

## Ultraestructura del testículo y epidídimo del tepezcuinte, *Agouti paca* (Rodentia: Dasyproctidae)

Blagovesta Pashov Nicheva<sup>1</sup>, y Yolanda Matamoros Hidalgo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escuela de Medicina Veterinaria. UNA, Ap. postal 86, Heredia 3000, Costa Rica.

<sup>2</sup> Escuela de Medicina Veterinaria. UNA, Ap. postal 86, Heredia 3000, Costa Rica.

**Abstract:** The germ cells observed at MET in the seminiferous tubes of the paca (*Agouti paca*) are: A and B spermatogonias, primary spermatocytes, spermatids and Sertoli cells. The epididymus epithelium is constituted by basal, principal and clear cells.

**Key words:** testis, epididymis, paca, *Agouti paca*.

El tepezcuinte (*Agouti paca*) es un roedor histricomorfo, se encuentra distribuido desde el sur de México hasta el norte de Argentina. Su hábitat natural es el bosque tropical húmedo.

Su carne es muy apetecida y buscada, debido a lo cual y también por la destrucción de su hábitat natural, en los últimos años su población ha disminuido considerablemente y se encuentra en peligro de extinción. Paralelamente a esta situación, en Costa Rica se han establecido criaderos familiares de tepezcuintes con el fin de reproducir la especie en cautiverio, cuyo éxito depende mucho de los conocimientos que existen referente a la anatomía, histología y fisiología del aparato reproductor masculino y femenino.

El presente trabajo se realizó con el fin de determinar la ultraestructura de las células que forman el testículo y el epidídimo, y los cambios de maduración que experimentan los espermatozoides durante su paso por el epidídimo.

### MATERIAL Y METODOS

Un tepezcuinte, sexualmente maduro, se anestesió con Ketamina (Hidrocloruro de Ketamina) en dosis de 20 mg/Kg intramuscular.

Se perfundió a través del ventrículo izquierdo con formalina tamponada al 4%, lavando previamente el sistema circulatorio con amortiguador heparinizado. Los testículos y los epidídimos se disecaron. El epidídimo se subdividió en cabeza, cuerpo y cola. Del testículo y de cada una de las partes del epidídimo se tomaron muestras de 1 mm<sup>3</sup>. El material se fijó en Karnovsky durante 5 días. Los tejidos se lavaron con amortiguador de fosfatos (0.1 M) a pH 7.4 y se postfijaron con tetraóxido de osmio tamponado al 1%. Luego se deshidrataron con etanol de 30° a 100° y se colocaron en óxido de propileno. Se impregnaron con la resina Spurr.

Los cortes ultrafinos se obtuvieron en un ultramicrotomo. Se tiñieron con acetato de uranio al 4% en etanol y acetato de plomo. Se examinaron al microscopio electrónico de transmisión (MET).

Muestras de testículo y epidídimo, fijados en formalina al 10%, se postfijaron en tetraóxido de osmio al 1% durante una hora. Se deshidrataron con etanol de 30° a 100° y se secaron por sublimación en terbutanol. Se cubrieron con una capa de platino de 20 nm de grosor en un cobertor iónico y se observaron al microscopio electrónico de rastreo (MER).

De la cola del epidídimo se obtuvo una suspensión de espermatozoides, una parte de la cual se colocó sobre portaobjetos cubiertos con Poli-L-lisina (Hernández *et al.* 1986). La otra parte de la suspensión se procesó, usando la técnica de coagulación de plasma (Hernández y Coto 1991).

## RESULTADOS

### I. TESTICULO

**A. Microscopia electrónica de rastreo:** Se observan tubos seminíferos, cortados transversal, longitudinal o tangencialmente. Se aprecia gran cantidad de núcleos, cuya identificación no se puede hacer con precisión al MER. El lumen de muchos tubos está ocupado por espermatozoides (Fig. 1), mientras que en otros se puede ver espermátides en el proceso de espermiogénesis.

**B. Microscopia electrónica de transmisión:** En el tepezcuinte se encontraron dos tipos de espermatogonias denominados A y B, situados sobre la membrana basal de los túbulos seminíferos. Los tipos A se unen a las células vecinas por medio de interdigitaciones y se caracterizan por presentar el núcleo ovalado, con cromatina granular, fina y con un nucleolo. El citoplasma tiene pocos orgánitos. La cantidad de mitocondrias es moderada, el retículo endoplasmático granular es escaso, mientras que los polirribosomas son abundantes (Fig. 2).

Las espermatogonias B presentan núcleo con cromatina en masas, algunas unidas a la membrana nuclear. La cantidad y tipo de los orgánitos citoplasmáticos no presentan cambios notorios con respecto a las espermatogonias A.

El núcleo de los espermatoцитos primarios es grande y la cromatina tiene aspecto filamentos. Hay presencia de un nucleolo. Las mitocondrias forman grupos. Los espacios entre sus crestas se observan dilatados. El aparato de Golgi está bien desarrollado y en el citoplasma existe una cantidad moderada de microtúbulos (Fig. 3).

El citoplasma de las espermátides con núcleo redondo contiene mitocondrias con crestas dilatadas y microtúbulos.

En estas células se observa que el aparato de Golgi comienza a producir gránulos, los cuales se dirigen hacia el núcleo. Estos gránulos se unen y forman un gránulo mayor, que consti-

tuirá el futuro acrosoma, cubierto por la vesícula acrosómica (Fig.4).

Los centriolos y las mitocondrias se dirigen hacia el lado opuesto del acrosoma, formando la cola del espermatozoide.

Las células de Sertoli se extienden desde la membrana basal hasta el lumen de los túbulos seminíferos. Sus núcleos tienen forma irregular y poseen un nucleolo.

A veces el núcleo presenta invaginaciones. Normalmente está situado cerca a la membrana basal.

El citoplasma es rico en mitocondrias. El retículo endoplasmático no es abundante y el aparato de Golgi no está bien desarrollado (Fig. 5).

### II. EPIDIDIMO

**A. Microscopia electrónica de rastreo:** En la cabeza los cortes transversales del conducto tienen forma y tamaño variable, cuyo lumen se observa vacío, con excepción de algunos que contienen espermatozoides (Fig. 6).

En el cuerpo el lumen de los conductos está ocupado por gran cantidad de espermatozoides.

El epitelio en la zona de la cabeza y el cuerpo es alto con estereocilios.

En la cola, el conducto tiene forma irregular y el epitelio se hace más bajo. El lumen es más ancho que en las regiones anteriores y está ocupado por espermatozoides.

**B. Microscopia electrónica de transmisión:** Las células que predominan en el epidídimo son: las basales y las principales, además de la presencia esporádica de las células claras y los linfocitos intraepiteliales.

Las células basales descansan sobre la membrana basal uniéndose por medio de hemidesmosomas. Entre las células vecinas la unión se realiza por medio de interdigitaciones y desmosomas. Estas células no alcanzan el lumen del epidídimo y son de forma triangular o alargada. Su núcleo puede ser ovalado o redondo pudiendo presentar invaginaciones profundas. La mayor cantidad de cromatina se acumula en su parte periférica.

El citoplasma es escaso, con cantidad moderada de mitocondrias y pocos lisosomas. El retículo endoplasmático granular es escaso, mientras que los ribosomas y polirribosomas son abundantes.

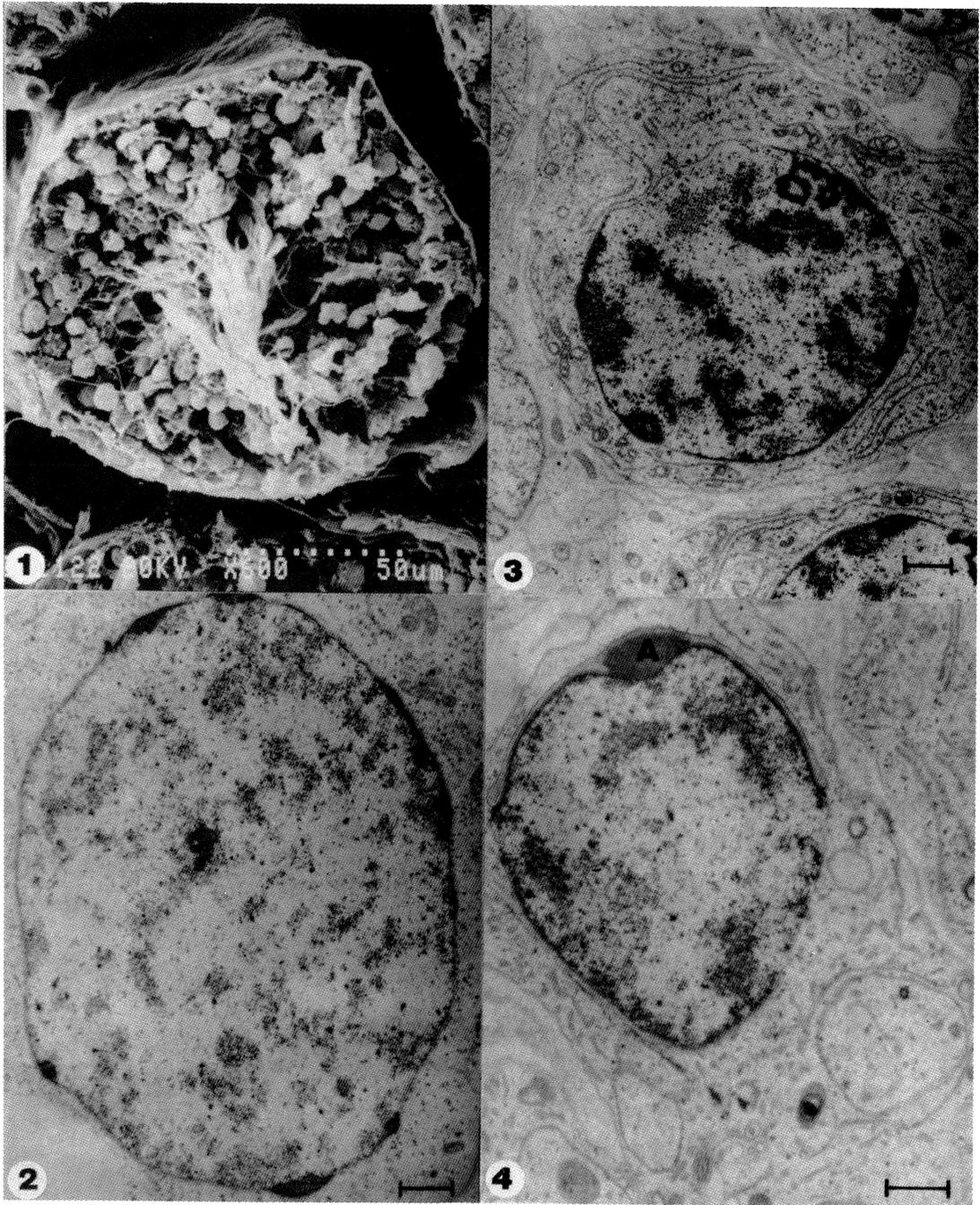


Fig. 1. Corte transversal de un tubo seminífero.  
 Fig. 2. Núcleo de espermatogonia A. ( Barra=1µm ).  
 Fig. 3. Espermatocito primario. ( Barra=1µm ).  
 Fig. 4. Espermatide con el acrosoma (A) en formación. ( Barra=1µm ).

Las células principales predominan en todas las regiones del epidídimo. Comienzan de la membrana basal y llegan hasta el lumen del epidídimo.

Los núcleos están situados en la parte basal de las células y poseen un nucléolo. En la cabeza (Fig. 7) y en el cuerpo los núcleos son ovalados con invaginaciones. En la cola es característica la lobulación grande del núcleo. El retículo endoplasmático granular es abundante en las células principales del cuerpo, mientras que en las de la cabeza y cola se observa en cantidad moderada; se localiza en la parte basal y alrededor del núcleo. No fue encontrado retículo endoplasmático liso. Los ribosomas y los polirribosomas son frecuentes. Las mitocondrias son de tamaño y forma variable, con crestas lamelares y abundan en la parte basal de la célula.

En el segundo tercio del citoplasma de las células principales del cuerpo se observan lisosomas I y II en gran cantidad. En la cola estas mismas estructuras están situadas alrededor del núcleo. En la cabeza no fueron encontradas.

En la parte apical el citoplasma presenta vesículas claras rodeadas por una membrana y de tamaño diferente. Su cantidad es moderado en la cabeza y el cuerpo. En la cola son escasas.

La superficie apical esta cubierta por estereocilios. En la cabeza y el cuerpo son largos, mientras que en la cola son cortos.

En su parte apical, las células vecinas están unidas por medio de la unión estrecha. Hacia la base la membrana plasmática es muy irregular y la unión es a través de interdigitaciones.

Fue encontrada solamente una célula clara en el cuerpo del epidídimo. Su superficie luminal no presenta estereocilios. El citoplasma posee gran cantidad de vacuolas de tamaño diferente. Las organelas citoplasmáticas son escasas.

Los linfocitos intraepiteliales se encuentran a lo largo del conducto del epidídimo, situadas entre las células del epitelio.

El conducto epididimario está rodeado por tejido conectivo y fibras musculares lisas. El grosor de la capa muscular varía en las diferentes regiones: es delgada en la cabeza y el cuerpo y se engruesa notablemente en la cola.

Durante su paso por el epidídimo, los espermatozoides presentan cambios en su ultraestructura, lo cual está relacionado con la maduración de los mismos.

En la cabeza la gota citoplasmática rodea simétricamente el axonema.

En el cuerpo la posición del axonema es excéntrica con respecto de la gota citoplasmática.

Esta misma posición se observa en algunos espermatozoides de la cola, solamente que las organelas citoplasmáticas han desaparecido.

Casi todos los espermatozoides, obtenidos de la cola y procesados con la técnica de coagulación de plasma, no presentan la gota citoplasmática.

Los espermatozoides, procesados según la técnica de Poli-L-lisina, presentan la cabeza plana. El acrosoma se puede apreciar bien, así como la transición entre la parte intermedia y principal (Fig. 8).

## DISCUSION

En el testículo del tepezcuinte existen espermatogonias A y B, cuyos núcleos presentan una diferencia muy notoria. Esto confirma lo informado por Pashov y Matamoros (1984).

Las espermatogonias A son solamente de un tipo en el testículo del tepezcuinte. En el hombre (Clermont 1963, Kerr y Krester 1981), el verraco (Swierstra 1968), el perro (Foote *et al.* 1972) y el armadillo (Torres *et al.* 1981) son de dos tipos: con núcleos claros y con núcleos oscuros. En el toro y verraco (Dellman y Brown 1980) y el camello (Osman y Ploen 1986) se distinguen el tipo A, un tipo intermedio y el tipo B.

El producto de la división de las espermatogonias B son los espermatoцитos primarios, los cuales pierden el contacto con la membrana basal. Su ultraestructura no se diferencia de la descrita para el caballo (Hernández y Márquez 1977), el hombre (Kerr y Krester 1981) y camello (Osman y Ploen 1986).

Las mitocondrias en los espermatoцитos primarios presentan espacios dilatados entre las crestas, lo cual se observó también en el hombre (Kerr y Krester 1981) y camello (Osman y Ploen 1986). El retículo endoplasmático granular no está bien desarrollado como en el caballo (Hernández y Márquez 1977) y el camello (Osman y Ploen 1986). El retículo endoplasmático liso no fue observado como en la foca (Sinha *et al.* 1977).

En el citoplasma de los espermatoцитos primarios existen microtúbulos, los cuales fueron observados también en el hombre (Kerr y Krester 1981). Su función se desconoce.

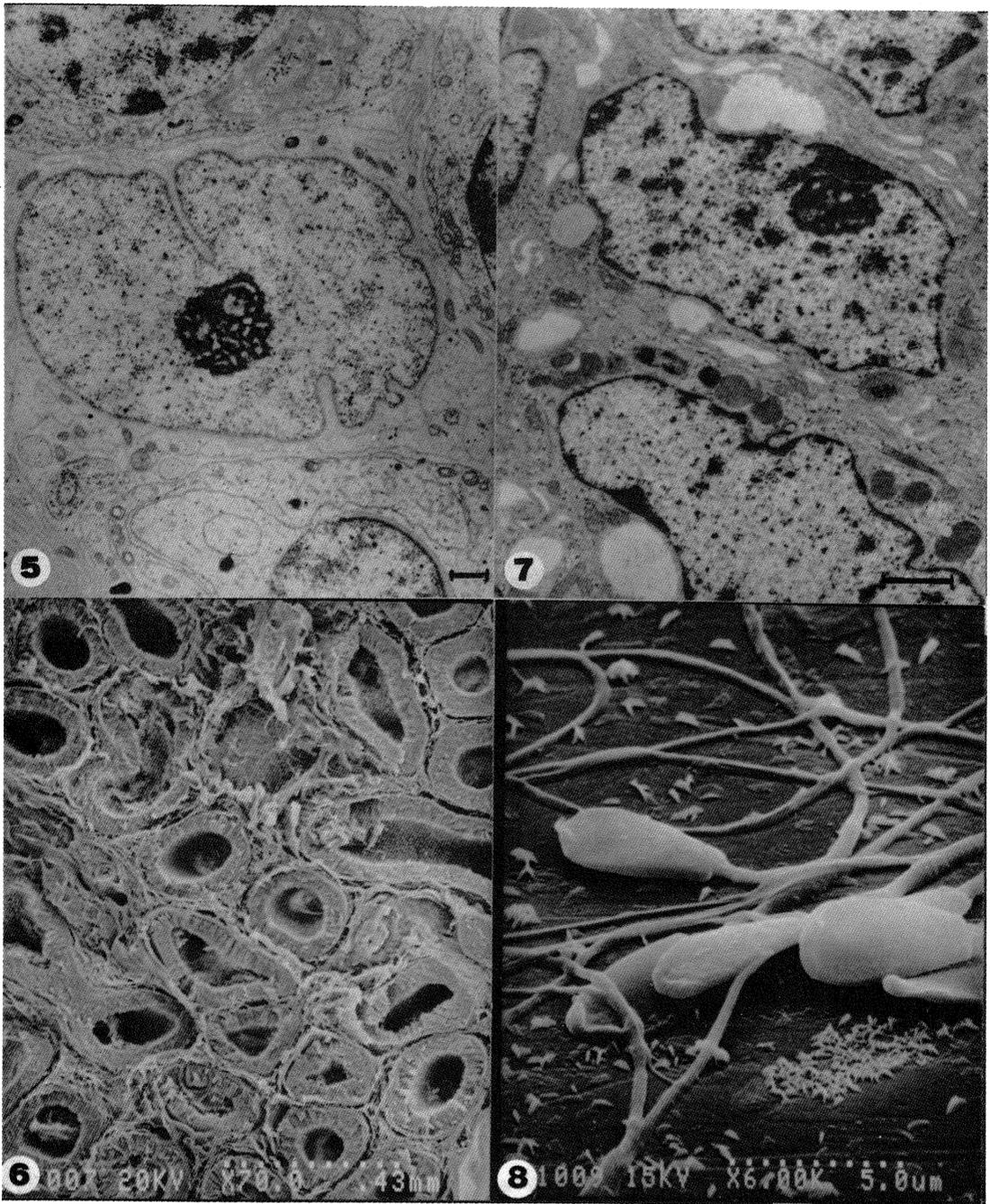


Fig. 5. Núcleo de célula de Sertoli. (Barra=1 $\mu$ m).

Fig. 6. Corte transversal del conducto del epidídimo.

Fig. 7. Células principales del epidídimo. (Barra=1 $\mu$ m).

Fig. 8. Espermatocoides obtenidos de la cola del epidídimo.

Las células de Sertoli no presentan las inclusiones cristalinas subnucleares que fueron encontradas en las del hombre (Kerr y Kretser 1981). Los núcleos en las del tepezcuinte están situados basalmente. En los testículos en regresión del *Rattus fuscipes* los núcleos se desplazan hacia el lumen (Hodgson *et al.* 1979).

Según Osman y Ploen (1986) las células de Sertoli cumplen dos funciones importantes: se produce un microambiente químico específico en los túbulos seminíferos y se previene el contacto entre el sistema inmuno y las células germinativas meióticas y postmeióticas.

Según lo informado por Pashov y Matamoros (1984) las células de Leydig del tepezcuinte existen en poca cantidad, por lo cual no fueron encontradas en el presente estudio.

Los espermatoцитos secundarios tienen una vida muy corta razón por la cual en el material revisado no fueron observados.

Las células claras fueron encontradas solamente en el cuerpo del epidídimo y son escasas. Lo mismo fue observado en el *Tarsipes rostratus* (Cummins *et al.* 1986). Su función hasta el momento se desconoce.

La parte apical de las células principales en la región de la cabeza y el cuerpo presenta una cantidad moderada de vesículas, la cual disminuye notablemente en la cola. En el tepezcuinte las vesículas tienen tamaño regular.

En el hamster (Nicander y Clover 1973) y el bovino (Goal 1985) estas vesículas son muy numerosas en las células de la cabeza. Flickinger *et al.* (1978) observaron también la existencia de vesículas muy grandes. Los mismos autores encontraron que su cantidad disminuye gradualmente en el cuerpo.

La función de las células principales es la absorción y la digestión del material absorbido, lo cual explica la presencia de las vesículas. La cantidad moderada de estas estructuras indica que las células principales del tepezcuinte no son tan activas en relación con este proceso.

Las células principales en el cuerpo y la cola del tepezcuinte presentan lisosomas, los cuales fueron encontradas también en el *Citellus lateralis* (Pudney y Fawcett 1984). Su función principal es la digestión del material absorbido por la célula.

Las mitocondrias se observan en la parte basal de la célula; lo mismo fue informado para el mono (Ramos y Dyn 1977). Según Ramos y Dyn (1977) esta ubicación está relacionada

posiblemente con el paso de algunas sustancias de la sangre hacia el plasma seminal.

Los núcleos de las células principales en la zona de la cabeza y el cuerpo presentan invaginaciones que se hacen más profundas en la cola. En el mono (Ramos y Dyn 1977), en la región de la cola, son muy profundos y frecuentemente se pueden observar porciones del núcleo unidos al resto por medio de puentes. Según Ramos y Dyn (1977) esta forma del núcleo está relacionada con una actividad metabólica intensa.

Las células principales del epidídimo son capaces de realizar síntesis y secreción, lo cual se confirma con la presencia de retículo endoplasmático granular muy abundante en el cuerpo.

La ultraestructura de las células basales es simple. No poseen organidos citoplasmáticos en cantidades grandes. Su función es de producir nuevas células principales y proporcionar estabilidad a las mismas. Se unen a ellas por medio de interdigitaciones y a la membrana basal por medio de hemidesmosomas.

Los linfocitos, observados en el epitelio del epidídimo, presentan la misma morfología de los encontrados en el aparato gastrointestinal y en la sangre circulate. Normalmente el contenido del epidídimo es estéril, por lo cual se desconoce el objetivo de su presencia.

El cambio en la posición del axonema al respecto de la gota citoplasmática es un rasgo de maduración de los espermatozoides durante su paso por el epidídimo.

Esta misma localización del axonema en relación con la gota citoplasmática, en las diferentes regiones del epidídimo, fue encontrado en el camello (Osman y Ploen 1986).

La presencia de espermatozoides con gota citoplasmática en la cola indica que no todos terminaron la maduración.

La cabeza de los espermatozoides es aplanada y ancha. Su aspecto es muy parecido a la del toro (Schwarze 1970).

## RESUMEN

Las células germinativas observadas en los túbulos seminíferos del tepezcuinte (*Agouti paca*) al MET son: espermatogonias A y B, espermatoцитos primarios, espermátides y células de Sertoli. El epitelio del epidídimo está formado por células basales, principales y claras.

## REFERENCIAS

- Clermont, I. 1963. The cycle of the seminiferous epithelium in man. *Am. J. Anat.* 112:35-51.
- Cumminis, J.M., P.D. Temple-Smith & M.B. Renfree. 1986. Reproduction in the male Honey possum (*Tarsipes rostratum*: Marsupialia): The epididymis. *Am. J. Anat.* 177: 385-401.
- Dellmann, H.D. & E.M. Brown. 1980. España, p. 313-342. In: H.D. Dellman & E.M. Brown (eds). *Histología Veterinaria*. Acribia, Zaragoza.
- Flickinger, C.J., S.S. Howards & H.F. English. 1978. Ultrastructural differences in efferent ducts and several regions of the epididymis of the hamster. *Am. J. Anat.* 152: 557-586.
- Foot, R.H., E.E. Swierstra & W.L. Hunt. 1972. Spermatogenesis in the dog. *Anat. Rec.* 173: 341-352.
- Goyal, H.O. 1985. Morphology of the bovine epididymis. *Am. J. Anat.* 172: 155-172.
- Hernández, F., H. Akahori & F. Brenes 1986. Soportes de vidrio recubiertos con Poli-L-lisina para analizar materiales biológicos en partículas tanto al microscopio electrónico de rastreo como al de transmisión. *Rev. Biol. Trop.* 34: 105-110.
- Hernández, F. & E. Coto. 1991. Aplicación del método de coagulación de plasma al estudio ultraestructural de especímenes biológicos. *Rev. Biol. Trop.* 39: 177-180.
- Hernández, P.J. & H.M. Márquez. 1977. Fine structure of mule testes: light and electron microscopy study. *Am. J. Vet. Res.* 38: 443-447.
- Hodgson, Y.M., D.C. Irby, J.B. Kerr & D.M. Kretser. 1979. Studies of the structure and function of the Sertoli cell in a seasonally breeding rodent. *Biology of reproduction* 21: 1091-1098.
- Kerr, J.B. & D.M. Kretser. 1981. The cytology of the human testis. p. 141-169. In H. Burger & D. de Kretser (ed.). *The testis*. Raven Press, New York.
- Nicander, L. & T.D. Glover. 1973. Regional histology and fine structure of the epididymal duct in the Golden hamster (*Mesocricetus auratus*). *J. Anat.* 114: 347-364.
- Osman, D.I. & L. Ploen. 1986. Spermatogenesis in the camel (*Camelus dromedarius*). *Animal Reproduction Sci.* 10: 23-36.
- Osman, D.I. & L. Ploen. 1986. Fine structure of Sertoli cells in the camel (*Camelus dromedarius*). *Animal Reproduction Science* 10: 37-46.
- Osman, D.I. & L. Ploen. 1986. Fine structure of epididymal spermatozoa in the camel. *Animal Reproduction Sci.* 10: 177-184.
- Pashov, B. & Y. Matamoros. 1984. Descripción histológica del epitelio seminífero del testículo del tepezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson 1762) e identificación de sus diferentes etapas. *Ciencias Veterinarias VI*: 9-15.
- Pudney, J. & D.W. Fawcett. 1984. Seasonal changes in fine structure of the ductuli efferentes of the ground squirrel, *Citellus lateralis* (Say). *Anat. Record* 208: 383-399.
- Ramos, A.S. & M. Dym. 1977. Fine structure of the monkey epididymis. *J. Anat.* 149: 501-532.
- Schwarze, G.M. 1970. España. p. 24. In: C. Michel & E. Schwarze (eds). *Compendio de Anatomía Veterinaria*. Embriología. Acribia, Zaragoza.
- Sinha, A.A., A.W. Ericson & U.S. Seal. 1977. Fine structure of seminiferous tubules in antarctic seals. *Cell Tiss. Res.* 178: 183-188.
- Swierstra, E.E. 1968. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar: Duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat. Rec.* 161: 171-186.
- Torres, C.M., H.P. Godinho & Stchell, B.P. 1981. Frequency and duration of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium of the nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). *J. Reprod. Fert.* 61: 335-337.