



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PAPEL DE LA ESTREPTOCINASA-ESTREPTODORNASA EN LA REGANALIZACION VASCULAR DESPUES DE UNA TORSION TESTICULAR.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

EVA MENDOZA CRUZ



ASESORA: ROSA MARIA VIGUERAS VILLASENOR

MEXICO, D. F.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

MAT. MARGARITA ELVIRA CHÁVEZ CANO
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

PAPEL DE LA ESTREPTOCINASA-ESTREPTODORNASA EN LA RECANALIZACION
VASCULAR DESPUES DE UNA TORSION TESTICULAR.

realizado por : MENDOZA CRUZ EVA.

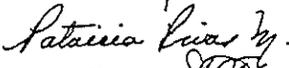
con número de cuenta : 8938094-3 , pasante de la carrera de : BIOLOGIA.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis

Propietario : M. en C. ROSA MARIA VIGUERAS VILLASEÑOR 

Propietario : M. en C. PATRICIA RIVAS MANZANO 

Propietario : DRA. MARICELA VILLAGRAN SANTACRUZ 

Suplente : DRA. MARIA ELENA CALDERON SEGURA 

Suplente : D. en C. MARIA DEL CARMEN URIBE ARANZABAL 

Consejo Departamental de BIOLOGIA



DRA. EDNA MARIA SUAREZ DIAZ

DEDICATORIA

A Dios:

Por haberme dado la oportunidad de realizar otra meta más.

A Mis Padres:

Por orientarme, alentarme y apoyarme durante toda mi vida, GRACIAS.

A mis hermanos:

Por su compañía, consejos y apoyo para la realización de esta meta.

A Luis:

Por el cariño, apoyo y confianza que ha depositado en mí, te amo.

A Issac, Yare, Pao y Vane:

Por hacer con su presencia más gratos los días.

A Mis amigos

*Idalia, Poncho, Connie, Lenin; Sara Paz, Edgar, Laura, Karly, Silvia, Richard y Bárbara:
Por haber compartido tantas y tantas aventuras conmigo a lo largo de la carrera y haberla hecho
más amena y sobre todo por su amistad incondicional.*

AGRADECIMIENTOS

De manera muy especial agradezco a la M. en C. Rosa María Viguera Villaseñor, todo el apoyo, dedicación y sugerencias brindadas para la realización de ésta tesis.

Así mismo a los miembros del jurado: Dra. Maricela Villagran Santacruz, Dra. Ma. Elena Calderón Segura, M. en C. Patricia Rivas Manzano y Dra. Ma. del Carmen Uribe Aranzabal, gracias por su disponibilidad, comentarios y sugerencias para el mejoramiento del presente trabajo.

De igual manera a mis compañeros y amigos del Laboratorio: M. en C. Julio Rojas, MVZ Gabriela Reyes, BSc. Gloria Sicilia y muy en especial a Pedro Medina por su apoyo y asistencia técnica, así como a la Srta. Silvia Mosco su apoyo secretarial.

Agradezco a la Dra. Alessandra Carnevale C., Dr. Roberto Rivera I. y Dra. Sara Frías V. Directivos de la Torre de Investigación "Dr. Joaquín Cravioto" del Instituto Nacional de Pediatría, por las facilidades otorgadas para la realización de la presente.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Histomorfología de la Torre de Investigación "Dr. Joaquín Cravioto" del Instituto Nacional de Pediatría.

CONTENIDO	PAG.
Resumen.....	2
I. Introducción.....	3
1. Aspectos generales del testículo.....	3
2. Origen embrionario.....	3
3. Anatomía.....	5
4. Histología del testículo.....	7
4.1. Epitelio seminífero.....	7
4.2. Espermatogénesis.....	7
4.3. Espermioagénesis.....	11
5. Ciclo del epitelio seminífero.....	14
6. Fisiología.....	19
7. Torsión testicular.....	20
7.1. Factores predisponentes.....	21
7.2. Síntomas.....	21
7.3. Pruebas de diagnóstico.....	22
7.4. Antecedentes.....	23
7.5. Fibrinolíticos.....	24
II. Justificación.....	26
III. Objetivos.....	26
1. Objetivo general.....	26
2. Objetivo particular.....	26
IV. Hipótesis.....	26
V. Material y método.....	27
1. Determinación de fibrina.....	29
2. Evaluación histológica de los túbulos seminíferos.....	30
VI. Resultados.....	31
VII. Discusión.....	39
VIII. Conclusiones.....	42
Referencias.....	43
Apartados.....	46

RESUMEN

La torsión testicular ocluye la circulación sanguínea del testículo torcido, guarda relación con la magnitud de las alteraciones vasculares. El tiempo de isquemia testicular puede incrementarse al formarse trombos que bloquean la circulación. Este estudio se realizó con el objeto de evaluar el papel de la estreptocinasa-estreptodornasa (EE), sobre la recuperación del testículo torcido después de una torsión de 4 hrs. Se emplearon 35 ratas de 60 días de edad, distribuidas en 5 grupos con 7 especímenes cada uno; grupo CS sirvió como control, al grupo TV y TEE se les practicó torsión de 720° de rotación durante 4 hrs con posterior destorsión, los grupos CQEE y CQV sirvieron como controles quirúrgicos. Los grupos TEE y CQEE fueron tratados con 10,000 UI de estreptocinasa y 2,500 UI de estreptodornasa / 100 grs. de peso. Los grupos TV y CQV se trataron con vehículo. Después de 24 hrs., se sacrificaron 2 ratas por grupo, procesándose el testículo derecho (torcido) para evaluar la fibrina en los vasos sanguíneos, utilizando la técnica de Mallory (PTAH). El resto se sacrificaron 10 días después, los testículos derechos (torcidos) se procesaron para su inclusión en EPON. El grupo TV mostró gran cantidad de fibrina en sus vasos sanguíneos a diferencia de los demás grupos. Los grupos TEE y TV presentaron un porcentaje de daño testicular de 21.0% y 55.32% respectivamente ($p < 0.05$) y el grupo CS mostró el 1% de daño. Se concluye que el daño del testículo torcido disminuyó con la degradación de los trombos y disminución de adherencias por efecto de la EE. Sin embargo las alteraciones histológicas no desaparecieron, lo que sugiere que otros factores pueden verse involucrados en el daño testicular.

I.- INTRODUCCIÓN

1.- ASPECTOS GENERALES DEL TESTÍCULO

2.- ORIGEN EMBRIONARIO

En los mamíferos el sexo del embrión es regido genéticamente al ocurrir la fecundación. Las gónadas se desarrollan a partir de un engrosamiento del mesotelio celómico que cubre la cara medial del mesonefros, denominada cresta gonadal (Langman, 1976; Jiménez, 1978).

En embriones de mamíferos incluyendo al humano, las células germinales primordiales en período inicial se sitúan en la pared del saco vitelino cerca de la alantoides. Desde este sitio emigran, por movimientos ameboides siguiendo el mesenterio dorsal del intestino hacia la región de los pliegues gonadales (Langman, 1976). Estas células invaden los pliegues genitales y poco antes de su llegada, el epitelio celómico del pliegue gonadal prolifera y las células epiteliales se introducen en el mesénquima subyacente, en el cuál se forman varios cordones irregulares, los cordones sexuales primitivos, que posteriormente rodean a las células germinativas primordiales. En embriones masculinos y femeninos estos cordones están unidos al epitelio de la superficie, en esta etapa aún no están diferenciadas las gónadas masculinas y femeninas, por lo que la gónadas se denominan indiferenciadas (Langman, 1976; Jiménez, 1978) (Fig. 1).

Si el embrión es genéticamente XY o masculino, los cordones sexuales primitivos, siguen proliferando y se introducen profusamente en la médula gonadal, formando una serie de cordones celulares que se anastomosan entre sí llamados cordones seminíferos. Hacia el hilio de la gónada se disgregan en una red de filamentos celulares diminutos, que ulteriormente originan los tubos de la red de Haller o rete testis (Langman, 1976).

Al seguir desarrollándose, los cordones seminíferos se separan del epitelio superficial, ambas formaciones están separadas por una capa compacta de tejido fibroso, la túnica albugínea. Los cordones

testiculares adquieren forma de herradura y sus extremos se continúan con los cordones celulares de la red de Haller. Durante la vida fetal los cordones seminíferos consisten de espermatogonias y células de Sertoli, los cordones son macizos hasta la pubertad, entonces se canalizan y dan origen a los túbulos seminíferos los que se unen a la red de Haller. Las células intersticiales de Leydig se desarrollan a partir del mesenquima situado entre los túbulos seminíferos, estas células producen la hormona sexual masculina (testosterona) (Langman, 1976). (Fig. 1).

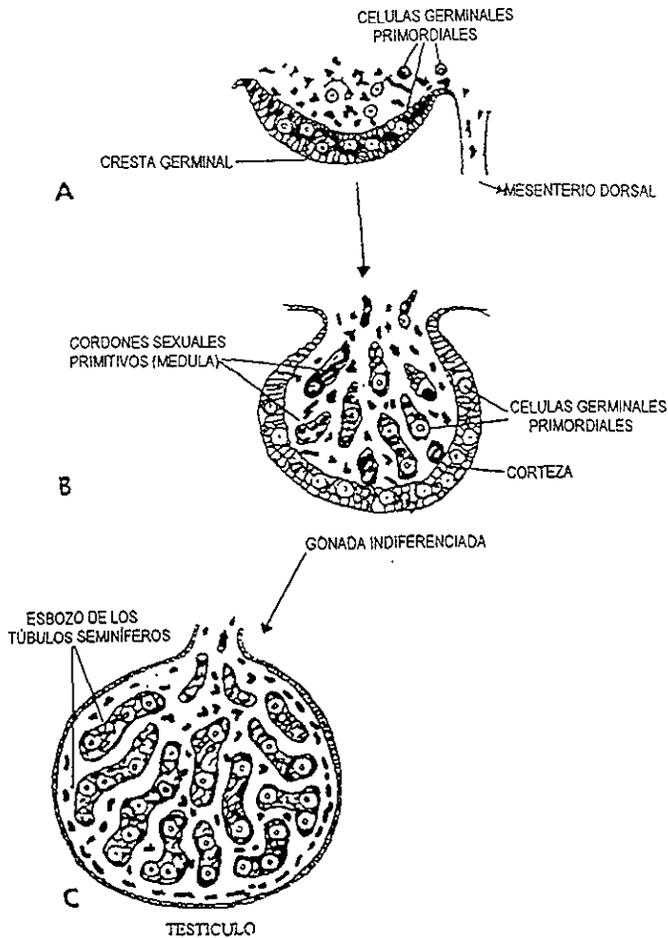


Fig. 1. Desarrollo de las gónadas en los vertebrados superiores. A) fase de la cresta genital; B) gónada indiferenciada, células germinales en la cresta y en los cordones sexuales primordiales; C) gónadas diferenciándose como testículos (Balinsky, 1983).

3.- ANATOMÍA GENERAL

En los testículos de mamíferos se producen espermatozoides y hormonas sexuales masculinas. Las gónadas tienen forma ovoide, de volumen muy variable, y presentan cambios de tamaño con la edad, reducidos en la infancia y crecen durante el desarrollo. Si se examina la constitución de un testículo de mamífero se observará que se encuentra envuelto por tres capas o túnicas, una de ellas es gruesa y resistente de tejido conjuntivo rico en fibras colágenas, denominada túnica albugínea. Cubriéndola se encuentra un saco seroso derivado del peritoneo, la túnica vaginal, debajo de la cuál hay un espacio denominado cavidad de la túnica y la capa más externa es la capa vascular, que contiene redes de vasos sanguíneos incluidos en un tejido conectivo (Quiroz, 1981; Alvarez del Villar, 1988; Lesson, 1990). (Fig. 2).

Los testículos están en las bolsas escrotales, estructuras revestidas por piel que poseen abundantes capas de músculo liso a las que se atribuye un papel importante, el de mantener la temperatura de los testículos (Junqueira, 1983).

Los testículos están suspendidos por el cordón espermático en las bolsas escrotales el cual se extiende desde el anillo inguinal profundo hasta el borde posterior del testículo; además es acompañado en toda su extensión por el músculo cremáster que es un músculo estriado, constituido por dos aponeurosis: una interna que tiene su origen en la espina del pubis y una externa que se inserta en el ligamento inguinal.

La túnica albugínea se vuelve más gruesa en su borde posterior, desde está salen proyecciones hacia el interior del testículo y forman tabiques llamados trábeculas, estas trábeculas convergen desde la periferia hasta la zona longitudinal del testículo, en donde se forma el mediastino testicular, que constituye el sitio por donde entran o salen los conductos, vasos sanguíneos y linfáticos; así como fibras nerviosas (Weiss, 1986; Alvarez del Villar, 1988).

También del mediastino salen delicados tabiques de tejido conectivo hacia el interior del órgano, subdividiéndolo en lobulillos testiculares, los cuales contienen de 1 a 4 túbulos seminíferos, incluidos en un estroma de tejido conectivo laxo que contiene vasos, nervios y varios tipos de células, principalmente las células de Leydig, que son células grandes, distribuidas por lo regular en grupos y que tienen importancia por su papel endocrino (Lesson, 1990).

Los túbulos seminíferos forman asas espiraladas, que terminan en la región posterior del testículo en los tubos rectos, que a su vez se anastomosan en una red de túbulos, la red testicular (rete testis o red de Haller) de donde salen de 8 a 15 conductos eferentes que penetran en la porción cefálica del epidídimo (Junqueira, 1983; Alvarez del Villar, 1988).

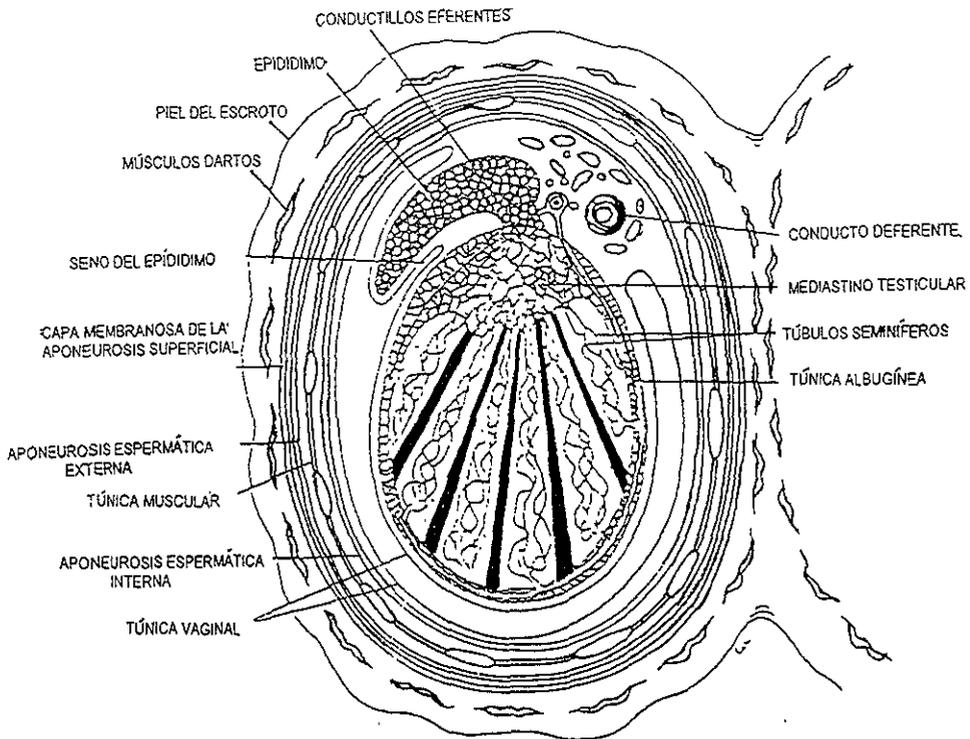


Fig. 2. Esquema de un corte transversal de testículo maduro con los diferentes tejidos que lo envuelven (Brady, 1978).

4.- HISTOLOGÍA DEL TESTÍCULO

4.1.- EPITELIO SEMINÍFERO

Los túbulos seminíferos están revestidos por un epitelio estratificado denominado epitelio germinativo o seminífero. En el adulto este epitelio está constituido por una población de células de sostén que no proliferan llamadas células de Sertoli; y por una población de células germinales. Estas proliferan y maduran desde la periferia del túbulo hacia la superficie luminal (Jiménez, 1978; Weiss, 1986).

De afuera hacia adentro los túbulos seminíferos están formados por una túnica de tejido conjuntivo fibroelástico con pocos fibroblastos, una membrana basal nítida, una capa de revestimiento formada por epitelio estratificado. En la túnica fibroelástica que envuelve los túbulos seminíferos se han reconocido células musculares que probablemente son responsables de los movimientos contráctiles observados en estos túbulos denominadas células mioideas.

Los elementos germinativos consisten de sucesivas generaciones de células dispuestas en el epitelio formando capas bien definidas, que van de la periferia hacia el lumen del túbulo, iniciando con las espermatogonias, los espermatocitos primarios y secundarios, las espermatidas y finalizando con los espermatozoides (Clermont, 1972).

4.2.- ESPERMATOGÉNESIS

La espermatogénesis es el proceso por el cual se forman las células sexuales masculinas, los espermatozoides a partir de las espermatogonias o células germinativas tronco que se encuentran adyacentes a la membrana basal (Lesson, 1990).

En la espermatogénesis se distinguen tres estadios o fases: proliferación, crecimiento, y maduración. La fase inicial de la espermatogénesis es la proliferación de las espermatogonias, que son células que ocupan la posición más periférica (basal) en el epitelio espermatogénico. Como resultado de las divisiones mitóticas de las espermatogonias, muchas se desplazan de la membrana basal y dejan de dividirse, convirtiéndose en espermatocitos primarios que entran en la segunda fase, la de crecimiento, las

espermatogonias restantes siguen dividiéndose por lo cual las reservas de espermatogonias en los túbulos seminíferos no disminuye; el período de maduración se da cuándo los espermatocitos primarios y secundarios se dividen meioticamente y dan origen a las espermatidas que por una serie de transformaciones citológicas, morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y moleculares (espermogénesis), dan origen a los espermatozoides (Eliséiev, et al, 1985).

ESPERMATOGONIAS

La espermatogonia es una célula redonda con un núcleo en donde la cromatina se encuentra muy condensada y tiene gran capacidad de división, se localiza en el compartimento basal del epitelio seminífero, separado del compartimento adluminal por uniones estrechas entre las células de Sertoli. (Clermont, 1972; Jiménez, 1978; Parvinen, et al, 1986).

En los roedores se han descrito tres generaciones de espermatogonias de acuerdo a la presencia y disposición de los gránulos de cromatina. La espermatogonia tipo A, tiene un núcleo esférico, con muy pocos gránulos de cromatina, su citoplasma es pálido y homogéneo, la mitad de éstas se quedan como espermatogonias A (células madre de reserva), y la otra mitad se divide por mitosis y dan origen a las espermatogonias intermedias (células hijas) que se transforman en espermatogonias tipo B, las cuales también tienen un núcleo esférico, pero los gránulos de cromatina se encuentran en mayor cantidad; y son los elementos diferenciados destinados a la producción de los espermatocitos (Clermont, 1972; Weiss, 1986).

ESPERMATOCITOS

Los espermatocitos son las células más grandes que se observan en el túbulo seminífero, en dónde ocupan la zona media epitelial (Weiss, 1986; Lesson, 1990), son las células encargadas de llevar a cabo la meiosis. La cual para su estudio se divide en varias fases que se citan a continuación (Dollander y Fenart, 1990):

a) Profase I: es la fase de la meiosis con mayor duración y complejidad y esta fase presenta varias subfases.

1° Leptoteno: los cromosomas aparecen en forma de largos filamentos muy finos, unidos en sus extremos a la envoltura nuclear interna.

2° Cigoteno (sinapsis): los cromosomas homólogos se aparean, formando bivalentes y su núcleo desaparece.

3° Paquíteno: los cromosomas reducen su longitud y se engruesan. Cada cromosoma duplicado se encuentra constituido por dos filamentos que reciben el nombre de cromátidas, se forma el complejo sinaptonémico y se da el crossing-over o recombinación de genes.

4° Diploteno: cada pareja de cromosomas homólogos se separan en parte de su longitud; pero mantienen contacto en varios puntos, en dónde los cromosomas pueden efectivamente entrecruzarse reciben el nombre de chiasmata, que son una expresión de los eventos de recombinación citológica.

5° Diacinesis: es la última de las subfases de la Profase I, la célula se prepara para la división nuclear, el par de centriolos se mueven hacia los polos opuestos, y se polimerizan las moléculas de tubulina.

b) Metafase I: la membrana nuclear desaparece, se forma el huso acromático y los pares de cromosomas se disponen en la placa ecuatorial.

c) Anafase I: en este estadio los cromosomas de cada par de homólogos son separados a los polos de la célula.

d) Telofase I: ocurre la primera división de la meiosis, formándose en la espermatogénesis una membrana nuclear. Los núcleos de las dos células hijas o espermatocitos secundarios son haploides pero cada cromosoma está duplicado, debido a ello se les clasifica de ser bivalentes.

Hay dos tipos de espermatocitos los primarios y los secundarios, los espermatocitos primarios son las células de mayor tamaño de la línea espermatogénica y se caracterizan por la presencia de cromosomas en diferentes fases de espiralización, además de que estos llevan acabo la primera división meiótica. Los espermatocitos secundarios son más pequeños casi la mitad del tamaño de los espermatocitos primarios, se encuentran cerca de la luz del túbulo, pocas veces se pueden observar en un corte de túbulo seminífero ya que se dividen con gran rapidez; para producir a las espermátidas. Cada espermatocito entra a la segunda división meiótica y dan origen a 2 espermátidas, que contienen un grupo completo de cromátidas (número haploide) (Clermont, 1972; Junqueira, 1983; Eliséiev, et al, 1985).

Las espermátidas que se originan de la división de los espermatoцитos secundarios, sufren transformaciones: como condensación nuclear de la cromatina, y el desarrollo de estructuras especiales tales como la formación de acrosoma en la cara anterior del núcleo y del flagelo en la cara posterior de éste; a este proceso se le conoce con el nombre de espermiogénesis (Leblond y Clermont, 1952) (Fig. 3).

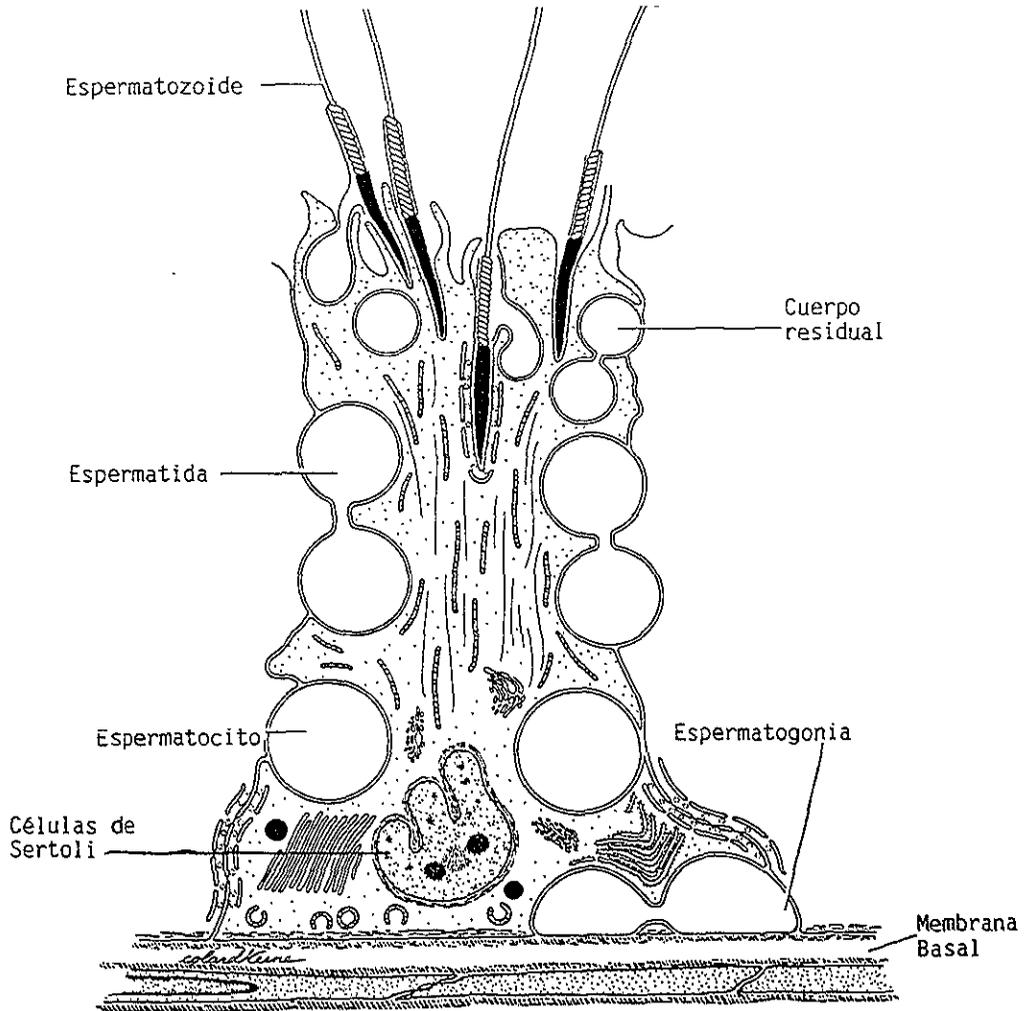


Fig. 3. Esquematación del epitelio seminífero en donde se observa la membrana basal así como los diferentes tipos celulares que lo constituyen (Dym y Fawcett, 1970).

4.3.- ESPERMIOGÉNESIS

La espermiogénesis se divide en cuatro fases, las cuales a su vez se dividen en estados (Leblond y Clermont, 1952) (Fig. 4):

1. FASE GOLGI

Consta de tres estados en las cuales se forma el gránulo del acrosoma.

Estado 1.

Es caracterizado por la presencia de una estructura más o menos esférica, el idiosoma, localizado en la zona Golgi. Un filamento fino emerge de uno de los centriolos (distal) en el citoplasma, el cual dará origen al flagelo del espermatozoide.

Estado 2.

De uno a cuatro gránulos pequeños aparecen en el idiosoma.

Estado 3.

Es caracterizado por la fusión de los gránulos proacrosómicos en uno sólo, el gran gránulo acrosómico.

2. FASE DE CAPUCHON.

Consiste de cuatro estados durante las cuales la capucha crece por fuera del gránulo acrosómico.

Estado 4.

El gránulo acrosómico se aplana cerca del núcleo.

Estado 5.

Una membrana (vesícula acrosómica) protege al gránulo acrosómico y se extiende sobre la superficie del núcleo.

Estado 6.

La membrana que protege al gránulo acrosómico, forma una capucha definida, mientras el idiosoma, el cual está más lejos, se puede conectar con el gránulo acrosómico.

Estado 7.

La capucha alcanza su máximo tamaño, el gránulo acrosómico y la capucha están orientadas al azar. El centriolo proximal llega a adherirse al núcleo, mientras el flagelo queda adherido al centriolo distal. El cuerpo cromatoide flota libremente en el citoplasma.

3. FASE ACROSOMA

Consiste de siete estados, durante los cuales la capucha y el gránulo acrosómico, son orientados hacia la membrana basal de los túbulos, y el gránulo acrosómico se transforma en el acrosoma característico de cada especie.

Estado 8.

El gránulo acrosómico y la capucha se orientan hacia la membrana basal en los túbulos, mientras el citoplasma se mueve hacia el polo opuesto al núcleo.

Estado 9.

Hay un ligero aplanamiento del núcleo con una protusión cubierta por la capucha. El gránulo acrosómico se alarga y puede ser llamado acrosoma.

Estado 10.

La capucha se extiende a la región caudal.

Estado 11.

Se presenta un mayor alargamiento del núcleo y de la capucha.

Estado 12.

El núcleo alcanza su máxima longitud.

Estado 13.

El núcleo se adelgaza, la capucha no se alarga por encima de la superficie nuclear, por lo que se forma un espacio en la porción ventral del núcleo y de la capucha, el citoplasma se condensa a lo largo del flagelo.

Estado 14.

El núcleo condensado se hace más pequeño. La capucha flota ligera y libremente por encima de la parte ventral y anterior del núcleo, pero está fijado en la parte caudalmente dorsal. El acrosoma está dispuesto en una cresta del borde dorsal. Se concluye cuando el núcleo empieza a tomar forma de espermatozoide, el citoplasma se condensa a lo largo del flagelo y la membrana aparece y se fusiona con el tubo caudal.

4. FASE DE MADURACIÓN.

Consiste de cinco estados. En esta fase, las espermatidas son transformadas en espermatozoides o células maduras.

Estado 15.

Las espermatidas son caracterizadas por la aparición de una fina membrana proveniente del material de la capucha a lo largo del borde dorsal de la célula entre la región caudal del acrosoma y el ángulo dorsal del núcleo.

Estado 16.

La estructura fina del gránulo acrosómico desaparece, mientras que el acrosoma se extiende caudalmente hacia el ángulo dorsal del núcleo.

Estado 17.

Aquí el acrosoma y la capucha son desplazados en relación al núcleo.

Estado 18.

Existe una cierta distancia entre el acrosoma y el núcleo, debido a lo ocurrido en la etapa anterior.

Estado 19.

El espermatozoide maduro, se coloca cerca de la luz del epitelio seminífero, como espermatozoide libre.

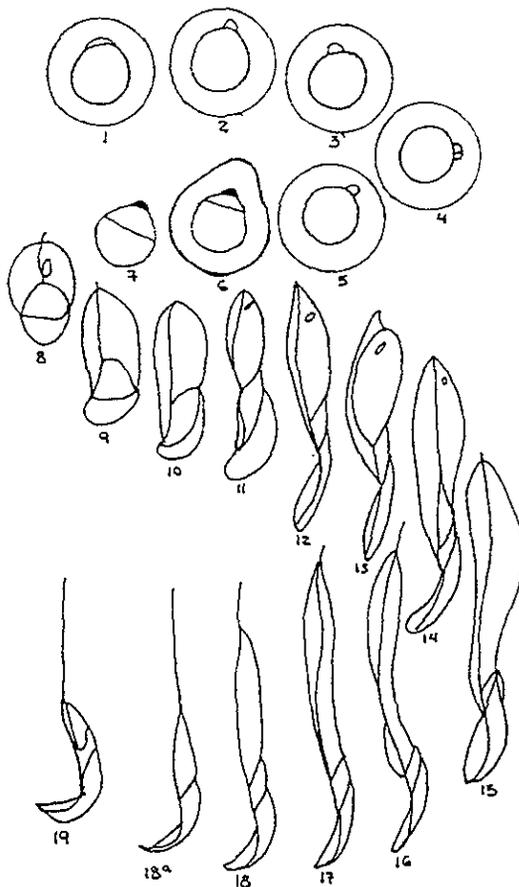


Fig. 4. Fases y estados de maduración de la espermiogénesis (Leblond y Clermont, 1952).

5 - CICLO DEL EPITELIO SEMINÍFERO

La apariencia general de los túbulos seminíferos es característico, ya que sus células están arregladas y presentan una asociación celular definida, dando lugar así a las etapas del ciclo del epitelio seminífero (CES) (Leblond y Clermont, 1952) (Fig. 5).

ETAPA I

Comienza con la aparición de un nuevo grupo de espermátidas al final de la segunda división de maduración de los espermátocitos. Las capas de células presentes en los túbulos aparecen de la membrana basal hacia el lumen. Los núcleos de las células de Sertoli en ésta etapa están generalmente aplanados contra la membrana basal y asociados con espermátogonias tipo A. Algunas de estas espermátogonias pueden ser encontradas en mitosis. Las capas próximas de células, consisten de espermátocitos en crecimiento, en etapa temprana de paquiteno y espermátidas en fase 15.

ETAPA II

Comienza con la presencia de los gránulos proacrosómicos en el idiosoma de la espermátida joven. Hay pocas espermátogonias tipo A y varias espermátogonias del tipo intermedio, las cuales se transforman progresivamente en células que parecen espermátogonias de tipo B. Los espermátocitos primarios muestran un crecimiento lento y progresivo; las espermátidas en estado 2 están separadas por grupos de espermatozoides inmaduros en estado 16. Su acrosoma se extiende en el ángulo dorsal de su núcleo y el citoplasma se alarga en las células, la pieza media es ahora claramente visible.

ETAPA III

Inicia con la fusión de los gránulos proacrosómicos en uno solo el gránulo acrosómico. Aquí son pocas las espermátogonias de tipo A y muchas las espermátogonias de tipo intermedio. Los espermátocitos continúan en crecimiento. Las espermátidas más jóvenes (estado 3), están entremezcladas, las últimas muchas veces se ordenan en paquetes. Los paquetes de espermatozoides inmaduros, durante la etapa III del ciclo y las siguientes tres (IV, V y VI) están situadas en diferentes niveles del epitelio seminífero, pero generalmente la cabeza está cerca de los núcleos de las células de Sertoli.

ETAPA IV

Empieza con el aplanamiento del gránulo acrosómico en el núcleo de las espermatidas jóvenes: En esta etapa las espermatogonias de tipo intermedio sufren una división mitótica, que da origen a la espermatogonia de tipo B, con acumulación de cromatina en un sitio de la membrana nuclear. Pequeños cambios son observados en los espermatocitos. Hay espermatidas en estado 4 y 17.

ETAPA V

Comienza con la clara diferenciación de la capucha, la cuál a la vista aparece como dos líneas rectas proyectadas lateralmente proyectadas al gránulo acrosómico. Hay más espermatogonias tipo B que espermatogonias de tipo A. No hay cambios visibles en los espermatocitos, excepto por un alargamiento progresivo. Las espermatidas jóvenes (estado 15) están separadas por paquetes de espermatocitos inmaduros en estado 17.

ETAPA VI

Inicia cuando la capucha crece lo suficiente, así que sale a la superficie y puede ser vista. Durante esta etapa las espermatogonias de tipo B sufren una división mitótica, dando lugar a la producción de espermatocitos, ambos tipos de células pueden verse entremezcladas en algunos sitios del túbulo. Las espermatidas jóvenes se encuentran en estado 6 y los espermatozoides inmaduros en estado 18, se encuentran en diferentes niveles del epitelio seminífero; pero principalmente en medio, es decir entre el lumen y la membrana basal.

ETAPA VII

Empieza cuando la capucha ha alcanzado su máximo tamaño. En este estado es raro encontrar espermatogonias de tipo A. Al final de esta etapa, la espermatogonia de tipo B se dividen y produce una nueva generación de espermatocitos. Los espermatocitos jóvenes pueden verse a lo largo de membrana basal. Los espermatocitos de la última generación se encuentran en estado paquiteno.

ETAPA VIII

Inicia con la orientación del sistema acrosómico de la espermatida joven (estado 8), hacia la membrana basal. Finalmente los espermatocitos inmaduros en estado 19 se alinean y completan la

eliminación de su citoplasma. Los fragmentos del citoplasma se observan cercanos a una masa casi esférica llamada cuerpo residual. Hacia el final de esta etapa, las células en estado 19, son liberadas como espermatozoides libres.

ETAPA IX

Comienza el aplanamiento y alargamiento del núcleo de la espermátida (estado 19), lo cual ocurre en el momento o poco después de la liberación de los espermatozoides. Las espermatogonias de tipo A son escasas, pero se dividen en esta etapa. Las espermátidas en estado 9 forman una capa sólida. El cuerpo residual desaparece gradualmente. Hay pocos espermatozoides que pueden permanecer en el lumen durante esta etapa.

ETAPA X

Empieza cuando la parte caudal de la capucha se alarga al ángulo dorsal del núcleo. Es raro encontrar espermatogonias de tipo A a lo largo de la membrana basal. La generación de espermátidas jóvenes se encuentran en estado leptoténico. Las espermátidas se separan al inicio por grupos de espermátidas en crecimiento de la última generación.

ETAPA XI

Se da cuando inicia la diferenciación de las espermátidas. No hay cambios significativos en las espermatogonias y los espermátidas. Esta etapa es caracterizada por el hecho de que las espermátidas inician la formación de paquetes entre los espermátidas maduros. Persisten los espermátidas en leptoteno y paquíteno.

ETAPA XII

Comienza cuando las espermatogonias de tipo A incrementan su número por mitosis en esta etapa. Las espermatogonias están asociadas con una capa de espermátidas jóvenes. Entre los espermátidas maduros se definen paquetes alargados de espermátidas. Las espermátidas de estado 11 pasa a estado 12 y alcanza su longitud máxima. Los espermátidas viejos pasan a diploteno.

6.- FISIOLÓGÍA

El tejido conectivo que rodea a los túbulos seminíferos contiene, además de los elementos nerviosos y vasculares, pequeños grupos de células endocrinas productoras de andrógenos, las células intersticiales de Leydig (Lesli y James, 1995).

Estas células producen la hormona sexual masculina la testosterona. La función principal de la testosterona, es mantener la espermatogénesis y por lo tanto la fertilidad. La actividad de las células de Leydig son mediadas por las células de Sertoli, las cuales son importantes por su función secretora. Esta función incluye la producción de fluidos, proteínas, de algunos péptidos y esteroides en los túbulos seminíferos (Sharpe, et al, 1981; Jegou, 1992).

La secreción de los fluidos en el túbulo seminífero es una función esencial de las células de Sertoli. Las células de Sertoli, nutren a las células germinales y participa en la liberación de espermatozoides, además de que transporta sustancias químicas hacia la parte basal y apical del epitelio seminífero. Estas sustancias pueden ser asimiladas por células de Sertoli que se comunican con las células germinales y también entre una generación de células germinales y otra, por la vía del espacio intercelular (Jegou, 1992).

Se ha comprobado que la población de células de Sertoli son controladas por las gonadotropinas, ya que al aplicar hormona foliculo estimulante (FSH) el número de células de Sertoli muestra un incremento (Jegou, 1992).

Koskimies y Kormano (1973) sugieren que la mayoría de las proteínas en los túbulos seminíferos primarios son derivados de las células de Sertoli; la mayoría de los productos son agentes paracrinos y son probablemente secretados en el epitelio seminífero. Estos fluidos son controlados por la testosterona (Jegou, 1992).

La producción bidireccional de los productos secretados por las células de Sertoli son considerados como reguladores paracrinos y endocrinos de la espermatogénesis. En la pubertad la hipófisis libera hormona luteinizante (LH) y hormona foliculo estimulante (FSH). Estas dos hormonas pituitarias son de gran

importancia en la regulación de las células de Sertoli; ya que la FSH se une a receptores específicos de éstas células, y la LH estimula a las células intersticiales de Leydig a producir testosterona (Jegou, 1992, Lesli y James, 1995).

Además de la FSH y la testosterona, otro número de factores humorales influyen a las células de Sertoli; incluyendo insulina, otros esteroides, varias vitaminas y derivados peptídicos como la proopiomelanocortina (POMC) (Jegou, 1992).

La testosterona y la FSH ambas son capaces de estimular la formación de proteína fijadora de andrógenos (ABP) a través de las células de Sertoli en ratas. La sensibilidad de la secreción de ABP como de los fluidos en los túbulos seminíferos, la secreción de FSH y testosterona varía con la edad. La testosterona se une al ABP y el complejo es liberado en la luz del tubo seminífero, donde la concentración elevada de testosterona aumenta el proceso de espermatogénesis (Jegou, 1992; Lesli y James, 1995).

7.- TORSIÓN TESTICULAR

La torsión del testículo o mejor dicho del complejo epidídimo - testicular, es un episodio patológico consistente en la rotación del cordón espermático alrededor de su propio eje (entre 180 a más de 1000°) y ocasiona un sufrimiento testicular cuya intensidad guarda relación con la magnitud de las alteraciones vasculares (Malossini, et al, 1992).

El primer efecto de la torsión es una obstrucción venosa, seguida de edema, hemorragia y finalmente de una oclusión arterial con infartación (Whitaker, 1982).

La torsión testicular se localiza con mayor frecuencia en el interior de la túnica vaginal, por lo que se habla de torsión intravaginal; es menos frecuente que afecte al cordón en su totalidad, en cuyo caso se habla de torsión extravaginal (Whitaker, 1982; Malossini, et al, 1992).

La torsión testicular en la especie humana se presenta entre la edad de 12 y 18 años, teniendo su pico de incidencia a la edad de 14 años (Whitaker, 1982; Prater y Overdorf, 1991).

Son importantes las relaciones anatómicas entre el testículo y el epidídimo, se dan casos en los que estas dos estructuras se encuentran separadas por un mesorquio anormalmente largo, de forma que el testículo aparece casi suspendido del mismo, y otros en la que la superficie de contacto entre el mesorquio y el testículo es sumamente pequeña. En estos casos, el testículo queda suspendido horizontalmente sobre un largo mesorquio en un saco vaginal anómalo, el epidídimo yace sobre el testículo y está separado del mismo en grado variable. En estas condiciones, la torsión se produce, por lo general, en torno al mesorquio y abarca a menudo el polo superior del epidídimo (Malossini, et al, 1992).

7.1.- FACTORES PREDISPONENTES

Entre los factores predisponentes deben incluirse a el ejercicio, los accesos de tos, el cruzar las piernas, los traumatismos, las relaciones sexuales y los estados de excitación prolongada, si bien cierto número de torsiones de los sujetos jóvenes se producen durante el sueño, muy probablemente en relación con las erecciones o eyaculaciones nocturnas (Malossini et al, 1992).

De hecho, en las primeras fases de la relación sexual, la contracción del músculo cremáster imprime al testículo un movimiento de elevación y rotación hasta producir, en presencia de anomalías del tipo descrito anteriormente, una verdadera torsión (Malossini et al 1992).

7.2.- SÍNTOMAS

El cuadro puede iniciarse de forma súbita o gradual, en relación con hechos desencadenantes o factores predisponentes. Se presenta dolor abdominal que se irradia hacia la ingle y testículo afectado, acompañado de tumefacción escrotal. La piel del escroto puede aparecer enrojecida y edematosa, en ocasiones dificulta la exploración del testículo y el cordón (Malossini, et al, 1992).

En los niños y especialmente en los neonatos, el cuadro clínico difiere a menudo del observado en los adultos; pueden parecer inquietos e insomnes y rechazar la alimentación, en adultos y adolescentes se presentan náuseas y vómito (Malossini, et al, 1992).

7.3.- PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO

El examen físico revela dolor e inflamación del epidídimo y del testículo, siendo esto crucial en el diagnóstico y valoración de la torsión testicular. La palpación cuidadosa es necesaria para determinar la posición del epidídimo. Si no se encuentra en su posición típica posterolateral, se deberá sospechar de una torsión testicular; aunque el epidídimo se encuentre en su posición normal, no debe descartarse una posible torsión, debido a que el testículo puede rotar de 180° a más de 1000° (Whitaker, 1982; Prater y Overdorf, 1991).

La oclusión vascular, el eritema y el aumento de volumen escrotal, hacen que la evaluación del contenido escrotal dañado se dificulte (Prater y Overdorf, 1991).

Algunas ocasiones se puede diagnosticar epididimitis, cuando en realidad se trata de una torsión testicular, por lo que es necesario conocer la sintomatología de cada padecimiento. En la torsión testicular se presentan náuseas y vomito, siendo la fiebre rara en este padecimiento, contrario a lo que ocurre en la epididimitis en la cual los síntomas son fiebre, descargas uretrales, siendo las náuseas y el vomito escasos (Prater y Overdorf, 1991).

El signo de Prehn's (elevación del escroto), consiste en la palpación del testículo, es decir se eleva con la mano cada uno de los testículos y si se presenta dolor, entonces se puede diagnosticar como una posible torsión testicular, aunque éste no sea específico (Prater y Overdorf, 1991).

Estudios auxiliares de laboratorio y algunas técnicas radiológicas pueden ayudar a determinar si es necesaria o no la intervención quirúrgica. El urianálisis consiste en la evaluación del sedimento urinario

siendo normal en el 90% de los casos, en ocasiones puede detectarse infección moderada, que no indica con certeza un proceso inflamatorio, pero no es muy confiable (Garat, 1987; Prater y Overdorf, 1991).

La ultrasonografía Doppler es la prueba de diagnóstico comúnmente empleada en el ámbito clínico, usada para evaluar el flujo sanguíneo testicular, permitiendo confirmar su presencia o ausencia y valorar su magnitud, teniendo un 88% de confiabilidad, así mismo a través de radionucleótidos testiculares. En caso de isquemia testicular como resultado de una torsión, el estudio demuestra un decremento en el flujo sanguíneo, con un 90% de confiabilidad. Por último la ecografía escrotal es indispensable para definir la anatomía de las estructuras escrotales, esta prueba sólo incrementa las sospechas de que se trata de una torsión testicular, siendo uno de los procedimientos más confiables de diagnóstico (Garat, 1987; Prater y Overdorf, 1991, Malossini, et al, 1992).

La intervención quirúrgica es el último de los recursos empleados cuando se ha comprobado que efectivamente es una torsión testicular y con ella se trata de salvar al órgano afectado, algunos médicos se apegan a la técnica manual de destorsión, para la corrección temprana de isquemia testicular. Este proceso involucra la manipulación y rotación del testículo torcido, en un intento por recuperar la anatomía normal y viabilidad de éste. Si el testículo torcido no es viable la extirpación del testículo es inevitable (Prater y Overdorf, 1991).

7.4.- ANTECEDENTES

Los estudios en pacientes que sufrieron torsión testicular y destorsión, han mostrado cambios degenerativos severos; tales como excesiva vacuolización intraepitelial, pocas células germinales y la presencia de túbulos seminíferos con células de Sertoli y pocas espermatogonias, lo que indica que la torsión testicular detiene el desarrollo y diferenciación de las líneas germinales (Chakraborty, et al, 1986).

Algunas investigaciones realizadas en animales de laboratorio, a los cuales se les produjo torsión testicular unilateral y destorsión, indican daños y anomalías en el testículo contralateral, cuando la torsión dura más de 6 hrs, los daños que se presentan son disminución en la espermatogénesis, el tamaño de los túbulos seminíferos y la fertilidad decrecen (Anderson y Williamson, 1990; Chakraborty, et al, 1986). En otros

estudios se ha detectado descamación del epitelio germinal, edema intersticial y un decremento en la cantidad de espermatozoides, así como una baja en la fertilidad (Bartsh, et al, 1980; Krarup, 1987). Contrario a esto otras investigaciones reportan que el testículo contralateral no sufre ningún daño o alteración (Turner, 1987).

Otros estudios de torsión testicular (720° de rotación del testículo), efectuados en ratas con una duración de 4 hrs de torsión, nos indican que este tiempo es suficiente para interrumpir el flujo sanguíneo del testículo torcido, ocasionándole una severa infartación hemorrágica, trayendo como consecuencia un testículo dañado que no es recuperable (Turner, 1987) En cuanto al testículo contralateral de una torsión de 4 hrs, éste que no sufre ninguna alteración, no hay reducción en la concentración de esperma, ni de su movilidad, al ser éstos analizados (Anderson y Williamson, 1990),

Estudios que han utilizado periodos con mayor tiempo de torsión (6, 7, 8, 9 o 10 hrs) se detectó que el daño en el testículo torcido como en el contralateral es irreversible por lo que la orquidectomía es inevitable (Turner, 1987).

El tiempo y el grado de torsión pueden ser las causas más importantes de atrofia en el testículo (Anderson y Williamson, 1990), además de la predisposición de la especie y cepa utilizadas en los estudios antes mencionados.

La duración de la isquemia puede verse incrementada considerando el tiempo que toma el disolver coágulos o trombos sanguíneos utilizando sustancias fibrinolíticas. Por otro lado la sangre tiene la capacidad de disolver los coágulos por medio del sistema fibrinolítico (Goth, 1984).

7.5.- FIBRINOLÍTICOS

Los fibrinolíticos son drogas capaces de lisar la fibrina, actúan activando al plasminógeno para transformarlo en plasmina o fibrinolisisina. La plasmina es una serina proteasa generada a partir del plasminógeno que es una molécula precursora. La plasmina se activa por medio de dos activadores

bioquímicamente distintos, los activadores del plasminógeno tisular (tPA) y la urocinasa. La plasmina puede descomponer varias proteínas, actúa como enzima proteolítica sobre el fibrinógeno y la fibrina dando lugar a los productos de degradación (Goth, 1984; Sumano, 1988; Clark, 1992).

Los mecanismos de control de la fibrina son importantes para limitar la formación de coágulos y su eliminación. Uno de los mecanismos es la expresión del activador del plasminógeno de tipo tisular. El principal mediador de la fibrinólisis, el tPA, adquiere eficacia dentro del coágulo a lo largo de la pared tisular. El tPA forma un complejo con la estreptocinasa, que transforma al plasminógeno inactivo en plasmina, la cual tiene gran afinidad para degradar a la fibrina (Clark, 1992).

Se ha visto tanto por experiencia en el laboratorio como por otros investigadores, que uno de los principales inconvenientes de la intervención quirúrgica tanto en humanos como en animales de laboratorio es la presencia de adherencias, las cuales pueden enmascarar los resultados experimentales. Se conocen varias sustancias que ayudan a evitar este tipo de problemas como son: plasmina-deoxiribonucleasa (PD), taurolidina (T), ácido hialurónico (HA), espringolípidos (SL), galactolípidos (GL), tetraclorodecaóxido (TDCO), estreptocinasa-estreptodornasa (EE), entre otros (Treutner, et al, 1995).

La EE además de su cualidad antiadherente, actúa también como agente fibrinolítico y ésta, al ser administrada, activa al sistema fibrinolítico, al estimular la transformación de plasminógeno en plasmina (Clark, 1992).

La EE es una mezcla de enzimas estreptocócicas combinadas con plasminógeno de origen placentario, usadas por vía tópica para disolver los coágulos sanguíneos, licuar la fibrina (estreptocinasa) y las nucleoproteínas viscosas y exudados purulentos y caseosos (estreptodornasa) (Goth, 1984; Sumano, 1988) (Fig. 6).

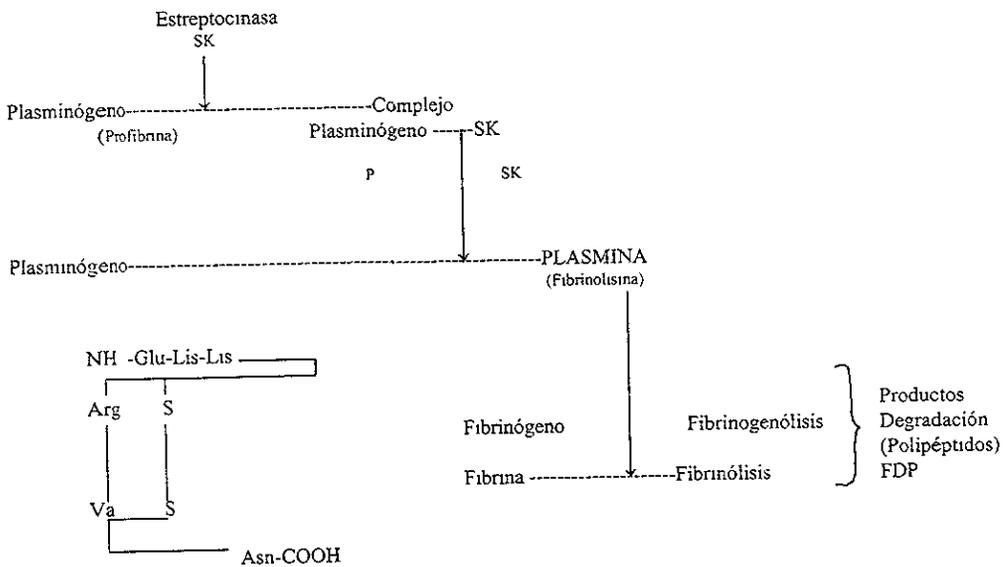


Fig. 6.- Mecanismo de acción de la estreptocinasa para transformar el plasminógeno en plasmina, que actúa lisando el fibrinógeno y la fibrina (Litter, 1986).

II.- JUSTIFICACIÓN

Debido a los trastornos tanto fisiológicos como psicológicos que se presentan en pacientes pediátricos que han sufrido una orquidectomía debido a una torsión testicular, es de suma importancia preservar el testículo así como su fertilidad. Es necesario reducir el tiempo de isquemia con lisis pronta de los trombos que pudieran bloquear la circulación normal del testículo torcido, así como disminuir la presencia de adherencias postquirúrgicas.

III.- OBJETIVOS

1.- OBJETIVO GENERAL

Determinar el papel de la Estreptocinasa-Estreptodornasa (EE), sobre la recuperación vascular del testículo con torsión unilateral de 4 hrs, con posterior destorsión.

2.- OBJETIVOS PARTICULARES

Evaluar en el testículo torcido con posterior destorsión y aplicación de EE:

- el efecto de la droga sobre la degradación fibrinolítica en los vasos sanguíneos.
- la presencia o ausencia de adherencias postquirúrgicas.
- la integridad testicular como un efecto de la actividad enzimática de la EE.

IV.- HIPÓTESIS

Si el daño testicular posterior a una torsión-destorsión, es consecuencia de la falta de una pronta circulación sanguínea al órgano, así como la presencia de adherencias postquirúrgicas que pueden favorecer al daño testicular, entonces al aplicar estreptocinasa - estreptodornasa (EE), que actúa como fibrinolítico-antiadherente, pueda promover una disminución del daño testicular y posible viabilidad del órgano.

V.- MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron 35 ratas machos de la cepa Wistar, de 60 días de edad, provenientes del bioterio de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría, mantenidas en un ambiente convencional con alimento y agua a libre demanda.

Se manipularon quirúrgicamente bajo anestesia disociativa hidrocloreto de xilazina (Rompum), a una dosis de 45 mg/kg. y ketamina a una dosis de 35 mg/kg. (James, et al, 1983) El proceso quirúrgico y la evaluación histológica se realizó en el testículo derecho. Los animales fueron divididos para su estudio en 5 grupos de 7 organismos cada uno (ver diagrama del apartado C).

Grupo I Control Sano (CS).

En estos animales el testículo no sufrió ningún tipo de manipulación.

Grupo II Torsión Vehículo (TV).

A estos animales se les practicó torsión testicular según el modelo propuesto por Ryan y Fitzpatrick (1988), rotando el testículo 720° (dos vueltas completas) y manteniéndolo en ésta posición con sutura no absorbible (seda) durante 4 hrs. Al término de este lapso los animales se sometieron quirúrgicamente para la destorsión del testículo y finalmente se les administró el vehículo de la EE (agua corriente), cada 8 hrs, durante diez días, vía oral a través de una cánula gástrica.

Grupo III Torsión EE (TEE).

A estos animales también se les practicó torsión testicular como se describió para el grupo II y se mantuvieron en esta posición durante 4 hrs. Al término de este lapso, se destorció el testículo y se inició la administración de EE (10,000 unidades de estreptocinasa y 2,500 unidades de estreptodornasa / 100 grs de peso corporal), disuelta en agua corriente, cada 8 hrs, durante diez días, vía oral a través de una cánula gástrica.

Grupo IV Control Quirúrgico EE (CQEE).

A estos animales se les manipuló el testículo, sin realizarles torsión alguna, solo se expuso y colocó después dentro de su túnica vaginal, en su posición normal, posteriormente se les administró EE disuelta en agua corriente, cada 8 hrs, durante diez días, en la misma dosis mencionada para el grupo III, vía oral a través de una cánula gástrica.

Grupo V Control Quirúrgico Vehículo (CQV).

Igual que a los animales del grupo IV solo se les manipuló el testículo, posterior a esto se les administró el vehículo de la EE (agua corriente) cada 8 hrs, durante diez días, vía oral a través de una cánula gástrica.

1.- DETERMINACIÓN DE FIBRINA

Con el objeto de evaluar el papel de la EE como agente fibrinolítico, de cada grupo se tomaron 2 ratas, éstas se sacrificaron 24 hrs después de cada tratamiento, se les extrajo el testículo derecho y se seccionaron a la mitad para una mejor fijación. Las muestras fueron fijadas en formol al 10% durante dos días, después se lavaron por 3 hrs en agua corriente y finalmente se deshidrataron con alcoholes graduales, comenzando con OH 60%, 70%, 80%, 90%, 96%, 100%, 100%- xilol, xilol durante 90 min. cada uno y finalmente se hicieron dos cambios en parafina a 52°C dejándose 90 min. en cada cambio y por último el tejido se incluyó en parafina.

Se realizaron cortes de 5 μ en un microtomo de rotación y se les aplicó la técnica de Mallory ácido fosfotungstico-hematoxilina (PTAH) (apartado A). Esta técnica permite identificar la fibrina de color azul, la colágena de color rojo, los núcleos de color azul claro y el músculo de color azul con estriaciones bien definidas (Lee, 1960).

Se realizó un análisis semicuantitativo de la presencia de fibrina en los vasos sanguíneos considerando como: (-), ausencia de fibrina; (+), ligera; (++) , moderada; (+++), abundante cantidad de fibrina en los vasos sanguíneos.

Los animales restantes se sacrificaron 10 días posteriores a la cirugía, se obtuvieron los testículos torcidos y manipulados de los animales de cada grupo mismos que se perfundieron a través de la arteria espermática con solución salina y posteriormente con fijador de Karnovsky. Finalmente se inició su procesamiento para su inclusión en EPON, el cuál se describe en el apartado B.

2.- EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE LOS TÚBULOS SEMINÍFEROS

Se realizaron cortes transversales de los túbulos seminíferos de 1μ de grosor en un ultramicrotomo, los cuales se tiñeron por flotación con azul de toluidina al 0.5 % y se montaron en portaobjetos para su análisis.

El análisis histológico fue realizado por un solo observador y por cada animal se observaron de 25-30 secciones de túbulos seminíferos. Siendo analizados un total de 125-130 secciones de túbulos seminíferos por cada grupo.

Para la evaluación histológica se consideró a las etapas del Ciclo del Epitelio Seminífero (CES), en cada túbulo seminífero y los parámetros considerados fueron:

1. Presencia de vacuolas intracelulares e intercelulares.
2. Presencia de células germinales necrosadas o necrosis tubular.
3. Disminución del número de células germinales; por ejemplo, túbulos que contengan algunas espermatogonias, espermatoцитos y células de Sertoli.
4. Hipoplasia de células germinales, es decir, túbulos solo con espermatogonias.
5. Plegamiento de la membrana basal.
6. Descamación del epitelio seminífero.

Aquellos túbulos que presentaron uno o más de estos parámetros se consideraron como dañados y se determinó el porcentaje de túbulos alterados en relación al número total de túbulos evaluados.

Por otro lado se utilizó la clasificación de Leblond y Clermont (1952), para la identificación de las diferentes etapas del ciclo del epitelio seminífero.

Los resultados fueron analizados estadísticamente por medio de la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis considerando una diferencia significativa a una $p < 0.05$.

Además se cuantificó y describió si hubo o no disminución de adherencias postquirúrgicas en los testículos torcidos y manipulados de todos los grupos.

VI.- RESULTADOS

Los resultados macroscópicos demostraron, la respuesta a las diferentes condiciones experimentales. El grupo TV fue el más afectado, ya que 4/5 animales presentaron adherencias postquirúrgicas, que inclusive impidieron el aislar el órgano para su fijación, 5/5 animales mostraron disminución testicular y 3/5 tuvieron necrosis. Estas últimas alteraciones dificultaron la perfusión del órgano. De manera contraria en el grupo TEE se observó que 1/5 testículos mostró adherencias, necrosis y disminución de tamaño y el resto se observaron como normales. Los grupos CQEE, CQV y CS, no presentaron alteraciones macroscópicas de consideración (Cuadro 1, Fig. 7).

Cuadro 1. Proporción de alteraciones macroscópicas en el testículo derecho (torcido) de rata en diferentes condiciones experimentales.

GRUPO		PROPORCIÓN DE TESTÍCULOS CON:		
		DISMINUCIÓN DE TAMAÑO	ADHERENCIAS	NECROSIS
I	CS	0/5	0/5	0/5
II	TV	5/5	4/5	3/5
III	TEE	1/5	1/5	1/5
IV	CQEE	0/5	0/5	0/5
V	CQV	0/5	0/5	0/5

CS- Control sano

TV- Torsión vehículo

TEE- Torsión estreptocinasa-estreptodomasas

CQEE- Control quirúrgico

estreptocinasa-estreptodomasas

CQV- Control quirúrgico vehículo

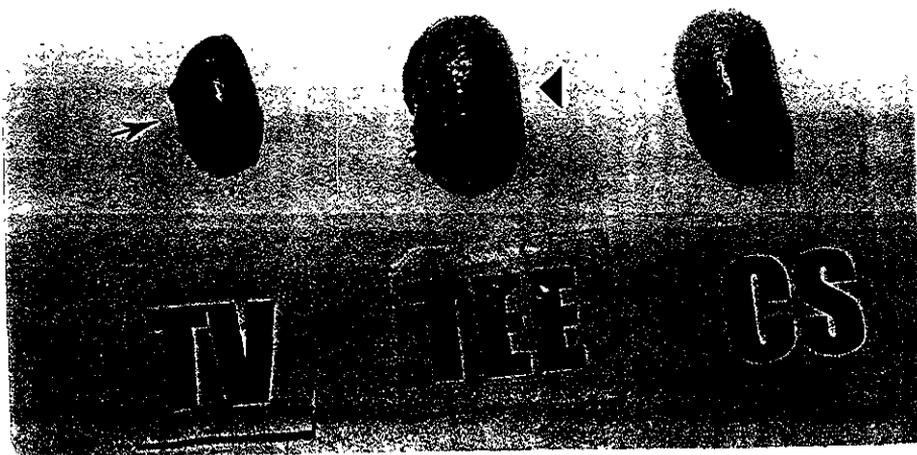


Fig. 7.- Testículos pertenecientes a los grupos CS, TV y TEE, en dónde se observa el grupo CS con un tamaño normal; al comparar los testículos de los grupos restantes, se aprecia una disminución de tamaño en el grupo TV (flecha) y con respecto al grupo TEE éste se observa como normal (punta de flecha).

La técnica de Mallory nos permitió evidenciar la fibrina en el interior de los vasos sanguíneos, de pequeño y mediano calibre, como pequeñas costras azules. El grupo TV presentó gran cantidad de fibrina (Fig. 8), contrario a lo observado en los grupos TEE, CQEE, CQV y CS en los cuales no se logró apreciar fibrina en sus vasos sanguíneos (-) (Fig. 9) (Cuadro 2).



Fig. 8.- Corte transversal de testículo torcido perteneciente a una rata del grupo TV(después de 24 hrs), en donde se aprecia la fibrina en un vaso sanguíneo (flecha), túbulos seminíferos dañados a su alrededor (TS) y células intersticiales de Leydig (L) (Técnica de Mallory, 25x).

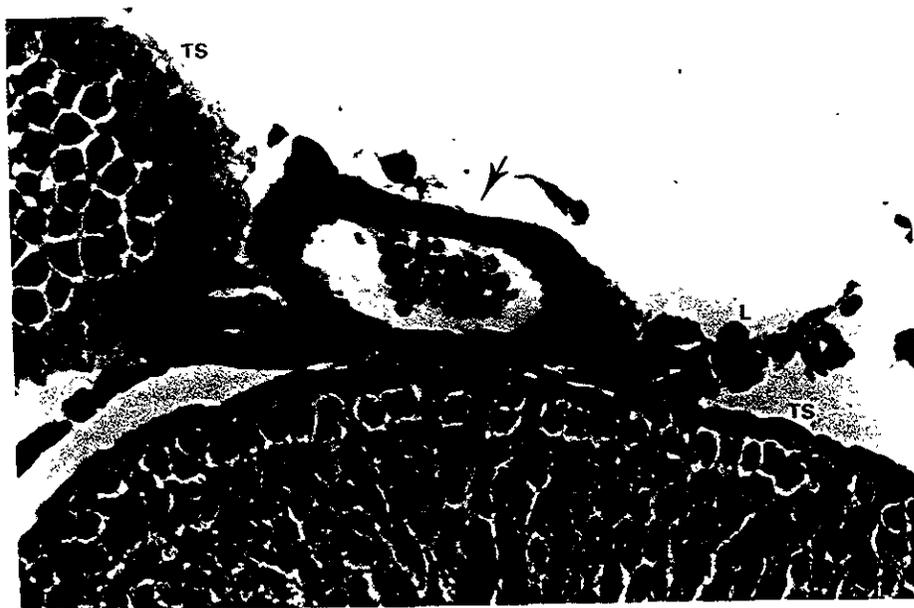


Fig. 9.- Corte transversal de un testículo torcido de una rata perteneciente al grupo TEE, después de 24 hrs, en dónde se muestra un vaso sanguíneo, sin fibrina (flecha), túbulos seminíferos rodeándolo (TS) y células de Leydig (L) (Técnica de Mallory, 10x).

Los daños histológicos fueron determinados en las distintas etapas del Ciclo del Epitelio Seminífero, sin embargo, en aquellos túbulos que presentaron necrosis, fue imposible determinar las etapas, debido a la ausencia de espermátidas, células indispensables para la identificación morfológica de dichas etapas.

En el grupo CS las alteraciones fueron del 1%, porcentaje considerado como normal en la literatura internacional. Este fue dado por ligera vacuolización y descamación epitelial (Fig. 10).

En el grupo TV se presentó el mayor porcentaje de daño, que fue del 55.32%. Los daños histológicos consistieron en descamación del epitelio seminífero, plegamiento de la membrana basal y vacuolización inter e intracelular, así como necrosis de las colas de la línea germinal (Fig. 11, Cuadro 2).

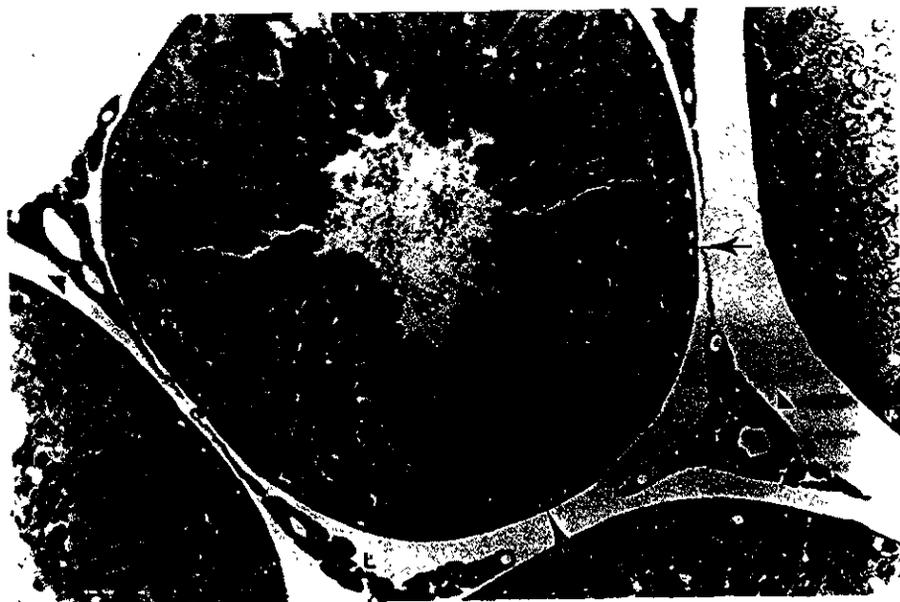


Fig. 10.- Túbulo seminífero perteneciente a una rata del grupo CS (10 días después), en dónde se observa ligera vacuolización intercelular (flecha), vasos sanguíneos (punta de flecha) y células de Leydig (L) (Azul de toluidina, 25x).



Fig. 11.- Corte transversal de túbulo seminífero de una rata perteneciente al grupo TV, 10 días después, en dónde se aprecia gran cantidad de vacuolización inter e intracelular (Flecha) y plegamiento de la membrana basal (Punta de flecha) (Azul de toluidina, 25x).

El grupo TEE mostró daños histológicos del 21.0%, que consistieron en vacuolización intercelular, descamación del epitelio seminífero y necrosis. Sin embargo, estos se presentaron en menor cantidad con respecto al grupo TV (Fig. 12).

El daño histológico presentado en los grupos CQEE y CQV fue del 6.3% y 9.0% respectivamente, siendo diferentes de los grupos TEE y TV ($p < 0.05$). Este porcentaje estuvo representado por vacuolización e hipoplasia de células germinales (Cuadro 2).

Las etapas VIII, XIII y XIV, no presentaron algún tipo de daño en los diferentes grupos experimentales, sin un comportamiento particular.

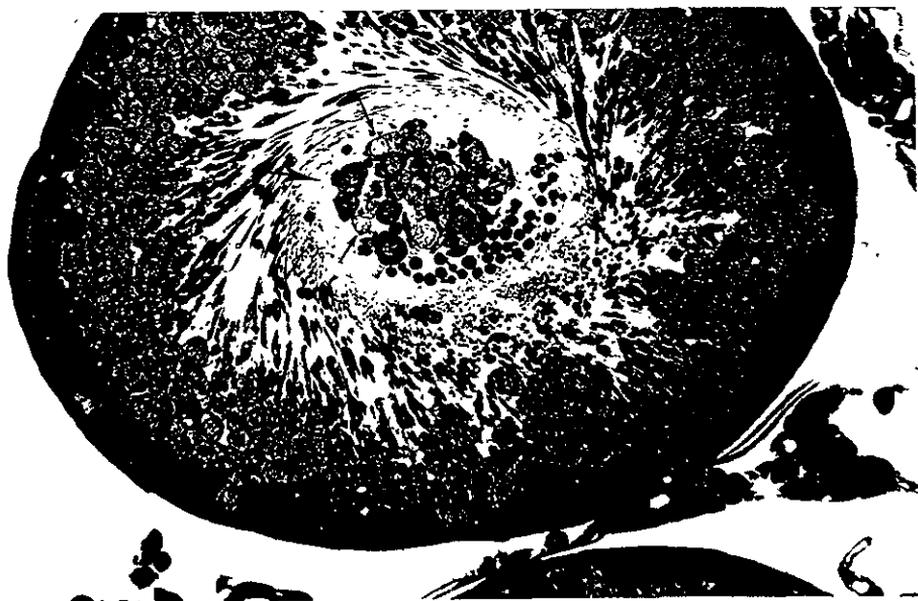


Fig. 12.- Corte transversal de túbulo seminífero perteneciente a una rata del grupo TEE, 10 días después, el cuál muestra vacuolización intercelular (Punta de flecha), descamación del epitelio seminífero en poca cantidad (Flecha) y espermátidas necrosadas (flecha más delgada) (Azul de toluidina, 25x).

Cuadro 2.- Porcentaje de túbulos seminíferos dañados en el testículo derecho (torcido) de la rata en diferentes condiciones experimentales.

ETAPAS DEL CICLO DEL EPITELIO SEMINIFERO (%)											
GRUPO	FIBRINA	I-III	IV-V	VI	VII	VIII	IX-X	XI-XII	XIII-XIV	NECROSIS	TOTAL
I CS	(-)	0	0	0	0	0	0	1.0	0	0	1.0 *
II TV	(+++)	1.6	3.9	10.7	3.1	3.9	0	4.7	5.4	0	21.87
III TEE	(-)	1.3	3.9	3.9	1.3	0	0	0	1.3	0	9.3
IV CQEE	(-)	0	1.8	2.7	0	0	0	2.7	0	0	6.3 *
V CQV	(-)	0	0	1.8	3.6	0	0	0	3.6	0	9.0*

CS- Control sano

TV- Torsión vehículo

TEE- Torsión estreptocinasa-estreptodomasia
los grupos vs el grupo CS (p<0.05)

CQEE- Control quirúrgico estreptocinasa- estreptodomasia
TV vs TEE (p<0.05)

CQV- Control quirúrgico vehículo

(-)- Ausencia de fibrina

(+++)- Mayor cantidad de fibrina

(*)- Diferencias significativas comparando a todos

(**)- Diferencias significativas comparando al grupo

ESTA TESIS NO SALE DE LA BIBLIOTECA

VII.- DISCUSIÓN

La torsión testicular es un fenómeno que consiste en la rotación de la gónada alrededor de su propio eje (180 a más de 1000°). Esto provoca la oclusión del flujo sanguíneo, ocasionando un sufrimiento testicular, que guarda relación con la intensidad de las alteraciones vasculares, así como con la duración de la torsión (Whitaker, 1982, Anderson y Williamson, 1990; Malossini, et al, 1992; Reyes, 1997)

Algunos autores indican que aún en periodos de 4 hrs y una magnitud de 720° de torsión , se produce una obstrucción venosa, seguida de hemorragia y finalmente se produce una oclusión arterial con infartación (Whitaker, 1982). Esto provoca la pérdida de células de la línea germinal y de células de Sertoli, y puede traer como consecuencia la lesión total de los túbulos seminíferos. Nosotros observamos, en estas mismas condiciones, resultados similares, es decir, hipoplasia germinal, vacuolización, plegamiento de la membrana basal e inclusive necrosis tubular de las células de la línea germinal. En lapsos menores de 3 hrs de torsión, se ha reportado únicamente disminución de la población de células germinales (Turner, 1985), las cuáles son altamente sensibles al daño isquémico (Ryan, et al, 1988).

En la torsión testicular se produce una oclusión parcial o total del flujo sanguíneo, seguido de isquemia testicular. A la isquemia se le ha definido como la disminución del flujo sanguíneo en una área determinada, que generalmente se refiere a una interferencia en el flujo sanguíneo arterial. La isquemia puede ser provocada por una trombosis, arteriosclerosis, embolismo y otras alteraciones que disminuyen y ocluyen la libre circulación de la sangre en los vasos sanguíneos y arterias (Ciftci, et al, 1997).

La experiencia en el laboratorio al evaluar testículos torcidos en ratas y lo observado en el presente trabajo, han demostrado la presencia de fibrina (componente de los trombos) en el interior de los vasos sanguíneos del testículo torcido. Esto puede bloquear la libre circulación sanguínea sometiendo al testículo a un mayor tiempo de isquemia. De manera natural este proceso de degradación de la fibrina tarda entre 24 y 48 hrs (Litter, 1986).

Por otro lado se ha visto que uno de los problemas al manejar quirúrgicamente órganos abdominales e inguinales, es la formación de adherencias postquirúrgicas. Estas pueden traer como consecuencia la elevación de la temperatura del órgano, sumada al aumento de temperatura provocada por el incremento del flujo sanguíneo que se presenta durante la torsión testicular (Melikoglu, et al., 1992). Se sabe que la espermatogénesis es sumamente sensible a la elevación de la temperatura y puede tener consecuencias dañinas sobre dicho proceso. Se conocen algunos fármacos que ayudan a disminuir este tipo de problemas tal es el caso de la plasmina+deoxirribonucleasa, ácido hialurónico, taurolidina, galactolípido, tetraciorurodecaoxido, estreptocinasa-estreptodornasa, entre otros (Treutner, et al, 1995).

Estudios realizados en conejos a los cuales se les sometió a cirugía abdominal, mostraron que la EE, redujo las adherencias postquirúrgicas en un 33% (Treutner, 1995). Otros fármacos mostraron mayor porcentaje de éxito, sin embargo la EE tiene la ventaja de ser una mezcla de enzimas estreptocóccicas combinadas con plasminógeno de origen placentario. Se emplea para disolver coágulos sanguíneos, licuar la fibrina (estreptocinasa), las nucleoproteínas viscosas y exudados purulentos y caseosos (estreptodornasa) (Goth, 1984; Sumano, 1988). En este estudio el empleo de la estreptocinasa y estreptodornasa (EE) nos permitió atacar el problema desde dos aspectos, primero degradando la fibrina, que se forma en los vasos sanguíneos del testículo torcido permitiendo probablemente, una adecuada circulación del flujo sanguíneo y segundo disminuir la formación de adherencias postquirúrgicas, que pueden llevar a una elevación de la temperatura del órgano afectado, así como a su atrofia.

Se sabe que el mecanismo de acción de la EE, como agente fibrinolítico es a nivel de la fibrina, ya que actúa activando al plasminógeno de tipo tisular (tPA), el cual es el principal mediador de la fibrinólisis, el tPA adquiere eficacia dentro del coágulo a lo largo de la pared tisular. El tPA forma un complejo con la EE, que transforma al plasminógeno inactivo en plasmina, la cual tiene gran afinidad para degradar la fibrina (Sumano, 1988; Clark, 1992).

Y dado que la EE actúa sobre el trombo recién formado, se cree que la mayor parte de disolución de los trombos por este agente fibrinolítico ocurre en las primeras 12 hrs del tratamiento (Clark, 1992). Disminuyendo así el tiempo de degradación del trombo casi a la mitad de lo normalmente empleado para

este proceso. De esta manera el testículo es sometido a menor tiempo de isquemia con posibilidad de ser recuperable.

Se han reportado mecanismos compensatorios, en la redistribución de sangre, durante la disminución del flujo sanguíneo ocasionado por una torsión testicular. Sin embargo una mala distribución sanguínea en el órgano afectado puede causar daño (Ciftci, et al, 1997).

En el presente estudio se observó que la administración de EE, en ratas con torsión-destorsión testicular degrado la fibrina que se produce en los vasos sanguíneos del testículo, 24 hrs después de su aplicación. Sin embargo las lesiones histológicas estuvieron presentes pero en menor cantidad comparada con el grupo al cuál no se le administró EE (TV).

Con respecto a los grupos control quirúrgico, se observó que el simple manipuleo quirúrgico, provoca alteraciones histológicas. Probablemente el abordaje quirúrgico inguinal no sea el más adecuado, habría que probar el abordaje de tipo escrotal y ver la posibilidad de disminuir el tiempo de cirugía, así como manipular lo menos posible el órgano.

El uso de mezclas de sustancias que ayudan a la prevención de la obstrucción vascular y cierre de capilares, pueden no tener un efecto benéfico en el daño testicular causados por periodos largos de torsión. Pero en periodos cortos de torsión es decir, en periodos de isquemia cortos, estas sustancias pueden contribuir en la prevención moderada del daño testicular (Turner, 1985), y ser propuesto para su uso en la investigación clínica.

El hecho de que el grupo tratado con EE presentara alteraciones histológicas aún con la disminución de adherencias postquirúrgicas y degradación de la fibrina de sus vasos sanguíneos, puede indicar que otros factores se suman al daño testicular.

Keilly (1992) y Feza (1994), indican que una de las principales causas de daño posterior a la torsión es la reperfusión, provocada durante la destorsión, este fenómeno es llamado isquemia- reperfusión. Con la reperfusión del flujo sanguíneo, el oxígeno es suplido, el cuál es necesario para la conversión de hipoxantina (un producto de la degradación de ATP) a ácido úrico en presencia de la enzima xantina oxidasa. Durante este

proceso se producen gran cantidad de radicales libres. Estos radicales libres reaccionan con los lípidos en las membranas mitocondriales y celulares formando peróxidos lipídicos. La peroxidación lipídica cambia la permeabilidad de la membrana e interrumpe su integridad y por lo tanto la integridad celular.

Debido a que el daño histológico producido por una torsión testicular unilateral se ve parcialmente disminuido, con el empleo de EE, es necesario que se realicen más estudios de investigación enfocados en la evaluación de otros mecanismos y tratamientos involucrados en el daño testicular como el provocado por el fenómeno de isquemia-reperusión. Estudios recientes han sugerido que este es el principal mecanismo de daño en una torsión testicular (Vigueras, et al, 1998).

VIII.- CONCLUSIONES

-Se concluye que la aplicación de estreptocinasa-estreptodornasa, después de una torsión testicular:

- *Ayuda a la degradación de la fibrina formada en los vasos sanguíneos del testículo torcido, y probablemente induce una pronta recanalización vascular.

- *Reduce la cantidad de adherencias postquirúrgicas.

- *Disminuye las alteraciones histológicas: vacuolización inter e intracelular, descamación del epitelio seminífero, plegamiento de la membrana basal y necrosis tubular.

-El daño testicular provocado por una torsión, no está dado únicamente por la oclusión vascular e isquemia, sino que otros factores contribuyen a las lesiones del órgano afectado.

proceso se producen gran cantidad de radicales libres. Estos radicales libres reaccionan con los lípidos en las membranas mitocondriales y celulares formando peróxidos lipídicos. La peroxidación lipídica cambia la permeabilidad de la membrana e interrumpe su integridad y por lo tanto la integridad celular.

Debido a que el daño histológico producido por una torsión testicular unilateral se ve parcialmente disminuido, con el empleo de EE, es necesario que se realicen más estudios de investigación enfocados en la evaluación de otros mecanismos y tratamientos involucrados en el daño testicular como el provocado por el fenómeno de isquemia-reperusión. Estudios recientes han sugerido que este es el principal mecanismo de daño en una torsión testicular (Vigueras, et al, 1998).

VIII- CONCLUSIONES

-Se concluye que la aplicación de estreptocinasa-estreptodornasa, después de una torsión testicular:

- *Ayuda a la degradación de la fibrina formada en los vasos sanguíneos del testículo torcido, y probablemente induce una pronta recanalización vascular.

- *Reduce la cantidad de adherencias postquirúrgicas.

- *Disminuye las alteraciones histológicas: vacuolización inter e intracelular, descamación del epitelio seminífero, plegamiento de la membrana basal y necrosis tubular.

-El daño testicular provocado por una torsión, no está dado únicamente por la oclusión vascular e isquemia, sino que otros factores contribuyen a las lesiones del órgano afectado.

IX.- REFERENCIAS

1. Alvarez, V. J. (1988). Anatomía comparada básica. Trillas, México PT 581.
2. Anderson, J.B. y R.C.Williamson, (1990). Fertility after Torsion of the spermatic cord. J. Urol. 65, 225-230).
3. Balinsky, B. (1983). Introducción a la embriología. Omega. España.
4. Bartsh, A., Frank, S.J., Marberger, M. y Mikut, A. (1980). Testicular torsion: late results whit special regard to fertility and endocrine function. J. Urol. 24: 375-378.
5. Brady, J. R. (1978). Curso programado de anatomía y fisiología: Sistema reproductor. Limusa, México.
6. Chakraborty, J., Sinha Hi Kim, A. P. y Jhunjuwala. (1986). Torsion of the spermatic cord a long term study of the contralateral testis. Urol. Res. 14:257-260
7. Ciftci, A.O; S. Müftüoğlu, S; N. Ckarabd, F.C. (1986).Torsion of the spermatic cord a long term study of the contralateral testis. Urol. Res. 14: 257-260.
8. Clark, B. J. (1992). Farmacología médica. Mosby, España. PC 463-466.
9. Clermont, Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals seminiferous ephitellium cycle and spermatogonial renewal. Physiol. Rev. 52: 198- 236.
10. Dollander, A. y R. Fenart (1990). Elementos de embriología. Limusa, México. PC 83-87.
11. Dym, M. y Fawcett, W. (1970).The blood-testis barried in rat and the phisiological compartmentation of the seminiferous ephitellium. Biol. Reprod. 3:308-326.
12. Elieseiev. V. G., Yu. I. Afanasiev y N.A. Yurina. (1985). Histología. Mir, México. PT 584.
13. Feza, M. A, Kamer, K. P., F. Cahit. T., Nebil, B., y Akun H. (1994). Ipsilateral and contralateral testicular biochemical acute changes after unilateral testicular torsion and destorsion. Urol. 44: 413-418.
14. Garat, J.M. (1987). Urología pediátrica. Salvat, México.
15. Goth, A. (1984). Farmacología Médica: Principios y Conceptos. Doyma, España. PT 429-431.
16. James, A.F., Bannet,J.C. y Franklin, M.L. (1984). Laboratory animal medicine. Academic press, U.S.A.

17. Jegou, B.; LeGac- Jegou, F. y Krester, D.M (1982) Seminiferous tubule and interstitial fluid production . Effects of age hormonal regulation in immature rats. *Biol. Reprod.* 27: 590-595
18. Jegou, B. (1992). The Sertoli cell. *B. Clin. Endo. and Metab.* 6 (2) 272- 298.
19. Jimenez, G.L. (1978). *Embriología humana normal y patológica.* Espaxs, Barcelona PC 24-29.
20. Junqueira, L.C. (1983). *Histología básica.* Salvat, México. PT 506.
21. Karnovsky, M.J. (1965). A formaldehyde- Glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. cel. Biol.*, 27: 137A
22. Keilly, P.M., Schifter, H. Y Bulkley G B. (1992). *Am. J Surg.* 161: 448.
23. Krarup, T (1987) The testis after torsion. *B. J. Urol.*; 50:43-46
24. Langman, J (1976). *Embriología Médica.* Interamericana, México. PC 159-172.
25. Leblond, C.P. and Clermont, Y. (1952). Definition of stage of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat *Ann. N. Y. Acad. Sci* , 55: 548-573.
26. Lee, G. L. (1960). *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology.* Mc Graw-Hill, New York.
27. Lesli, P.G. y James, L.H. (1995). *Atlas de Histología.* Panamericana. México. PC 342-345
28. Lesson, S.T., (1990). *Histología.* Interamericana, México. PT 276.
29. Litter, M. (1986). *Farmacología experimental u clínica.* Ateneo, Argentina. PC 1290-1294.
30. Malossini, G., Corti, P; Comunale, L.; Bianchi, G., Baldassame, R., Carluccio, G. y Polett,G. (1992). Torsión del cordón espermático. *Arch. Esp.de Urol.*, 45,1 (5-10).
31. Melikoglu, M; Guntekin, E; Erlick, M; y Karaveli, S. (1992). Contralateral testicular blood flow in unilateral testicular torsion measured by the 133 Xe clearance technique. *B. J. Urol.* 69: 633-635.
32. Parvinen, M;Vinko, K.K., y Toppari, J. (1986). Cell interactiviti during the seminiferous epithelial cycle. *Int. Rev. Cit.*, 104:115-151.
33. Perey, B., Clermont, y. y Leblond, C.P. (1961). The wave of the seminiferous epithelium in rat. *Am. J. Anat.* 108: 47-77.
34. Prater, J.M. y Overdorf, B. S. (1991). Testicular torsion: a surgical emergency. *Am Fam Physician.*, 44:834- 840.

APARTADO "A"

Técnica de Mallory ácido fosfotungstico- hematoxilina (PTAH)

(Tejido fijado en formol)

- * Desparafinar el tejido y se lleva a agua destilada.
 - * Pasar el tejido en solución mordente de Zenker con ácido acético al 5% durante tres hrs y media a una temperatura de 60°C.
 - * Retirar del homo y dejar enfriar por 30 min.
 - * Remover los cristales de mercurio con Gram's iodina.
 - * Aclarar con tiosulfato de sodio durante 1 min.
 - * Lavar con agua corriente durante 10 min
 - * Pasar posteriormente a la solución de PTAH drante 90 min a una temperatura de 60°C.
 - * Retirar del homo y dejar enfriar durante 15 min.
 - * Deshidratar con OH 96%, OH100% y aclarar con xilol.
 - * Montar con entellan.
- (Lee, 1960).

APARTADO "B"

Inclusión en EPON

(Tejido fijado en karnovsky)

- * Lavar con solución amortiguadora de cacodilatos 0.1 M y pH 7.4.
 - * Postfijar en tetróxido de osmio al 1% durante 1 hra.
 - *Lavar tres veces con agua destilada, cambios de 5 min.
- Posteriormente se inicia la deshidratación con:
- * Un cambio en OH 60% durante 5 min.
 - * Tres cambios en OH 70% dejándolo 10 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH 80% dejándolo 10 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH 90% dejándolo 10 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH 96% dejándolo 10 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH100% dejándolo 10 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH 100% dejándolo 20 min en el último cambio.
 - * Tres cambios en OH 100% dejándolo 20 min en el último cambio.
 - * Un cambio en oxido de propileno y dejarlo por 20 min.
 - * Un cambio en oxido de propileno y dejarlo por 20 min.

Impregnación en EPON.

- * Un cambio en EPON-oxido de propileno 1:1 durante 1 hr.
- * Un cambio en EPON-oxido de propileno 2:1 durante 1 hr.
- *Cambiar a EPON puro durante 24 hrs.

Inclusión

- * EPON puro durante 12 hrs a 60°C para su polimerización.
- (Kamovsky, 1965).

APARTADO "C"

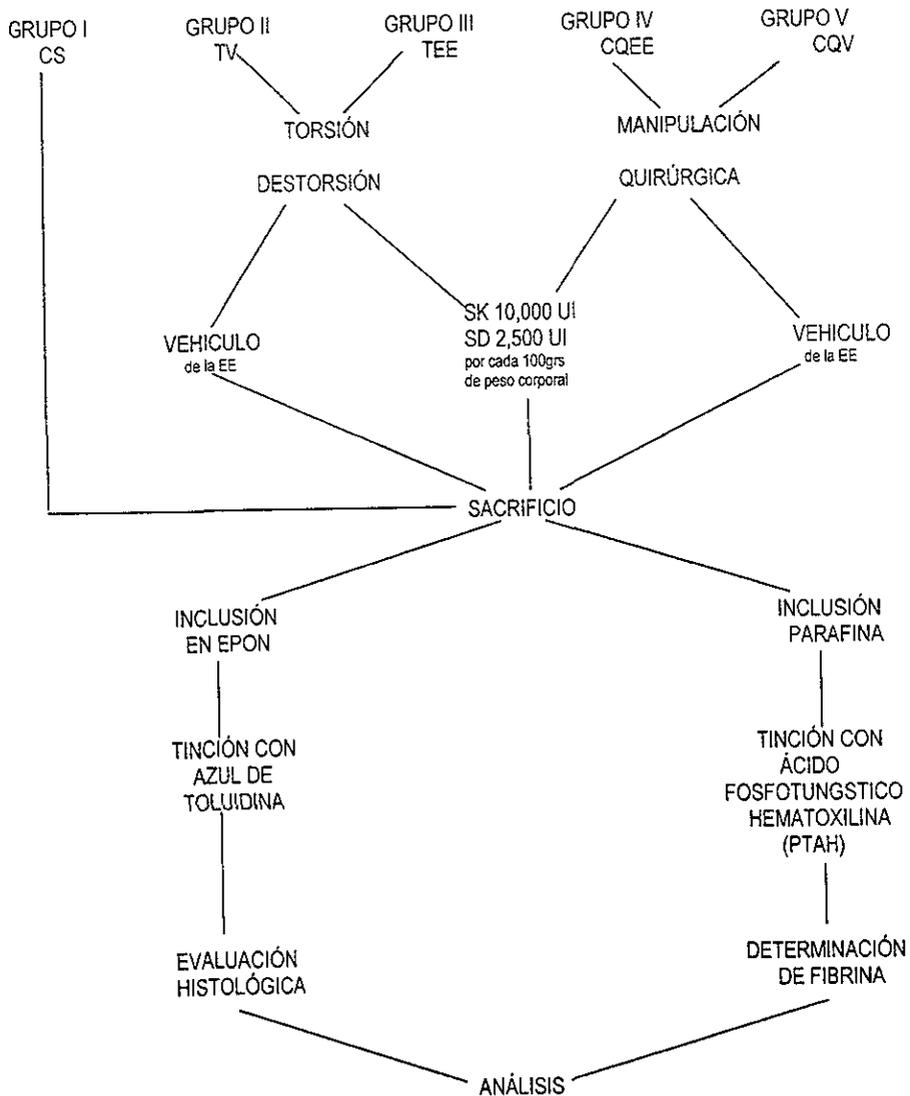


Fig. 12.- Representación diagramática de la metodología empleada en el presente trabajo.