UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

“HISTOLOGÍA REGIONAL, CUALI Y CUANTITATIVA DEL DESARROLLO EPIDIDIMARIO OVINO”

Por

Carla Patricia GENOVESE GONZALEZ

TESIS DE GRADO presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Doctor en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Tecnología de los Alimentos

MODALIDAD: Ensayo experimental

MONTEVIDEO
URUGUAY
2014

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de Mesa:……
Dr. Daniel Cavestany

Segundo Miembro (Tutor):……
Dr. Alejandro Bielli

Tercer Miembro:……
Dra. Lorena Lacuesta

Fecha: 17 de diciembre de 2014.

Autor:……
Bach. Patricia Genovese Gonzalez

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar esta tesis a mi familia, en especial a mis abuelos: Enrique y Serafina, a mis padres: Nelly y Waltin, y a mis hermanas: Leticia y Eva. Por los que ya no están se han esforzado ustedes, mi familia de amadas mujeres, mis pilares.

Quiero agradecer a mis amigos Claudia, Paul, Rodrigo y Victoria por su apoyo, paciencia y comprensión en los buenos y malos momentos.

Especialmente a CIDEC de Facultad de Veterinaria le agradezco haber sido contratada como ayudante de investigación con un proyecto que hoy es esta tesis.

A mis amigos mascotas que fueron mis primeros pacientes: Newton, Kunta, Catalina, Merlin, Mintaka, Galatea, Galileo y Thor.

Para finalizar quiero agradecer al Dr. Alejandro Bielli, mi orientador en esta tesis, mi maestro de ciencia, un gran compañero y gran amigo.

Como dijo el mejor científico de la historia de la humanidad Isaac Newton: "Si consigo ver más lejos es porque he conseguido auparme a hombros de gigantes"

¡Gracias mis gigantes!

Tabla de contenido

PÁGINA DE APROBACIÓN.....2
AGRADECIMIENTOS.....3
1. RESUMEN.....5
1.1. SUMMARY.....6
2.LISTA DE FIGURAS 8
3. INTRODUCCIÓN 9
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 10
5. HIPÓTESIS 17
6. OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES.....17
7. MATERIALES Y MÉTODOS 18
8.RESULTADOS 21
9. DISCUSIÓN 27
10. CONCLUSIONES 29
11. BIBLIOGRAFIA 30

1. RESUMEN

Desde el punto de vista reproductivo es importante saber cómo se desarrollan los órganos que componen el tracto genital y qué factores los influyen. Un órgano fundamental en la reproducción es el epidídimo, que protege, almacena y madura los espermatozoides producidos en los testículos. Para estudiar la histología regional, cuali y cuantitativa del desarrollo epididimario ovino, diez corderos no mellizos, nacidos en setiembre, fueron castrados mensualmente, entre los 3 y los 6 meses de edad. Al momento de la castración ambos testículos y epidídimos fueron pesados, muestreados, fijados y cortados longitudinalmente en 2 mitades, de forma que en al menos una de ellas se observara todas las regiones histológicas del órgano. Luego de procesados histológicamente se obtuvieron cortes de 6 µm de espesor. Se obtuvo un corte de todo el órgano en sentido longitudinal y abarcando todas sus regiones. Se confeccionó un mapa topográfico para el epidídimo izquierdo de cada animal, estableciendo la distribución y superficie ocupadas por cada región histológica, tomando como referencia las regiones anatómicas. Los mapas fueron ordenados tanto por el peso corporal de los animales, como por los pesos testiculares y epididimario. Utilizando los mismos mapas, se establecieron las características típicas de cada región, que posteriormente fueron evaluadas su morfometría regional. Las variables histológicas que se midieron fueron la altura del epitelio (HE), el diámetro del conducto epididimario (DCE), el diámetro de la luz del conducto epididimario (DLC) y el espesor de la capa muscular lisa que rodea al conducto (ECM) en las 7 regiones histológicas que se encuentran en el adulto y en todos los animales. Al agrupar los datos en tres grupos (epidídimos chicos, medianos y grandes) según su peso epididimario, el peso corporal fue distinto entre grupos (media±sem). Todas las variables histológicas mostraron diferencias entre los grupos de animales de epidídimos chicos y grandes. Al estudiar la distribución de las regiones histológicas se encontró que las regiones histológicas clásicas, descritas para el carnero adulto, están distribuidas en forma similar al adulto sólo en animales con peso epididimario relativamente alto (mayor o igual a 4 g). En los animales con epidídimos más livianos, se encontró regiones histológicas transitorias, que aparecían y luego desaparecían en epidídimos más pesados. Por otra parte, la distribución de las regiones (tanto transitorias como definitivas) varía en muchos casos de un individuo a otro, con cambios que acompañaban en términos generales los cambios en los pesos epididimarios. En conclusión, esta es la primera vez que se publica una descripción detallada de la histología cuantitativa del desarrollo epididimario ovino y que se detecta la existencia de regiones histológicas transitorias, así como el desplazamiento de las regiones histológicas hacia distal con respecto a las regiones anatómicas a lo largo del desarrollo epididimario. Esto indica que el desarrollo epididimario progresa de proximal a distal en el ovino.

1.1. SUMMARY

Studies regarding sheep physiology, histology and organ development have been conducted for decades. From an animal breeding perspective, it is important to know the development of the reproductive organs and their main influencing factors. The epididymis is essential for reproduction, since it protects; stores and matures sperm produced by the testes. In order to study both quali and quantitatively the regional histology of ovine epididymal development, 10 single-born lambs born in September, were castrated monthly, from a flock of 400 Corriedale mothers, between 3 and 6 months of age. At castration, both testes and epididymides were weighed, sampled, fixated and cut longitudinally into two halves, so as to expose, at least in one of the halves, all epididymal histological regions. After histological processing, 6-µm-thick histological sections were obtained, comprising all histological epididymal regions lengthwise. Topographical maps were elaborated for every lamb´s left epididymis, determining the surface and distribution of every histological region, as compared to anatomical regions. Maps were ordered according to body weight, as well as to testicular and epididymal weights. By using these same maps, we described morphometrically each region. The quantitative histological variables measured were epithelium height (HE), diameter of epididymal duct (DCE), diameter of epididymal duct lumen (DLC) and smooth muscle thickness surrounding the epididymal duct (ECM) for all 7 histological regions which were found both in the adult epididymis and in all developing epididymides. When resulting data were grouped (into small, medium and big epididymides) according to epididymal weight, body weight differed among groups (mean±sem). All histological variables were different between small and big epididymides groups. When studying histological regions distribution, we found that classical histological regions, as described for adult ovine epididymides, are located similarly to adult epididymides only in relatively heavy epididymides (< or = 4 g).nIn lambs with smaller epididymides, we found transitory histological regions, which disappeared in bigger epididymides. Furthermore, histological regions distribution (both transitory and permanent ones) varied frequently among lambs, with changes which, in general terms, accompanied changes in epididymal weight. In conclusion, this is the first report of a detailed description of the quantitative histology of the ovine epididymal development and of the existence of transitory histological regions, as well as the progressive displacement distally as compared to anatomical regions, along the epididymal development. This strongly indicates that the ovine epididymal development courses from proximal to distal.

RevisiónLinguistica

Prof. Adj. Carmen Silvia Gallo Muniz **TT EPE MDL**
Encargada del Área de Inglés
Facultad de Veterinaria
Universidad de la República

2. LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1: Esquema de las regiones anatómicas e histológicas (indicadas con letra E mayúscula o números arábigos) del epidídimo ovino. Modificado a partir de Nicander (1958). Página: 10.

Figura 2: Esquema sobre el desarrollo epididimario en etapas fetales. En A y B: esbozo gonadal indiferenciado. En figuras C –F: desarrollo testicular y epididimario (tomado de Noden, 1990). Página: 11.

Figura 3: Esquema general que representa los tipos celulares presentes en el epitelio epididimario y su localización (Robaire y col., 2006). Página: 12.

Figura 4: Esquema general del experimento. Página: 18.

Figura 5: Ejemplo de mapa que esquematiza las regiones histológicas y su distribución a lo largo de un epidídimo ovino adulto. Las regiones: E, 1, 2, 3 y el principio de la 4 se encuentran en la cabeza. Las regiones 4 y 5 están en el cuerpo y la región 6 en la cola. Página: 19.

Figura 6: A: medición a modo de ejemplo del diámetro del conducto epididimario con líneas negras y del diámetro de la luz del conducto, con líneas rojas punteadas. B: medición a modo de ejemplo del espesor de la capa muscular lisa. Página: 20.

Tabla 1: Peso testicular y epididimario y variables histológicas cuantitativas de epidídimos de corderos pre y post puberales analizados por fecha de muestreo. Dentro de una misma fila, valores no acompañados por un mismo literal son diferentes (P<0,05). Página: 22.

Tabla 2: Peso testicular y epididimario y variables histológicas cuantitativas de epidídimos de corderos pre y post puberales analizados según su peso epididimario. Dentro de una misma fila, valores no acompañados por un mismo literal son diferentes (P<0,05). Página: 23.

Figura 7: Mapa esquemático de la distribución de las regiones histológicas en epidídimos ovinos de peso creciente, muestreados entre los 90 y 180 días de edad. Página: 25.

Figura 8: Regiones histológicas que se encuentran en la cola de epidídimos del grupo medio, cuando se los ordenó por peso epididimario. Página: 26.

3. INTRODUCCIÓN

Importancia de la especie ovina en nuestro país.

La producción ovina ha representado un sector importante en la producción nacional y ha posicionado a nuestro país desde hace largo tiempo entre los principales productores del mundo. En la década anterior el stock disminuyó marcadamente, vinculado a la caída del precio internacional de la lana. En los últimos años se ha podido ver una alentadora recuperación. Posiblemente esta recuperación esté relacionada al rubro cárnico. Según el último informe de INAC, Uruguay tiene varios compradores entre los que se destacan China y Jordania, países que han aumentado fuertemente su consumo de carnes rojas. Un poco menos de la mitad de las exportaciones tienen como destino el MERCOSUR, y con este destino también han aumentado las exportaciones. Durante el año 2013 el stock ovino fue de 8.190.000 animales (DICOSE, 2014).

Por otra parte, los ovinos son animales que se sobreponen a condiciones adversas mucho mejor que otros animales de producción; sumado a esto, una importante porción de la superficie destinada a producción agrícola en nuestro país no es mejorable, y por lo tanto sigue siendo rentable en estas zonas la producción de ovinos.

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:

4.1. Morfología macroscópica del epididimo

El epidídimo es un órgano perteneciente al aparato reproductor masculino; en el ovino se encuentra dentro de la bolsa escrotal junto al testículo, unido a éste por el mesoepididimo, que deriva del peritoneo (Horst, 2005). Aunque desde el punto de vista macroscópico es un único órgano subdividido en tres regiones (cabeza, cuerpo y cola), desde el punto de vista histológico, el epidídimo consta de siete regiones en el caso del carnero (Nicander, 1958, ver fig. 1), las cuales tienen histología y funciones parcialmente distintas pero complementarias.

Fig. 1. Esquema de las regiones anatómicas e histológicas (indicadas con letra E mayúscula o números arábigos) del epidídimo ovino. Modificado a partir de Nicander (1958).

El epidídimo aloja la porción final de los conductillos eferentes (ubicados en la porción proximal de la cabeza del epidídimo) y todo el conducto epididimario, un conducto epitelial altamente enrollado que transcurre desde la cabeza del epidídimo hasta la cola, comunicando los conductillos eferentes con el conducto deferente.

activas en lo que respecta al transporte y secreción de pequeñas moléculas orgánicas, síntesis proteica y absorción de fluido, regulando la composición y el pH del líquido epididimario (Robaire y Hermo, 1988; Jones, 1999).

-Las **células basales** (presentes también a lo largo de todo el conducto epididimario) se describen como chatas y semiesféricas, encontrándose en la base del epitelio en contacto con la lámina basal. Su función no está claramente establecida y esto se debe, en parte, a la falta de marcadores selectivos para su estudio. Se cree que, por un lado, juegan un papel activo en la detoxificación de los productos de desecho del metabolismo de los espermatozoides (Veri y col., 1993) y que por otro, regulan la barrera hematoepididimaria, la cual impide que los espermatozoides que transcurren por la luz del conducto epididimario sean atacados por el sistema inmune (Martan, 1969; Leung y col., 2004).

-Las **células en halo** son linfocitos T (tanto CD4 como CD8): células pequeñas, con forma redondeada, citoplasma pálido y núcleo denso (Flickinger y col., 1997). Se encuentran a lo largo de todo el conducto epididimario y en varias posiciones dentro del epitelio, pero nunca se extienden por toda la altura del epitelio, desde la lámina basal hasta la superficie luminal (Robaire y Hermo, 1988).

-Las **células claras** tienen un gran actividad cenocítica y están presente en todas las regiones histológicas del epidídimo de varias especies. Su actividad cenocítica es mayor cuando tienen adyacentes a células principales y es muy marcada en la cola epididimaria. Tienen un rol importante en la acidificación del fluido luminal (Hermo y col., 1992). Estas células no se encuentran en el epidídimo ovino, y sus funciones son desempeñadas por las células principales.

-Las **células apicales** están ubicadas en la región apical del epitelio, se sabe que tienen capacidad de endocitosis de diferentes sustancias de la luz del órgano y producen enzimas proteolíticas. Se encuentran en regiones histológicas de cabeza y cola en las ratas (Adamali y Hermo, 1996).

El conducto epididimario está rodeado por una capa de músculo liso, que es progresivamente más ancha a medida que se avanza hacia la cola del epidídimo. Esta capa muscular es esencial para que ocurra el transporte de los espermatozoides a lo largo del conducto epididimario (Hinton y Paladino, 1995). Las células musculares lisas son ricas en receptores a la oxitocina. A nivel de la cola del epidídimo, la capa muscular es de gran importancia al momento de la eyaculación. El tejido intersticial del epidídimo es un tejido conjuntivo relativamente celular.

Existen descripciones de la microanatomía e histología del epidídimo en adultos de diferentes especies, en donde están presentes los conductillos eferentes en la primer región de la cabeza y luego se describe un número variable de regiones histológicas que se encuentran distribuidas a lo largo del órgano, y que terminan en el conducto deferente (en humanos: Piomboni, 1997; conejos: Nicander, 1957; bovinos y ovinos: Nicander, 1958)

Particularmente en los ovinos, existe una detallada descripción morfológica del epitelio, las esterocilias y su altura a lo largo de las regiones del epididimo adulto, que data de varias décadas (Nicander, 1958), así como un estudio histológico general con algunos datos de histología cuantitativa sobre el desarrollo del epidídimo ovino (Nilnophakoon, 1978).

4.4. Histofisiología epididimaria

El epidídimo es un órgano esencial para la actividad reproductiva normal de los vertebrados que practican la fertilización interna (Osman y Monzaly, 1976; Jones, 1998a; Cooper, 1999a). Cumple funciones de protección, transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides (Turner, 1979; Amann, 1987; Robaire, 1988; Russel y col., 2007). El medio luminal es muy complejo, altamente especializado, y cambia progresivamente a lo largo del conducto epididimario (Hinton y Palladino, 1995). En especial, la maduración de los espermatozoides requiere del pasaje de estos gametos por las diferentes regiones del órgano y requiere un determinado tiempo, implica que los espermatozoides adquieren motilidad y habilidad fecundante (Blandau y Rumery, 1964; Cooper y Yeung, 1999b y Cooper, 2007; Jones y col., 2007) por acción de moléculas (biocatalizadoras) secretadas por regiones especializadas en el epitelio del epidídimo, mientras que algunas de las moléculas secretadas a nivel epididimario se encontrarán dentro del plasma seminal (Hermo y col., 1992; Amann y col., 1993). Existe una serie de proteínas presentes en el lumen epididimario que son incorporadas por el espermatozoide. Uno de los mecanismos propuestos para su incorporación involucra vesículas llamadas epididimosomas. Los epididimosomas son partículas de membrana proteica multilaminar con composición lipídica. El mecanismo de secreción de estas vesículas al lumen epididimario sería de tipo apócrino y como parte de este proceso, se forman protrusiones en la membrana apical de las células principales del epidídimo, que contienen en su interior vesículas del citoplasma de estas células, de diversos tamaños. Una vez liberadas las protrusiones, se fragmentan y se liberan las vesículas al lumen del epidídimo (Cornwall y Hann, 2009). Estas proteínas finalmente son integradas a la membrana del

espermatozoide, más frecuentemente en la región acrosomal y la pieza media espermática (Sullivan y col, 2007).

El epitelio epididimario segrega a la luz del conducto tanto sustancias tomadas del torrente sanguíneo como sustancias sintetizadas por dicho epitelio, y tiene una gran capacidad de absorción de distintas sustancias que se encuentran en el fluido luminal (Moore y Bedford, 1979; Robaire y Viger, 1995). El almacenamiento de los espermatozoides ocurre mayormente en la cola epididimaria (Brooks, 1983 y Jones, 1998b). Para realizar sus funciones, el epidídimo mantiene un medio luminal especializado, en el que se encuentran los espermatozoides, necesitando andrógenos par dicha función (Robaire y Hamzeh, 2011).

A pesar de la importancia del epidídimo para la reproducción, se conoce muy poco sobre su desarrollo postnatal y prepuberal o sobre el desarrollo de las regiones histológicas de este órgano en los ovinos.

Justificación de las técnicas histológicas descriptivas y cuantitativas a utilizar

La histología descriptiva cualitativa estandarizada adecuadamente, es muy útil para describir topográficamente las regiones del epidídimo. Por otra parte, con la histología cuantitativa es posible medir con precisión y evaluar estadísticamente eventuales diferencias entre tejidos pertenecientes a distintos grupos experimentales (Russel, 1995). Actualmente existen paquetes informáticos que automatizan gran parte del trabajo. Utilizando técnicas morfométricas similares, se estudió el desarrollo y la diferenciación del epidídimo desde etapas fetales hasta la etapa adulta en humanos (De Miguel y col., 1998) y en ratas (Jiang y col., 1994), especie en la que incluso existen estudios morfométricos detallados sobre el desarrollo epididimario utilizando paquetes informáticos de análisis de imágenes (Limanowski y col., 2001). Por otra parte, existe una cierta vinculación entre la altura de los epitelios y su actividad secretora, demostrada para el epitelio epididimario del chimpancé (Smithwick y Young, 2001). Esto es un aspecto interesante, que permitirá utilizar la morfología cuantitativa del epitelio epididimario como referencia general del estado de actividad del mismo.

A lo largo de este trabajo fue necesario combinar métodos cuali y cuantitativos para hacer una descripción detallada y precisa de los cambios que ocurren durante el desarrollo post natal epididimario ovino.

5. HIPÓTESIS

5.1. El epidídimo ovino se diferencia de cabeza a cola y presenta a lo largo del desarrollo las mismas regiones histológicas que en el adulto.

5.2. Es posible describir la morfometría del epidídimo ovino de los 3 a los 6 meses de edad para cada región histológica.

6. OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar las características histológicas durante el desarrollo del epidídimo ovino.
.

Objetivos particulares:

1. Describir la ubicación topográfica de las regiones histológicas del epidídimo a lo largo de su desarrollo, desde los 3 hasta los 6 meces de edad.

2. Describir la morfometría del epidídimo ovino de los 3 a los 6 meses de edad para cada región histológica.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización, animales y diseño experimental

Los procedimientos a campo del experimento fueron llevados a cabo en el establecimiento del Sr. Adhemar Negrín, ubicado en Paso Antolín, ruta 22, km 163, Colonia, Uruguay. Diez corderos gestados únicos, nacidos en primavera (setiembre), fueron castrados mensualmente, a partir de un rebaño de 400 ovejas Corriedale, entre los 3 y los 6 meses de edad de los mismos utilizando 40 animales en total (ver figura 4). Los animales que se utilizaron nacieron en el mes de setiembre, cumpliendo los 6 meses de edad en febrero del siguiente año. A lo largo del verano transcurrió una fuerte sequía lloviendo el 58% del total en un período normal. Todos los animales fueron pesados mensualmente y al momento de tomar la muestra. Al momento de la castración ambos testículos y epidídimos fueron pesados y

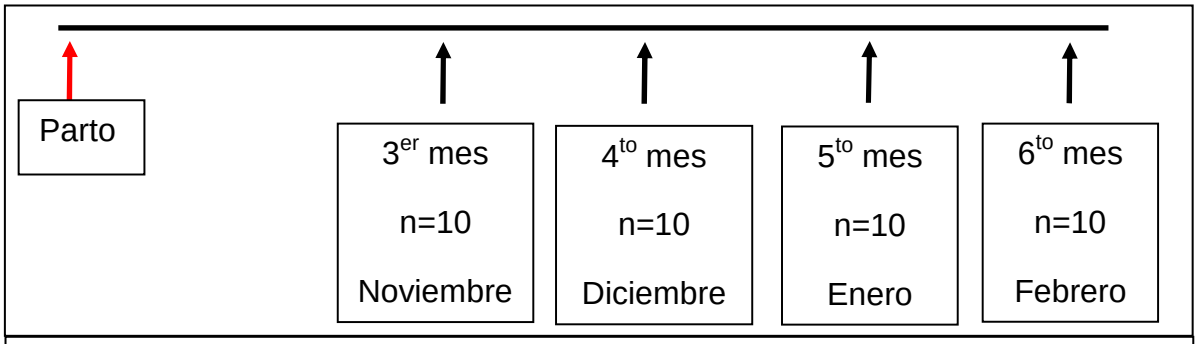

Fig. 4: Esquema general del diseño experimental

muestreados.

Procesamiento histológico

Los epidídimos fueron disecados, pesados, y cortados longitudinalmente en 2 mitades, de forma que en al menos una de ellas se observara todas las regiones histológicas del órgano. Cada una de las muestras fue fijada por inmersión en solución fijadora de Bouin durante unas 24 horas y luego almacenada en etanol 70º.

Teniendo en cuenta que este órgano tiene, en el ovino, una longitud mayor a la de los vidrios porta objeto, se dividió los epidídimos y se los procesó en diferentes bloques. Se fue registrando los extremos de cada submuestra de forma tal que se pudo hacer un gran mosaico entre todas sus partes. Las muestras fueron deshidratadas en concentraciones crecientes de etanol (70º, 95º y 100º),

sumergidas en cloroformo en campana de gases e incluidas en parafina para obtener bloques montados en casettes plásticos.

De estos bloques se obtuvieron cortes histológicos de 6 µm de espesor y por lo tanto se obtuvo un corte de todo el órgano en sentido longitudinal y abarcando todas sus regiones. Se coloreó con hematoxilina y eosina un juego de cortes correspondientes a cada animal.

Análisis topográfico descriptivo de las regiones histológicas

Se confeccionó un mapa topográfico para el epidídimo izquierdo de cada animal, estableciendo la distribución y superficie ocupadas por cada región histológica, tomando como referencia las regiones anatómicas (ver figura 5).

Una vez obtenidos los mapas, los mismos fueron ordenados tanto por el peso corporal de los animales, como por el peso testicular y el peso epididimario, buscando alguna correlación entre la topografía y estas variables anatómicas.

Por otra parte, utilizando los mismos mapas, pudimos establecer las características típicas de cada región, que posteriormente fueron medidas (morfometría regional).

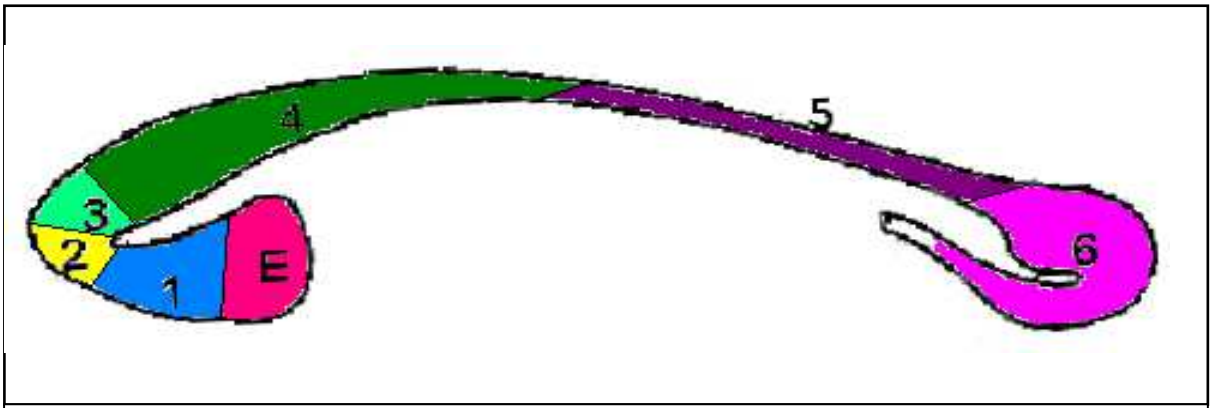

Fig. 5: Ejemplo de mapa que esquematiza las regiones histológicas y su distribución a lo largo de un epidídimo ovino adulto. Las regiones: E, 1, 2, 3 y el principio de la 4 se encuentran en la cabeza. Las regiones 4 y 5 están en el cuerpo y la región 6 en la cola.

Análisis morfométrico de las regiones histológicas típicas

Las variables histológicas que se midieron fueron la altura del epitelio (AE), el diámetro del conducto epididimario (DCE), el diámetro de la luz del conducto epididimario (DLC) y el espesor de la capa muscular lisa que rodea al conducto

(ECM) en las 7 regiones histológicas que se encuentran en el adulto (ver figura 5) y en todos los animales. No se midió dichas variables en las regiones transitorias que fueron detectadas en algún momento del desarrollo, en alguno de los epidídimos. Las mediciones fueron hechas sobre imágenes digitales obtenidas de los preparados, utilizando un sistema compuesto por microscopio óptico (Olympus BX50, Tokio, Japón) conectado a una video cámara (SSC-C158P, Tokio, Japón) y a una computadora que contenía el programa Image Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MA, USA).

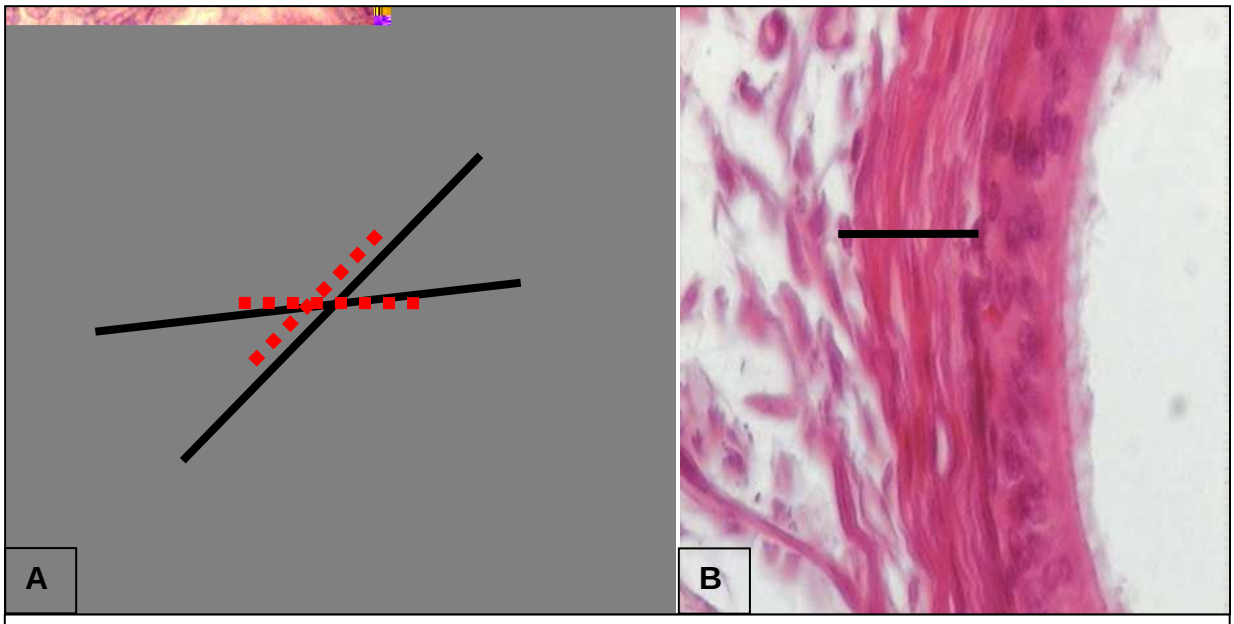

Figura 6: A: medición a modo de ejemplo del diámetro del conducto epididimario con líneas negras y con líneas rojas punteadas, del diámetro de la luz del conducto. B: medición a modo de ejemplo del espesor de la capa muscular lisa.

Se capturaron imágenes de 30 cortes transversales de conducto epididimario (considerando corte transversal aquel en el cual la medición de dos diámetros perpendiculares entre sí, arrojó menos de 10% de diferencia) para cada región (ver figura 6). El DCE y el DLC fueron medidos sobre imágenes tomadas a 100x. La AE y el ECM fueron determinadas en imágenes tomadas a mayor aumento (400x) y ampliadas al 200% (para aumentar la precisión de la medición) en 4 puntos aproximadamente (ver figura 6).

Análisis estadístico

Todos los datos correspondientes a los pesos corporal, testicular y epididimario, así como al análisis morfométrico, fueron expresados como media ± SEM. Los datos correspondientes al peso corporal, a las 7 regiones epididimarias de los corderos de una misma edad, y de cada región entre corderos de distintas edades, fueron analizados por ANOVA, y las diferencias significativas ($P<0.05$) entre cada región o edad fueron identificadas por comparaciones múltiples (test de las menores diferencias cuadráticas de Fisher).

8. RESULTADOS

Cuando los datos fueron analizados por fecha de muestreo, el peso corporal no aumentó durante el experimento (media±sem): noviembre 16,9 ± 1,3 kg, diciembre 17,2 ± 1,6 kg, enero 19,0 ± 3,3 kg y febrero 19,1 ± 3,3 kg. Lo mismo ocurrió con el peso testicular (Tabla 1). Los valores correspondientes al peso epididimario y a las variables histológicas cuantitativas pueden verse en la Tabla 1.

Por el contrario, al agrupar los datos en tres grupos según su peso epididimario, los resultados fueron los siguientes: el peso corporal fue distinto entre grupos (media±sem): epidídimos chicos 16,3 ± 1,4 kg, epidídimos medianos 18,5 ± 3,1 kg y epidídimos grandes 20,3 ± 3,2 kg. Los valores correspondientes al peso epididimario y a las variables histológicas cuantitativas pueden verse en la tabla 2.

Tabla 1. Peso testicular y epididimario y variables histológicas cuantitativas de epidídimos de corderos pre y post puberales analizados por fecha de muestreo. Dentro de una misma fila, valores no acompañados por un mismo literal son diferentes (P<0,05).

	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
	Peso testicular (g)			
	10,3±9,8	3,6±0,7	11±8,6	11,9±4,0
	Diámetro conducto epididimario (µm)			
Región E	96,6±17,5ab	80,7±8,3a	103,9±17,8b	110,5±26 ,3b
Región 1	132,3±39,5ab	102,4±8,3a	141,0±24,2b	130,4±15,0ab
Región 3	132,2±19,5ab	111,9±13,8a	145,7±39,5b	146,1±14,9b
Región 4	148,4±48,1	127,7±7,1	158,4±44,9	136,0±28,0
Región 5	210,2±33,0a	185,0±9,1ab	188,6±41,1ab	169,3±10,0b
Región 6	284,5±74,0ab	229,5±15,8a	2696±62,7ab	317,1±81,3b
	Altura epitelio epididimario (µm)			
Región E	50,0±2,9ab	45,2±7,0b	51,1±6,7ab	58,5±10,6b
Región 1	106,0±59,3a	30,5±4,3b	50,3±12,9ab	49,8±20, 5ab
Región 3	123,1±9,7a	30,5±5,5c	53,5±19,9ab	55,8±17,9 b
Región 4	59,1±19,0	53,1±9,1	72,4±28,1	58,1±26,3
Región 5	111,3±19,3a	97,6±3,4ab	91,6±10,9b	86,0±8,1 b
Región 6	103,0±6,2a	102,1±7,7a	71,7±14,6b	66,8±17,6 b

	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
	Peso epididimario (g)			
	3,0±1,8ª	0,9±0,4b	2,4±1,5ab	3,1±1,1a
	Diámetro luz conducto epididimario (µm)			
Región E	46,6±15,4	35,5±3,2	52,7±13,6	51,9±25,0
Región 1	86,6±11,9a	72,0±9,2a	90,7±17,8b	80,6±8,8ab
Región 3	90,9±12,9	81,5±11,0	92,2±25,2	90,3±27,0
Región 4	89,2±32,7	74,5±7,8	86,0±17,8	77,9±7,8
Región 5	98,9±33,2	87,4±7,2	97,0±36,0	83,3±6,1
Región 6	181,5±75,7ab	127,4±14,6a	197,9±74,1ab	250,3±92,7b
	Espesor músculo liso (µm)			
Región 1	15,8±1,9a	15,2±2,9a	16,2±3,2a	19,4±3,2a
Región 3	20,9±3,3	21,1±8,2	16,4±1,3	20,6±2,9
Región 4	20,7±2,9	18,6±2,4	18,1±2,2	18,3±1,0
Región 5	20,0±1,1a	21,0±2,4	23,0±3,3	24,9±1,9b
Región 6	62,7±5,5ab	59,0±5,1a	61,0±8,1a	69,5±6,0b

Tabla 2. Peso testicular y epididimario y variables histológicas cuantitativas de epidídimos de corderos pre y post puberales analizados según su peso epididimario. Dentro de una misma fila, valores no acompañados por un mismo literal son diferentes (P<0,05).

	Epids, Chicos	Epids, Medios	Epids, Gdes,
	Peso testicular (g)		
	3,5±0,8a	8,4±5,1b	18,0±7,3c
	Diámetro conducto epididimario (µm)		
Región E	80,0±7,3a	106,0±21,9b	109,7±112,4b
Región 1	109,1±12,9a	126,2±21,6ab	149,8±36,7b
Región 3	114,8±13,6a	136,4±23,2ab	154,1±35,5b
Región 4	126,1±8,8a	141,8±37,0ab	167,4±45,3b
Región 5	183,4±11,7a	177,8±21,6a	215,4±44,5b
Región 6	232,0±18,4a	269,5±73,5a	336,6±45,7b
	Altura epitelio epididimario (µm)		
Región E	45,6±5,8a	53,3±9,2ab	55,3±5,8b
Región 1	30,1±6,8a	58,7±28,2ab	93,2±59,9b
Región 3	45,3±32,8	60,0±30,7ab	96,4±43,0b
Región 4	54,3±8,3	61,2±26,8	69,6±23,4
Región 5	98,1±10,0	95,4±9,8	96,2±26,0
Región 6	98,5±17,9a	84,5±18,9ab	71,4±26,5b

	Epids, Chicos	Epids, Medios	Epids, Gdes,
	Peso epididimario (g)		
	0,9±0,2a	2,1±0,5b	4,6±0,6c
	Diámetro luz conducto epididimario (µm)		
Región E	34,4±4,5a	52,7±17,0b	54,4±17,9b
Región 1	77,0±11,3	81,9±14,4	90,7±14,8
Región 3	82,1±14,1	93,1±21,0	88,4±23,1
Región 4	71,8±9,3a	80,7±13,5ab	97,8±27,6b
Región 5	85,3±4,8ª	82,4±14,6ª	119,3±36,0b
Región 6	133,5±17,5a	185,0±87,2ª	265,2±42,2b
	Espesor músculo liso (µm)		
Región 1	15,1±2,7	17,5±2,9	16,7±2,1
Región 3	21,8±6,4	17,54±3,3	20,9±4,4
Región 4	17,7±1,6	19,1±2,3	20,2±2,8
Región 5	21,8±2,0	22,1±3,2	23,0±3,7
Región 6	57,6±4,7a	66,1±7,3b	63,3±5,7ab

Al estudiar la distribución de las regiones histológicas se encontró que las regiones histológicas clásicas, descritas para el carnero adulto, están distribuidas en forma similar al adulto sólo en animales con peso epididimario relativamente alto (mayor o igual a 4 g). En los animales con epidídimos más livianos, y al ordenar los mismos según su peso epididimario, se encontró regiones histológicas transitorias, que aparecían y luego desaparecían en epidídimos más pesados. Por otra parte, la distribución de las regiones (tanto las transitorias como las definitivas) varió en muchos casos de un individuo a otro, con cambios que acompañaron en términos generales los cambios en los pesos epididimarios. En la figura 6 se muestran varios ejemplos de ello, comparados con la distribución histológica del epidídimo adulto y con el rango de pesos hallados en carneros Corriedale jóvenes en el Uruguay (Castrillejo y col., 1995). En la figura 7 se muestra en imágenes las diferencias entre regiones transitorias y definitivas en animales prepuberes comparadas con las regiones histológicas del adulto.

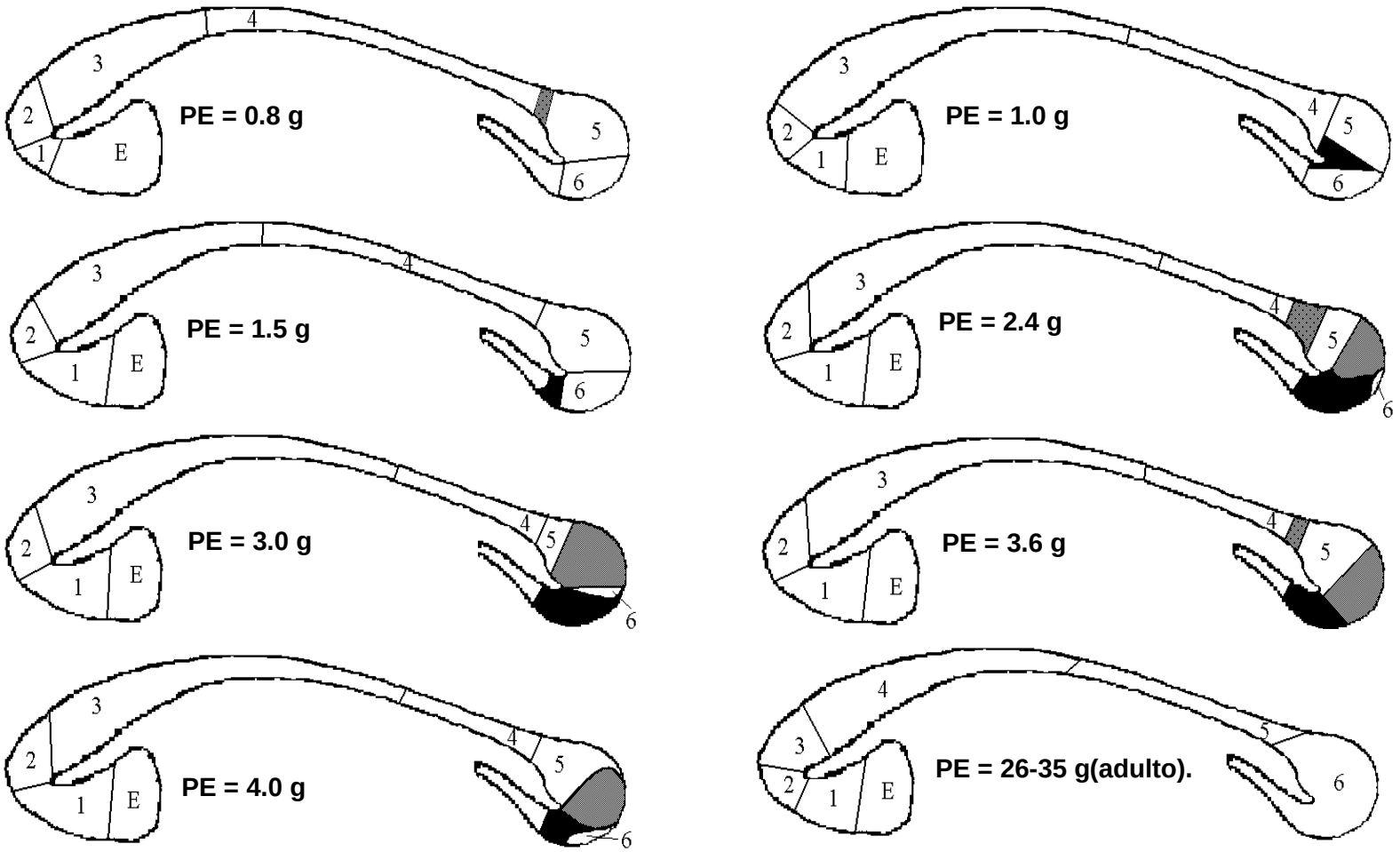

Fig. 7. Mapa esquemático de la distribución de las regiones histológicas en epidídimos ovinos de peso creciente (PE=peso epididimario), muestreados entre los 90 y 180 días de edad. Obsérvese la existencia de tres regiones transitorias (resaltadas en color gris o negro) en la porción distal del cuerpo y en la cola epididimarias, así como el progresivo desplazamiento de varias regiones histológicas hacia distal. El último esquema corresponde a la distribución de las regiones histológicas en el carnero adulto y no a material estudiado en el presente experimento.

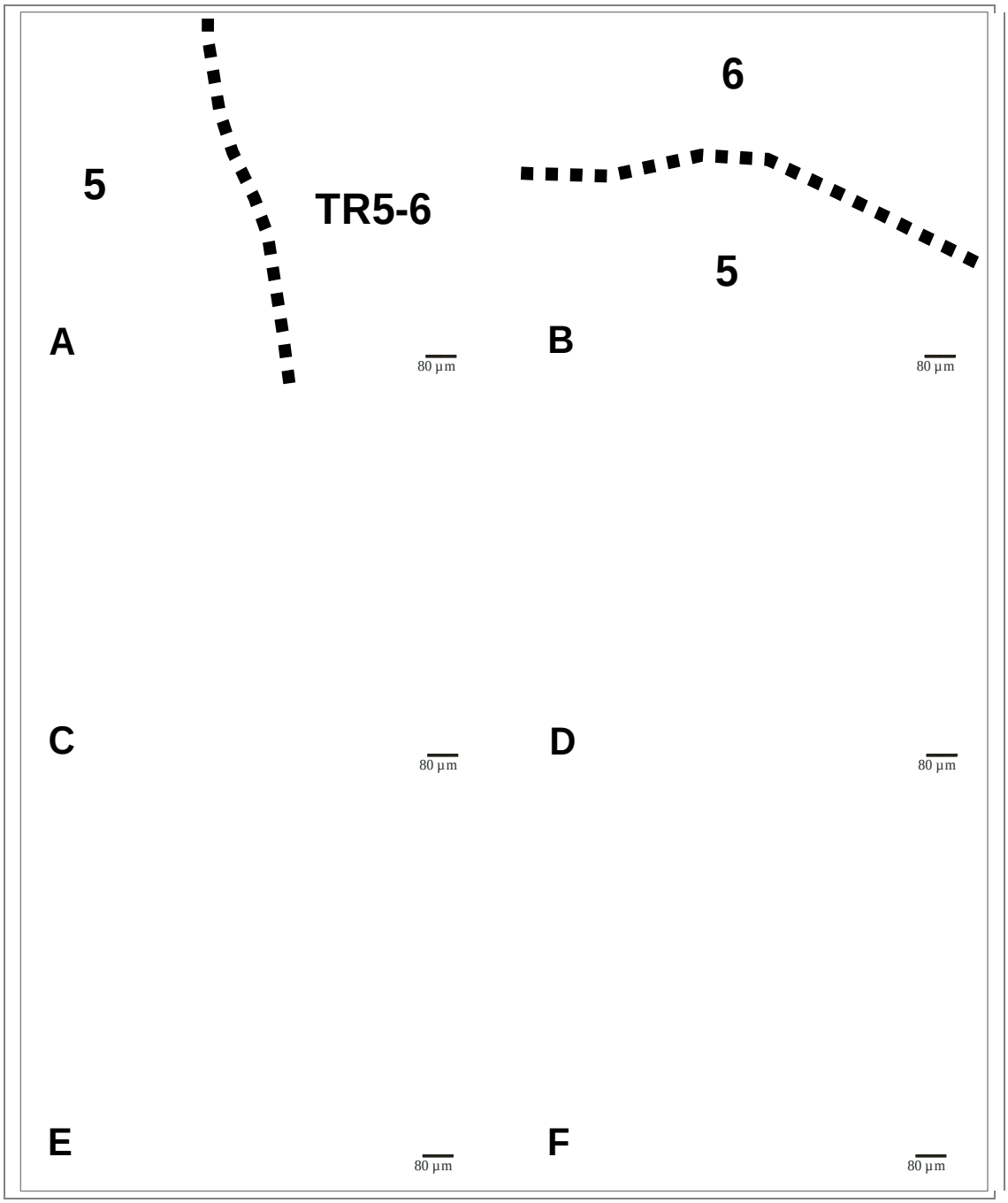

Figura 8: las imágenes ilustran las regiones histológicas que se encuentran en la cola de epidídimos del grupo con peso epididimario medio, imágenes A, B, C y D. Las imágenes E y F muestran en el mismo sector las características histológicas de un epidídimo adulto. En las imágenes A y B la línea punteada marca el límite entre regiones histológicas. La imagen C muestra la región 6, la imagen D muestra región en transición similar a región 6. La imagen E muestra la región 5 y la imagen F la región 6, ambas en el adulto, a título comparativo. Nótese el progresivo aumento en el diámetro de la luz del conducto epididimario

8. CONCLUSIONES

En conclusión, esta es la primera vez que se publica una descripción detallada de la histología cuantitativa del desarrollo epididimario ovino apoyada en un estudio estadístico, y que se detecta la existencia de regiones histológicas transitorias, así como el desplazamiento de las regiones histológicas hacia distal con respecto a las regiones anatómicas a lo largo del desarrollo epididimario. Esto indica que el desarrollo epididimario progresa de proximal a distal en el ovino.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Abdel-Raouf M. (1960). The postnatal development of the reproductive organs in bulls with special reference to puberty (including growth of the hypophysis and the adrenals). Acta Endocrinol Suppl (Copenh) 34(suppl 49):1-109.

2. Adamali HI, Hermo L. (1996). Apical and narrow cells are distinct cell types differing in their structure, distribution, and functions in the adult rat epididymis. J. Androl. 17: 208-222.

3. Amann RP, Hammerstedt RH and Veeramachaneni DN. (1993). The

43. Smithwick EB, Young LG. (2001). Histological effects of androgen deprivation on the adult chimpanzee epididymis. Tissue Cell. 33(5):450-61.

44. Sullivan R, Frenette G, Girouard J. (2007). Epididymosomes are involved in the acquisition of new sperm proteins during epididymal transit. Asian J Androl 9, 483-491.

45. Turner TT. (1979). On the epididymis and its function.Invest Urol. 16(5):311-21.

46. Veri JP, Hermo L, Robaire B.(1993). Immunocytochemical localization of the Yf subunit of glutathione S-transferase P shows regional variation in the staining of epithelial cells of the testis, efferent ducts, and epididymis of the male rat. J Androl. 14(1):23-44.

47. Wrobel KH, Fallenbacher E. (1974). Histological and histochemical studies on postnatal ontogenesis of the porcine epididymis. Zentralbl Veterinarmed C. 3(1):85-99.

48. Zamboni L, Upadhyay S. (1982). The contribution of the mesonephros to the development of the sheep fetal testis. American Jurnal of Anatomy. 165(3): 339-56.