

Nº 107  
C.E.



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO DEL GLICEROL A NIVEL TESTICULAR  
EN RATAS

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

**JORGE HERNANDEZ ESPINOSA**

ASESOR: M.V.Z. RAFAEL HERNANDEZ GONZALEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA.

1992

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	2
MATERIAL Y METODOS .....	6
RESULTADOS .....	12
DISCUSION .....	16
LITERATURA CITADA .....	18
CUADROS .....	21
FIGURAS .....	24

RESUMEN

HERNANDEZ ESPINOSA, JORGE. Efecto del glicerol a nivel testicular en ratas. (Bajo la dirección de: Rafael Hernández González).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación única e intratesticular del glicerol a dosis de 12.5  $\mu$ l y 25  $\mu$ l en animales prepúberes y adultos. Se emplearon 41 ratas machos cepa F 344, mantenidas bajo condiciones ambientales de bioterio, que fueron divididas en tres grupos. Un grupo de 90 días de edad, recibió una dosis de glicerol de 12.5  $\mu$ l, otro de 30 días recibió la misma dosis y un tercero, de 30 días de edad, se sometió a una dosis de glicerol de 25  $\mu$ l. La unidad experimental fue el testículo derecho y el testículo control fue el izquierdo. Todos los animales se sacrificaron a las cuatro semanas postratamiento. Se recolectaron y pesaron los testículos y se obtuvo su volumen aproximado. A un animal de cada grupo también se le recolectaron muestras de hígado, riñón y pulmón. El siguiente paso fue el procesado de las muestras mediante la técnica histológica de inclusión en parafina. Se emplearon cuatro criterios de clasificación para evaluar el daño testicular. Se usó la técnica de planimetría para calcular los porcentajes de lesión testicular por grupo. El análisis estadístico se realizó mediante pruebas de t de student,  $J_1^2$  y ANDEVA. En los testículos de los animales de los grupos I y III se observaron imágenes de los cuatro criterios establecidos para evaluar el daño testicular; en el grupo II, sólo se observaron dos de las cuatro imágenes establecidas para su evaluación. Los animales de 90 días de edad, que recibieron una dosis de 12.5  $\mu$ l, mostraron un porcentaje de lesión testicular similar al de los animales prepúberes, a los que se les administraron 25  $\mu$ l (18.6 % y 16.97 % respectivamente). El grupo de animales de 30 días de edad sometido a una dosis de 12.5  $\mu$ l sólo presentó un porcentaje de lesión promedio de 2.22 %. Se concluye que el glicerol, tras su uso intratesticular en animales adultos como en prepúberes a dosis bajas ocasiona un daño similar al que se presenta al emplearlo a dosis altas en animales adultos.

## INTRODUCCION

En el estudio de la biología de los mamíferos se han venido incrementando en los últimos años los trabajos e investigaciones realizadas sobre el control de la reproducción. Esto debido a los problemas de tipo socio-político, económico y de salud que ha traído la sobrepoblación tanto de seres humanos como de especies animales que afectan la ecología y la salud humana en diversas regiones del mundo. Por lo que se requiere instrumentar y difundir medidas y técnicas para el control de la población. Esta necesidad ya ha sido expresada y parcialmente satisfecha, pues este control se ha podido establecer, en cierta medida, con la utilización de técnicas quirúrgicas y no quirúrgicas. Dentro de las técnicas quirúrgicas se han aplicado en el macho la vasectomía y la orquitectomía, mientras que en la hembra se realiza la ovariectomía y la salpingectomía. (12)

Las técnicas no quirúrgicas (tratamientos con agentes químicos) básicamente se han aplicado en las hembras utilizando hormonas y análogos hormonales que afectan la ovulación y la implantación del embrión o bien mediante el uso de sustancias espermicidas, mientras que en los machos la esterilización se ha provocado experimentalmente mediante la utilización de sustancias como: hidroxiurea (15), alfa-clorohidrin (4,15), gosipol (13), ácido láctico (5), dexametasona (11,14), ciclosporina A (2), cloruro de sodio (9), glucosa (9), acetato de megestrol (10) y glicerol

(9,14,15,16,17,18,19). Las investigaciones anteriores han tratado de encontrar una sustancia que sea capaz de causar esterilidad en el macho sin la consecuencia de sufrir efectos secundarios a corto o a largo plazo. El principal problema a nivel testicular que se ha observado en dichas investigaciones, es la reducción de tamaño que sufren las gónadas al dañarse las células de Leydig o intersticiales, ocasionando una falla en la producción de testosterona, hormona responsable de mantener en combinación con otras la funcionalidad testicular (7) (Figura 1).

El glicerol es un alcohol trihidrico considerado como un agente polihidroxi demulcente, de un elevado peso molecular, miscible en agua y alcohol, empleado ampliamente como vehículo en preparaciones de aplicación cutánea, actuando como agente higroscópico. Posee la propiedad de absorber agua, por lo que al emplearse a concentraciones elevadas produce deshidratación e irritación local, de ahí su empleo para facilitar la evacuación intestinal al ser utilizado por vía rectal. Por vía oral, se ha empleado en el tratamiento de edema cerebral y de glaucoma.(6)

Los análogos del glicerol como son el etilenglicol y el propilenglicol resultan ser nefrotóxicos y hepatotóxicos en mayor proporción al compuesto original.(6,19)

En el caso de la administración intratesticular de glicerol se ha observado que este produce daño de los túbulos seminíferos sin afectar la producción de testosterona y el volumen testicular, siendo el daño producido dosis

dependiente.(14)

A dosis de 200  $\mu$ l de glicerol o más se produce severo daño en los túbulos seminíferos mientras que dosis por abajo de los 50  $\mu$ l sólo producen un moderado daño testicular.(14,15) Lo cual sugiere que a dosis más bajas que las empleadas por los autores pudieran tener efectos sobre la espermatogénesis sin dañar células de Leydig y los niveles séricos de testosterona. Además, no se ha explorado el efecto de la administración de este producto en animales prepúberes en los cuales la espermatogénesis no se ha iniciado.

Por otra parte, la descripción de las lesiones y áreas testiculares afectadas en trabajos previos, ha sido muy subjetiva al utilizar criterios de severo, moderado y leve, los cuales no son factibles de cuantificar y no permiten establecer niveles de comparación estadística en grupos de diferentes edades y tratamientos.

El propósito de este trabajo es el de determinar en forma cuantitativa y cualitativa el efecto del glicerol en testículo de rata al utilizar dosis bajas de esta sustancia en animales adultos y prepúberes, como parte del proceso para establecer un modelo animal que explique el mecanismo de acción del glicerol, duración de su efecto y reversibilidad del mismo, para su posterior aplicación en especies domésticas o en fauna nociva, como una medida de control de la población.

#### HIPOTESIS

La administración intratesticular de glicerol a dosis de 12.5  $\mu$ l y de 25  $\mu$ l afecta la actividad espermatogénica sin

alterar la estructura de las células de Leydig o intersticiales.

#### OBJETIVO

Determinar a nivel histológico los cambios testiculares que produce la inyección intratesticular del glicerol en ratas prepúberes y adultas.



#### MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 41 ratas machos cepa Fisher 344, de 30 y 90 días de edad mantenidas bajo condiciones ambientales de bioterio con una temperatura fluctuante entre los 19.05 C como mínima y 20.6 C como máxima, humedad relativa promedio de 51 %  $\pm$  10 %, con 15 a 20 recambios de aire por hora y periodo de horas luz/obscuridad de 12 horas. Todos los animales recibieron durante el estudio alimento balanceado comercial pastillado administrado *ad libitum* y libre acceso a agua de bebida acidificada con HCl a pH de 2.5.

Todos los animales provinieron de camadas destetadas a los 21 días y se alojaron durante el estudio en forma individual en cajas de acrílico transparente, con una superficie de piso de 24.6 cm<sup>2</sup> y tapa de barras metálicas de alambre galvanizado. Se utilizó como material de cama viruta de madera, con tres cambios por semana.

Al inicio del estudio los animales se dividieron en tres grupos de 12 animales cada uno, con excepción del grupo I que incluyó 15 animales debido a fallas en el procesamiento histológico de las muestras.

Se consideró el empleo de 12 repeticiones por grupo, ya que al trabajar con una cepa endogámica se reduce el número de animales utilizados por presentar entre ellos isogenicidad y homocigocidad, aunado a la revisión de la literatura en la que se muestra que los efectos que ocasiona la utilización de agentes similares al empleado a nivel testicular, son muy específicos y definidos. (1,9,)

Todos los animales fueron trabajados siempre bajo condiciones de anestesia general utilizando para ello hidroccloruro de xilacina a una dosis de 3 mg/kg por vía intraperitoneal y clorhidrato de ketamina a razón de 10 mg/kg por vía intraperitoneal.

Previa asepsia del área, cada grupo recibió uno de los siguientes tratamientos: Grupo I: animales de 90 días de edad, dosis intratesticular de 12.5  $\mu$ l de glicerol\* cbp 0.1 ml; grupo II: animales de 30 días de edad, dosis intratesticular de 12.5  $\mu$ l de glicerol\* cbp 0.05 ml; grupo III; animales de 30 días de edad, dosis intratesticular de 25  $\mu$ l de glicerol\* cbp 0.05 ml (Cuadro 1).

El vehículo que se utilizó fue agua destilada.

El volumen total de la solución que se empleó, se determinó mediante la observación del experimentador en la capacidad de resistencia a la sustancia por parte de los testículos de acuerdo a la edad de los animales. Para ello se trabajó un animal de 30 días y otro de 90 días y se estableció la utilización de un volumen de 0.05 ml y de 0.1 ml respectivamente.

Debido a que se buscó determinar el efecto del glicerol con una sola administración el modelo es de naturaleza lineal, siendo la unidad experimental para todas las repeticiones el testículo derecho. La aplicación se realizó a nivel ecuatorial y central, quedando como testículos controles los izquierdos,

---

\* Glicerina. Merck 99 % pureza, 1 ml = 1.25 g , Pb < 5 ppm , Fe < 5 ppm, Mg < 5 ppm , densidad 1.26  $\pm$  .01 g por ml. No detectadas proteasas ni nucleasas.

en los cuales se les administró 0.05 ml de agua destilada en los animales de 30 días y 0.1 ml en los de 90 días.

La aplicación se realizó empleando jeringas estériles desechables tipo insulínico y aguja del número 25.

Durante cuatro semanas posadministración se registraron las condiciones ambientales de temperatura, porcentaje de humedad relativa, horas de luz y los consumos voluntarios *per capita* de agua y alimento, así como la conducta individual mostrada.

Al término de este período se registró el peso somático de los roedores y se sacrificaron en cámara de gases por saturación de aire con éter sulfúrico medicinal.

Posteriormente se lavó la región escrotal, se recolectaron los testículos y se pesaron sin epidídimo, después, con el empleo de un vernier se midió la longitud y el ancho de cada testículo para ser calculado el volumen de cada uno de ellos, mediante la aplicación de la siguiente fórmula utilizada para cuerpos elípticos.: Volumen =  $1.33 \hat{\pi} ab^2$  en donde:

$$\hat{\pi} = 3.1416$$

a = 1/2 de la longitud.

b = (1/2 del ancho)<sup>2</sup>

Las muestras recolectadas se fijaron en solución de Bouin, la cual es una solución fijadora específica para tejidos blandos que ocasiona un bajo índice de retracción sobre la muestra (8) y se mantuvieron en ella durante 12 horas, posteriormente se cortaron las muestras en porciones más pequeñas (0.5 cm<sup>3</sup> aproximadamente) y se sumergieron en etanol al 70 % , se procesaron mediante la técnica de inclusión en parafina, se

les aclaró con xilol y se impregnaron con parafina líquida a 58 C, estos tres pasos últimos se realizaron con la ayuda de un procesador automático de tejidos, al término del procesamiento las muestras se incluyeron en parafina líquida a 58 C y se realizó su corte a un grosor de 5 micrómetros con un micrótomo de rotación.

Las técnicas empleadas para la tinción de las muestras fueron hematoxilina y eosina (H y E) y la del ácido peryódico de Shiff (P.A.S.), finalmente a cada laminilla se le colocó un cubreobjetos utilizando como medio de montaje resina sintética.

La observación de las preparaciones histológicas con un microscopio de tipo fotónico mostró que de los tres grupos sólo los testículos experimentales presentaron zonas de lesión y que en los testículos controles no existió lesión alguna (Figura 7), por lo que se procedió a proyectar la imagen de cada laminilla de los testículos derechos sobre pliegos de papel bond cuadrulado, con el empleo de un proyector\*, con adaptador para revólver y lentes objetivas de microscopio. La distancia que se estableció entre la pantalla y la base del proyector fue de 88 cm y el lente objetivo que se utilizó fue el panorámico 3.2 X.

De esta manera se delimitaron sobre la pantalla las imágenes de la superficie testicular total, así como las zonas de lesión presentes en cada laminilla, siendo necesario trazar sobre el cubreobjetos de cada preparación una línea divisoria

---

\* Proyector marca Leitz, modelo Prado 80.

con el fin de proyectar por mitades la imagen completa de cada testículo.

Con lo anterior, se realizó para cada laminilla un estudio de su imagen delineada sobre el papel mediante la técnica de planimetría y se obtuvo un valor numérico para la superficie testicular total y otro para la superficie de lesión presente. Posteriormente, se emplearon reglas de tres confrontando entre sí los valores anteriores y se obtuvieron los porcentajes de lesión para cada testículo tratado.

El siguiente paso fue la evaluación del daño testicular presente, bajo el criterio de las siguientes cuatro categorías: Categoría 1, presencia en túbulos seminíferos de células germinales, espermatogénesis completa, células intersticiales y células de Sertoli; categoría 2, presencia en túbulos seminíferos de células germinales, células intersticiales y células de Sertoli, categoría 3, presencia en túbulos seminíferos de células germinales y células intersticiales y categoría 4, presencia de células intersticiales y ausencia en túbulos de células de la línea espermiática y células de Sertoli (Cuadro 2).

La categoría 1 es la más próxima a la imagen normal testicular y la cuatro es la categoría con el grado de lesión más severo. Tales categorías fueron sometidas a pruebas estadísticas de ji cuadrada, siendo el nivel de medición empleado para estas observaciones no paramétricas las escalas nominal y ordinal. Después, se tomaron microfotografías a las laminillas, mediante el uso de un fotomicroscopio marca Wild Leitz, modelo

MP 548.

El análisis estadístico de tipo paramétrico se realizó sobre los valores obtenidos del peso somático, peso testicular, volumen testicular y porcentaje de lesión.

El nivel de medición que se empleó en estas mediciones fue de tipo continuo; las pruebas estadísticas con las que se evaluaron fueron la t de student y el análisis de varianza. El nivel de significancia que se consideró fue menor 0.5.

El control del análisis estadístico se llevó a cabo realizando una distribución aleatoria en grupos y mediante la determinación de variaciones no significativas en cuanto al tamaño del grupo y el peso de los animales.

Finalmente, se seleccionó un animal por grupo al que se le recolectaron muestras de hígado, pulmón y riñón, en los que se estudió ausencia o presencia de lesiones, con la finalidad de corroborar que el efecto que ocasiona la administración intratesticular del glicerol es exclusivamente de tipo local (9). Las muestras se fijaron en formalina y se procesaron por la misma técnica empleada en las muestras testiculares, para también obtener fotomicrografías de las laminillas.

RESULTADOS

GRUPO I

En este grupo el consumo de alimento y líquido en promedio *per capita* fue de 350 g y 800 ml respectivamente, durante las cuatro semanas del periodo experimental (Figura 2).

El promedio de peso somático al sacrificio fue de 301.2 g, con una S\* de 11.14 (Figura 3).

El peso testicular promedio al momento de su recolección fue para los testículos tratados de 1.2 g con una S de .158 y en los testículos controles se observó una media de 1.54 g con una S de .128 (Figura 4). Estos datos al ser sometidos estadísticamente a la prueba de t de student no presentaron diferencia ( $t=.050$ ) ( $p=1.6$ ).

El volumen medio calculado para los testículos derechos fue de 1.08 cm<sup>3</sup> con una S de .426, mientras que los testículos izquierdos tuvieron una media de 1.20 cm<sup>3</sup> con una S de .218 (Figura 5).

Estos valores, al ser confrontados estadísticamente mediante la prueba de t de student no mostraron diferencia significativa ( $t=.923$ ) ( $p=1.65$ ).

El porcentaje promedio de lesión presente fue de 18.66 % con una S de 9.17 (Figura 6).

Para los cálculos del peso somático, consumo de agua, alimento, peso y volumen testicular se realizaron con base en 15 repeticiones, mientras que el cálculo del porcentaje de lesión y la descripción histológica se hicieron con base en 12

---

\*S= Desviación Estándar según Daniel, W.W. (3).

repeticiones, por fallas en el procesado de tres muestras.

Los testículos tratados mostraron imágenes con los cuatro criterios establecidos para clasificar el daño producido por el glicerol en su parénquima (Cuadro 3)(Figura 8).

El análisis estadístico de las observaciones anteriores por la prueba de ji cuadrada, mostraron que cada grupo tiene un grado de lesión dependiente de la dosis administrada ( $\chi^2=138.2$ ) ( $p=12.5$ ).

El análisis de las muestras de riñón, pulmón, e hígado no reveló daño histológico aparente (Figuras 9,10 y 11).

#### Grupo II

Para este grupo el consumo promedio *per capita* de alimento fue de 290 g y de líquido 430 ml durante las cuatro semanas postratamiento (Figura 2). Con un peso somático promedio de 207.5 g y una S de 12.92 (Figura 3).

Los testículos tratados tuvieron un peso promedio de .905 g con una S de .006, mientras que en los testículos izquierdos se registró un peso promedio de 1.21 g con una S de .077 (Figura 4). Lo que estadísticamente representa una diferencia significativa con la aplicación de la prueba de t de student ( $t=14.09$ ) ( $p=1.78$ ).

El volumen testicular promedio calculado fue para los testículos derechos de  $.522 \text{ cm}^3$  con una S de .074, mientras que en los testículos controles la media fue de  $.962 \text{ cm}^3$  con una S de .094 (Figura 5).

presentando también una diferencia significativa por la prueba de t de student ( $t=12.94$ ) ( $p=1.76$ ).



El porcentaje de lesión que presentaron los testículos tratados fue de 2.22 % con una S de 1.18 (Figura 6).

Las imágenes de los túbulos seminíferos lesionados en los testículos tratados correspondieron únicamente a las categorías uno y dos, de las cuatro categorías establecidas para evaluar el daño testicular (Cuadro 3) (Figura 12).

Las muestras de riñón, pulmón e hígado no presentaron lesión histológica aparente (Figuras 9,10 y 11).

### Grupo III

El consumo *per capita* promedio fue de 288 g y de 431 ml de líquido (Figura 2).

El peso somático al sacrificio fue de de 216.83 g con una S de 18.51 (Figura 3).

El peso promedio de los testículos tratados fue de .957 g con una S de .071 y para los testículos controles su media calculada fue de 1.21 g con una S de .014 (Figura 4). Estadísticamente, ello representa una diferencia al confrontarse mediante la prueba de t de student ( $t=12.11$ ) ( $p=1.64$ ).

El volumen promedio en los testículos tratados fue de .566  $\text{cm}^3$  con una S de .071 y en los controles la media fue de 1.07  $\text{cm}^3$  con una S de .223 (Figura 5), lo que representó una diferencia estadística mediante la prueba de t de student ( $t=7.52$ ) ( $p=1.76$ ).

El porcentaje promedio de lesión testicular fue de 16.97 % con una S de 5.18 (Figura 6)

Las imágenes de lesión que se observaron en los testículos

tratados de este grupo correspondieron a los cuatro criterios que se establecieron para su evaluación (Cuadro 3) (Figura 13). En las muestras de riñón, pulmón e hígado no se observó lesión histológica aparente (Figuras 9, 10 y 11).

Se confrontaron los porcentajes de lesión testicular de los tres grupos estadísticamente, mediante un análisis de varianza y se encontró una diferencia significativa entre ellos (ANDEVA=16.33) ( $p=3.32$ ). La diferencia de variación entre los tres grupos fue dada por el grupo II. Por lo que se realizaron pruebas de t de student confrontando los porcentajes de lesión de los testículos derechos del grupo I frente a los del grupo II y se obtuvo una diferencia significativa ( $t=15.59$ ) ( $p=1.75$ ). Una diferencia similar, también se observó al confrontar al grupo II con el grupo III ( $t=9.64$ ) ( $p=1.70$ ). Esta diferencia no se presentó al confrontar al grupo I frente al grupo III en donde ( $t=.60$ ) ( $p=1.71$ ).

#### DISCUSION

Las imágenes de lesión que se observaron tras la inyección intraestricular del glicerol a las dosis empleadas de 12.5  $\mu$ l y de 25  $\mu$ l, resultaron ser similares a las reportadas cuando ha sido utilizado este agente dosificaciones superiores a los 50  $\mu$ l, en donde los túbulos seminíferos dañados se encuentran ubicados exclusivamente en el sitio de la inyección, con túbulos morfológicamente normales alrededor de esta zona (9,15,16,17,18,19). Esto permite inferir, que las concentraciones de los niveles hormonales de testosterona, LH y FSH no presentaron variaciones por fuera de su promedio normal, al saber que con el empleo de dosis mayores no hubo variaciones significativas para ninguna de ellas tras su medición por el método de RIA.(15,16,17,18,19)

Se observó que las células que conforman el parénquima testicular presentaron diferentes grados de susceptibilidad al glicerol con las dosis empleadas, como se ha estudiado con anterioridad tras la utilización de otros agentes de tipo químico o físico.(1,18) Así, las células de tipo haploide como son los espermatocitos secundarios y las espermátides resultaron ser más sensibles al glicerol, mientras que las células del tipo diploide como son las células de Sertoli, las espermatogónias y las células de Leydig mostraron un mayor grado de resistencia al efecto de este agente.

Con el empleo del glicerol en animales prepúberes, se observó que este agente es capaz de producir daño en el parénquima testicular, por su propiedad fisicoquímica de osmolaridad (17),

cuando las células que conforman el epitelio de los túbulos seminíferos se encuentran en etapa de meiosis I y no sólo afectar a los elementos celulares presentes en el testículo de animales adultos. (15,17,19)

El empleo en este trabajo de la técnica de planimetría para el cálculo del porcentaje de lesión testicular representa una herramienta más para este fin, ya que para realizar dicho cálculo sólo se había empleado la observación directa al microscopio de las laminillas. (15,16,17)

El porcentaje de lesión testicular promedio que se observó en los animales adultos que recibieron una dosis de 12.5  $\mu$ l (18.66 %), fue similar al que presentaron los animales prepúberes con el doble de la dosis (25  $\mu$ l) (16.97 %).

Mientras que en los animales prepúberes que recibieron una dosis de 12.5  $\mu$ l, sólo se presentó un 2.22 % de lesión.

Por último, queda por estudiar si tras la administración del glicerol a las dosis empleadas se produce un efecto inhibitorio de la actividad espermatogénica, por un periodo similar de hasta dos años que se produce con la administración de dosis superiores a 50  $\mu$ l. (17) Así como estudios para valorar la funcionalidad y composición bioquímica de los espermatozoides que se observan en los túbulos seminíferos periféricos a las zonas de lesión, los cuales pudieran presentar o no alteraciones en su estructura.

LITERATURA CITADA

- 1.-Austin,C.R. y Short,R.V.: Control Artificial de la Reproducción.Presna Médica Mexicana, México,D.F., 1982.
- 2.- Chen, C. : Histometric investigations of the effect of cyclosporin A on testicular tissue of rats.*Exp. Mol. Pathol.*, 49 : 195-200 (1988).
- 3.-Daniel,W.W.: Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud.3a ed.Limusa, México,D.F.,1987.
- 4.-Edwards,E.M., Dacheux,J.L. and Weites,G.M.: Effects of alpha-chlorohydrin on the metabolism of testicular and epididymal spermatozoa of the rams.*J.Reprod.Fertil.*,48 : 265-270 (1976).
- 5.-Fordyce, G., Hodge,P.B.,Beaman,N.J.,Laing,A.R.,Campero C. and Shepherd,R.K.: An evaluation of calf castration by intratesticular injection of lactic acid solution. *Aust.Vet.J.*, 66 : 272-276 (1989).
- 6.-Goodman,A.,Goodman,L.S. and Murad,F.: Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica.7a ed. Panamericana,México, D.F.,1986.
- 7.-Galina,C.,Saltiel,A.,Valencia,J.,Becerril,J.,Bustamante,G., Calderón,A.,Duchateau,A.,Fernández,S.,Olguin,A.,Páramo,R. y Zarco,A.: Reproduccion de los Animales Domésticos.Limusa, México,D.F., 1988.
- 8.-Humanson,G.: Animal Tissue Techniques.4th ed.W.H.Freman and Company, San Francisco,Cal.1979.
- 9.-Heath,E.: The early histopatologic effects of intratesticular injection with hyperosmolar glycerol,glucose

- or NaCl solutions. *Andrologia*, 19 :654-661 (1987).
- 10.-Johnson, D.E., Babaian, R.J., Swanson, D.A., Eschenbach, A.C., Wishnow, K.I., Tenney, D.: Medical castration using megestrol acetate and minidose estrogen. *Urology*, 31: 371-374 (1988).
- 11.-Lalau, J.D., Aubert, M.L., Carmignac, D.F., Gregoire, I., Dupouy, J.P.: Reduction in testicular function in rats .II Reduction by dexamethasone in fetal and neonatal rats. *Neuroendocrinology*, 51 :289-293 (1990).
- 12.-McCary, J.: Sexualidad Humana de McCary, 4a ed, El Manual Moderno, México, D.F., 1983.
- 13.-Radigue, C., Soufir, J.C., Couvillers, M.L., Dantec, M.C., AND Folliot, R.: Early effects of gossypol on the testis and epididymis in the rat. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 28 :1329-1338 (1988).
- 14.-Weinbauer, G.F., Bartlett, J.M., Fingscheidt, U., Tsonis, C.G., Kretser, D.M. and Nieschlag, E.: Evidence for a major role of inhibin in the feedback control of FSH in the male rat. *J.Reprod.Fertil.*, 85 :355-362 (1989).
- 15.- Weinbauer, G.F., Drobnitzky, F., Galhotra, M.M. and Nieschlag, E.: Intratesticular injection of glycerol as a model for studying the quantitative relationship between spermatogenic damage and serum FSH. *J.Endocrinol.*, 115 : 83-90 (1987).
- 16.-Weinbauer, G.F., Galhotra, M.M. and Nieschlag, E.: Focal testicular destruction following intratesticular injection of glycerol in rats. *Int.J.Androl.*, 8: 365-375 (1985).

17.-Wiebe,J.P.,Barr,K.J. and Buckingham,K.D.: Sustained azoospermia in squirrel monkey,Saimiri sciureus, resulting from a single intratesticular glycerol injection. *Contraception*,32 :447-457 (1989).

18.-Wiebe,J.P. and Barr,K.J.: The control of male fertility by 1,2,3,-trihydroxypropane (THP;glycerol): rapid arrest of spermatogenesis without altering libido, accessory organs, gonadal steroidogenesis, and serum testosterone, LH and FSH.*Contraception*,29: 291-302 (1984).

19.-Wiebe,J.P. and Barr,K.J.: Suppression of spermatogenesis without inhibition of steroidogenesis by a 1,2,3-trihydroxypropane solution.*Life Sci.*,34 :1747-1754 (1984).

Cuadro 1

DOSIS DE GLICEROL EMPLEADAS EN

RATAS MACHOS CEPA F 344

---

GRUPO	EDAD AL TRATAMIENTO	DOSIS TESTICULO DERECHO	VEHICULO TESTICULO IZQUIERDO
I	90 DIAS	12.5 $\mu$ l cbp 0.1 ml	0.1 ml
II	30 DIAS	12.5 $\mu$ l cbp 0.05 ml	0.05 ml
III	30 DIAS	25 $\mu$ l cbp 0.05 ml	0.05 ml

---



Cuadro 2

CRITERIOS DE CLASIFICACION PARA LA  
EVALUACION DEL DAÑO TESTICULAR

---

CATEGORIA	TIPOS CELULARES
1	PRESENCIA EN TUBULOS SEMINIFEROS DE CELULAS GERMINALES, ESPERMATOGENESIS COMPLETA, CELULAS INTERSTICIALES Y CELULAS DE SERTOLI.
2	PRESENCIA EN TUBULOS SEMINIFEROS DE CELULAS GERMINALES, CELULAS INTERSTICIALES Y CELULAS DE SERTOLI.
3	PRESENCIA EN TUBULOS SEMINIFEROS DE CELULAS GERMINALES Y CELULAS INTERSTICIALES.
4	PRESENCIA DE CELULAS INTERSTICIALES.

---

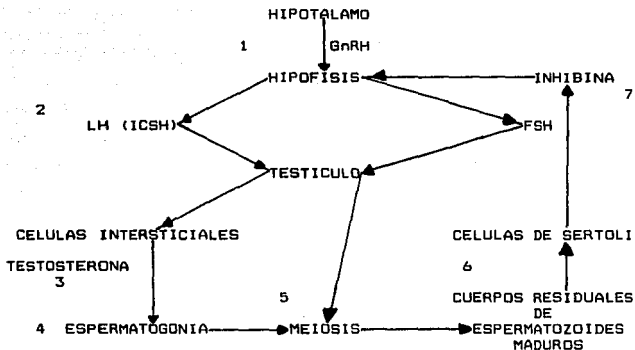
Cuadro 3

CATEGORIAS DEL GRADO DE LESION TESTICULAR QUE SE PRESENTARON  
EN CADA UNO DE LOS GRUPOS

---

GRUPO	CATEGORIAS ESTABLECIDAS QUE SE OBSERVARON POR GRUPO			
	1	2	3	4
I	X	X	X	X
II	X	X		
III	X	X	X	X

---



- 1 Producción y liberación del hipotálamo de GnRH.
- 2 Estimulación de la hipófisis por GnRH liberando en respuesta LH y FSH.
- 3 LH estimula a células de Leydig produciendo testosterona.
- 4 Testosterona estimula espermatogonias para iniciar espermatogénesis.
- 5 La FSH interviene para la finalización de la meiosis.
- 6 Los cuerpos residuales son fagocitados por las células de Sertoli.
- 7 Las células de Sertoli producen inhibina suprimiendo la FSH y estimula LH.

Figura 1. Comportamiento hormonal testicular

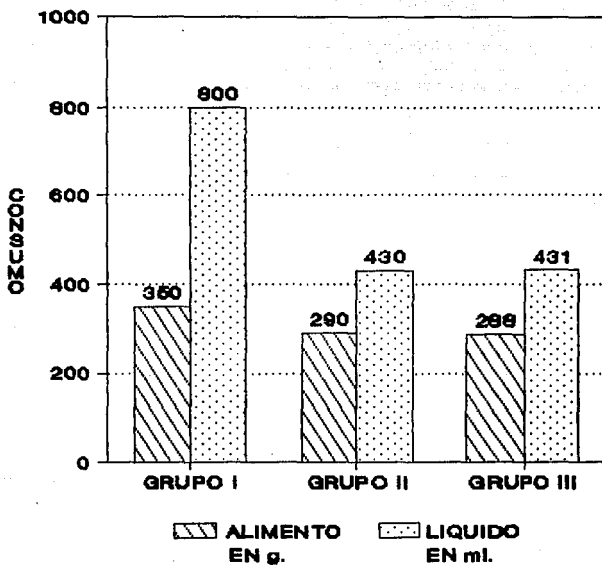


Figura 2. Consumo voluntario promedio per capita registrado por grupo postratamiento.

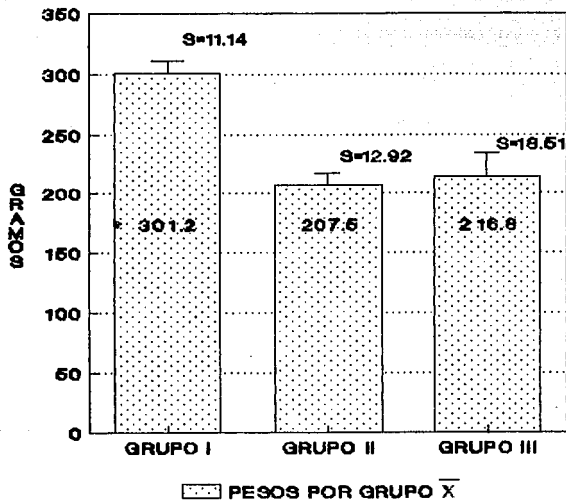
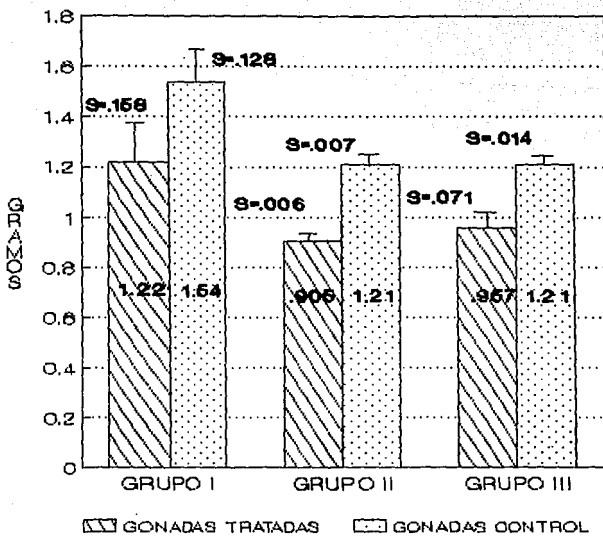


Figura 3. Peso somático promedio registrado por grupo al momento de sacrificio.



**ENTRE LOS GRUPOS II Y III DE 30 DIAS DE EDAD NO SE PRESENTO DIFERENCIA SIGNIFICATIVA.**

Figura 4. Peso registrado para los testiculos tratados y controles por grupo.

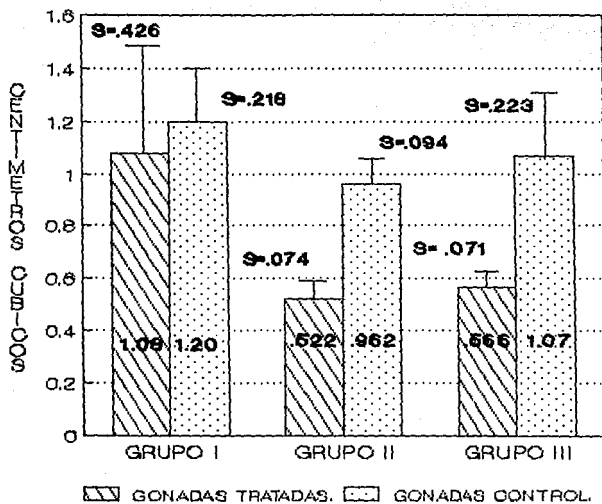
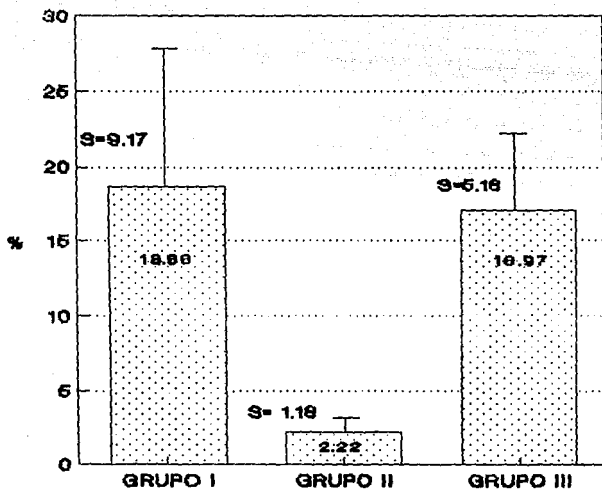


Figura 5. Volumen promedio de los testiculos tratados y controles.



LA DIFERENCIA ESTADISTICA ESTA DADA POR EL GRUPO II.

Figura 6. Porcentaje de lesión calculado en los testículos tratados.



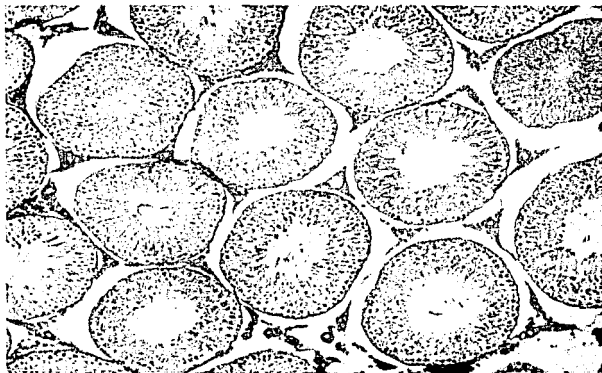


Figura 7. Fotomicrografía que muestra corte de testículo control del grupo I de animales de 90 días de edad, al que se le administró 0.1 ml de vehículo. Se observa la morfología normal del parénquima testicular. Se observaron las mismas imágenes en los testículos controles de los grupos II y III, ambos de 30 días de edad, a los que se les aplicó 0.05 ml de vehículo. Tinción P.A.S. 125 X.



Figura 8. Fotomicrografía que muestra corte de testículo derecho del grupo I de 90 días de edad al que se le administró una dosis de 12.5  $\mu$ l de glicerol. Se observa una zona extensa de lesión (flecha blanca) rodeada de imágenes normales de túbulos seminíferos (flecha negra). Tinción P.A.S. 31 X.

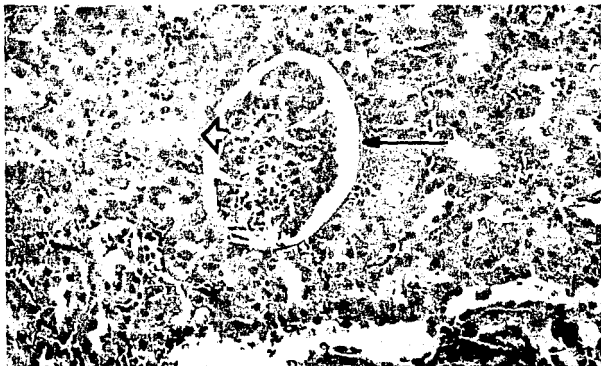


Figura 9. Fotomicrografía que muestra corte de riñón de un animal del grupo I. Se observa la morfología normal de un glomérulo (flecha negra) y de los túbulos contorneados a su alrededor (flecha blanca). Imágenes similares se observaron en las muestras recolectadas de un animal del grupo II y de uno del grupo III. Tinción hematoxilina y eosina 312 X.

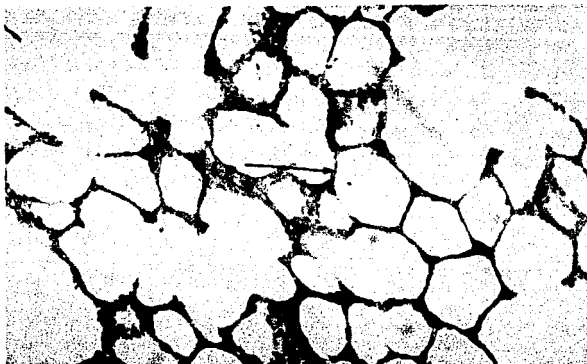


Figura 10. Fotomicrografía que muestra corte de pulmón de un animal del grupo II. Se observa la morfología normal del parénquima pulmonar. Alveolos (flecha negra). Se observaron imágenes similares en las muestras recolectadas de un animal de cada uno de los otros dos grupos. Tinción hematoxilina y eosina. 312 X.

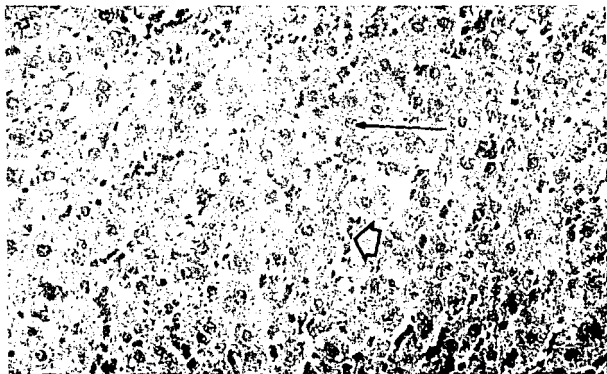


Figura 11. Fotomicrografía que muestra corte de hígado de un animal del grupo III. Se observa la morfología normal del parénquima hepático. Tejido epitelial pluricelular endocrino cordonal (flecha negra) y sinusoides hepáticos (flecha blanca) Imágenes similares se observaron en las otras dos muestras recolectadas de los otros dos animales seleccionados, uno de cada grupo. Tinción hematoxilina y eosina 400 X.



Figura 12. Fotomicrografía que muestra corte de testículo derecho del grupo II de 30 días de edad, al que se le administró una dosis de 12.5  $\mu$ l de glicerol. Se observa una pequeña zona de lesión (flecha blanca) rodeada de imágenes normales de túbulos seminíferos (flecha negra). Tinción hematoxilina-eosina. 31 X.

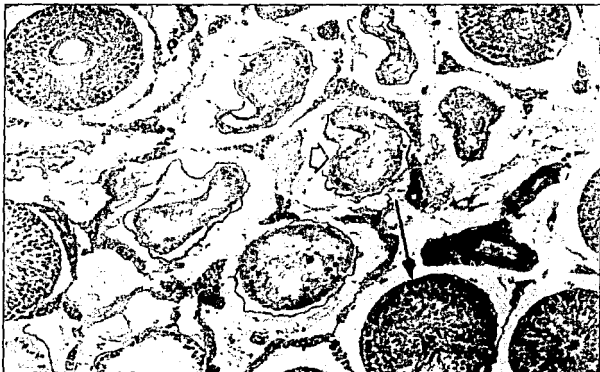


Figura 13. Fotomicrografía que muestra corte de testículo derecho del grupo III de 30 días de edad, al que se le administró una dosis de 25  $\mu$ l de glicerol. Se observa una zona extensa de lesión (flecha blanca) rodeada de imágenes normales de túbulos seminíferos (flecha negra). Tinción P.A.S. 312 X.