

Estudios morfométricos del conducto epididimario en la zona-F tras corte del mesotestis apical

C. Blázquez, C. Soler* y A. Núñez

Departamento de Biología Animal
(Sección Fisiología)
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Valencia
46100 Burjassot (España)

(Recibido el 21 de diciembre de 1987)

C. BLAZQUEZ, C. SOLER and A. NUÑEZ. *Morphometric Studies of the F-Zone Epididymal Duct After Cutting Apical Mesotestis*. Rev. esp. Fisiol., 44, (4), 423-428, 1988.

The alterations of the epididymal F-zone caused by apical mesotestis bilateral cutting after scrotal exposition were studied in adult albino rats. The epididymis were removed at 2, 4, 7, 14, 21 and 28 days after surgery. With a semi-automatic program, from a IBAS 2000 image analyzer, areas, perimeters and maximum and minimum diameters were measured from both the tubular and the lumen sections of the caput epididymal F-zone. The animals with cutting of the apical mesotestis showed a significative increase with respect to controls for all the considered variables, indicating a tubular dilatation as a consequence of the surgical intervention. The mast cells present in the connective tissue of the F-zone of the control animals presented a typical fluorescent colour with Acridine Orange, while this was not observed in the animals with cutting of the apical mesotestis.

Key words: Mesotestis, Epididymis, Image analyzer, Acridine Orange, Mast cells, Morphometry.

Los segmentos I y II de la cabeza del epidídimo de roedores (2, 10, 14) tienen la capacidad de incorporar en sus células epiteliales el fluorocromo Rodamina 6G0 a los 10 min, tras su aplicación subcutánea, a los que se ha denominado como zona-F (12, 13).

El mantenimiento funcional y anatómico de la zona-F presenta una clara dependencia del aporte androgénico, que le llega por dos vías, una por el torrente circulatorio y otra por el fluido testicular que

proviene de la *rete testis* (6, 7, 9, 16). Por ello, la ligadura de los conductos eferentes de la *rete testis* previene la llegada de andrógenos por esa vía, lo que conduce a la regresión del epitelio en los segmentos iniciales de la cabeza del epidídimo (1, 15). Su función se relaciona fundamentalmente con la maduración de los espermatozoides, que han adquirido la capacidad fecundante al pasar por ella (8, 17).

En la zona-F se observa la presencia de células cebadas, ausentes en el resto del epidídimo (12), las cuales parecen estar relacionadas funcionalmente con la población de esas células en el mesotestis, ya

* A quien debe dirigirse la correspondencia.

que tras la ablación quirúrgica de la zona-F la población correspondiente al mesotestis presenta una considerable disminución (4, 5).

El propósito del presente trabajo es la evaluación morfométrica de las modificaciones en el conducto epididimario de la zona-F como consecuencia de la supresión del mesotestis apical, y su influencia en el correcto discurrir del fluido testicular hacia el epitelio epididimario, así como la presunta relación funcional entre las poblaciones de células cebadas de la zona-F y el mesotestis.

Material y Métodos

Se han utilizado 52 ratas albinas, Wistar, de 150 días de edad, distribuidas aleatoriamente en grupos de cuatro por jaula, sometidas a fotoperiodo natural, temperatura entre 20 y 25 °C, y alimentadas con una dieta estándar de laboratorio y agua *ad libitum*.

Cuatro animales se sacrificaron al alcanzar los 150 días de edad (controles blanco). A 24 animales se les practicó bilateralmente, bajo anestesia etérea, una incisión en la zona superior de la bolsa escrotal, exteriorizándose el polo apical testículo-epidídimo y seccionando el mesotestis a ese nivel, tras lo cual los órganos se reintegraron en el escroto. Otros 24 animales con operación ficticia sirvieron como controles.

Se extrajeron, bajo anestesia etérea, las cabezas de los epidídimos correspondientes a 4 animales del grupo con mesotestis cortado y 2 del grupo control, a los 2, 4, 7, 14, 21 y 28 días de realizada la intervención. Las piezas se fijaron en formaldehído al 20 % durante 48 h y se incluyeron en parafina. Los cortes se realizaron a 6 μ y se tiñeron con tricrómico de Masson, para microscopia de luz convencional, o con naranja de acridina, a pH 3 en tampón de fosfatos, para el estudio de las

células cebadas por microscopia de fluorescencia. Las observaciones se realizaron con un microscopio Nikon Fluophot, equipado con un sistema de iluminación normal y otro de iluminación por epifluorescencia (filtro de excitación a 420-490 nm).

Los estudios morfométricos de las secciones del túbulo epididimario correspondiente a la zona-F, se realizaron sobre registros fotográficos obtenidos de cortes teñidos con tricrómico de Masson, mediante un programa semiautomático, en un Analizador de Imagen IBAS 2000 de Kontron, se midieron área, perímetro y diámetros máximo y mínimo, tanto de la periferia tubular como de su luz. El enfatizado de la imagen se realizó mediante la función ENHCON (TYPE 4, STGR 9), y la discriminación de forma semiautomática mediante la función DISC2L (LEV1 208 y LEV2 255, para el conjunto tubular; LEV1 0 y LEV2 54, para la luz). Este programa permitía considerar todas las secciones tubulares que no presentaban una gran diferencia entre sus diámetros máximo y mínimo, discriminando así los túbulos cortados transversalmente.

Los datos numéricos obtenidos se procesaron inicialmente mediante el programa CLASS1 del analizador IBAS 2000 y, posteriormente, los valores correspondientes a los grupos control y experimental, para cada variable y tiempo, se compararon mediante el estudio de la «t» de Student utilizando un programa STATWORK, para un ordenador Apple.

Resultados

Los distintos parámetros tubulares indicaron la presencia de una considerable dilatación tubular en los animales con mesotestis apical cortado, respecto de los controles, puesto que en todos los periodos los valores de estos últimos fueron inferiores.

Estas diferencias resultaron significati-

Tabla I. Efectos del corte del mesotestis apical (MC) sobre las variables morfométricas tubulares consideradas. Area en μ^2 , perímetro y diámetros máximo (Dmax) y mínimo (Dmin) en μ . Los valores se expresan como media \pm SD. nC número de túbulos considerados en el grupo control dentro de cada periodo; nMC, ídem respecto al grupo de animales con mesotestis cortado. A los 0 días sólo se consideró un grupo de animales, correspondiendo sus valores tanto al grupo control como al de mesotestis cortado.

Días	nC	nMC	Area tubular		Perímetro tubular		Dmax tubular		Dmin tubular	
			Control ^a	MC ^b	Control	MC	Control ^a	MC ^b	Control	MC
0	61	—	1.068 \pm 192	—	137,3 \pm 15,4	—	45,22 \pm 5,30	—	32,30 \pm 3,50	—
2	47	69	1.049 \pm 234 ⁺⁺⁺	1.524 \pm 380 ^{***}	139,1 \pm 20,6 ⁺⁺⁺	173,1 \pm 29,9	47,67 \pm 8,82 ⁺⁺⁺	58,07 \pm 11,7 ^{***}	30,30 \pm 4,12 ⁺⁺⁺	37,74 \pm 5,02
4	49	66	1.062 \pm 194 ⁺⁺⁺	1.280 \pm 275 ^{***}	138,1 \pm 15,0 ⁺⁺	159,2 \pm 45,4 ^{***}	45,89 \pm 7,54 ⁺⁺⁺	51,93 \pm 10,75 ^{**}	31,63 \pm 3,41	35,22 \pm 5,09 ^{***}
7	95	109	1.085 \pm 197 ⁺⁺⁺	1.438 \pm 310 ^{**}	137,7 \pm 15,9 ⁺⁺⁺	160,8 \pm 31,0*	47,11 \pm 7,40 ⁺⁺⁺	54,08 \pm 9,29	31,44 \pm 3,54	36,83 \pm 4,84
14	84	102	1.106 \pm 238 ⁺⁺⁺	1.428 \pm 327	141,1 \pm 16,8 ⁺⁺⁺	157,4 \pm 23,1	45,32 \pm 6,12 ⁺⁺⁺	53,39 \pm 10,58	33,44 \pm 3,61	36,02 \pm 4,29
21	96	85	1.064 \pm 208 ⁺⁺⁺	1.302 \pm 280 ^{**}	135,7 \pm 15,7 ⁺⁺⁺	154,5 \pm 22,0	44,61 \pm 5,94 ⁺⁺⁺	51,54 \pm 8,50	32,12 \pm 2,96 ⁺⁺	34,27 \pm 3,92 ^{**}
28	58	77	995 \pm 243 ⁺⁺⁺	1.385 \pm 235*	131,5 \pm 20,5 ⁺⁺⁺	156,8 \pm 15,4	45,28 \pm 8,69 ⁺⁺⁺	51,65 \pm 6,13	29,69 \pm 3,16 ⁺⁺	36,23 \pm 3,82 ^{**}

*Valores de significación entre los grupos control y con mesotestis cortado dentro del mismo periodo. * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 (t de Student).

^bValores de significación entre dos periodos consecutivos dentro del grupo con mesotestis cortado. * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 (t de Student).

Tabla II. Efectos del corte del mesotestis apical (MC) sobre las variables morfométricas luminales consideradas. Area en μ^2 , perímetro y diámetros máximo (Dmax) y mínimo (Dmin) en μ . Los símbolos utilizados son iguales a los de la Tabla I.

Días	nC	nMC	Area luminal		Perímetro luminal		Dmax luminal		Dmin luminal	
			Control ^a	MC ^b	Control	MC	Control ^a	MC ^b	Control	MC
0	61	—	519 \pm 148	—	95,1 \pm 14,2	—	32,85 \pm 5,51	—	21,56 \pm 3,40	—
2	47	69	377 \pm 126 ⁺⁺⁺	966 \pm 313 ^{***}	84,1 \pm 14,2 ⁺⁺⁺	152,5 \pm 35,6	29,74 \pm 6,50 ⁺⁺⁺	48,40 \pm 10,83 ^{***}	17,76 \pm 3,67 ⁺⁺⁺	28,81 \pm 5,36 ^{***}
4	49	66	383 \pm 137 ⁺⁺⁺	727 \pm 236 ^{***}	82,4 \pm 15,0 ⁺⁺	113,8 \pm 22,9 ^{***}	28,88 \pm 6,58 ⁺⁺⁺	38,87 \pm 8,29 ^{***}	18,25 \pm 4,51 ⁺⁺⁺	25,19 \pm 4,33 ^{**}
7	95	109	448 \pm 167 ⁺⁺⁺	723 \pm 255	88,1 \pm 17,4 ⁺⁺⁺	114,4 \pm 23,6 ^{***}	31,37 \pm 7,13 ⁺⁺⁺	39,54 \pm 8,63	19,20 \pm 4,36 ⁺⁺⁺	24,98 \pm 4,99
14	84	102	408 \pm 126 ⁺⁺⁺	747 \pm 250	83,8 \pm 12,9 ⁺⁺⁺	115,6 \pm 23,6	28,51 \pm 4,43 ⁺⁺⁺	40,32 \pm 10,29	19,37 \pm 3,42 ⁺⁺⁺	25,33 \pm 4,11
21	96	85	472 \pm 129 ⁺⁺⁺	634 \pm 228 ^{**}	90,2 \pm 12,5 ⁺⁺⁺	106,4 \pm 20,7*	30,86 \pm 4,82 ⁺⁺⁺	37,36 \pm 8,78*	20,92 \pm 3,52 ⁺⁺⁺	22,95 \pm 4,48 ^{***}
28	58	77	446 \pm 157 ⁺⁺⁺	747 \pm 196 ^{***}	89,7 \pm 17,8 ⁺⁺⁺	113,1 \pm 16,1*	32,51 \pm 9,03 ⁺⁺⁺	39,22 \pm 6,73	19,33 \pm 3,21 ⁺⁺⁺	25,78 \pm 4,00 ^{***}

vas en todos los periodos considerados en el caso del área, el perímetro y el diámetro máximo, mientras que el diámetro mínimo, aún presentando valores superiores a los controles, no mostró diferencias significativas los días 4 y 7. Por su parte, en estos dos periodos, se observó, para este último parámetro, dentro del grupo control, la aparición de oscilaciones no observadas en los restantes parámetros (tabla I). Dentro del grupo con mesotestis cortado, el incremento observado en todos los parámetros, tubulares y luminales, fue significativamente más acusado a los dos días, para mostrar, en los días posteriores, oscilaciones que siempre estuvieron por debajo de las observadas en ese periodo (tabla I).

Respecto a los parámetros luminales, se puso de manifiesto que la dilatación tubular no consistió en un incremento del epitelio puesto que la luz tubular también fue mayor en los animales con mesotestis apical cortado que en los controles. Las diferencias entre los dos grupos fueron significativas en todos los periodos y parámetros (tabla II). En el grupo control las variaciones observadas fueron mayores que en el caso de las variables tubulares.

En los animales controles, tras tinción con naranja de acridina, las células cebadas del tejido conjuntivo de la zona-F mostraron su citoplasma teñido de color rojo-teja, mientras que el núcleo presentó coloración amarillenta. La morfología celular es elíptica siendo frecuente observar a las células cebadas en proceso de desgranulación.

En los animales con mesotestis apical cortado no se observaron células cebadas con la tinción empleada.

Discusión

En nuestro diseño experimental las intervenciones se realizaron por vía exovaginal con el fin de evitar la posible permanencia de testículos y epidídimos en la

cavidad abdominal, lo que sucede con cierta frecuencia tras una intervención por vía endovaginal, tras incisión abdominal. Además, se comprobó que con la intervención realizada no se produjeron lesiones vasculares secundarias, puesto que la vascularización de testículos y epidídimos mostró un aspecto histológico normal.

Los resultados aquí presentados muestran la existencia de diferencias altamente significativas entre los grupos control y con mesotestis cortado para todos los periodos considerados. La distensión de los túbulos epididimarios de la zona-F, provocada por el corte del mesotestis, podría ser consecuencia de la separación de la cabeza del epidídimo del polo apical del testículo, lo que conduciría a un aumento del fluido presente en la luz tubular, posiblemente debido a una disminución en la capacidad de absorción por parte de las células principales del epitelio.

Esta distensión tubular no parece estar relacionada con la posible interrupción del fluido testicular como consecuencia del corte del mesotestis apical, ya que el contenido de espermatozoides en la luz tubular fue similar en ambos grupos de animales (control y con corte del mesotestis). Por otra parte, tras el corte o la ligadura de los conductos eferentes se observa una dilatación tubular a nivel de la cabeza del epidídimo durante los dos primeros días tras la intervención, a partir de los cuales aparece una disminución progresiva del diámetro tubular, como consecuencia de que en este caso sí que se previene la llegada, por vía de los conductos eferentes, de la testosterona necesaria para el mantenimiento del epitelio epididimario (3, 11).

Por otra parte, la supresión de la cabeza del epidídimo conduce a una considerable disminución en la población de células cebadas presente en el mesotestis (4, 5). En el presente trabajo, se puso de manifiesto que las células cebadas presentes en la zona-F de la cabeza de los epidídimos correspondientes a los animales control con

operación ficticia presentaron una coloración típica tras tinción con naranja de acridina, mientras que en los animales con corte del mesotestis apical, dichas células cebadas no se pusieron de manifiesto con esta técnica de tinción, lo que podría deberse a ciertos cambios en su composición química o en su estado funcional. Esta hipótesis se encuentra reforzada por el hecho de que, tras tinción con azul de toluidina, se pudo comprobar que la población de células cebadas de la zona-F, no sólo está presente en los animales con corte del mesotestis, sino que incluso parece estar ligeramente aumentada. Por lo tanto, se puede deducir que la carencia del mesotestis introduciría algún tipo de modificación histoquímica en las células cebadas.

Resumen

Se estudia en ratas albinas adultas las modificaciones en la zona-F del epidídimo, como consecuencia de la sección bilateral del mesotestis apical, tras incisión escrotal. Los epidídimos se extraen a los 2, 4, 7, 14, 21 y 28 días después de las intervenciones. En un IBAS 2000 se analizaron morfológicamente, mediante un programa semiautomático, áreas, perímetros y diámetros máximo y mínimo, tanto del conjunto tubular como de su luz en los túbulos correspondientes a la zona-F de la cabeza del epidídimo. Los animales con corte del mesotestis presentaron valores significativamente superiores respecto de los controles en todas las variables consideradas, lo que indica una dilatación tubular como consecuencia de la intervención practicada. Las células cebadas presentes en el tejido conjuntivo de la zona-F de los animales control, presentan una típica coloración fluorescente con el naranja de acridina, lo que

no se observa en los animales con el mesotestis seccionado.

Palabras clave: Mesotestis, Epidídimo, Analizador de imagen, Naranja de acridina, Células cebadas, Morfometría.

Bibliografía

1. Abe, K., Takano, H. e Ito, T.: *J. Reprod. Fertil.*, 64, 69-72, 1982.
2. Abou-Haila, A. y Fain-Maurel, M.A.: *Anat. Rec.*, 209, 197-208, 1984.
3. Baillie, A.H.: *J. Anat.*, 96, 335-354, 1962.
4. Cruz, M.S.: Tesis Doctoral., Fac. C. Biol., Universidad de Valencia, 1985.
5. Cruz, M.S., Soler, C. y Núñez, A.: *II Congreso de la F.E.S.B.E.*, Madrid, 1981, A-398.
6. Einer-Jensen, N.: *J. Reprod. Fertil.*, 37, 145-148, 1974.
7. Free, M.J. y Jaffe, R.A.: *Biol. Reprod.*, 18, 639-642, 1978.
8. Kohane, A.C., González-Echeverría, F.M.C., Piñero, L. y Blaquier, J.A.: *Biol. Reprod.*, 23, 737-742, 1980.
9. Pujol, A., Bayard, F., Louvet, J.P. y Boulard, C.: *Endocrinology*, 98, 111-113, 1976.
10. Reid, B.L. y Cleland, K.W.: *Aust. J. Zool.*, 5, 223-246, 1957.
11. Smith, G.: *J. Endocrinol.*, 23, 385-399, 1962.
12. Soler, C.: Tesis Doctoral, Fac. C. Biol., Universidad de Valencia, 1987.
13. Soler, C., Torregrosa, G., Núñez, J., Núñez, M. y Núñez, A.: *Pharmacia Mediterranea*, 13, 892-897, 1980.
14. Takano, H.: *Acta Anat. Nippon*, 57, 11-20, 1980.
15. Takano, H. Abe, K. e Ito, T.: *Acta Anat. Nippon*, 56, 79-90, 1981.
16. Vreeburg, J.T.M.: *J. Endocrinol.*, 67, 203-210, 1975.
17. Wong, P.Y.D. y Tsang, A.Y.F.: *Biol. Reprod.*, 27, 1.239-1.246, 1982.

