

ULTRAESTRUCTURA DEL TESTICULO DEL VAMPIRO (*Desmodus Rotundus*)

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

Resumen

Se describe la ultraestructura del testículo adulto del vampiro (*Desmodus rotundus*) como paso previo al estudio de su permeabilidad a la peroxidasa de rábano. El testículo consta básicamente de los túbulos seminíferos, rodeados por el tejido intersticial. Este último presenta las características propias del tejido conectivo laxo, contiene vasos sanguíneos y linfáticos y, entre las muchas células, las de Leydig o intersticiales encargadas de producir los andrógenos. Los túbulos seminíferos constan de una pared tubular que rodea al epitelio seminífero. La pared tubular está constituida por dos capas lamelares, una interna y otra externa, con un material amorfo y fibrillas colágenas y, entre ellas, una capa única de células muy alargadas y fusiformes llamadas células mioideas. Por fuera de la lamelar externa hay una capa de células alargadas y atenuadas semejantes a fibroblastos. El epitelio seminífero consta de las células de Sertoli con múltiples prolongaciones citoplasmáticas, muy delgadas, que les confieren un aspecto estrellado, entre las cuales se acomodan las células germinativas cuya población celular varía de un segmento a otro del túbulo seminífero, dependiendo del estadio del ciclo espermatogénico en que se encuentre. Entre las células de Sertoli y a cierta distancia por encima de la pared tubular, aparecen las uniones especializadas de las células de Sertoli. Estas se verifican entre dos células vecinas cuyas membranas citoplasmáticas se aproximan y fusionan en múltiples sitios; el citoplasma subyacente de cada célula aparece denso y, a cierta distancia de la superficie celular, y paralelas a ella aparecen cisternas de retículo endoplasmático liso.

Abstract

The ultrastructure of the adult testis of the vampire bat (*Desmodus rotundus*) is described as a previous step to the study of its permeability to horseradish peroxidase. The testis consists basically of the seminiferous tubules surrounded by the interstitial tissue. In the interstitial tissue are found the blood and lymphatic vessels, as well as the huge Leydig or interstitial cells incharged of secreting the androgens. The seminiferous tubule consists of a limiting membrane or tubular wall which surrounds the seminiferous epithelium. In the tubular wall appear two lamellar layers, an internal and an external one composed of an amorphous material and collagen fibrils, in between which appears a unique layer of elongated and fusiform cells called the myoid cells. Outside the external lamella a layer of flattened cells, similar to fibroblasts, is present. The seminiferous epithelium is formed by the Sertoli cells and the germinal cells. The former are very tall cells with multiple and slender cytoplasmic prolongations, among which the germinal cells are accomodated. The population of these latter cells vary from one segment to the other in the same tubule, depending on the stage of the spermatogenic cycle in which it is found. At a certain distance above the tubular wall, the Sertoli cells present specialized junctions between the cytoplasmic membranes of two neighboring cells. At these junctions, the cell membranes approach each other and even are fusioned at multiple sites; under the cell surface, the cytoplasm of each cell appears dense and at a certain distance from the cellular surface and parallel to it, cisterns of smooth endoplasmic reticulum are present.

Introducción

El vampiro (*Desmodus rotundus*) es un animal cuyo manejo en el laboratorio es relativamente difícil, por lo que no es frecuente encontrar trabajos donde se le emplee como sujeto experimental. Sin embargo, puede resultar muy útil a la investigación ya que es un mamífero con una fisiología que en muchos aspectos puede ser semejante a la del humano, como se ha encontrado en lo que respecta a su fisiología reproductiva.

La ultraestructura del testículo ha sido descrita en muchas especies entre ellas las de varios roedores, el mono, el conejo y otras, encontrándose que el testículo consta básicamente de un tejido intersticial que rodea a los túbulos seminíferos (1), (2), (3), (4), (5). En el primero se encuentran los elementos propios del tejido conectivo, con capilares linfáticos y sanguíneos y, entre las varias células, las de Leydig o intersticiales encargadas de producir los andrógenos. A su vez, los túbulos seminíferos pre-

sentan una membrana limitante o pared tubular, sobre la cual descansa el epitelio seminífero.

La pared tubular presenta varias capas, de las que se destaca la capa de células interlamelares o células mioides, según la denominación dada a estas células por Fawcett, Leak y Heidger (1970) (6). El epitelio seminífero está constituido por las células de Sertoli, entre cuyas ramificaciones se acomodan las células germinativas; estas últimas se disponen en asociaciones celulares que varían a lo largo del túbulo, dependiendo del estadio de la espermatogénesis en que se encuentre un determinado segmento (7).

En el presente trabajo se describe la ultraestructura del testículo del vampiro, con énfasis en los túbulos seminíferos, como paso previo al estudio de su permeabilidad a la peroxidasa de rábano.

Material y Métodos

Se utilizaron ocho vampiros, *Desmodus rotundus*, machos, adultos con un peso entre 33 y 38 grs. Bajo anestesia con 1.2 mgs. de pentobarbital sódico aplicados intraperitonealmente, cada animal fue perfundido con 100 c.c. de solución salina seguidos por otros 100 c.c. de fijador (paraformaldehído al 1.5%, glutaraldehído al 2.0% en buffer fosfato 0.2 M, pH 7.4) (Karnovsky, 1965) (8) a temperatura ambiente. Se practicaron incisiones en el escroto para extraer ambos testículos y éstos fueron seccionados en pequeños trozos y colocados en el mismo fijador durante 24 horas, a 4°C, luego de lo cual se pasaron a buffer fosfato con sacarosa al 5% durante unas 12 horas. Utilizando cuchillas se cortaron pequeñas secciones de aproximadamente 1mm³ las cuales fueron procesadas para microscopía electrónica, procediendo primero a postfijar durante una hora con tetróxido de osmio, luego a deshidratar en alcoholes de grados crecientes, para finalmente incluir en resina Spurr (Polysciences, Inc). Se realizaron cortes finos color dorado empleando un ultramicrotomo Reichert-Jung y éstos fueron coloreados con acetato de uranilo y citrato de plomo. Los cortes fueron observados con un microscopio electrónico Philips CM-12.

Resultados

El testículo del vampiro está constituido por túbulos seminíferos rodeados por tejido intersticial en el cual están presentes vasos sanguíneos y linfáticos y, en forma muy notoria, las células de Leydig o células intersticiales. Es-

tas son fácilmente identificables por su gran tamaño y forma poligonal, su núcleo voluminoso y la distribución de las mitocondrias y retículo endoplasmático (Figura 1).

El túbulo seminífero consta de la pared tubular que rodea al epitelio seminífero (Figura 2). Esta pared presenta una capa única de células mioides situada entre dos capas lamelares, una externa y otra interna. Las células mioides son alargadas y fusiformes, igualmente sus núcleos, y están separadas por amplios espacios intercelulares.

La lamelar externa está en contacto con el tejido intersticial o con la lamelar externa de un túbulo seminífero vecino; presenta un material amorfo y fibrillas colágenas dispuestas en variada dirección. Por fuera de la lamelar externa se encuentra una capa de células alargadas y atenuadas semejantes a fibroblastos. La lamelar interna también presenta un material amorfo y fibrillas colágenas dispuestas en variada dirección y más abundantes que en la lamelar externa. Por dentro de la capa de fibrillas colágenas aparece un material homogéneo que corresponde a la membrana basal del epitelio seminífero (Figura 3).

El epitelio seminífero consta de las células de Sertoli y las células germinativas. Las primeras son células altas que se extienden desde la pared hasta la luz del túbulo, fácilmente identificables por su voluminoso núcleo que tiene forma plegada o indentada (Figura 4) y se localiza hacia la parte basal o tallo de la célula, a nivel o por encima de las espermatogonias. Dentro del núcleo se encuentra el nucleolo, grande y denso, muy típico de estas células (Figura 3).

La célula de Sertoli presenta múltiples prolongaciones citoplasmáticas, muy delgadas, que rodean a las células germinativas. En el citoplasma aparecen vacuolas, mitocondrias y cisternas de retículo endoplasmático, principalmente liso, estructuras que se disponen en su mayoría paralelas al eje mayor de la célula. Destacan en el citoplasma Sertoliano los cuerpos densos de variado tamaño, forma y densidad algunos de los cuales semejan lisosomas (Figuras 3 y 4).

En cuanto a las células germinativas, su población varía dependiendo del estadio del ciclo espermatogénico en que se halle un determinado segmento del túbulo seminífero. Hacia la parte periférica se localizan las espermatogonias y espermatoцитos preleptoténicos y, por encima, las demás células de la serie espermatogénica, a saber, espermátides y espermatozoides.

Es posible identificar a un cierto nivel por encima de la pared tubular las uniones especializadas de las células de Sertoli, que se caracterizan por pre-

sentar múltiples fusiones de las membranas citoplasmáticas de dos células vecinas, por dentro de las cuales, el citoplasma de cada célula aparece denso y presenta cisternas de retículo endoplasmático liso dispuestas paralelamente a la superficie celular (Figuras 5, 6 y 7).

Discusión

El tejido intersticial del testículo del vampiro presenta las estructuras típicas que se encuentran en otras especies, a saber, capilares sanguíneos y linfáticos, células de Leydig o intersticiales, rodeando principalmente a los primeros, y los demás elementos propios del tejido conectivo. Sin embargo, los vasos linfáticos del vampiro se disponen como tales dentro del tejido intersticial y no a la manera de los canales linfáticos o sinusoides descritos en el cobayo y el chinchilla (9), la rata (10) y otras especies, los cuales se interponen entre el tejido intersticial y los túbulos seminíferos y que constituyen un plano de clivaje que permite aislar fácilmente los túbulos seminíferos.

Las células de Leydig del vampiro son semejantes a las de otras especies, según lo descrito por varios autores (2), (3), (5). Son voluminosas, con núcleo grande y su característica más notoria es la abundancia de retículo endoplasmático liso. En la célula de Leydig del vampiro es posible identificar abundantes mitocondrias de forma cilíndrica, dispersas por todo el citoplasma.

Los capilares sanguíneos del vampiro no presentan ninguna característica especial por lo que, al igual que en especies como el cobayo (6), son similares a los del tejido muscular. Poseen un endotelio continuo que descansa sobre una membrana basal y las células endoteliales no presentan ningún tipo de unión especializada, considerándose su permeabilidad semejante a la de los capilares musculares, es decir, una permeabilidad intermedia entre la alta permeabilidad de los capilares fenestrados y la muy baja de los capilares cerebrales.

El túbulo seminífero del vampiro presenta una pared tubular y un epitelio seminífero. La pared está formada por varias capas de las cuales la más externa es una capa única de células muy delgadas y alargadas, semejantes a fibroblastos. Por dentro de esta capa se encuentra la lamelar externa que presenta un material amorfo con fibrillas colágenas dispuestas en varias direcciones. Por dentro se encuentra una capa única de células fusiformes, muy alargadas y que pueden superponerse en parte de su longitud. Son éstas las células mioides, descritas inicialmente por Clermont (1958) (11) y

denominadas así por Fawcett, Leak y Heidger (1970) (6), a las cuales se les atribuye la contractilidad que se encontró despliegan los túbulos seminíferos (12). Aunque en especies como el cobayo (6) y la rata (10) se han descrito uniones especializadas entre las células mioides que pueden bloquear el paso de ciertas sustancias constituyendo una especie de barrera, en el vampiro no se observaron estas uniones, situación similar a la que describe Dym (1973) (13) en el mono.

Por dentro de la capa de células mioides se encuentra la lamelar interna que presenta también un material amorfo y múltiples fibrillas colágenas dispuestas en variada dirección, principalmente paralelas al eje longitudinal del túbulo. Por dentro de las fibrillas colágenas, una delgada capa de material homogéneo constituye la membrana basal del epitelio seminífero.

La apariencia de la pared tubular del vampiro corresponde al tipo I de membrana limitante, según la clasificación de Burgos, Vitale-Calpe y Aoki (1970) (3) y que se presenta también en el ratón, la rata y el hamster.

Por dentro de la pared tubular del vampiro se encuentra el epitelio semífero, cuya población celular en el animal puberal y adulto varía según el estadio de la espermatogénesis en que se encuentre, con excepción de las células de Sertoli que permanecen inmodificables durante la misma. Las células de Sertoli se caracterizan por ser células muy altas que se extienden desde la pared hasta la luz del túbulo seminífero. Presentan una parte basal o tallo situada cerca a la pared, donde suele localizarse el voluminoso núcleo, fácilmente identificable por su apariencia plegada o indentada, dentro del cual se encuentra el nucleolo, muy prominente. Por encima del cuerpo, la célula se ramifica presentando múltiples y muy atenuadas prolongaciones citoplasmáticas, entre las cuales se ubican las células germinativas. El citoplasma Sertoliano presenta un retículo endoplasmático bastante desarrollado, especialmente el liso, y numerosas mitocondrias de mediano tamaño y forma tubular que se disponen paralelas a la superficie celular a nivel de las prolongaciones citoplasmáticas. Al igual que en el gato, el cobayo, el hamster, la rata, el ratón y el hombre, especies estudiadas por Burgos, Vitale-Calpe y Aoki (1970) (3), se hace difícil distinguir en el vampiro el aparato de Golgi de las membranas del retículo endoplasmático liso. El citoplasma de la Sertoli en el vampiro presenta también cuerpos de inclusión de diferente tamaño, forma y densidad, algunos de los cuales semejan lisosomas, como los descritos por Dym (1973) (13) en el mono.

Cabe destacar que la morfología de la célula de Sertoli varía muy poco de una especie a otra entre los mamíferos, según puede concluirse de las

descripciones hechas para diversas especies tales como las estudiadas por Burgos, Vitale-Calpe y Aoki (3), la del mono (13) y lo encontrado con el presente trabajo para el vampiro. No ocurre lo mismo con los nemátodos (14) y los peces teleósteos como el *Poecilia Reticulata* y el *Oreochromis niloticus* (14), (15), cuyos túbulos seminíferos constan de cístos rodeados por células llamadas de Sertoli, dentro de los cuales se encuentran poblaciones únicas de células germinativas. En estas especies, a pesar de su nombre, las células de Sertoli son morfológicamente diferentes a las de las especies superiores arriba mencionadas.

En lo que sí hay una gran uniformidad entre los nemátodos, los peces teleósteos y las especies superiores es en la existencia en todas ellas de uniones especializadas entre las células de Sertoli y el papel de barrera que dichas uniones desempeñan. En el vampiro también se encontraron y su aspecto es semejante al descrito para la rata (10), el ratón, el chinchilla y el gato (16), el cobayo (6) y el mono (13). Estas uniones consisten, básicamente, en la aproximación de las membranas citoplasmáticas de dos células de Sertoli adyacentes, quedando fusionadas en múltiples sitios las capas externas de estas membranas, lo que constituye zónulas ocludens o uniones estrechas (Tight Junctions). Subyacentes a la membrana citoplasmática se localizan en un arreglo hexagonal, paralelos a la superficie celular, manojos de filamentos citoplasmáticos que se ha demostrado son formados por proteínas similares a la actina, pues ligan específicamente a la meromiosina pesada (17). Inmediatamente por debajo de esta capa de filamentos citoplasmáticos, y a unos 500 Å de la membrana celular, se disponen paralelas a la superficie de la célula cisternas de retículo endoplasmático liso. Aunque se ha determinado que en el ratón estas uniones especializadas involucran entre un 70 y un 80% de la superficie de la célula de Sertoli (16), en el vampiro no cubren una extensión tan amplia de esta célula pudiendo involucrar sólo un 30 a 40% de su superficie celular.

En cuanto a las células germinativas o células de la serie espermatogénica, en los túbulos seminíferos del vampiro se observa que las asociaciones celulares varían de un segmento tubular a otro por lo que se puede concluir que también en esta especie la espermatogénesis se verifica por ciclos, cada uno con diferentes estadios de maduración, para conformar la llamada onda espermatogénica, definida así por Leblond y Clermont (1952) (7), para la rata y por Clermont (1960) (18) para el cobayo.

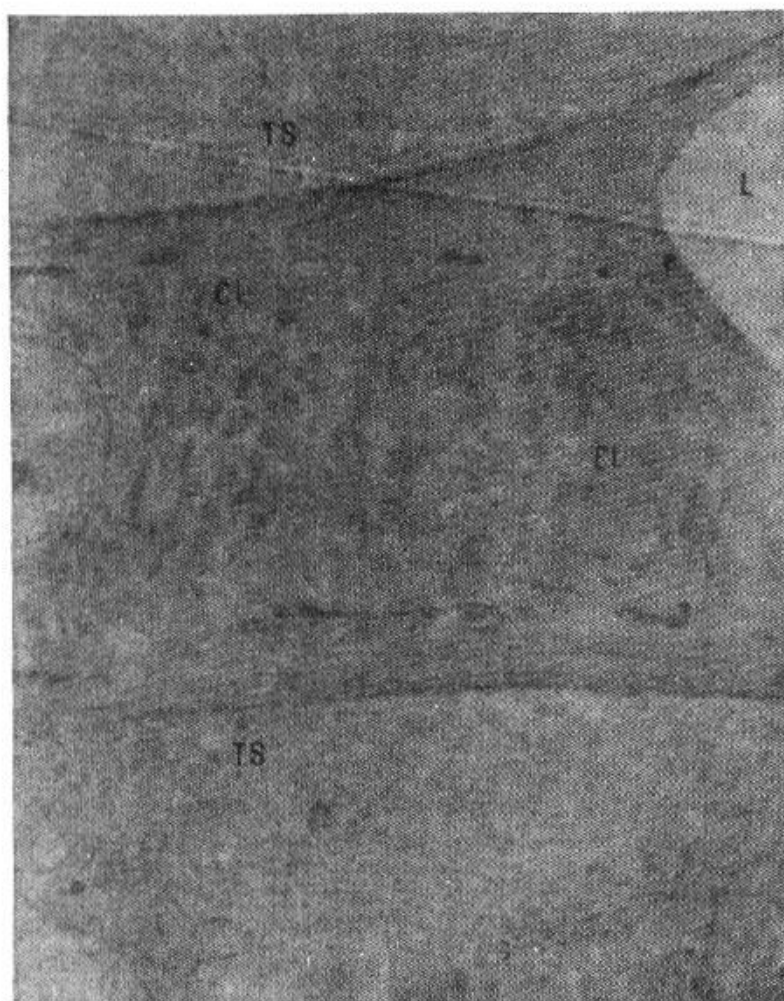


Figura 1. Microfotografía electrónica del tejido intersticial del testículo del vampiro localizado entre dos túbulos seminíferos (TS). Se observa la luz (L) de un capilar sanguíneo rodeada por células endoteliales (e), de las cuales aparece una con su núcleo y citoplasma. Se observan dos células de Leydig (CL) con su núcleo y mitocondrias. X 3400.

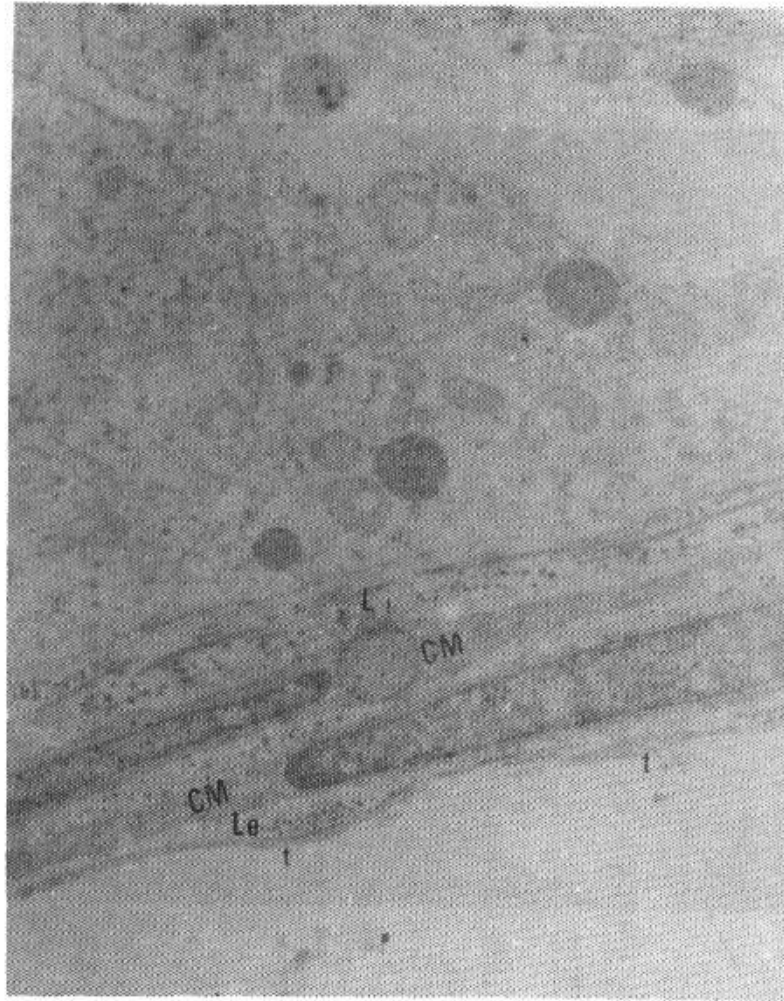


Figura 2. Microfotografía electrónica de la pared de un túbulo seminífero del vampiro donde aparecen dos células mioideas (CM) con su núcleo y un amplio espacio intercelular entre ambas. En las lamelares interna (Li) y externa (Le) se observan fibrillas colágenas cortadas transversal y longitudinalmente y, por fuera de la lamelar externa, una capa de células atenuadas, alargadas, semejantes a fibroblastos. (†) X 8800.

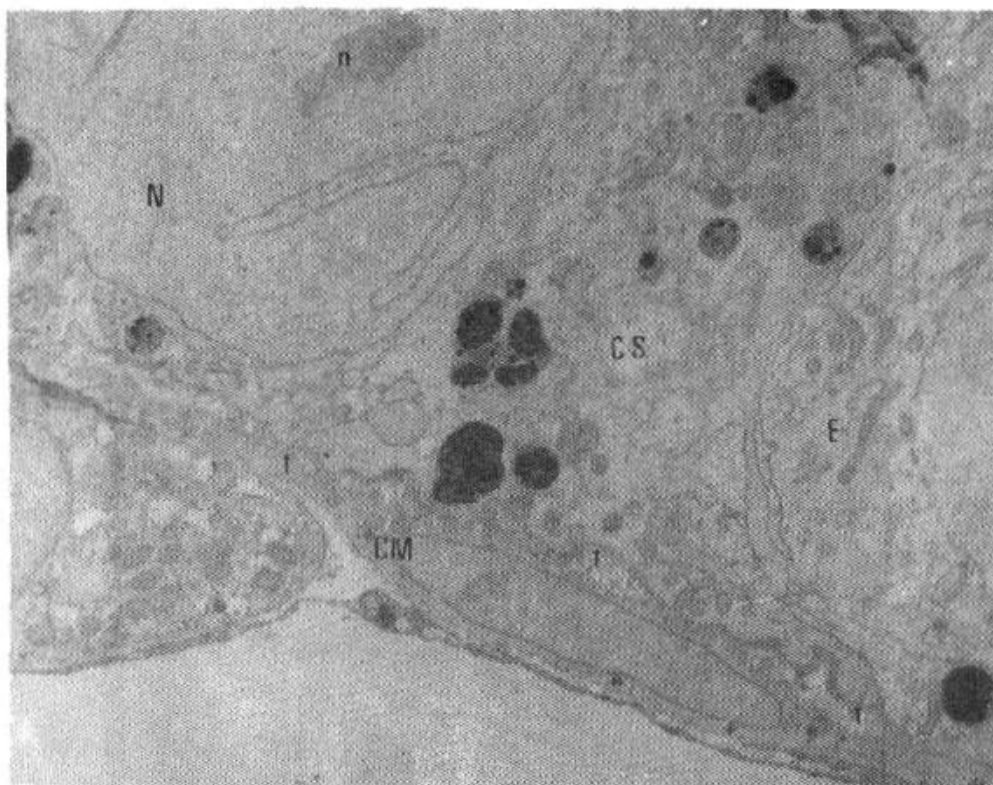


Figura 3. Microfotografía electrónica de un segmento de túbulo seminífero con la pared y el epitelio. En la pared aparece una célula mioide (CM) y en la lamelar interna se aprecia la membrana basal (↑) sobre la cual descansa el epitelio seminífero. En el epitelio seminífero se aprecia una célula de Sertoli (CS) con su núcleo (N), nucleolo (n) y organelas citoplasmáticas. A la derecha aparece una espermatogonia (E). X 3.400.

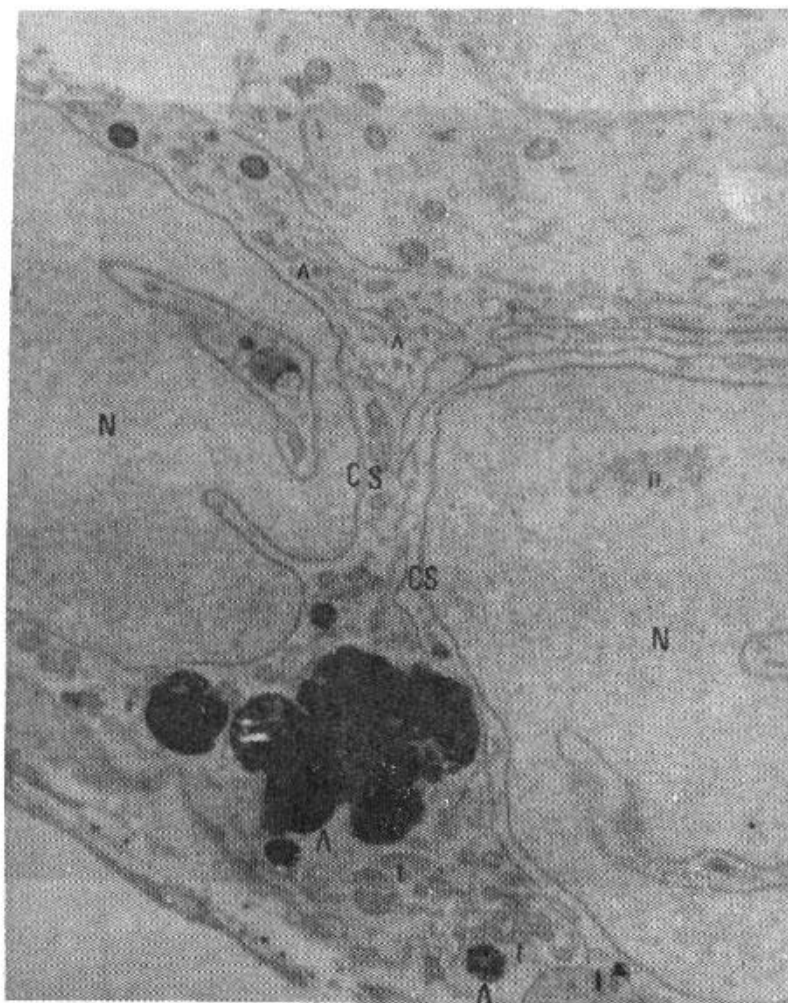


Figura 4. Microfotografía electrónica de un segmento de túbulo seminífero del vampiro donde se aprecian dos células de Sertoli (CS) vecinas. Los núcleos (N) respectivos aparecen a derecha e izquierda mostrando su forma indentada y en el de la derecha se esboza el nucleolo (n). En el citoplasma se destacan las cisternas del retículo endoplasmático liso (A), las mitocondrias (I) y los cuerpos densos (Δ) X 5600.

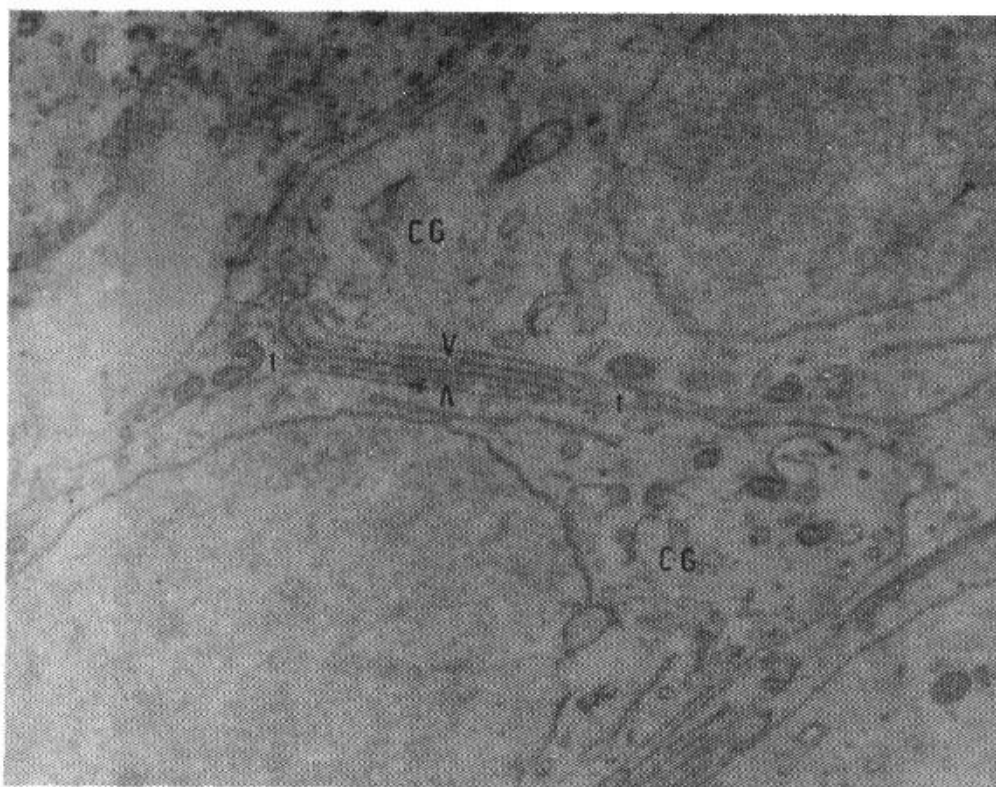


Figura 5. Microfotografía electrónica de un segmento de túbulo seminífero del vampiro donde aparecen dos células germinativas (CG) y, entre ellas, las prolongaciones citoplasmáticas muy atenuadas de dos células de Sertoloi (I), las cuales presentan una unión especializada (A) con aproximación de las membranas citoplasmáticas, capa citoplasmática densa y cisternas de retículo endoplasmático liso paralelas a la superficie celular. X 8800.

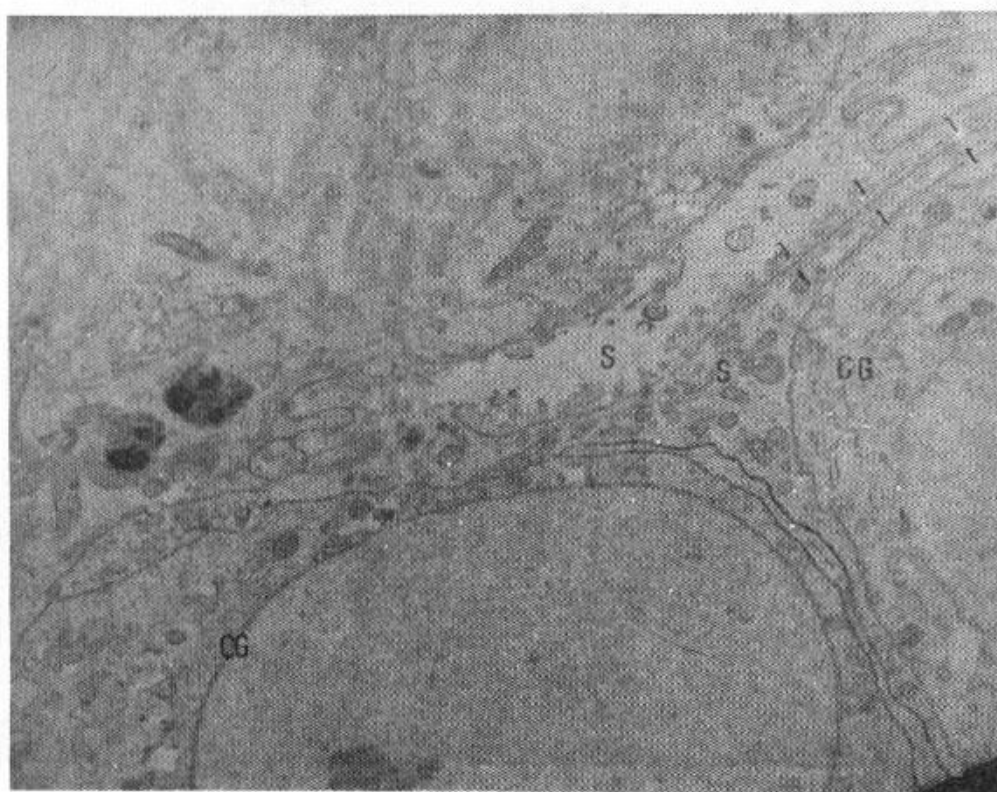


Figura 6. Microfotografía electrónica del epitelio seminífero donde aparece una unión especializada (↑) entre las prolongaciones citoplasmáticas de dos células de Sertoli (S). Se aprecian las membranas citoplasmáticas, las capas citoplasmáticas densas y las cisternas de retículo endoplasmático liso aportadas por cada célula para formar la unión. En la parte inferior de la microfotografía aparecen dos células germinativas (CG). X 4400.

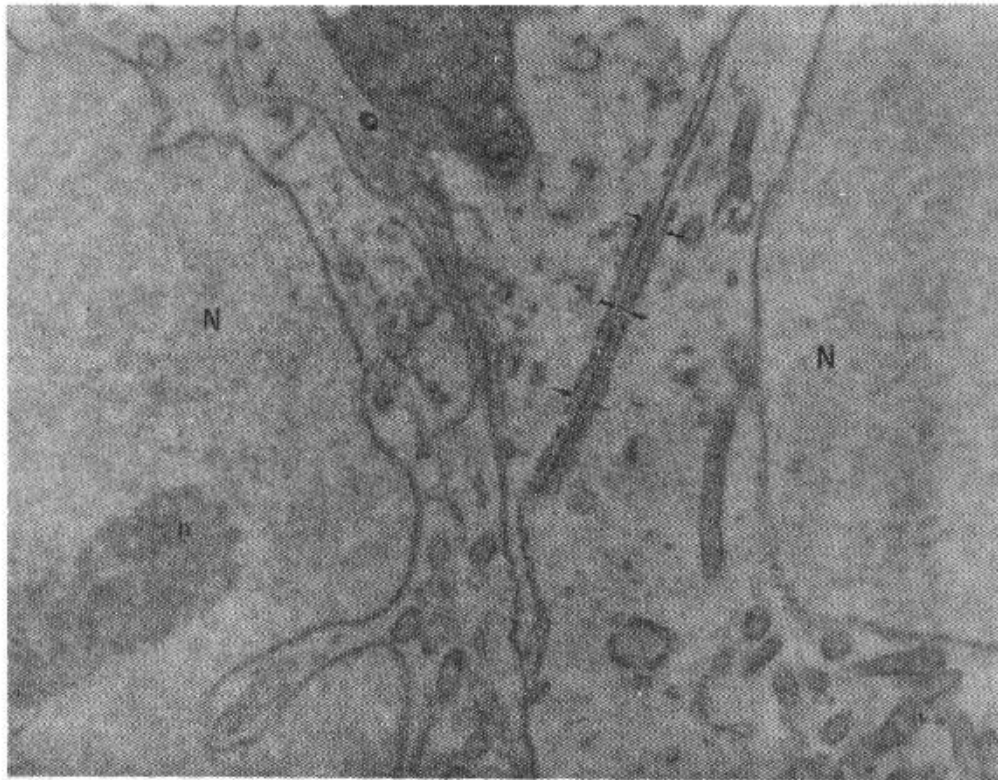


Figura 7. Microfotografía electrónica del epitelio seminífero del vampiro donde se aprecia a mayor aumento la unión especializada entre dos células de Sertoli (1) cuyos respectivos núcleos (N) aparecen a derecha e izquierda y, en uno de éstos, el correspondiente nucleolo (n). En la unión se aprecian claramente las membranas citoplasmáticas de ambas células, con la capa de citoplasma denso y las cisternas de retículo endoplasmático liso paralelas a la superficie celular. X 11.500.

Bibliografía

1. **Fawcett, D.W.** *The Male Reproductive System. En Reproduction and Human Welfare: A Challenge to Research 1976.* ed R. O. Greep, M.A. Koblinsky y F.S. Jaffe, pp.165-277. The MIT Press, Cambridge, Massachussetts.
2. **Hooker, C.W.** *The intertubular tissue of the testis.* En the Testis 1970, ed. A.D. Johnson, W.R. Gómez y N.L. Vandemark, pp.483-550. Academic Press, New York.
3. **Burgos, M.H., Vitale Calpe, R. y Aoki, A.** *Fine structure of the testis and its functional significance.* En the Testis 1970, ed. A.D. Johnson, W.R., Gómez, N.L. Vandemark, pp.551-649. Academic Press, New York.
4. **Bloom, W. y Fawcett, D.W.** *Male Reproductive System. En a Textbook of Histology.,* 1968, pp.685-727. W.B. Saunders Company, Philadelphia.
5. **Weaker, F.J.** *The fine structure of the interstitial tissue of the testis of the ninebanded armadillo.* Anatomical Record, 1977, 187: 11-28.
6. **Fawcett, D.W., Leak, L.V. y Heidger, P.M.** *Electron microscopic observations on the structural components of the blood-testis barrier.* J. Reprod. Fert. 1970, Suppl. 10: 105-122.
7. **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. 1952a, 55: 548-573.
8. **Karnovsky, M.J.** *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy.* J. Reprod. Fert. 1969, 19: 109-119.
9. **Fawcett, D.W., Heidger, P.M. y Leak, L.V.** *Lymph vascular system of the interstitial tissue of the testis as revealed by electron microscopy.* J. Reprod. Fert., 1969, 19: 109-119.
10. **Dym, M. y Fawcett, D.W.** *The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium.* Biol. Rep. 1970, 3: 308-326.

11. Clermont, Y. *Contractile elements in the limiting membrane of the seminiferous tubules of the rat*. Exp. Cell Res. 1958, 15: 438-440.
12. Roosen-Runge, E.C. *Motions of the seminiferous tubules of rat and dog*. Anat. Rec. 1951, 109: 413.
13. Dym, M. *The fine structure of the monkey (Macaca) Sertoli cell and its role in maintaining the blood-testis barrier*. Anat. Rec. 1973, 175: 639-656.
14. Mercaillou, C. y Szollosi, A. *The "Blood-testis" barrier in a nematode and a fish: a generalizable concept*. J. Ultrastruct. Res., 1980, 70: 128-136.
15. Silva, M. y Godinho, H.P. *A célula de Sertoli de Oreochromis niloticus (peixe, teleosteo)*. Rev. Bras. Cien. Morfol. 1989, 6: 3-8.
16. Flickinger, C. y Fawcett, D.W. *The junctional specializations of Sertoli cells in the seminiferous epithelium*. Anat. Rec. 1967, 158: 207-221.
17. Toyama Y. *Actin like filaments in the Sertoli cell junctional specialization in the swine and mouse testis*. Anat. Rec. 1976, 186: 477-492.
18. Clermont, Y. *Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig*. Fert. and Steril 1960, 11: 563-573.