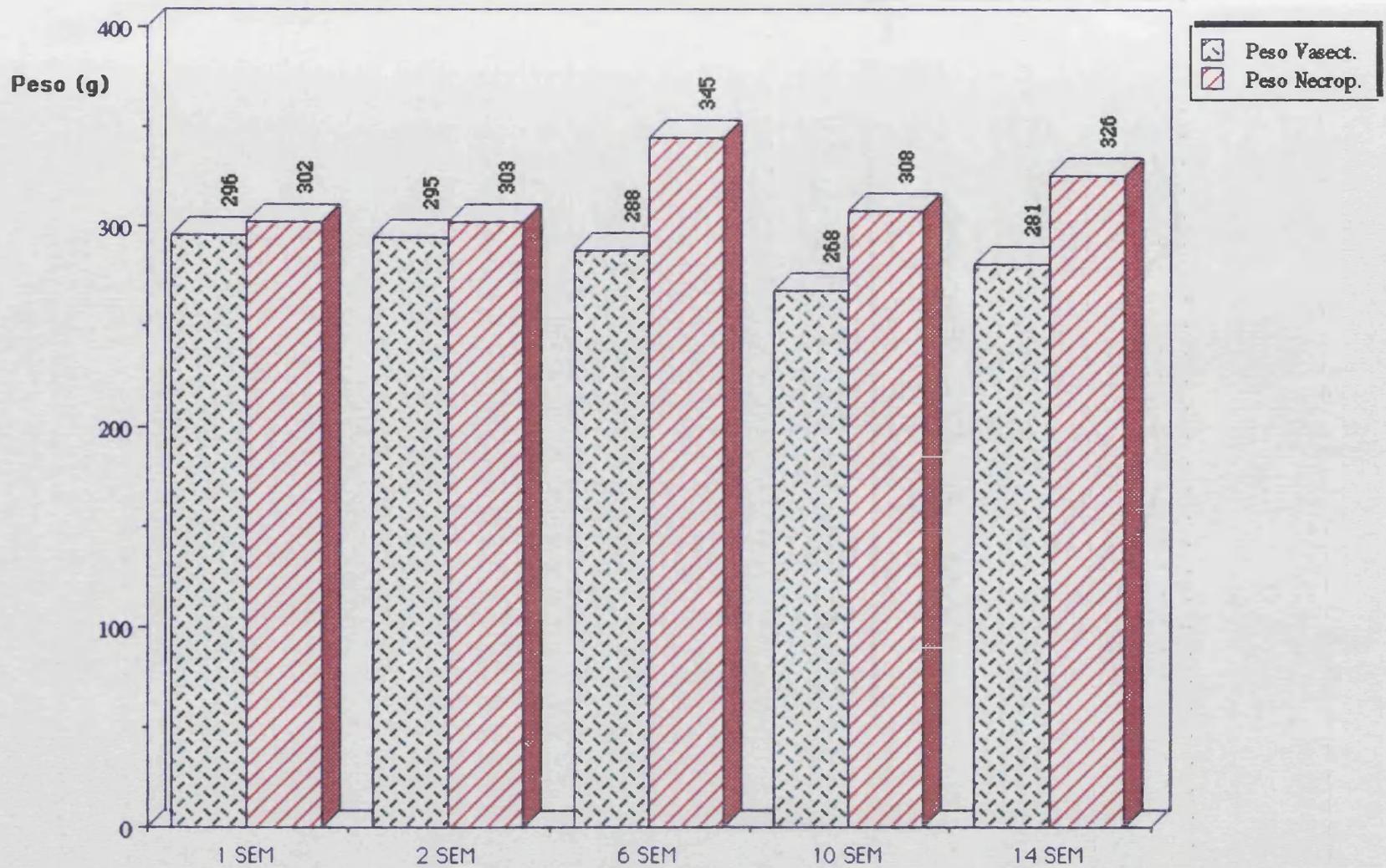
PESO TEST. IZQUIERDO	t = 5,13 P = 0,0004 (p < 0,05)
----------------------	-------------------------------------

LONGITUD TEST. DERECHO	t = - 0,54 P = 0,29 (NS)
------------------------	-------------------------------

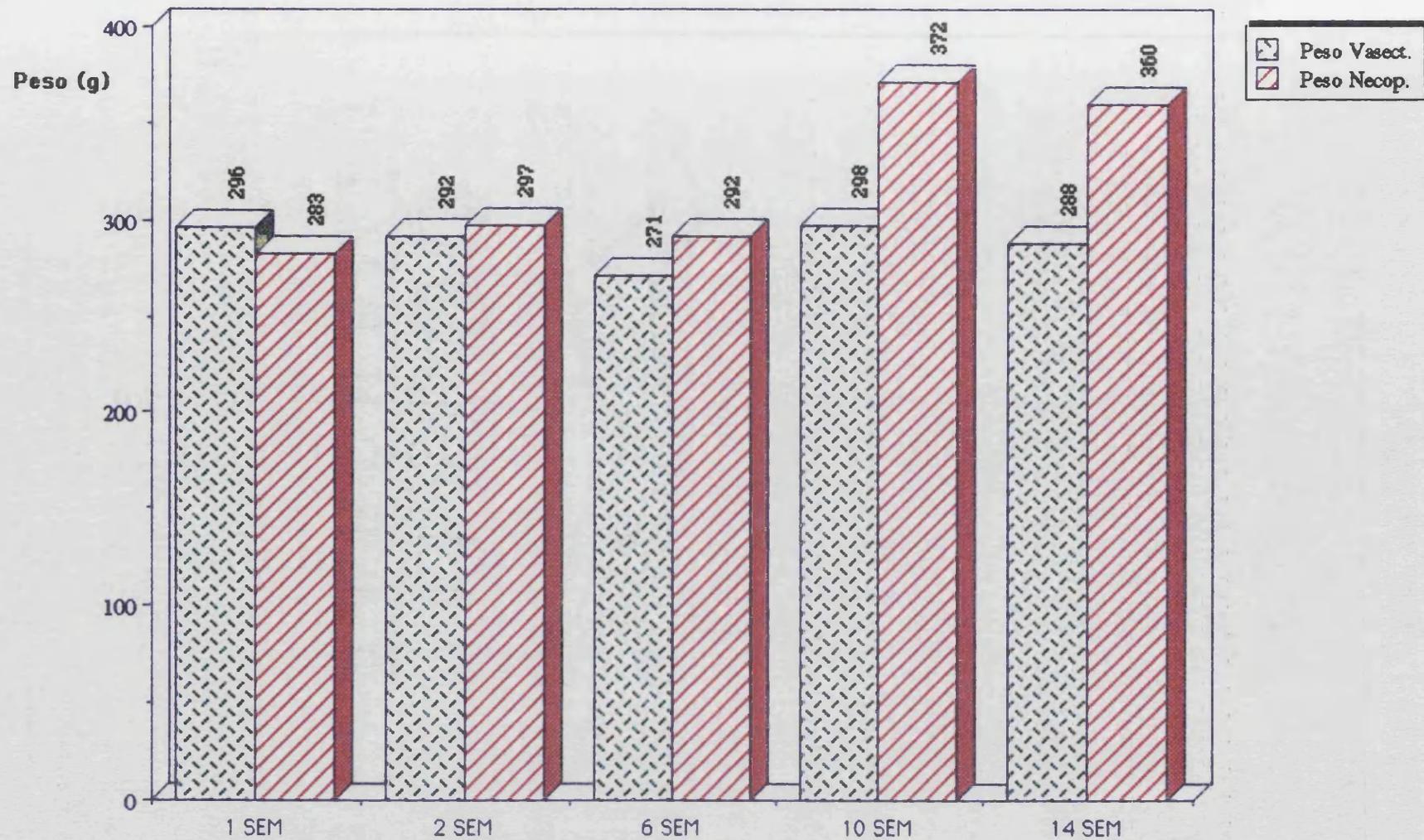
LONGITUD TEST. IZQUIERDO	t = - 1,44 P = 0,093 (NS)
--------------------------	--------------------------------

DIAMETRO TEST. DERECHO	t = 1,29 P = 0,11 (NS)
------------------------	-----------------------------

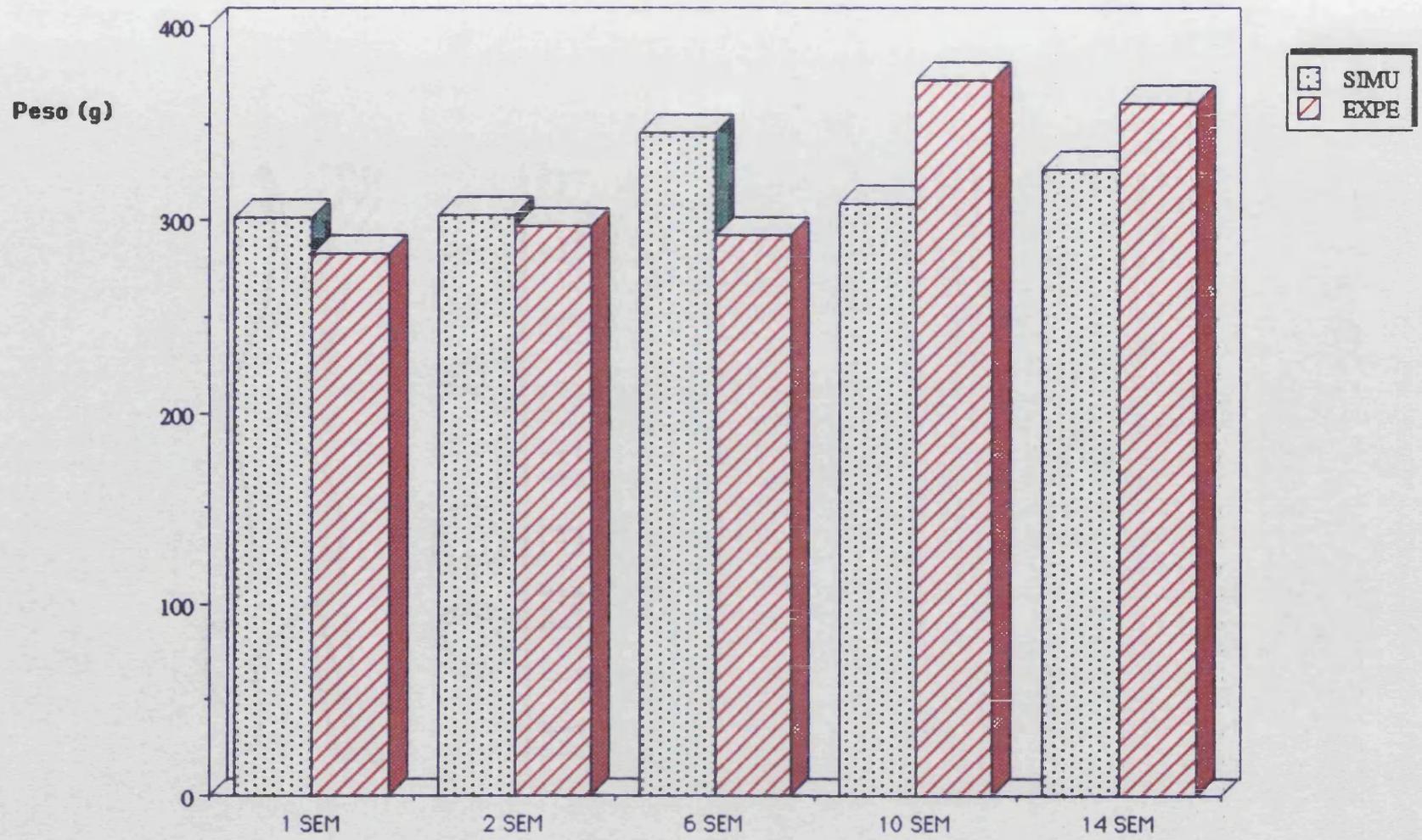
DIAMETRO TEST. IZQUIERDO	t = 1,61 P = 0,07 (NS)
--------------------------	-----------------------------



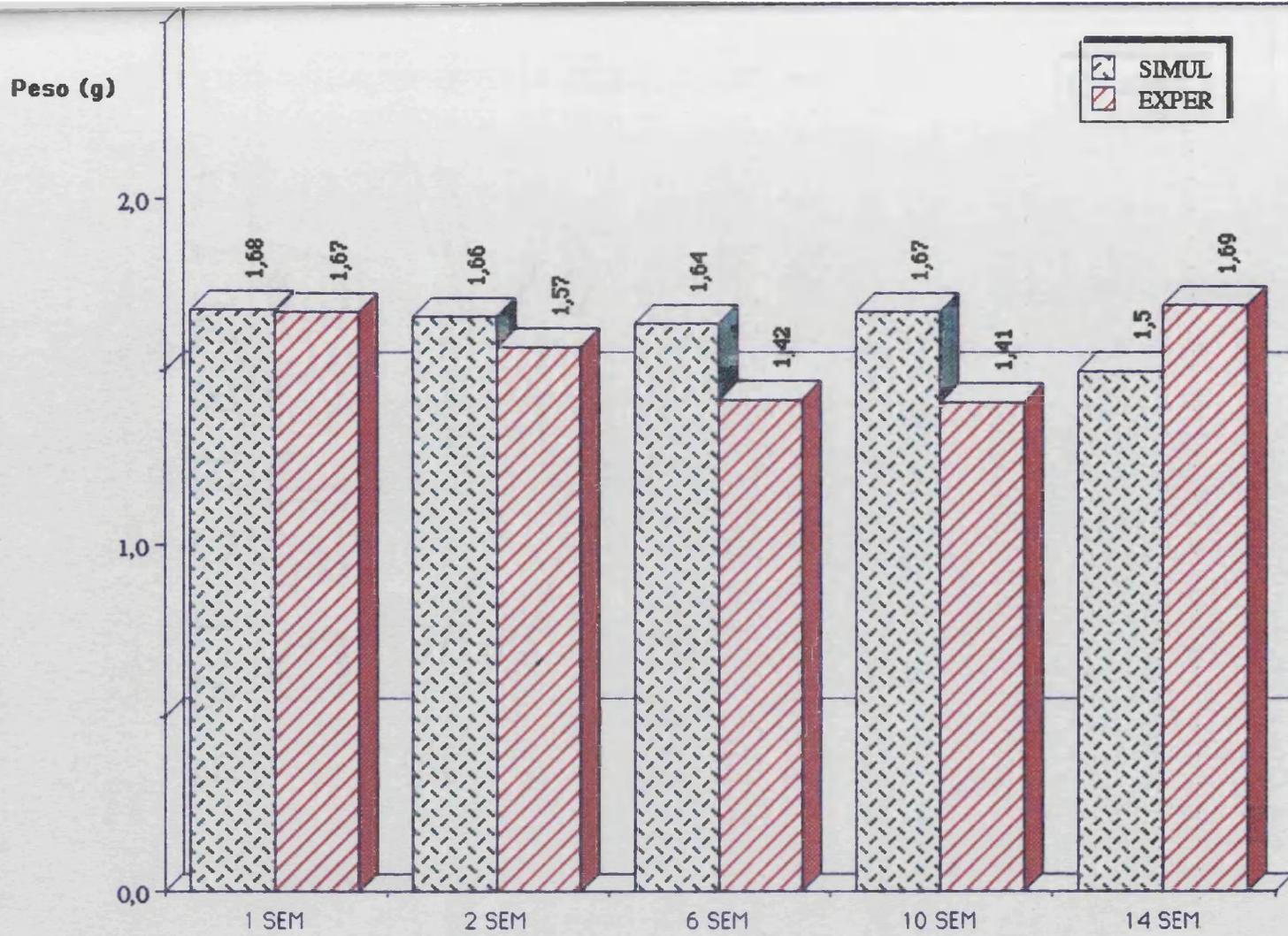
Gráfica nº 4 PESO ANIMALES GRUPO SIMULADO



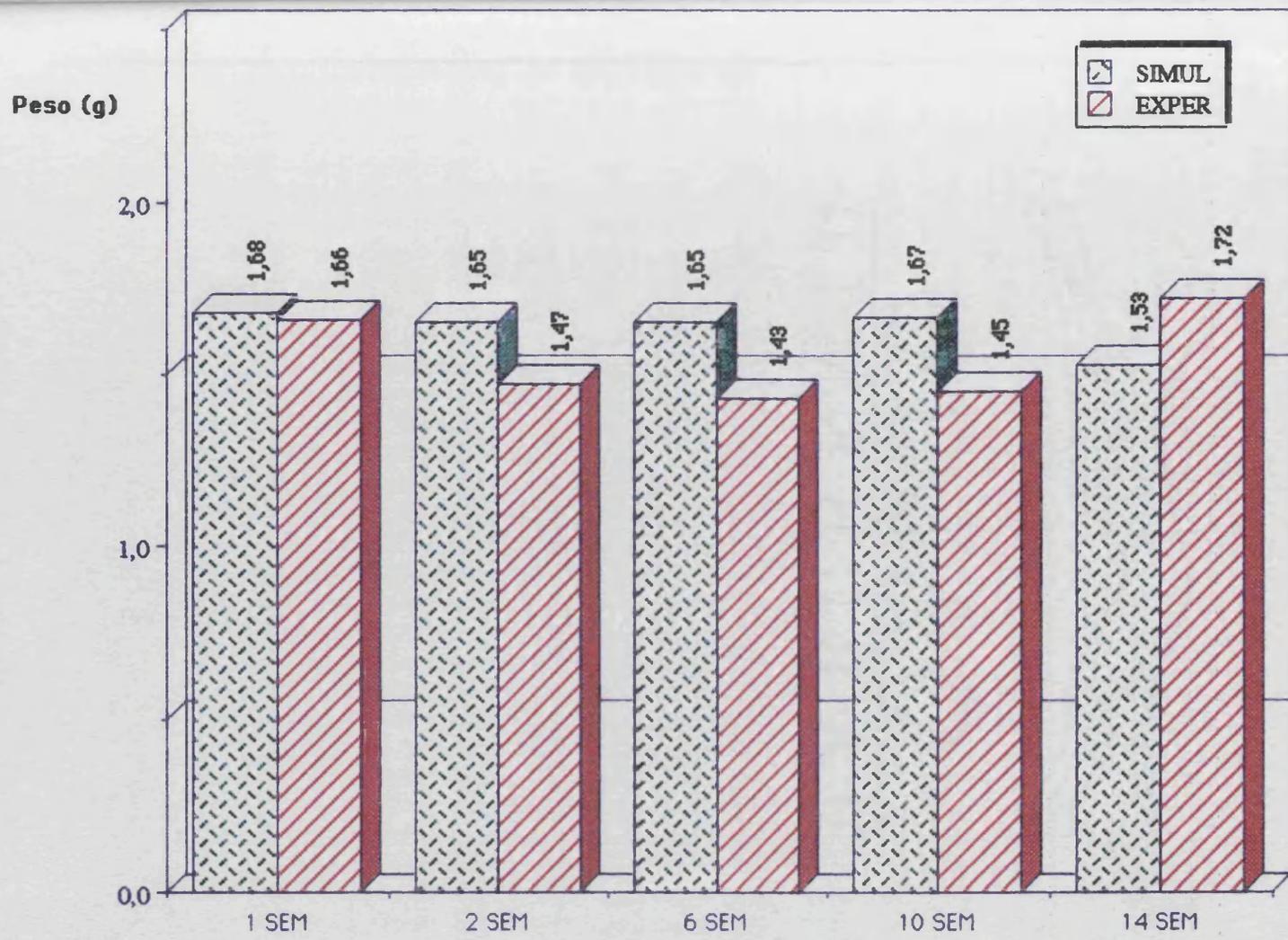
Gráfica nº 5 PESO ANIMALES GRUPO EXPERIMENTAL



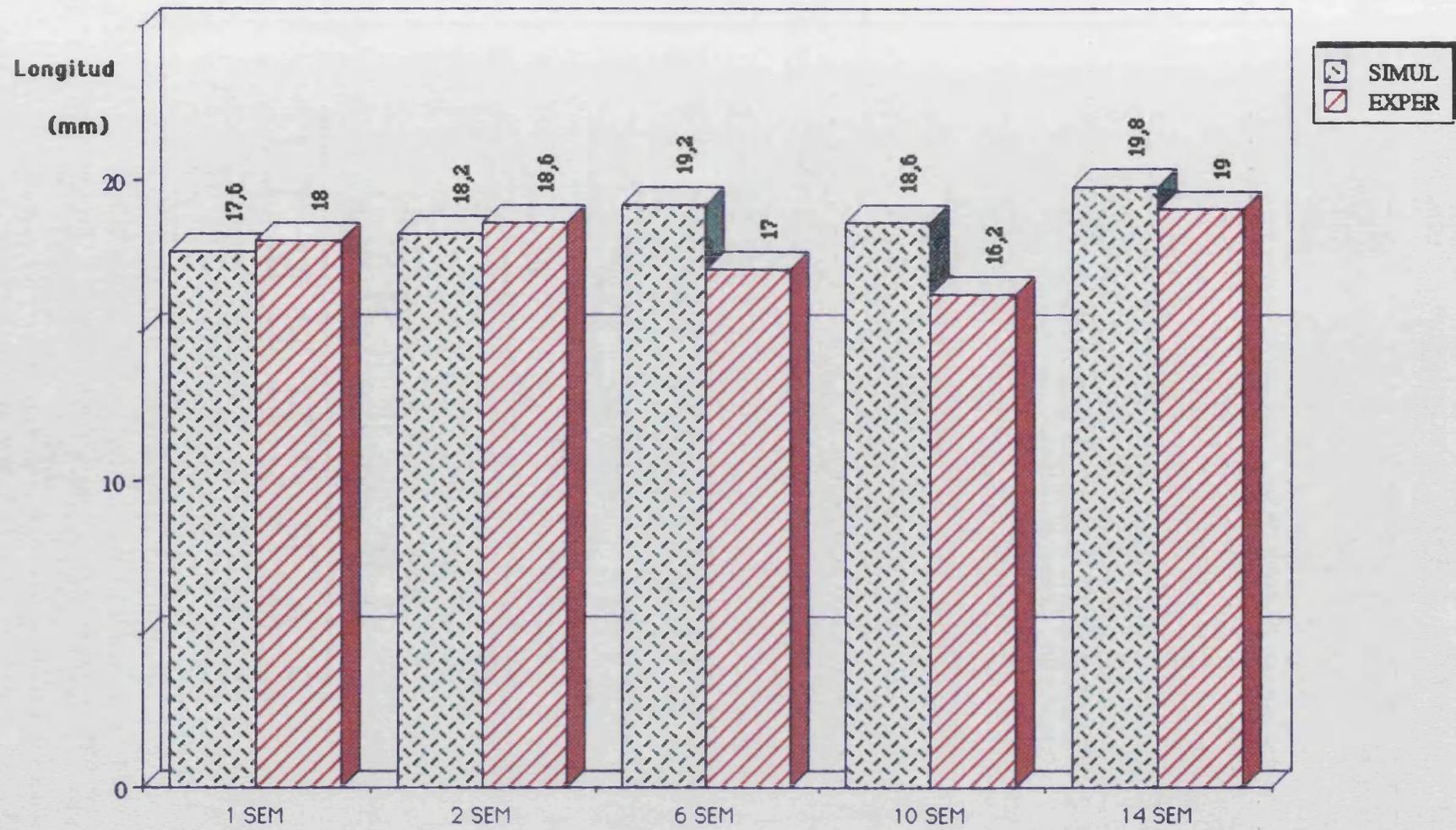
Gráfica nº 6 SIMULADO vs EXPERIMENTAL



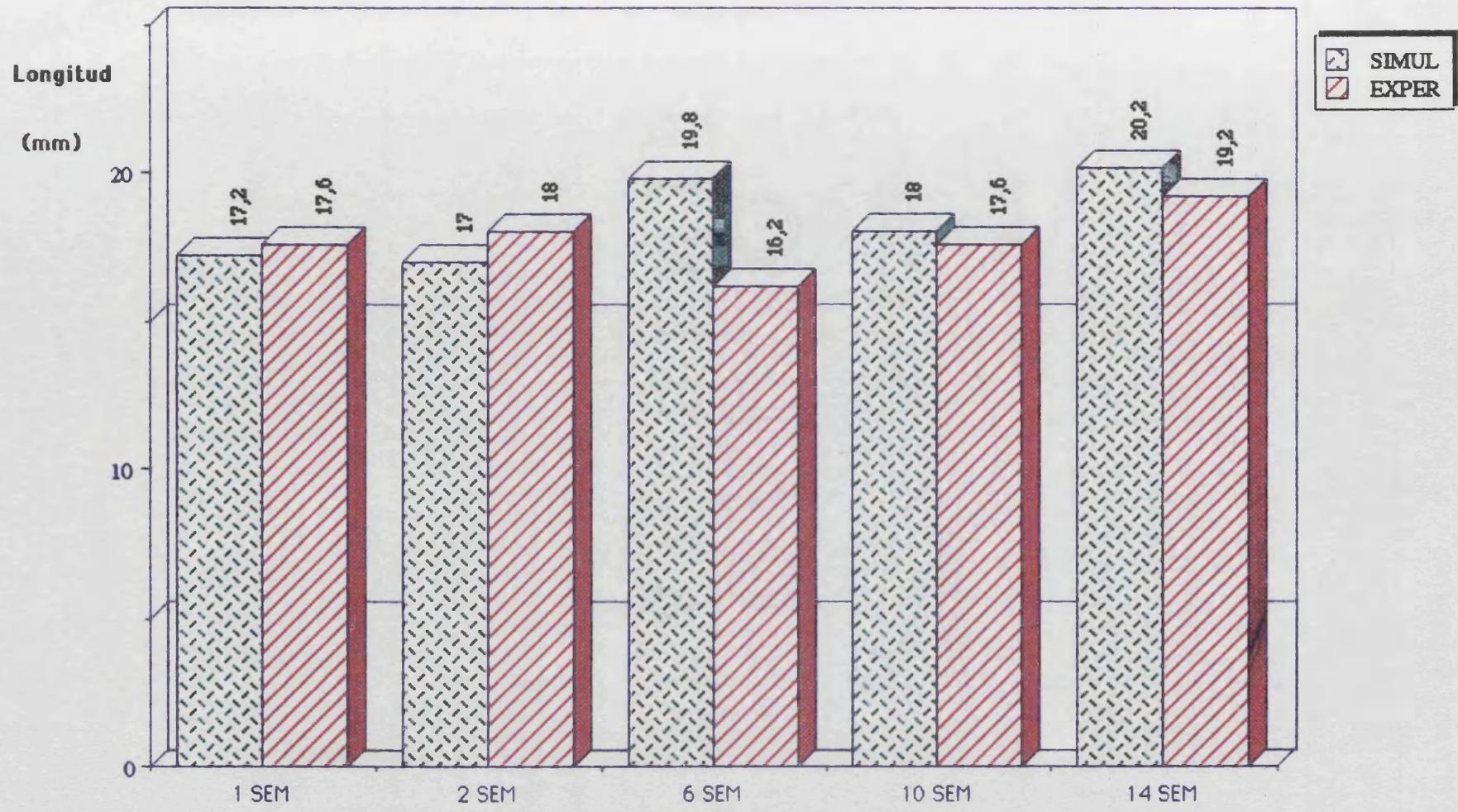
Gráfica nº 7 PESO TESTICULO DERECHO (SIM vs EXP)



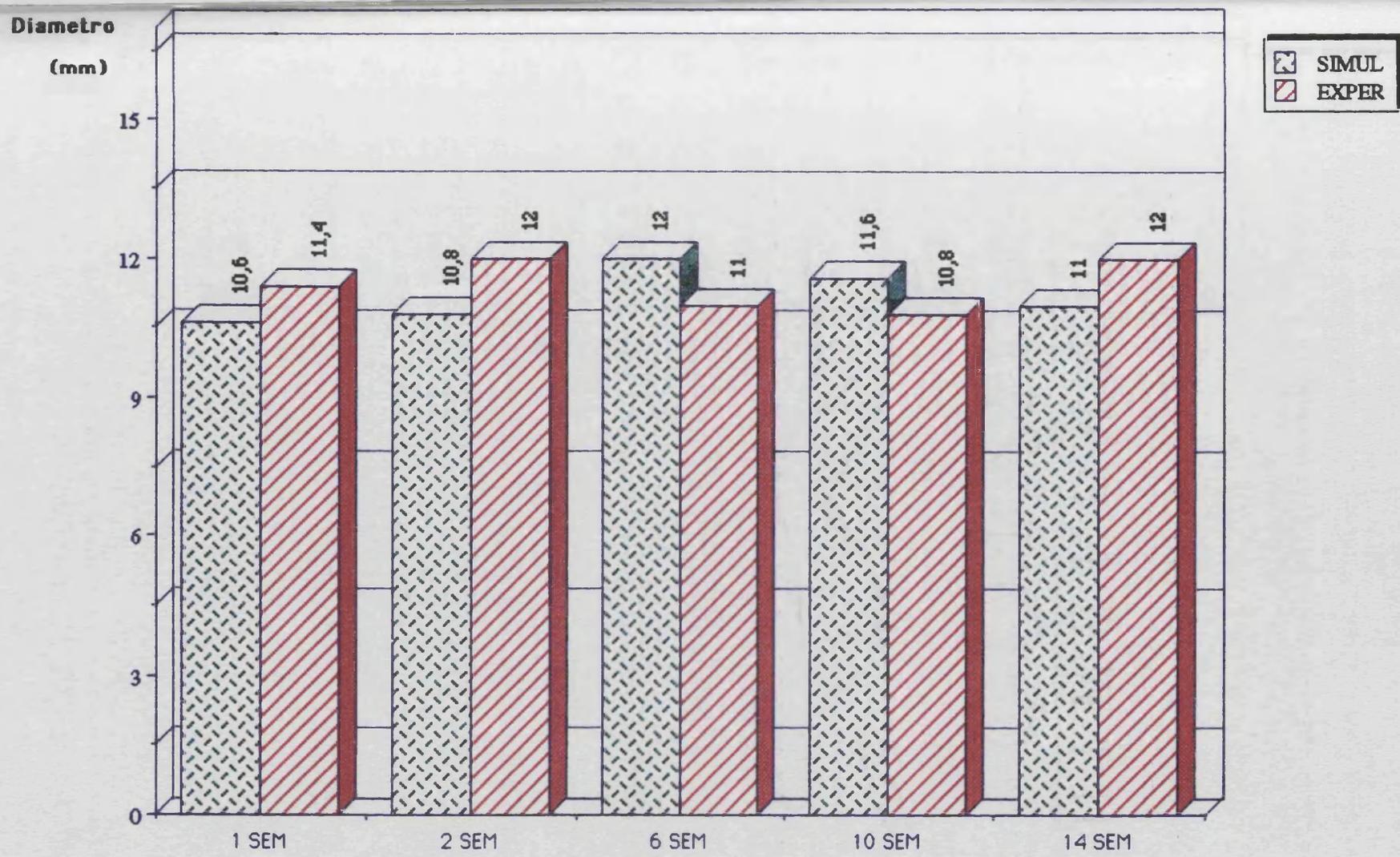
Gráfica nº 8 PESO TESTICULO IZQ (SIM vs EXP)



Gráfica nº 9 LONGITUD TESTICULO DER (sim vs exp)



Gráfica nº 10 LONGITUD TESTICULO IZQ (sim vs exp)



Gráfica nº 11 DIAMETRO TESTICULO DER (sim vs exp)

Diametro

(mm)

15

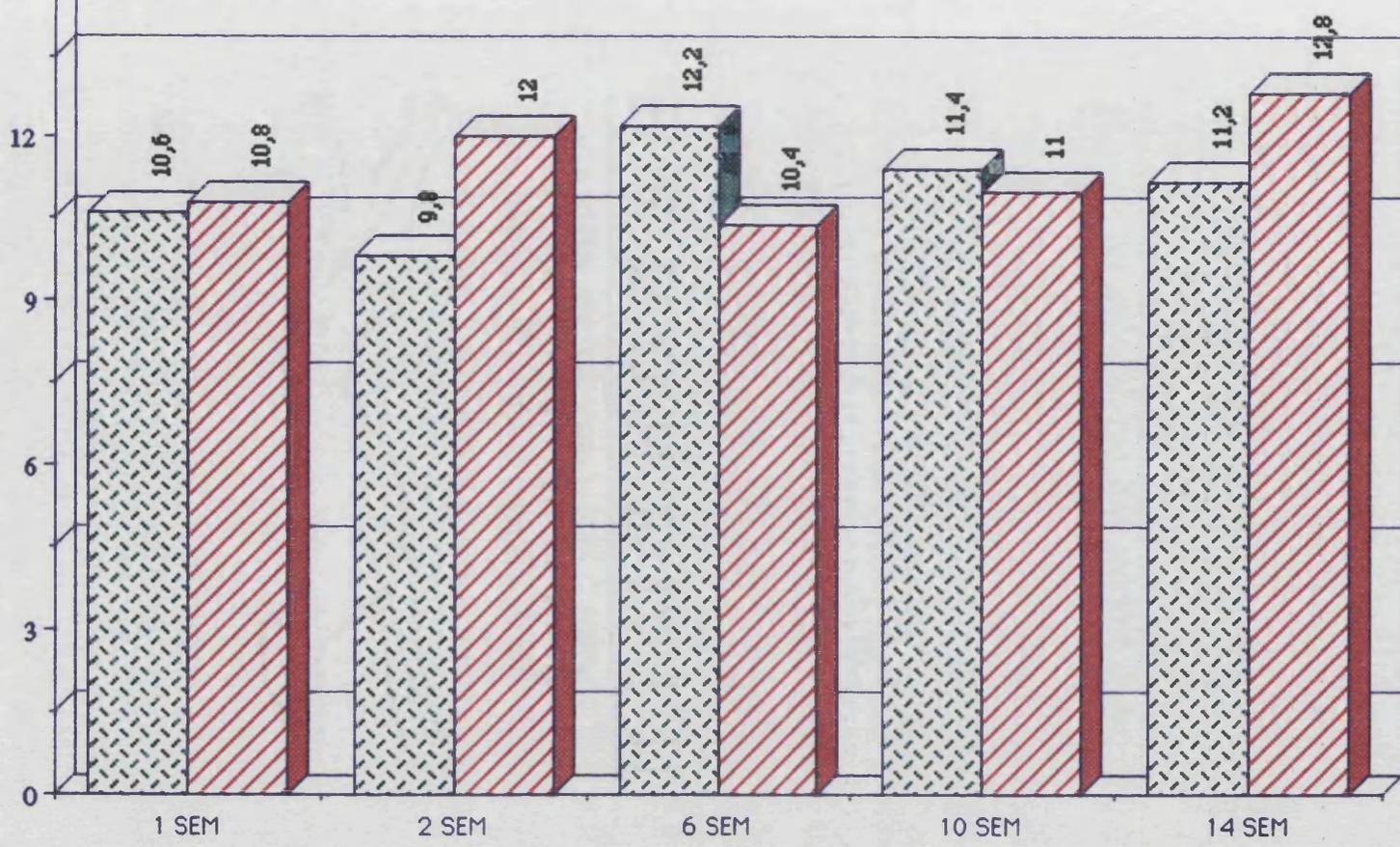
12

9

6

3

0



Gráfica nº 12 DIAMETRO TESTICULO IZQ (sim vs exp)

4. 3. - ESTUDIO A MICROSCOPIA OPTICA DE LA ZONA CENTRAL DEL TESTICULO

4. 3. 1. - TESTIGO

Al estudiar los resultados obtenidos de la morfología testicular, mediante microscopía óptica y diferentes métodos de tinción histológicos, en los cortes de 10 μ , visualizados a 20 y 40 aumentos, en los animales testigos, encontramos el aspecto morfológico normal del testículo, según los datos histológicos de normalidad en la bibliografía disponible al respecto. (Fig. -17)

Los túbulos seminíferos se muestran con una apariencia normal, con una línea espermatogénica completa y en distintos estadios evolutivos del ciclo espermático rodeados de una membrana basal, observándose en el interior de la luz tubular, tanto espermátides maduras como espermatozoides, adoptando una disposición en remolino, indicando que se encuentran listos para salir al exterior. (Fig. -18)

Según el método histológico empleado los componentes del espacio intersticial adoptan distinta coloración.

Al estudiar los cortes de 1 μ a 100 aumentos teñidos con Azul de Toluidina alcalino, en los *Animales Testigos* observamos en el espacio intersticial de la zona central del testículo distintas poblaciones celulares. Entre ellas encontramos:

A) Unas células basófilas (Fig. -19) cuyas características morfológicas pueden resumirse en :

Citoplasma : más o menos basófilo de morfología irregular, bien delimitadas con escasos cuerpos electrodensos en su interior.

Núcleo : basófilo, irregular, único, excéntrico, encontrando en algunas de las células la heterocromatina adosada a la membrana nuclear, delimitandolo claramente.

El nucleolo: sólo es patente en algunas de estas células.

B) Células con menor apetencia tintorial (Fig. -19) que las anteriores de morfología irregular , mal delimitadas debido a sus prolongaciones citoplasmáticas (seudópodos), contienen gran cantidad de cuerpos electrodensos en su interior.

FIGURA nº 17

TESTIGO - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermiática**
- 3.- Luz tubular en la que se observan Espermatozoides
que se disponen en remolino**
- 4.- Espacio Intersticial**
- 5.- Núcleo Células de Leydig (rojo)**

AZAN DE HEIDENHAIN 20 X 1,25 X 10

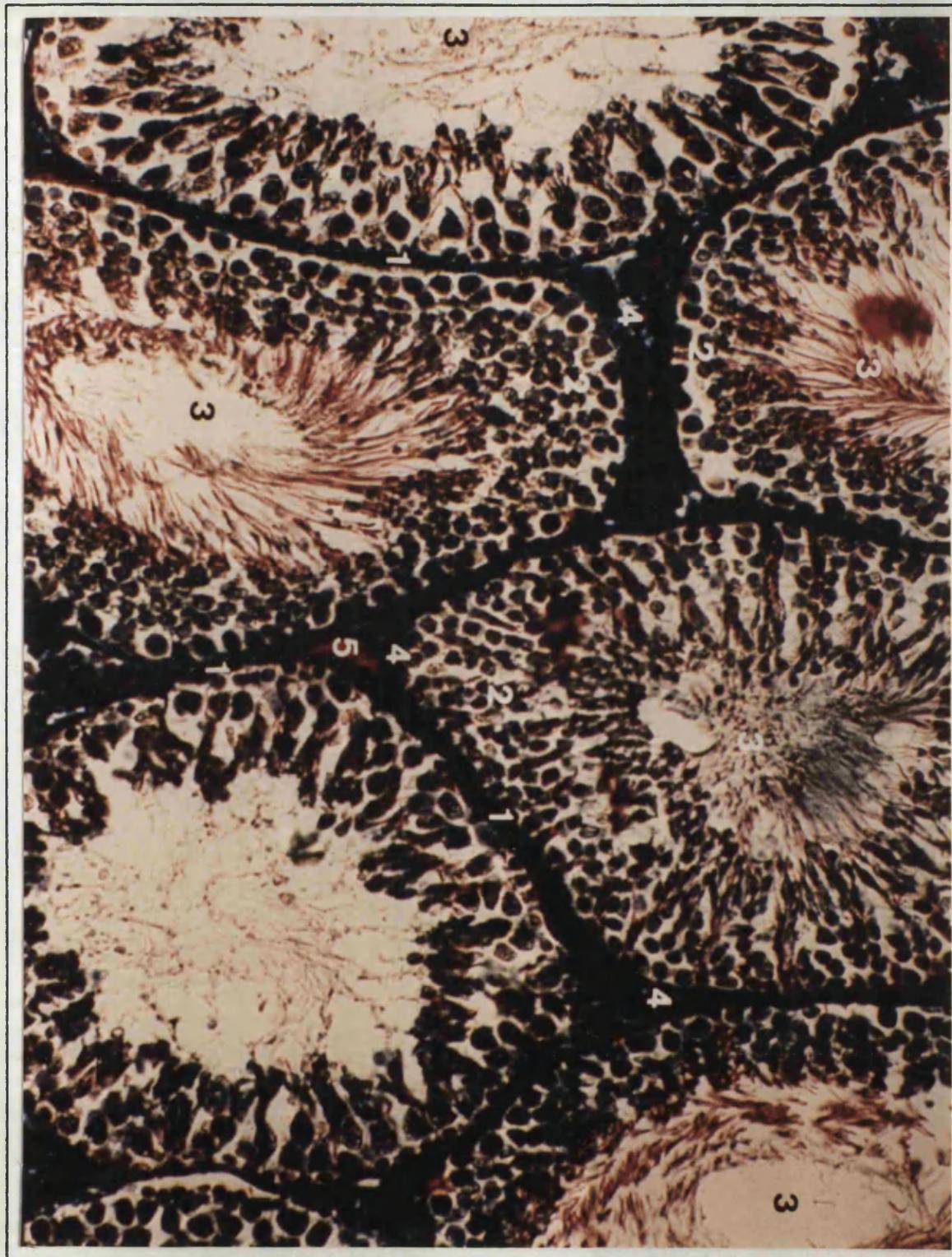


Figura nº 17

FIGURA nº 18

TESTIGO - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática, con Espermátides Maduras
(Flecha)**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial**
- 5.- Núcleos Células Intersticiales**

NISSL 40 X 1,25 X 10

FIGURA nº 19

TESTIGO - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Células de Leydig**
- 6.- Macrófagos con núcleo bien delimitado y gran
cantidad de cuerpos densos en su citoplasma**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

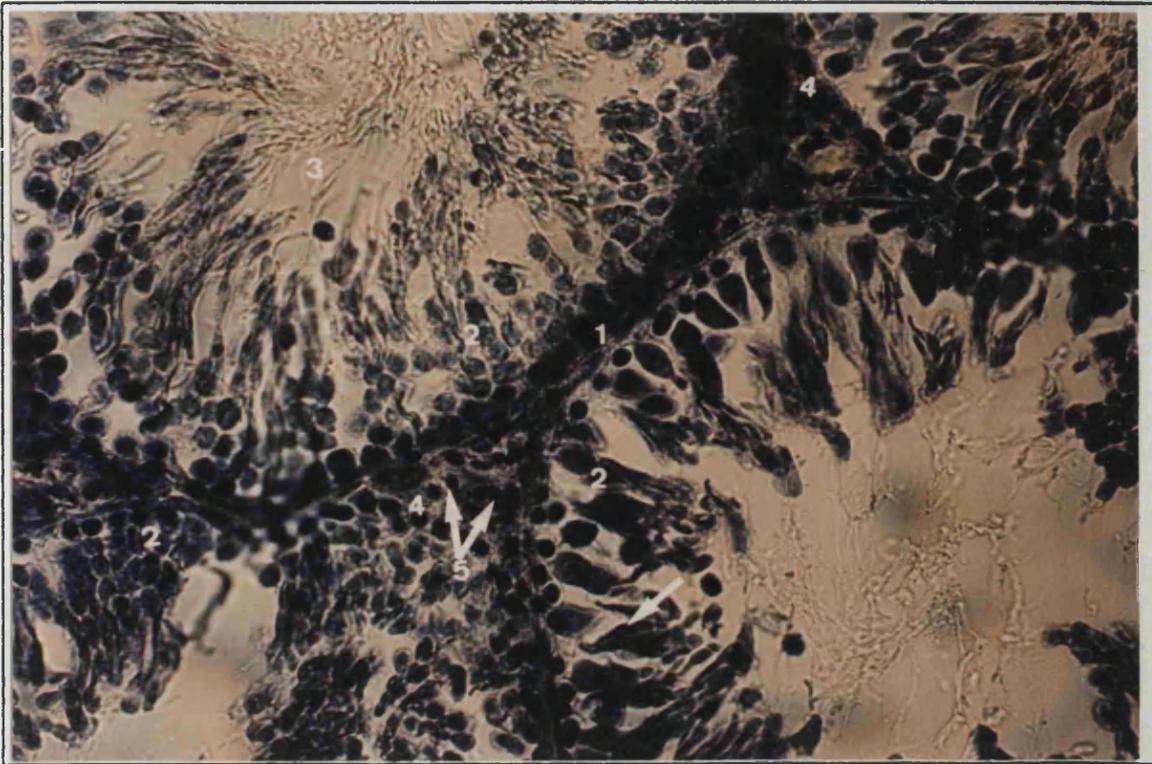


Figura nº 18

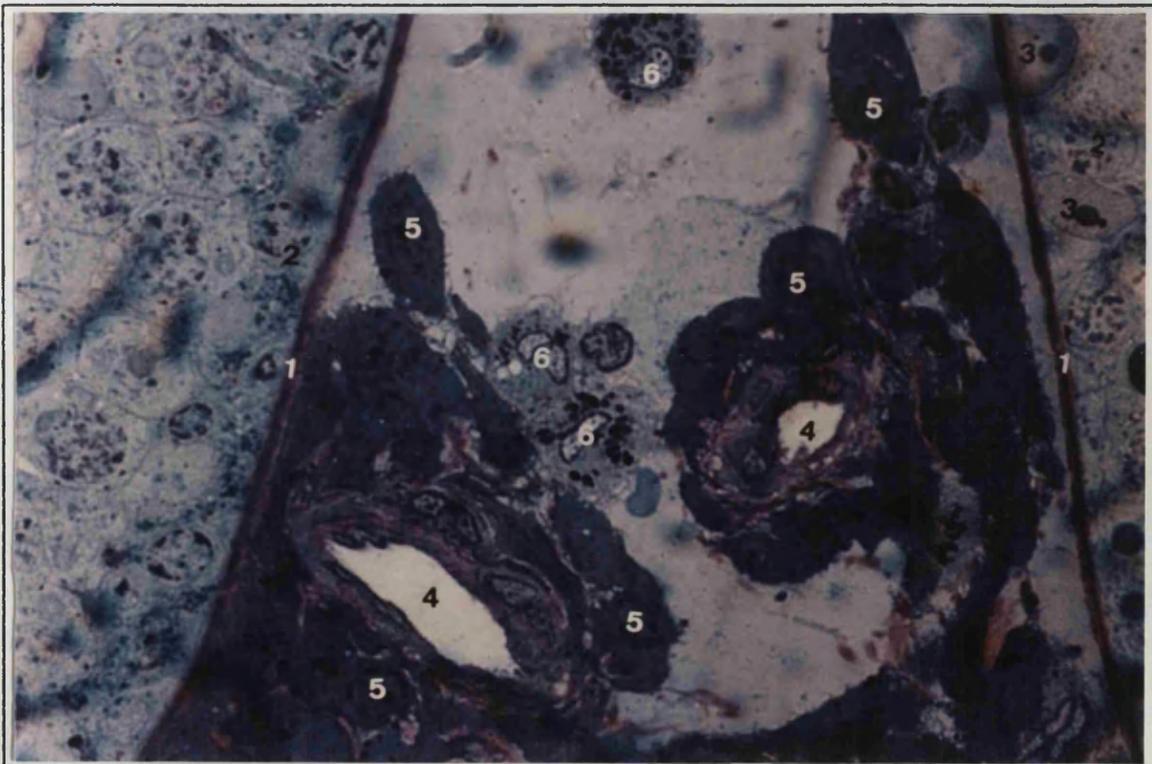


Figura nº 19

El núcleo es irregular, bien definido por la membrana cromática, rico en eucromatina, único, excéntrico.

De los grupos celulares anteriormente descritos (A y B) y atendiendo a las descripciones morfológicas disponibles en la bibliografía, podemos concretar que los tipos celulares del grupo (A) corresponden a lo descrito por Leydig como células endocrinas del testículo o **Células de Leydig**.

Mientras que las células descritas en nuestro grupo (B) corresponden morfológicamente a **Macrófagos**.

4. 3. 2. -GRUPO SIMULADO

Al estudiar los resultados obtenidos de la morfología testicular, mediante microscopía óptica siguiendo distintos métodos histoquímicos, en los cortes de 10 μ , visualizados a 20 y 40 aumentos, en todas las series simuladas, encontramos el aspecto morfológico normal del testículo, al ser comparados con los animales testigos. (Fig. 20-21-22)

Al analizar los resultados obtenidos en el grupo de animales simulados en los cortes de 1 y teñidos con Azul de Toluidina Alcalino, encontramos un tipo celular que correspondería al descrito como grupo (A) a lo largo de todas las series al igual que en los animales testigos (Fig. -23-24-25-26-27)

Respecto al grupo celular (B) o macrófagos empiezan a manifestarse a las diez semanas postvasectomía simulada haciéndose más evidentes a las 14 semanas de supervivencia.

Estas variedades celulares aparentemente no tienen características diferenciales con los animales testigos.

FIGURA nº 20

SIMULADA 1 SEMANA - 10 µ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática, con Espermatídes maduras
(Flecha)**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial, en cuyo interior se aprecian los
núcleos de las Células Intersticiales**

HEMATOXILINA - EOSINA 40 X 1,25 X 10

FIGURA nº 21

SIMULADA 14 SEMANAS - 10 µ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática**
- 3.- Luz Tubular repleta de Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial**
- 5.- Células Intersticiales**

HEMATOXILINA - EOSINA 40 X 1,25 X 10

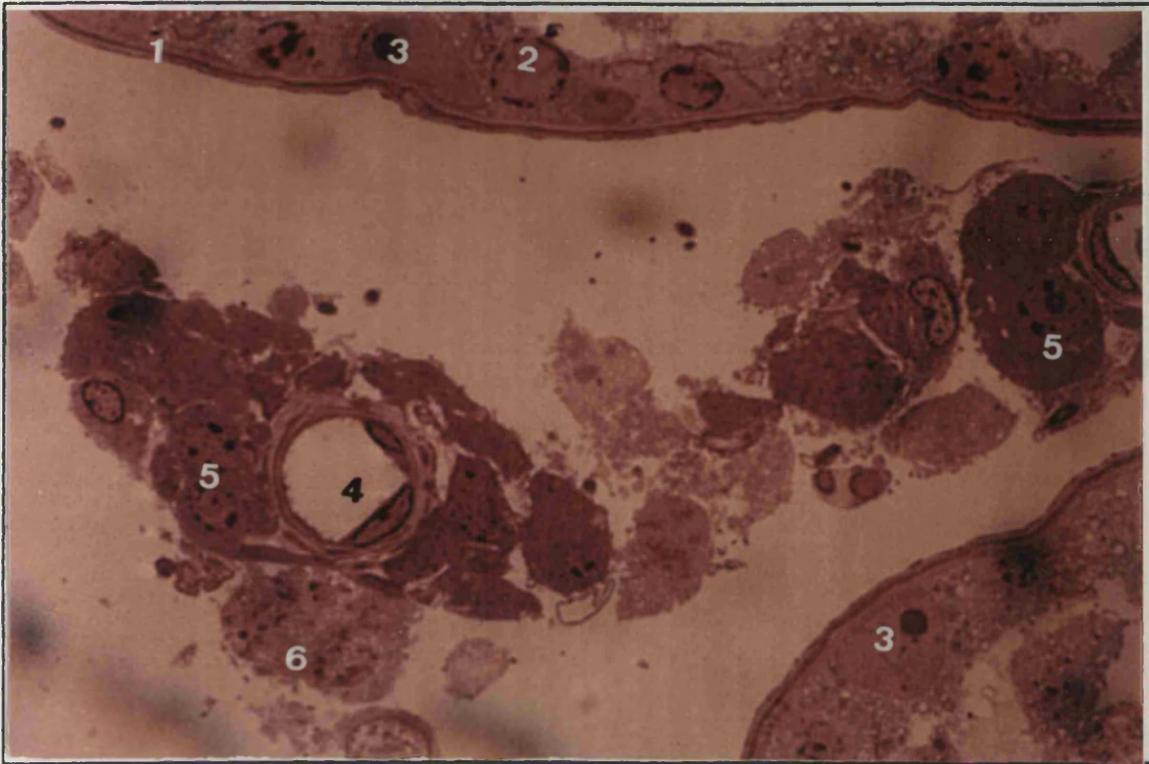


Figura nº 20

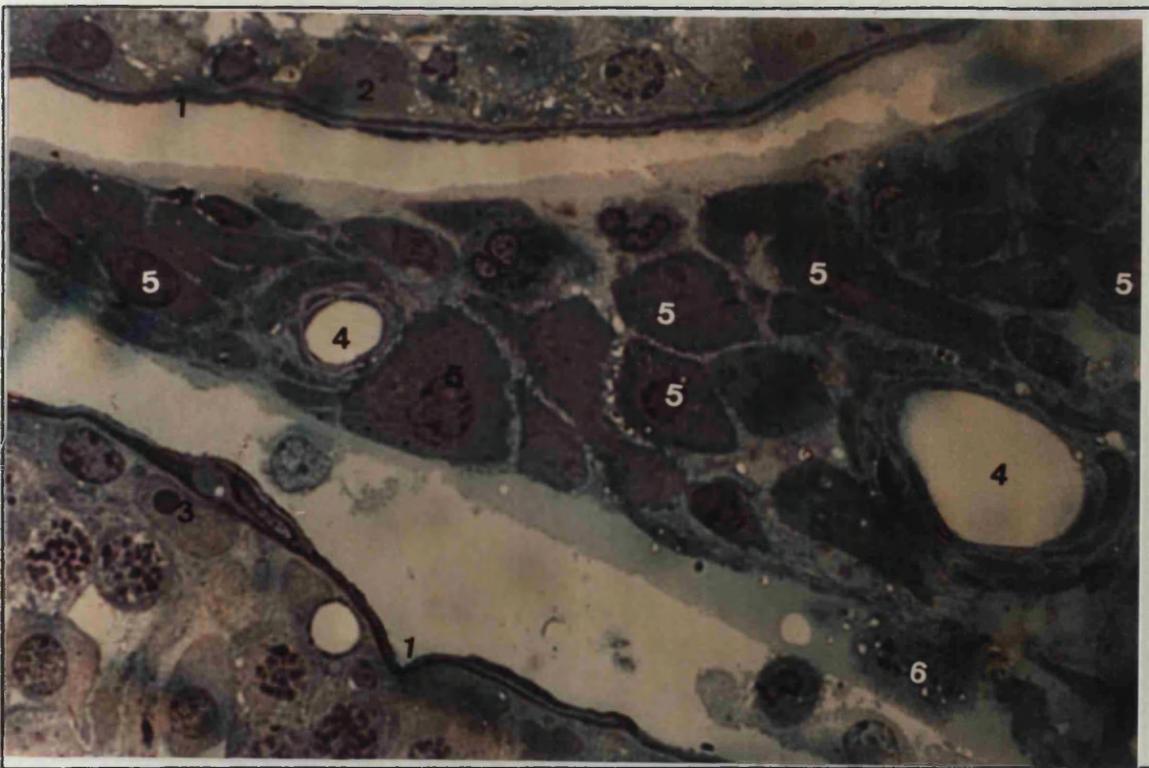


Figura nº 21

FIGURA nº 22

SIMULADA 14 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática**
- 3.- Luz Tubular repleta con Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial**
- 5.- Células Intersticiales**

NISSL 40 X 1,25 X 10

FIGURA nº 23

SIMULADA 1 SEMANA - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Células de Leydig**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

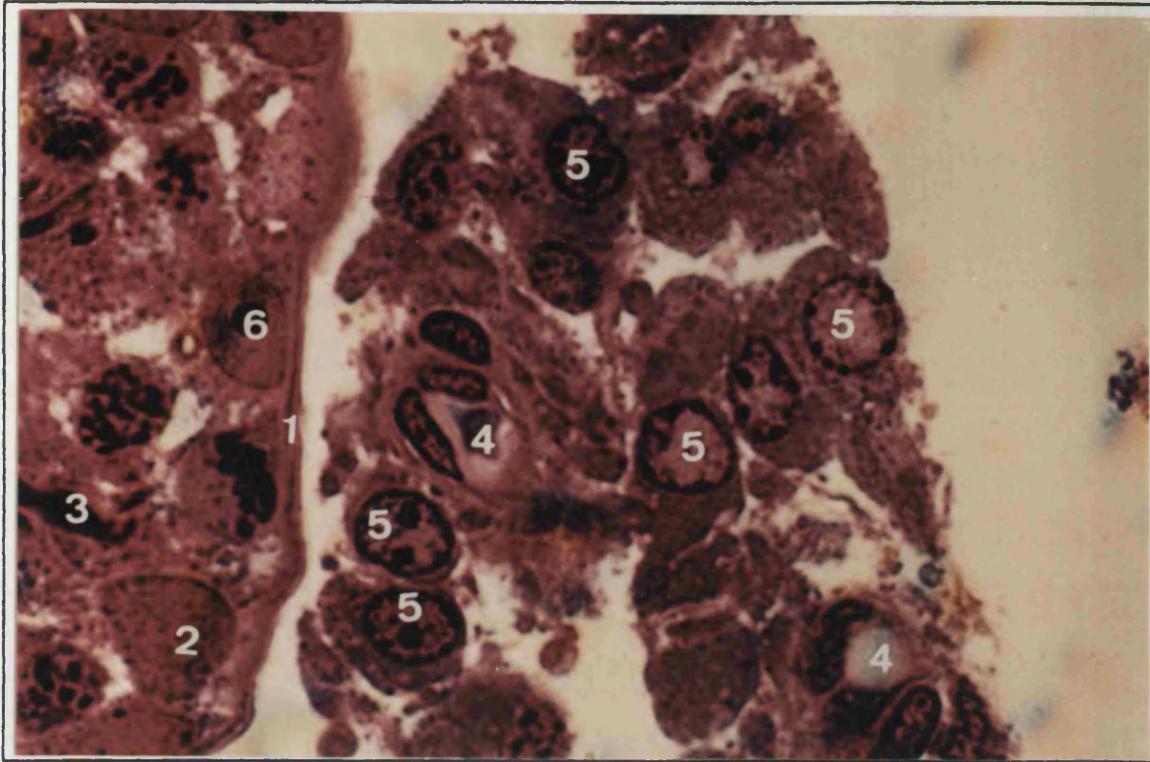


Figura nº 22

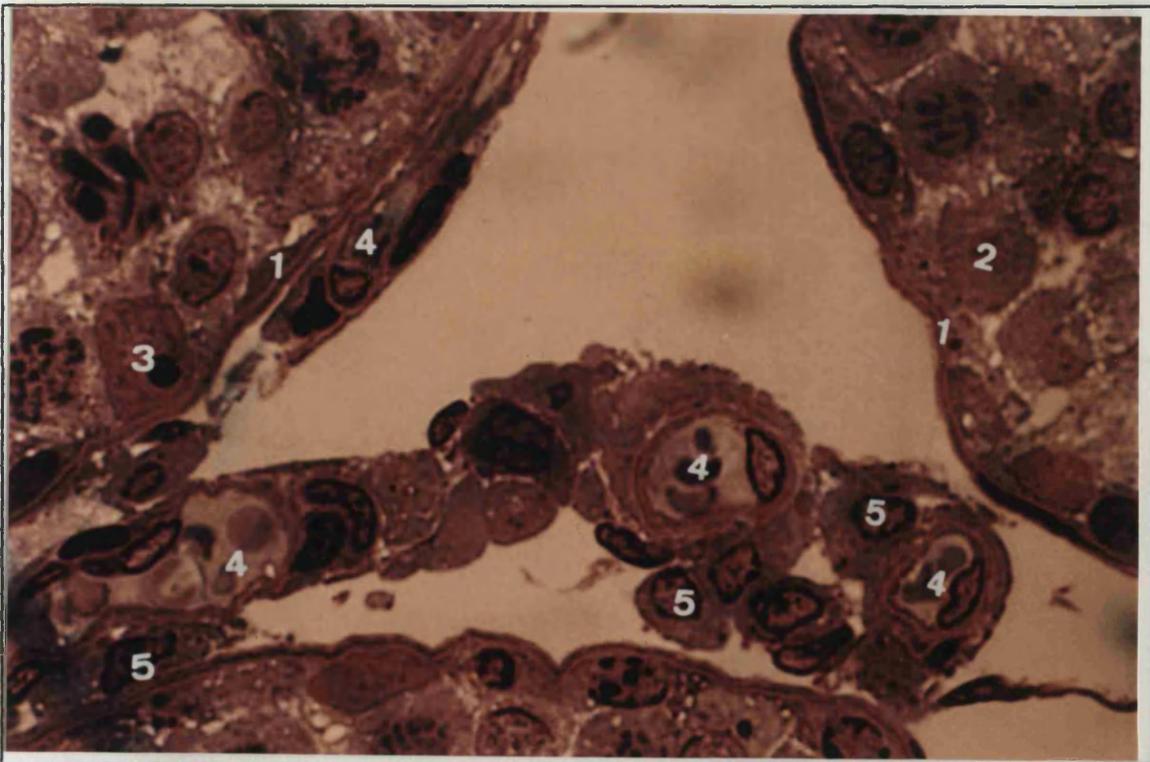


Figura nº 23

FIGURA nº 24

SIMULADA 6 SEMANAS - 1 μ

ESPACIOINTERSTICIALTESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Espermatides maduras ensamblada en célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Célula de Leydig**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

FIGURA nº 25

SIMULADA 10 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Célula de Leydig**
- 6.- Macrófago**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

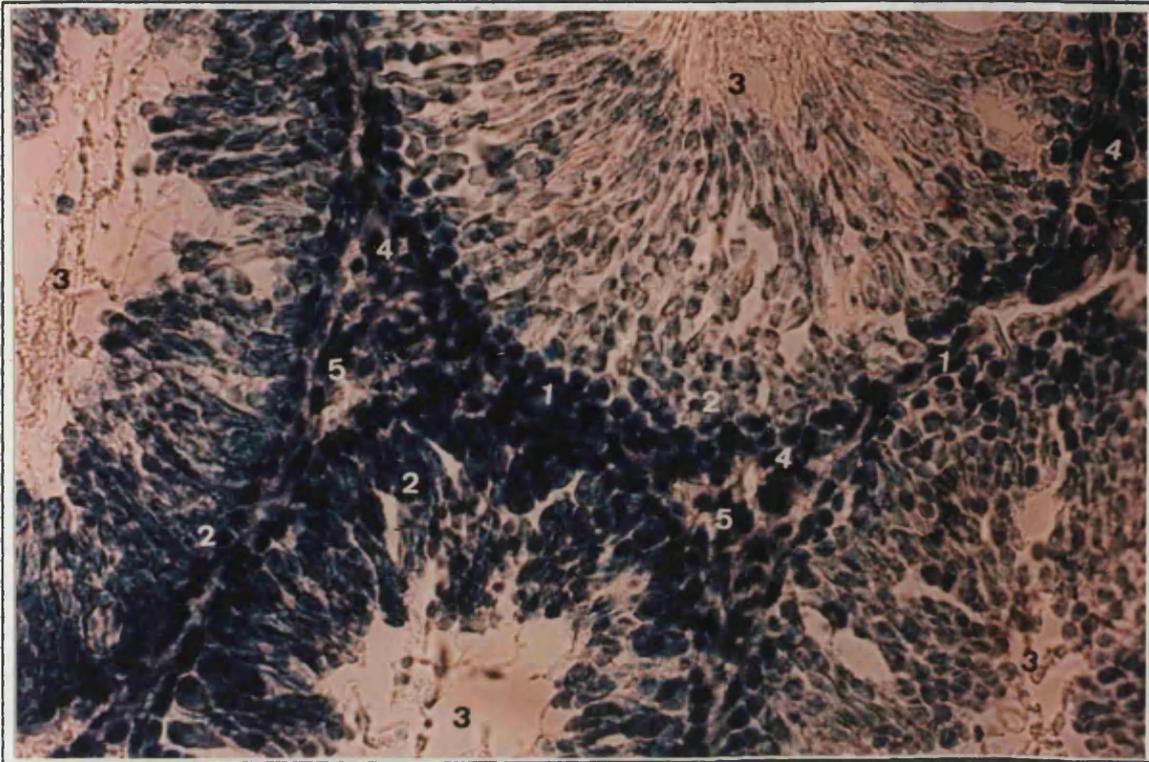


Figura nº 24

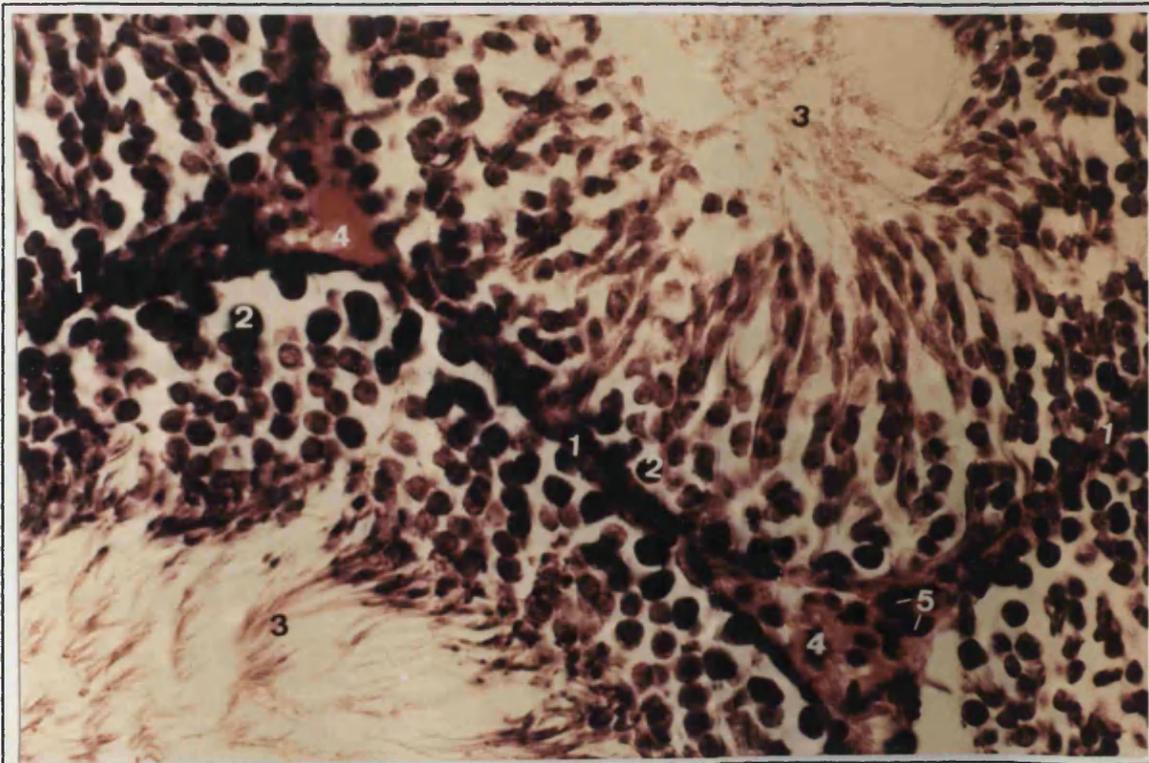


Figura nº 25

FIGURA nº 26

SIMULADA 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1- Membrana Tubular**
- 2- Espermatogonia**
- 3- Célula de Sertoli**
- 4- Vaso**
- 5- Célula de Leydig**
- 6- Macrófago**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

FIGURA nº 27

SIMULADA 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1- Membrana tubular**
- 2- Espermatogonia**
- 3- Vaso**
- 4- Célula de Leydig**
- 5- Macrófago**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

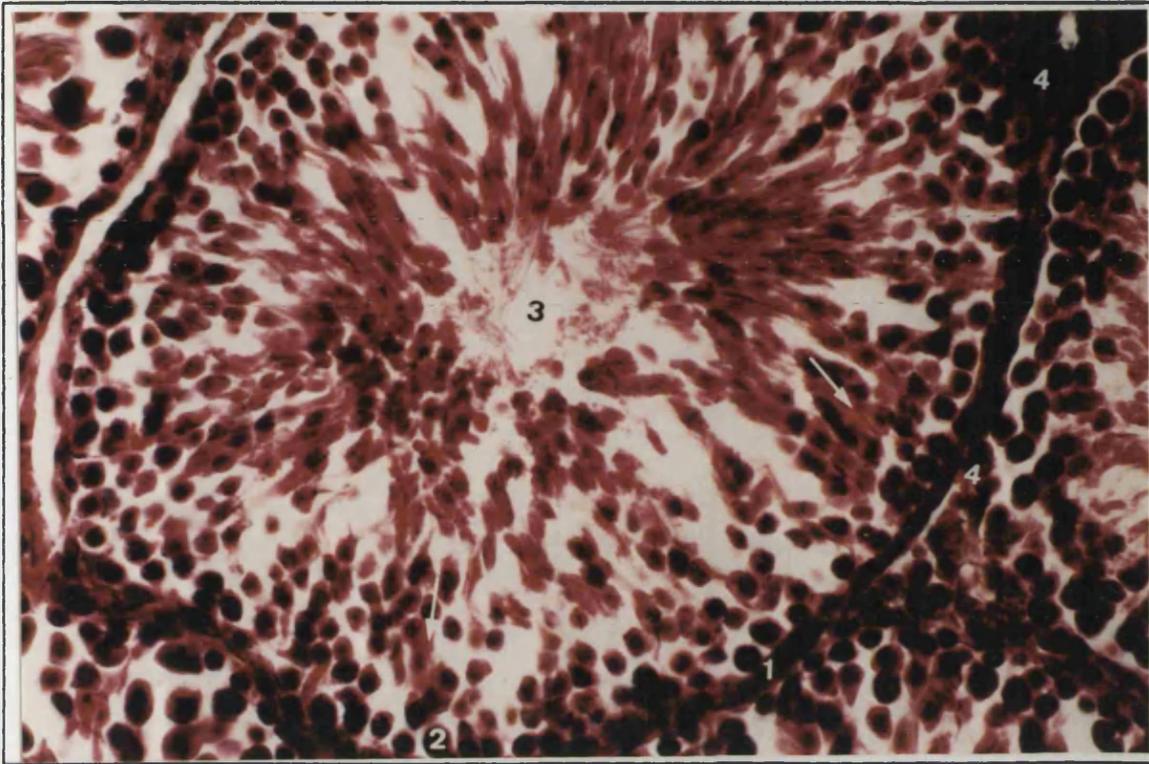


Figura nº 26

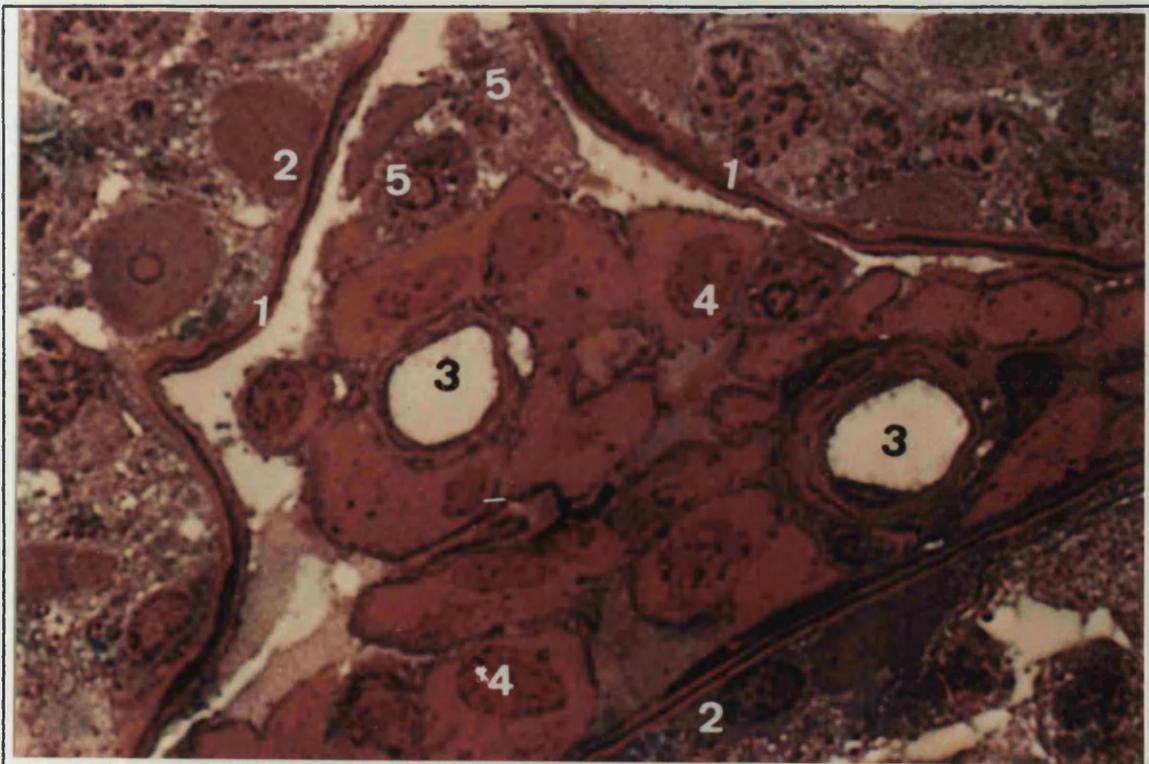


Figura nº 27

4. 3. 3. - GRUPO EXPERIMENTAL

A) UNA SEMANA EXPERIMENTAL

La morfología de los túbulos seminíferos al corte tiene una apariencia normal. (Fig. -28)

Se aprecia una disminución en la densidad de la línea espermática, en algunos de los túbulos seminíferos con respecto a los animales simulados y testigos.

Dentro de la luz tubular se observan las colas de los espermatozoides.

El espacio intersticial no varía de tamaño, siendo igual al encontrado en animales testigos y simulados. (Fig. -29)

B) DOS SEMANAS EXPERIMENTAL

La morfología de los túbulos seminíferos en los cortes de 10 μ observados a 20 aumentos no varía. (Fig. -30)

Al compararlos con los animales testigos y simulados y respecto a los experimentales de 1 semana, se acentúa de forma evidente el fenómeno descrito en la serie anterior, de disminución de la densidad celular de la línea espermática. (Fig. -31)

En el espacio intersticial se evidencia una dilatación del mismo, evidencia que se pone de manifiesto por la intensidad de coloración que experimentan las fibras de colágena que componen éste espacio. (Fig. -31)

C) SEIS SEMANAS EXPERIMENTAL

Encontramos manifestaciones morfológicas diferenciales más evidentes respecto a las series simuladas anteriores y testigos.

Al compararlas con la serie experimental de 2 semanas de supervivencia encontramos animales con manifestaciones morfológicas similares a las anteriores, tanto en el túbulo como en el intersticio (Fig. -32-33). Por contra existen animales que presentan una clara atrofia testicular con total desestructuración de la línea espermática, ausencia de espermatozoides y una gran dilatación del espacio intersticial, dilatación que se pone de mani

FIGURA nº 28

EXPERIMENTAL 1 SEMANA - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática con Espermatídes maduras(Flecha)**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides en su interior**
- 4.- Espacio Intersticial**
- 5.- Núcleos de Células Intersticiales (Rojo)**

AZAN DE HEIDENHAIN 20 X 1,25 X 10

FIGURA nº 29

EXPERIMENTAL 1 SEMANA - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides en su interior**
- 4.- Espacio Intersticial**

HEMATOXILINA - EOSINA 40 X 1,25 X 10

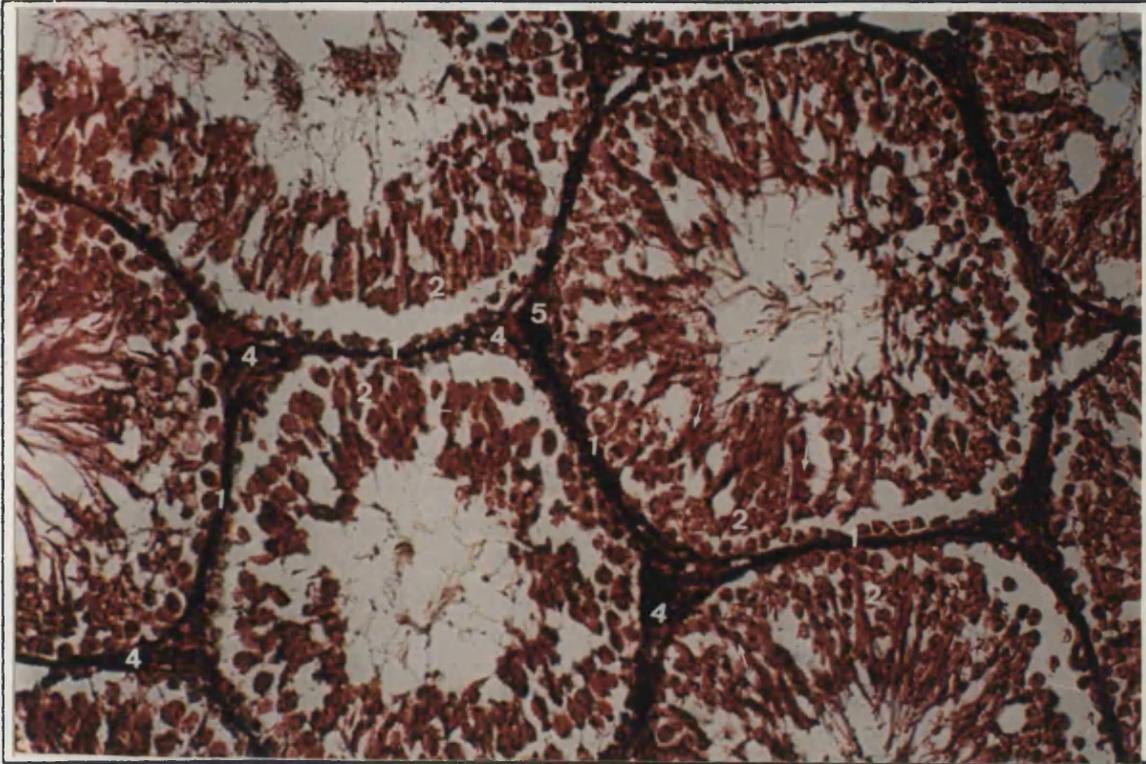


Figura nº 28



Figura nº 29

FIGURA nº 30

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular
- 2.- Línea Espermática con Espermatídes maduras
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides en su interior
- 4.- Espacio Intersticial ligeramente dilatado en cuyo interior se observan los núcleos de las Células Intersticiales
- 5.- Vaso

HEMATOXILINA - EOSINA 20 X 1,25 X 10

FIGURA nº 31

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular
- 2.- Línea Espermática disminuida en su densidad, con Espermatídes maduras (Flecha)
- 3.- Luz Tubular con menos densidad de Espermatozoides
- 4.- Espacio Intersticial dilatado

TRICROMICO 40 X 1,25 X 10



Figura nº 30

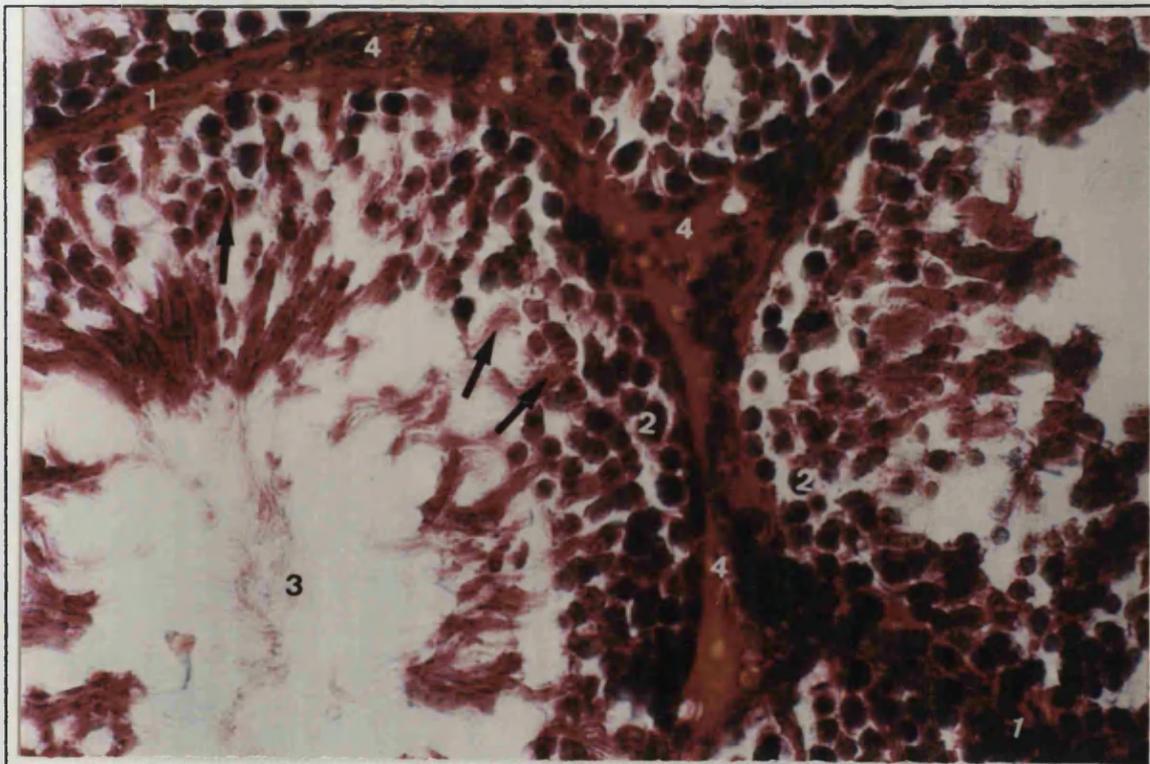


Figura nº 31

FIGURA nº 32

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática en algunos de los túbulos está disminuida en su densidad, con Espermatídes maduras**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides, varían de unos túbulos a otros**
- 4.- Espacio Intersticial, en algunas zonas se encuentra dilatado, en cuyo interior se observan los núcleos de las Células Intersticiales**

NISSL 20 X 1,25 X 10

FIGURA nº 33

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea Espermática, en distintos estadios de evolución, con Espermatídes maduras**
- 3.- Luz Tubular con Espermatozoides de densidad variable de unos túbulos a otros**
- 4.- Espacio Intersticial dilatado, con gran cantidad de fibras de colágena teñidas de amarillo verdoso. En el interior se localizan las Células Intersticiales**

TRICROMICO 40 X 1,25 X 10

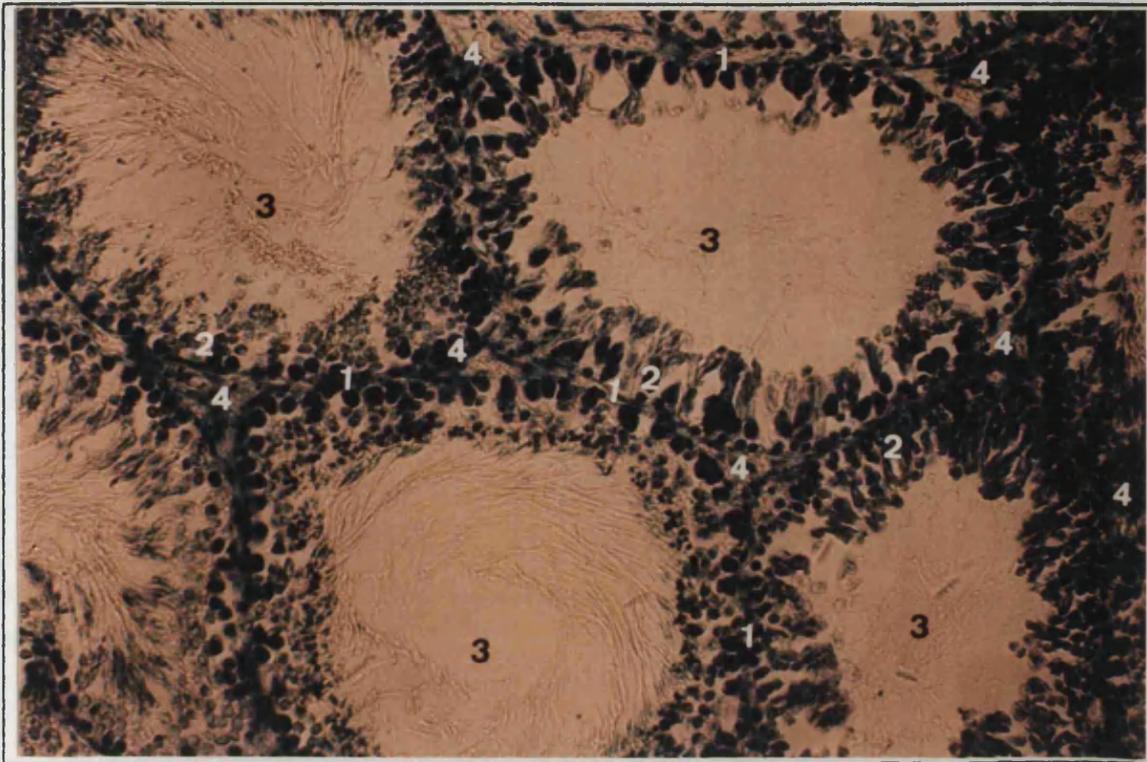


Figura nº 32

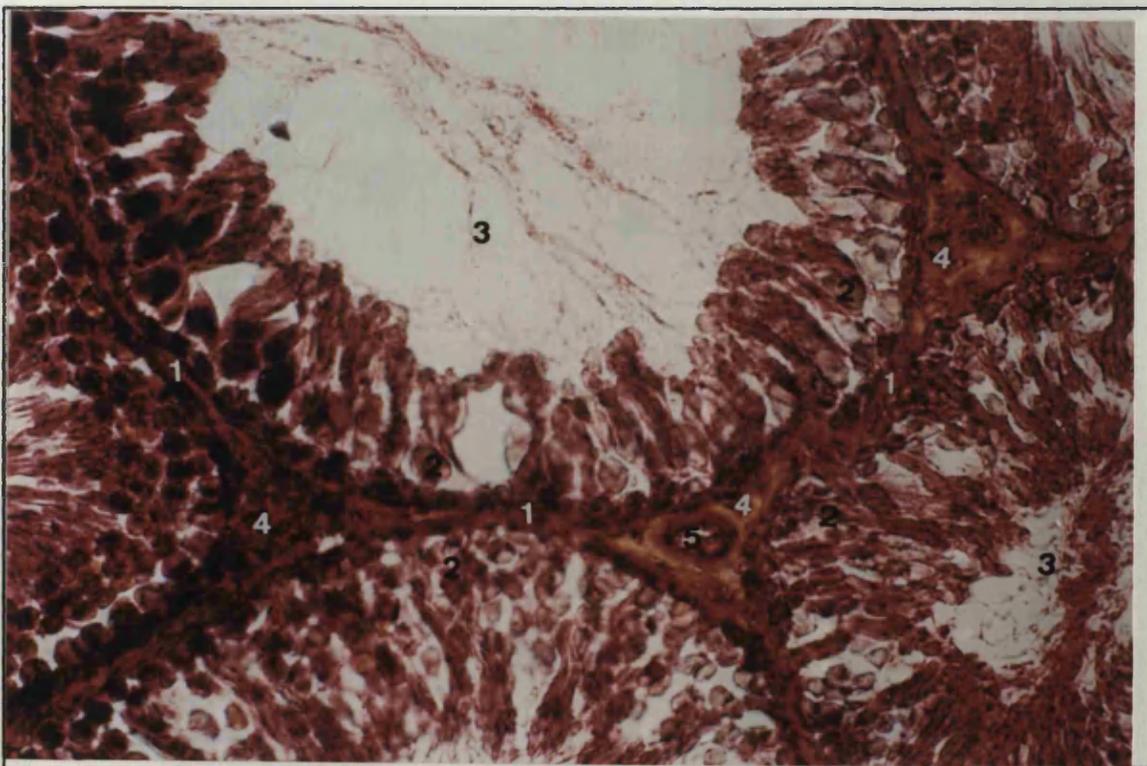


Figura nº 33

fiesto por la gran apetencia tintorial de las fibras de colágena que componen dicho espacio. (Fig. -34-35)

D) DIEZ SEMANAS EXPERIMENTAL

En las series experimentales de 10 semanas, encontramos las manifestaciones de atrofia testicular más evidentes que en las series anteriores y de manera uniforme, es decir en todos los animales que componen dicha serie, de forma que existe una alteración notable de la línea espermatogénica, encontrándose en algunos de los túbulos restos de colas de espermatozoides, existiendo así mismo túbulos con ausencia total de espermatozoides.

El espacio intersticial está muy dilatado.

En el interior de los túbulos se aprecia una sustancia que se colorea de marrón por medio del Tricrómico de Masson y que se corresponde con los restos celulares. (Fig. -36-37-38)

E) CATORCE SEMANAS EXPERIMENTAL

Las manifestaciones morfológicas de desestructuración testicular que nos indican atrofia, adquieren su máxima relevancia, tanto en lo que se refiere al túbulo seminífero en donde existen numerosos túbulos con ausencia total de células como en el espacio intersticial, el cual se muestra enormemente dilatado, con gran contenido de tejido fibroso, siendo probablemente ésta dilatación la que ocasione un fenómeno de compresión sobre los túbulos seminíferos vecinos que por consiguiente se deformarán. (Fig. 39-40)

< La morfología testicular al practicar vasectomía, refleja manifestaciones morfológicas que estudiadas a microscopía óptica en cortes de 10 μ pueden resumirse en una Atrofia Testicular Parcial, que se intuye con ligeros signos en la alteración de la línea espermatogénica en las dos primeras series experimentales, haciéndose clara y evidente en algunos animales a las 6 semanas postvasectomía y adquiriendo máxima relevancia y de forma constante en los animales pertenecientes al grupo de 14 semanas postvasectomía, estos signos de atrofia se reflejan en ausencia de la línea esper

FIGURA nº 34

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular desestructurada "Asta de Ciervo"**
- 2.- Restos celulares**
- 3.- Luz Tubular libre de Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial fuertemente coloreado de azul oscuro debido a la gran cantidad de fibras de colágena que lo componen. Así mismo se encuentra dilatado, observándose en su interior algunas células Intersticiales (* Rojo)**

AZAN DE HEIDENHAIN 20 X 1,25 X 10



Figura nº 34

FIGURA nº 35

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular desestructurada**
- 2.- Algunas Espermatogonias aisladas**
- 3.- Restos celulares**
- 4.- Luz Tubular libre de Espermatozoides**
- 5.- Espacio Intersticial dilatado, con gran cantidad de fibras de colágena teñidas de azul oscuro**

AZAN DE HEIDENHAIN 40 X 1,25 X 10

FIGURA nº 36

EXPERIMENTAL 10 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea espermática con células e distinto estadio evolutivo, de menor densidad**
- 3.- Luz Tubular libre de Espermatozoides**
- 4.- Espacio Intersticial, dilatado, fuertemente teñido de azul oscuro (colágena). Células Intersticiales (Rojo Flecha)**

AZAN DE HEIDENHAIN 40 X 1,25 X 10

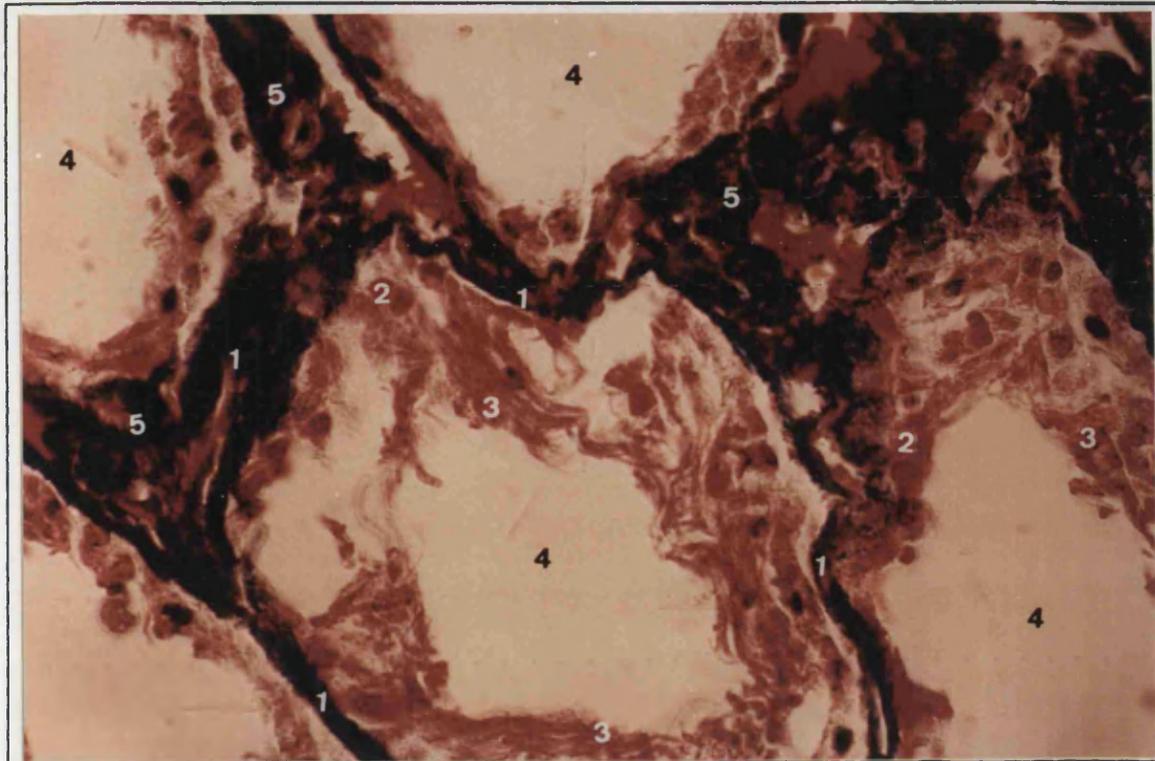


Figura nº 35

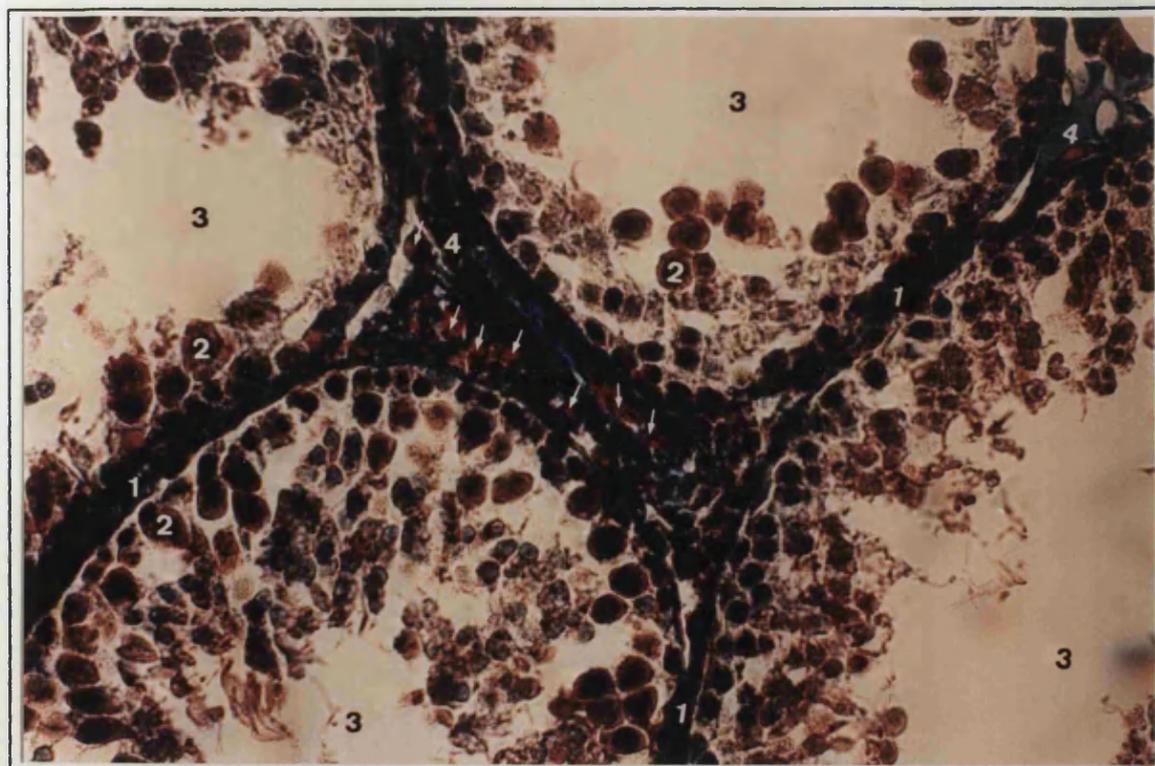


Figura nº 36

FIGURA nº 37

EXPERIMENTAL 10 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Línea espermática de menor densidad poblacional**
- 3.- Luz Tubular con Espermatogonias y restos celulares
(Flecha)**
- 4.- Espacio Intersticial dilatado, en cuyo interior y
teñidos de azul oscuro se observan los núcleos
de las células Intersticiales (*)**

HEMATOXILINA - EOSINA 40 X 1,25 X 10

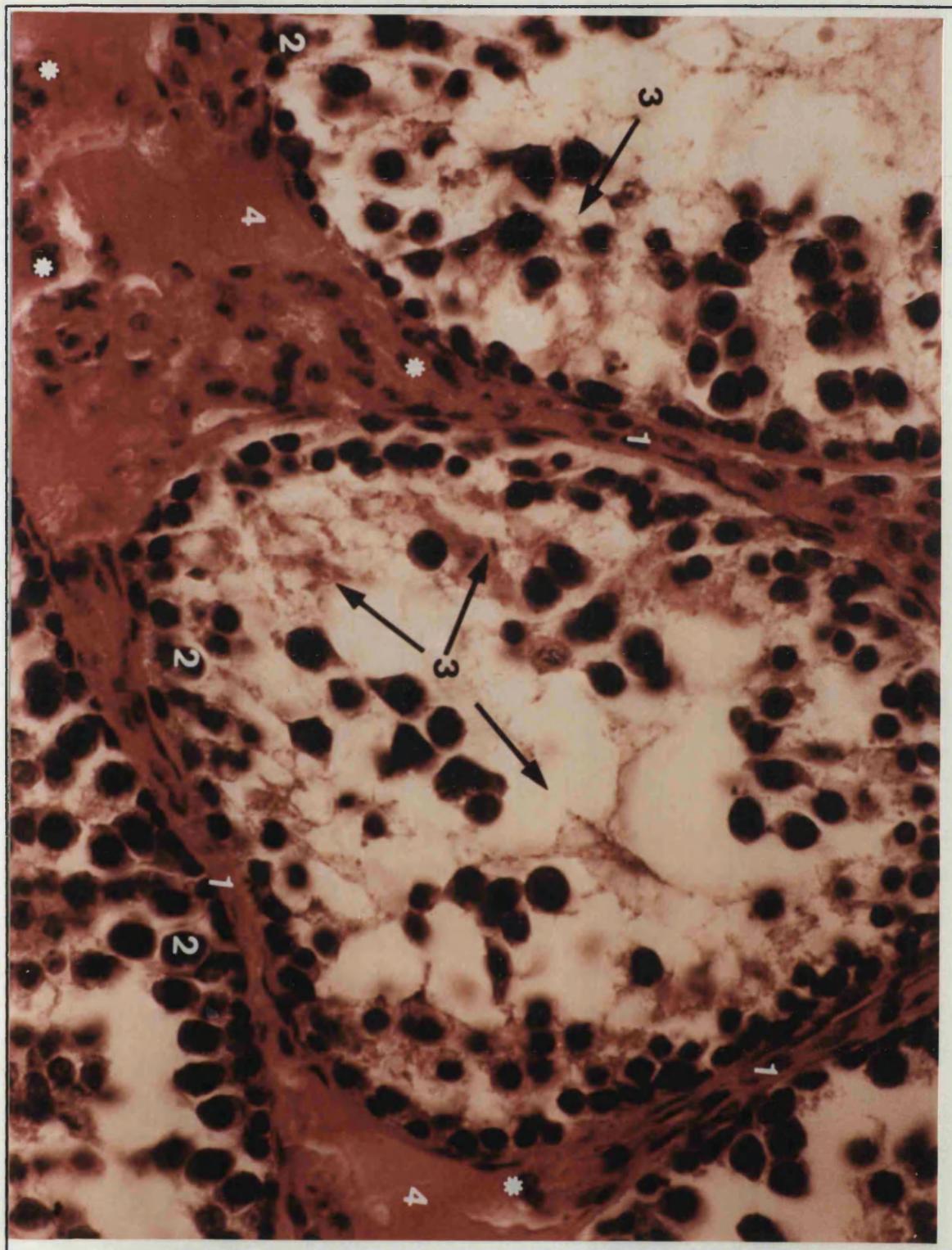


Figura nº 37

FIGURA nº 38

EXPERIMENTAL 10 SEMANAS - 10 μ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular aumentada de espesor fuertemente coloreada de verde por la proliferación de tejido colágeno**
- 2.- Línea espermática de densidad variable de un túbulo a otro**
- 3.- Restos celulares ocupando la luz tubular**
- 4.- Espacio intersticial dilatado y teñido de verde, indicando su gran cantidad de fibras de colágena. En el interior se observan algunos núcleos de células Intersticiales**

TRICROMICO 40 X 1,25 X 10

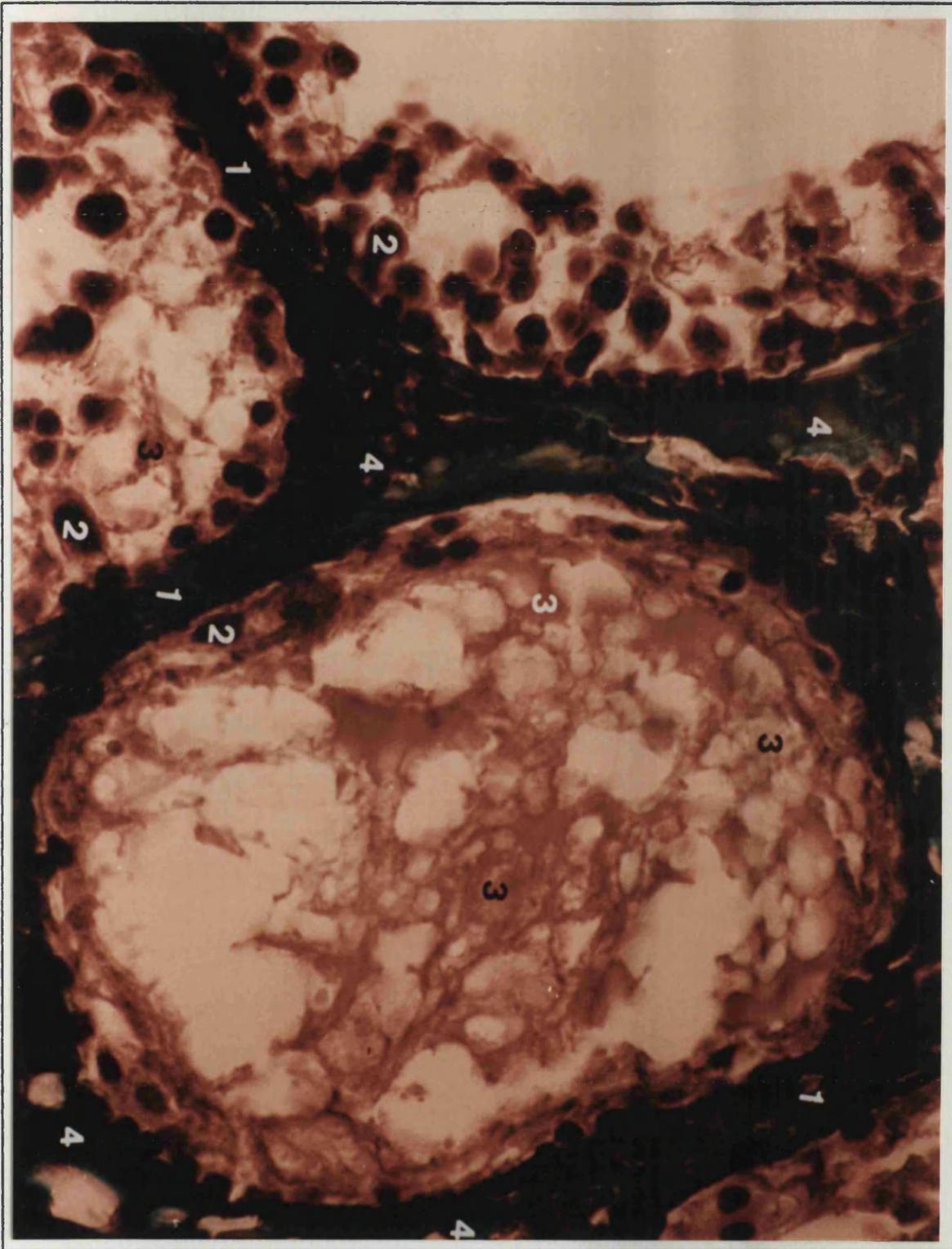


Figura nº 38

FIGURA nº 39

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 10 µ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular fuertemente coloreada de azul por la gran cantidad de fibras de colágena**
- 2.- Algunas células pertenecientes al epitelio germinativo**
- 3.- Luz Tubular libre de Espermatozoides**
- 4.- Restos celulares**
- 5.- Espacio Intersticial dilatado, con gran contenido en fibras de colágena. Núcleos de Células Intersticiales teñidos de rojo (Flecha)**

AZAN DE HEIDENHAIN 20 X 1,25 X 10

FIGURA nº40

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 10 µ

CORTE TRANSVERSAL ZONA CENTRAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular muy engrosada y rica en fibras de colágena**
- 2.- Restos de epitelio germinativo**
- 3.- Luz Tubular libre de Espermatozoides**
- 4.- Restos celulares**
- 5.- Espacio Intersticial dilatado muy rico en fibras de colágena, fuertemente coloreado de verde (Flecha)**

TRICROMICO 40 X 1,25 X 10



Figura nº 39

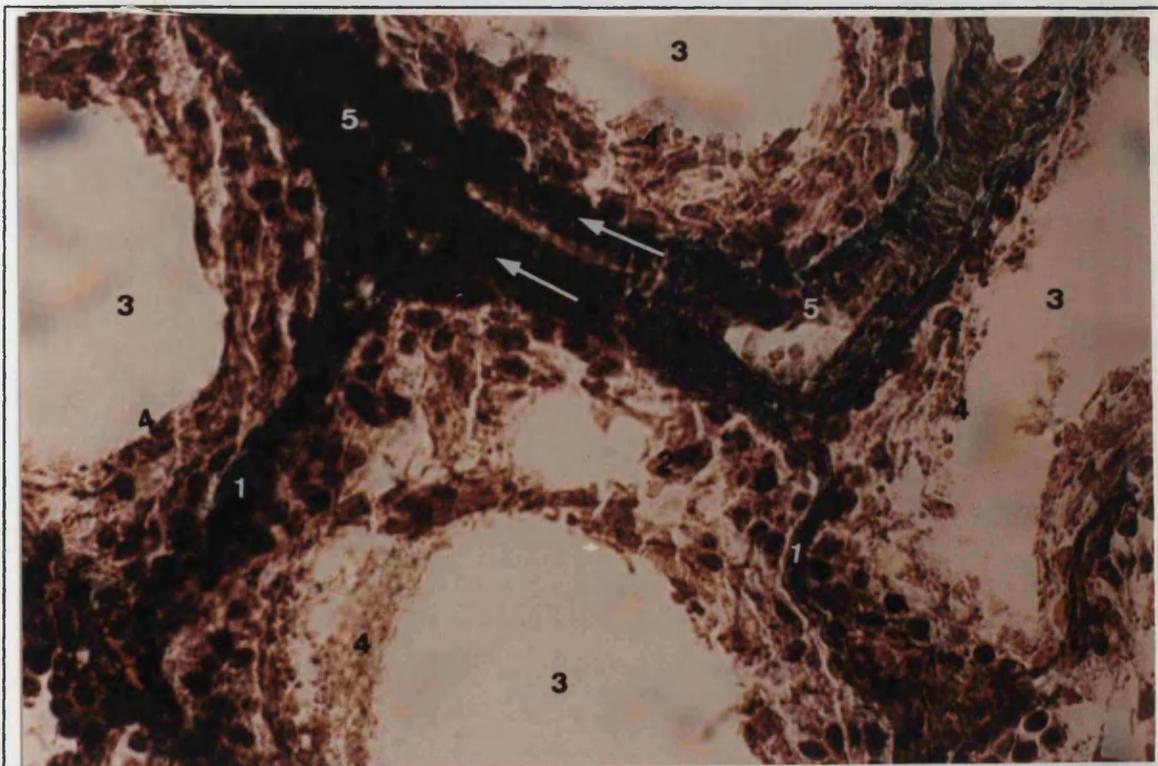


Figura nº 40

matogénica, con alteración de la morfología de la membrana tubular, que adopta formas irregulares, que se asemejan a "Aster de Ciervo", dilatación muy evidente del espacio intersticial, y ausencia de espermatozoides en el interior de la luz de los túbulos seminíferos. >

Al observar el espacio intersticial de la zona central del testículo en cortes de 1μ del grupo experimental manifiesta distintas poblaciones celulares fundamentalmente a las 14 semanas postvasectomía, encontrando también de forma numerosa la presencia de macrófagos. (Fig.- 43 -44 -45 -46)

Al estudiar las series experimentales y compararlas con animales simulados y testigos encontramos los dos tipos celulares (A y B), llamando la atención el hecho de que en el grupo (A) aparecen células de distinta basofilia, unas que serían las más numerosas y semejantes a las descritas en los grupos simulados y testigos, que se presentan a lo largo de todas las series experimentales (Fig. -41-42-43-44-45). y otras de menor basofilia que las anteriores que se manifiestan a las 14 semanas postvasectomía.

La población intersticial correspondiente al grupo (B), macrófagos se manifiesta ostensiblemente en la última serie experimental. (Fig. -43-44-45-46)

De los datos morfológicos expuestos no podemos inferir con microscopía óptica de cortes a 1μ , variaciones morfológicas entre las series testigos y simuladas, respecto de las experimentales, por contra, si podemos apuntar la presencia de distintas poblaciones celulares en los animales experimentales respecto de los simulados y testigos.

FIGURA nº 41

EXPERIMENTAL 1 SEMANA - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Célula de Leydig**
- 6.- Macrófago**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

FIGURA nº 42

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Vaso**
- 4.- Célula de Leydig**
- 5.- Macrófago**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

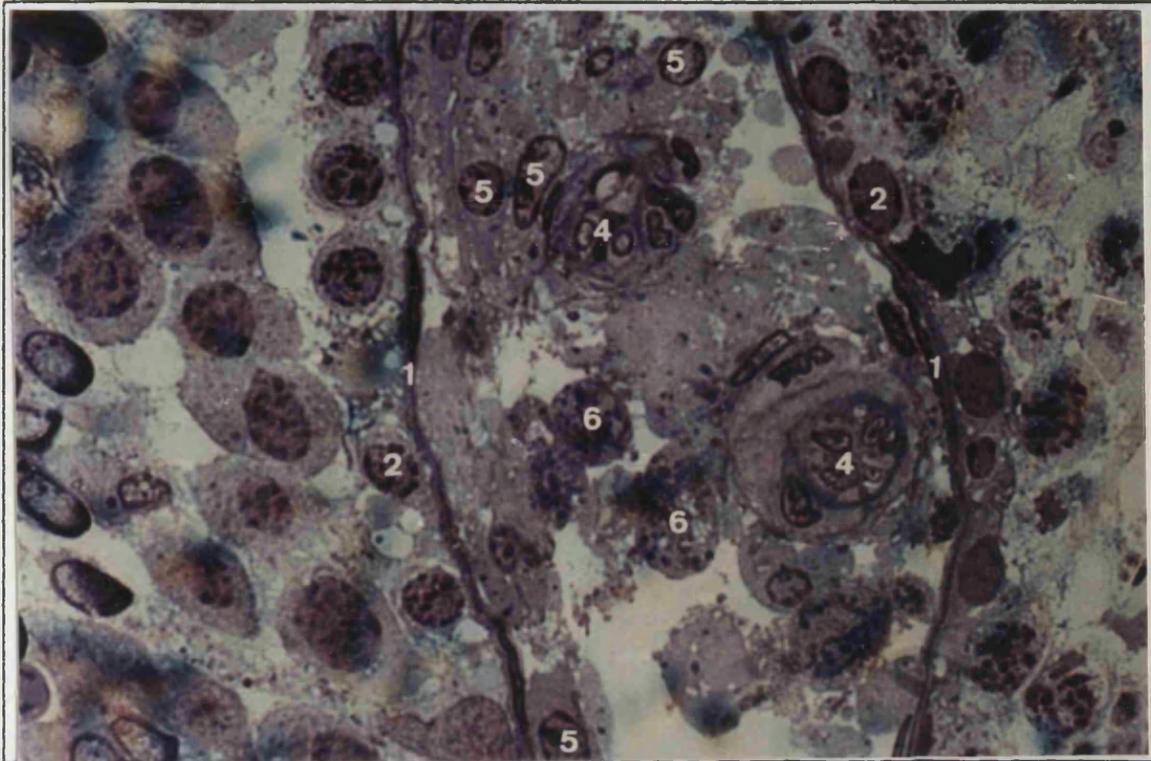


Figura nº 41

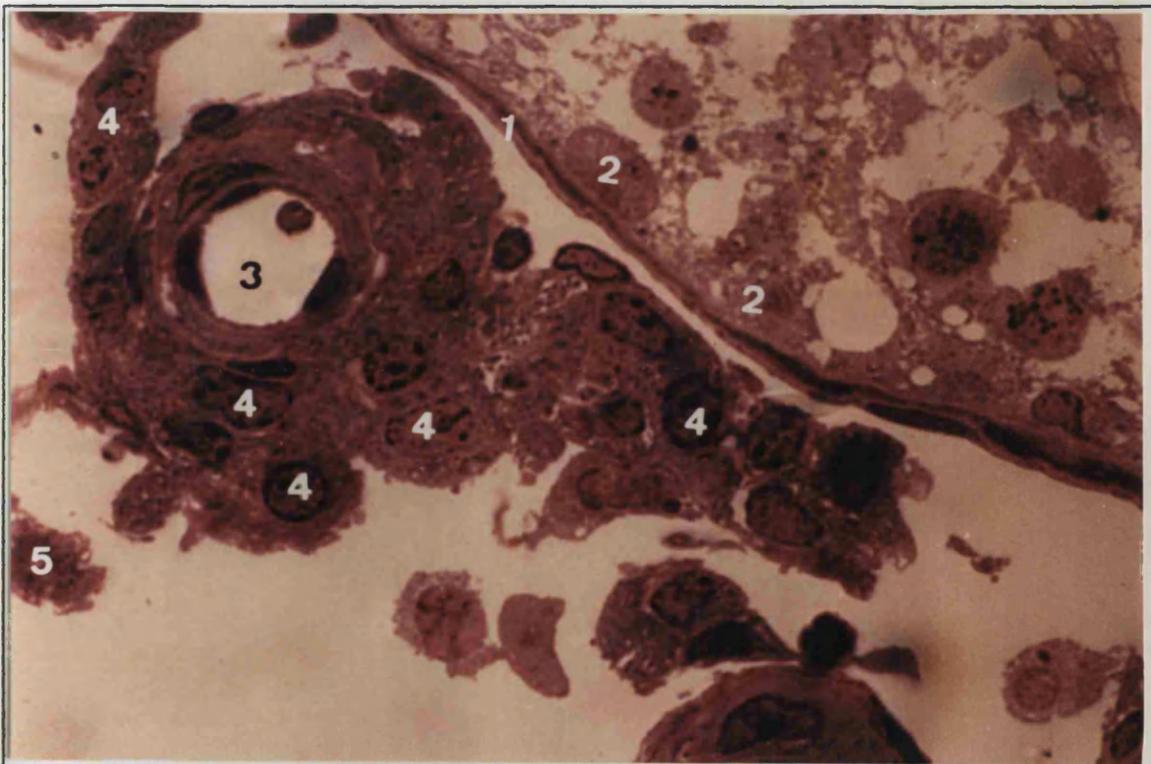


Figura nº 42

FIGURA nº 43

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular
- 2.- Espermatogonias
- 3.- Vaso
- 4.- Células de Leydig de Mayor Basofilia
- 5.- Células de Leydig de Menor Basofilia
- 6.- Macrófagos

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

FIGURA nº 44

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular
- 2.- Espermatogonias
- 3.- Vaso
- 4.- Células de Leydig de Mayor Basofilia
- 5.- Células de Leydig de Menor Basofilia
- 6.- Macrófagos

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10



Figura nº 43

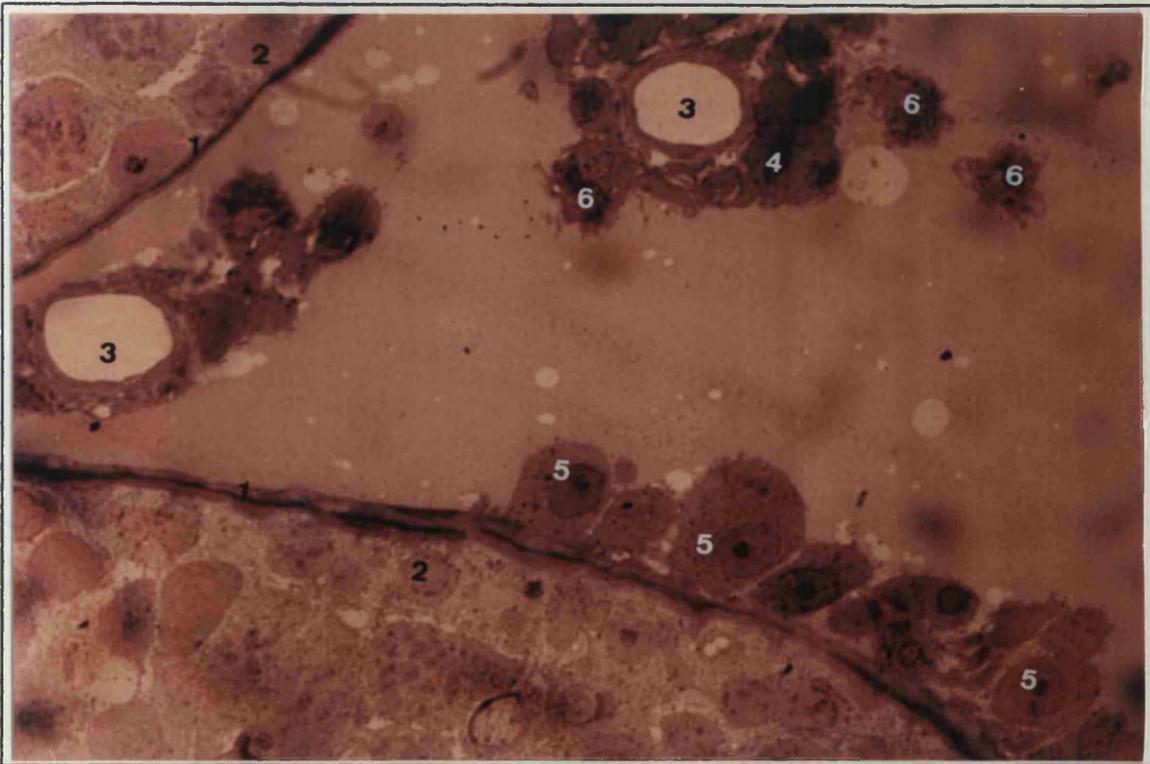


Figura nº 44

FIGURA nº 45

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Vaso**
- 4.- Células de Leydig de Menor Basofilia**
- 5.- Células de Leydig de Mayor Basofilia**
- 6.- Macrófagos**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10



Figura nº 45

FIGURA nº 46

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS - 1 μ

ESPACIO INTERSTICIAL TESTICULO

- 1.- Membrana Tubular**
- 2.- Espermatogonias**
- 3.- Célula de Sertoli**
- 4.- Vaso**
- 5.- Célula de Leydig**
- 6.- Macrófagos**

AZUL DE TOLUIDINA ALCALINO 100 X 1,25 X 10

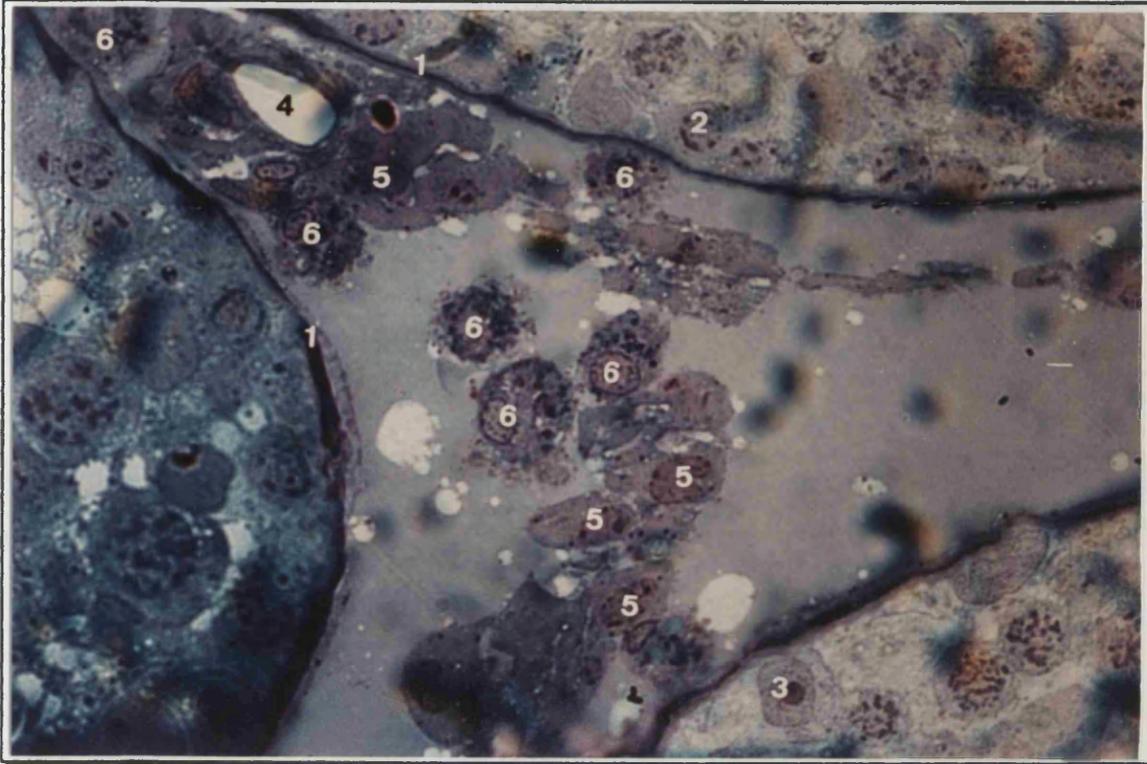


Figura nº 46

RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS A MICROSCOPIA OPTICA DE LOS CORTES A 10 μ OBSERVADOS A 20 y 40 AUMENTOS

EXPERIMENTAL	AFECTACION MORFOLOGIA TUBULAR	LINEA ESPERMATOGENICA	LUZ TUBULAR	ESPACIO INTERSTICIAL
1 SEMANA	* NO HAY AFECTACION	* DISMINUCION	* ESPERMATOZOIDES	* NORMAL
2 SEMANAS	* NO HAY AFECTACION	* DISMINUCION	* ESPERMATOZOIDES	*NORMAL
6 SEMANAS	* ALTERACION, SIGNOS DE ATROFIA TESTICULAR VARIA DE UNOS TUBULOS A OTROS	* ALTERADA, VARIA DE UNOS TUBULOS A OTROS	* AUSENCIA DE ESPERMATOZOIDES	* GRAN DILATAACION
10 SEMANAS	* ATROFIA TESTICULAR	* GRAN ALTERACION	* AUSENCIA DE ESPERMATOZOIDES * RESTOS CELULARES	* GRAN DILATAACION
14 SEMANAS	* ATROFIA TESTICULAR	* GRAN ALTERACION	* AUSENCIA DE ESPERMATOZOIDES * RESTOS CELULARES	* GRAN DILATAACION

**RESUMEN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS A MICROSCOPIA OPTICA DE LOS
CORTES A 10 μ OBSERVADOS A 20 y 40 AUMENTOS**

Resultados

SIMULADA	AFECTACION MORFOLOGIA TUBULAR	LINEA ESPERMATOGENICA	LUZ TUBULAR	ESPACIO INTERSTICIAL
1 SEMANA	* NO HAY	* NORMAL	* NORMAL	* NORMAL
2 SEMANAS	* NO HAY	* NORMAL	* NORMAL	* NORMAL
6 SEMANAS	* NO HAY	* NORMAL	* NORMAL	* NORMAL
10 SEMANAS	* NO HAY	* NORMAL	* NORMAL	* NORMAL
14 SEMANAS	* NO HAY	* NORMAL	* NORMAL	* NORMAL

Estudio Morfológico de las Células Intersticiales
Tras practicar vasectomía en la rata albina.

4. 4. - ESTUDIO ULTRAESTRUCTURAL DE LAS CELULAS DE LEYDIG

Continuando con el estudio realizado a M. O. y al analizar la ultraestructura del espacio intersticial del testículo, restringimos nuestro estudio a las células cuyas características morfológicas corresponden a las descritas por Leydig . Dentro de esta población celular del intersticio testicular hallamos : (Fig - 47)

- **Células de Elevada Densidad Electrónica**
- **Células de Menor Densidad Electrónica**

4. 4. 1. - GRUPO SIMULADAS

Al estudiar ultraestructuralmente los distintos animales que componen el grupo simulado , observamos los dos tipos celulares; de elevada densidad electrónica y menor densidad electrónica, ya observados a microscopía óptica únicamente en la serie de 14 semanas de supervivencia del grupo experimental donde las describimos como **células del grupo A de mayor y menor basofilia**

A) Células de elevada densidad electrónica

A lo largo de todas las semanas de evolución El núcleo se presenta de morfología irregular (redondeado u ovoideo), es rico en eucromatina, encontrando la heterocromatina dispersa por el nucleoplasma en grumos y asociada tanto a la membrana nuclear como al nucleolo. La membrana nuclear nos permite evidenciar los poros que ponen en comunicación el núcleo con el citoplasma celular.

El citoplasma nos llama la atención la presencia de numerosos gránulos de secreción de distinto tamaño y densidad electrónica, que se encuentran distribuidos de forma diseminada por el citoplasma. Encontramos polirribosomas libres y ribosomas asociados a la membrana nuclear. También se hacen patentes algunas cisternas de RER. (Figs- 52 a la 60)

FIGURA nº 47

**ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Células de Leydig de Elevada densidad Electrónica**
- 2.- Células de Leydig de Menor densidad Electrónica**
- 3.- Neutrófilo**
- 4.- Fibroblasto**
- 5.- Núcleo**
- 6.- Nucleolo**
- 7.- Citoplasma**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 3.000 X En Negativo

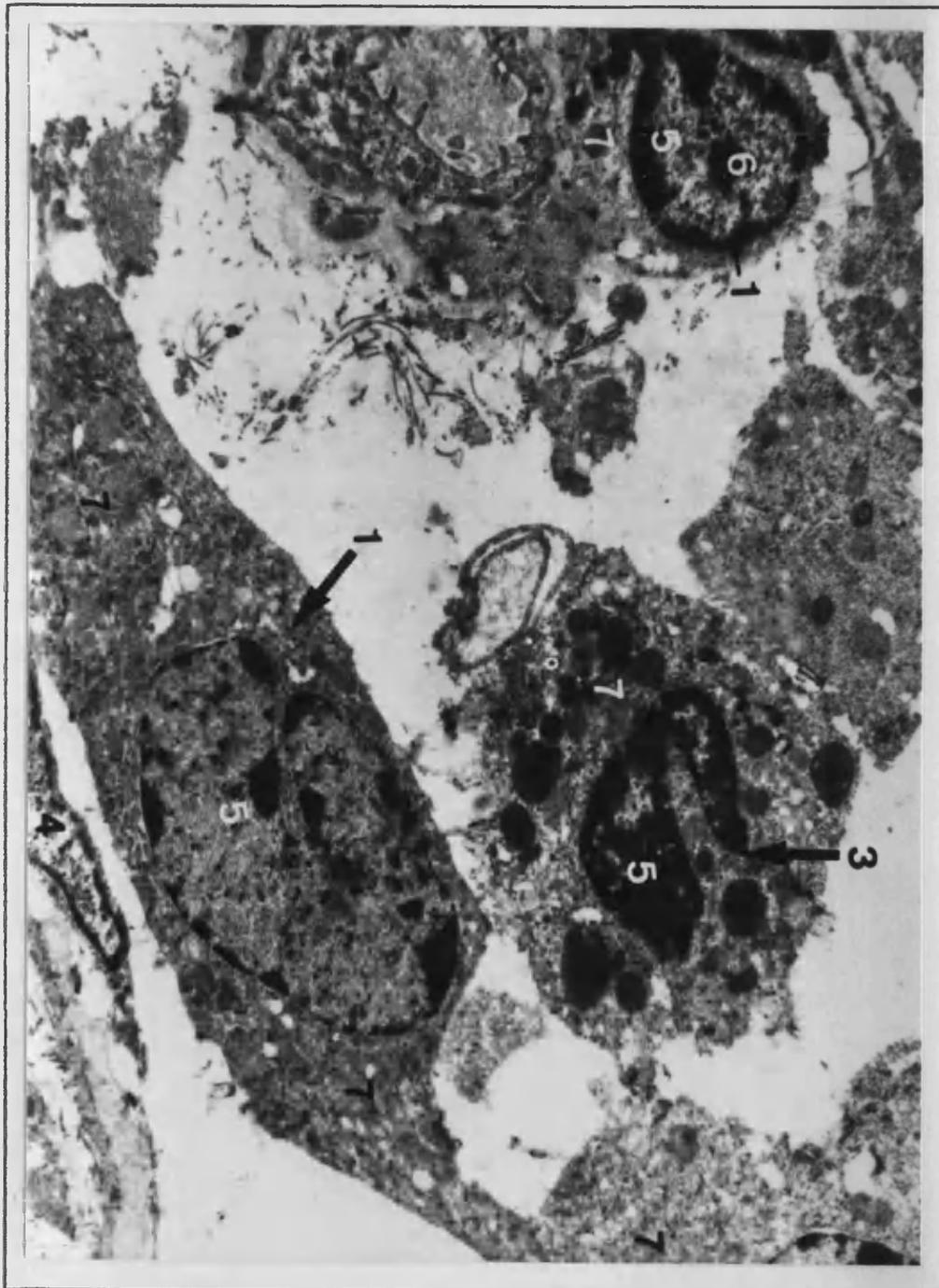


Figura nº 47

FIGURA nº 48

TESTIGO

**CELULAS DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Nucleolo**
- 3.- Heterocromatina**
- 4.- Heterocromatina adosada a la membrana nuclear**
- 5.- Gránulos de Secreción de distinto tamaño**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 4.000 X En Negativo

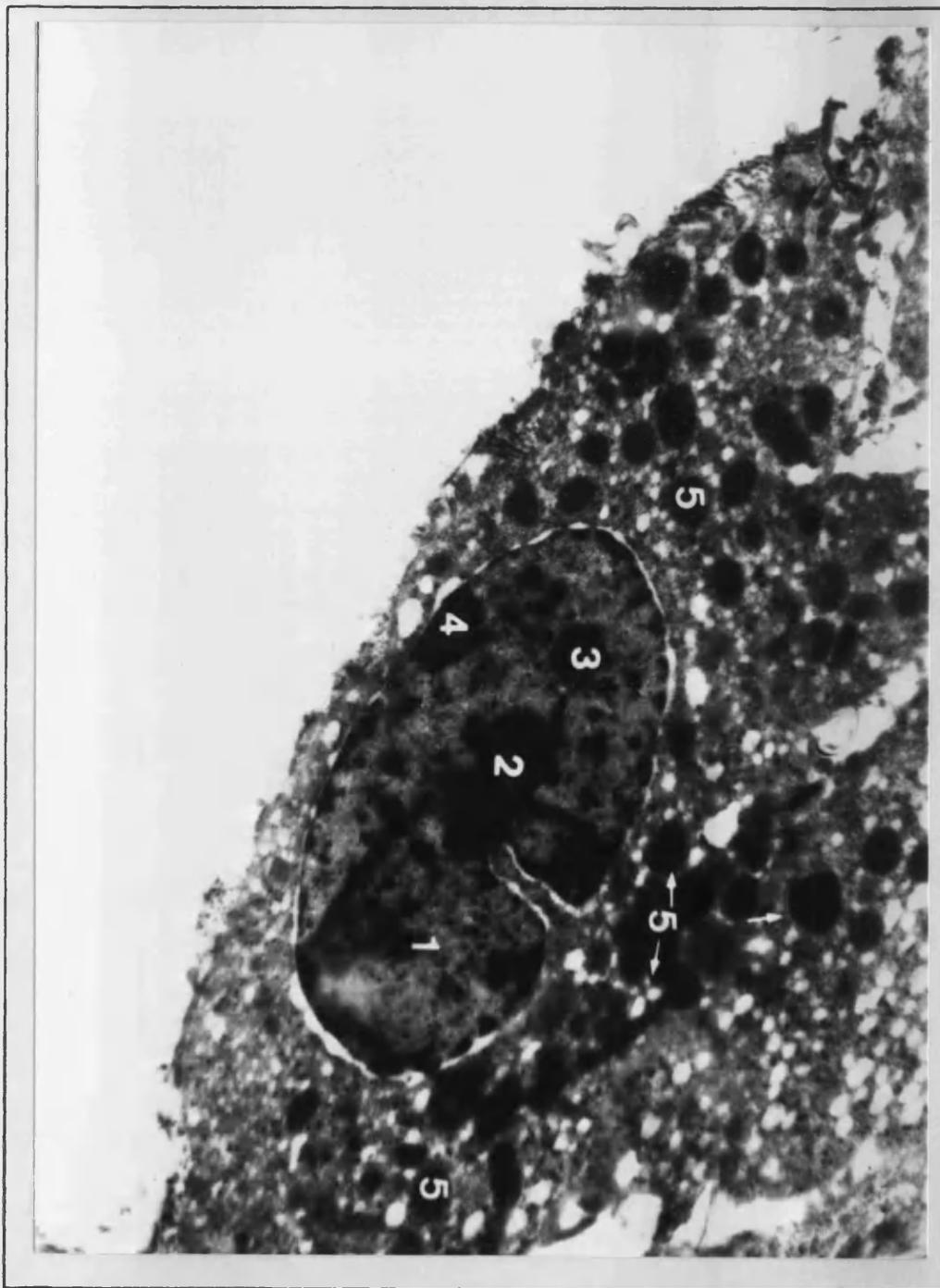


Figura nº 48

FIGURA nº 49

TESTIGO

**CELULAS DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 48)**

- 1.- Eucromatina**
- 2.- Heterocromatina adosada a la Membrana nuclear**
- 3.- Gránulos de Secreción**
- 4.- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 25.000 X En Negativo

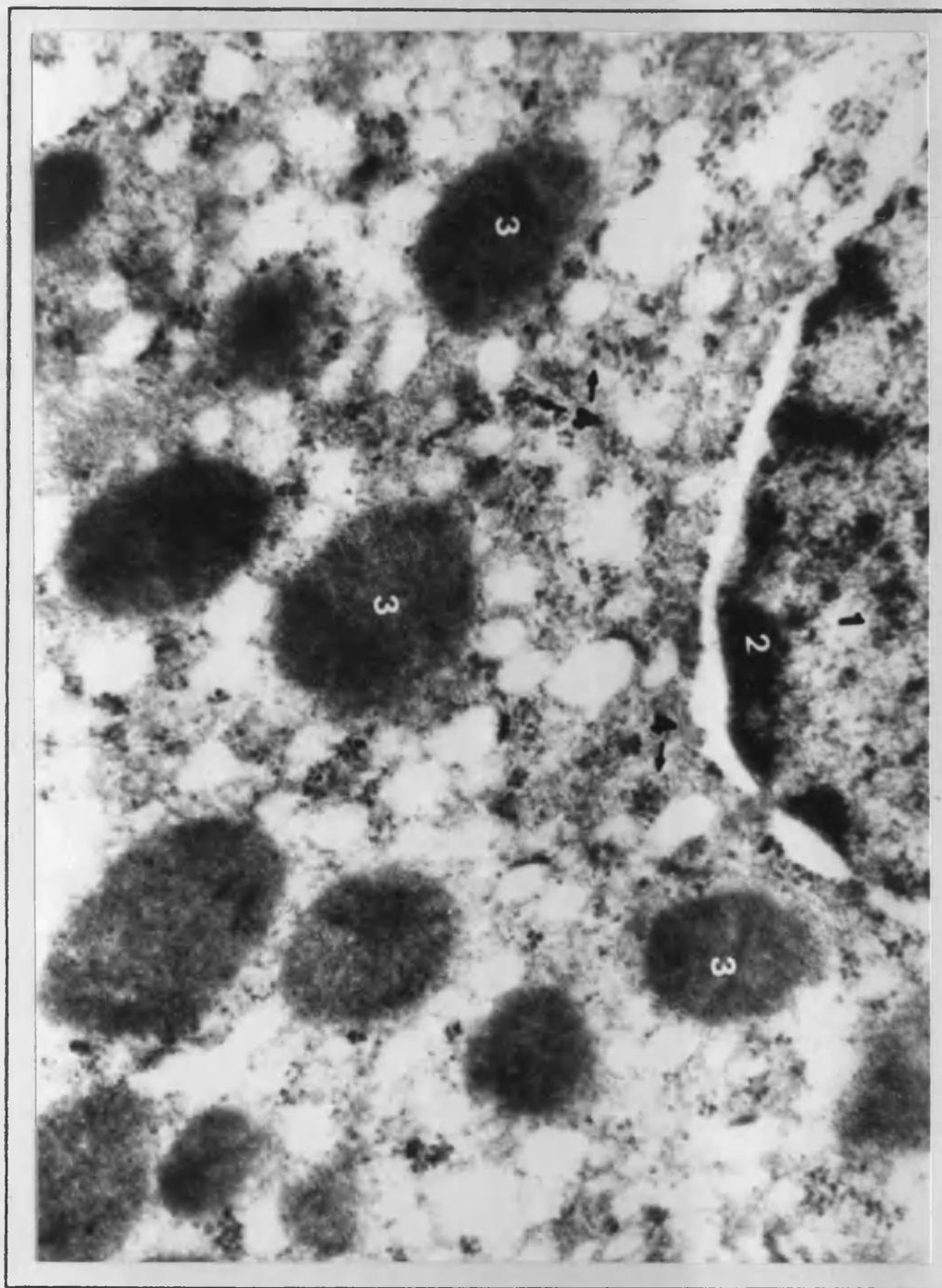


Figura nº 49

FIGURA nº 50

TESTIGO

**MACROFAGO. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA
CENTRAL TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Heterocromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 5.- Gránulos de Secreción**
- 6.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 7.- Ribosomas asociados a la Membrana Nuclear**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 10.000 X En Negativo

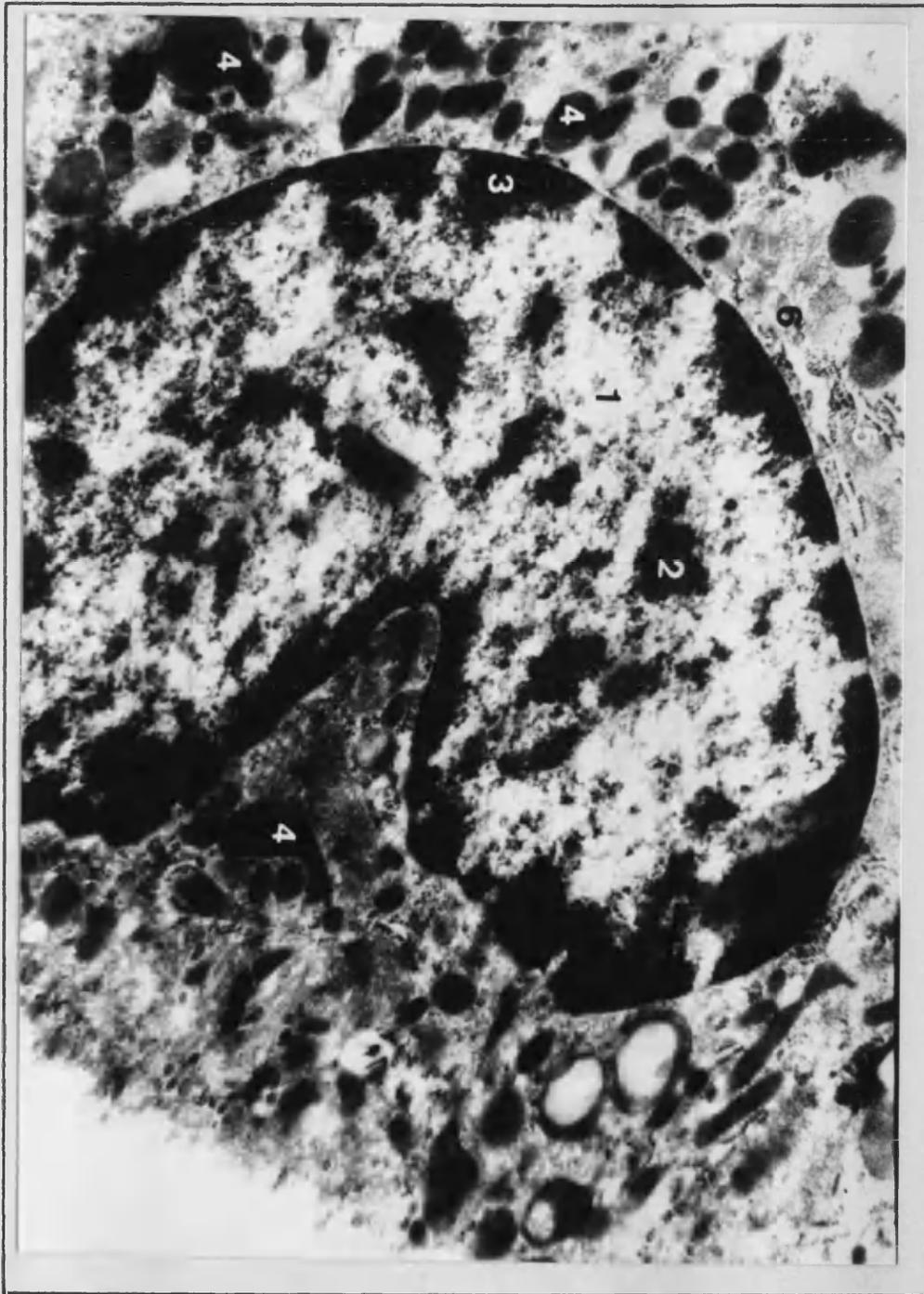


Figura nº 50

FIGURA nº 51

TESTIGO

**MACROFAGO. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA
CENTRAL TESTICULO (Detalle Fig nº 50)**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear**
- 3.- Gránulos de Secreción de distinto tamaño y densidad
electrónica**
- 4.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 5.- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 25.000 X En Negativo

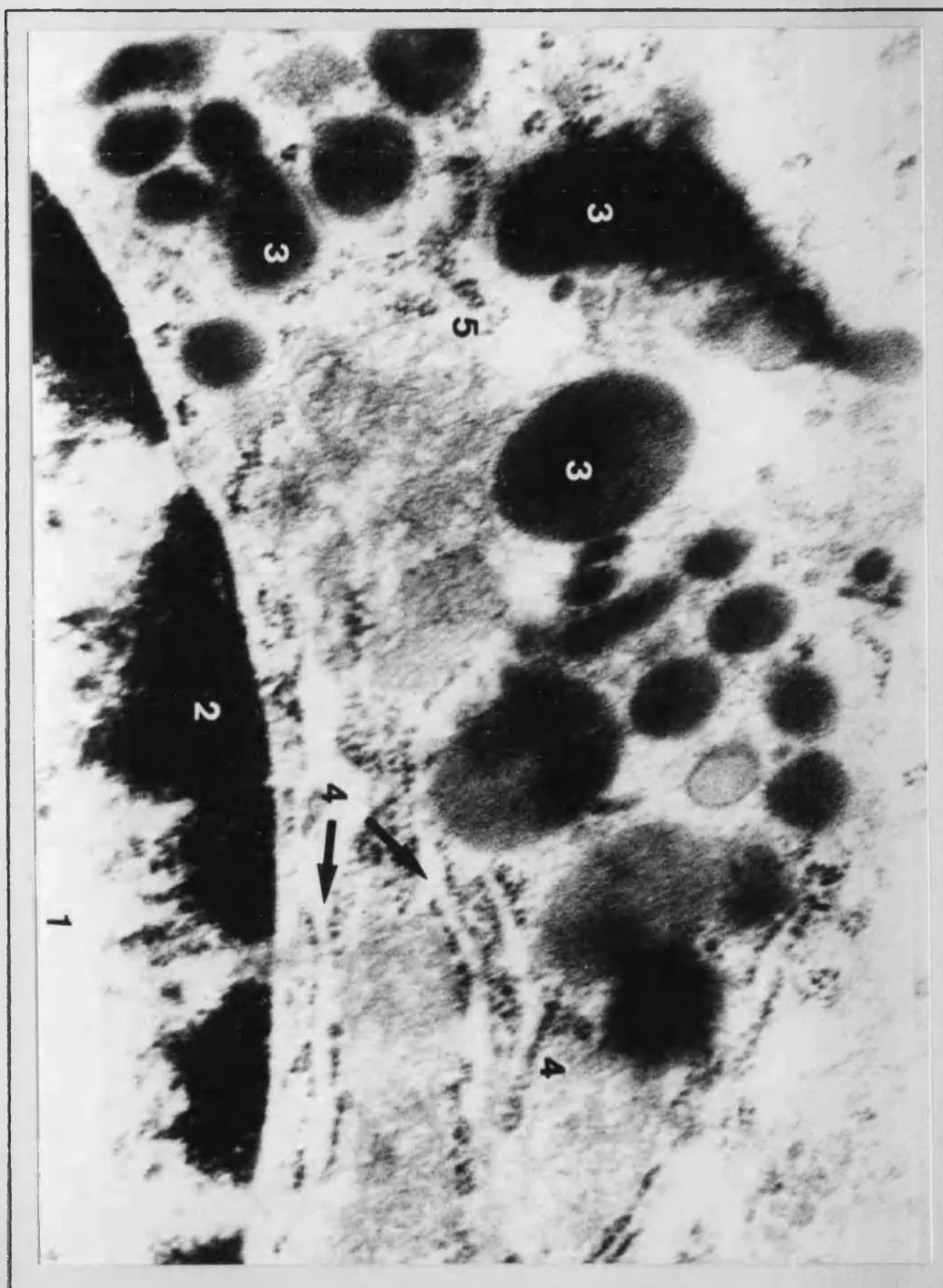


Figura nº 51

FIGURA nº 52

SIMULADA 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.-Núcleo**
- 2.-Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 10.000 X En Negativo

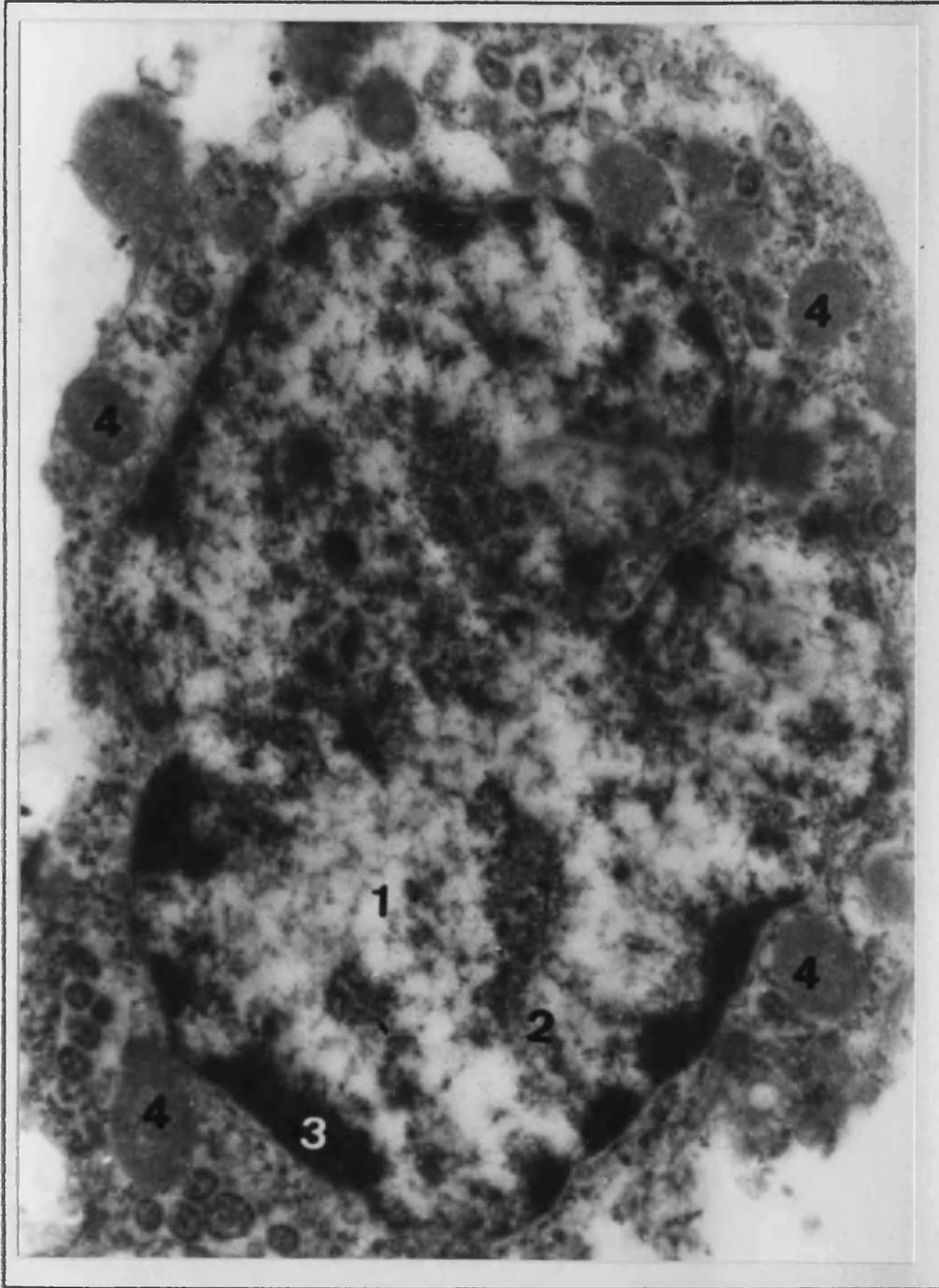


Figura nº 52

FIGURA nº 53

SIMULADA 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 52)**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Polirribosomas dispersos por el citoplasma y asociados a la Membrana Nuclear**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 25.000 X En Negativo

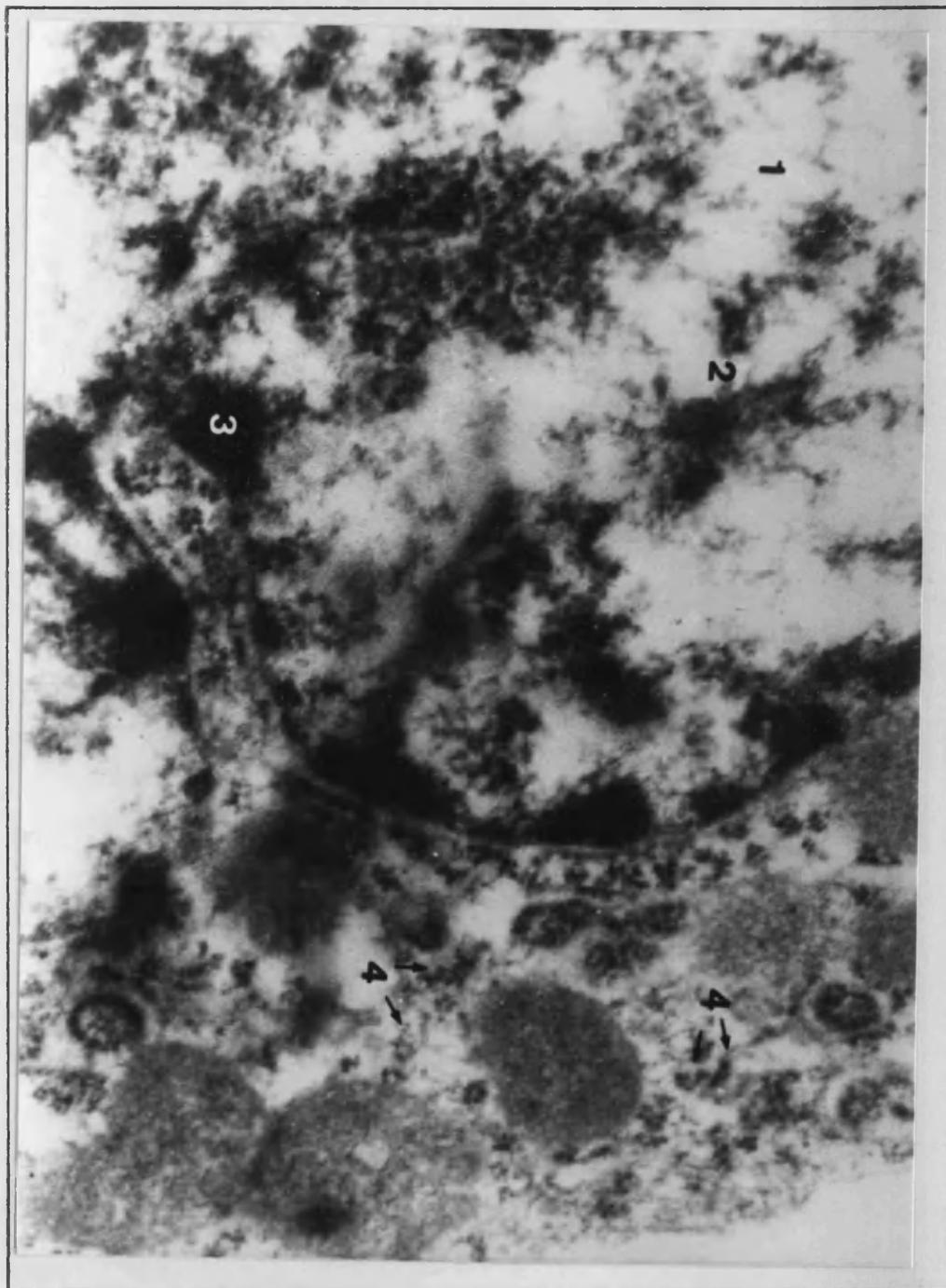


Figura nº 53

FIGURA nº 54

SIMULADA 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Gránulos de Secreción de distinto tamaño y densidad
electrónica**
- 5.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 6.- Nucleolo**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 5.000 X En Negativo

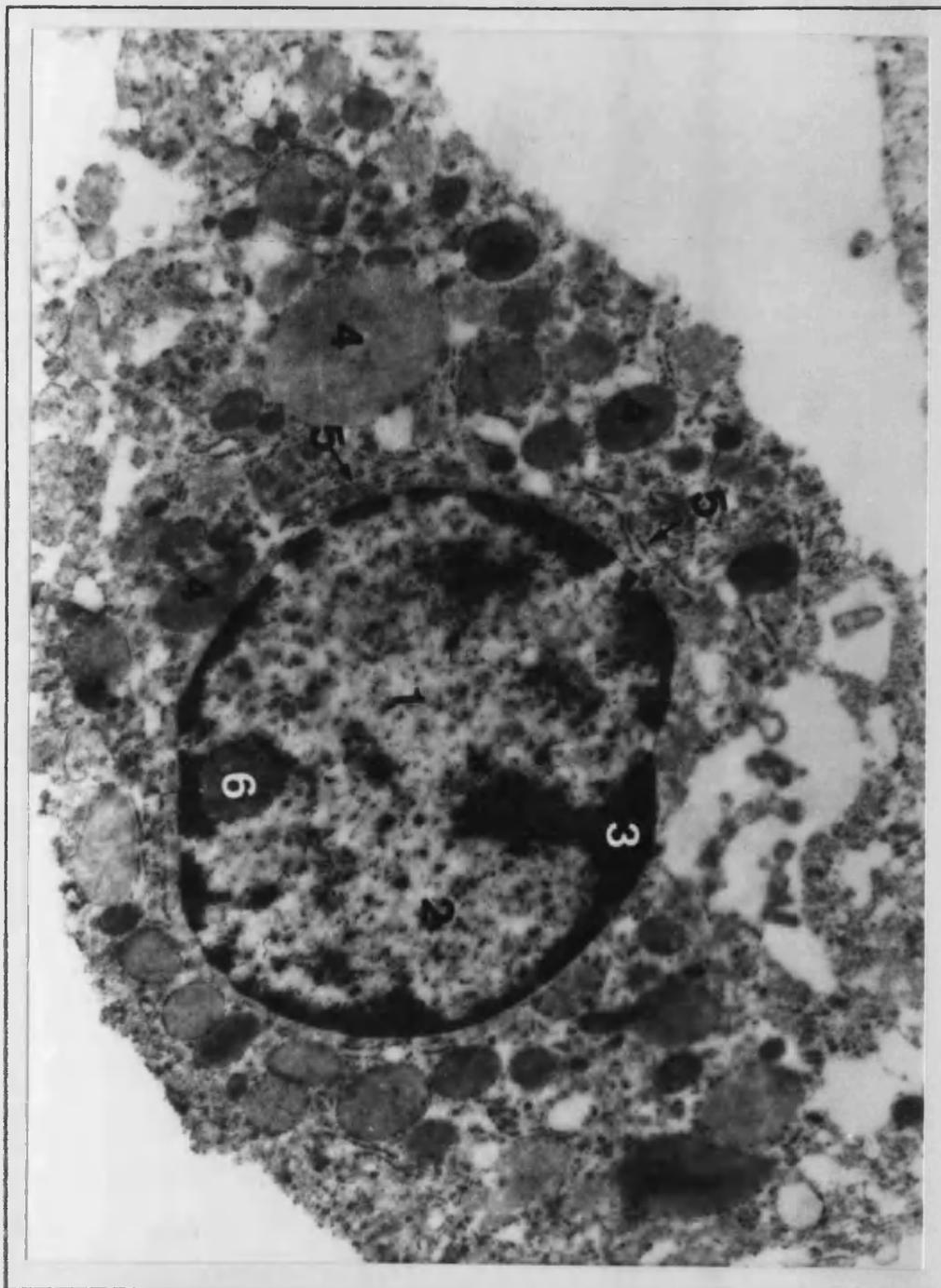


Figura nº 54

FIGURA nº 56

SIMULADA 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 55)**

- 1.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear, se observan los poros nucleares con nitidez**
- 2.- Polirribosomas**
- 3.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 4.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 30.000 X En Negativo

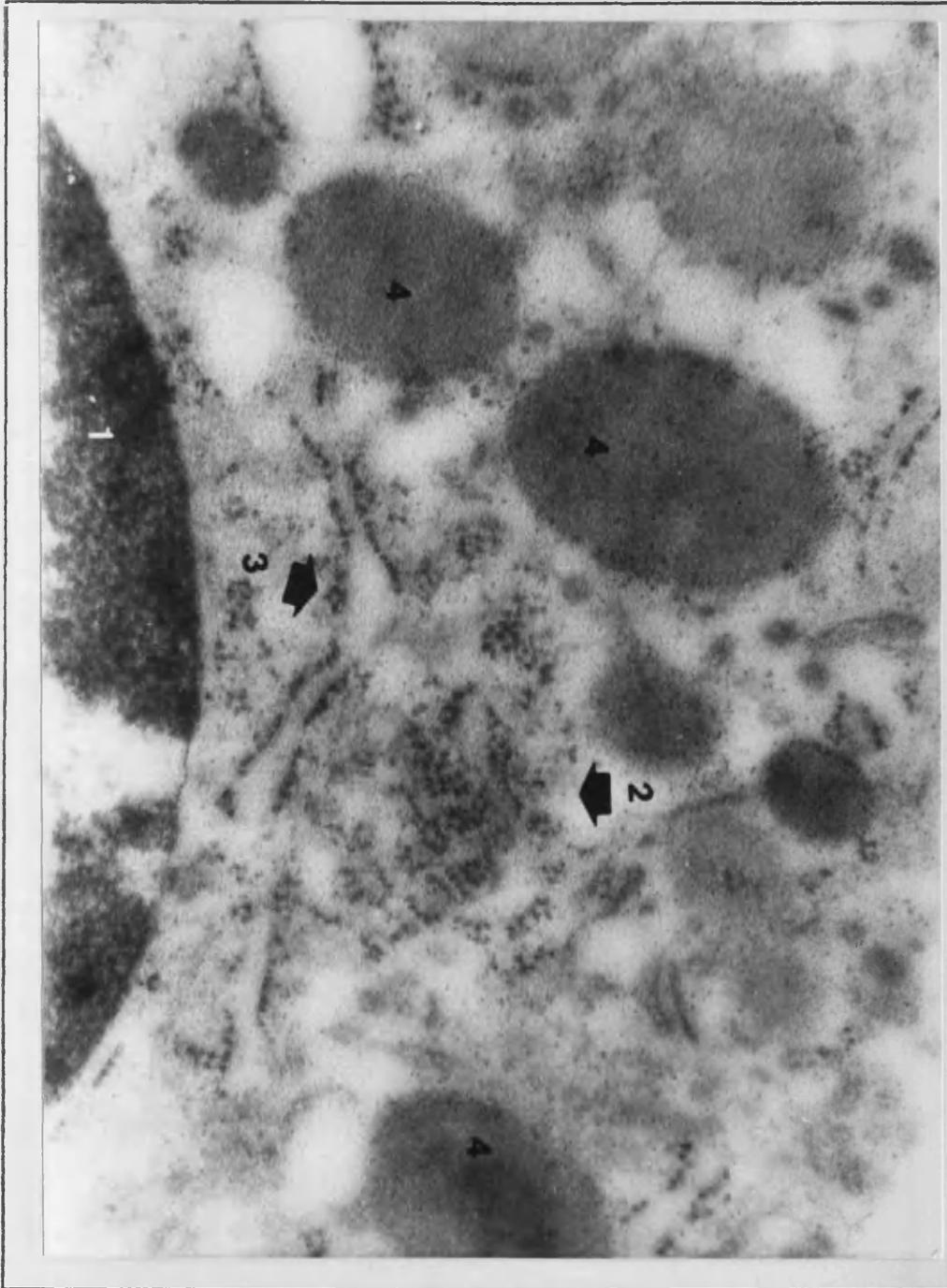


Figura nº 56

FIGURA nº 57

SIMULADA 10 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina**
- 4.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 5.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 6.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 8.000 X En Negativo

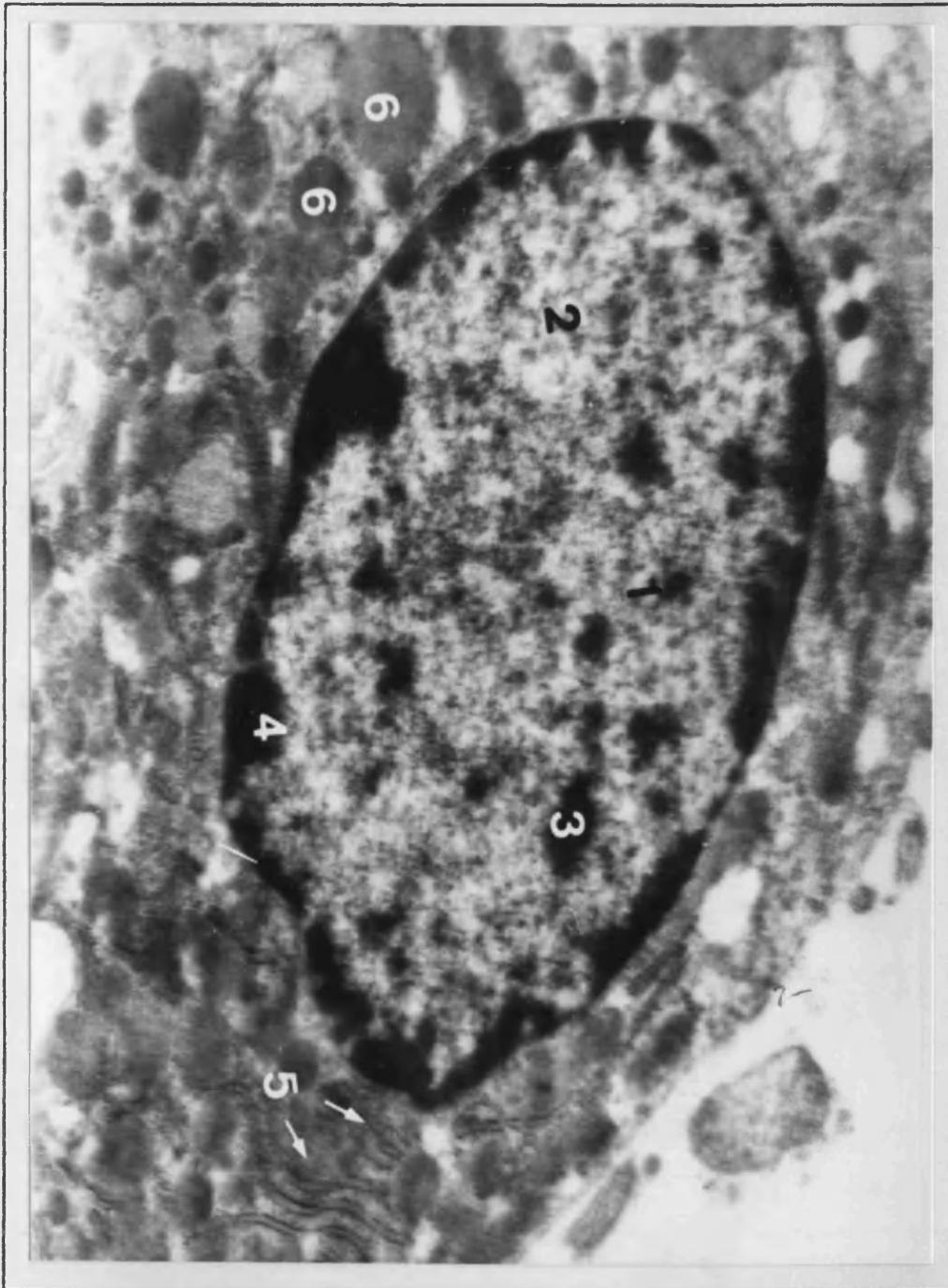


Figura nº 57

FIGURA nº 58

SIMULADA 10 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 57)**

- 1.-Núcleo**
- 2- Heterocromatina adosada a Membrana Nuclear con
poros visibles**
- 3.-Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 4- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

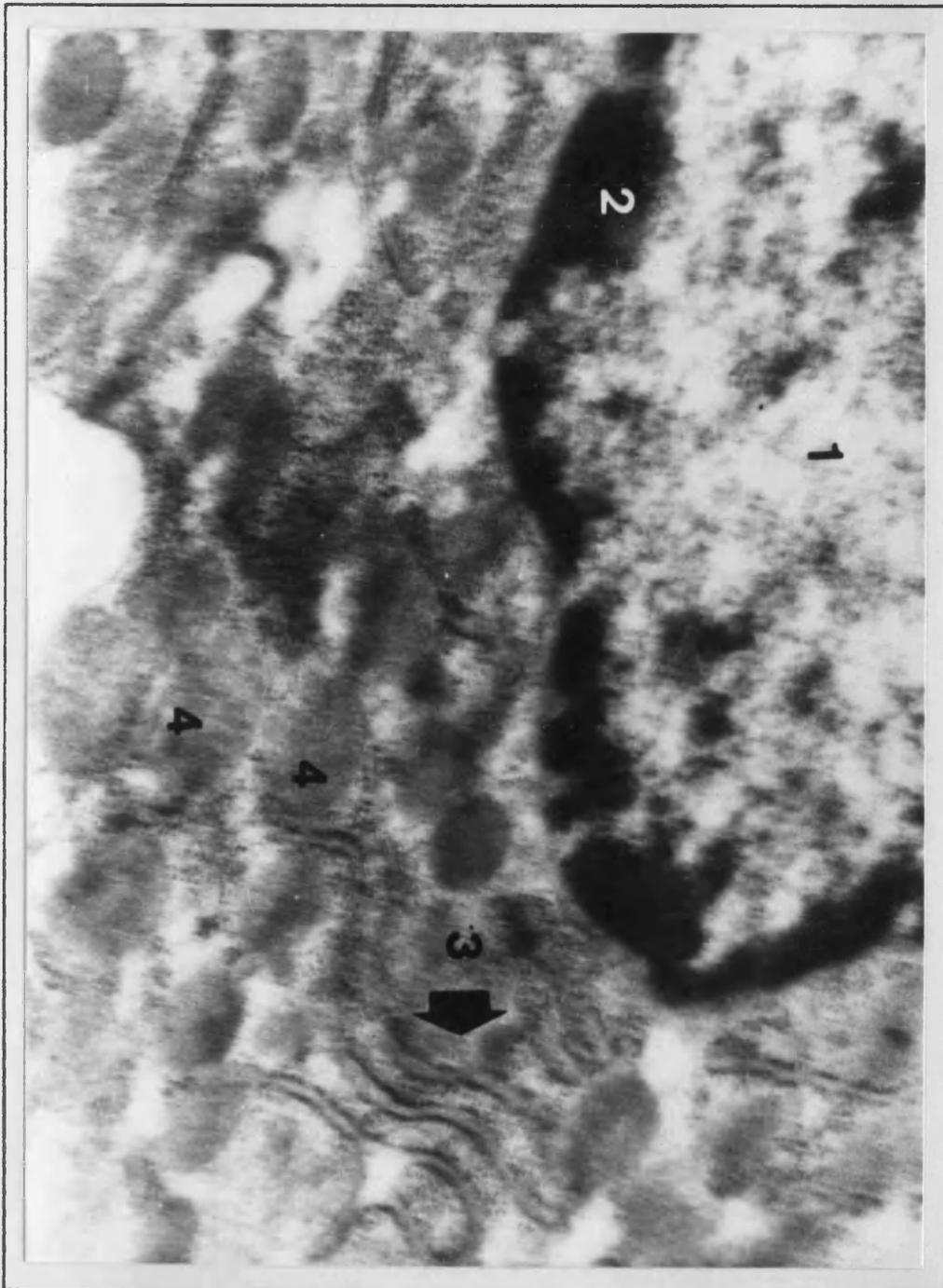


Figura nº 58

FIGURA nº 59

SIMULADA 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina asociada a Membrana Nuclear**
- 4.- Gránulos de Secreción**
- 5.- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 10.000 X En Negativo



Figura nº 59

FIGURA nº 60

SIMULADA 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 59)**

- 1.- Núcleo**
- 2- Heterocromatina**
- 3- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear**
- 4- Gránulos de Secreción**
- 5- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

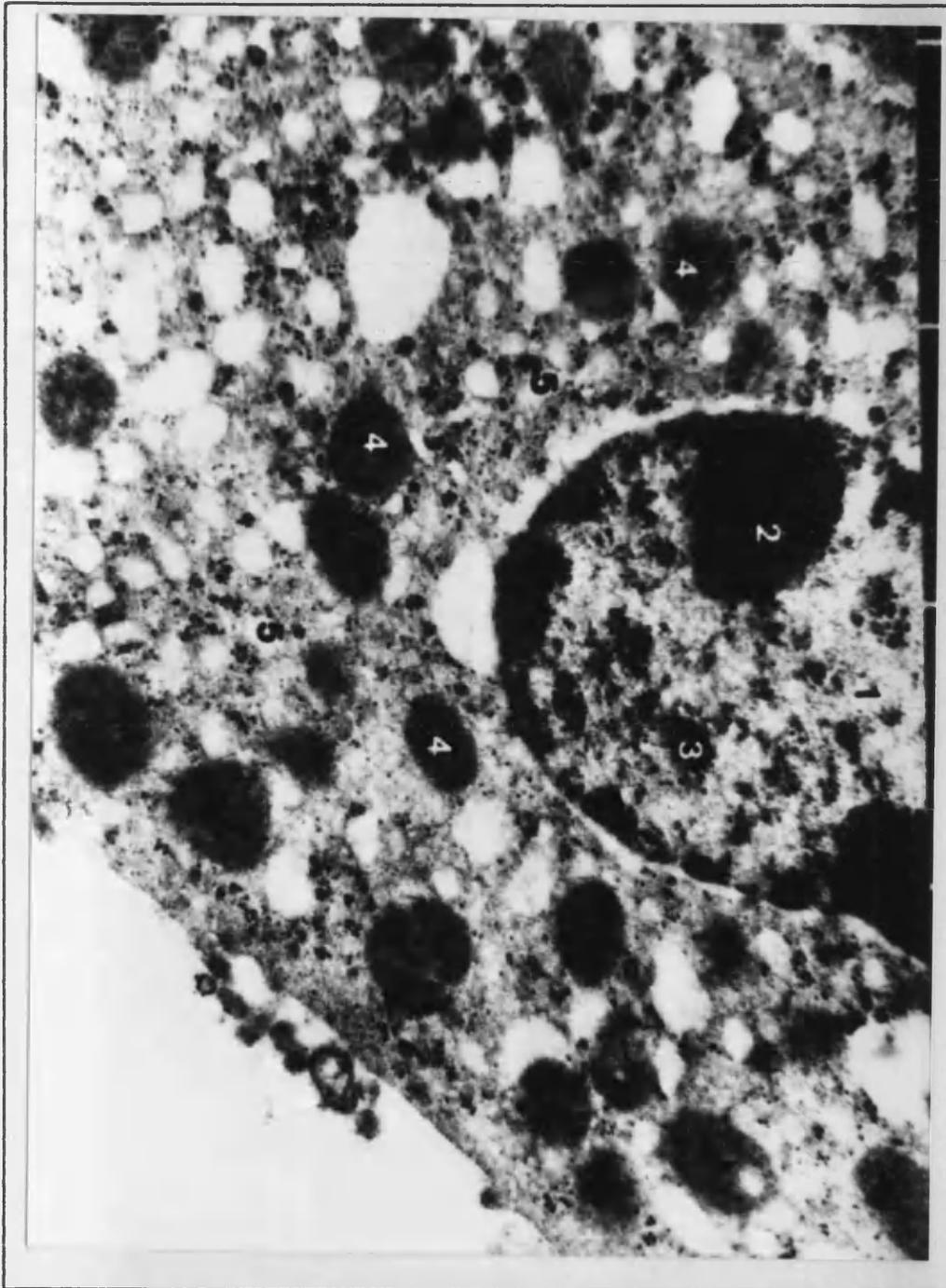


Figura nº 60

B) Células de menor densidad electrónica

El núcleo se presenta con una morfología irregular (redondeado o alargado), rico en eucromatina, la heterocromatina se dispone igual que en las células de elevada densidad electrónica. De la misma forma también se aprecian los poros nucleares a nivel de la membrana nuclear.

El citoplasma Presenta ribosomas asociados a la membrana nuclear y polirribosomas libres. Se evidencian cisternas de RER así como gránulos de secreción de distinto tamaño y distinta densidad electrónica

En el análisis del grupo simulado de nuestra experiencia, encontramos ultraestructuralmente dos variedades celulares de distinta densidad electrónica en todas las series. Los datos ultraestructurales se mantienen sin diferencias en el tiempo y pueden resumirse en la evidencia de organelas tales como :

- Gránulos de secreción
- Material ribonucleico que se dispone en forma de polirribosomas libres y agrupados en forma de rosetas. (Fig - 61-62-63)

FIGURA nº 61

SIMULADA 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina**
- 4.- Heterocromatina asociada a Membrana Nuclear**
- 5.- Gránulos de Secreción de tamaño y electrodensidad variables**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 6.000 X En Negativo

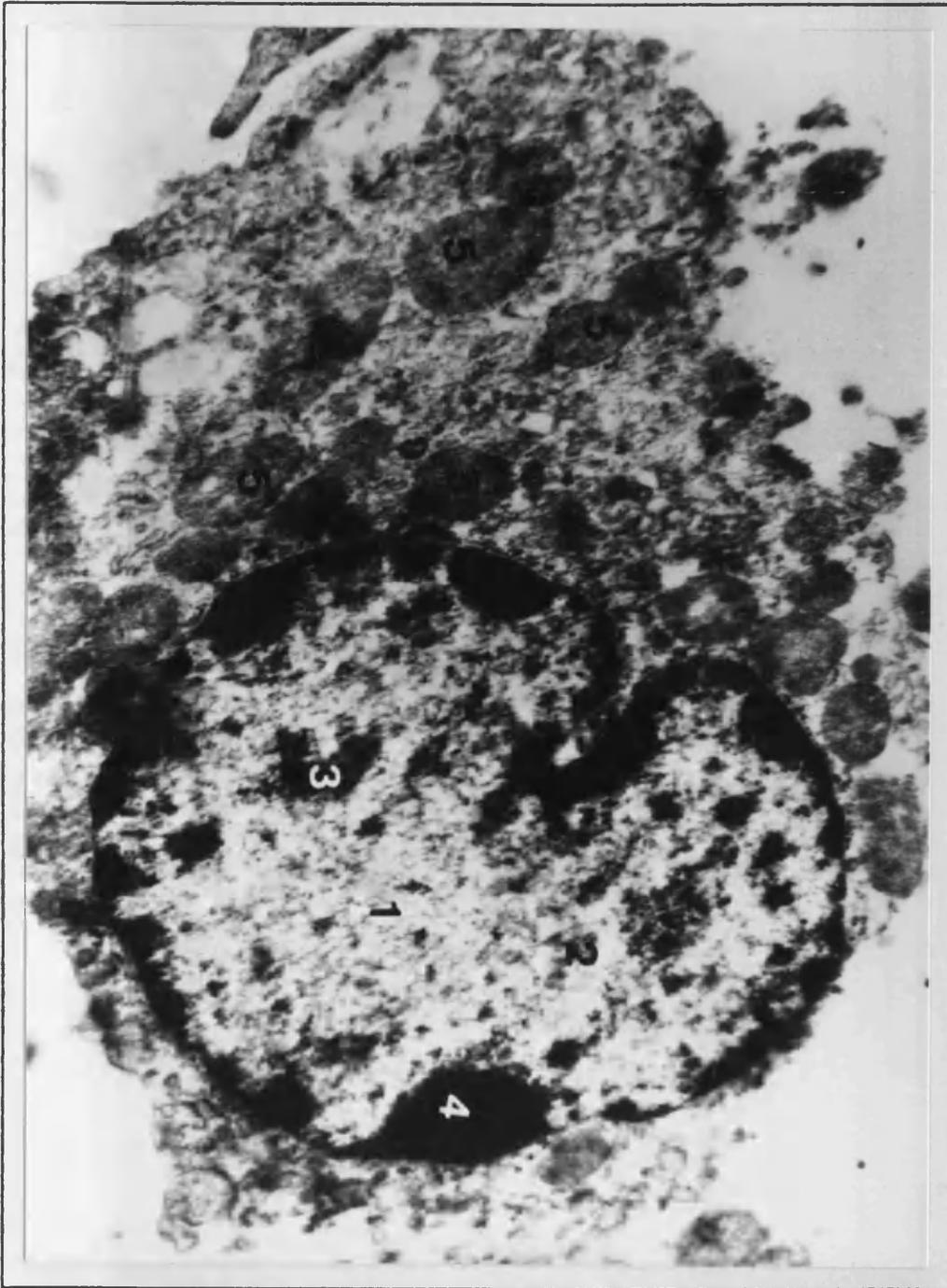


Figura nº 61

FIGURA nº 62

SIMULADA 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina**
- 4.- Heterocromatina asociada a Membrana Nuclear**
- 5.- Gránulos de Secreción**
- 6.- Retículo Endoplásmico Liso**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

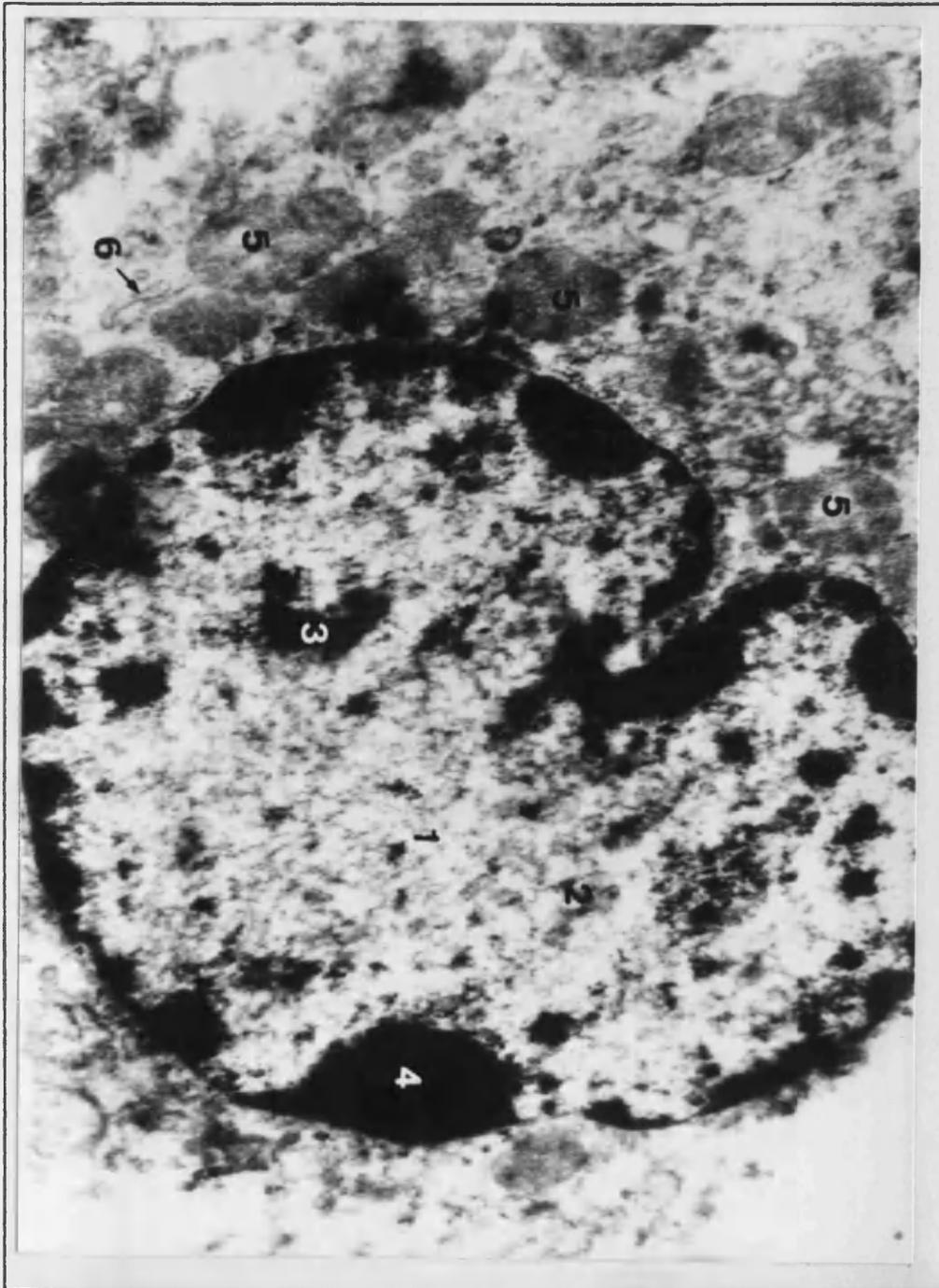


Figura nº 62

FIGURA nº 63

SIMULADA 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 62)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina
- 4.- Heterocromatina asociada a Membrana Nuclear
- 5.- Gránulos de Secreción
- 6.- Polirribosomas (Flecha)
- 7.- Ribosomas asociados a la Membrana Nuclear

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 20.000 X En Negativo



Figura nº 63

4. 4. 2. - GRUPO EXPERIMENTAL

Al estudiar los resultados obtenidos en la ultraestructura de las células de Leydig a lo largo de las series experimentales y ambos tipos celulares, no encontramos datos morfológicos que revelen manifestaciones significativas en la primera serie experimental, sin embargo, a partir de las dos semanas postvasectomía y culminando a las 14 semanas hallamos aspectos ultraestructurales muy evidentes de actividad celular y signos de degeneración celular, que pueden resumirse en :

A) Células de elevada densidad electrónica

Al observar las células de Leydig a 1 semana postvasectomía y compararlas con el grupo simulado, no encontramos datos ultraestructurales diferenciales evidentes, observando unas células que presentan **Núcleo:** redondeado, situado excéntricamente en la célula, único y que presenta la cromatina en forma de eucromatina y heterocromatina, esta se distribuye en grumos por el nucleoplasma así como adosada a la membrana nuclear en la que se observan los poros nucleares. (Fig - 64-65)

El **Citoplasma** presenta un aspecto granuloso que orienta hacia un elevado contenido de material ribonucleico que aparece como ribosomas libres y polirribosomas adoptando una presentación en algunos casos en forma de rosetas. También observamos organelas de densidad electrónica que bien nos orientarían hacia mitocondrias, sin poder aseverarlo por no visualizar con nitidez las membranas y crestas mitocondriales, en otros casos nos orientan hacia granos de secreción que también los encontramos como vesículas de menor densidad electrónica, tanto unas como otras no son muy abundantes. (Fig-66)

En algunas zonas celulares encontramos escasas cisternas de RER.

La ultraestructura a las 2 semanas postvasectomía se mantiene semejante resaltando la presencia del nucleolo.

FIGURA nº 64

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Célula de Leydig de Elevada Densidad Electrónica**
- 2.- Núcleo**
- 3.- Citoplasma**
- 4.- Eucromatina**
- 5.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 6.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 5.000 X En Negativo

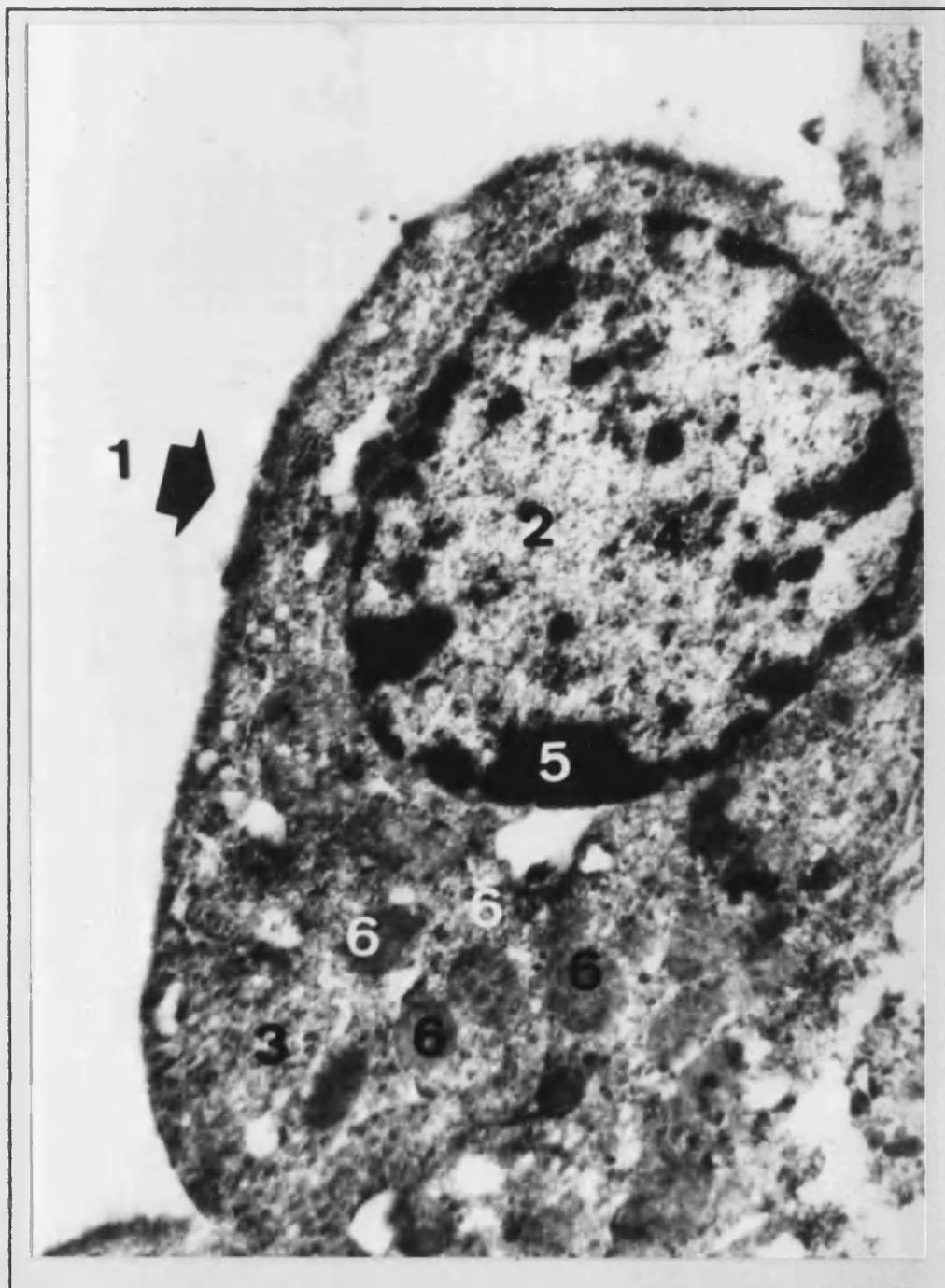


Figura nº 64

FIGURA nº 65

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Gránulos de Secreción**
- 5.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 6.- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

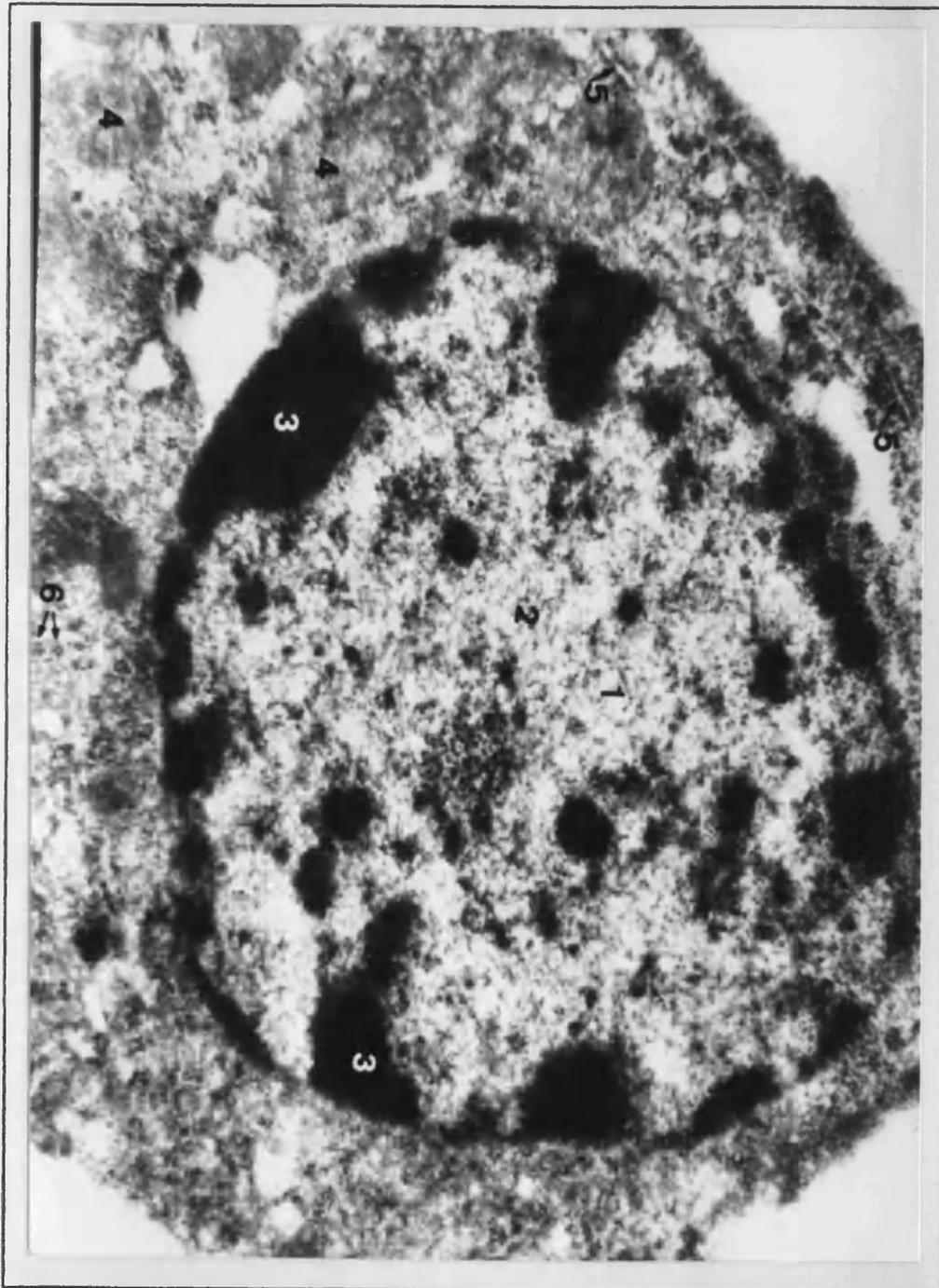


Figura nº 65

FIGURA nº 66

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 65)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina adosada a Membrana Nuclear
- 4.- Poro de la Membrana Nuclear
- 5.- Polirribosomas

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 30.000 X En Negativo

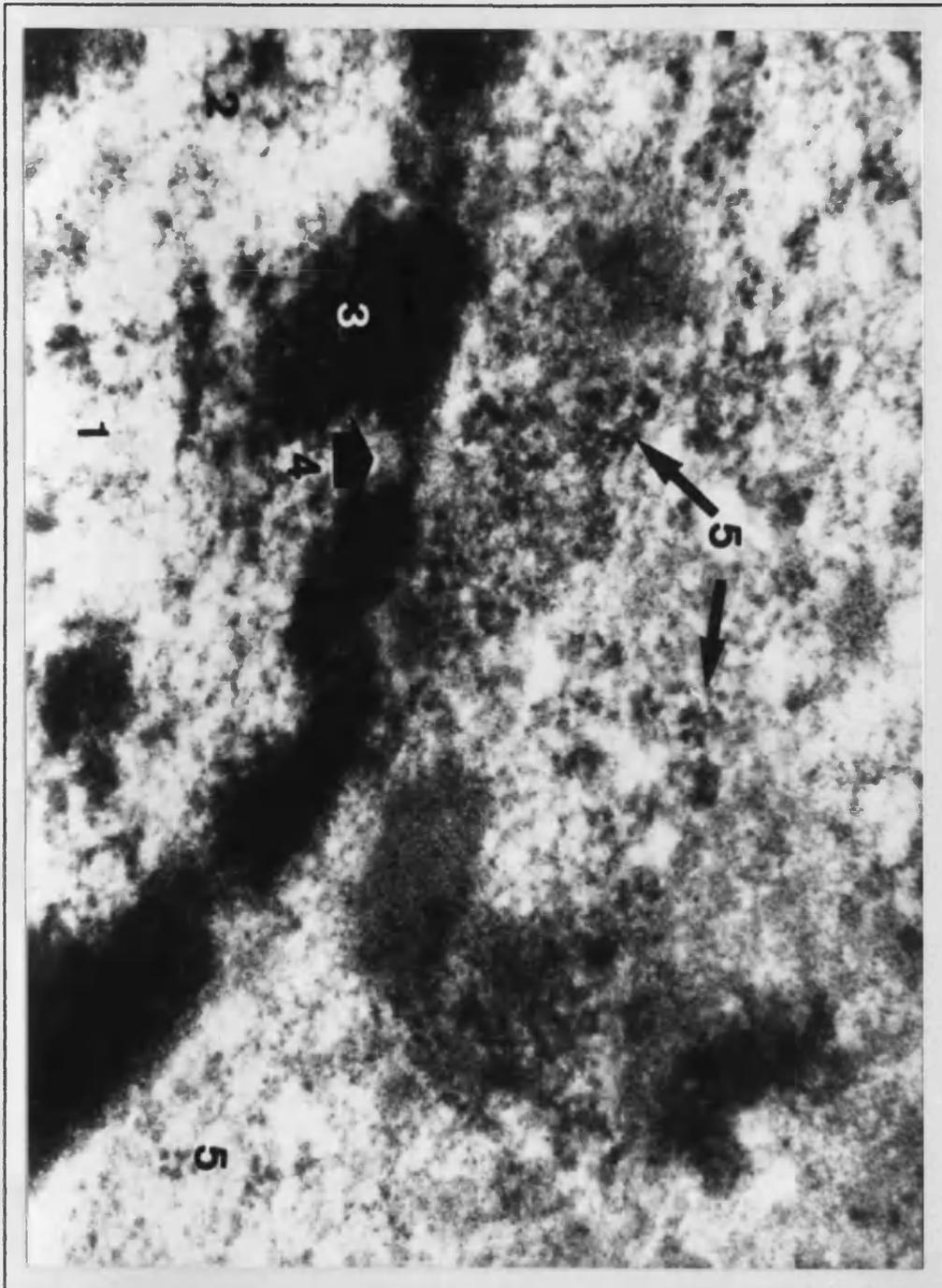


Figura nº 66

Continuando con el estudio de las células de elevada densidad electrónica del grupo experimental, destacamos la ultraestructura diferencial respecto del grupo simulado así como respecto de las series experimentales anteriores a partir de la 6ª semana postvasectomía, donde destacamos como datos más relevantes :

Núcleo de morfología irregular, único y de situación celular excéntrica, con la cromatina en forma de eucromatina y algunos grumos de heterocromatina adosados a la membrana nuclear. En ésta serie también observamos el nucleolo. (Fig - 67)

Las imágenes morfológicas más evidentes aparecen en **El Citoplasma** donde disminuye el aspecto granular homogéneo de la serie anterior para ceder ante la evidencia del REL en la forma vesicular y la visión clara de mitocondrias aparentemente no muy numerosas, pero si con signos estructurales llamativos, tales como escasa densidad electrónica y contenido claro de su matriz, hinchamiento y acortamiento de las crestas, persistiendo la membrana mitocondrial indemne, encontrando en algunos casos gránulos densos en su interior. (Fig - 68-69)

El material ribonucleico del citoplasma, aparentemente menos abundante, se manifiesta como polirribosomas y ribosomas libres en el citoplasma y asociados a la membrana nuclear, así como algunas cisternas de RER. (Fig - 68-69)

A las 14 semanas postvasectomía, el núcleo continúa con manifestaciones similares a las series anteriores, las imágenes morfológicas nucleares y citoplasmáticas iniciadas a las 6 semanas de experimentación adquieren máxima relevancia, destacando ostensiblemente los datos degenerativos ultraestructurales en las mitocondrias.

Como dato diferencial con la serie anterior señalamos la reaparición al igual que en las dos primeras series experimentales de los gránulos de secreción de distinta morfología, tamaño y densidad electrónica y menor evidencia del REL. (Fig - 70-71)

FIGURA nº 67

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Nucleolo**
- 3.- Eucromatina**
- 4.- Heterocromatina asociada al Nucleolo**
- 5.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear**
- 6.- Mitocondrias**
- 7.- Retículo Endoplásmico Liso**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 4 X En Negativo

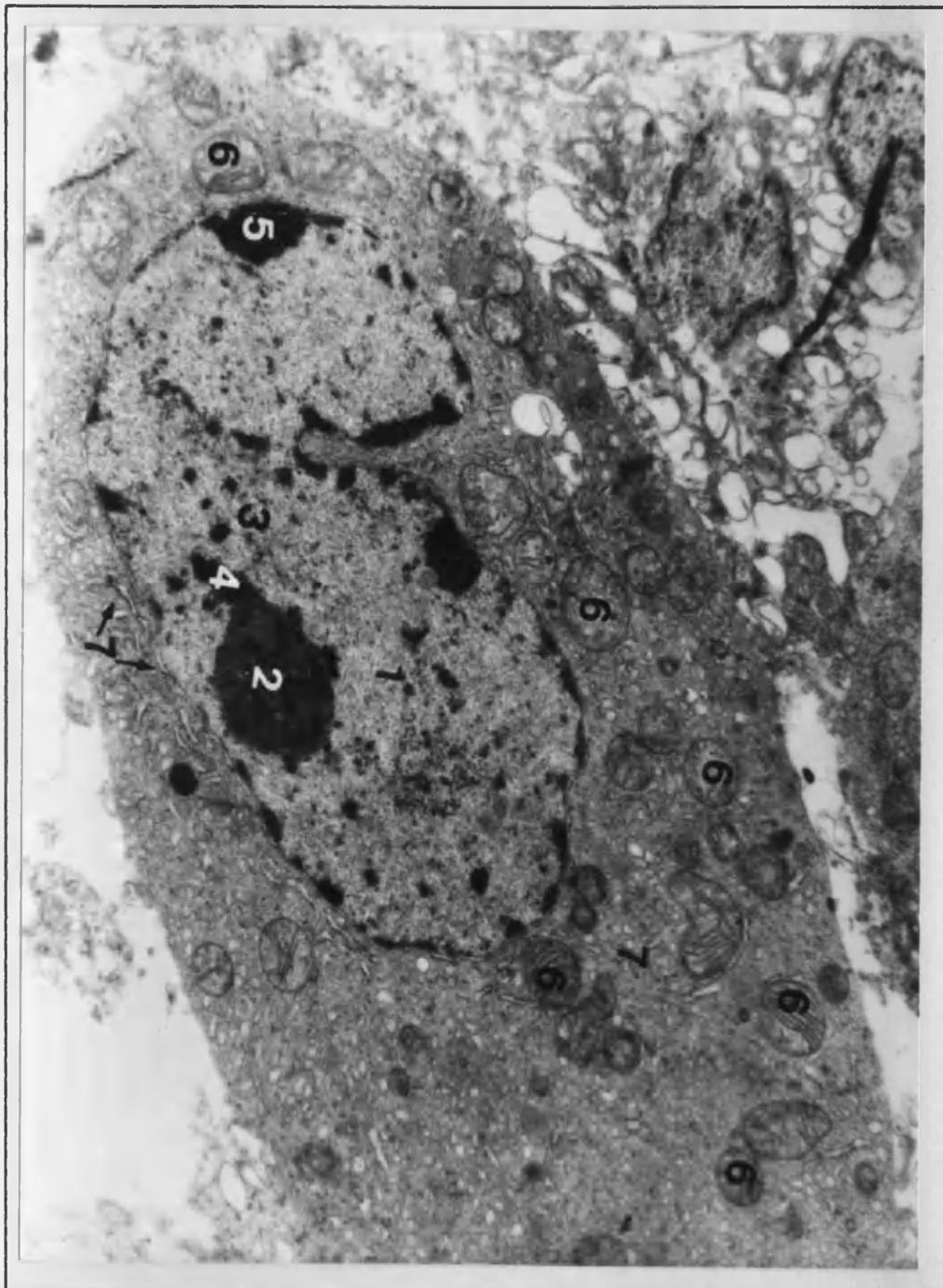


Figura nº 67

FIGURA nº 68

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 67)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina
- 4.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear
- 5.- Membrana Nuclear
- 6.- Mitocondrias Hinchadas y con crestas acortadas
- 7.- Retículo Endoplásmico Liso en forma vesicular
- 8.- Polirribosomas
- 9.- Retículo Endoplásmico Rugoso
- 10.- Gránulos Densos Intramitocondriales
- 11.- Ribosomas asociados a la Membrana Nuclear.

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

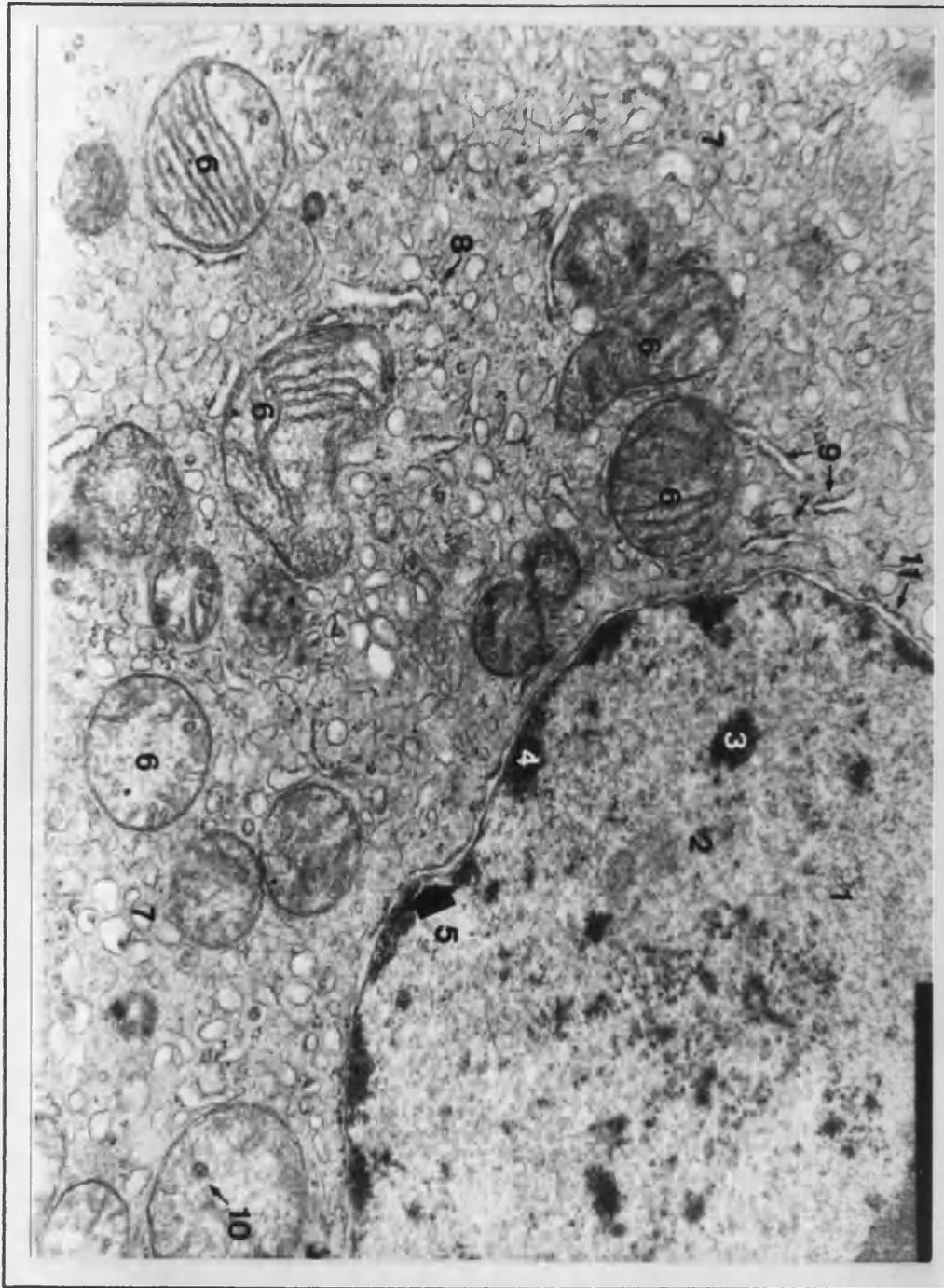


Figura nº 68

FIGURA nº 69

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 68)**

- 1.- Retículo Endoplásmico Liso en forma vesicular
- 2.- Mitocondrias Hinchadas
- 3.- Gránulos Densos Intramitocondriales
- 4.- Polirribosomas
- 5.- Ribosomas asociados a la Membrana Nuclear

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 30.000 X En Negativo

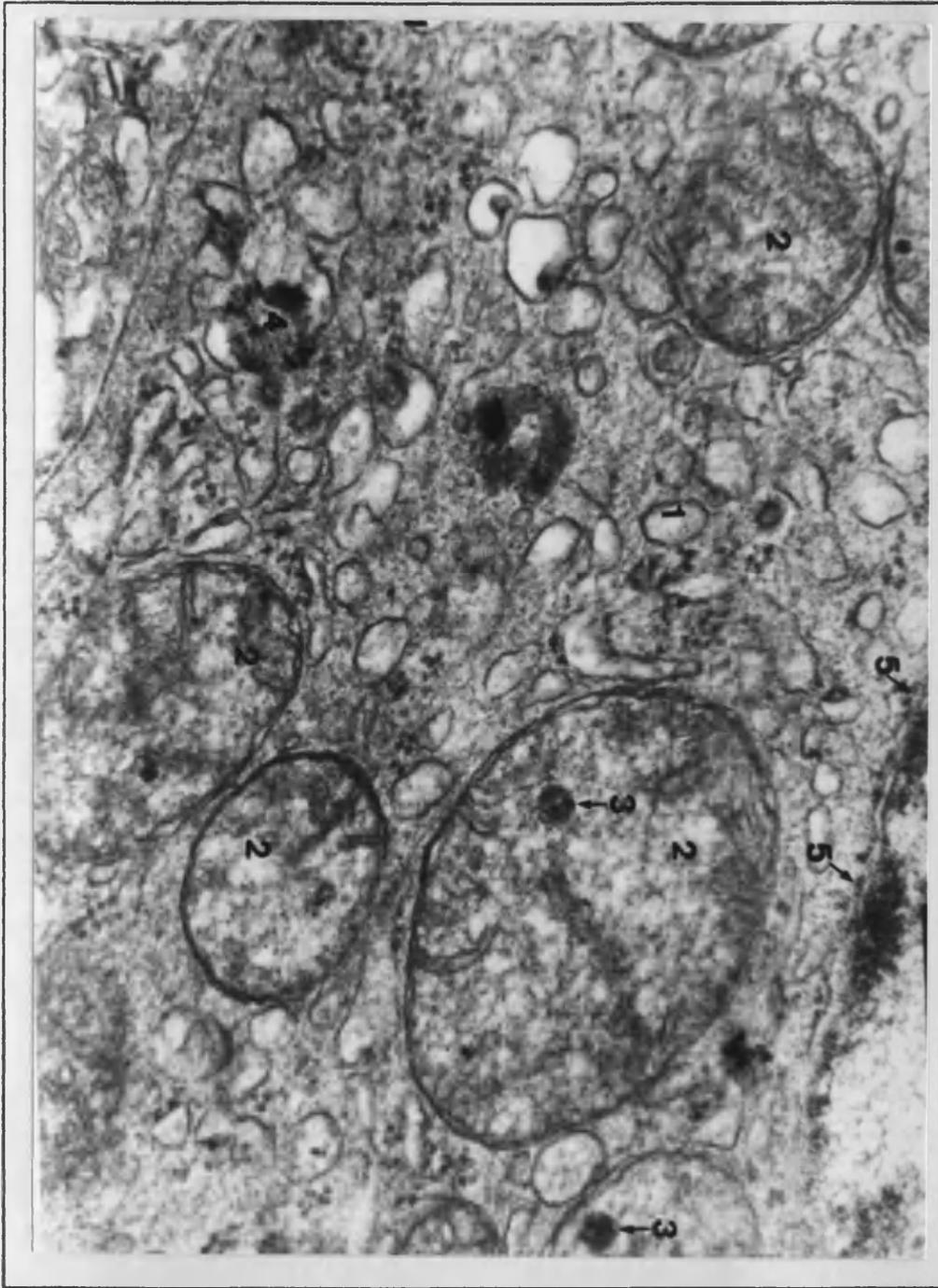


Figura nº 69

FIGURA nº 70

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina**
- 4.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 5.- Mitocondrias Hinchadas con crestas acortadas**
- 6.- Polirribosomas**
- 7.- Retículo Endoplásmico Liso**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

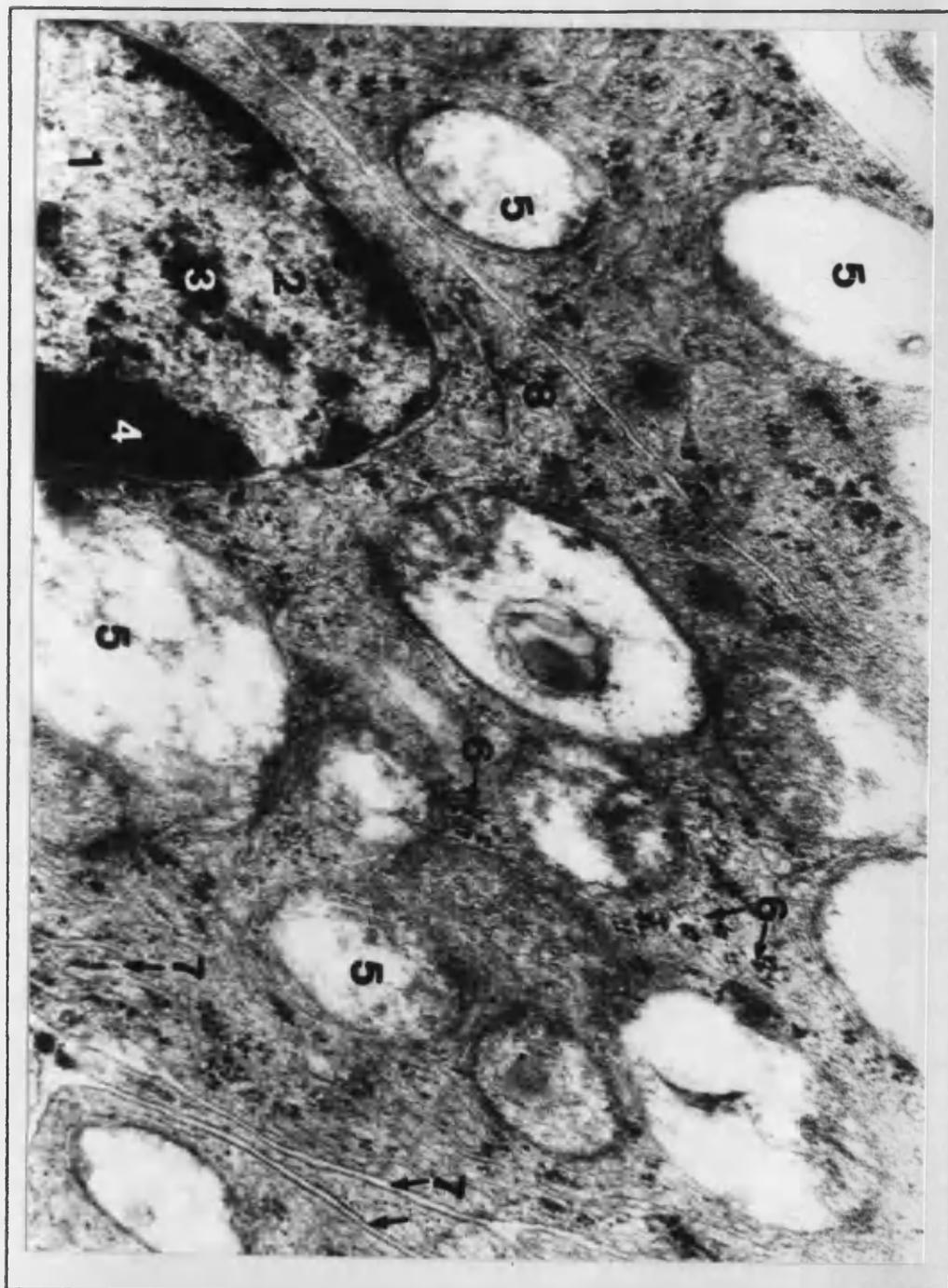


Figura nº 70

FIGURA nº 71

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE ELEVADA DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 70)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Heterocromatina asociada a Membrana Nuclear
- 3.- Heterocromatina
- 4.- Mitocondrias hinchadas, crestas acortadas
- 5.- Polirribosomas

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 30.000 X En Negativo



Figura nº 71

B) Células de menor densidad electrónica

Al observar las células de Leydig a 1 semana postvasectomía hallamos :El **núcleo** de morfología irregular (redondeado u ovoideo), único y excéntrico, con **escasa eucromatina** y **heterocromatina** en grumos tanto dentro del nucleoplasma como adosada a la membrana nuclear. (Fig - 72-73)

En la membrana nuclear se aprecian con nitidez los poros nucleares. (Fig - 72-73)

El **citoplasma** presenta gránulos de secreción, polirribosomas y algunas cisternas de RER, encontramos una estructura de mayor densidad electrónica que nos sugiere un lisosoma secundario. (Fig -74)

En la serie experimental de 2 semanas postvasectomía El **núcleo** es redondeado, único, excéntrico, la cromatina se manifiesta como eucromatina y heterocromatina, ésta, se localiza de forma muy evidente adosada a la membrana nuclear y también al nucleolo (Fig - 75-76). La membrana nuclear se delimita con nitidez, haciéndose evidentes los poros nucleares. (Fig - 77)

El **citoplasma** presenta gránulos de secreción de distribución irregular y de distinta densidad electrónica, junto a estos hallamos polirribosomas libres así como numerosos ribosomas asociados a la membrana nuclear. Las mitocondrias que son escasas se manifiestan hinchadas con la membrana indemne y las crestas acortadas (Fig - 77)

A las 6 semanas postvasectomía y al compararlas con las series experimentales anteriores y con el grupo de animales simulados. El **núcleo** mantiene características similares a las series anteriores y se hace evidente el nucleolo (Fig - 78). Sin embargo El **citoplasma** muestra manifestaciones morfológicas muy evidentes, adquiere gran relevancia la presencia de organelas tales como el REL en forma de vesículas y las mitocondrias que al estudiarlas a mayores aumentos observamos como su membrana se muestra indemne con las crestas mitocondriales acortadas, dato ultraestructural que nos orienta hacia una degeneración mitocondrial. También encontramos alguna cisterna de RER y polirribosomas libres. (Fig - 78-79)

FIGURA nº 72

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Poros de la Membrana Nuclear**
- 5.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 8.000 X En Negativo

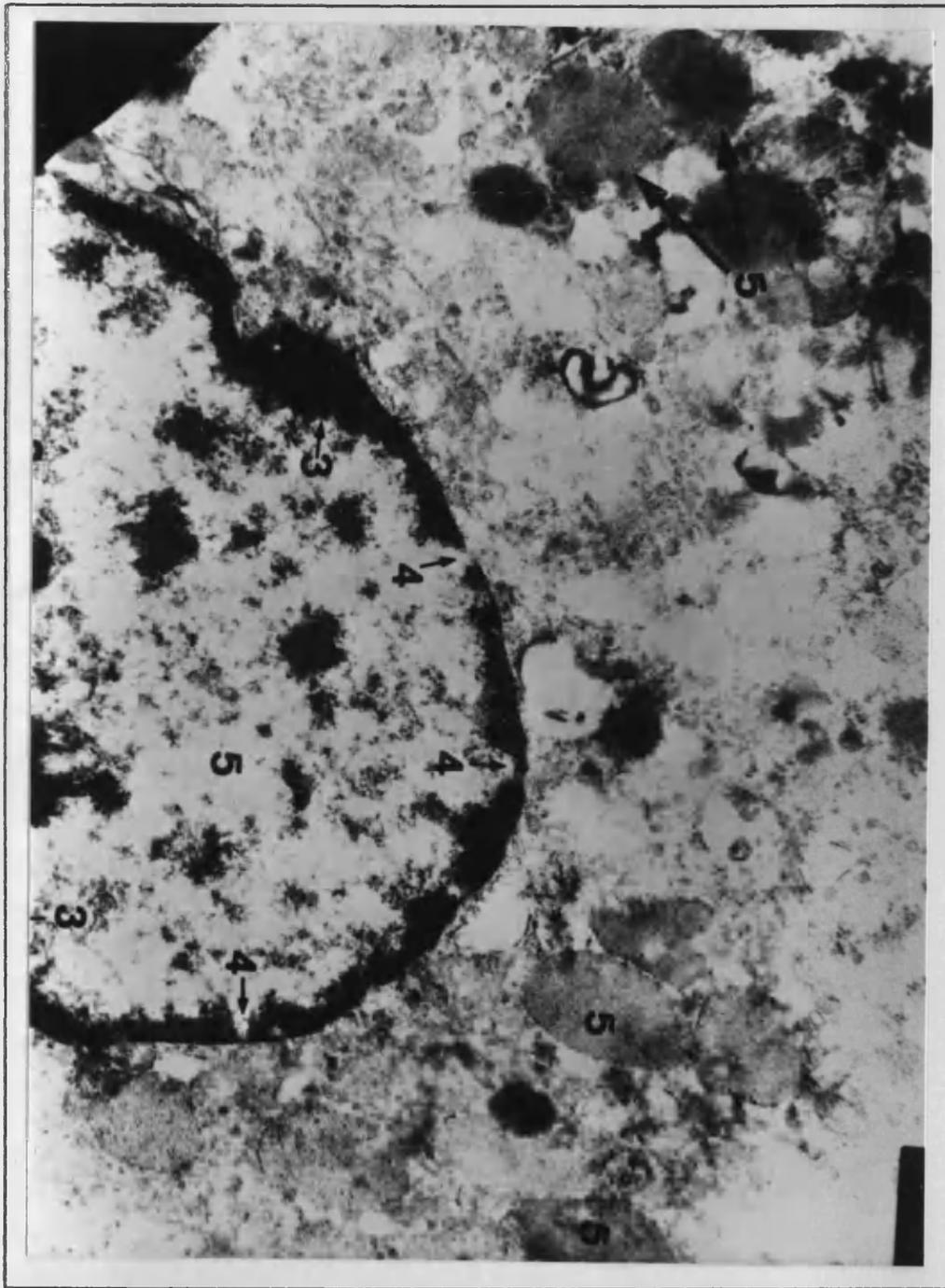


Figura nº 72

FIGURA nº 73

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 72)**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 4.- Poros de la Membrana Nuclear**
- 5.- Heterocromatina**
- 6.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 20.000 X En Negativo

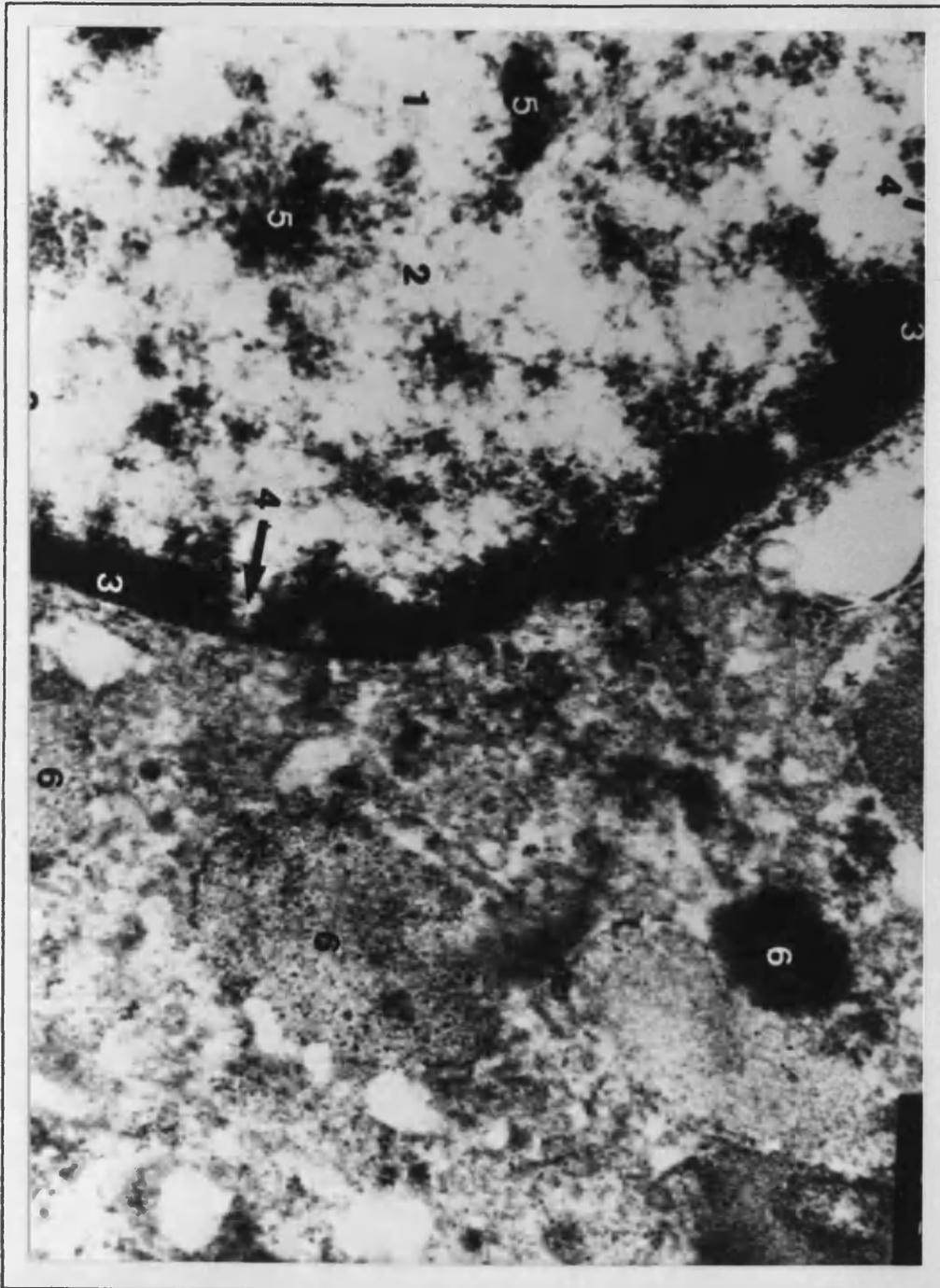


Figura nº 73

FIGURA nº 74

EXPERIMENTAL 1 SEMANA

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 72-73)**

- 1.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 2.- Polirribosomas**
- 3.- Gránulos de Secreción**
- 4.- Lisosoma Secundario**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 20.000 X En Negativo

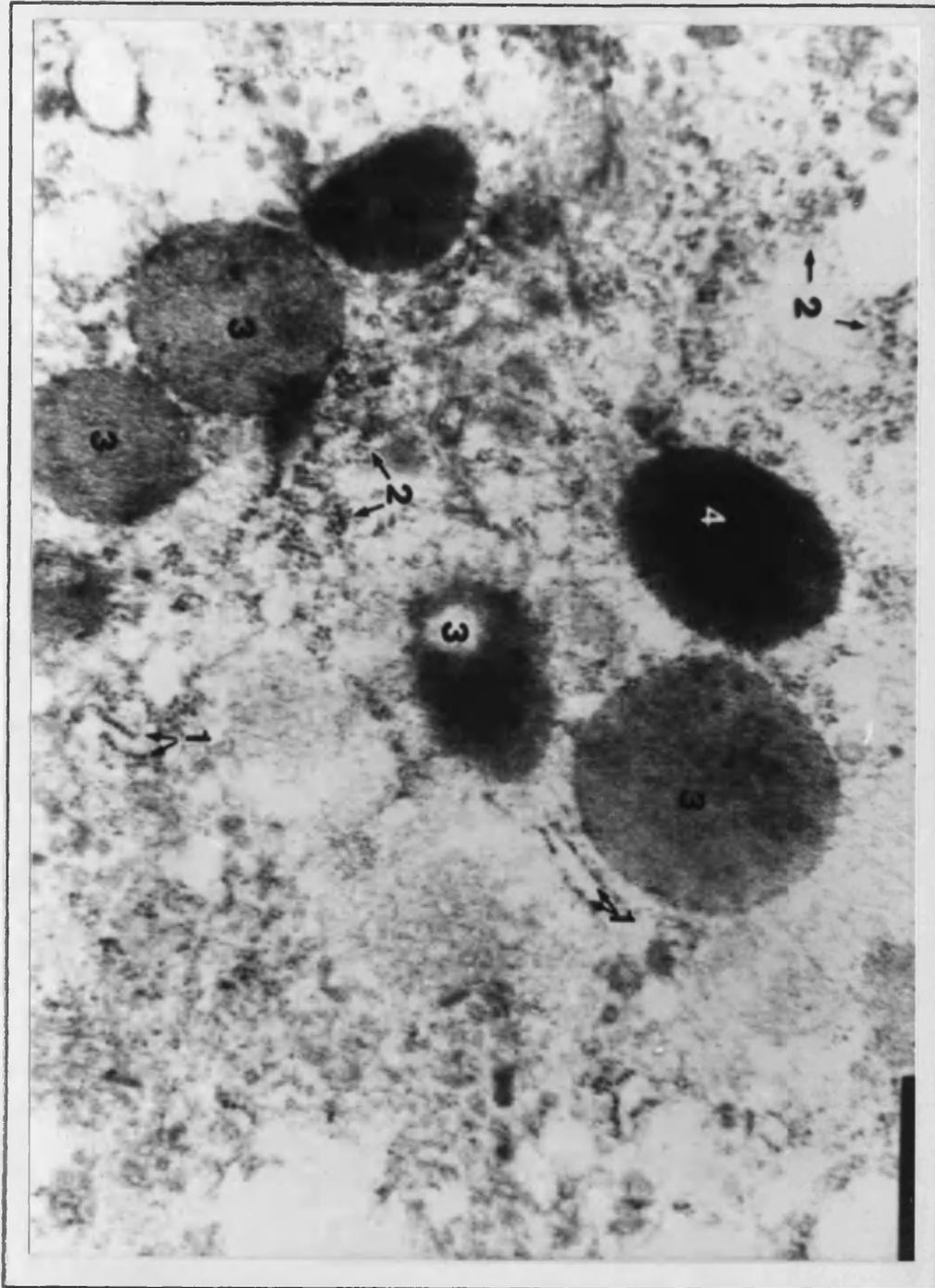


Figura nº 74

FIGURA nº 75

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo**
- 2.- Eucromatina**
- 3.- Nucleolo**
- 4.- Heterocromatina**
- 5.- Heterocromatina asociada al Nucleolo**
- 6.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear**
- 7.- Gránulos de Secreción**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 8.000 X En Negativo

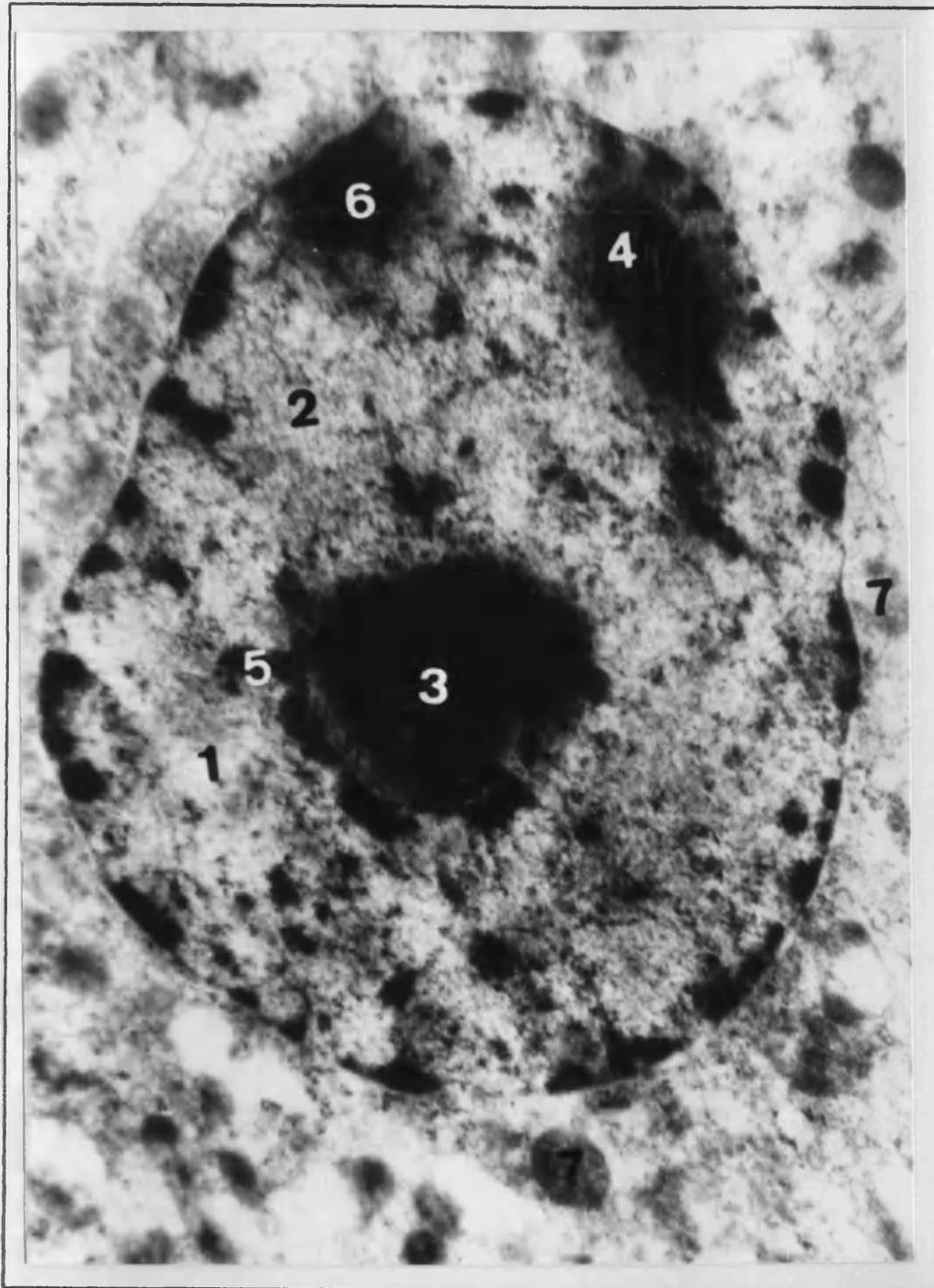


Figura nº 75

FIGURA nº 76

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 75)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Membrana Nuclear
- 3.- Nucleolo
- 4.- Eucromatina
- 5.- Heterocromatina
- 6.- Heterocromatina asociada al Nucleolo
- 7.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear
- 8.- Gránulos de Secreción
- 9.- Polirribosomas
- 10.- Ribosomas asociados a la Membrana Nuclear.

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo

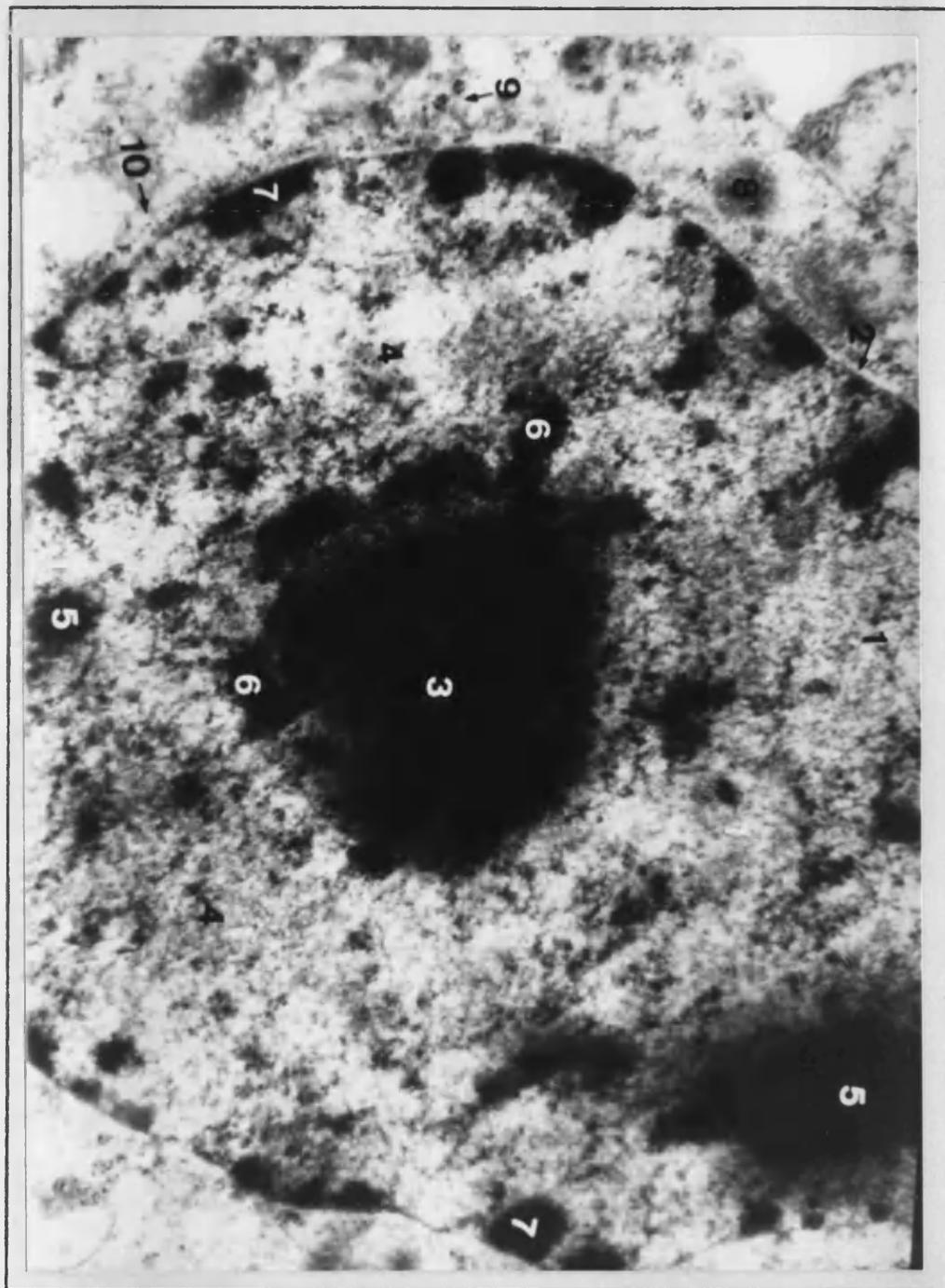


Figura nº 76

FIGURA nº 77

EXPERIMENTAL 2 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 76)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina Adosada a Membrana Nuclear
- 4.- Poro Membrana Nuclear
- 5.- Retículo Endoplásmico Rugoso
- 6.- Polirribosomas
- 7.- Mitocondrias Hinchadas

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 30.000 X En Negativo



Figura nº 77

FIGURA nº 78

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina
- 4.- Nucleolo
- 5.- Heterocromatina asociada al Nucleolo
- 6.- Heterocromatina asociada a la Membrana Nuclear
- 7.- Retículo Endoplásmico Liso
- 8.- Mitocondrias
- 9.- Gránulos de Secreción

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 10.000 X En Negativo

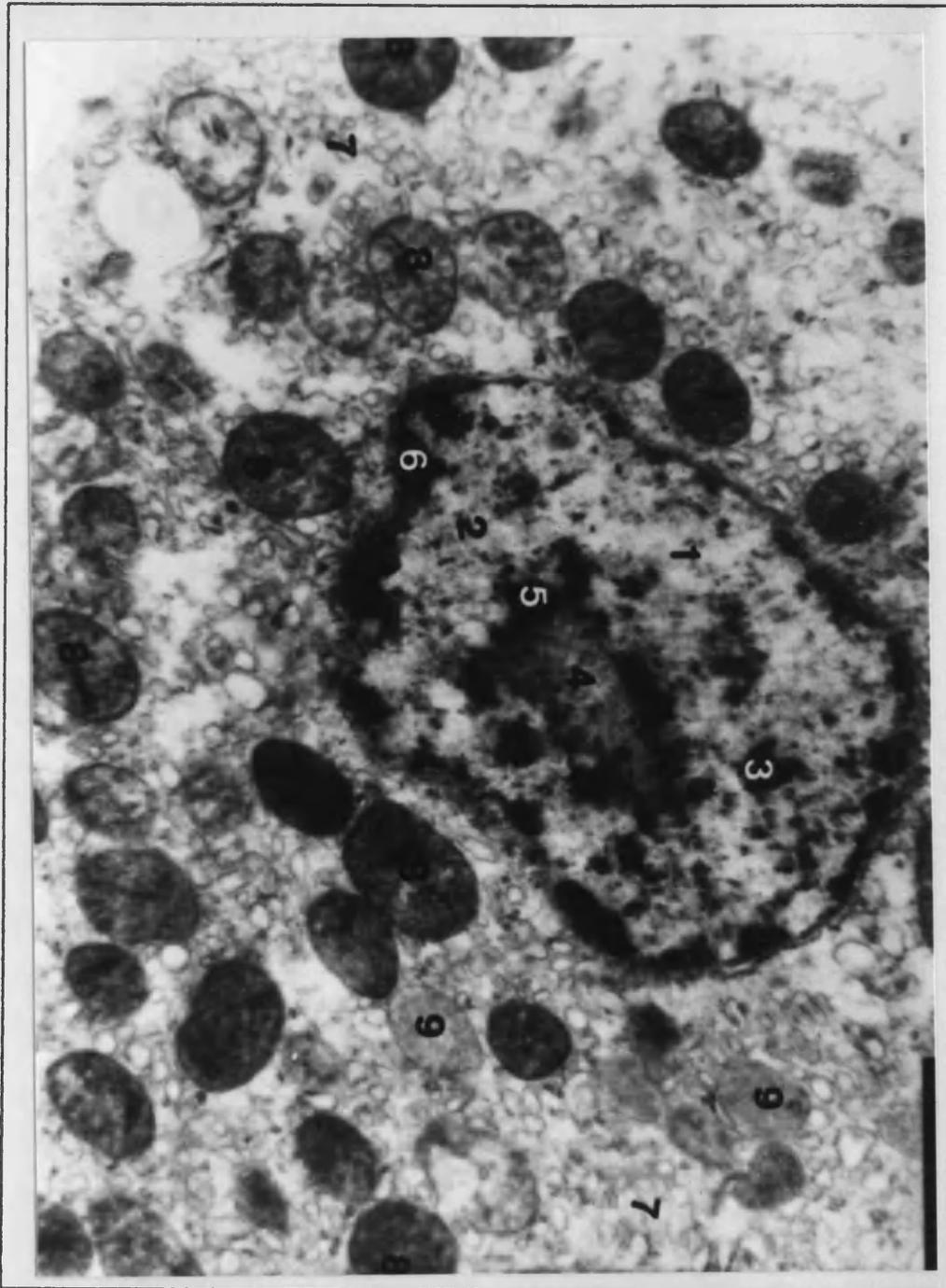


Figura nº 78

FIGURA nº 79

EXPERIMENTAL 6 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 78)**

- 1.- Membrana Nuclear**
- 2.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear**
- 3.- Retículo Endoplásmico Liso**
- 4.- Mitocondrias Hinchadas**
- 5.- Retículo Endoplásmico Rugoso**
- 6.- Polirribosomas**

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 25.000 X En Negativo



Figura nº 79

A las 14 semanas de supervivencia tras vasectomía hallamos : **El núcleo** de características ultraestructurales semejantes a la anterior. (Fig - 80-81)

El citoplasma a diferencia de la serie anterior el REL se hace menos evidente, por contra las mitocondrias son más ostensible, acentuándose los signos de degeneración como son el hinchamiento de la mitocondria con la indemnidad de la membrana y el acortamiento de las crestas que en algunas de ellas llegan a desaparecer, igualmente y a diferencia de la serie anterior se aprecian gránulos de secreción de distinta densidad electrónica.

También se localizan polirribosomas libres así como algunas cisternas de RER. (Fig - 81-82)

FIGURA nº 80

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO**

- 1.- Núcleo
- 2.- Nucleolo
- 3.- Eucromatina
- 4.- Heterocromatina
- 5.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear
- 6.- Mitocondrias Hinchadas
- 7.- Gránulos de Secreción
- 8.- Retículo Endoplásmico Liso

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 6.000 X En Negativo



Figura nº 80

FIGURA nº 81

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 80)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Eucromatina
- 3.- Heterocromatina
- 4.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear
- 5.- Mitocondrias Hinchadas
- 6.- Retículo Endoplásmico Liso
- 7.- Retículo Endoplásmico Rugoso
- 8.- Gránulos de Secreción

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 15.000 X En Negativo



Figura nº 81

FIGURA nº 82

EXPERIMENTAL 14 SEMANAS

**CELULA DE LEYDIG DE MENOR DENSIDAD
ELECTRONICA. ESPACIO INTERSTICIAL ZONA CENTRAL
TESTICULO (Detalle Fig nº 81-82)**

- 1.- Núcleo
- 2.- Heterocromatina adosada a la Membrana Nuclear
- 3.- Mitocondrias Hinchadas
- 4.- Retículo Endoplásmico Rugoso
- 5.- Gránulos de Secreción
- 6.- Retículo Endoplásmico Liso
- 7.- Polirribosomas

FOTOMICROGRAFIA ELECTRONICA 25.000 X En Negativo

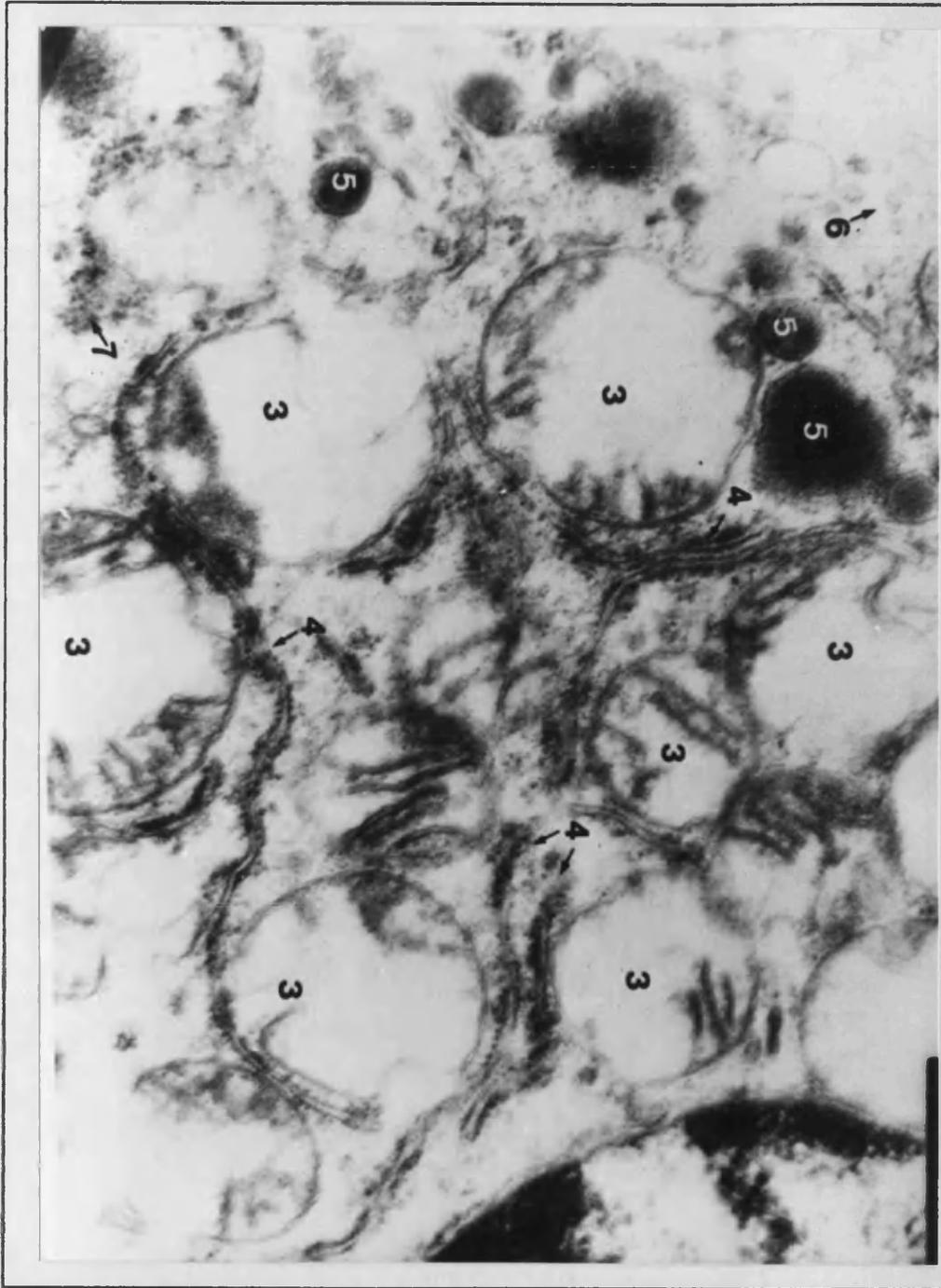


Figura nº 82

Al estudiar las células de Leydig del espacio intersticial de la zona central del testículo de rata a las que se les practica vasectomía, podemos concluir como **resumen de los resultados ultraestructurales** :

- Existen dos tipos de células de distinta densidad electrónica que aparecen en todas las series de animales estudiados

- La ultraestructura de ambas células de mayor y menor densidad electrónica en las distintas series del grupo experimental encontramos variaciones que se manifiestan de forma paralela en las dos variedades celulares y en la evolución en el tiempo y que en líneas generales podrían resumirse :

1^ª. - Un primer momento ultraestructural con imágenes semejantes a las células del grupo simulado correspondiente a las dos primeras semanas postvasectomía.

2^ª. - Un periodo intermedio correspondiente a las 6 semanas postvasectomía con datos ultraestructurales de gran actividad secretora reflejada en la abundancia del REL y datos que nos orientan hacia la degeneración celular, reflejada por la ultraestructura mitocondrial

3^ª. - Tercer periodo que nos orientaría un posible agotamiento celular manifiesto en la máxima relevancia de la degeneración ultraestructural de las mitocondrias.

Datos ultraestructurales (1^ª, 2^ª, 3^ª) adquirirían mayor valor si los apoyamos con la desestructuración testicular encontrada en el estudio a MO del testículo a las 14 semanas postvasectomía y a la abundancia de macrófagos en esa serie experimental.

- Como dato diferencial entre los dos tipos de células de Leydig (De mayor y menor densidad electrónica), señalaríamos el predominio aparente de la heterocromatina en las células de menor densidad electrónica, sin poder matizar diferencias evidentes a lo largo de la evolución tras vasectomía en las diferentes series.

DISCUSSION

5. - DISCUSION

5. 1. - MORFOLOGIA TESTICULAR

En los resultados obtenidos al practicar vasectomía en las dos primeras series experimentales, encontramos datos morfológicos y ultraestructurales que, si bien nos indican el inicio de una posible alteración testicular no quedan reflejados con suficiente claridad, sin embargo, en la serie experimental de 6 semanas postvasectomía, se manifiestan los primeros datos morfológicos, como son a MO, la dilatación del espacio intersticial y a nivel del túbulo seminífero la desestructuración del epitelio germinativo así como alteración de la morfología de la membrana tubular, signos descritos en la literatura por autores como (MEHROTA R. y cols 1983 (131); GUPTA A. y cols 1975 (80) y JAROW J. y cols 1985 (92)) que tras practicar vasectomía en humanos encuentran, fibrosis intersticial, aumento de la membrana tubular y degeneración del epitelio germinativo. Signos semejantes son descritos por (FLICKINER C. J. 1975) (60) en el conejo, (UREÑA F. ; MALAVASI J. 1980) (202) en el hamster y (FLICKINGER C. J. 1987) . (62) en la rata.

Estos datos morfológicos, no solo se describen tras vasectomía sino que hay autores como (HIRSH I. H. ; CHOI H. 1990) (89) que evidencian el aumento de la membrana tubular en biopsias testiculares en hombres, tras obstrucciones congénitas o adquiridas del conducto deferente.

(BOUIN P. ; ANCEL P. 1903) (23) experimentando en distintas especies de animales después de la pubertad , refieren una alteración del epitelio germinal y una transformación de los testículos haciéndose similares a los criptorquidios. Por último señalar las experiencias de (NUÑEZ J y cols 1985 - 1986 (151-152), FLICKINGER C. J. y cols 1987 (62)) que describen un plegamiento de la membrana del túbulo seminífero, adoptando un aspecto en " asta de ciervo "imagen descrita en los resultados de nuestra experiencia fundamentalmente a las 14 semanas postvasectomía.

De acuerdo con los datos bibliográficos referidos y en relación a la morfología descrita en nuestros resultados, coincidimos con (HARRISON R. G. ; Mc MILLAN E. W. 1954 (86); NUÑEZ J. y cols 1986 (152)) en que tras la vasectomía se produce una Atrofia Testicular , atrofia que por nuestra parte hemos observado que se presenta de forma Parcial o Sectorial al igual que lo describen

(LOPEZ A. CASTIÑEIRAS J. ; VILCHES J. 1988) (117) tras practicar vasectomía en la rata.

Por el contrario existen autores que tras practicar vasectomía en distintas especies animales afirman que no hay deterioro del epitelio germinal, tal como lo refieren (GOSSELIN P. 1847 (72) y DERRICA F. C. y cols 1974 (49)) en el perro (SMITH G. 1962 (189); Mc DONALD S. W. ; SCOTHORNE R. J. 1988 (128) ; PLAUT S. M. 1973 (168)) en la rata y (CHAPMAN F. S. y cols 1978) (38) en el mono. Hecho éste, que también es observado por (GRIFFITH 1894 (79) y BRISSAUD E. 1920 (25)) en obstrucciones del conducto deferente en conejos y perros. Paradójicamente en la revisión bibliográfica, encontramos algunas experiencias donde los autores observan la evolución testicular durante periodos variables de tiempo, describiendo las variaciones morfológicas del testículo, todos ellos y en líneas generales coinciden que tras un primer momento de degeneración del epitelio seminífero que se inicia a los pocos días después de la vasectomía y llega a su máximo aproximadamente a los 120 días, se produce posteriormente la regeneración del epitelio germinal. (GREWAL R. S. ; SACHAN M. S. 1968 (78), VARE A. M. 1973 (204) , DERRICA F. C. y cols 1974 (49), GUPTA A. S. y cols 1975 (80), BICUDO S. D. ; MATERA A. 1989 (19)).

5. 2. - CELULAS DE LEYDIG

5. 2. 1. - MORFOLOGIA DEL ESPACIO INTERSTICIAL

Al analizar el espacio intersticial del testículo en cortes de 1 μ teñidos con Azul de Toluidina Alcalino, encontramos en los distintos grupos (testigo, simulados y experimentales) dos poblaciones celulares, una de ellas, la identificamos como células de Leydig y la otra como Macrófagos. En el estudio comparativo de estos grupos no observamos diferencias morfológicas entre el grupo testigo y simulado, respecto del experimental. Sin embargo a las 14 semanas postvasectomía, hallamos distintas variedades de células de Leydig atendiendo a su basofilia. Este hecho, queda referido en la literatura por varios autores que describen distintas poblaciones celulares en el espacio intersticial así como, diferentes variedades en las células de Leydig en distintas condiciones de estudio y diferentes especies animales. En descripciones ultraestructurales y condiciones normales, las estudia (CRABO B. 1963) (34) en la rata. Posteriormente (CHASE D. ; PAYNE A. 1983) (39) indican distintos tipos en relación con la fase funcional de secreción

hormonal en la rata y (VILLAPLANA L. A. 1984 y MARTIN Y. 1988) (206), nos hablan de dos tipos celulares en condiciones normales y de experimentación.

Atendiendo a la información bibliográfica y a los datos morfológicos de nuestro estudio, no podemos establecer una relación directa entre el hecho, de la aparición de distintas variedades de células de Leydig a las 14 semanas de supervivencia postvasectomía y la propia técnica quirúrgica, ya que al contrastar las imágenes de 1 μ con los datos del estudio ultraestructural, se aprecia claramente en ambos grupos (Simulado y Experimental) y en todas las series de supervivencia la existencia de dos tipos celulares de Leydig y no exclusivamente a las 14 semanas postvasectomía, ante lo expuesto consideramos como expresa (GLEGG E. J. ; Mc MILLAN E. W. 1965) (69) que los criterios morfológicos de microscopía óptica son insuficientes para el análisis de estas células en situaciones experimentales.

5. 2. 2. - ULTRAESTRUCTURA DE LAS CELULAS DE LEYDIG

En el estudio ultraestructural hallamos dos tipos de células de Leydig atendiendo a su electrodensidad, estas, aparecen tanto en el grupo simulado como en el experimental a través de las distintas series de supervivencia. (NIEMI M. ; IKONEN M. 1963) (146) indican que el tipo más numeroso de células desarrollado en el compartimiento intersticial son las células de Leydig. En nuestro estudio y como indican (CHRISTENSEN A. K. ; FAWCETT D. W. 1961 (41) , OHATA M. 1979 (154) , VILAR O. ; PONZIO R. O. ; HIB J. 1982 (205)) las células de Leydig tienen una característica ultraestructural definida y son identificables a microscopía electrónica.

Atendiendo a esa ultraestructura propia de las células de Leydig, hallamos dos tipos celulares, que fundamentalmente y a grandes rasgos (sin entrar en los detalles descritos en el apartado de Resultados Obtenidos) difieren en su densidad electrónica, encontramos autores que estudian estas células (AXELROD L. 1965 (11), SURINA M. 1980 (194) , NISTAL y cols. 1986 (150)) en testículos humanos. (CHRISTENSEN A. K. 1959 (40), LEESON R. C. 1963 (112) , VILLAPLANA L. A. 1984 (206) , ZIRKIN B. R. ; EWING L. L. 1987 (214) , MARTIN Y. 1988 (122)) en testículos de rata y (CRABO B. 1963) (34) en el conejo, y describen distintas poblaciones celulares de Leydig, relacionando su ultraestructura con distintas fases de maduración sexual, así como respecto del momento funcional. Únicamente señalar que las células que presentan mayor densidad electrónica tienen un contenido eucromatínico más uniforme que las de

menor densidad electrónica, lo que según los datos conocidos de biología celular (MAILLET M. 1975 (120), DE ROBERTIS E. M ;DE ROBERTIS E. D. 1977 (46), DIAZ F. L. ; ORTIZ U. G. ; SANCHEZ S. G. 1974 (50)), nos indicaría que las células más electrodensas corresponderían a momentos de mayor actividad funcional. Consideramos pues, que para definir la complejidad celular del intersticio además del uso de la microscopía electrónica es necesario el empleo de técnicas inmunohistoquímicas (BARCLAY A. N. 1981) (14).

Atendiendo a lo expuesto orientamos la discusión hacia las posibles variaciones ultraestructurales en ambos tipos de células de Leydig tras practicar vasectomía, comparando el grupo simulado y el experimental.

En el **grupo simulado** las células de Leydig se presentan con ultraestructura normal que se mantiene uniforme a lo largo de todas las series de supervivencia, reflejando características de normalidad, referidas en el apartado de los resultados obtenidos (pag. - 165 - 176). (WING T. ; LIN H. 1977 (210), OHATA M. 1979 (154), SUN J. 1982 (192); BELT W. D. ; CAVAZOS L. F. 1970 (16-17) , PRINCE F. P. 1984 (169)). Sin embargo en el **grupo experimental** encontramos que la ultraestructura difiere del testigo y del grupo simulado, y que estas manifestaciones < con su mayor o menor relevancia de organelas > según el periodo evolutivo postvasectomía, se manifiestan en líneas generales de forma pareja en el tiempo en ambos tipos de células de Leydig (de Mayor y Menor Electrodensidad). Estas imágenes varían al compararlas en el tiempo de evolución en las distintas series de éste grupo, concretándolas en tres fases ultraestructurales distintas.

Un primer momento ultraestructural que aparentemente refleja normalidad, según los datos referidos en los resultados obtenidos (pag. -177 - 194) y que correspondía a la primera serie.

A partir de éste momento y en la series de 2 y 6 semanas postvasectomía, los datos ultraestructurales más relevantes, nos orientan hacia actividad secretora de las células de Leydig reflejadas en la abundancia del REL en forma vesicular , el contenido eucromatínico y la visión del nucleolo (DIAZ F. L. ; ORTIZ U. G. ; SANCHEZ S. G. 1974 (50), HAM W. A. 1975 (82), ROLAND J. C. ; SZÖLLÖSI A. D. 1976 (173) DE ROBERTIS E. M. ; DE ROBERTIS E. D. 1977 (46), ANDERSEN K. 1978 (5) ORTIZ U. G. 1979 (156), DE DUVE C 1988 (45)), al tiempo que aparecen mitocondrias con claros signos de degeneración: tales como el hinchamiento de las mismas y acortamiento de las crestas (MAILLET M. 1975 (120), DE ROBERTIS E. M DE ROBERTIS E. D. 1977

(46), DIAZ F. L. ; ORTIZ U. G. ; SANCHEZ S. G. 1974 (50)). Estas manifestaciones adquieren mayor relevancia en las dos últimas series experimentales, donde disminuye el REL, aumentan los gránulos de secreción (ROBBINS L. S. 1975) (174) que ya existían en las primeras series, haciéndose más evidentes los signos de degeneración mitocondrial. Datos que considerados en conjunto, nos hacen pensar que en la serie de seis semanas postvasectomía hay un aumento de la actividad secretora de las células de Leydig en ambos tipos celulares, actividad que va disminuyendo hasta las catorce semanas en la que aparentemente encontramos menor contenido eucromatínico así como los signos de degeneración mitocondrial más llamativos.

Los estudios previos de otros autores generalmente hacen referencia a la densidad y volumen de las células de Leydig en el espacio intersticial (HARRISON R. C. ; Mc MILLAN E. W. 1954 (86), KOTHARI I. ; MISHRA P. 1972 - 1973 (103-104) NUÑEZ J. y cols. 1986 (152)), por contra hay escasez de antecedentes respecto de datos ultraestructurales postvasectomía en estas células.

En éste sentido, las opiniones son contradictorias (MEHROTA R. y cols 1983) (131) apuntan hacia alteraciones insignificantes en las células de Leydig tras la vasectomía. Sin embargo en nuestro caso coincidimos con los resultados de (KOTHARI L. ; MISHRA P. 1973) (104) que tras practicar vasectomía en el perro y (FISH H. y cols. 1989) (57) en el hombre, describen afectación de las células de Leydig como consecuencia de esta técnica quirúrgica. Por contra (VARE A. M. 1973) (204) tras practicar vasectomía no refiere en sus resultados alteraciones de las células de Leydig.

5. 3. -CURVA PONDERAL Y ANTROPOMETRIA DEL TESTICULO

Al estudiar la **curva ponderal** de los animales simulados y experimentales, encontramos disminución de peso estadísticamente significativa en la primera serie experimental respecto de los simulados, a partir de éste momento y en ambos grupos existe un aumento progresivo de peso, por lo que consideramos que esa pérdida inicial es la respuesta innata del organismo ante el stress quirúrgico, seguida de la ganancia propia tras el postoperatorio y desarrollo normal del animal.

Antropometría del testículo : En relación a estos datos, encontramos en los antecedentes bibliográficos (FLICKINGER C. J. 1987 (62); NEAVES W. B. 1974 (143) Y NUÑEZ J. y cols 1986 (152)) que relatan la disminución de peso testicular en animales vasectomizados junto con alteraciones de las dimensio-

nes testiculares, estos fenómenos no concuerdan con nuestros resultados, ya que en principio obtenemos una afectación del peso testicular estadísticamente significativa en el grupo experimental respecto del simulado, mientras que, las dimensiones testiculares únicamente reflejan variación en las series experimentales de seis y diez semanas de evolución, siendo estadísticamente significativas sólo en la serie de seis semanas. Aunque estos hallazgos difieren de los descritos en la literatura, adquieren en nuestra experiencia significado al reforzar las manifestaciones tanto en la morfología general del testículo a las seis semanas, donde observamos claramente el inicio de la atrofia testicular, como en la ultraestructura de las células de Leydig en ésta misma serie, que refleja gran actividad secretora celular.

Centrando de nuevo la atención en los resultados del estudio estadístico del peso testicular en el tiempo postvasectomía, razonar el hecho de que, esa diferencia de peso en el sentido de disminución en todas las series a excepción de la de 14 semanas, nos plantearía, al contrastar nuestros hallazgos con la información recibida de experiencias similares (GREWAL R. S. ; SACHAN M. S. 1968 (78), VARE A. M. 1973 (204), DERRICA F. C. y cols 1974 (49), GUPTA A. S. y cols 1975 (80) BICUDO S. D. ; MATERA A. 1989 (19)), la duda de si es posible la regeneración del testículo, que sin embargo no podemos refrendar con los hallazgos morfológicos de nuestra experiencia, quedando de esta forma un camino abierto para dilucidar las posibles consecuencias en el tiempo de esta técnica quirúrgica utilizada con gran incidencia en la sociedad actual como método de anticoncepción masculino, pudiendo inferir un posible pronóstico así como todas las aplicaciones clínicas que conllevaría su seguimiento a largo plazo.

CONCLUSIONES

6. - CONCLUSIONES

PRIMERA : Tras practicar vasectomía en la rata no establecemos relación entre las variaciones de la curva ponderal de los animales experimentales y la técnica quirúrgica. Únicamente a una semana postvasectomía hay una pérdida de peso relacionada con la injuria quirúrgica.

SEGUNDA : La vasectomía practicada en ratas produce a partir de las seis semanas de evolución una **ATROFIA TESTICULAR PARCIAL**, que se manifiesta antropométrica y microscópicamente por lo siguiente:

A). - Antropometría Testicular :

* Disminución del peso de los testículos en los animales vasectomizados, estadísticamente significativo respecto de los animales simulados a excepción de, a las 14 semanas postvasectomía.

B). - Morfología Microscópica :

* Alteración testicular, a nivel del túbulo seminífero (desestructuración y pérdida de la línea espermática) y a nivel del espacio intersticial (Intensa dilatación y fibrosis).

TERCERA : En el espacio intersticial del testículo hallamos dos tipos de células de Leydig en el grupo simulado y experimental, que ultraestructuralmente se manifiestan de mayor y menor electrodensidad, considerando más activas las de mayor densidad electrónica.

CUARTA : Tras vasectomía y con microscopía electrónica, hallamos dos tipos de células de Leydig de manera uniforme en el espacio intersticial del testículo de rata, hecho, que no aparece asiduamente en el grupo de animales experimentales al estudiarlos con microscopía óptica, por lo que estimamos imprescindible el uso de la microscopía electrónica para la correcta identificación del contenido del espacio intersticial.

QUINTA: Creemos necesario la utilización de técnicas de microscopía electrónica junto a técnicas inmunohistoquímicas y determinaciones hormonales, para poder integrar las imágenes ultraestructurales con el estado secretor de estas células o bien poder identificar correctamente las distintas poblaciones de células de Leydig según los momentos de maduración sexual, en estudios descriptivos y posteriormente experimentales.

SEXTA: La vasectomía produce cambios degenerativos en los dos tipos de células de Leydig nombrados en la 3^a conclusión, subsiguientes a un periodo de gran actividad secretora a partir de las 6 semanas de evolución.

SEPTIMA : Por último, atendiendo a nuestros hallazgos tanto a microscopía óptica como electrónica , al aumento de peso del testículo estadísticamente significativo a las 14 semanas de evolución y a la información bibliográfica, planteamos la duda de, si las alteraciones que ocasiona la vasectomía en el testículo a los tres meses y medio, podrían subsanarse, restableciéndose de nuevo la normalidad testicular.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- AHMAD N. ; LENNOX B. ; MACK W.S. (1969)
Estimation of the volume of Leydig cells in man
Lancet 30 : 461 - 463
- 2.- ALDERMAN P.M. (1989)
General and anomalous sperm disappearance characteristics found in a large
vasectomy series.
BC. Can. Fertil - Steril. 51 (5) : 859 - 862
- 3.- ALEXANDER N.J. ; TUNG K.S.K. (1976)
Immunological and morphological effects of vasectomy in the Rabbit.
Anat. Rec. 188 : 339 - 350
- 4.- ALEXANDER N.J. ; TUNG K.S.K. (1977)
Citado por FLICKINGER C.J, (1987) " The influence of vasovasostomy on
testicular alterations after vasectomy in Lewis rats."
Anat. Rec. 217 : 137 - 145
- 5.- ANDERSEN K. (1978)
Seasonal changes in fine structure and function of Leydig cells in the blue fox.
Int. J. Androl. 1 (5) ; 424 - 439
- 6.- ANSBACHER R. (1971)
Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. (1981) " Vasectomía: Indicaciones
técnica y resultados " .
Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1) ; 22 - 31
- 7.- ANSBACHER R. (1974)
Citado por MARINA S. ; VASQUEZ L. (1981) " Vasectomía : Indicaciones
técnica y resultados " .
Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1) ; 22 - 31

8.- AOKI M.; MASSA E. (1975)

Subcellular compartmentation of the esterified cholesterol un the interstitial cell of the mouse testis.

Cell. Tiss. Res. 165 : 49 - 69

9.- ARANGO O. Et al (1988)

Vasectomía por incisión única escrotal.Revisión de 500 casos.Nota técnica.

Actas. Urol. Esp. XII (5): 430 - 431

10.- ASCHEIM S. : ZONDEK B. (1927)

Hypophysenvorderlappen und ovarium.

Arch. F. Gynak. Bd.130: 1 - 45

11.- AXELROD L. (1965)

Metabolic patterns of steroid byosynthesis in young and aged human testes.

Biochim. Biophys. Acta. 97 : 551

12.- BAILLIE A.H (1960)

The Biology of the Leydig cell : Histochemical and Histological changes following haigh epididymal obstruction.

J. Endocrin. 20 : 339 - 344

13.- BALL R.Y. (1984)

Experimental production of spermatic granuloma in Bal/c mice.

Andrología 16 (4) : 342 - 349

14.- BARCLAY A.N. (1989)

Citado por NIEMI M. ; SHARPE R.M. ; BROWN W.R.A. (1986)

"Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis "

Cell. Tis. Res 243 : 337 - 344

15.- BELKER A.M. Et al (1985)

Transient fertility after vasovasostomy in 892 patiens.

J. Urol. 134 : 75 - 76

- 16.- BELT W.D. ; CAVAZOS L.F. (1970)
Fine structure of the interstitial cells of Leydig in the squirrel Monkey during seasonal Regression.
Anat. Rec. 169 : 115 - 128
- 17.- BELT W.D. ; CAVAZOS L.F. (1970)
Fine structure of interstitial cells of Leydig in the Boar.
Anat. Rec. 158 : 333 - 350
- 18.- BICUDO S.D. ; MATERA A. (1989)
Vasectomy in the dog (canis familiaris) : Macroscopic and microscopic alterations of the epididymis.
Rev. Cien. Biomed. 10 (0) : 9 - 18
- 19.- BICUDO S.D. ; MATERA A. (1989)
Vasectomy in the dog (canis familiaris) : Macroscopic and microscopic alteration of the testis.
Rev. Cienc. Biomed. 10 (0) : 19 - 30
- 20.- BIGAZZI P.E. Et al (1976)
Citado por FLICKINGER C.J. Et al (1987) " The influence of vasovasostomy on testicular alterations after vasectomy in Lewis rats".
Anat. Rec. 217 : 137 - 145
- 21.- BIGAZZI P.E. Et al (1977)
Citado por FLICKINGER C.J. Et al (1987) " The influence of vasovasostomy on testicular alterations after vasectomy in Lewis rats".
Anat. Rec. 217 : 137 - 145
- 22.- BILINSKA B. (1989)
Interation between Leydig and Sertoli cells in vitro
Cytobios 60 (241) : 115 - 126

23.- BOUIN P. ; ANCEL P. (1903)

Recherches sur les cellules interstitielles du testicule chez les mammifères.

Arch. Zool. Exp. Gen 1 : 437 - 523

24.- BRISSAUD E. (1884)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

25.- BRISSAUD E. (1920)

Citado por GREWAL R.S. ; SACHAN M.S. (1967) "Changes in testicle after vasectomy".an experimental study.

Int. Surg. 49 (5) : 460 - 462

26.- CAMERON C.S. (1945)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

27.- CAVALLARO G. Et al (1982)

Vaso-vasostomía termino-terminale e granuloma spermático

Min. Chir. 37 : 2097 - 2103

28- CAVALLARO G. Et al (1983)

Vaso-vasostomía termino-terminale nel ratto.

Min. Chir. 38 : 1339 - 1346

29- CONNELL C.J. (1972)

The effect of Luteinizing hormone on the ultrastructure of Leydig cell of the chick.

Z. Zellforsch. 128 : 139 - 151

30.- CONNELL C. J. (1973)

The ultrastruture of the testicular interstitial tissue of the dog.

Anat. Rec. 175 : 296

- 31.- CONNELL C.J. ; CHRISTENSEN A.K. (1975)
The ultrastructure of canine testicular interstitial tissue.
Biol. Reprod. 12 : 368 - 382
- 32.- COOPER A. (1830)
Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental
and clinical work on vasectomy "
J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486
- 33.- CORRALES H. J.J. Et al (1989)
Hipogonadismos
Medicine, Endocrinología y Metabolismo IV : 1506 - 1514
- 34.- CRABO B. (1963)
Fine structure of interstitial cells of the rabbit testes.
Z. Zellforsch 61 : 587 - 604
- 35.- CRUZ-HOFLING ; ALICE M. ; DA CRUZ - LANDIM C. (1984)
Ultrastructural and histochemical studies on the Leydig and Sertoli cell
homologues in the testis of *Tiportheus elongatus* and *Mylossoma aureum*.
Cytobios. 41 (163 - 164) : 161 - 174
- 36.- CUSAN L Et al (1982)
Inhibition of spermatogenesis during long term treatment with human chorionic
gonadotropin in the rat.
J. Androl. 3(2) : 124 - 133
- 37.- CUSHING H.W. ; ASCHNER B. (1910)
Citado por VELAZQUEZ (1966) " Farmacología experimental".
Ed. Científico Médica.
- 38.- CHAPMAN F.S. Et al (1978)
Vasectomy in Rhesus monkeys. IV Electron microscopic studies of the seminiferous
epithelium.
Anat. Rec. 192 : 41 - 54

- 39.-CHASE D. ; PAYNE A. (1983)
Changes in Leydig cell function during sexual maturation in the mouse.
Biol.Reprod.29(5) : 1194-1200
- 40.- CHRISTENSEN A.K. (1959)
The fine structure of interstitial tissue of the rat testis at various ages after
experimental treatment.
Anat. Rec. 133 : 367 - 368
- 41.- CHRISTENSEN A.K. ; FAWCETT D.W. (1961)
The normal fine structure of opossum testicular interstitial cells.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 9 : 653 - 670
- 42.- CHRISTENSEN A.K. (1965)
The fine structure of testicular interstitial cells in guinea pigs.
J. Cell. Biol. 26 : 911 - 933
- 43.- CHRISTENSEN A.K. ; FAWCETT D.W. (1966)
The fine structure of testicular interstitial cells in mice.
Amer. J. Anat. 118 : 551 - 572
- 44.- CHRISTENSEN A.K. (1975)
"Leydig cells" in : Handbook of physiology. Vol V. Endocrinology. Sect. 7(D.W.
Hamilton and R.O. Greep Cels) Washintong D.C. : American Physiological
Society 1975.
- 45.- DE DUVE C. (1988)
La Célula viva
1ª ed.,Barcelona, Ed.Biblioteca Scientific Amarican, 434 pags.
- 46.- DE ROBERTIS E.M.F. ; DE ROBERTIS E.D.P. (1982)
Biología Celular y Molecular
10ª ed, Barcelona. Ed. El Ateneo.613 pags.

47.- DE TOURRIS H ; LE GUILLOU M. (1977)

Manual de andrología

1ª ed, Barcelona ,Ed. Toray - Masson, 147 pags.

48.- DEANE H (1958)

"Intracellular lipids: their delection and significance".In frentiers in Cytology
(S.L. Plalay,ed.) New Haven.Conn ; Yale University

49.- DERRICA F.C. Et al (1974)

Histologic changes in the seminiferous tubules after vasectomy.

Fert. Steril. 25 : 644 - 658

50.- DIAZ F. L.; ORTIZ U. G.; SANCHEZ S.G. (1974)

Bases ultraestructurales en Citología.Histología y Anatomía Patológica.

1ª ed, Santiago de Compostela,Ed. Imprenta Paredes. 820 pags.

51.- DORSEY J.W. (1957)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental
and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

52.- DUESBERG J. (1918)

On the interstitial cells of the testicle of Didelphys.

Biol. Bull. 35 : 175 - 199

53.- EVRIDGE - VERNON (1956)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental
and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

54.- FAWCETT D.W. Et al (1970)

Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. ((1981) " Vasectomía: Indicaciones
técnica y resultados " .

Clin. Invest.Gin. Obst. 9 (1) : 22 - 31

- 55.- FELLER J.A. ; SOUTHWICK G.J. ; TEMPLESMITH P.D. (1986)
Comparison of the short - term effects of vasoligation and open - ended
vasectomy on the reproductive tract of male rat.
Androl. 18 (6): 629 - 648
- 56.- FEVOLD H ; HISAW F.; LEONARD S. (1931)
The gonad stimulating and the Luteinizing hormones of the anterior lobe of the
hipophysis.
An. J. Physiol. 97 : 291
- 57.- FISH H Et al (1989)
Detection of testicular endocrine abnormalities and their correlation with serum
antisperm antibodies in men following vasectomy.
J. Urol. 141 (5): 1129 - 1132
- 58.- FLICKINGER C.J. (1972)
Ultrastructure of the rat testis after vasectomy.
Anat. Rec. 174 : 477 - 494
- 59.- FLICKINGER C.J. (1972)
Alterations in the fine structure of the rat epididymis after vasectomy.
Anat. Rec. 173 : 277 - 285
- 60.- FLICKINGER C.J. (1975)
Fine structure of the rabbit testis after vasectomy.
Biol. Reprod. 13: 61 - 67
- 61.- FLICKINGER C.J. Et al (1986)
The incidence of spermatic granulomas and their relation of testis weight after
vasectomy and vasovasostomy in Lewis rats.
J. Androl. 7 (5): 285 - 291

62.- FLICKINGER C.J. Et al (1987)

The influence of vasovasostomy on testicular alteratrions after vasectomy in Lewis rats.

Anat. Rec. 217 : 137 - 145

63.- FRANCHIMONT P. (1971)

Human gonadotrphin secretin.

J. R. Coll. Physicians Lond. 6 : 283 - 298

64.- FURUYA TETSUO (1990)

Onset of compensatory hypertrophy of interstitial tissue and Leydig cell in rats hemicastred around the time of puberty.

Biol. Reprod. 42 (3) : 491 - 498

65.- GABE M. (1968)

Téciques histologiques

1ª ed, Paris, Ed. Masson. ET CIE. 1.113 pags.

66.- GILLEBAUD P. ; BUDD D. (1984)

Complications of vasectomy : Review of 16.000 patiens.

Br. J. Urol. 56 (6) : 745 - 748

67.- GLASSY F.J. ; MOSTOFI F.K. (1956)

Spermatic granulomas of the epididymis.

Amer. J. Path. 26 : 1303

68.- GLAVIND K. ; NIELS- PETER LAURITSEN (1990)

Physical complaints and formation of granulomas following vasectomy.

Tidsskr. Nor. Laegeforen 110 (16) : 2078 - 2079

69.- GLEGG E.J. ; Mc MILLAN E.W. (1965)

Citado por NIEMI M. ; SHARPE R.M. ; BROWN W.R.A. (1986)

"Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis "

Cell. Tis. Res 243 : 337 - 344

70.- GOLDSTEIN M. (1985)

Microspike approximator for vasovasostomy.

J. Urol. 134 : 74

71.- GORDON G. (1953)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

72.- GOSSELIN P. (1847)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

73.- GOSSELIN P. (1853)

Citado por GREWAL R.S. ; SACHAN M.S. (1967) "Changes in testicle after vasectomy ".an experimental study.

Int. Surg. 49 (5) : 460 - 462

74.- GRAM I.T. ; MOLNE K. (1986)

Vasectomy.

Tidsskr. Nor. Laegeforen. 106 (19 - 21) : 1578 - 1580

75.- GREENBERG M.J. (1989)

Vasectomy Technique

Am. Fam. Physican 39 (1) : 131 - 138

76.- GREEP R. ; FEVOLD H; HISAW F. (1936)

Effects of two hypophyseal gonadotrophic hormones on the reproductive system of male rat.

Anat Rec. 65 : 261 - 271

77.- GREEP R. ; FEVOLD H (1937)

The spermatogenic and secretory function of the gonads of hypophysectomized adult rats treated with pituitary FSH and LH.

Endocrin.21 : 611 - 618

78.- GREWAL R.S. ; SACHAN M.S. (1968)

Changes in testicle after vasectomy. an experimental study.

Int. Surg. 49 (5): 460 - 462

79.- GRIFFITH (1894)

Citado por GREWAL R.S. ; SACHAN M.S. (1967) "Changes in testicle after vasectomy".an experimental study.

Int. Surg. 49 (5): 460 - 462

80.- GUPTA A.S. Et al (1975)

Surgical sterilization by vasectomy and its effect on the structure and function of the testis in man.

Br. J. Surg. 62: 59 - 63

81.- GUYTON A.C. (1976)

Tratado de Fisiología Médica

5 º ed, México,Ed. Inter americana.1159 pags.

82.- HAM W.A. (1975)

Tratado de Histología

7 º ed, Ed. Inter americana. 935 pags.

83.- HAMIDINA A. ; BECK A.D. ; WRIGHT N. (1983)

Morphologic changes of the vas deferens after vasectomy and vasovasostomy in dogs.

Surg. Gynecol. Obstet. 156 : 737 - 742

- 84.- HANDLEY H; FLICKINGER C.J. ; HERR J. (1990)
Biphasis production of antisperm autoantibodies follow vasectomy of the Lewis rat.
J. Reprod. Immunol. 17 (1) : 53 - 68
- 85.- HARBITZ T.B. (1973)
Morphometric studies of the Leydig cells in elderly men with special referente to the histology of the prostate.
Acta. Path. Microbio. Scandinavica 81 A : 301 - 313
- 86.- HARRISON R.G. ; Mc MILLAN E.W. (1954)
The effects of high epididymal obstruction upon the Leydig cell volume of the rat testis.
J. Endocrin. II : 89 - 96
- 87.- HEIDEGER P.M. ; SAWATZKE C.L. (1977)
Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. (1981) " Vasectomía: Indicaciones Técnica y resultados " .
Clin. Invest.Gin. Obst. 9 (1) ; 22 - 31
- 88.- HEIDEGER P.M. Et al (1978)
Vasectomy in Rhesus monkeys. Light microscopic studies of testicular morphology.
Urol. XI (2): 148 - 153
- 89.- HIRSCH I.H. ; CHOI H. (1990)
Quantitative testicular biopsy in congenital and acquired genital obstruction.
J. Urol. 143 (2) : 311 - 312
- 90.- HUNTER M. Et al (1982)
Stimulation and inhibition by LHRH analogs of cultured rat Leydig cell function and lack of effect on mouse Leydig cells.
Mol. Cell. Endocr. 27 (1) : 31 - 44

- 91.- HUTANIEMI I. ; CAYTON N.; CATT K. (1982)
Gonadotropin binding and Leydig cell activation in rat testis in vivo.
Endocr. 111 (3) : 982 - 987
- 92.- JAROW J. Et al (1985)
Quantitative pathologic changes in the human testis after vasectomy: A controlled study.
N. Engl. J. Med. 313 (20) : 1252 - 1256
- 93.- JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960)
The history experimental and clinical work on vasectomy.
J. Inter. Col. Surg. 33 (4) : 482 - 486
- 94.- JHONSON A.L. ; HOWARDS S.S. (1975)
Citado por FLICKINGER C.J. Et al (1987) " The influence of vasovasos-
tomy on testicular alterations after vasectomy in Lewis rats".
Anat. Rec. 217 : 137 - 145
- 95.- JOSHI K.R. Et al (1972)
Effects of vasectomy on testes.
Int. Surg. 57 (9) : 711 - 713
- 96.- KALER L.W. ; NEAVES W.B. (1978)
Attrition of the human Leydig cell population with advancing age.
Anat. Rec. 192 : 513 - 518
- 97.- KALER L.W. ; NEAVES W. (1981)
The steroidogenic capacity of aging rat testis.
J. Gerontol. 36 (4) : 398 - 404
- 98.- KAPUR P. Et al (1985)
Vasectomy induced changes in the serum and tissues of rabbit.
Ann. Biol. 1 (2) : 201 - 208

99.- KEEL B. ; ABNEY T. (1982)

Effects of estradiol administration in vivo on testosterone production in 2 populations of rat Leydig cells.

Biochem. Biophys. Res. Commun. 107 (4): 1340 - 1348

100.- KENNETH W. (1953)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons. 33 (4) : 482 - 486

101.- KERR J.B. ; ROBERTSON D.M. ; KRETZER D.M. (1985)

Morphological and functional characterization of interstitial cells from mouse testes fractionated on percoll density gradients.

Endocrino. 116 (3) : 1030 - 1043

102.- KHOTARI L.K. Et al (1972)

Total Leydig cell volume and its estimation in dogs and in models of testis.

Anat. Rec. 174 : 259 - 264

103.- KHOTARI L.K. ; MISHRA P. (1972)

Vasectomy and endocrine function of the testis.

Lancet. 19 : 438

104.- KHOTARI L.K.; MISHRA P. ; MISHRA R. (1973)

Effect of bilateral vasectomy on the structure and function of the testes.

Am. J. Surg. 126 : 84 - 88

105.- KHOTARI L.K. ; MISHRA P. (1973)

Histochemical changes in the testis and epididymis after vasectomy.

Int. J. Fert. 18 : 119 - 125

106.- KINSON G.A. Et al (1975)

Long - term endocrine responses to vasectomy in the adult rat.

Contraception. 11 (2) : 143 - 150

- 107.- KOSCO M.S. ; LOSTH K.J. ; CRABO B.G. (1989)
Development of the testicular interstitium after neonatal hemicastration in the boar.
J.Reprod. Fert. 87 (1) : 13 - 21
- 108.- KUNTS Z. (1921)
Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".
J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486
- 109.- KWART A. ; COFFEY D.S. (1973)
Sperm granulomas : An adverse effect of vasectomy.
J. Urol. 110 : 416 - 422
- 110.- LACETA J. ; BARRUTIA M. ; FERNANDEZ J. (1982)
Seasonal ultrastructural changes of Leydig cells in Lacerta Muralis.
Acta. Zool. (Stockh) 63 (1) : 33 - 38
- 111.- LAGUENS R. ; GOMEZ D.C. (1968)
Microscopia electrónica humana. Atlas
Ed. Inter - Médica. Argentina. 180 pags.
- 112.- LEESON R.C. (1963)
Observations on the fine structure of rat interstitial tissue.
Acta. Anat. 52 : 34 - 38
- 113.- LEFEBVRE F. Et al (1980)
Specific binding of a potent luteinizing hormone releasing hormone agonist in rat testis.
Mol. Cell. Endocr. 20 (2) : 127 - 134
- 114.- LENZI A.G. ; VALENSINI G. ; DONDERO F. (1985)
Vasectomy : study of circulating immune complexes and its correlation whit antisperm immunity in man,with a 12 month follow - up study.
Androl. 17 (2) :158 - 165

- 115.- LEON M.D. Et al (1990)
Developmental changes in testicular interstitial cell populations,LH receptor and
in the response to HCG in the rat.
Int. J. Androl. 13 (2) : 110 - 122
- 116.- LEYDIG F.V. (1918)
"Dictionary of Scientific Biography "
Ed.©,1973,American Council of Leonard Societes.
- 117.- LOPEZ A. ; CASTIÑEIRAS J. ; VILCHES J. (1988)
Vasectomía y vasovasostomía. I cambios Histológicos testiculares.
Actas. Urol. Esp. XII (4) : 381 - 388
- 118.- LUMLEY J.S. ; CRAVEN J.L. ; AITKEN J.T. (1985)
Anatomía Esencial. Aplicaciones Clínicas
3ª ed,Ed Salvat.
- 119.- LLARENA R. (1988)
La vasectomía.
Gaceta Med. Bilbao. 85 (1 - 2) : 23 - 29
- 120.- MAILLET M. (1975)
Fundamentos de Citología Animal
1ª ed, Madrid. Ed. Alhambra,314 pags.
- 121.- MARINA S. ; VASQUEZ L. (1981)
Vasectomía: Indicaciones,técnica y resultados.
Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1) 6 - 13
- 122.- MARTIN Y. (1988)
Aportaciones morfológicas al conocimiento de las células intersticiales del
testículo de la rata albina tras estimulación adenohipofisaria.Tesis Licenciatura.
Valencia.

123.- MARTOJA R. ; MARTOJA M. (1970)

Técnicas de Histología animal

1ª ed, Barcelona.Ed. Toray - Masson.350 pags.

124.- MASSEY F.J. Et al (1984)

Vasectomy and health: results from a large cohort study.

J. Am. Med. Assoc. 252 (8) : 1023 - 1029

125.- MASSON G. (1945)

Spermatogenic activity of various steroids.

Ann. J. Med. Sci. 209 : 324 - 327

126.- MATHEW K.V. (1947)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

127.- MAYOR J. Et al (1987)

Vasectomía: Experiencia en nuestra provincia.

Actas. Urol. Esp. XI (5) : 481 - 484

128.- Mc DONALD S.W. ; SCOTHORNE R.J. (1988)

A quantitative study of the effects of vasectomy on spermatogenesis in rats.

J. Anat. 159 : 219 - 225

129.- Mc GLYNN J.M. : ERPINO M.J. (1974)

Effects of vasectomy on the reproductive system and sexual behaviour of rats.

J. Reprod. Fert. 40 : 241 - 247

130.- Mc MANUS J.F. ; MOWDRY R.W. (1968)

Técnica Histológica

3ª ed, Madrid, Ed ATIKA S.A. . 612 pags.

131.- MEHROTA R. Et al (1983)

Ultrastructural appearances of interstitial tissue in vasectomized individuals.

Indian. J. Med. Res. 77 : 347 - 352

132.- MIDDLETON R.G. Et al (1987)

A 15 year follow - up of a microsurgical technique for vasovasostomy.

J. Urol. 137 (5) : 886 - 887

133- MILLER R.J. ; KILLIAN G.J. ; VALISENKO P. (1984)

Effects of long term and short term vasectomy on structural and functional parameters of the rat.

J. Androl. 5 (5) : 381 - 388

134.- MORENO A.R. ; SCHVARTZMAN B. (1978)

Principios de Biología Celular

Ed. El Ateneo. 216 pags.

135.- MORI H. ; CHRISTENSEN A.K. (1980)

Morphometric analysis of Leydig cells in the normal rat testis.

J.Cel. Biol. 84 : 340 - 354

136.- MORI H. Et al (1982)

Morphometric analysis of testicular Leydig cells in normal adult mice.

Anat. Rec. 204 : 333 - 339

137.- MORRIS M. ; CHAIKOFF I. (1959)

The origin of cholesterol in liver, small intestine, adrenal gland, and testis the rat: Dietary versus endogenous contributions.

J. Biol. Chem. 234 : 1095

138.- MORSON C. (1933)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

- 139.- NAGAYAMA Y. (1977)
Direct feedback inhibition by endogenous testosterone on the pituitary in man.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45 (2) : 215 - 220
- 140.- NAIK V.K. Et al (1976)
The effect of vasectomy on pituitary - gonadal function in men.
J.Reprod. Fert. 48 : 441 - 442
- 141.- NANKIN H. Et al (1980)
Testosterone and 17 Hidroxiprogesterone responses in men to 3 bour luteinizing hormone infusions.
Acta. Endocrinol. 95 (1) : 110 - 116
- 142.- NANKIN H. Et al (1980)
Morning and evening human Leydig cell responses to human chorionic gonadotropin.
Acta. Endocrinol. 95 (4) : 560 - 565
- 143.- NEAVES W.B. (1974)
The rat testis after vasectomy.
J. Reprod. Fert. 40 39 - 44
- 144.- NETTER H.F. (1983)
Sistema Endocrino y Enfermedades Metabólicas
Colección Ciba de Ilustraciones Médicas IV. Ed Salvat,285 pgs.
- 145.- NIEMI M. ; SHARPE R.M. ; BROWN W.R.A. (1986)
Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis.
Cell. Tiss. Res. 243 : 337 - 344
- 146.- NIEMI M. ; IKONEN M (1963)
Citado por NIEMI M. ; SHARPE R.M. ; BROWN W.R.A. (1986)
"Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis "
Cell. Tis. Res 243 : 337 - 344

147.- NIKKANEN V. ; LEHTONEN A. (1989)

The effect of vasectomy on serum lipids.

Androl. 21 (2) : 174 - 177

148.- NILSON G. (1980)

Male reproductive cycle of the European adder, *Vípera berus*, and its relation to annual activity periods.

Copeia (4) : 729 - 737

149.- NISTAL M. ; PANIAGUA R. ; ABURREA M.A. (1981)

Multivacuolated Leydig cells in human adult cryptorchid testes.

Androl. 13 (5) : 436 - 439

150.- NISTAL M. Et al (1986)

A quantitative morphologic study of human Leydig cells from birth to adulthood.

Cell. Tiss. Res. 246 : 229 - 236

151.- NUÑEZ J. Et al (1985)

Efectos de la vasectomía en el testículo de rata: Estudio ultraestructural.

Actas. Urol. Esp. IX (3) : 237 - 276

152.- NUÑEZ J. Et al (1986)

Efectos de la vasectomía sobre la estructura del testículo de la rata.

Actas. Urol. Esp. X (1) : 55 - 60

153.- O'CONNOR V.J. (1948)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

154.- OHATA M. (1979)

Electron microscopic study on the testicular interstitial cells in the mouse.

Arch. Histol. JPN 42 (1) : 51 - 80

155.- ORR D. ; MOORE B. (1989)

Vasectomy as a contraceptive method.

J. Med. J. 82 (1) : 19 - 20

156.- ORTIZ U. G. (1979)

Citología

Ed. Médica y técnica S.A. , Barcelona, 467 pags.

157.- OSCHNER A.J. (1899)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

158.- OSLUND R. (1924)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

159.- PANIAGUA R. Et al (1986)

Ultrastructure of Leydig cells in ageing testes.

J. Anat. 146 : 173 - 183

160.- PARRISH R.F. Et al (1987)

Vasectomy and vasovasostomy have no effect on seminal plasma zinc concentrations.

J. Urol. 137 (2) : 228 - 229

161.- PATNI M.K. ; KHOTARI L.K. (1984)

Structural organization within the epididymis and its functional implications.

Indian. J. Physiol. Pharm. 28 (4) : 268 - 274

162.- PAYER A.F. ; PARNENING F.A. (1983)

2 Types of paracrystalline inclusions in the Leydig cell of the Chinese hamster.

J. Ultrastruc. Res. 83 (2) : 161 - 167

163.- PERERA O. (1978)

Changes in the structure and function of the testes and epididymis in vasectomized rams.

Fert. Steril. 29 : 354 - 359

164.- PERRIN E. Et al (1984)

Long - term effect of vasectomy on coronary heart disease.

Am. J. Public. Health 74 (2) : 128 - 132

165.- PHADKE L. (1953)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

166- PHADKE L. (1958)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

167.- PHADKE L. (1975)

Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. ((1981) " Vasectomía: Indicaciones Técnica y resultados " .

Clin. Invest.Gin. Obst. 9 (1); 22 - 31

168.- PLAUT S.M. (1973)

Testicular Morphology in rat vasectomized as adults.

Science. 181 : 554 - 555

169.- PRINCE F.P. (1984)

Ultrastructure of immature Leydig cells in the human prepuberal testis.

Anat. Rec. 209 : 165 - 176

170.- PURVIS K. Et al (1976)

Endocrine effects of vasectomy.

Clin. Endocr. 5 : 263 - 272

171.- REITER R. (1973)

Pineal control of seasonal reproductive rhythm in male golden hamsters exposed to natural day light and temperature.

Endocrin.92: 423 - 430

172.- REITER R. (1975)

The pineal gland and seasonal reproductive adjustments.

Int. J. Brometeor. 19 : 282 - 288

173.- ROLAND J.C. ; SZÖLLÖSI A. (1976)

Atlas de Biología celular

1ª ed, Barcelona. Ed Toray - masson ,120 pags.

174.- ROBBINS L.S 1990

Patología Estructural y Funcional

4ª ed. I - II . Ed. Interamericana

175.- REYNOLDS E. (1963)

The use of lead citrated high pH as an electron opaque stain in electron microscopic.

J. Cell. 17 : 208 - 212

176.- SACKLER A.M. Et al (1973)

Gonadal effects of vasectomy and vasoligation.

Science 179 : 293 - 295

177.- SAHAHANI S.K. (1983)

Long -term effects of vasectomy : 2 Immunological parameters

Contracept. 28 (6):527 - 542

178.- SAND K. (1921)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy "

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

179.- SCHMIDT S.S. ; BRUSCHKE E.E. (1976)

Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. ((1981) " Vasectomía: Indicaciones técnica y resultados " .

Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1) ; 22 - 31

180.-SCHMIDT (1975)

Citado por LLARENA R. (1988) " La vasectomía".

Gaceta. Med. Bilbao. 85 (1 - 2) : 23 - 29

181.- SHARP H.C. (1937)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

182.- SHARPE R. ; FRASER H (1980)

Inhibition natural changes in Leydig cell function by treatment of rat with an agonist of luteinizing hormone releasing hormone.

J. Reprod. Fert. 60 (2) : 359 - 368

183.- SHATTOCH. ; SELIGMAN (1904)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

184.- SHIKARY Z. Et al (1984)

Long - term effects of vasectomy : 1 biochemical parameters.

Contracept. 28 (5) : 423 - 436

185.- SHULMAN S. Et al (1972)

Citado por MARINA S. ; VASQUEZ L. (1981) " Vasectomía : Indicaciones técnica y resultados " .

Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1) ; 22 - 31

186.- SILBER S.J. (1977)

Sperm granuloma and reversibility of vasectomy.

Lancet. 17 : 588 - 589

187.- SIMMONDS J. (1921)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy " .

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

188- SIMPSON M. ; LI. C. ; EVANS H (1951)

Synergism between pituitary follicle stimulating hormone (FSH) and human chorionic gonadotrophin (HCG).

Endocrinol. 48 : 370 - 383

189- SMITH G. (1962)

The effects of ligation of the vas efferentia and vasectomy on testicular in the adult rat.

J. Endo. 23 : 385 - 399

190.- SODERSTROM (1986)

Leydig cell hyperplasia.

Arch. Androl. 17 (1) : 57 - 66

191.- STEINACH E. (1910 - 1920)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy " .

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

192- SUN J. (1982)

The fine structure of testicular Leydig cells in the yellow bellied country rat (rattus losea).

Proc. Natl. Sci. Counc. Rep. China. Part. B. Basic. Sci 6 (3) : 378 - 387

193.- SURABOTE A. (1989)

An analysis of 870 bilateral vasectomies.

J. Med. Assoc. Thai. 72 (4) :230 - 233

194.- SURINA M. (1980)

Dynamics of development of the interstitial tissue and seminiferous tubules in the testis of human fetuses.

Probl. Endokrinol. 26 (2) : 41 - 45

195.- TEDDE G. ; TEDDE P.A. (1986)

Ultrastructural study of the human testis innervation.

Ita. Bull. Assoc. Anat. 68 (200) : 77 - 86

196.- TEMMERMAN M. Et al (1986)

Evaluation of one - hundred open - ended vasectomies.

Contracept. 33 (6) : 529 - 532

197.- TIEDJE P. (1921)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy " .

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

198.- TILAK C.H. (1963)

Citado por ARANGO O. Et al (1988) " Vasectomía por incisión única escrotal. Revisión de 500 casos. Nota técnica.

Actas. Urol. Esp. XII (50) : 430 - 431

199.- TONUTTI E. Et al (1960)

Die männliche Keimdrüse. 127 Stuttgart : Thieme

200.- TUMBO-OERI A.G. (1985)

Cell - mediated immunity to spermatozoal antigens after vasectomy: Recent developments.

East. Afr. Med. J. 62 (6) : 372 - 378

201.- TWYMAN E.J. ; NELSON C.S. (1938)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy " .

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

- 202.- UREÑA F.; MALAVASI J. (1980)
Estudio ultraestructural en testículo de Hamster vasectomizado.
Rev. Biol. Trop. 28 (1) : 41 - 59
- 203.- URRY R.L. Et al (1990)
A fifteen - year study of alterations in semen quality occurring after vasectomy reversal.
Fert. Steril. 53 (2) : 341 - 345
- 204.- VARE A.M. (1973)
Changes in the canine testes after bilateral vasectomy an experimental study.
Fert. Steril. 24 : 793 - 797
- 205.- VILAR O. ; PONZIO R.O. ; HIB J. (1982)
Citado por NIEMI M. ; SHARPE R.M. ; BROWN W.R.A. (1986)
"Macrophages in the interstitial tissue of the rat testis "
Cell. Tis. Res 243 : 337 - 344
- 206.- VILLAPLANA L. (1984)
Aportaciones al Estudio de la Morfología Anterohipofisaria tras su Estimulación con Laser de Baja Potencia de He - Ne (632'8 nm, 5 mw) y su Repercusión sobre las Células Intersticiales del Testículo en la Rata Albina Macho. Tesis Doctoral Valencia
- 207.- WHEELON C.H. (1921)
Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy ".
J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486
- 208.- WILLIAMS R.G. (195)
Citado por CRABO B. (1963) " Fine structure of the interstitial cells of the rabbit testes".
Z. Zellfosch. 61 : 587 - 604

209.- WILLIAMS P.L. ; WARWICK R. (1985)

Gray Anatomía

3 º ed, Tomo 1 y 2, Barceona. Ed, Salvat, 1672 pags.

210.- WING T. ; LIN H (1977)

The fine structure of interstitial cells in the adult Golden Hamster with special reference to seasonal changes..

Cell. Tiss. Res. 183 :385 - 393

211.- WOODS M. ; SIMPSON M. (1961)

Pituitary control of the testis of the hypophysectomized rat.

Endocrinol. 69 : 91 - 125

212.- WORTMAN J.S. Et al (1974)

Citado por MARINA S.; VASQUEZ L. ((1981) " Vasectomía: Indicaciones técnica y resultados " .

Clin. Invest. Gin. Obst. 9 (1); 22 - 31

213.- WRIGHT S. (1952)

Citado por JHAVER P.S. ; OHRI B.B. (1960) " The history of experimental and clinical work on vasectomy " .

J. Internat. Coll. Surgeons 33 (4) : 482 - 486

214.- ZIRKIN B.R. ; EWING L.L. (1987)

Leydig cell differentiation during maturation of the rat testis: A stereological study of cell number and ultrastructure.

Anat. Rec. 219 : 157 - 163