

**MICROSCOPIA
ELECTRÓNICA DE BARRIDO
DEL TESTÍCULO DEL VAMPIRO
(Desmodus rotundus)**

*Elizabeth Peña T., Biol., M.Sc.
Departamento de Morfología
Facultad de Salud
Universidad del Valle*

Resumen

El microscopio electrónico de barrido ofrece grandes ventajas para la investigación ya que permite obtener imágenes tridimensionales de las estructuras. Visualizado con esta herramienta, el testículo del vampiro aparece formado por múltiples túbulos seminíferos rodeados por el tejido intersticial. La pared de los túbulos, densa, gruesa y con aspecto corrugado u ondulado circunscribe al epitelio seminífero formado por las células de Sertoli y las células germinativas. En los cortes transversales de los túbulos seminíferos, la población de estos últimos varía de un túbulo a otro, dependiendo del estadio del ciclo espermatogénico en que se encuentren; aquellos que han culminado el proceso de la espermatogénesis presentan en su luz las colas de los espermatozoides. En el tejido intersticial es posible distinguir los elementos propios de éste, como fibras y células, entre las cuales se encuentran las de Leydig.

Summary

Under the scanning electron microscope, the seminiferous tubules and interstitial tissue of the testis of the vampire bat (*Desmodus rotundus*) can be visualized in a tridimensional image. The interstitial tissue presents the elements proper of the areolar connective tissue, i.e., fibers, essentially collagen,

blood and lymphatic vessels, and cells, among them the interstitial or Leydig cells. The seminiferous tubules present a thick and dense wall, its surface showing a corrugated pattern in which undulated elevations alternate with grooves or channels. The germinal cells accommodate themselves among the long and slender prolongations of the Sertoli cells, some of which show the depressions or foveas where the germinal cells were lodged prior to the tissue preparation. In segments of tubules where the spermatogenesis has been completed, the spermatozoa can be observed close to the tubular lumen, their tails occupying the lumen itself. The sperm clearly shows its head and tail with the neck, middle, principal and end pieces.

Introducción

El microscopio electrónico de barrido es una herramienta que puede resultar muy útil a la investigación ya que permite obtener una imagen tridimensional de las estructuras. Son múltiples los estudios que existen en este campo y de muy variada índole, inclusive con aplicación clínica, como puede constatarse en los trabajos realizados por diversos autores ([1]-[7]).

El presente trabajo tuvo por objetivo estudiar la ultraestructura del testículo del vampiro (*Desmodus rotundus*) a nivel de microscopía electrónica de barrido, como complemento de los trabajos previos realizados a nivel de microscopía de luz [8] y microscopía electrónica de transmisión [9]. Sin embargo, el objetivo primordial fue el de motivar y promover en nuestro medio el empleo de la microscopía electrónica de barrido en los trabajos de investigación.

Material y Métodos

Se emplearon vampiros (*Desmodus rotundus*) machos, adultos, con pesos que oscilaban entre 33 y 38 grs. Bajo anestesia con 1.2 mg, aproximadamente, de pentobarbital sódico (Nembutal, sodium solution, Abbott) administrado por vía intraperitoneal, los animales fueron perfundidos con 100 ml de solución salina seguidos por otros 100 ml de fijador (paraformaldehído al 1.5%, glutaraldehído al 2.0% en buffer fosfato 0.2 M, pH 7.4), a temperatura ambiente [10]. Luego de extraer ambos testículos, éstos se seccionaron en pequeños trozos, se colocaron en el mismo fijador durante 24 hrs a 4°C y se pasaron a buffer fosfato 0.2 M, pH 7.4. Utilizando cuchillas se cortaron trozos de 3 m³, aproximadamente, se deshidrataron en alcoholes de concentraciones crecientes y se colocaron en el secador de punto crítico (Critical

Point Dryer, Hitachi HCP-2) hasta secado completo con CO_2 líquido. Los especímenes secos se montaron en las bases de aluminio y se colocaron en el ionizador (Ión Sputter, Hitachi E-101) para su recubrimiento con oro. Luego se observaron bajo el microscopio electrónico de barrido (Hitachi S 510).

Resultados

Bajo el microscopio electrónico de barrido, el testículo del vampiro aparece constituido por los túbulos seminíferos, rodeados por el tejido intersticial. En la Figura 1, los túbulos aparecen en cortes transversales, longitudinales y tangenciales. El tejido intersticial que rodea a los túbulos seminíferos está constituido por tejido conectivo laxo donde se encuentran fibras, células y vasos sanguíneos y linfáticos (Figura 2).

La pared del túbulo seminífero aparece densa, gruesa y con un aspecto tortuoso, corrugado, ya que presenta formaciones elevadas y onduladas alternando con depresiones a manera de canales o surcos (Figura 3).

Por dentro de la pared tubular, el epitelio seminífero se encuentra conformado por estratos de células germinativas que se acomodan entre ramificaciones de las células de Sertoli. La población de las células germinativas varía de un segmento a otro del túbulo seminífero, dependiendo del estadio del ciclo espermatogénico en que se encuentre.

En la Figura 4, se observa un segmento de túbulo seminífero en un estadio avanzado de la espermatogénesis, con la luz ocupada por las colas de los espermatozoides. En esta situación, las cabezas de los espermatozoides quedan incluidas dentro del epitelio seminífero, (Figura 5), entre las prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli. A mayor aumento (Figura 6) es posible distinguir las diferentes partes que conforman el espermatozoide, a saber, la cabeza y la cola, esta última representada por el cuello, mediante el cual la cabeza se une a la cola, la pieza intermedia, donde se encuentra el collar de mitocondrias, y los segmentos principal y terminal.

En la Figura 7, se puede observar la forma irregular de la célula de Sertoli, que presenta una parte basal o tallo, en contacto con la pared tubular, y prolongaciones citoplasmáticas, algunas muy delgadas o atenuadas, que ascienden hacia la luz del túbulo y rodean a las células germinativas.

En la Figura 8, se observa a mayor aumento el citoplasma de la célula de Sertoli, con una depresión o fovea donde estaba alojada una célula ger-

minativa que durante la preparación del tejido se desprendió.

En la Figura 9, se aprecia un túbulo seminífero desprovisto de células germinativas que se desprendieron del epitelio, por lo que es posible observar una célula de Sertoli con sus prolongaciones citoplasmáticas que le confieren un aspecto ramificado o estrellado.

Discusión

Tal como se describe el testículo en otras especies animales al observarlo con el microscopio electrónico de barrido [11], el del vampiro (*Desmodus rotundus*) está constituido, básicamente, por túbulos seminíferos rodeados por tejido intersticial.

El tejido intersticial del testículo del vampiro consta de tejido conectivo areolar o fibroso laxo. Con la microscopía de barrido se pueden apreciar las fibras, esencialmente colágenas, y las células en un arreglo semejante al del tejido intersticial del testículo del perro [12]. La población celular es la propia de este tipo de tejido conectivo, y presenta, además, las llamadas células intersticiales o de Leydig encargadas de la producción de andrógenos [13].

La pared del túbulo seminífero del vampiro, con el microscopio de barrido, aparece densa y gruesa, con una superficie irregular, corrugada, ya que se alternan elevaciones onduladas con depresiones a manera de surcos o canales. Según se demostró con el microscopio electrónico de transmisión [9], esta pared está conformada de adentro hacia afuera por:

- a) Una membrana basal sobre la cual descansa el epitelio seminífero.
- b) Una capa de tejido conectivo con abundantes fibrillas colágenas, situada por fuera de la membrana basal, que corresponde a la lamelar interna.
- c) Una capa única de células mioides que pueden superponerse en parte de su longitud.
- d) Una capa de tejido conectivo con fibrillas colágenas, menos abundantes que en la lamelar interna, que constituye la lamelar externa.
- e) Una delgada capa de células muy alargadas y atenuadas, semejantes a fibroblastos, que reviste a la lamelar externa.

El epitelio seminífero, a su vez, está conformado por las células de Sertoli y las células germinativas. Con el advenimiento del microscopio electrónico de transmisión se encontró que la célula de Sertoli, que se extiende desde la pared hasta la luz del túbulo seminífero, presenta delgadas prolongaciones o ramificaciones citoplasmáticas, entre las cuales se acomodan en forma estratificada las células germinativas [14]. Con el microscopio electrónico de barrido se pudo detectar en el túbulo seminífero del vampiro las depresiones a manera de foveas que presenta la superficie de la célula de Sertoli donde se alojan las células germinativas, depresiones semejantes a las que se describen en la célula de Sertoli de otras especies [11], y las delgadas prolongaciones citoplasmáticas de esta célula, las cuales circundan a las células germinativas.

Según lo descrito por Leblond y Clermont [15] en la rata y por Clermont [16] en el cobayo, la espermatogénesis se lleva a cabo por ciclos, cada uno compuesto por varios estadios en los cuales se presentan determinadas asociaciones de las células germinativas. Es por esto que la población de las células germinativas de un túbulo seminífero varía de un segmento a otro, dependiendo del estadio de la espermatogénesis en que se encuentre. Con la microscopía de barrido se pudo observar en el vampiro que aquellos segmentos de un túbulo seminífero que se encontraban en un estadio avanzado de la espermatogénesis contenían espermatozoides, con sus cabezas próximas a la luz, rodeadas por las prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli, mientras que sus colas ocupaban la luz del túbulo, propiamente.

Con la microscopía de barrido, la estructura del espermatozoide del vampiro es semejante a la descrita por Kessel y Kardon [11]. Presenta una cabeza ovalada, unida a una cola o flagelo en el cual es posible apreciar la constricción correspondiente al cuello, el abultamiento correspondiente a la pieza intermedia formada por el collar de mitocondrias que se enrolla en forma helicoidal alrededor de los microtúbulos del flagelo, y las piezas principal y terminal.

Agradecimientos

Expreso mis agradecimientos al Doctor Daniel Gómez por su colaboración en la interpretación de las imágenes y a la Señorita Nohra Holguín por su aporte en la preparación de los tejidos.



Figura 1. Túbulos seminíferos (*TS*) del vampiro en cortes longitudinales, transversales y tangenciales.

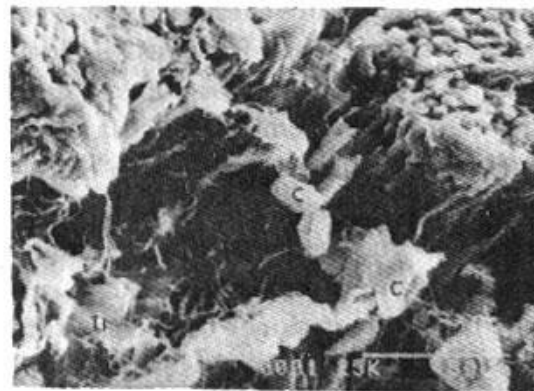


Figura 2. Tejido intersticial (*TI*) del testículo del vampiro. Células (*C*).

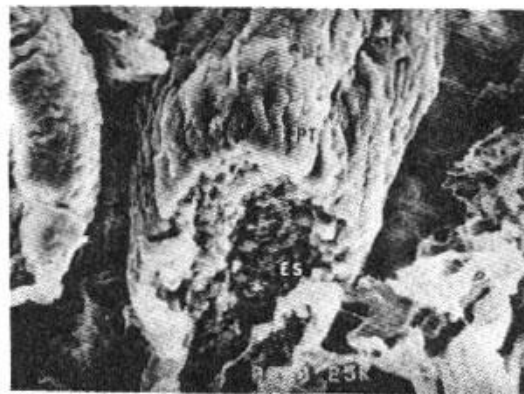


Figura 3. Pared (*PT*) y epitelio (*ES*) del túbulo seminífero del vampiro.



Figura 4. Corte transversal de un túbulo seminífero del vampiro. Se observan las células germinativas del epitelio seminífero (*E*) y en la luz del túbulo, las colas de los espermatozoides (*Es*) que la ocupan enteramente.

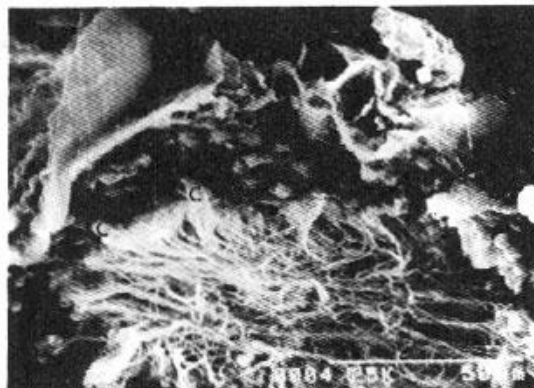


Figura 5. Cabezas (*C*) de los espermatozoides del vampiro incluidas en el epitelio seminífero, en tanto que las colas ocupan la luz del túbulo.

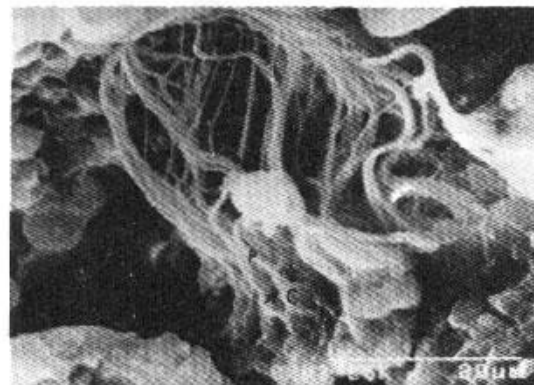


Figura 6. Espermatozoide del vampiro con su cabeza (*C*) y la cola donde se aprecian el cuello (flecha), la pieza intermedia (*V*) y el segmento principal (*P*).



Figura 7. Células de Sertoli (*S*) del vampiro. El citoplasma aparece oscuro en contraste con las células germinativas (*C*).

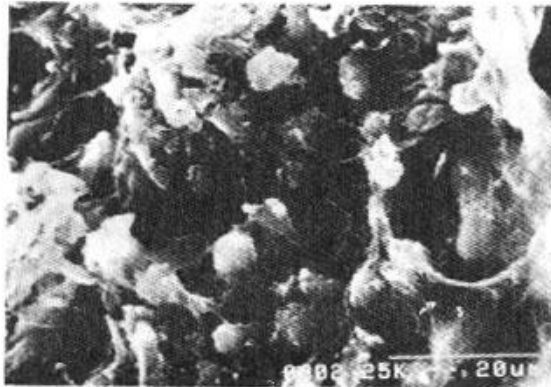


Figura 8. Célula de Sertoli (*S*) del vampiro con una depresión o fovea (flecha) donde debía estar alojada una célula germinativa.



Figura 9. Célula de Sertoli (*S*) del vampiro que permite apreciar su aspecto ramificado por las delgadas prolongaciones citoplasmáticas que posee. En los espacios libres se alojan células germinativas.

Bibliografía

- [1] Kenemans, P. y Hafez, E.S. *Clinical application of scanning electron microscopy in human reproduction*. Scan. Electron Microsc., 92: 215-242, (1984).
- [2] Gaudio, E., Paggiarino, D. y Carpino, F. *Structural and ultrastructural modifications of cryptorchid human testes*. J. Urol., 131: 292-296, (1984).
- [3] Boscolo, P., Sacchettoni-Logroscino, G., Ranelletti, F.O., Gioia, A. y Carmignani, M. *Effects of long-term cadmium exposure on the testis of rabbits*. Toxicol. Lett., 24: 145-149, (1985).
- [4] Yamamoto, M., Miyake, K., Takaba, H., Hashimoto, J. y Sahashi, M. *Overall morphology of basement membrane of rat seminiferous tubule as revealed by scanning electron microscopy*. Urol. Int., 42: 140-142, (1987).
- [5] De, T.K. y Maiti, B.R. *Scanning electron microscopic studies of the seminiferous tubules, Leydig cells and Sertoli cells in soft-shelled turtles*. Z. Mikrosk. Anat. Forsch., 101: 18-22, (1987).
- [6] Yamamoto, M., Hashimoto, J., Takaba, H. y Miyake, K. *Scanning electron microscopic study on the shape of infertile seminiferous tubules: A hypothesis of pathogenesis of idiopathic male infertility*. Int. J. Fertil, 33:265-272, (1988).
- [7] Yazama, F., Nishida, T., Kurohmaru, M. y Hayashi, Y. *A scanning electron microscopy of the interstitial tissue of the boar testis*. Exp. Anim., 39: 117-120, (1990).
- [8] Peña, T.E. y Aragón, S.J. *Barrera hematotesticular del vampiro (Desmodus rotundus)*. Estudio con microscopía de luz. Acta Médica del Valle, 10: 57-63, (1979).
- [9] Peña, T.E. *Ultraestructura del testículo del vampiro (Desmodus rotundus)*. Revista de Ciencias, 5 : 23-38, (1991).
- [10] Karnovsky, M.J. *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy*. J. Cell Biol., 27: 137A, (1965).

- [11] Kessel, R.G. y Kardon, R.H. *Male Reproductive System. En tissues and organs: a text-atlas of scanning electron microscopy*, chap. 15, W.H. Freeman and Company, pp. 259-275, (1979).
- [12] Connel, C.J. *Scanning electron microscope study of the interstitial tissue of the canine testis. Anat. Rec.*, 185: 389-402, (1976).
- [13] Christensen, A.K. *Leydig Cells. En Handbook of Physiology, section 7, endocrinology, male reproduction, chap. 3.* D. Hamilton and R.O. Greep, eds. Amer. Physiol. Soc., Washington D.C., pp.57-94, (1975).
- [14] Burgos, M.H. y Fawcett, D.W. *Studies on the fine structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat. J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 1: 287-300, (1955).
- [15] Leblond, C.P. y Clermont, Y. *Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. Ann. N.Y., Acad. Sci.*, 55: 548-573, (1952).
- [16] Clermont, Y. *Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig. Fert. and Steril*, 11: 563-573, (1960).