

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



ALTERACIONES DEL DESARROLLO TESTICULAR PRENATAL DE RATAS POR EFECTO DE LA EXPOSICION MATERNA A CLOROFORMO Y ETER. "ESTUDIO HISTOLOGICO".

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

PABLO DE LA TORRE GONZALEZ

ASESOR M. EN C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA

GUADALAJARA, JALISCO. ENERO 1987

AGRADECIMIENTOS:

A MI MADRE, ABUELA Y HERMANOS .

Gracias por su apoyo y comprensión.

A MI ESPOSA:

Por saber compartir con amor los momentos amargos y dulces de mi vida.

A MI ASESOR:

M. en C. JOAQUIN GARCIA ESTRADA

Por su ayuda y respaldo incondicional para la superación académica de un servidor.

A MIS AMIGOS DEL DEPTO. DE INV.
CIENTIFICA DE ESTA FACULTAD.

Aurora Gpe., Esther, Cecilia y Ricardo; gracias por su colaboración.

A MI ALMA MATER Y FACULTAD
Por brindarme la oportunidad
de cursar una carrera profesio-
nal.

A MIS INOLVIDABLES COMPANE
ROS Y AMIGOS:

Alejandro Serrano
Fernando E. Zarkin
Jorge R. Hernández
Marcos Montero
Oscar R. Rodríguez

A TI (UD.)

Que de una u otra forma co
laboraste en la formación
de esta tesis.

MIEMBROS DEL JURADO:

M.V.Z. RODOLFO JAVIER BARBA LOPEZ
M.V.Z. J. JESUS CASTANEDA SANDOVAL
M.V.Z. CONSUELO ARANA FLORES
M.V.Z. DONAJI RUTH SANCHEZ GONZALEZ
M.V.Z. ARTURO CESENA CAVEROS



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL MO
DULO DE MORFOLOGIA EXPERIMENTAL DEL DE-
PARTAMENTO DE INVESTIGACION CIENTIFICA
DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE GUADA
LAJARA.

I N D I C E

Contenido	Página
R E S U M E N	
I N T R O D U C C I O N -----	1
P L A N T E A M I E N T O D E L P R O B L E M A -----	7
H I P O T E S I S -----	7
O B J E T I V O G E N E R A L Y P A R T I C U L A R E S -----	8
M A T E R I A L Y M E T O D O S -----	9
R E S U L T A D O S -----	10
D I S C U S I O N -----	15
C O N C L U S I O N E S -----	19
B I B L I O G R A F I A -----	20



IMPRESA DE
ESTACION IMPRESORA

RESUMEN. -

PARA CONOCER LAS ALTERACIONES EN TESTICULOS DURANTE EL DESARROLLO PRENATAL COMO CONSECUENCIA DE LA EXPOSICION--SUBAGUDA A ETER O CLOROFORMO, SE REALIZO UN ESTUDIO MORFOMETRICO E HISTOLOGICO DESCRIPTIVO Y SEMICUANTITATIVO EN PRODUCTOS DE MADRES EXPUESTAS A LA INHALACION DE ESTOS AGENTES DURANTE EL ULTIMO TERCIO DE LA GESTACION. EN LA ETAPA POSTNATAL INMEDIATA SE REGISTRARON LOS PARAMETROS MORFOMETRICOS DE LA PROGENIE PERTENECIENTES A LAS RATAS CONTROL Y EXPERIMENTALES, ASIMISMO, A LAS 24, 48 Y 72 HORAS DE VIDA SE SELECCIONARON DOS CRIAS DE CADA GRUPO, SE PERFUNDIERON POR VIA INTRACARDIACA CON SOLUCION AMORTIGUADORA DE FORMALDEHIDO-GLUTARALDEHIDO Y SE DISECTARON LOS TESTICULOS, MISMOS QUE FUERON MEDIDOS, PESADOS Y SOMETIDOS A PROCESAMIENTO HISTOLOGICO PARA SU POSTERIOR ANALISIS DESCRIPTIVO Y PLANIMETRICO. NO SE OBSERVARON DIFERENCIAS EN EL NUMERO DE PRODUCTOS NACIDOS CONTROL Y EXPERIMENTALES, TAMPOCO ENTRE LOS PARAMETROS MORFOMETRICOS ESTUDIADOS, SOLAMENTE LAS HEMBRAS PERTENECIENTES A MADRES EXPUESTAS A CLOROFORMO REVELARON UN LIGERO RETRASO EN EL CRECIMIENTO INTRAUTERINO, EN LOS TESTICULOS PROVENIENTES DE CRIAS DE ESTE MISMO GRUPO SE ENCONTRO UNA CANTIDAD ANORMAL DE TEJIDO CONECTIVO MEDIANTE LA APLICACION DE PLANIMETRIA. LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTE TRABAJO INDICAN QUE EL TEJIDO TESTICULAR FETAL FUE RESPONSIVO A LA ACCION DE LOS SOLVENTES UTILIZADOS, PARTICULARMENTE AL CLOROFORMO A PESAR DE LOS BAJOS NIVELES QUE SE ALCANZARON DURANTE LA ETAPA DE EXPOSICION, ESTO SUGIERE LA POSIBILIDAD DE UN MAYOR DANO BAJO CONDICIONES DE INHALACION DIRECTA EN SUJETOS EN LA ETAPA DE DESARROLLO.

INTRODUCCION:

Los anestésicos son sustancias químicas sintéticas - que suprimen total o parcialmente la sensibilidad corporal, la anestesia general se produce por su acción depresora parcial y progresiva sobre el sistema nervioso central (S.N.C.) además de la pérdida de la conciencia y el dolor, este fenómeno se inicia en la corteza cerebral, continua sobre los centros corticales y motores más elevados, médula espinal, tallo encefálico (nervios craneales motores) sin afectar el bulbo espinal, centro responsable del control cardíaco y respiratorio.¹⁻³

Los anestésicos volátiles son estables en los tejidos y se eliminan en su mayor parte por el intercambio gaseoso a nivel pulmonar y en cantidades menores en la orina y heces, los anestésicos hidrofóbicos tienen una elevada afinidad por el tejido adiposo, por esta razón el S.N.C. es una región que recibe grandes cantidades del anestésico que circula en sangre, además el cerebro es un órgano muy vascularizado, razón por la cual está expuesto al contacto extenso de las sustancias presentes en la circulación sistémica -- que atraviesan la barrera hemato-encefálica, dentro del contenido sólido del tejido nervioso se estima que los lípidos representan un 40-75%. Se ha demostrado que como resultado de la acción de los anestésicos volátiles sobre el S.N.C. - se produce inicialmente una alteración de la actividad neuronal normal, seguida de modificaciones metabólicas sistémicas que provocan una disminución de la energía disponible - principalmente para el cerebro y corazón, debido a la acumulación de difosfato de adenosina (ADP).^{2,4-6}

El cloroformo (Triclorometano) se utilizó por primera

vez como anestésico en 1847, es un líquido transparente incoloro, de sabor dulce ardiente, no flamable ni explosivo, se oxida por la acción prolongada de la luz, aire o llama y forma un fosgeno (COCL_2), cuando se inhala se transforma en ácido clorhídrico y anhídrido carbónico a nivel de alvéolos pulmonares, en esta reacción participa el agua presente en alvéolos.

El éter fue descubierto por Valerius Cordus en 1546 y se empleó como anestésico en 1846, es un líquido incoloro, volátil de olor característico y sabor ardiente dulzón, su vapor es muy flamable y produce mezclas explosivas con el aire, es soluble en aceites y forma disolventes con éstos en los que se oxida por exposición al aire, humedad o luz y forma peróxidos como productos secundarios de esta reacción.^{7,8}

El cloroformo y éter fueron los anestésicos volátiles generales más populares durante los siglos XVIII y XIX; en nuestra época ya casi no se usan en medicina humana y veterinaria ya que han sido desplazados por otros compuestos halógenados cuya estructura química es semejante, pero que mediante la substitución de radicales poseen un mayor margen de seguridad.^{1-3,7}

El cloroformo es útil para producir anestesia en animales pesados como sementales suinos y equinos que se castran, para provocar analgesia obstétrica en bovinos y equinos y en emergencias de pequeñas especies. El éter se emplea en caninos, felinos, aves y animales de laboratorio por ser el menos peligroso de los anestésicos generales volátiles, debido a que su coeficiente de solubilidad sangre/gas es elevado (14.90 a 37°C) y su coeficiente de solubilidad acei-

te/agua es bajo (3.2). Gracias a este primer parámetro de solubilidad es necesaria una mayor cantidad de anestésico para los períodos de inducción y mantenimiento.^{1-3,7,9}

Estudios realizados en ratas para conocer las alteraciones hemáticas inducidas por éter demostraron que este gas no tiene efectos importantes sobre la presión parcial de los gases sanguíneos y el equilibrio ácido-base, además este anestésico tiene la ventaja de poder utilizarse en combinación con otras substancias volátiles como el ciclopropano.¹¹

Tanto el cloroformo como el éter producen diversas alteraciones inmediatas y secundarias en la fisiología de los sujetos expuestos, se sabe que cuando estos agentes se emplean en hembras gestantes ejercen su acción sobre los productos, ya que ambos son capaces de atravesar la barrera hemato-placentaria y algunas veces la intoxicación aguda por cloroformo produce necrosis placentaria.^{2,7-9,12-17}

Las alteraciones que producen dependen del período de gestación en que se encuentran las hembras, la duración y nivel de exposición anestésica; el S.N.C. del feto sufre más daño por hipoxia en el último tercio de la gestación ya que es cuando el cerebro crece con mayor rapidez y por lo tanto la necesidad de nutrientes es mayor.

La hipoxia se presenta por una reducción de la presión arterial y gasto cardíaco maternos a pesar de la vasodilatación del útero su flujo sanguíneo es menor y los fetos sufren además acidosis y disturbios metabólicos durante la anestesia.^{4,5,16,18-20}

El cloroformo y éter tienen usos industriales por su capacidad de actuar como solventes lipídicos, algunos autores han descrito cambios psicológicos y neuronales en trabajadores que están expuestos a éstos durante períodos prolongados así como daños teratogénicos en sus hijos. Se tienen reportes de que hijos de enfermeras anestesistas, sufren con mayor frecuencia de defectos al nacimiento como malformaciones cardíacas, síndrome de mala absorción intestinal, microcefalia y retardo mental entre otros.²¹⁻²⁴

Cuando se daña el S.N.C. como resultado de la disminución del intercambio gaseoso transplacentario, se lesiona la hipófisis de los fetos y como consecuencia se alteran sus funciones. La actividad del centro sexual del hipotálamo y lóbulo posterior de la hipófisis dependen también de la integridad funcional del S.N.C. y su actividad endócrina,^{25,26} los órganos sexuales se encuentran bajo la influencia de las hormonas segregadas por esta glándula, estas son la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona estimulante de las células intersticiales (ICSH), por esta razón los testículos modifican su desarrollo normal y actividad endócrina y exocrina que consiste respectivamente en la producción de gametos y hormonas que condicionan entre otras cosas la aparición de los caracteres sexuales secundarios.^{5,16,25,26}

Los testículos proceden del mesódermo, se forman a partir de la cresta germinal visceral de éste, en los humanos se aprecia el esbozo testicular desde la 7a. semana de gestación y en las ratas machos desde los 4 días. Esta diferenciación embrionaria se inicia en la blastogénesis poco después del desarrollo del aparato urinario y sucede tardíamente comparada con el desarrollo del corazón, cerebro, hígado y extremidades.²⁵⁻²⁸

Entre ambos testículos se encuentra la túnica albugínea, los cordones germinales del esbozo glandular dan lugar a los cordones testiculares que se unen en sus extremos centrales y constituyen un sistema reticular de pequeñas células de Sertolí que se encuentran en la base intratubular; son de forma piramidal o prismática, localizándose por su vértice hacia la luz del tubo, su citoplasma es claro y poco visible. A estas células se les atribuye entre otras funciones la síntesis de proteínas, metabolismo de esteroides, ayuda en la descarga de espermatozoides y son el principal sitio de acción de la FSH.^{12,16}

Las espermatogonias son células intratubulares ovoides y de gran tamaño que se encuentran adyacentes a la membrana basal, se forman a partir de las células sexuales primitivas y tienen la finalidad de seguir dividiéndose después de la pubertad para formar los espermatozoides gracias a la acción de la FSH. La formación de espermatozoides en la raza adulta comienza alrededor de los 50 días de edad.²⁵⁻²⁸

Las células intersticiales de Leydig son grandes y regulares, por lo general se encuentran en grupos, su núcleo contiene acumulos de heterocromatina o nucléolos y su principal función es la síntesis de testosterona gracias a la acción de la ICSH.^{16,29}

La morfología funcional y los cambios bioquímicos que suceden durante el desarrollo y maduración de los testículos han sido objeto de varios estudios, está demostrado que los trastornos de la actividad funcional de las gónadas masculinas pueden ser de origen hipofisiario o como resultado de patologías intrínsecas a estos órganos como neoplasias, cambios degenerativos, trastornos hormonales y hereditarios.

Por otra parte estudios recientes han demostrado que como resultado del stress durante el último tercio de gestación, las hembras elevan sus niveles de progesterona plasmática y ésta disminuye la formación de 3 β -hidroxiesteroide-dehidrogenasa (3 β HSD enzima que participa en la producción de testosterona) y con ello se puede modificar el fenotipo y comportamiento de las crías machos.^{16,25,28,30}

Existe una estrecha relación entre el hipotálamo, la pituitaria y la actividad testicular normal durante la maduración sexual de la rata macho, cuando se produce desequilibrio entre estos órganos se altera la capacidad de síntesis de testosterona en testículos y por consiguiente la aparición de los caracteres sexuales secundarios y la fertilidad. Eguchi y col. demostraron lo anterior al inducir presión intracraneal sobre el hipotálamo mediante la inyección de parafina a fetos machos de ratas, lo cual produjo una disminución en la producción de gonadotropina que originó una baja significativa del número de células de Leydig en los animales experimentales.^{16,25,31,32}

En trabajos acerca del efecto del fluotano sobre el hipotálamo y testículo de ratas machos adultos, se demostró que el peso testicular no sufre modificaciones, sin embargo el epidídimo, vesículas seminales y próstata sí se afectaron, también se alteró la histología testicular normal por lo que la fertilidad se redujo en un 48%.³³

Hasta el momento no existen suficientes investigaciones que permitan definir la naturaleza de las alteraciones estructurales y funcionales en los testículos de productos cuyas madres fueron expuestas en forma repetida al efecto de solventes orgánicos, ya sea mediante la anestesia o por-

exposición ocupacional, por lo cual se decidió realizar el presente trabajo.

El objetivo principal de éste es el de obtener datos que permitan precisar las alteraciones sobre tejido testicular de animales en desarrollo, ya que bajo muy diversas situaciones se produce contacto entre hembras gestantes y estas sustancias químicas o compuestos análogos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que en la actualidad se utiliza una gran cantidad de solventes orgánicos con fines anestésicos o industriales que tienen una elevada afinidad por tejido nervioso, y en base a la falta de información acerca de los efectos - embriotóxicos, teratogénicos o secundarios resultantes en - productos cuyas madres fueron expuestas a este tipo de compuestos, es necesario realizar estudios en tejidos gonadales de las crías, bajo condiciones de exposición subaguda durante el desarrollo prenatal, con el fin de aumentar la comprensión de la relación que se establece entre los trastornos - del S.N.C.- imbalance hormonal y efectos sobre la diferenciación y maduración testicular de los fetos.

HIPOTESIS

Si la exposición de ratas gestantes al cloroformo o--

Éter produce alteraciones en la actividad endocrina cerebral de éstas, luego entonces se manifiestan alteraciones en la citoarquitectura testicular de sus productos.

OBJETIVO GENERAL

Describir la apariencia individual y organización de las distintas estirpes celulares presentes en testículos -- provenientes de animales en la etapa perinatal, cuyas madres fueron expuestas a la inhalación de éter o cloroformo durante el último tercio de la gestación.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1).- Registrar el peso individual de los productos, - su longitud cráneo-caudal y perímetro cefálico - para determinar si se producen alteraciones del desarrollo corporal perinatal por la exposición a solventes.
- 2).- Determinar el peso y tamaño testiculares de todos los animales estudiados.
- 3).- Analizar mediante un método semicuantitativo la organización y características morfológicas de las diferentes estirpes celulares presentes en los testículos de animales control y experimentales en la etapa postnatal inmediata.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 13 ratas de la cepa Sprague-Dawley, adultas del primer parto con un peso entre 250 y 300 g. mantenidas en condiciones de bioterio con ciclos de 12 h. luz y 12 h. oscuridad y alimentadas con nutricubos Purina para animales de laboratorio con un 23 % de proteína y 2.5 % de grasa.

En la etapa de estro se aparearon 3 ratas con un macho durante una noche, por medio de citología exfoliativa vaginal se determinó el día uno gestacional, 34 una vez gestantes los animales se distribuyeron en 3 grupos, el control estuvo formado por 3 ratas y los dos grupos experimentales por 10 animales, cinco para ser expuestas a la inhalación de éter y el resto para exposición a cloroformo, a partir del día 17 al 21 de la gestación durante 7 a 10 min., dos veces al día, por la mañana y tarde hasta provocar anestesia superficial dentro de una cámara experimental de 30 cm. de ancho, 40 cm. de largo y 25 cm. de altura, con un sistema de ventilación regulable. Los animales del grupo control se manejaron de la misma forma, sólo que no se expusieron a los vapores anestésicos.

De cada camada se obtuvieron los pesos individuales al nacimiento, 24, 48 y 72 h. de vida postnatal, así como los datos de longitud cráneo-caudal y perímetro cefálico.

Para el estudio histológico se seleccionaron crías al azar de las diferentes camadas a las 24, 48 y 72 h. de edad, del grupo de madres expuestas a éter se obtuvo un total de 13 machos, 8 de los expuestos a cloroformo y 7 del grupo control. Estos animales se anestesiaron con éter para someterse a perfusión intracardiaca que se inició mediante toracotomía a fin de introducir una aguja corta calibre 23 en el ventrículo izquierdo, simultáneamente se cortó la aurícula derecha para hacer pasar una solución lavadora de Ringer Krebs a 37°C con 0.1 % de procaína y 0.6 % de heparina con un pH de 7.3 y 283 Mosm/L durante 4 min., seguida de una solución fijadora de glutaraldehído al 2.5 % y formaldehído al 1 % amortiguados en solución de fosfatos 0.1 M, pH 7.3 y 584 Mosm/L durante 7-9 min. a la misma temperatura. Las perfusiones se realizaron bajo una presión de 130 cm. de agua (99.58 mm de Hg). 35

En todos los grupos, al final de la perfusión se rea-

lizó la disección de los testículos, mismos que se pesaron en una balanza analítica "Bosch" para luego ser post fijados por inmersión en la misma solución inicial durante 2 h. a 4°C . Después de este tiempo los tejidos se lavaron en tres cambios de 15 min. cada uno con solución amortiguadora de fosfatos de 0.1 M para luego deshidratarse en series crecientes de etanol-xilol y finalmente incluirse en bloques de parafina, de este material se obtuvieron cortes de 2 a 3 μm . de espesor en un microtomo American-Optical SL-20 en sentido medio sagital siguiendo la dirección del eje principal testicular, y éstos fueron teñidos con hematoxilina-eosina. 36, 37

Los cortes histológicos fueron observados en un microscopio compuesto Zeiss al cual se le adaptó un micrometro para el estudio semcuantitativo de las diferentes estirpes celulares.

El estudio morfométrico y descriptivo celular se complementó con el uso de fotomicrografías a distintas ampliaciones obtenidas con un fotomicroscopio Leitz Fomi-III de campo claro con película Plus-X-Pan Asa 125 de 25 mm. Las delimitaciones de áreas de superficie testicular, así como las dimensiones y estructuras de las distintas estirpes celulares importantes se obtuvieron mediante el uso de planimetría, con este procedimiento fue posible la cuantificación de variaciones pequeñas entre los grupos experimentales y el control.

Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante un modelo aleatorizado no balanceado y se aplicó el análisis de varianza y la prueba de "t" de Student. 37

RESULTADOS

Durante la etapa de exposición a los vapores de solventes, las ratas gestantes mostraron inquietud, salivación ligera, incoordinación locomotora, polipnea y en algunos ca

sos se alcanzó un estado subanestésico: estos signos se hicieron más evidentes en el grupo de animales expuestos a cloroformo, así mismo la recuperación después de la exposición fue más rápida para estas ratas.

Análisis Morfométrico Corporal.- No se encontró diferencia significativa en el número de crías por camada al nacimiento entre el grupo control y los experimentales, el peso corporal de las ratas recién nacidas expuestas a cloroformo fue menor que el de los animales pertenecientes al grupo expuesto a éter y controles. De igual manera no hubo diferencias en la longitud cráneo-caudal y perímetro cefálico de todos los animales analizados a través de este estudio (Tabla 1). Invariablemente, tanto las hembras control como las experimentales revelaron los valores inferiores para todos los parámetros descritos.

Análisis Morfométrico Testicular.- El aspecto de todos los testículos estudiados fue semejante al igual que su peso, para el que no hubo diferencias significativas (Gráfica 1).

El área testicular no fue semejante entre el grupo control y los experimentales en las tres etapas estudiadas; 24, 48 y 72 h., se observó la mayor superficie en el grupo prenatalmente expuesto a cloroformo, seguida por el grupo correspondiente al éter y controles en forma decreciente (Gráfica 2).

Estudio Histológico Testicular.- En todos los cortes estudiados se diferenció claramente la citoarquitectura normal del testículo inmaduro que algunas veces abarcó desde la cápsula mediana o albugínea y la interna vasculosa (Fig.

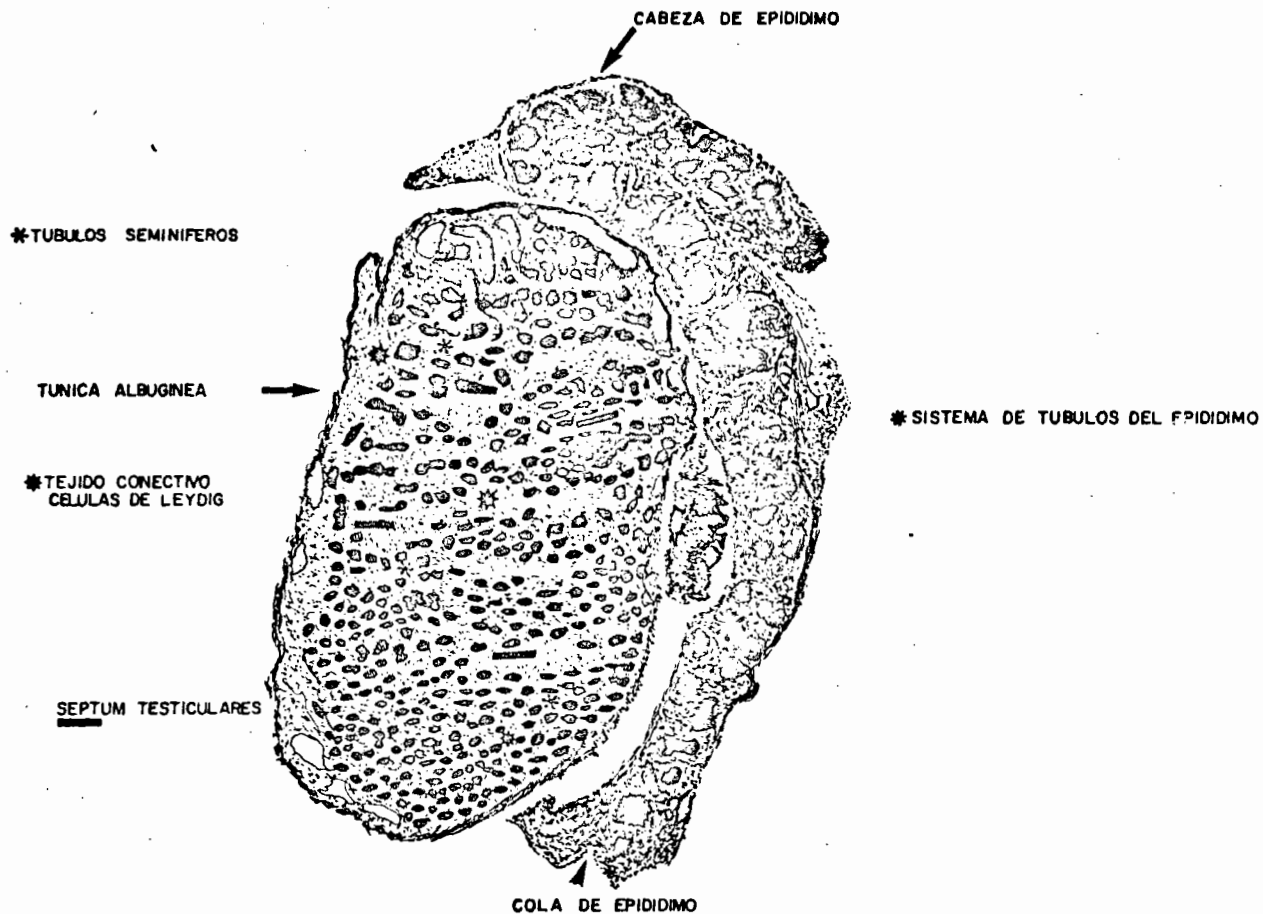
A y B, esquema I).

En el tejido conectivo estuvieron presentes vasos sanguíneos, nervios y varios tipos de células de las que se distinguieron las de Leydig por su tamaño, forma prismática y agrupación (Figs. B,C,D y F). La población de estas al análisis estadístico mostró diferencias en el diámetro a las 24 h., entre los grupos control y cloroformo, en este último las células tuvieron un tamaño mayor (Gráfica 3).

Los túbulos seminíferos aparecieron de forma ovalada, con una distribución uniforme en los tres grupos estudiados (Fig. A - C), mostraron un epitelio germinativo estrecho -- por lo inmaduro, el diámetro de éstos fue mayor en los animales experimentales sólo a las 24 h. de edad.

El porcentaje de área de superficie representada por el diámetro del túbulo completo fue menor en los animales control, pero no así su % de tejido tubular, este hallazgo se presentó a través del experimento. Como consecuencia de lo anterior los testículos de animales experimentales tuvieron una mayor cantidad de tejido conectivo por poseer una mayor área de superficie (Gráfica 3).

Las células de Sertoli no presentaron ningún tipo de diferencias entre todos los grupos estudiados, ya que en todos ellos revelaron su forma característica piramidal con el vértice orientado hacia el lumen tubular (Figs. D y F),- asimismo se observó un gran número de espermatogonias de forma redondeada en grupos de tres o cuatro, para cada tubo, tampoco se distinguieron diferencias entre éstas (Fig. D - F).



ESQUEMA Nº 1

CORTE MEDIO SAGITAL DE UN TESTICULO DE RATA RECIEN NACIDA QUE MUESTRA LA ORGANIZACION TUBULAR.

ESCALA: 1:80

Figura A.- Fotomicrografía que muestra un corte medio sagital de testículo control de un animal de 72 h. de edad, en el cual se observa la distribución organizada de los túbulos seminíferos (*), se aprecia también la ausencia del lúmen tubular -- (→), en el margen superior izquierdo se encuentra el tejido conectivo que forma parte de la cápsula testicular. H y E. 126 X

Figura B.- Imagen a mediana amplificación perteneciente a tejido testicular de un animal de 72 h. de edad prenatalmente expuesto a éter, se hace evidente el arreglo asimétrico de unidades tubulares separadas por cantidades variables de tejido conectivo abundante que forma tabiques (*), se distinguen indicios de la organización tubular individual (→). H y E. 126 X

Figura C.- Fotomicrografía de la región testicular media de un animal de 72 h. del grupo expuesto a la inhalación de cloroformo, se observa una distribución tubular uniforme al igual que el escaso tejido conectivo (*), el diámetro tubular es mayor que el de las imágenes anteriores (→). H y E. 126 X



OFICINA DE
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

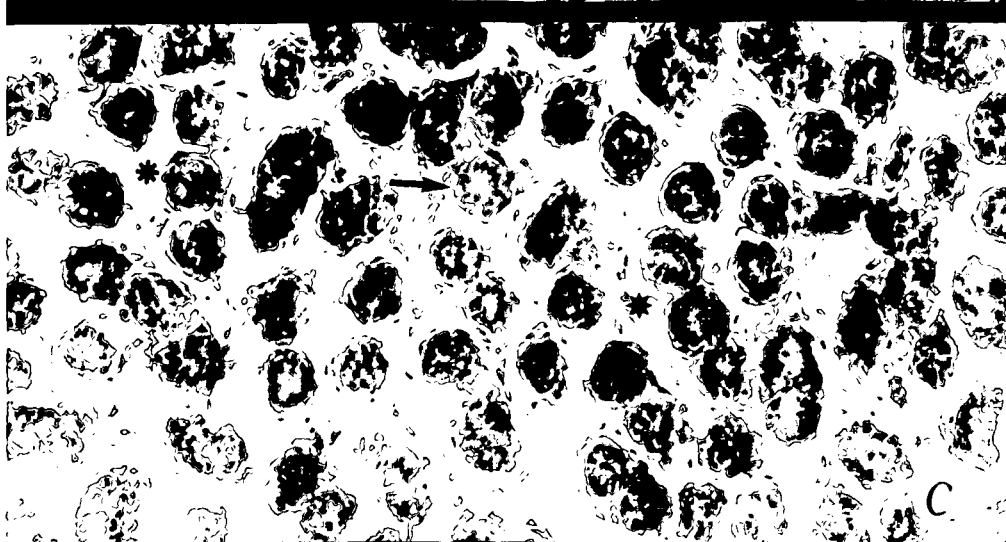
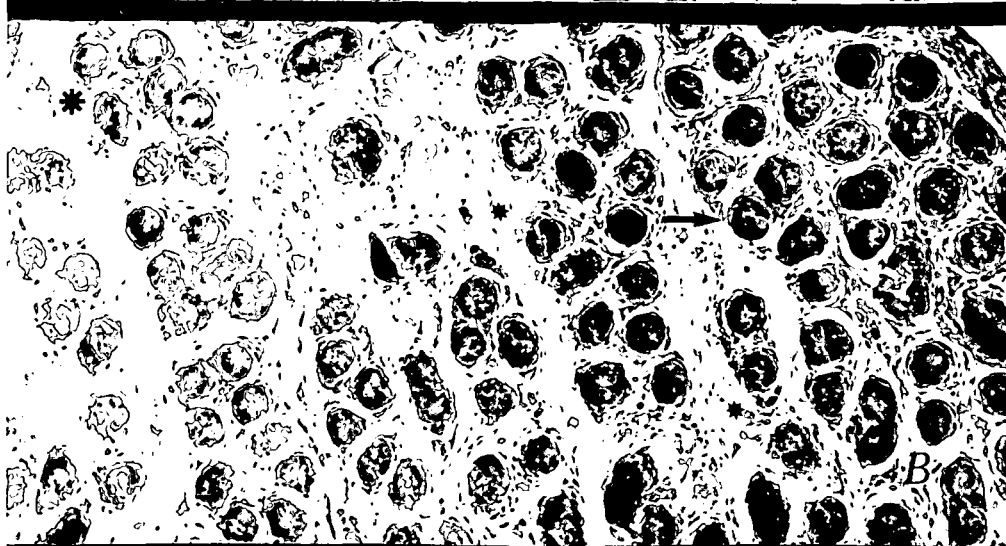
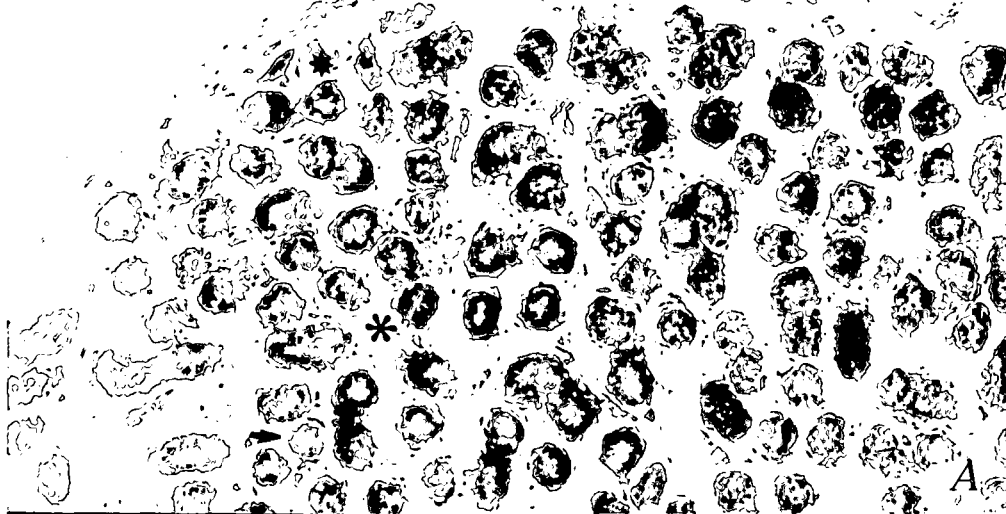
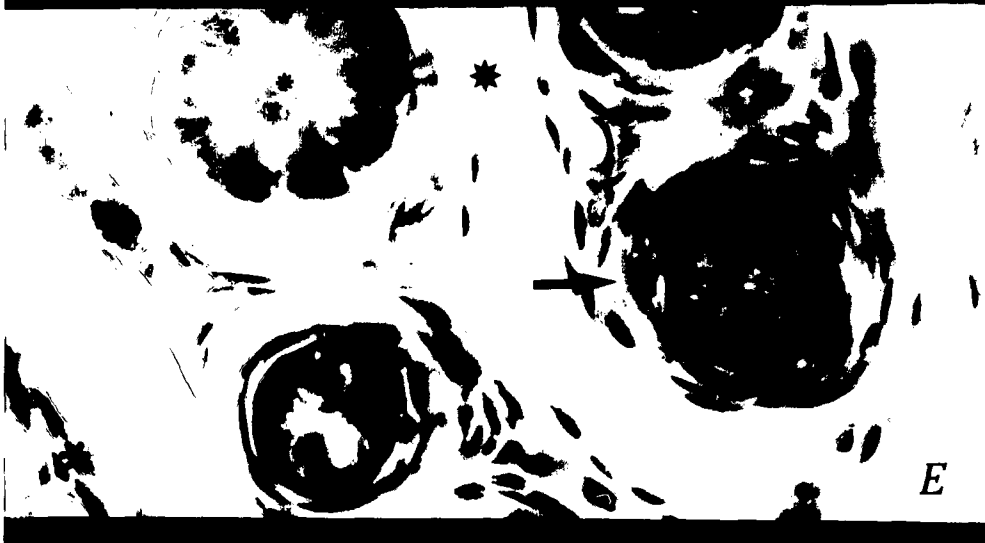


Figura D.- Se muestra en detalle la composición estructural normal de las unidades tubulares independientes de un testículo control de 72 h. de vida postnatal, (→) el diámetro tubular depende principalmente del tamaño y forma de las espermatogonias (*), las células de Sertoli se distinguen en la periferia del túbulo con forma variable de tendencia piramidal con el vértice orientado hacia el lumen de este (—), así mismo se puede distinguir las células de Leydig que forma parte del tejido de sostén tubular (*); se notan espacios intersticiales amplios entre los conjuntos tubulares (*). H y E. 810 X

Figura E.- Fotomicrografía de alta amplificación de un fragmento de testículo perteneciente a un producto de 72 h. del grupo expuesto a éter en la cual se observa la mayoría de los túbulos con un mayor diámetro y lumen (→) y (*) del margen superior izquierdo, las células de Sertoli (—), espermatogonias (*) y de Leydig (*) aparecen semejantes a las del control, sin embargo en el análisis semicuantitativo, se demostró que fueron de mayor tamaño, en el espacio intersticial no hubo diferencias importantes (*). H y E. 810 X

Figura F.- Fotomicrografía de túbulos correspondientes a un testículo de animales prenatalmente expuestos a cloroformo, a la misma amplificación de las Figuras D y E, se hace evidente un mayor diámetro tubular (→) sin un aumento del volumen de las espermatogonias (*), o células de Sertoli (—), proporcionalmente aumentó el lumen tubular. - La población de Leydig no manifestó cambios en la morfología y arreglo (*). El espacio intersticial tuvo mayor amplitud entre los conjuntos de túbulos. H y E. 810 X



RESULTADOS DEL ESTUDIO MORFOMETRICO DE LA PROGENIE CONTROL Y EXPERIMENTAL AL NACIMIENTO EN LA POBLACION DE MACHOS.

TABLA
Nº I

	PARAMETROS ESTUDIADOS					
	PESO CORPORAL g		LONG. CRANEO-CAUDAL cm.		PERIMETRO CEFALICO cm.	
	\bar{x}	CV%	\bar{x}	CV%	\bar{x}	C.V%
CONTROL n=7	6.70 ± 0.45	6.7	7.50 ± 0.15	2.0	3.50 ± 0.12	3.4
ETER n=13	6.30 ± 0.36	5.7	7.30 ± 0.47	6.4	3.35 ± 0.06	1.7
CLOROFORMO n=8	5.80 ± 1.10	18.9	7.10 ± 0.38	5.3	3.30 ± 0.05	1.5

NO SE ENCONTRARON DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS DISTINTOS GRUPOS ESTUDIADOS $P > 0.05$

n= PRODUCTOS MACHO DE MADRES CONTROL Y EXPERIMENTALES

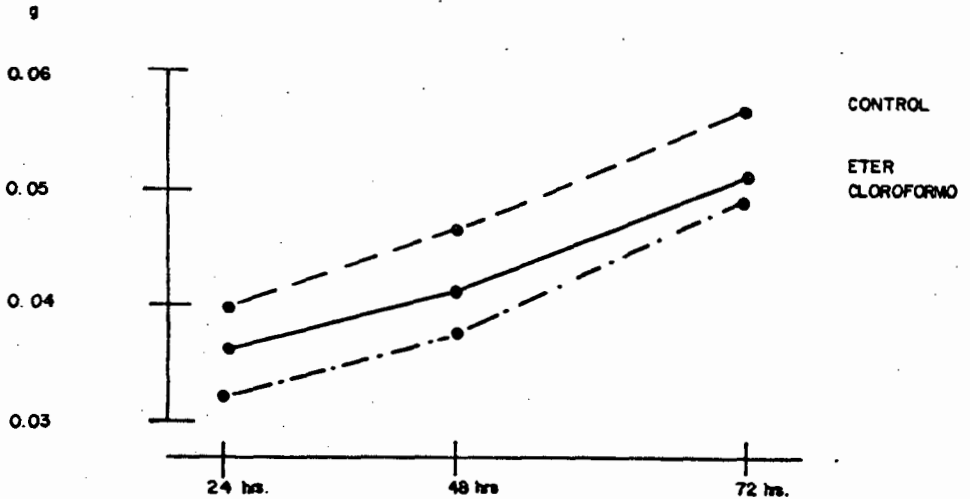
\bar{x} MEDIA ARITMETICA

± DESVIACION ESTANDAR

C.V. COEF. DE VARIACION %

PESO DE TESTICULOS SIN EPIDIDIMO

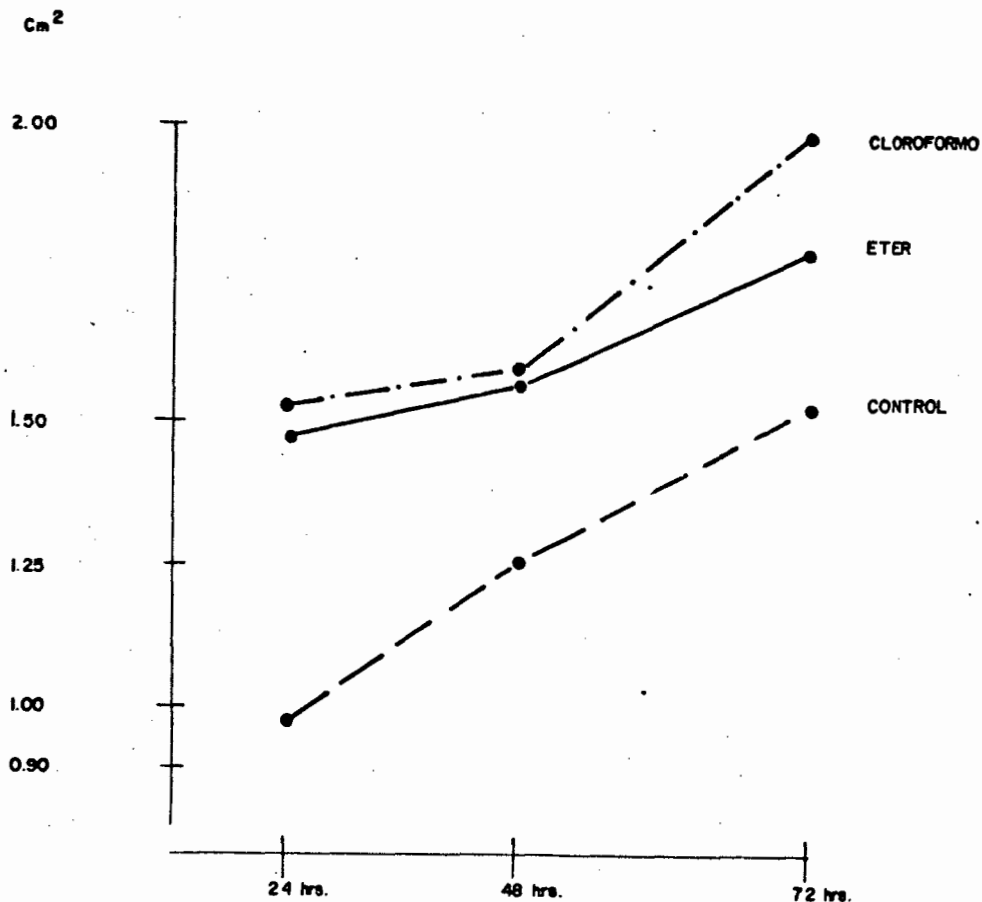
GRAFICA Nº 1- SE REPRESENTA EL PESO TESTICULAR PROMEDIO DE LOS GRUPOS CONTROL Y EXPERIMENTALES EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL ESTUDIO, LOS PESOS MAYORES CORRESPONDIERON AL GRUPO CONTROL, YA QUE A PESAR DE TENER EL MENOR TAMAÑO REVELARON UNA MAYOR DENSIDAD EN EL ARREGLO DE SUS ESTRUCTURAS, EL PESO INTERMEDIO CORRESPONDIO AL GRUPO DE CRIAS PRENATALMENTE EXPUESTAS A ETER Y EL INFERIOR AL DE ANIMALES DEL GRUPO PERTENECIENTE A CLOROFORMO, SIN EMBARGO NO EXISTIERON DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE TODOS ESTOS EN LAS DIFERENTES ETAPAS DEL ESTUDIO $P > 0.05$



AREA TESTICULAR DE ANIMALES CONTROL Y EXPERIMENTALES

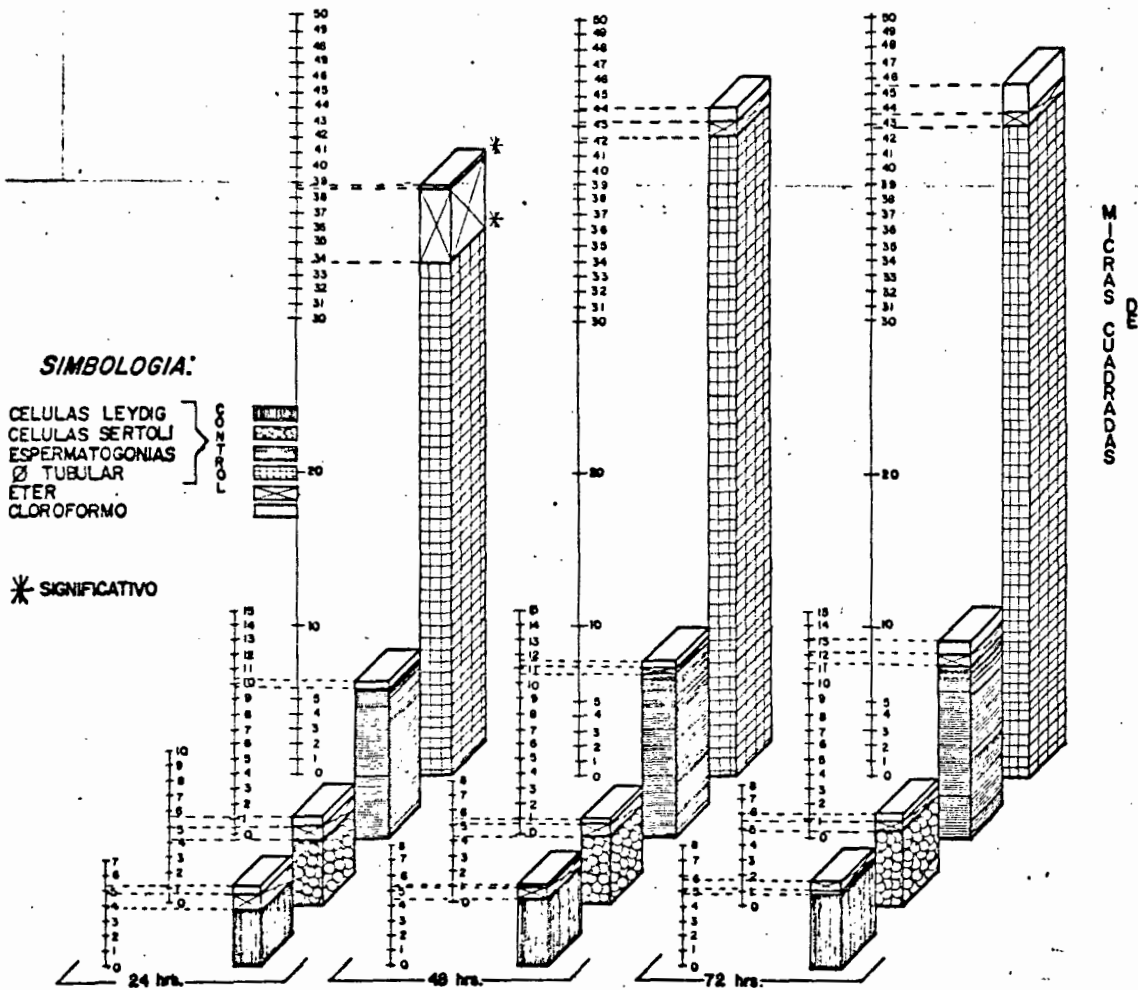
GRAFICA Nº 2 - SE MUESTRA LA SUPERFICIE TESTICULAR TOTAL QUE INCLUYE EL ESPACIO OCUPADO POR LA LUZ TUBULAR EN UN CORTE MEDIO SAGITAL EN RELACION CON EL EJE MAYOR DE LOS TESTICULOS. EN EL GRUPO CONTROL ESTOS ORGANOS REVELARON EL MENOR TAMAÑO ($P < 0.05$) DEBIDO AL ALTO GRADO DE COMPACTACION DEL TEJIDO.

EN LOS TESTICULOS PROVENIENTES DE ANIMALES EXPERIMENTALES SE HIZO EVIDENTE UN MAYOR TAMAÑO MANIFIESTO POR LA EXTENSION SUPERIOR EN Cm^2 Y EL MAYOR CALIBRE TUBULAR TANTO EN EL GRUPO EXPUESTO A ETHER COMO A CLOROFORMO SIN QUE EXISTAN DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS ENTRE ESTOS, PERO SI CON RESPECTO AL GRUPO CONTROL EN TODAS LAS ETAPAS DEL ESTUDIO.



GRAFICA N° 3.- EN ESTA FIGURA SE REPRESENTA EL TAMAÑO PROMEDIO DE LAS CELULAS DE LEYDIG, SERTOLI Y ESPERMATOGONIAS DEL GRUPO CONTROL Y EXPERIMENTALES, AL IGUAL QUE EL DIAMETRO TUBULAR EXTERNO A TRAVES DE LAS DIFERENTES TAPAS DE ESTUDIO. EL GRUPO CONTROL PRESENTO INVARIABEMENTE, AL IGUAL QUE EL CALIBRE TUBULAR SIN QUE PUDIERAN OBSERVARSE DIFERENCIAS IMPORTANTES ENTRE LOS DIFERENTES GRUPOS, EXCEPTO A LAS 24 h. DE VIDA POSTNATAL, ETAPA EN LA QUE SE APRECIARON DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS EN EL CALIBRE TUBULAR QUE RESULTO MAYOR EN LOS GRUPO EXPERIMENTALES. P<0.05

LA APARIENCIA HOMOGENEA DE LAS DIFERENTES ESTIRPES CELULARES ENTRE LOS TESTICULOS CONTROL Y EXPERIMENTALES SUGIERE QUE LOS EFECTOS DE LOS SOLVENTES NO AFECTARON EL METABOLISMO CELULAR PARTICULAR DE NINGUNA ESTIRPE EN ESPECIAL YA QUE A PESAR DE QUE SE OBSERVO UNA PROLIFERACION DE TEJIDO CONECTIVO EN EL GRUPO DE ANIMALES EXPUESTOS A CLOROFORMO LAS CELULAS MANTUVIERON SU MORFOLOGIA NORMAL.



DISCUSION

La mayor potencia farmacológica del cloroformo se hizo evidente durante la etapa de exposición en la cámara, ya que las hembras gestantes rápidamente manifestaron signos anestésicos, en el grupo de hembras expuestas a éter los efectos se presentaron generalmente después de los primeros 5 min. y fueron menos notables que los observados con cloroformo.

A pesar de la diferente actividad farmacológica entre ambos compuestos que se manifestó por la respuesta clínica de las ratas, y que sugiere una mayor severidad en los efectos provocados por cloroformo, no se produjeron alteraciones en el número de productos nacidos de madres expuestas, posiblemente debido al estado avanzado de la gestación, y por el tipo de exposición subaguda que se realizó en este experimento, aunque se sabe que cuando sucede exposición moderada en estadios tempranos del desarrollo embionario se producen reabsorciones o abortos.^{2,7}

Los machos nacidos de hembras sometidas a inhalación de vapores de cloroformo presentaron los pesos corporales más bajos, aunque no estadísticamente significativos respecto al grupo control y al de animales expuestos a éter, esta disminución de peso corporal en los grupos experimentales se ha reportado en otros estudios realizados con ambos agentes, así como en trabajos previos con halotano, isoflurano y éter.³⁹

Bajo condiciones de exposición subanestésica con estos últimos agentes por 1 h. diaria durante 5 días y 7 semanas, se observó una disminución notable del peso corporal de ratas en desarrollo sometidas al halotano, los dos agentes-

restantes produjeron trastornos corporales menores, lo anterior sugiere una interferencia en los procesos metabólicos-normales por efecto de estos solventes anestésicos.¹⁷

En el presente trabajo no se observaron diferencias - en el tamaño y perímetro cefálico de la progenie experimental, aunque los valores inferiores correspondieron invariablemente al grupo expuesto a cloroformo.

Cuando se realizó el análisis del efecto producido - por los solventes en relación con el sexo de las crías, se encontró que las hembras resultaron más afectadas, éstas revelaron los valores menores de todos los parámetros morfométricos estudiados, esto posiblemente puede explicarse en base al mayor porcentaje de tejido adiposo que poseen, lo que ocasionó exposición a una mayor cantidad de solventes o mayor tiempo de permanencia en el tejido debido a la afinidad lipídica de éstos.¹²⁻¹⁶

No se observaron diferencias entre el peso testicular de animales control y experimentales a pesar de que como resultado de la exposición a solventes orgánicos y anestésicos se produce una hipotensión arterial en las hembras gestantes, que trae como consecuencia una disminución moderada del anabolismo fetal por la restricción de oxígeno y nutrientes a través de la placenta; lo que podría haber provocado un retraso en el desarrollo testicular.^{2,18,19}

En otros estudios sobre las alteraciones metabólicas-materno-fetales inducidas por halotano, se encontró una inhibición de las rutas glucolíticas anaeróbicas tisulares maternas lo que provoca una hiperglucemia, ya que además se -

aumenta la velocidad de conversión de glucógeno hepático a glucosa, por la acción de la epinefrina que se libera durante el periodo estresante de la inducción anestésica, como consecuencia; en el feto se reduce el número de moléculas de ATP a pesar de la vasodilatación uterina y por lo tanto se afecta su crecimiento normal.^{6,20}

Una de las alteraciones más notables en testículos de animales experimentales fue la mayor área de superficie testicular, debido a la mayor cantidad de tejido conectivo especialmente en órganos provenientes del grupo prenatalmente expuesto a cloroformo, esto pudo deberse a un estímulo irritante de los solventes sobre las células de éste lo que indujo una proliferación, tal como sucede en algunos casos de lesión mecánica,^{2,7,25} esta estimulación se presentó débilmente en las células de Leydig y se manifestó con un aumento de su diámetro, sólo en las primeras 24 h. de vida.

También se observaron manifestaciones anormales en túbulos seminíferos de testículos pertenecientes a ambos grupos experimentales a las 24 h. de vida, en éstos, el diámetro externo fue mayor sin aumento aparente del número de células, y sin indicios de un estado de maduración más avanzada con respecto al control.

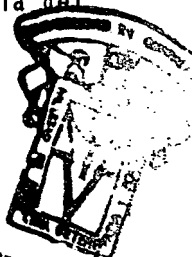
Mediante el uso de planimetría bidimensional se pudo demostrar que la superficie total del testículo exceptuando el volumen que ocupa el calibre tubular fue invariablemente mayor en los animales control, en la relación entre la superficie testicular ocupada por el tejido secretorio y el de sostén, tuvo mayor predominancia el primero, en comparación con lo que se observó en los grupos experimentales.

Por lo anteriormente señalado, puede asumirse que a - pesar de la exposición subaguda de este estudio, se hicie--ron evidentes alteraciones del tejido conectivo testicular- que no afectan la funcionalidad del órgano, ya que no se en- contraron anormalidades en la forma y tamaño de las células de Sertoli y las espermatogonias.

Los resultados obtenidos permiten suponer que bajo - otras condiciones de exposición clínica u ocupacional en que exista un mayor tiempo de contacto, pueden resultar trastor- nos severos que afecten la fertilidad de productos expues--tos durante la vida prenatal. Asimismo, al someter indivi--duos jóvenes a diferentes episodios de inhalación de anesté- sicos volátiles por motivos quirúrgicos, existe un alto ries- go potencial de inducirles trastornos gonadales, al igual - que bajo circunstancias de intoxicación voluntaria infantil con otros solventes lipofílicos análogos.⁴⁰

Por otra parte, la aparente afinidad de los anestésic- os estudiados en este trabajo hacia tejido testicular, de- be tomarse en cuenta cuando se anestesian repetidamente rat- as en desarrollo y se tratan de evaluar efectos de diver- sas variables experimentales que se reflejan sobre el desa- rrollo testicular.

Por todo lo anteriormente expuesto, en este trabajo-- se demuestra la vulnerabilidad de testículos durante el de- sarrollo prenatal al efecto de éter y cloroformo, sin que - sea posible identificar con precisión la fisiopatología del proceso.



CONCLUSIONES

- 1.- No se encontraron diferencias en el peso corporal, tamaño y perímetro cefálico de los machos recién nacidos control y experimentales.
- 2.- Las hembras experimentales recién nacidas mostraron un ligero retardo del desarrollo intrauterino por la acción de los anestésicos, particularmente las del grupo expuesto a cloroformo.
- 3.- En testículos de la progeⁿie prenatalmente expues^ta a cloroformo se encontró una proliferación -- anormal de tejido conectivo.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALEXANDER A. Anestesia. Técnicas quirúrgicas en animales y temas de Terapéutica Quirúrgica. Ed. Interamericana, S.A. 4a. ed., pp. 46-50, 1981.
- 2.- MEYER L.J.: Anestésicos por inhalación. Farmacología y terapéutica Veterinarias. Ed. Uthea, S.A. de C.V., pp. 106-113, 1980.
- 3.- NULAN S.B.: The origins of anesthesia. Com. Med. 48 -- (3): 171-174, 1984.
- 4.- LASSEN N.A.: Cerebral circulation and anesthesia. Acta Anaesthesiol Scand, Suppl. 70: 53-59, 1978.
- 5.- CHUSID J.G.: El encéfalo. Neuroanatomía correlativa y Neurología funcional. Ed. El Manual Moderno, S.A., 4a. ed., pp. 1-60, 1977.
- 6.- MICHENFELDER D.J.: Anesthesiology and Quality in the Science and Art of Anesthesiology. The J. Anesthesiology. 42 (2): 117-122, 1975.
- 7.- LOPEZ A.G.: Drogas anestésicas. Fundamentos de anesthesiología. Ed. Prensa Médica Mexicana. pp. 29-42, 1968.
- 8.- THOMAS K.B.: History of chloroform and ether A literary question. Anaesthesia. 30 (1): 88-89, 1975.
- 9.- HILL R. N.: Genetic control the Chloroform toxicity in Mice. Science. 190 (4210): 159-161, 1975.

- 10.- KOMAREK J.: The effect of ether, pentobarbitone sodium and fentanyl on blood gases, acid base balance and hematological parameters in the rat. *Experientia*. 40: 476 - 477, 1982.
- 11.- KRISHNA G., TRUEBLOOD S.: The Mechanism of the Positive Chronotropic Action of Diethyl Ether on Rat Atria. *Anesthesiology*. 42 (3): 312 - 318, 1975.
- 12.- HARKNESS E. J., WARNER E. J.: *Biología Clínica de Congjos y Roedores*. Ed. Acribia, España. pp. 43 - 84, 1982.
- 13.- YANNAI S.: Adenocortical response to single and repeat-doses of chloroform in mouse. *Arch Toxicol* 54 (2): 145-156, 1983.
- 14.- POHL L.R.: Strain and sex differens in chloroform induced nephrotoxicity. Different rates of metabolismo of chloroform to phosgene by mouse Kidney. *Drug Metab. Dispos.* 12 (3): 304-308, 1984.
- 15.- GROGER W. K.: Effect of chloroform on the activities of liver enzymes in rats. *Toxicology*. 14 (1): 23 - 38, 1979.
- 16.- KOLB E.: *Fisiología Veterinaria*. Ed. Acribia, España, - 2a. Ed., pp. 86-793, 1976.
- 17.- STEVENS W.C.: Comparative Toxicities of halothane, isoflurane and diethyl ether at subanesthetic concentrations in laboratory animals. *Anesthesiology*. 42 (4): 677-678, 1975.

- 18.- CATON D.: Obstetric anesthesia and concepts of placental transport. A historical review of nineteenth century. *Anesthesiology*. 46 (12): 132-135, 1977.
- 19.- WINDNESS J.A.: Impermeability of the rat placenta to insulin during organogenesis. *Teratology* 28 (3): 327-332, 1983.
- 20.- PALAHNIUK K., SHNIDER M.S.: Maternal and Fetal Cardiovascular and Acid-Base changes during Halothane and Isoflurane Anesthesia in the Pregnant Ewe. *Anesthesiology*. 41 (5): 462-472, 1974.
- 21.- LANGAVER L. H.: Correlation of psychological and neurological changes with indicators of exposure of Workers in a shoe factory to glue solvents. *Med. Pr.* 34 (5-6): 397 - 404, 1983.
- 22.- SHEIKH K.: Teratogenic effects of organic solvents. - (Letter). *Lancet*. 2 (8149): 963, 1979.
- 23.- HOLMBERG C.P.: Central-Nervous-system defects in Children born from mothers exposed to organic solvent during pregnancy. 2 (8135): 177-179, 1979.
- 24.- COTE J. CH.: Birth Defects among Infants of Nurse Anesthetists. *Anesthesiology*. 42 (4): 514 - 516, 1975.
- 25.- MILLS N.C.: Morphological and biochemical changes which occur during postnatal development and maturation of rat testis. *Biol. Reprod.* 17 (1): 124 - 130, 1977.

- 26.- SCHWARZE G. M.: Compendio de Anatomía Veterinaria. Embriología. Ed. Acribia, España, pp. 222-224, 1970.
- 27.- GILCHRIST G. F.: A survey of embryology formation of the testis. Ed. Mc Graw-Hill book Company, pp. 94 - 96, 1983.
- 28.- LEESON R.C., LEESON S.T.: Histología. Ed. Interamericana, S. A. de C. V., 3a. ed., pp. 481-487, 1981.
- 29.- TAPANAINEN J., KUOPIO T., PELLINIEMI J.L.: Rat Testicular Endogenous Steroid and Number of Leydig Cells ---- Between the Fetal Period and Sexual Maturity. Biol. Re prod. 31: 1027-1035, 1984.
- 30.- POLLARD L., DYER S.L.: Effect of stress administered during pregnancy on the development of fetal testes -- and their subsequent function in the adult rat. J. Endocr. 107: 241-245, 1985.
- 31.- PAYNE H.A., KELCH P.R.: Hypothalamic, Pituitary and -- Testicular Function during sexual maturation of the male rat. J. Endocr. 72 (1): 17-20, 1977.
- 32.- EGUCHI Y., SAKAMOTO Y.: Hypothalamic Control of the Pituitary-Testicular Relation in Fetal Rats: Measurement of Collective Volume of Leydig Cells. Endocrinology. 96: 504 - 507, 1975.
- 33.- MARTINEZ M.C.: Endocrinological and histological changes induced by flutamide treatment on the hypothalamo-hipophyseal testicular axis of the adults male rat and

- their incidences on fertility. Acta Endocrinol. 104 - (2): 246-252, 1983.
- 34.- LOPEZ G.A.: Procedimiento técnico de los extendidos ce lulares, técnica de Papanicolaou (modificada). Introduc ción al citodiagnóstico. Universidad de Guadalajara, -- pp. 49 - 52, 1975.
- 35.- FERIA V. A., KARNOVSKY M. J.: Preservación óptima del sistema nervioso central por perfusión con glutaral--- deído para estudio ultraestructural. Arch. Invest. -- Med. Mex. 1 (3): 201 - 220, 1970.
- 36.- MARTOJA R., PIERSON M. M.: Histología general y citolo gía: Inclusión. Técnicas de Histología Animal. Ed. To- ray -Masson, S.A., Barcelona, España, pp. 24-30, 1970.
- 37.- ESTRADA F.E., PERALTA Z. L.: Manual de Técnicas Histo- lógicas. Ed. Acribia. 1a. ed. pp. 46-64, 1982.
- 38.- YA-LUN CHOU.: Análisis Estadístico. Ed. Interamericana. 2a. edición en español, pp. 275-501, 1977.
- 39.- VAZQUEZ M. M., GARCIA E. J.: Tiempos de Ciencia. No.5. Revista de Difusión Científica. Universidad de Guadala- jara. En Prensa.
- 40.- RODRIGUEZ S.A.: Efectos de la exposición materna a Thi- ner o Aguarrás al final de la gestación sobre el desarrollo corporal y de la corteza cerebral de ratas recién naci- das. Tesis Profesional. Facultad de Med. Vet. y Zoot. U. de G., junio de 1986.