

Estudio ultraestructural en testículo de hamster vasectomizado (*Mesocricetus auratus*)

por

Francisco Ureña* y Jollyanna Malavasi*

(Recibido para su publicación el 31 de agosto de 1979)

Abstract: The ultrastructure of adult hamster (*Mesocricetus auratus*) testis was studied by means of light and electron microscopes during fourteen months after bilateral vasectomy. In all the vasectomized animals there was marked degeneration of the seminiferous tubules as well as reduction of spermatogenesis. The thickening of the basal membrane was quite evident and showed extensive infolding. In the Sertoli cells, the presence of spherical or oval membrane-bound granules, vacuoles and degenerating cytoplasmic organelles were observed in the vasectomized group. Degenerative changes of sub-cellular organelles were quite evident in the process of spermatogenesis and spermiogenesis. The number of spermatogonia, spermatocytes, spermatids and mature sperms were considerably reduced; in some cases, almost completely degenerated. Only one type of spermatogonia (Type A) remained intact in the germinal epithelium. Large numbers of multi-nucleate spermatids were observed eight months after vasectomy. These cells were identifiable at all stages of spermatogenesis but were readily detected in cap phase spermatids. There was no evidence of any regeneration occurring in the seminiferous tubules examined eight months after vasectomy.

La vasectomía es un método de esterilización empleado en los programas de control de natalidad (Hackett y Waterhouse, 1973) y su uso ha aumentado en los programas de planificación familiar: Esto ha motivado la investigación en este campo con la finalidad de determinar si la vasectomía causa algún efecto en el testículo como consecuencia del bloqueo al paso de los espermatozoides. La vasectomía tiene un origen muy reciente; la mayoría de los trabajos sobre sus efectos clínicos se han desarrollado en los últimos 20 años, y están basados en la morfología externa, peso, volumen e histología del testículo con microscopía de luz.

En relación con los efectos de la vasectomía a nivel del testículo se ha originado una gran controversia. Para algunos autores el testículo no se altera (Oslund, 1926; MacMillan, 1953; Amann, 1962; Flickinger, 1972; Plaut, 1973; McGlynn y Erpino, 1974; Varma *et al.*, 1975; Chapman *et al.*, 1978). Para otros el tubo seminífero degenera, se hipertrofian las células de Leydig y disminuye la espermatogénesis (Grewel y Sachan, 1968; Kubota, 1969; Alexander, 1972; Kothari

* Unidad de Microscopía Electrónica y Departamento de Fisiología, Universidad de Costa Rica.

y Mishra, 1973; Kothari *et al.*, 1973; Flickinger, 1975, Neaves, 1978).

Hay poca información en relación con la ultraestructura del testículo en animales vasectomizados, ya que la mayoría de los trabajos se han realizado con microscopía de luz y dirigidos principalmente a la espermatogénesis y actividad endocrina del testículo. Así, Grewel y Sachan (1968) encontraron cambios degenerativos en testículos de perros vasectomizados, similares a los descritos por Vare y Bansal (1973) y Kothari *et al.* (1973) con microscopía de luz; estos autores observaron cambios degenerativos en los tubos seminíferos (disminución del epitelio germinativo, de las espermátides y los espermatozoides).

Flickinger (1972) en un estudio de microscopía electrónica en testículos de ratas vasectomizadas, no describe alteraciones, y a la vez concluye que la ultraestructura fina permanece normal después de la vasectomía. Este mismo autor, en un estudio publicado en 1975 reporta una disminución de la espermatogénesis y espermátides multinucleadas en conejos vasectomizados.

Wilson (1954) y Rümke (1959) encontraron un factor en el suero y en el plasma germinal que produce aglutinación de los espermatozoides en hombres oligospermicos. Este fue interpretado como un anticuerpo causado por la presencia de espermatozoides o productos de su degradación que estimulan el sistema retículo endotelial. En 1964, Phadke y Padukone encontraron aglutininas de espermatozoides en hombres con asospermia obstructiva. Más tarde diferentes grupos de trabajo (Shulman *et al.*, 1972; Alexander *et al.*, 1974; Quinlivan *et al.*, 1975; Samuel *et al.*, 1978a, 1978b; Lucas *et al.*, 1978; Alexander *et al.*, 1978) demostraron la existencia de anticuerpos aglutinantes de espermatozoides en humanos y otros animales vasectomizados.

La poca información sobre la alteración en la estructura fina y sobre la función del testículo vasectomizado y el hecho de que la mayoría de los trabajos han sido hechos con microscopía de luz, nos indica que se debe investigar más, antes de recomendarlo como método inocuo para el control de la natalidad.

El objeto de la presente investigación es determinar si la estructura fina de la membrana basal, espermatogonios, espermatoцитos, espermátides y las células de Sertoli, se alteran con la vasectomía. Además se hace una evaluación de la actividad de la meiosis, mediante el recuento de espermatoцитos aislados de los tubos seminíferos. Se estudia comparativamente la ultraestructura del testículo normal y del vasectomizado.

MATERIAL Y METODOS

En este trabajo se usaron 18 hamsters dorados (*Mesocricetus auratus*) postpúberes (3 a 6 meses de edad); 9 fueron vasectomizados bilateralmente y los otros nueve se usaron como control. Los controles eran hermanos de los vasectomizados.

La vasectomía fue hecha mediante una pequeña incisión del escroto. Se aisló el conducto deferente, que fue cortado transversalmente y los extremos libres ligados.

Los testículos de los animales vasectomizados y los de los controles fueron estudiados con microscopía electrónica a los siguiente intervalos: dos animales a los tres meses, los otros a los 5, 8, 10, 11, 12, 13 y 14 meses después de la vasectomía.

Microscopía de luz: Para los estudios cuantitativos de espermatoцитos y células de Sertoli con microscopía de luz se usaron los métodos empleados por

Solari (1964) y Ureña (1971). Fueron aisladas pequeñas piezas de testículos, que se colocaron en una solución isotónica fría. Las células del epitelio germinativo fueron separadas mediante repetidas aspiraciones con una jeringa de un ml sin aguja; la suspensión de células se centrifugó a 1000 revoluciones por minuto por cinco minutos y se fijó durante treinta minutos con etanol-ácido acético (3:1). Se hizo una suspensión de células en fijador fresco y se tomaron algunas gotas que se colocaron en portaobjetos, extendiendo y secando rápidamente las células con aire caliente y teñidas con azul de toluidina y orceína acética.

Microscopía electrónica: Se emplearon pequeñas piezas de testículo fijadas en glutaraldehído al 2,5% en solución amortiguadora de fosfatos 0.1M y pH 7 y en fijador de osmio al 2% en amortiguador de fosfatos. Las piezas fueron incluidas en la resina Spurr (fórmula Tabb) y cortadas en secciones de color plateado con el ultramicrotomo Sorvall MT2 y teñidas con acetato de uranilo y citrato de plomo y examinadas con los microscopios electrónicos Hitachi HU-12A y H-300.

Las secciones de los tubos seminíferos fueron clasificadas en su estadio correspondiente de la espermatogénesis de acuerdo con el método empleado por Leblond y Clermont (1952), Clermont y Perey (1967), Solari (1964), Ureña y Malavasi (1978). En todos los animales los tubos seminíferos fueron observados en diferentes estadios del ciclo del epitelio seminífero.

RESULTADOS

Membrana basal: Paralelo al avance del tiempo de vasectomía la membrana basal se hace más gruesa, como producto de una mayor separación entre las capas de lámina basal, muscular lisa, tejidos conectivos y endotelio de los capilares linfáticos. Además hay un aumento del volumen de los fibroblastos que la componen y producción de proyecciones citoplasmáticas hacia los espacios extratubulares (Figs. 1,2,4,5). Todas estas alteraciones hacen que la membrana basal adquiera un grosor de 2,3 o 4 veces el tamaño normal (Figs. 1,2).

En estados avanzados de vasectomía los núcleos de las células que forman la membrana basal pierden su forma alargada y ovalada y su membrana nuclear lisa se torna irregular con bordes de tipo dentado.

Células de Sertoli: Las células del epitelio germinativo que presentan menos alteraciones ultraestructurales visibles son las de Sertoli, cuya población no disminuye; al contrario parece haber un aumento en su número. En animales con mayor tiempo de vasectomía (8 a 14 meses) se observó un aumento en el tamaño de las células de Sertoli ya que sus citoplasmas han ido invadiendo y llenando los espacios que ocupaban los espermatogonios y los espermatoцитos que han desaparecido de la población del epitelio germinativo, además de que las proyecciones citoplasmáticas se encuentran prácticamente llenando el lumen del tubo. En los animales con más de 12 meses de vasectomía, las únicas células que se observan en la mayoría de las secciones transversales y longitudinales de los tubos seminíferos son células de Sertoli, acompañadas de algunos espermatogonios de tipo A. Conforme avanza la destrucción de una célula, los cuerpos de forma irregular que se forman, quedan libres en los espacios intertubulares. Estos son fagocitados por las células de Sertoli y emigran hacia la membrana basal, de tal manera que la mayoría de estos restos se localizan muy cerca de la membrana basal y en el interior del citoplasma (Figs. 4,5).

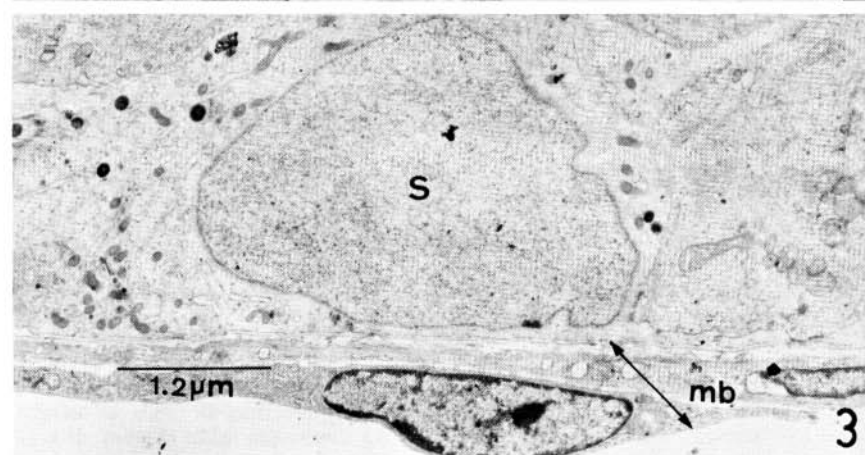
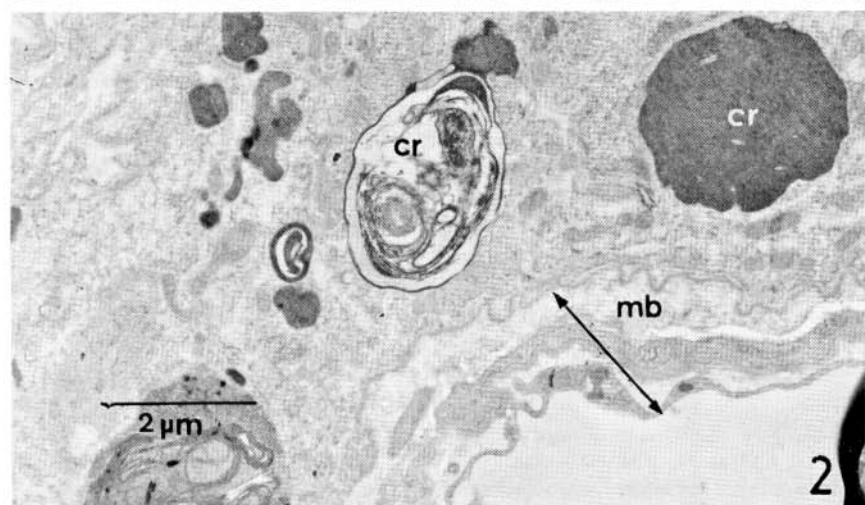
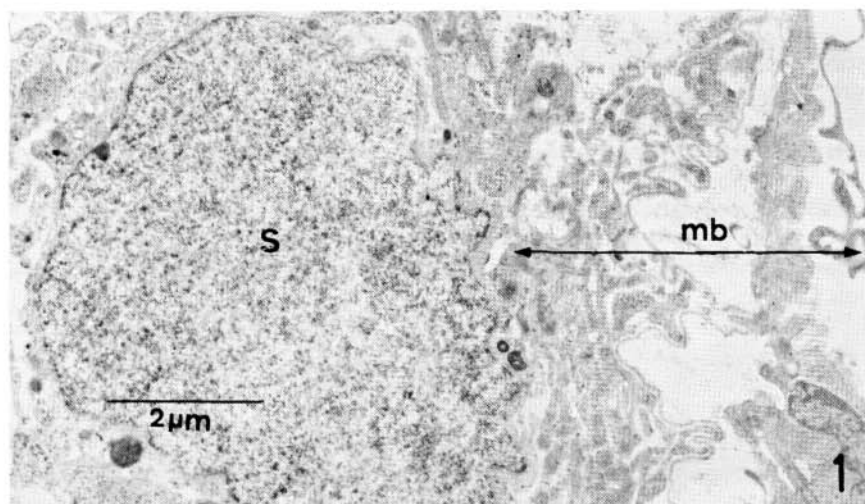
Ultraestructura y número de espermátogonios y espermátocitos: La población de espermátogonios y espermátocitos disminuye conforme avanza el tiempo de vasectomía. Hasta los cinco meses el epitelio germinativo conserva una población de espermátogonios y espermátocitos con una ultraestructura muy similar a la de los animales control. Con más de cinco meses de vasectomía, este tipo de células va disminuyendo considerablemente, a tal punto que en los animales con más de 10 meses de vasectomía prácticamente sólo se observan espermátogonios de tipo A, acompañados de células de Sertoli y de algunos espermátocitos en la profase I de la meiosis (zigotene y paquitene) los que presentan una morfología muy alterada.

Entre los 11 y 14 meses de vasectomía el epitelio germinativo ha quedado reducido a células de Sertoli y espermátogonios de tipo A. Muy pocas células se observaron en secciones transversales y longitudinales de los tubos seminíferos. En recuentos de espermátocitos aislados de los tubos seminíferos, hechos con microscopía de luz, se observó que la población de células en zigotene y paquitene quedó reducida a un 15% a los 10 meses de vasectomía.

En el epitelio germinativo de animales vasectomizados se observa una destrucción de espermátocitos y espermátides, fenómeno que va en aumento conforme avanza el tiempo y llega al máximo entre los 10 y 12 meses. Las células en destrucción sufren alteración a nivel del núcleo y citoplasma: la membrana nuclear se rompe, el ADN se transforma junto con restos de citoplasma en una serie de cuerpos de forma y densidad muy diferentes, que posteriormente se localizan dentro del citoplasma de las células de Sertoli. Durante la destrucción de la célula, el núcleo y el citoplasma se van compactando; esta contracción celular hace que queden espacios libres (huecos) en las células en destrucción (Figs. 6a-f). Las células que más sufren el efecto de la destrucción son las que se encuentran en meiosis o en espermiogénesis.

Espermátides y espermatozoides: Conforme va disminuyendo la población de espermátocitos, disminuyen las de espermátides y espermatozoides. Entre 3 y 5 meses de vasectomía las espermátides continúan la espermiogénesis hasta dar origen a los espermatozoides que presentan la forma alargada y aerodinámica característica, con una distribución del ADN y el acrosoma con apariencia normal. En animales con más de 8 meses de vasectomizados, la población de células en espermiogénesis disminuye considerablemente y se observa una variedad de formas anormales, tanto en espermátides en avanzada espermiogénesis como en espermatozoides (Figs. 7,8). Muchas de las células alteradas tienen su origen en la no separación de las células resultantes en las telefases I y II, lo que origina formas muy complejas al quedar 2, 3 ó 4 núcleos compartiendo membranas y material acrosómico en una variedad de formas muy irregulares (Figs. 7,8).

-
- Fig. 1. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de Hamster con 13 meses de vasectomía. S: núcleo de célula de Sertoli; mb: membrana basal. La línea negra señala el grosor de la membrana basal. 9.000X.
- Fig. 2. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de Hamster con 13 meses de vasectomía. mb: membrana basal; cr: cuerpo residual. La línea negra señala el grosor de la membrana basal. 10.000X.
- Fig. 3. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster normal. S: núcleo de célula de Sertoli; mb: membrana basal. La línea negra señala el grosor de la membrana basal. 6.000X.



En algunos espermatozoides que se observan en avanzado estado de maduración en la luz del tubo, el núcleo y el acrosoma adquieren una forma de gancho muy cerrado, presentando una morfología muy diferente a la de un espermatozoide maduro normal. En animales con más de 11 meses de vasectomía, la población de espermátides en estados avanzados de la espermiogénesis y la de espermatozoides es muy baja, abundando las formas anormales (Figs. 10,12). En recuentos de espermátides y espermatozoides aislados de los tubos seminíferos, hechos con microscopía de luz, se observó que la población disminuye en un 80% entre los 5 y 8 meses de vasectomía; en animales con 12 meses de vasectomía la población quedó reducida a un 5% .

DISCUSION

Nuestros resultados demuestran que la ultraestructura del testículo se altera en hamsters vasectomizados. Se observó una marcada diferencia en la estructura fina del testículo de los animales vasectomizados con respecto a los normales (controles) en la mayoría de los estadios del ciclo del epitelio seminífero.

Membrana basal: En animales con menos de cinco meses de vasectomía, la membrana basal de los tubos seminíferos presenta una ultraestructura aparentemente normal, pues su morfología es muy parecida a la de los animales control. Con un mayor tiempo de vasectomía, las membranas de la mayoría de los tubos presentan una ultraestructura muy diferente a la de los animales control. En los tubos alterados se observa una mayor separación de las capas que la forman, paralelo a un aumento de volumen y cambio de forma de las células de los epitelios que forman parte de la membrana del tubo.

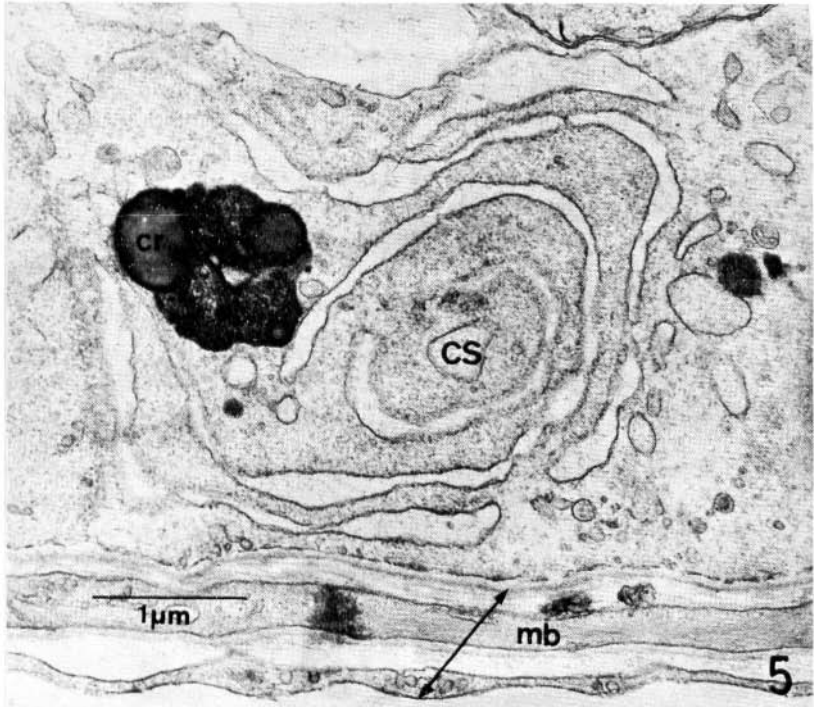
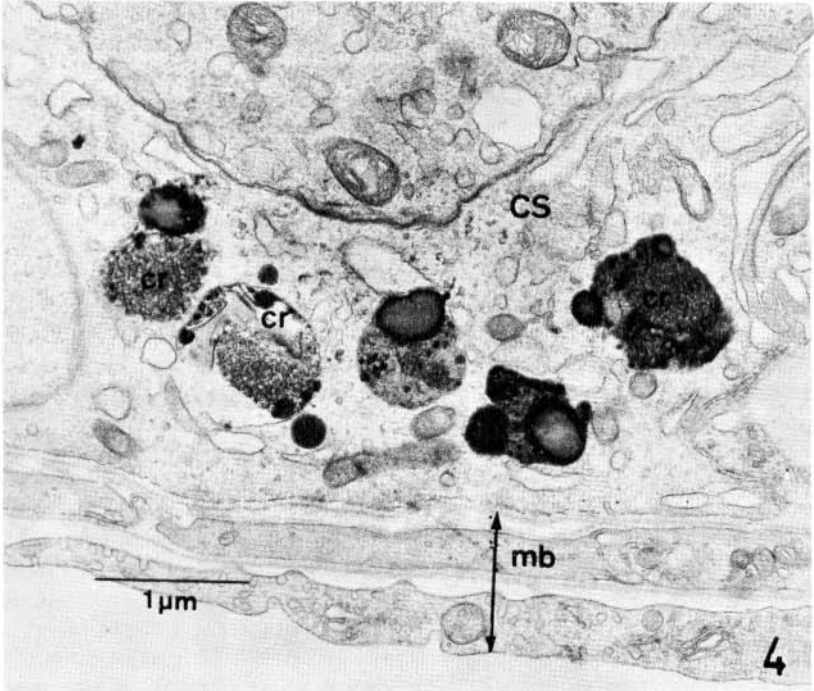
Lo más característico es el aumento en las invaginaciones y proyecciones citoplasmáticas hacia los espacios extratubulares, lo que contribuye al aumento de grosor de la membrana. Estos resultados concuerdan con los reportados por Chapman *et al.* (1978), en un estudio ultraestructural en monos vasectomizados (Figs. 1,2).

La alteración ultraestructural de la membrana basal del tubo seminífero puede explicar los cambios en la barrera tubular reportados por Castro y Seiguer (1974) en cobayos vasectomizados, y Neaves (1978) en ratas vasectomizadas.

Células de Sertoli: Las observaciones con microscopía de luz y electrónica nos demuestran que las células que menos cambios sufren por la vasectomía son las de Sertoli. Aún en los animales con mayor tiempo de vasectomía (8 a 14 meses) en los

Fig. 4. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 5 meses de vasectomía. CS: citoplasma de célula de Sertoli; cr: cuerpo residual; mb: membrana basal. La línea negra señala el grosor de la membrana basal. 18.000X.

Fig. 5. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 5 meses de vasectomía. CS: citoplasma de célula de Sertoli; cr: cuerpo residual; mb: membrana basal. La línea negra señala el grosor de la membrana basal. 23.000X.



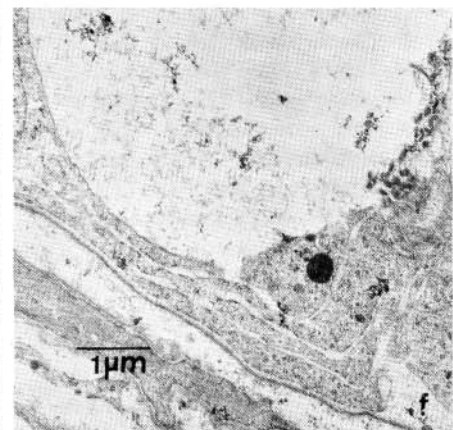
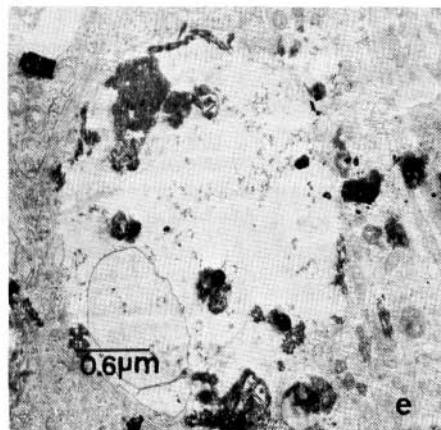
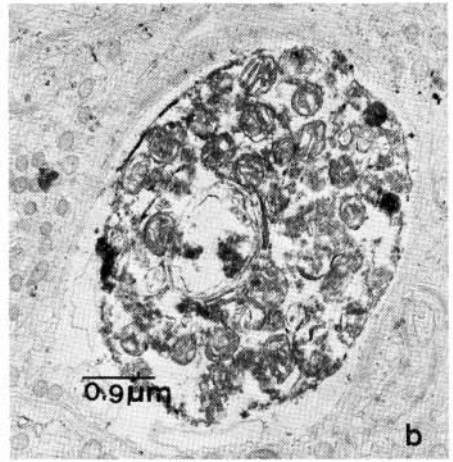
que los cambios degenerativos del tubo seminífero son muy evidentes y la espermatogénesis ha cesado prácticamente, las células de Sertoli presentan una ultraestructura aparentemente normal. La diferencia ultraestructural más característica con respecto al tejido normal, es el aumento en el número y tamaño de los cuerpos residuales en el citoplasma; esto es un indicador de la destrucción de células y el aumento de la fagocitosis por parte de las células de Sertoli. Estos cuerpos residuales también fueron observados por Flickinger (1972, 1975) en ratas y conejos vasectomizados.

En animales con más de 8 meses de vasectomía, el epitelio germinativo está constituido principalmente por células de Sertoli y espermatogonios de tipo A.

Espermatogonios y espermatoцитos: La población de espermatoгонios disminuye considerablemente a partir del quinto mes de la vasectomía, de tal manera que después del octavo únicamente quedan espermatoгонios del tipo A, que presentan una morfología aparentemente normal. Este dato tiene mucha importancia, ya que los espermatoгонios de tipo A y entre ellos los A-0, son considerados como células de reserva y su población es muy baja. La no destrucción y permanencia de este tipo de células del epitelio puede deberse a que éstas raramente se dividen y por eso se las considera como elemento de reserva (Clermont, 1967; Clermont y Bustos-Obregón, 1968). Esta explicación fue confirmada por las observaciones de Dym y Clermont (1967), quienes observaron que los A-0 son elementos radiorresistentes, en testículos irradiados con rayos X. Estos resultados no concuerdan con los de Grewal y Sachan (1968) y Vare y Bansal (1973), quienes observaron cambios degenerativos del epitelio en los primeros meses de la vasectomía y una activa regeneración posterior. En el caso nuestro no se observó ninguna regeneración en ninguno de los animales; por el contrario en animales de más de 10 meses de vasectomizados el epitelio quedó reducido a células de Sertoli, espermatoгонios de tipo A y muy pocas espermátides y espermatozoides. La permanencia aparentemente normal de los espermatoгонios de tipo A puede explicar la regeneración del epitelio reportado por algunos investigadores, (Kothari y Mishra, 1972; Vare y Bansal, 1973).

Nuestros resultados no concuerdan con los de Kothari y Mishra (1972), quienes reportan cambios degenerativos en el epitelio seminífero a la vez que indican que los espermatoгонios y espermatoцитos presentan una morfología normal. La discrepancia con los datos encontrados en la literatura puede deberse a que los trabajos de Kothari y Mishra (1972) se hicieron con microscopía de luz; y en el caso de la diferente información reportada por Flickinger (1972, 1975) en trabajos hechos en ratas y en conejos puede deberse al poco tiempo de vasectomía. A su vez debe tomarse en cuenta la variabilidad de respuesta que pueden ofrecer las diferentes especies sometidas a la vasectomía.

Espermátides y espermatozoides: Nuestros resultados confirman que las células que más sufren el efecto de la vasectomía son los espermatoцитos, espermátides en sus diferentes estadios de la espermiogénesis y los espermatozoides. En la mayoría de los animales con más de 8 meses de vasectomía, son muy frecuentes las formas alteradas de espermátides y espermatozoides. Entre las células alteradas más



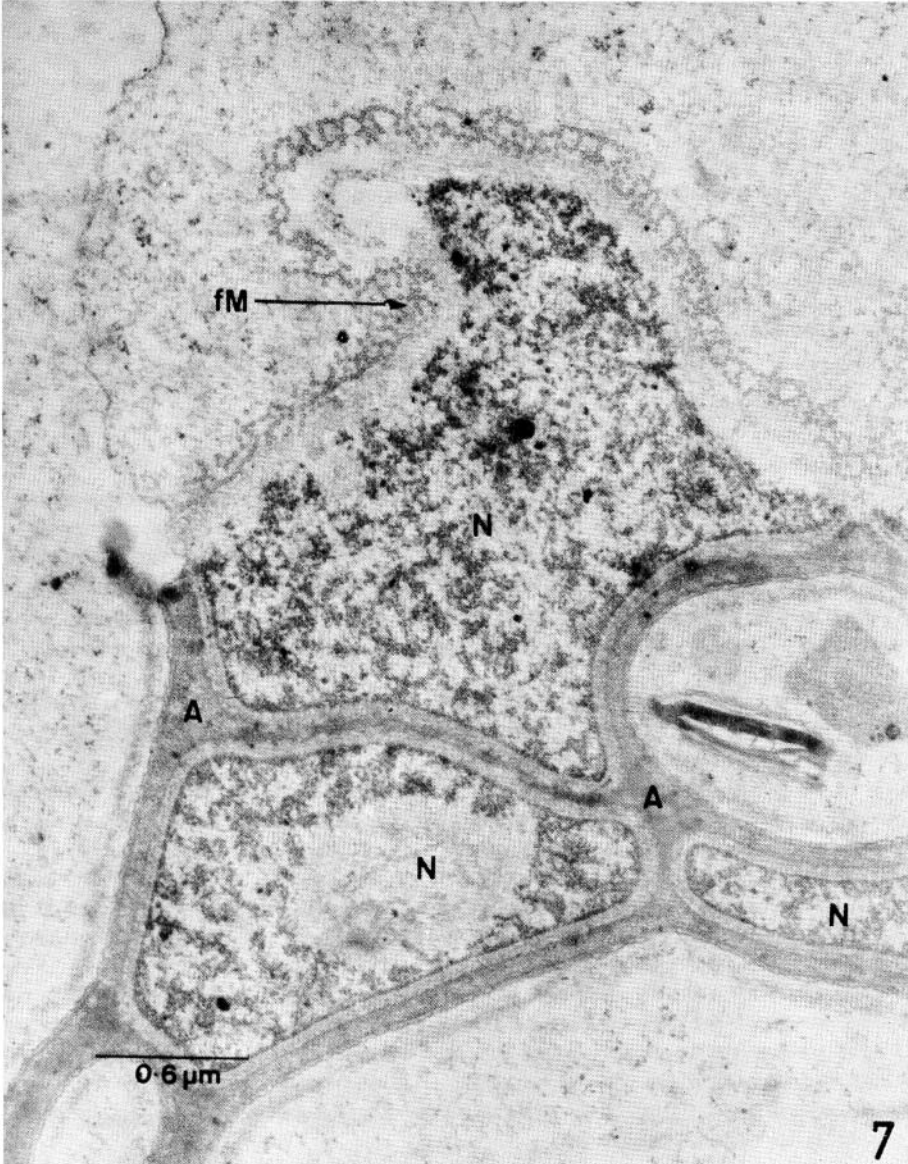
comunes están las espermátides polinucleadas (2, 3 ó 4 núcleos) que presentan varias formas, tamaños y espermatozoides en forma de gancho y una ultraestructura muy alterada. Esta información concuerda con la reportada por Flickinger (1975) en conejos vasectomizados. Las espermátides polinucleadas fueron observadas en muy diferentes estadios de la espermiogénesis, con mayor frecuencia en algunos animales y no se observaron en los controles.

Las células de Sertoli y los restos de células destruidas prácticamente llenan el lumen del tubo seminífero, que deja su forma redonda característica y se hace estrellada. Estos resultados concuerdan con los de microscopía de luz reportados por Kothari y Mishra (1973), Grewal y Sachan (1968), Vare y Bansal (1973) y con los de microscopía electrónica reportados por Flickinger (1975) en conejos vasectomizados.

Tiempo de vasectomía y reacción autoinmune: Nuestros resultados indican claramente que los tubos seminíferos se afectan en una forma muy significativa, con disminución casi total de la espermatogénesis en los animales vasectomizados. Posiblemente la diferencia tan marcada con los reportes de otros autores, se deba entre otros factores, a que la mayoría de las observaciones se han hecho con microscopía de luz y con un tiempo de vasectomía relativamente corto. Debe agregarse que varios trabajos se basaron en el peso, volumen y tamaño del testículo después de la vasectomía. La discrepancia con otros autores puede deberse a la variabilidad de respuesta de las diferentes especies vasectomizadas.

La alteración ultraestructural del testículo en animales con mucho tiempo de vasectomía, puede ser atribuida a los siguientes factores: a) isquemia como resultado del compromiso en la irrigación testicular; b) influencia de la temperatura por la retracción del testículo a la cavidad abdominal; c) producción de anticuerpos antiespermáticos. De los factores mencionados, la isquemia debe jugar un papel poco importante ya que los testículos presentan muy buena irrigación. El aumento de la temperatura puede afectar, pero la mayor alteración debe ser producida por la obstrucción del fluido seminal que lleva a la destrucción de espermatozoides en el epidídimo. Este fenómeno a su vez induce la producción de anticuerpos antiespermáticos, los cuales ejercen su efecto posteriormente a nivel del tubo seminífero. En los animales vasectomizados se observó un aumento del tamaño del epidídimo, que conservaba en su interior una gran cantidad de material de destrucción. Investigaciones recientes demuestran que uno de los resultados de la vasectomía es una reacción autoinmune que puede afectar las células del epitelio germinativo (espermatogonios, espermatoцитos y espermátides), y a los gametos, que no pueden abandonar el testículo (Ansbacher, 1973; Alexander, 1972; Brannen *et al.*, 1974; Quinlivan *et al.*, 1975; Samuel *et al.*, 1975). Esta explicación concuerda con los resultados obtenidos por varios investigadores, quienes trabajando con animales vasectomizados, incluyendo el hombre, demostraron la presencia de anticuerpos antiespermáticos. Así, Tung (1975) reportó un porcentaje muy alto de anticuerpos antiespermáticos en hombres vasectomizados; estos resultados fueron corroborados posteriormente por Samuel *et al.* (1978a, 1978b) quienes detectaron anticuerpos

Fig. 7. Micrografía electrónica de una espermátide polinucleada de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 14 meses de vasectomía. N: núcleo; A: acrosoma; fM: fibras de Manchette. 30.000X.



antiproteínas específicas de núcleos de espermatozoides en humanos, monos y conejos. Resultados similares fueron encontrados por Lucas y Rose (1978), Witkin y Higgins (1978), Alexander *et al.* (1978).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue realizada en la Unidad de Microscopía Electrónica de la Universidad de Costa Rica, establecida con el apoyo de la Agencia Japonesa de Cooperación Internacional (JICA) del Gobierno del Japón, y financiada por el Centro de Docencia e Investigación de la Caja Costarricense de Seguro Social y por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica. Deseamos dejar constancia de agradecimiento a los Drs. Y. Kozuka, O. Fuse, T. Fukuoka y al señor R. Bolaños por el consejo técnico recibido en el desarrollo de esta investigación. Agradecemos a la señorita Melania Ortiz Contreras, por su magnífico trabajo secretarial.

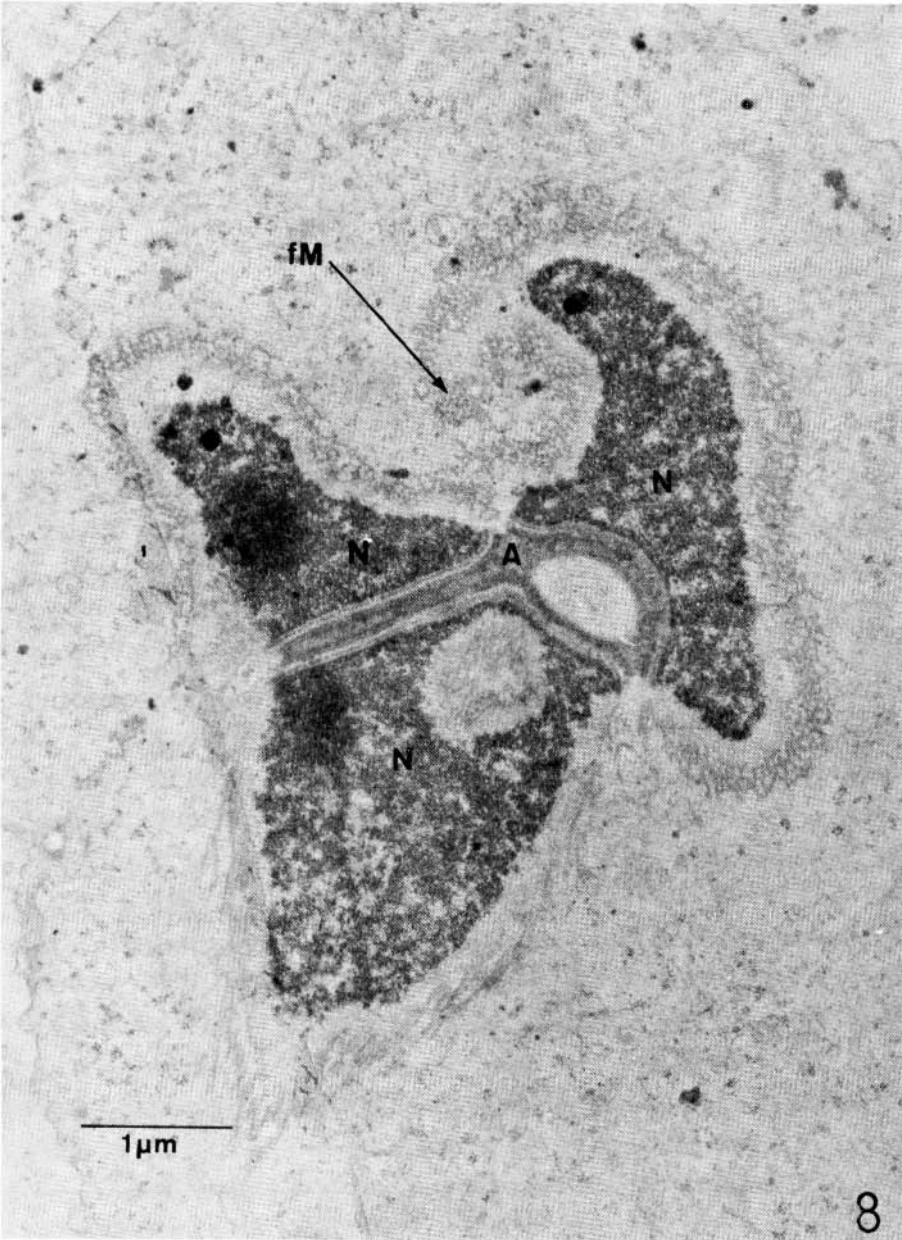
RESUMEN

En un estudio con microscopía de luz y electrónica de testículos de hamsters que tenían entre 3 y 14 meses de vasectomizados, se observó alteraciones en la ultraestructura del epitelio germinativo y en la membrana basal del tubo seminífero en la mayoría de los estadios del ciclo. La membrana basal se hizo más gruesa por la separación de las capas que la forman y por un aumento de tamaño de las células de sus tejidos. Algunas de estas células emiten proyecciones citoplasmáticas al espacio extratubular.

Las células de Sertoli se alteran poco, lo más característico es la gran cantidad de restos con formas y tamaños muy variadas y de gran densidad electrónica que se observan en su citoplasma.

La población de espermatogonios y espermatozoides disminuye conforme avanza el tiempo de vasectomía, siendo las células que más sufren el efecto de la vasectomía. Su destrucción es prácticamente masiva en animales con más de 10 meses de vasectomía. En los recuentos de espermatozoides aislados del tubo seminífero (espermatozoides en zigotene y paquitene) se observó que la población queda reducida a un 15% a los 10 meses de vasectomía. La población de espermátides y espermatozoides, también disminuye considerablemente y presenta una ultraestructura muy alterada. Las que logran llegar a un estado avanzado de la espermiogénesis, son muy diferentes a las normales, abundando las formas polinucleadas. En los recuentos de células a los 5 meses de vasectomía, la población de espermatozoides había disminuido en un 85%. Aunque los espermatogonios de tipo A presentan una estructura fina aparentemente normal, no se observó ninguna regeneración del epitelio seminífero.

Fig. 8. Micrografía electrónica de una espermátide polinucleada de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 13 meses de vasectomía. N: núcleo; A: acrosoma; fM: fibras de Manchette. 20.000X.

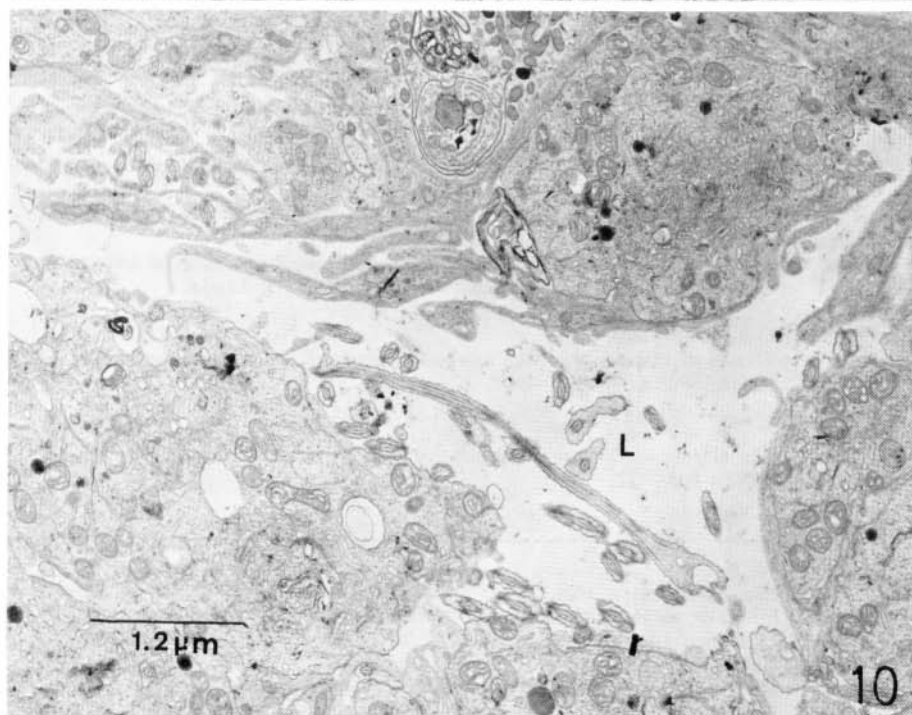
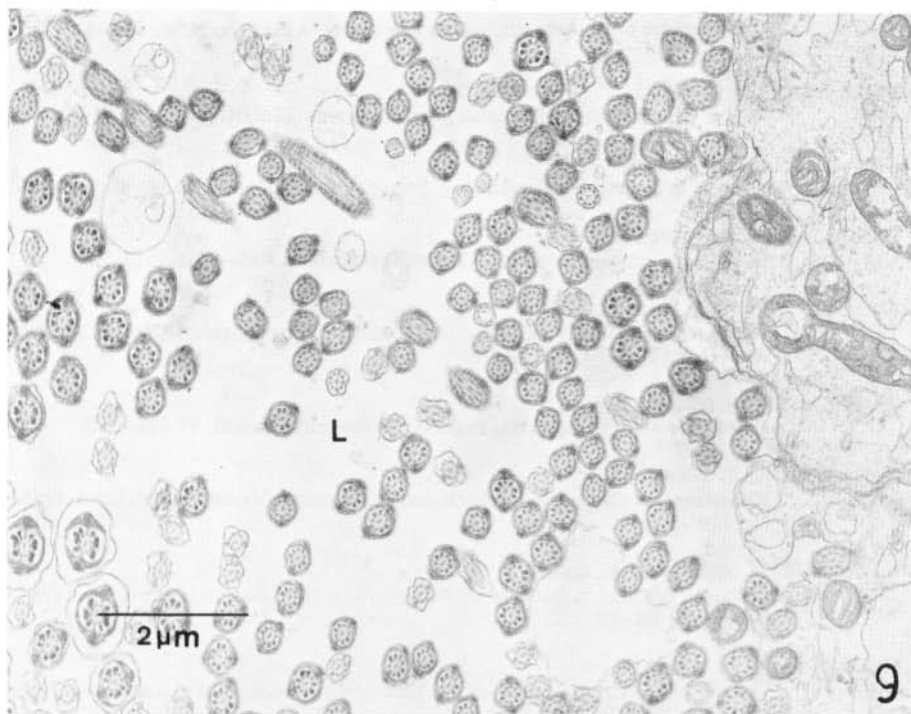


REFERENCIAS

- Alexander, Nancy**
1972. Vasectomy: long-term effects in the rhesus monkey. *J. Reprod. Fertil.*, 31: 399-412.
- Alexander, Nancy, & T.B. Clarkson**
1978. Vasectomy increases the severity of diet induced atherosclerosis in *Macaca fascicularis*. *Science*, 201 (4355): 538-541.
- Alexander, Nancy, B.J. Wilson, & G.D. Patterson**
1974. Vasectomy: immunologic effects in rhesus monkeys and men. *Fertil. Steril.*, 25: 149-156.
- Amann, R. P.**
1962. Reproductive capacity of dairy bulls. III. The effect of ejaculation frequency unilateral, vasectomy, and age on spermatogenesis. *Amer. J. Anat.*, 110: 49-67.
- Ansbacher, R.**
1973. Vasectomy: sperm antibodies. *Fertil. Steril.*, 24: 788-792.
- Brannen, G.E., A.M. Kwart, & D.S. Coffey**
1974. Immunological implications of vasectomy: I. Cell mediated immunity. *Fertil. Steril.*, 25: 508-514.
- Castro, Amalia, & A.C. Seiguer**
1974. The permeability of the blood testis barrier to lanthanum during the immune induced aspermatogenesis and following vasectomy in the guinea pig. *Virchows Arch. B. Cell Path.*, 16: 297-309.
- Chapman, E.S., P.M. Heidger, R.M. Harrison, T.A. Roberts, G.J. Dominique, & J.V. Schlegel**
1978. Vasectomy in rhesus monkeys: IV Electron microscopic studies of the seminiferous epithelium. *Anat. Rec.*, 192: 41-54.
- Clermont, Y.**
1967. Cinétique de la spermetogénese chez les mammifères. *Arch. Anat. Micro. Morph.*, 56: 7-60.
- Clermont, Y., & E. Bustos**
1968. Re-examination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted in toto. *Amer. J. Anat.*, 122: 237-247.
- Clermont, Y., & B. Perey**
1967. The stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the rat. *Rev. Canad. Biol.*, 16: 451-462.
- Dym, M., & Y. Clermont**
1967. Effects of X rays on type A spermatogonia in the rat. *Anat. Rec.*, 157: 238-253.

Fig. 9. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de Hamster normal mostrando el lumen del tubo y secciones de colas de espermatozoides. L: Lumen. 12.000X.

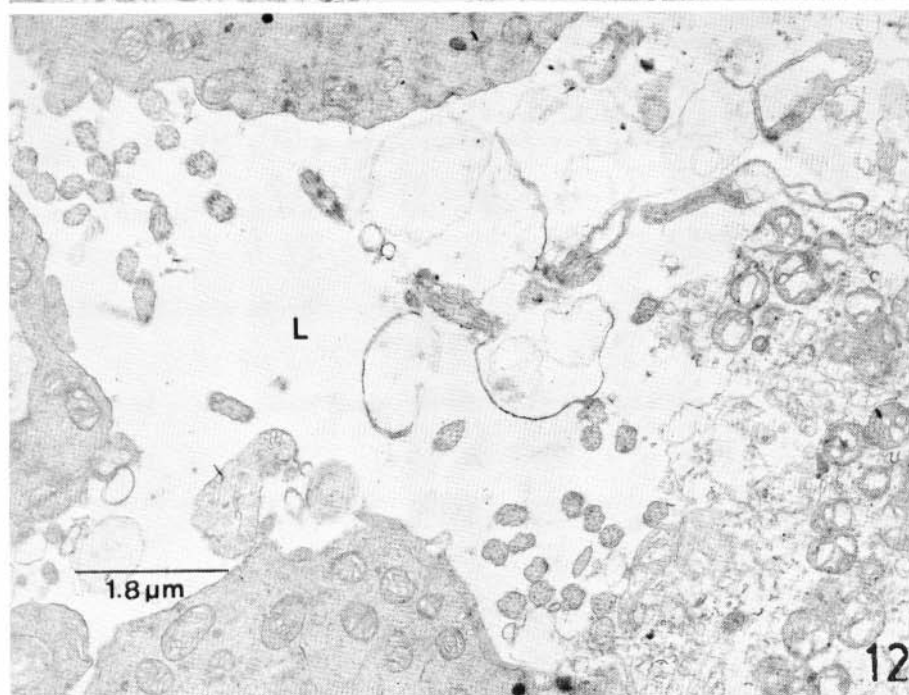
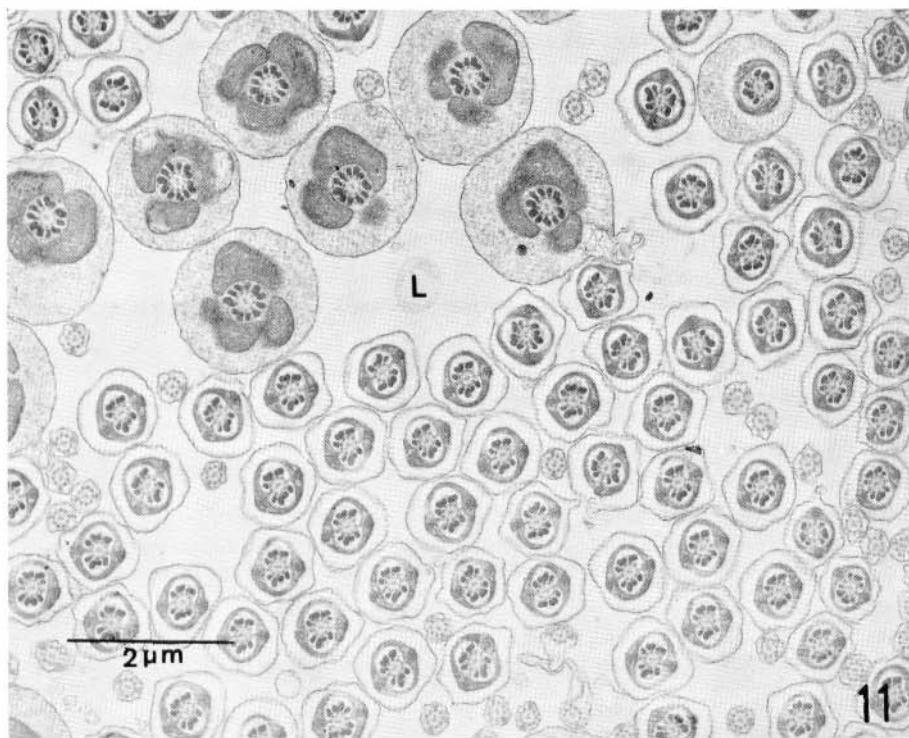
Fig. 10. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 10 meses de vasectomía mostrando el lumen del tubo. L: Lumen. 6.000X.



- Flickinger, C.J.**
1972. Ultrastructure of the rat testicle after vasectomy. *Anat. Rec.*, 174: 477-494.
- Flickinger, C. J.**
1975. Fine structure of the rabbit testis after vasectomy. *Biol. Reprod.*, 80: 61-67.
- Grewel, R.S., & M.S. Sachan**
1968. Changes in testicles after vasectomy. Experimental study. *Int. Surg.*, 49: 460-462.
- Hackett, R.E., & Keith Waterhouse**
1973. Vasectomy, reviewed. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1: 438-455.
- Kothari, L. K.**
1973. Vasectomy for contraception, physiological perspectives. *Indian J. Physiol. Pharmac.*, 17: 209-212.
- Kothari, L.K., & P. Mishra**
1972. Vasectomy and the endocrine function of the testis. *Lancet*, 1: 438-490.
- Kothari, L.K., & P. Mishra**
1973. Histochemical changes in the testis and epididymis after vasectomy. *Int. J. Fertil.*, 18: 119-125.
- Kothari, L.K., P. Mishra, & R.K. Mishra**
1973. Effect of bilateral vasectomy on the structure and function of the testis. *Amer. J. Surg.*, 126: 84-88.
- Kubota, R.**
1969. Electron microscopic studies on the testis after vasectomy in rats and men. *Jap. J. Urol.*, 60: 373-397.
- Leblond, C. P., & Y. Clermont**
1952. Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 55: 548-573.
- Lucas, Patricia, & N.R. Rose**
1978. Immunological consequence of vasectomy. I. Prospective study through one year post vasectomy. *Arch. Androl.*, 1: 249-256.
- MacMillan, E.W.**
1953. The effects of interruption of the vasa and inferior epididymal arteries on the cauda epididymis and testis. *Proc. Soc. Stud. Fertil.*, 5: 12-16.
- McGlynn, J.M., & M.J. Erpino**
1974. Effects of vasectomy on the reproductive system and sexual behaviour of rats. *J. Reprod. Fertil.*, 40: 241-247.
- Neaves, W.B.**
1978. The effects of vasectomy on the testis of inbred Lewis rats. *J. Reprod. Fertil.*, 54 (2): 405-412.

Fig. 11. Micrografía electrónica de una sección transversal del lumen de un tubo seminífero de un Hamster normal mostrando secciones de colas de espermatozoides. L: Lumen. 14.000X.

Fig. 12. Micrografía electrónica de una sección transversal de un tubo seminífero de un Hamster con 13 meses de vasectomía mostrando el lumen del tubo. L: Lumen. 8.000X.



Oslund, R.M.

1926. Cryptorchid testis and testicular hormone production. *Amer. J. Physiol.*, 77: 76-81.

Phadke, A.M., & K. Padukone

1964. Presence and significance of auto antibodies against spermatozoa in the blood of men with obstructed vas deferent. *J. Reprod. Fertil.*, 7: 163-167.

Plaut, S.M.

1973. Testicular morphology in rats vasectomized as adults. *Science*, 181: 554-555.

Quinlivan, W.L.G., H. Sullivan, & N. Olsher

1975. Circulating antispermatozoa immunoglobulin G in men after vasectomy. *Fertil. Steril.*, 26: 224-227.

Rümke, P.

1959. Auto-antibodies against spermatozoa in sterile men. *Int. J. Fertil.*, 4: 213-219.

Sackler, A.M., A.S. Weltman, V. Pandhi, & R. Schwartz

1973. Gonadal effects of vasectomy and vasoligation. *Science*, 179: 293-294.

Samuel, T., A.H.J. Kolk, & P. Rümke

- 1978 a. Studies on the immunogenicity of protamines in human and experimental animals by means of a micro-complement fixation test. *Clin. Exp. Immunol.*, 33 (2): 252-260.

Samuel, T., A.H.J. Kolk, P. Rümke, & J.M.J. Van Lis

1975. Autoimmunity to sperm antigens in vasectomized men. *Clin. Exp. Immunol.*, 21: 65-74.

Samuel, T., L. Linnet & R. Rümke

- 1978 b. Post vasectomy autoimmunity to protamines in relation to the formation of granulomas and sperm agglutination antibodies. *Clin. Exp. Immunol.*, 33 (2): 261-269.

Shulman, S., E. Zppi, U. Anmed, & J.E. Davies

1972. Immunologic consequence of vasectomy. *Contraception*, 5: 269-274.

Smith, G.

1962. The effects of ligation of the vasa efferentia and vasectomy on testicular function in the adult rat. *J. Endocr.*, 23: 385-399.

Solari, A.J.

1964. The morphology and ultrastructure of the sex vesicle in the mouse. *Exp. Cell Res.*, 36: 160-168.

Solari, A.J., & L. Tres

1967. The localization of nucleic acids and the argentaffine substance in the sex vesicle of mouse spermatocytes. *Exp. Cell Res.*, 47: 86-96.

Tung, K.S.K.

1975. Human sperm antigens and antisperm antibodies. I. Studies on vasectomy patients. *Clin. Exp. Immunol.*, 20: 93-104.

Ureña, F.

1971. Estudio de microscopía electrónica sobre espermatozonios, espermatozitos y cromosomas sexuales de la rata. *Univ. del Salvador, Buenos Aires*.

Ureña, F., & Jollyanna Malavasi

1978. Evolución de la ultraestructura del aparato de Golgi durante la meiosis y la espermiogénesis en el hamster (*Mesocricetus auratus*). *Rev. Biol. Trop.*, 26: 371-383.

Vare, A.M., & P.C. Bansal

1973. Changes in the canine testis after bilateral vasectomy, an experimental study. *Fertil. Steril.*, 24: 793-797.

Varma, M.M., R.R. Varma, Ann Johanson, A. Kowarski, & C.J. Migeon

1975. Long term effects of vasectomy on pituitary gonadal function in man. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 40: 868-871.

Wig, N.N., D. Pershad, & R.P. Isaac

1973. A prospective study of symptom and non symptom groups following vasectomy. *Indian J. Med. Res.*, 61: 621-627.

Wilson, L.

1954. Sperm agglutinins in human semen and blood. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 85: 652-655.

Witkin, S.S., & P. Higgins

1978. Effects of vasectomy and antisperm antibodies on human seminal fluid deoxyribonucleic acid polymerase activity. *Fertil. Steril.*, 29: 314-319.