

ESTUDIO POR MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE LA ESTRUCTURA DEL CONDUCTO DEFERENTE DEL GERBO (*MERIONES UNGUICULATUS*)

A SCANNING ELECTRON MICROSCOPE STUDY OF THE STRUCTURE OF THE VAS DEFERENS OF THE GERBIL (*MERIONES UNGUICULATUS*)

Antonio M Orsi¹, Selma M.M. Matheus¹, Luis A. D. Francia-Farje¹, Daniela C. Orsi² y Silvana M.B. Artoni³

1. Departamento de Anatomia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil. E-mail: anatomia@ibb.unesp.br. 2. Graduanda da Faculdade de Ciências Farmaceuticas da Universidade de Sao Paulo (USP), Ribeirao Preto, SP, Brasil. 3. Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, SP, Brasil.

RESUMEN

La estructura del conducto deferente (CD), del gerbo de Mongolia fue descrita mediante el uso de la microscopía electrónica de barrido (MEB), adoptándose una división segmentar en porciones proximal (adepididimaria), media (funicular) y distal (ad prostática), en la cual estas porciones del CD fueron identificadas principalmente por las características morfológicas y morfométricas de la pared tubular destacándose las diferencias relativas en la altura del epitelio de revestimiento tubular y en los grosores relativos de las tunicas mucosa y muscular en los tres segmentos. Aparentemente, todas las porciones en el CD del gerbo fueron asociadas con la emisión de espermatozoides observándose el almacenamiento de espermatozoides pre-eyaculación en la porción distal y en la porción media. También se observó el almacenamiento de espermatozoides, en la porción media del conducto, de acuerdo a los resultados presentados.

SUMMARY

The structure of the vas deferens of the Mongolian gerbil was described by scanning electron microscopy (SEM) with a segmental tubular division in proximal (adepididimic), middle (funicular) and distal (adprostatic) parts, distinguished by their morphological features including differences in epithelial cell heights, thickness of the mucosal and muscular coats. All the parts of the vas deferens were related to emission of spermatozoa, with spermatozoa storage and ejaculation in the distal part. Spermatozoa storage had been reported yet in the middle part, as it was verified by SEM findings.

Palabras Clave: Estructura, Morfología, Conducto deferente, Microscopía Electrónica de Barrido, Gerbo.

Keywords: Structure, Morphology, Vas deferens, Scanning Electron Microscopy, Gerbil.

INTRODUCCION

Algunos trabajos que describen la morfología y la histofisiología del CD humano y de algunos mamíferos de laboratorio fueron encontrados (Pabst, 1969; Baumgarten y Col., 1971; 1975; Warwick y Williams, 1979; Robaire y Hermo, 1988, Setchell y Col., 1994; Silva y Col., 1995; Vicentini y Orsi, 1998), existiendo una descripción clara sobre la morfología de la parte ampollar del CD del propio gerbo (Pinheiro, 1997). En términos fisiológicos, se sabe que el CD de mamíferos es responsable por dos etapas de la conducción de los espermatozoides

en la vía seminal: la emisión y la eyaculación (Baumgarten y Col., 1975; Hib y Col., 1982).

En el momento de la emisión, el fluido espermático y los espermatozoides son expelidos de la luz de la parte distal del conducto epididimario (*Cauda epididymidis*) que sufre violenta contracción (Pabst, 1969), y pasa de la luz del CD hacia la uretra pélvica mediante contracciones peristálticas cortas y potentes de las paredes musculares de estos conductos (Baumgarten y Col., 1971). Fue sugerida además, la presencia de un esfínter en la unión de los conductos epididimario y deferencial

(Hib y Col., 1982), impidiendo el reflujo de los espermatozoides y consecuentemente impulsando el contenido luminal del CD siempre para adelante, en dirección a la uretra pélvica cuando se realiza la eyaculación (Vanwelkenhuyzen, 1966; Pabst, 1969; Hib y Col., 1982).

Con base comparativa en estos estudios previos se puede analizar y discutir las características estructurales del CD del gerbo teniendo como objetivo inclusive hacer correlaciones morfofuncionales (histofisiológicas) interpretadas mediante observaciones realizadas y con soporte en estudios similares (Warwick y Williams, 1979; Hib y Col., 1982; Robaire y Hermo, 1988; Setchell y Col., 1994; Silva y Col. 1995; Vicentini y Orsi, 1998).

MATERIAL Y METODOS

Los CD utilizados para estudios estructurales en este trabajo fueron colectados de 8 gerbos (*Meriones unguiculatus*) adultos, de la variedad Aguti, que fueron sacrificados, mediante saturación anestésica con éter etílico, procediéndose a una toracotomía para perfusión arterial a través del ventrículo cardíaco izquierdo, seguida de laparotomía para la colecta de los órganos reproductores masculinos, por vía abdominal. Los CD bilaterales fueron disecados y sumergidos en los respectivos fijadores de perfusión arterial, siendo: formalina acuosa a 10% para estudios anatómicos, en 5 gerbos, inicialmente en estudios de mesoscopia (bajo lupa) y después en microscopía óptica. Para estudios en MEB, en los otros 3 roedores, se utilizó el fijador de Karnovsky (Karnovsky, 1965).

El material para la microscopía óptica, después de la reducción de las porciones proximal, media y distal de los CD fue procesado con inclusión de fragmentos de tejidos en parafina. Después, se hizo microtomía, con obtención de cortes histológicos de 5µm y luego se hicieron coloraciones con HE y tricrómico de Masson, y análisis en microscopio óptico Olympus BH-2.

En el material procesado para los estudios histológicos, se hicieron, con el uso de ocular micrométrica (10x), 5 medidas en 4 secciones histológicas transversales coloreadas con tricrómico de Masson, para cada porción (proximal, media y

distal) del CD de cada gerbo, en el material colectado de los 5 roedores, utilizándose la objetivo de 40x. Fueron medidas la altura del epitelio, el grosor de las túnicas mucosa e muscular (en µm) y los diámetros tubulares (en mm), en las tres porciones tubulares. Los datos numéricos fueron analizados con el cálculo del promedio aritmético y la desviación estándar para todas las variables analizadas.

Para MEB fueron utilizados fragmentos pequeños obtenidos de las 3 porciones de los CD de 3 gerbos, fijados en Karnovsky, que fueron cortados en diferentes planos. Los fragmentos de tejido fueron sometidos al procedimiento de rutina y fueron llevados a la obtención del punto crítico (*Balzers* CPD-010, Alemania), fueron después metalizados en oro (*Balzers* SCD-040, Alemania), analizados y documentados fotográficamente en un Microscopio Electrónico de Barrido Philips, SEM-515.

RESULTADOS

El CD del gerbo tiene una longitud total de 3.1 ± 0.5 cm y los diámetros tubulares medios son de 0.7 ± 0.2 mm en el segmento proximal; 0.9 ± 0.3 mm en el segmento intermediario y 1.1 ± 0.4 mm en el segmento distal. La pared del CD del gerbo está formada por tres capas sobrepuestas: mucosa interna, que rodea y delimita la luz tubular; muscular lisa intermedia y adventicia externa (Figs. 1, 2). La luz del conducto deferente está ocupado por un número elevado de espermatozoides en las porciones media (Fig. 3) y distal (Fig. 4).

En la luz del CD se observan pliegues longitudinales, formados por dobleces y elevaciones de la túnica mucosa (Fig. 2), sin embargo, ausentes en el segmento proximal (Fig. 5). El grosor promedio de la mucosa del conducto deferente aumenta desde la porción proximal hacia la distal. El epitelio del CD presenta altura mediana, medida al nivel de las células columnares principales, que se extienden desde la membrana basal hasta la luz tubular, con un comportamiento morfométrico similar al de la mucosa que reviste, en las tres porciones del conducto (Fig. 6).

La túnica muscular está formada predominantemente por dos estratos de músculo liso: circular interno y longitudinal externo, bien evidentes en

MEB, en las porciones media (Fig. 2) y distal, aunque poco evidente en la porción proximal (Fig. 5). El grosor promedio de la túnica muscular, medida en las tres porciones del CD, muestra un aumento constante desde la porción proximal, donde es más delgada, hacia las porciones media y distal, siendo en la distal más gruesa (Fig. 6).

La túnica adventicia del CD se dispone externamente al estrato longitudinal de la túnica muscular, estando a oulo por tejido conjuntivo, aparentemente con predominio de fibras y láminas colágenas dispuestas con diferentes orientaciones espaciales (Figs. 2, 5), por donde pasan pequeños vasos sanguíneos (Fig. 2), y pequeños nervios. La adventicia del CD del gerbo tiene una delimitación estratigráfica compleja, con cierta infiltración de tejido adiposo en su constitución (Fig. 1), tornándose difícil su medición, para efectos de análisis morfométrico.

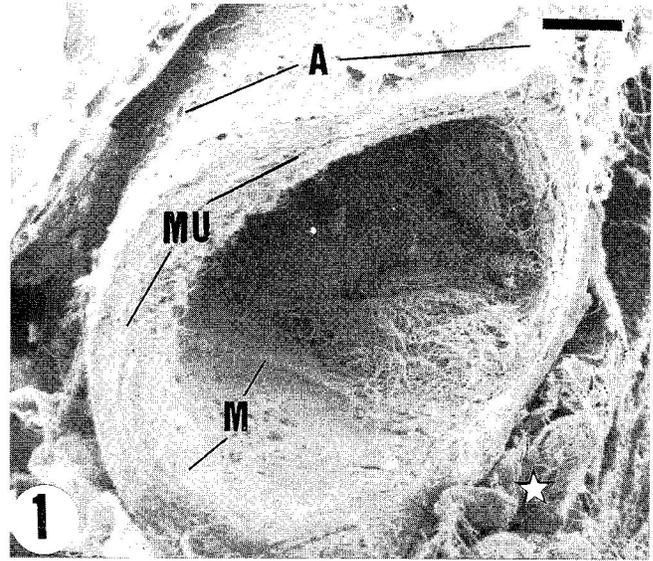
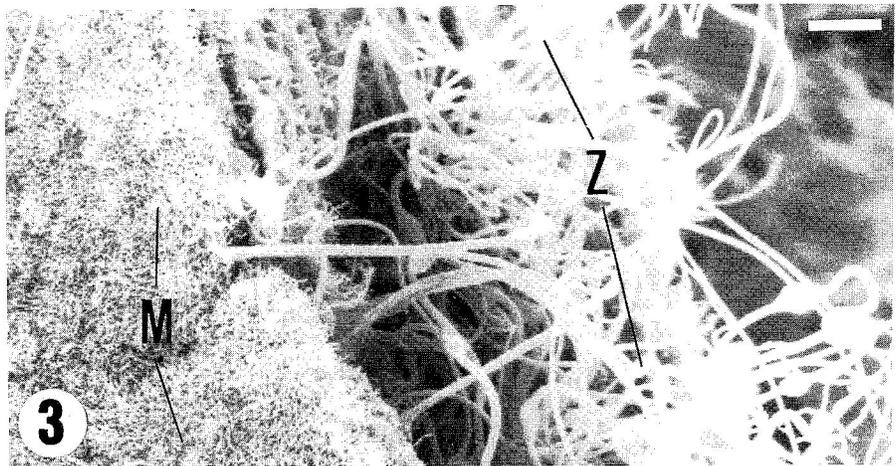
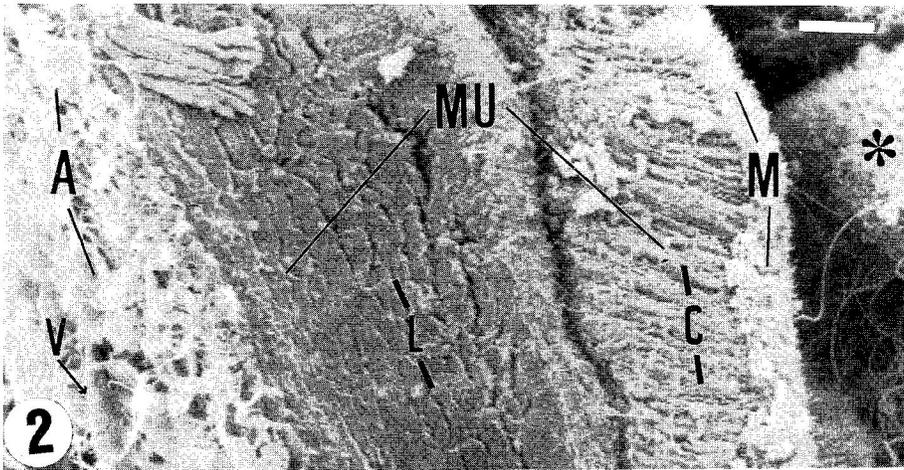


Figura 1. Sección obliqua del CD del gerbo siendo observadas las capas mucosa (M) muscular (MU) y adventicia (A); tejido areolar-adiposo (*). MEB, barra = 60µm



Figuras 2,3. Capas mucosa (M), muscular (MU) y adventicia (A) de la pared del CD del gerbo siendo indicados un pliegue (*) en la luz; capas longitudinal (L) y circular (C) en M, y un vaso sanguíneo (V) en A (2: barra = 30 µm), capa mucosa (M) y espermatozoides (Z) en la luz (3: barra = 10 µm).

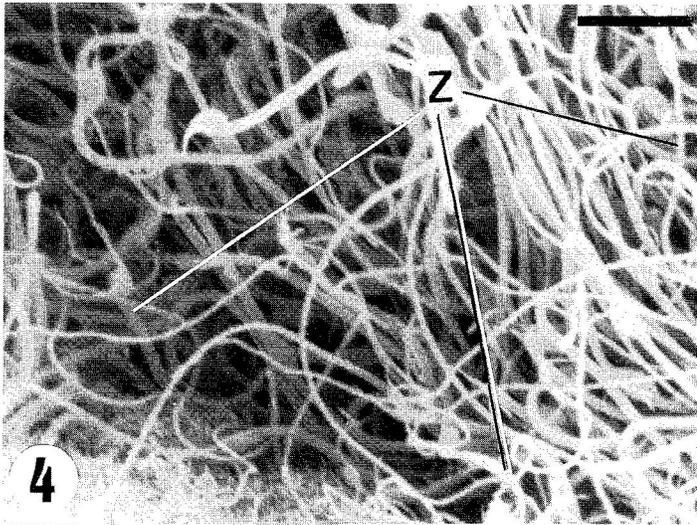


Figura 4. Espermatozoides almacenados o en almacenamiento en la luz de la porción distal del CD del gerbo. Barra = 20 µm.

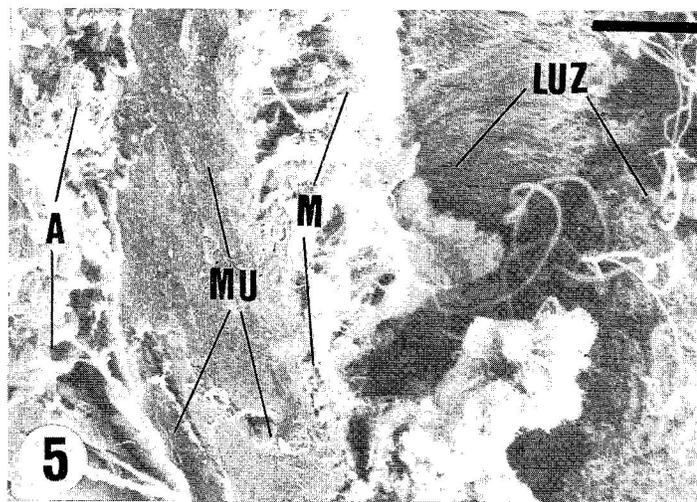


Figura 5. Capas mucosa (M), muscular simple (MU) y adventicia (A) de la porción proximal del CD del gerbo. Barra = 10µm.

DISCUSION

Con respecto a la estructura específica de la pared del conducto deferente del gerbo hay puntos destacables. La túnica adventicia, predominantemente formada por tejido conjuntivo denso no modelado, es de difícil delimitación, pues tiende a ser invadida, en cierta extensión, por una infiltración de tejido laxo y adiposo similar al que fue caracterizado en el CD del hámster (Silva y Col., 1995). Este aspecto justifica la dificultad para medir la túnica adventicia, que en parte es también serosa teniendo revestimiento peritoneal externo.

La túnica muscular lisa en el CD del gerbo está formada predominantemente por dos estratos bien definidos: uno interno con disposición circular y otro externo con disposición longitudinal. Esta fue, también, la configuración preponderante de la túnica muscular lisa observada en el CD de ratón isogénico (Vicentini y Orsi, 1998). Todavía hay en los mamíferos en general, una tendencia de mayor complejidad estructural, con tres estratos presentes en la muscular deferencial (Setchell y Col., 1994).

Como característica especial en la estructura de la pared en el CD del gerbo se observó un aumento progresivo y constante de todas las variables estructurales medidas, notándose que para Robaire y Hermo (1988), efectivamente, el epitelio vasodeferencial, en mamíferos, tiene un aumento progresivo desde los segmentos proximales hacia los distales del conducto. Esto se observó también en los grosores de las capas mucosa y muscular del CD del gerbo (ver Fig. 6).

Las características histomorfométricas descritas tienen aparentemente significados histofisiológicos,

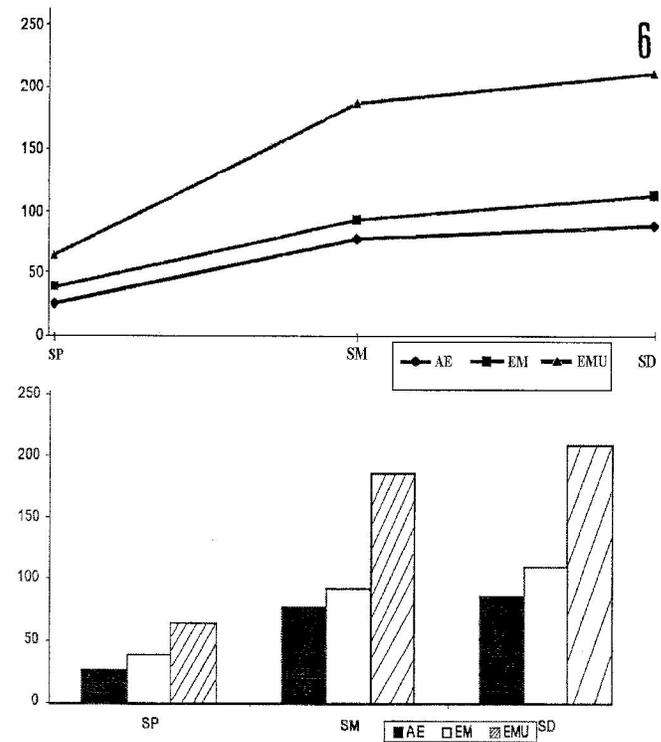


Figura 6. Gráfico mostrando, en micrometros, la altura del epitelio (AE) y grosores de las capas mucosa (M) y muscular (MU), en las porciones proximal (SP), media (SM) y distal (SD), del CD del gerbo (cálculo del promedio aritmético).

lidad de la túnica muscular en la pared de las porciones distales del conducto, buscando la emisión de los espermatozoides y la eyaculación del semen. En este sentido, hay soportes fisiológicos en los trabajos de Vanwelkenhuyzen (1966); Pabst (1969); Baumgarten y Col. (1971, 1975); Hib y Col. (1982).

Se suman a las funciones musculares del conducto deferente, la capacidad de la parte distal de este tubo en almacenar espermatozoides (Warwick y Williams, 1979; Hib y Col., 1982), tesis con la cual se concuerda con base en las observaciones realizadas en MEB. Además, en la porción media del CD del gerbo, las observaciones de MEB permitieron, en nivel teórico, suponer que este segmento sea también útil para el almacenaje de espermatozoides, previamente a su emisión y para la eyaculación.

La eyaculación parece ocurrir mediante violenta contracción de la parte distal de la pared del CD, justificando su gruesa túnica muscular, siendo precedida de contracción ya observada en las porciones proximal y media del conducto, por medio de

una "onda de contractibilidad" desde el segmento distal hacia el proximal del CD (Vanwelkenhuyzen, 1966, Hib y Col., 1982).

Luego, la fase final de emisión de los espermatozoides presupone una onda contráctil que "barre" el CD en su extensión, emitiendo los espermatozoides desde la porción distal hacia la uretra pélvica. Por otro lado, los espermatozoides presentes en la porción media son constantemente emitidos a la porción distal y a su parte ampollar (ampolla del CD), donde tal vez se almacenan (Warwick y Williams, 1979, Hib y Col., 1982), y complementan su capacitación para la fertilización con base en las interpretaciones de Hib y Col. (1982).

AGRADECIMIENTOS

A la CNPq por el soporte financiero parcial de este trabajo (Proc. 30.1242/80 demanda 08/96), y al Sr. Nivaldo A. Basso del Centro de Microscopía Electrónica de la UNESP en Botucatu - SP - Brasil, por el apoyo técnico.

LITERATURA CITADA

- BAUMGARTEN, H.G., A.F. HOLSTEIN Y E. ROSENGREN
1971. Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 120: 37-79.
- BAUMGARTEN, H.G., C.J. OWMAN Y N.O. SJÖBERG.
1975. Neural mechanisms in male fertility. In: SCIARRA, C. ; C. MARKLAND, Y J.J. SPIEDEL. *Control of male fertility*. New York, Harper & Row, p. 26-40.
- HIB, J., R. PONZIO Y O. VILAR.
1982. Contractility of the rat cauda epididymidis and vas deferens during seminal emission. *J. Reprod. Fert.*, 66: 47-50.
- KARNOVSKY, M.J.
1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.*, 27: 137-138.
- PABST, R.
1969. Untersuchungen über Bau und Funktion des menschlichen Samenleiters. *Z. Anat. Entwickl.-Gesch.*, 129: 154-176.
- PINHEIRO, P.F.F.
1997. Anatomia e histologia da vesícula seminal, da glândula de coagulação, da glândula do ducto deferente, e dos lobos ventral e dorsolateral da próstata do gerbilo da Mongolia (*Meriones unguiculatus*). Botucatu, UNESP (Monografia - Graduação em Ciências Biológicas), 60p.
- ROBAIRE, B. Y L. HERMO
1988. Efferent ducts, epididymis, and vas deferens: structure, functions, and their regulation. In: KONOBIL, E. Y J.D. NEILL (eds.) *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, v. 1, p. 999-1080.
- SETCHELL B.P., S. MADDOCKS, S. Y D.E. BROOKS
1994. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. In: KNOBIL, E. Y J.D. NEILL (eds.) *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press, 2th. ed., v. 1, p. 1063-1175.
- SILVA, T.P., A.M. ORSI Y E.R.C. GOMES
1995. Características morfológicas do ducto deferente do hamster dourado (*Mesocricetus auratus*). *Rev. Ciênc. Bioméd., Sao Paulo*, 16: 37-45.
- VANWELKENHUYZEN, P.
1966. Le motilité du canal deferent. *Acta Urol. Belg.*, 34: 385-466.
- VICENTINI, I.B.F. Y A.M. ORSI.
1998. Características morfológicas do ducto deferente do camungongo negro isogênico (*Mus musculus*). *Acta Biol. Leopoldensia, Sao Leopoldo*, 20: 137-146.
- WARWICK, R. Y P. L. WILLIAMS.
1979. *Gray Anatomia*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, v.2.