

Co-directores de tesis  
Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio  
Dr. René Zempoalteca Ramírez

Biól. Aurora Adriana López González

Presenta:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

para obtener el grado de

T e s i s

**“Participación de los lóbulos prostáticos  
en el eyaculado de la rata”**

Universidad Autónoma de Tlaxcala  
División de Ciencias Biológicas  
Maestría en Ciencias Biológicas



Comité Tutorial  
Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio  
Dr. René Zempoalteca Ramírez  
Dr. Javier Velázquez Moctezuma  
Dra. Yolanda Cruz Gómez

**“Participación de los lóbulos prostáticos  
en el eyaculado de la rata”**

Universidad Autónoma de Tlaxcala  
División de Ciencias Biológicas  
Maestría en Ciencias Biológicas



COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA  
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA  
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que la **Biól. Aurora Adriana López González** realiza para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es: **"Participación de los lóbulos prostáticos en el eyaculado de la rata"**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

Atentamente  
Tlaxcala, Tlax., diciembre 8 de 2008

Dr. Mario García Lorenzana

Dra. Yolanda Cruz Gómez

Dr. Javier Velázquez Motezumá

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. René Zempoalteca Ramírez

La presente tesis fue realizada bajo la dirección de la Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio y el Dr. René Zempoalteca Ramírez. El proyecto fue realizado en las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México).

El proyecto de investigación fue desarrollado dentro del programa de la Maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala el cual está registrado en el Padrón Nacional de Posgrados del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, organismo que otorgó una beca de posgrado 198782(AALG).

AGRADECIMIENTOS:

A mi comité de evaluación:

Dra. Rosa Angélica Lucio Lucio

Dr. René Zempoalteca Ramírez

Dr. Javier Velázquez Motezuma

Dr. Mario García Lorenzana

Dra. Yolanda Cruz Gómez

A mi familia y amigos.

A mi hijo.

## RESUMEN

Durante la eyacuación el macho expelle y deposita el fluido seminal en la vagina de la hembra. Una porción de éste se transporta hacia los cuernos uterinos mientras que la porción restante se endurece formando un tapón seminal que se adhiere fuertemente a las paredes de la vagina y cuya función consiste en ejercer presión para promover el transporte espermático. El fluido seminal está constituido de aproximadamente el 99% de secreciones provenientes de las glándulas sexuales accesorias y 1% de espermatozoides de la cauda del epidídimo. Las glándulas sexuales accesorias son estructuras asociadas anatómica y funcionalmente al aparato reproductor de los machos. De las glándulas sexuales accesorias (glándulas coagulantes, glándulas bulbouretrales, vesículas seminales, ampullas y próstata) la próstata es la única presente en todos los mamíferos. En la rata es una estructura compuesta por lóbulos pareados identificados como ventrales, laterales y dorsales. Diversos estudios bioquímicos y endócrinos han mostrado que los lóbulos difieren en la composición de sus secreciones así como en la respuesta a los andrógenos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue determinar la participación de los lóbulos ventrales y dorsales en los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y tapón seminal de la rata macho.

Se realizó una lesión química administrando 10µl de un agente esclerosante, tetradecil sulfato de sodio, en cada lóbulo ventral (n=7) y dorsal (n=7) de ratas Wistar macho adultas, sexualmente expertos que previo a la lesión fueron sometidos a una prueba copulatoria con hembras ovariectomizadas a las que se indujo el estró. Cinco minutos después de que el macho realizó el patrón de eyacuación se retiró a la hembra, se anestesió y se extrajeron los cuernos uterinos para obtener el semen y se separó la sinfisis pública para obtener el tapón seminal de la vagina, se evaluaron los parámetros del semen y tapón seminal. Después de la lesión los machos fueron sometidos a cuatro pruebas copulatorias con 5 días de intervalo entre ellas. En la prueba a los 5 días después de la lesión se evaluaron los parámetros de semen y tapón seminal y se sacrificaron 3 machos de cada condición para extraer la próstata para el análisis del daño tisular. Los machos restantes fueron sometidos a 3 pruebas copulatorias y sólo en la última, a los 20 días, se evaluaron los parámetros de semen y tapón seminal, se sacrificaron los machos para extraer la próstata y determinar el daño tisular.

Los resultados mostraron que el 100% de las muestras de semen de los machos intactos tenía una coloración blanca, viscosidad=2.1±0.09mm, pH=8.1±0.09, el porcentaje de espermatozoides con movilidad rápida fue de 52.6±2.5%, mientras que el de espermatozoides con movilidad progresiva lenta fue de 23.1±0.8%, el de espermatozoides con movilidad *in situ* fue de 17.07±1.7% y el de espermatozoides inmóviles de 7.9±1.04 por lo que el índice de movilidad fue de 0.7±0.01, la concentración espermática fue de 13.5±1.02x10<sup>6</sup>/ml, la viabilidad de espermatozoides vivos fue de 72.9±2.06% y la morfología de espermatozoides normales fue de 99.8±0.1%. Para el tapón seminal la consistencia siempre fue endurecidos, el peso fue de 111±0.7mg, volumen=91.5±5.8mm<sup>3</sup>, largo=12.4±0.2mm, ancho=5.2±0.1mm, y para los elementos citológicos contenidos en el tapón, el porcentaje de cabezas fue el mayor, seguido por el porcentaje de flagelos y finalmente el porcentaje de espermatozoides. Los resultados obtenidos en los machos con lesión de los lóbulos ventrales mostraron que no hubo diferencias en los parámetros de semen y tapón seminal a los 5 ni a los 20 días después de la lesión con respecto a los obtenidos antes de la lesión. El análisis histológico de los lóbulos ventrales lesionados mostró un infiltrado leucocitario leve en el estroma.

En los machos con lesión de los lóbulos dorsales a los 5 días después de la lesión no se encontró semen contenido en los cuernos uterinos lo que impidió la evaluación de los parámetros. Con respecto al tapón seminal, los parámetros macroscópicos fueron semejantes a los reportados antes de la lesión aunque se observó el tapón no adherido a la vagina debido a que se encontraba embebido en semen. Los parámetros microscópicos del tapón seminal evidenciaron millones de espermatozoides contenidos en la región rostral del tapón seminal. A los 20 días se encontró semen contenido en los cuernos uterinos y en los parámetros microscópicos del semen se encontraron diferencias en la movilidad ya que el porcentaje de los espermatozoides que mostraron movilidad progresiva rápida fue de 21.5±8.3%, el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva lenta fue de 30.7±2.6%, con movilidad *in situ* fue de 36.5±7.6% e inmóviles fue de 11.2±2.2%, lo que se reflejó en un índice de movilidad=0.4±0.1. Otro de los parámetros microscópicos que mostraron diferencias fue la concentración espermática que a los 20 días después de a lesión fue de 7.3±0.7x10<sup>6</sup>/ml. Para los parámetros del tapón seminal no se observaron cambios a los 20 días después de la lesión con respecto a los valores obtenidos antes de la lesión.



Para verificar los resultados obtenidos para los lóbulos ventrales, se realizó una prueba copulatoria a machos intactos (n=7) donde se evaluaron los parámetros del semen y tapón seminal, posteriormente se formaron unidades reproductivas y se sometieron a una cirugía para extraer los lóbulos ventrales. Después de la cirugía se realizaron tres pruebas copulatorias con 15 días de intervalo entre ellas y se evaluaron los parámetros de semen y tapón seminal en la primera y la última, para finalizar se formaron unidades reproductivas. Los resultados no mostraron diferencias en los parámetros de semen y tapón seminal en ninguna de las pruebas, así tampoco en los parámetros de fertilidad.

Concluimos que los lóbulos ventrales no participan en la formación del tapón seminal a la vagina. Por lo tanto, la lesión de los dorsales evitó la adhesión del tapón a las paredes de la vagina ocasionando un menor transporte espermático hacia los cuernos uterinos reflejado en una concentración espermática reducida al 50%. Es decir de  $13.5 \pm 1.02 \times 10^6$ /ml en los machos antes de la lesión a  $7.3 \times 10^6$ /ml de los machos a los 20 días después de la lesión. Además, una disminución en el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva rápida de  $52.6 \pm 2.5$  a  $21.5 \pm 8.3\%$ .

# INDICE

1	RESUMEN.....
1	1. INTRODUCCIÓN.....
1	1.1 Eyacuación.....
1	1.1.1 Emisión seminal.....
1	1.1.2 Expulsión seminal.....
2	1.2 Glándulas sexuales accesorias y características del eyaculado.....
2	1.2.1 Glándulas sexuales accesorias en los mamíferos.....
7	1.2.2 Glándulas sexuales accesorias en la rata.....
11	1.3 Evaluación del eyaculado.....
11	1.3.1 Técnicas de obtención del semen.....
12	1.3.2 Análisis seminal (espermatobioscopia).....
13	1.4 Eyaculado de la rata.....
13	1.4.1 Semen.....
13	1.4.2 Tapón seminal.....
14	2. ANTECEDENTES.....
14	2.1 Estudios sobre la función de las glándulas sexuales accesorias.....
14	2.2 Parámetros evaluados en el semen de la rata y su relación con las glándulas sexuales accesorias.....
15	2.3 Parámetros evaluados en el tapón seminal de la rata y su relación con las glándulas sexuales accesorias.....
16	2.4 Extirpación de las glándulas sexuales accesorias y su efecto sobre la fertilidad.....
17	3. JUSTIFICACIÓN.....
19	4. HIPÓTESIS.....
20	5. OBJETIVO.....
21	6. METODOLOGÍA GENERAL.....
21	6.1 Animales.....
21	6.2 Pruebas copulatorias.....
23	7 EXPERIMENTO I: LESIÓN QUÍMICA DE LOS LÓBULOS VENTRALES Y DORSALES Y SU EFECTO SOBRE EL EYACULADO.....
23	7.1 Objetivo específicos.....
23	7.2 Material y métodos.....
23	7.2.1 Protocolo experimental.....
24	7.3 Obtención y análisis del semen y tapón seminal de la rata.....
25	7.3.1 Parámetros macroscópicos y microscópicos del semen de la rata.....
25	7.3.2 Parámetros macroscópicos y microscópicos del tapón seminal de la rata.....
26	7.4 Lesión química (inyección de tetradecil sulfato de sodio en lóbulos prostáticos ventrales y dorsales).....
26	7.5 Técnica histológica (hematoxilina-eosina).....

27	7.6 Prueba estadística.....
27	7.7 Resultados.....
27	7.7.1 Machos antes de la lesión.....
28	7.7.2 Machos con lesión de los lóbulos prostáticos ventrales.....
34	7.7.3 Machos con lesión de los lóbulos prostáticos dorsales.....
42	7.8 Discusión.....
45	<b>8. EXPERIMENTO II: EXTIRPACIÓN DE LOS LÓBULOS VENTRALES Y SU EFECTO SOBRE EL EYACULADO Y LA FERTILIDAD.....</b>
45	8.1 Objetivos específicos.....
45	8.2 Material y métodos.....
45	8.2.1 Protocolo experimental.....
46	8.3 Obtención y análisis del semen y tapón seminal de la rata.....
46	8.3.1 Parámetros macroscópicos y microscópicos del semen de la rata.....
46	8.3.2 Parámetros macroscópicos y microscópicos del tapón seminal de la rata.....
46	8.4 Pruebas de fertilidad.....
46	8.5 Lesión quirúrgica (extirpación de lóbulos prostáticos ventrales).....
46	8.6 Prueba estadística.....
47	8.7 Resultados.....
49	8.8 Discusión.....
52	<b>9. CONCLUSIONES.....</b>
53	<b>10. REFERENCIAS.....</b>
59	<b>11. ANEXOS.....</b>
59	A. Preparación del tetradecil sulfato de sodio para producir la lesión química.....
61	B. Descripción de la técnica histológica (hematoxilina-eosina) para analizar el daño de la lesión química.....
64	C. Evaluación de los parámetros macroscópicos y microscópicos del eyaculado.....
69	D. Parámetros de fertilidad.....
70	<b>12. PUBLICACIONES.....</b>
70	A. Congresos nacionales.....
	Tlachi-López, López AA, Zempoalteca R, Velázquez-Moctezuma J y Lucio RA. 2006. Efecto de la extirpación de las glándulas sexuales accesorias sobre las características del semen y tapón seminal de la rata. XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Querétaro, Qro.
	López-González A, Tlachi-López JL, Zempoalteca R y Lucio RA. 2006. Participación de la próstata ventral en la calidad del semen y fertilidad en la rata macho. Onceavo Curso: Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax.
	López AA, Tlachi-López JL, Zempoalteca R, Velázquez-Moctezuma J y

Lucio RA. 2006. Participación de los lóbulos ventrales prostáticos sobre las características del eyaculado y la fertilidad de la rata. L Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Puebla, Pue.

López A, Zempoalteca R, Cruz Y, Martínez-Gómez M y Lucio RA. 2007. Semen y tapón seminal ¿Para qué sirve la próstata?. Doceavo Curso: Bases Biológicas de la Conducta. Tlaxcala, Tlax.

López A, Zempoalteca R, Martínez-Gómez M y Lucio RA. 2007. Semen y tapón seminal ¿Para qué sirve la próstata?. XIII Congreso de Carteles "Dr. Lino Díaz de León". Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM, México, DF.

López A, Tlachi JL, Zempoalteca R, Velázquez-Moctezuma J, García-Lorenzana y Lucio RA. 2008. Efecto de la lesión química sobre la estructura y función prostática: análisis seminal. LI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Mérida, Yuc.

**B. Congresos internacionales.....**

85

López A, Tlachi-López JL, Zempoalteca R, Velázquez-Moctezuma J y Lucio RA. 2007. Effects of ejaculatory frequency and removal of the bulbourethral and coagulating glands on the characteristics of semen in the rats. 40<sup>th</sup> Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. San Antonio, Texas.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Eyacuación

La eyacuación es la expulsión de semen por el meato uretral. Consiste de dos fases sucesivas, emisión y expulsión (Benson 1988).

### 1.1.1 Emisión seminal

La emisión ocurre cuando los espermatozoides de la cauda del epidídimo y las secreciones de las glándulas sexuales accesorias confluyen en la uretra prostática, además del cierre del cuello de la vejiga urinaria (Benson 1988).

Durante la emisión se mezclan las secreciones en distintas fracciones: la primera fracción es relativamente pequeña, compuesta de un líquido viscoso claro que procede exclusivamente, de las glándulas bulbouretrales y cuya función es limpiar y lubricar la uretra del macho (Goodman 1974); la segunda fracción se compone de la secreción prostática y de las ampullas más los espermatozoides; y la fracción final es una secreción mucosida que procede de las vesículas seminales y que proporciona el mayor volumen de plasma seminal (Guyton 1987). En algunas especies, como en la rata, esta fracción se acompaña de material secretado por las glándulas coagulantes el cual forma un tapón seminal cuyo papel en la fertilización es fundamental (McClintock y Adler 1978).

### 1.1.2 Expulsión seminal

La eyacuación propiamente dicha es la expulsión del fluido seminal por el meato urinario del pene (Benson 1988), usualmente se acompaña de contracciones espasmódicas de los músculos estrados del área perineal: el isquiocavernoso, bulboesponjoso (Meisel y Sachs 1994) y cremáster (Lucio y Zempoalteca 1998) que acercan al testículo y al epidídimo al cuerpo incrementando así la presión intra-abdominal (Zempoalteca y cols. 2002). Los centros nerviosos espinales del reflejo para la expulsión se localizan en los segmentos torácicos, lumbares y sacros de la médula espinal (Ganong 1992).

## 1.2 Glandulas sexuales accesorias y características del eyaculado

El semen está compuesto de secreciones de las glándulas sexuales accesorias, que aportan aproximadamente el 99% del volumen, y de espermatozoides provenientes de la cauda del epidídimo, que forman aproximadamente el 1% del volumen total (Setchell y cols. 1994).

Las glándulas accesorias producen altas concentraciones de sustancias biológicas como las prostaglandinas, espermina, fructosa, ácido cítrico, zinc, proteínas, inmunoglobulinas, proteasas, esterasas y fosfatasas (Luke y Coffey 1994). Sin embargo, se desconoce la participación de estas secreciones en el proceso de fertilización, ya que en algunos mamíferos se ha observado que los espermatozoides removidos de la cauda del epidídimo son capaces de fertilizar al óvulo (Luke y Coffey 1994). Por otro lado, se considera que dichas secreciones favorecen las condiciones para el transporte de los espermatozoides y su sobrevivencia (Mortimer 1997). Se ha descrito que altas concentraciones de azúcares y lípidos en el semen proveen nutrientes o sustratos benéficos para los espermatozoides lo que extiende su viabilidad y disminuye el choque micro-ambiental, influyendo así sobre la fertilidad masculina (Parson y cols. 1989, citado en Luke y Coffey 1994).

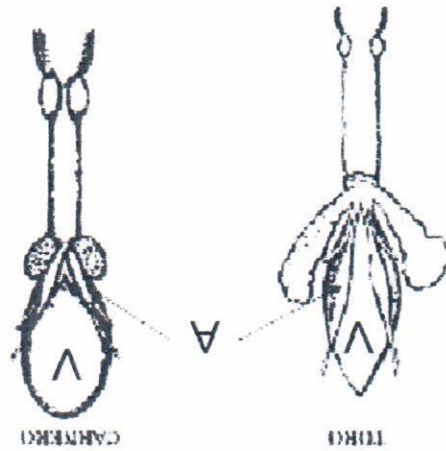
### 1.2.1 Glandulas sexuales accesorias en los mamíferos

En los mamíferos, las glándulas sexuales accesorias son los órganos que presentan mayor diversidad en número, forma y tamaño debido a la variedad de ambientes y hábitos reproductivos (Setchell y cols. 1994). Estas glándulas son: coagulantes, vesículas seminales, ampulla y próstata, localizadas en la cavidad abdominal; y bulbouretrales, localizadas en la región perineal; y se llaman glándulas sexuales accesorias porque están asociadas anatómicamente al aparato reproductor masculino, además de que participan de forma complementaria a la formación del semen (Luke y Coffey 1994).

**Ampulla** es un ensanchamiento del conducto deferente en su porción terminal. En los rumiantes, equinos y caninos es una glándula tubular, esta poco desarrollada en jabalíes y ausente en gatos, se muestran las representaciones de la localización de las ampullas en el toro y el carnero (Fig. 1). Esta desarrollada particularmente en el caballo, cuyas medidas son 25 cm x 2 cm; en el toro, 10 cm x 1.5 cm; en el borrego, 7 cm x 0.6 cm; en el ciervo

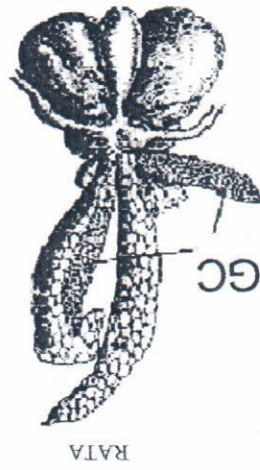
**Vesícula seminal.** Es una glándula pareada, lobulada fácilmente identificable debido a su forma, ya que se ha descrito que posee apariencia de "racimo de uvas" (Fig. 2). Es de longitud variable, desde 35 cm en toros hasta 4 cm en carneros y ciervos (Setchell y cols. 1994). Esta glándula no está presente en carnívoros. Contribuye con el mayor volumen del semen, y sus secreciones contienen fructosa y sorbitol, que actúan como fuentes energéticas para los espermatozoides. Estos compuestos se encuentran en concentraciones elevadas en toros y carneros y en bajas concentraciones en jabalíes y caballos. Además, las secreciones de las vesículas seminales contienen fosfatos y carbonatos cuya función es proteger a los espermatozoides de cambios en el pH (Setchell y cols. 1994). En algunas especies también se encuentra glucosa (Bouquet 1971 citado en Setchell y cols. 1994). La vesícula seminal también produce secreciones alcalinas (Glezerman y Bartoov 1986; citado

Fig. 1 Vista dorsal del aparato reproductor del toro y del carnero. Se muestran las ampullas (A) y la vejiga urinaria (V) (modificada de Setchell y cols. 1994).



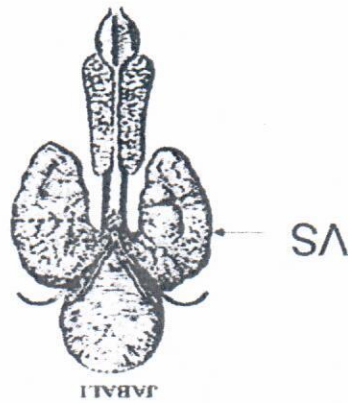
rojo, 6 cm x 0.6 cm; en el elefante, 8 cm x 6 cm y en el camello, 13 cm x 0.6 cm; largo x diámetro respectivamente (Eckstein y Zuckerman 1956, Short y cols. 1967, Aughey 1969, Elwshy y cols. 1972, Ali y cols. 1978). En el camello se distinguen dos tipos celulares, un epitelio central relativamente pequeño de forma columnar alargado, y otro formado por células globulares u ovales, por lo que se considera presenta dos tipos de ampullas (Ali y cols. 1978). Histológicamente, es una glándula tubular ramificada con epitelio columnar simple. Existen pocos estudios sobre la composición de su secreción por la dificultad de obtenerla pura, sin la contaminación de los fluidos del conducto deferente.

Fig. 3 Vista dorsal del aparato reproductor de la rata. Se muestran las glándulas coagulantes (GC) (modificada de Setchell y cols. 1994).



**Glandula coagulante.** Es una estructura pareada que se adosa a la pared dorsal de la vesícula seminal y drena a la uretra de manera independiente a la vesícula seminal (Jesik y cols. 1982). Esta glándula está presente sólo en los roedores (Fig. 3) y anteriormente, por su forma y cercanía a la próstata se consideraba como otro lóbulo prostático, por ello, se le conoce también como próstata anterior (Setchell y cols. 1994).

Fig. 2 Vista dorsal del aparato reproductor del jabali. Se muestran las vesículas seminales (VS) (modificada de Setchell y cols. 1994).

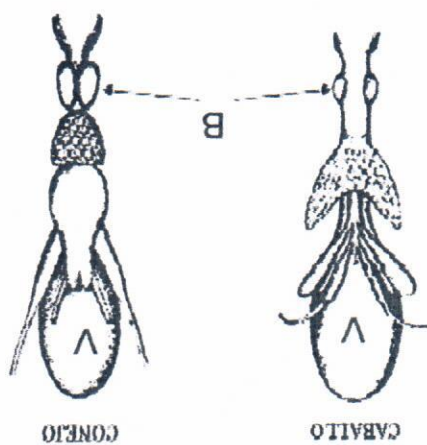


en Nikolaos y cols. 1993) y bajas concentraciones de estas pueden afectar la movilidad espermática (Londholmer 1974 citado en Nikolaos y cols. 1993). La glándula está formada por epitelio columnar simple y los conductos por epitelio columnar estratificado.



**Próstata.** Se localiza anterior a la vejiga urinaria y posterior a las vesículas seminales y vierte sus secreciones a la uretra prostática a través de múltiples conductos; esta presente en todos los mamíferos y en algunas especies, como en el perro, es la única glándula presente (Fig. 5). Entre las especies, hay variación anatómica, bioquímica, patológica y de respuesta a los andrógenos (Setchell y cols. 1994). Las secreciones de la próstata son de baja viscosidad, ligeramente ácidas (pH 6.5), ricas en iones como sodio, cloro, calcio, magnesio y zinc, además contiene potentes sustancias biológicas como prostaglandinas, colesterol, proteasas e inmunoglobulinas. Es la fuente principal de ácido

Fig 4 Vista dorsal del aparato reproductor del caballo y del conejo. Se muestran las glándulas bulbouretrales (B) y la vejiga urinaria (V) (modificada de Setchell y cols. 1994).



**Glándula bulbouretral.** También llamada glándula de Cowper. Es una estructura pareada con forma de capsula y se localiza a lo largo de la uretra peneana. Esta presente en la mayoría de los mamíferos terrestres pero ausente en los acuáticos (Setchell y cols. 1994) mustélidos, caninos y osos (Eckstein y Zuckerman 1956). Usualmente esta presente un solo par (Fig. 4), pero en otras especies como los marsupiales se presentan hasta tres pares (Rodger y Hughes 1973, Setchell 1975). Contribuyen con una porción muy pequeña al fluido seminal. En algunas especies, como en el toro, las secreciones de las glándulas bulbouretrales limpian la uretra de residuos de orina antes de que suceda la eyaculación. En el jabalí, el principal componente es la sialomucina, responsable de la reacción de gelatinización del semen (Bournsnel y Butler 1973, Bournsnel y cols. 1970, citados en Setchell y cols. 1994).

**Fig. 5** Vista dorsal del aparato reproductor del perro. Se muestra la próstata (P) y la vejiga urinaria (V) (modificada de Setchell y cols. 1994).



hiperplasias benignas. epiteliales. Se especula también la participación de estos factores en la formación de próstata: andrógenos, factores de crecimiento e interacciones de células estroma- Numerosos factores están implicados en el desarrollo y crecimiento normal de la del eyaculado y participan en la disolución de la coagulación del semen eyaculado. En el hombre, las secreciones de la próstata componen el 15% del volumen total donde los diferentes lóbulos contribuyen con diferentes componentes a la secreción 1999), aunque se ha descrito que es una estructura multilobulada (Tisell y Salander 1975) 1999). Esta composta de elementos tubuloalveolares y no está lobulada (Lee y cols. (Lee y cols. 1999). Es atravesada por la uretra y los ductos eyaculatorios (Lee y cols. castaña con forma de herradura, que se encuentra entre la vejiga urinaria y el piso pélvico soporte al complejo prostático. En el hombre, es una glándula firme y elástica, como una diseminada y entre ambas partes hay epitelio cuboidal o columnar cuya función es proveer Histológicamente, la próstata se puede dividir en dos partes: el cuerpo y la porción de patógenos que pudieran invadir por vía uretral al organismo (Luke y Coffey 1994). las de las otras glándulas sexuales accesorias protegen a la uretra y al sistema reproductor 1980; citado el Nikolao y cols. 1993). Por otro lado, las secreciones prostáticas junto con promover el movimiento de los espermatozoides (Marinar y cols. 1975; Caldammone y cols. eyaculados por lo que se ha descrito que la función de la secreción de la próstata es la de niveles bajos de zinc en el semen pueden afectar la movilidad de los espermatozoides cítrico, fosfatasa ácida y fibrinolisina del semen (Luke y Coffey 1994). Se ha mostrado que

## 1.2.2 Glandulas sexuales accesorias en la rata

**Ampulla.** Tiene forma de huso y se localiza en la porción terminal de los conductos deferentes, por lo que es una estructura par (Setchell y cols. 1994). Tienen aproximadamente 4 mm de longitud y 2 mm de diámetro y cada una pesa 25 mg (Hebel y Stromberg 1986). Su superficie tiene un aspecto cristalino y está rodeada por una delgada capa de músculo liso (Hummel y cols. 1966; Jesik y cols. 1982) y de tejido conectivo (Hebel y Stromberg 1986) Histológicamente, esta compuesta de tubulos glandulares (Hebel y Stromberg 1986).

**Vesícula seminal.** Tiene forma de bolsa y es una estructura pareada. Se localiza dorsolateral a la vejiga urinaria (Hebel y Stromberg 1986). Cada vesícula mide 17-25 mm de longitud, 8-11 mm de de ancho y 5-6 mm de grosor. El peso varía de 0.7-1.5 g. (Hebel y Stromberg 1986). El lado cóncavo ventromedial esta asociado con la glándula coagulante correspondiente y, excepto esta área, toda la glándula esta cubierta de tejido conectivo y una delgada capa de músculo (Hebel y Stromberg 1986). El ducto secretor está rodeado de los lóbulos dorsales y laterales de la próstata (Hebel y Stromberg 1986). Histológicamente, el epitelio glandular consiste de una capa de células columnares que contienen gránulos secretores y entre éstas se encuentran células basales pequeñas (Hücker y Aumüller 1976, Thompson y cols. 1979, citados en Hebel y Stromberg 1986) Estructuralmente presenta un intrincado sistema de pliegues de forma irregular (Setchell y cols. 1994).

Las secreciones de la vesícula seminal contienen proteínas, una de las cuales, la SVS II es el sustrato de las enzimas secretadas por la glándula coagulante para formar el tapón seminal (Wagner y Kistler 1987, Seitz y Aumüller 1990, citados en Setchell y cols. 1994).

**Glándula coagulante.** Se encuentra adosada a la parte cóncava de la vesícula seminal correspondiente mediante tejido conectivo (Hebel y Stromberg 1986). Consiste de 5 ó 6 tubulos, su longitud varía de 3-6 mm y pesa entre 40 y 110 mg (Hebel y Stromberg 1986). Drena a la uretra mediante un conducto secretor corre lateral y ventral a los ductos deferentes (Hebel y Stromberg 1986). Histológicamente, la pared interna de la glándula forma pliegues profundos y septos los cuales dividen el lumen en numerosas cavidades (Hebel y Stromberg 1986).

Los lóbulos ventrales se asocian con la región ventrolateral de la vejiga urinaria. La superficie es curva y tiene una longitud de 14-17 mm, el diámetro de la parte más amplia es de 6-9 mm y el peso de un lóbulo es de aproximadamente 0.3 g (Hebel y Stromberg 1986). Están cubiertos por tejido conectivo que comparten con la vejiga urinaria. Periféricamente, el epitelio glandular forma pliegues que tienden a estrechar el lumen. El lumen es más amplio en el centro debido a una ausencia de pliegues. Los lóbulos ventrales

figura 6.

primordios lateral y dorsocaudal) (Hebel y Stromberg 1986) que se pueden apreciar en la dorsocraniales (glandulas coagulantes), ventrales, dorsales y laterales (por fusión de los 1987). Se desarrolla a partir de tres primordios uretrales pareados que forman lóbulos depende de testosterona, dihidrotestosterona (Lee y cols. 1999) y zinc (Pinelli y cols. Próstata. Es la glándula más prominente del aparato reproductor de la rata. Su desarrollo

ácido aspártico, glutámico y siálico (Hart y Greenstein 1968). eyacuación seminal (Hebel y Stromberg 1986, Goodman 1974). Su secreción es rica en secretan mucoproteínas que neutralizan y revisitan la pared uretral antes de que ocurra la Histológicamente, esta compuesta de una mezcla de células mucosas y seromucosas que túbulos divididos en numerosos compartimentos (Hebel y Stromberg 1986). un conducto delgado de 6-10 mm (Hebel y Stromberg 1986). La glándula consiste de aproximadamente 5 mm de diámetro, el peso es de 60-70 mg y drena a la uretra mediante isquiocavernoso (Hebel y Stromberg 1986). Tiene forma esférica, y mide tejido conectivo que se localiza lateral al recto, entre los músculos bulbocavernoso e **Glándula bulbouretral.** Es una estructura compacta (Setchell y cols. 1994) rodeada de

en Hart y Greenstein 1968).

para formar el tapón seminal una vez ocurrida la eyacuación (Camus y Gley 1899, citado cols. 1994). Además secreta la enzima vesicular que favorece la coagulación del semen Setchell y cols. 1994), así como glucosa y ácido cítrico (Fouquet 1971, citado en Setchell y concentraciones de factores de crecimiento de fibroblasto (Smith y cols. 1989, citado en Mann y cols. 1949, Bouquet 1971, citados en Setchell y cols. 1994). Contiene altas de proteína (Wilson y French 1980) y fructosa (Humphrey y Mann 1948, 1949, Lutwak- El lumen de cada glándula coagulante secreta un fluido con altas concentraciones

constituyen aproximadamente la mitad de la masa total de la glándula prostática y cada uno está compuesto de 2-3 ductos principales. Cada ducto se extiende a una corta distancia de la uretra hasta una región donde se dividen en 8-12 ductos secundarios que se extienden a distancias considerables donde se ramifican en ductos terminales. Los ductos principales y secundarios están formados por epitelio columnar bajo y los ductos terminales por epitelio columnar simple. Una característica del epitelio de los lóbulos ventrales es que tiene pocos pliegues (Hayashi y cols. 1991).

Los lóbulos dorsales y laterales se adosan alrededor de la uretra y forman un cuerpo de 5-10 mm de ancho y 26.7 mm de largo. Estos lóbulos rodean los ductos secretores de las vesículas seminales y de las glándulas coagulantes así como las ampullas y la parte terminal de los conductos deferentes (Hebel y Stromberg 1986). Los lóbulos laterales presentan dos tipos de ductos: lateral tipo I y lateral tipo II. Los tipo I consisten de 5-7 ductos largos que terminan, cada uno, en 20 a 30 terminaciones bulbosas. Los tipo II consisten de 5-6 ductos cortos que terminan en 40-60 puntas bulbosas. Ambos ductos están formados por epitelio simple columnar. Los bulbos terminales de los ductos tipo I tienen estructuras acinares y pocos pliegues epiteliales. Los ductos tipo II tienen estructuras acinares y pliegues epiteliales moderados (Hayashi y cols. 1991). Los lóbulos dorsales consisten de 5-6 ductos principales. Tiene morfología ductal arborizada con terminaciones de estructura acinar y los pliegues epiteliales están reducidos (Hayashi y cols. 1991).

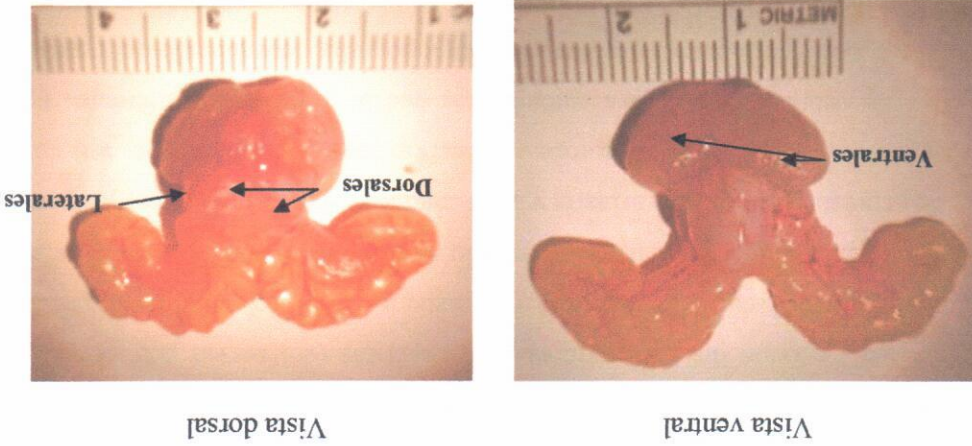


Fig 6. Diferentes lóbulos del complejo prostático de la rata.

Cada lóbulo prostático contribuye con diferentes componentes a la secreción prostática (Rui y cols. 1985; Setchell y cols. 1994). Los lóbulos prostáticos ventrales secretan citratos y poliaminas como espermina y espermidina (Wilson y French 1980) que se ha mostrado están involucradas con el proceso de coagulación del semen (Williams-Ashman y Canelakis 1979), y proteínas específicas como prostatínas (Wilson y French 1980). Los lóbulos laterales secretan mayor concentración de zinc (Gunn y Gould 1957) y los lóbulos dorsales mayor cantidad de fructosa (Humphrey y Mann 1949; Mann 1964 citados en Wilson y French 1980) que es el sustrato glicolizabile más importante para los espermatozoides (Setchell y cols. 1994).

La próstata está irrigada por la arteria superior vesical que surge del iliaco interno (Jesik y cols. 1982; Scolnik y cols. 1992, citado en McVary y cols. 1994). La arteria superior vesicular pasa cerca de la base de la vesícula seminal y se divide en la unión con la vejiga urinaria, y de los lóbulos ventrales y laterales antes de irrigarlos de sangre junto con los lóbulos dorsales (McVary y cols. 1994). La arteria prostática se divide en dos grupos (Nesbit, 1946 citado en Paredes 2005): las arterias uretrales, que irrigan la porción interna o uretral de la glándula prostática (*pars disseminata prostaticae*), y el grupo de las arterias capsulares que abastecen la porción externa de la glándula (*corpus prostaticae*) (Paredes 2005).

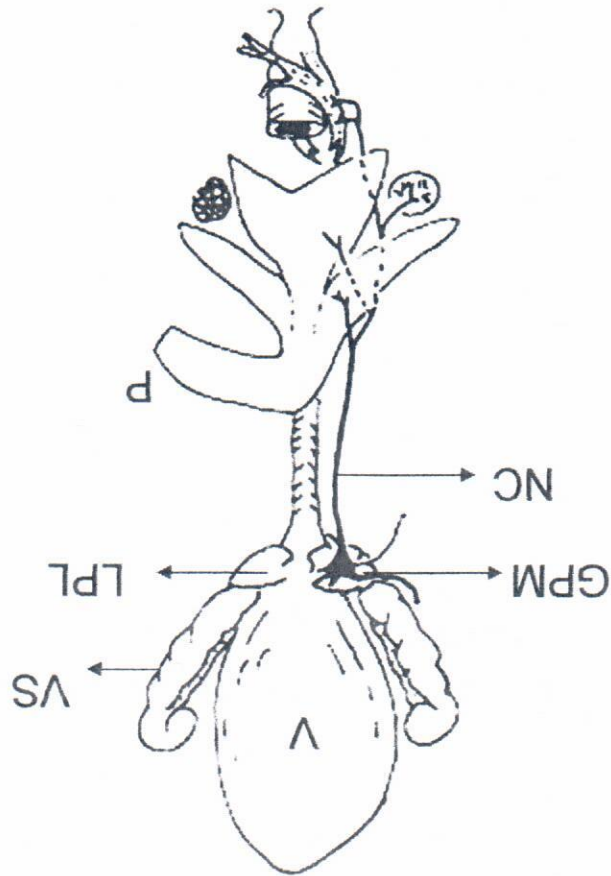
Cabe resaltar que sobre los lóbulos prostáticos laterales se encuentra adosado el plexo pélvico (Fig. 7), constituido por el ganglio pélvico mayor que mide aproximadamente 4x2 mm, además de 4 a 5 ganglios accesorios (Hebel y Stromberg 1986). El plexo pélvico distribuye fibras parasimpáticas (del nervio pélvico) y fibras simpáticas (del nervio hipogástrico) (Hebel y Stromberg 1986). Del ganglio pélvico mayor emerge la inervación al recto, a la uretra y al tejido eréctil del pene, a los lóbulos dorsales y laterales de la próstata, a la vejiga urinaria y a los conductos deferentes (Hebel y Stromberg 1986) por medio del nervio cavernoso. El nervio cavernoso contiene un número significativo de células ganglionares autonómicas que se proyectan a diferentes tejidos extrapélvicos y que estas neuronas muestran cierta topografía dependiendo del órgano que inervan. Además, se ha descrito que a lo largo del nervio cavernoso se encuentran células pequeñas por lo que el nervio cavernoso se considera una extensión del ganglio pélvico (Dail y cols. 1989).

El semen puede obtenerse directa o indirectamente. De forma directa, el semen se obtiene del macho aplicando estimulación mecánica (frotamiento de la región cloacal en las aves y masturbación en perros y en el hombre, Howarth 1978, Frank y cols. 1986) ó eléctrica (electroeyacuación en chivos y cerdos, Fischman y cols. 2003). El semen se colecta en vasos recolectores estériles o en vaginas artificiales (Chatdarong y cols. 2006). En la forma indirecta el semen es obtenido después del coito en una hembra inseminada, como por ejemplo en la rata y en la mujer (Austin y Dewsbury 1986; Pound y Gage 2004; Organización Mundial de la Salud 2001).

### 1.3.1 Técnicas de obtención del semen

## 1.3 Evaluación del eyaculado

Fig. 7 Vista ventral del aparato reproductor de la rata macho. Se muestra la vejiga urinaria (V), las vesículas seminales (VS), lóbulos prostáticos laterales (LPL) y el pene (PE), así como la localización del ganglio pélvico mayor (GPM) y del nervio cavernoso (NC) (modificado de Dail y cols. 1989).



En la tabla I se muestran los valores seminales descritos para algunas especies. El interés económico y homocéntrico ha favorecido la investigación reproductiva en esas especies, para las cuales se ha descrito y evaluado los parámetros seminales.

Tabla I. Valores espermáticos en diferentes especies. Se muestran los valores de los parámetros espermáticos que se han evaluado para especies de uso doméstico y de interés económico (Howarth 1978, Allen 2001).

Parámetro	Cabra	Callo	Borrego	Humano	Perro	Caballo	Toro	Cerdo
Color	grisáceo amarillento	crema pálido	crema pálido	grisáceo - amarillento	blanco lechoso	-	opaco	blanquecino
Volumen (ml)	0.5-1.2	0.2-0.8	1.2	2.0-6.0	1.0-4.0	60.0-70.0	60.0-75.0	240.0-250.0
Viscosidad (mm)	-	-	9	-	-	-	-	10-50
pH	5.9-6.8	7.3-7.8	5.9-6.8	7.2-8.0	6.3-7.0	7.0-8.0	6.5-6.8	7.3-7.9
Movilidad (%)	80	70	80	60	70	70	50	60
Índice de movilidad	-	-	-	0.5	-	-	-	-
Concentración (spz/ml)	$2.5-5 \times 10^6$	$1-4 \times 10^6$	$3.5-6 \times 10^6$	$20-250 \times 10^6$	$200-1000 \times 10^6$	$150 \times 10^6$	$600 \times 10^6$	$100,000 \times 10^6$
Viabilidad (%)	-	-	60	60	-	-	-	-
Morfología (%)	90	90	80	50	80	70	80	60

### 1.3.2 Análisis seminal (espermátobioscopia)

La espermátobioscopia es el estudio de laboratorio que consiste en la evaluación macroscópica y microscópica del semen. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto los parámetros para evaluar el semen humano y se han dividido en macroscópicos y microscópicos. Los parámetros se definen a continuación:

#### Macroscópicos

Color es la tonalidad del fluido seminal.

Volumen es la cantidad de semen expelido durante una eyaculación.



**Viscosidad** es la consistencia del fluido seminal.  
**pH** es la alcalinidad o acidez del fluido seminal.

#### Microscópicos

**Movilidad** es el movimiento individual de los espermatozoides

**Concentración** es la estimación del número de espermatozoides contenidos en el semen y se expresa en relación a 1 mililitro.

**Viabilidad** es la estimación del número de espermatozoides vivos contenidos en la muestra de semen.

**Morfología** es la estimación del número de espermatozoides que presentan morfología normal.

### 1.4 Eyaculado de la rata

Cuando la rata macho eyacula, expelle y deposita el fluido seminal en la vagina de la hembra. Después de la eyaculación el macho presenta el periodo refractario cuyo intervalo dura alrededor de 5 minutos y se conoce como intervalo posteyaculatorio.

#### 1.4.1 Semen

Después de la eyaculación y de que el fluido seminal ha sido depositado en la vagina y durante los primeros minutos del intervalo posteyaculatorio, una porción del fluido seminal atraviesa el cérvix y llega a los cuernos uterinos. Esta porción de fluido seminal contenido en los cuernos uterinos se conoce como semen (Lucio y Tlachi-López 2008).

#### 1.4.2 Tapón seminal

La porción del fluido seminal que queda depositado en la vagina se endurece formando un tapón seminal (también llamado vaginal o copulatorio) que se adhiere fuertemente a las paredes de la vagina, lo que permite la apertura del cérvix, además de que ejerce presión hidrostática para el paso del semen hacia los cuernos uterinos (Moore y Gallagher 1930, citado en Lawson y Sorensen 1964, Mathews y Adler 1977, 1978; Blandau 1945, Mathews y Adler 1977, 1978).  
El semen contenido en los cuernos uterinos y el tapón seminal adherido en la vagina constituyen el eyaculado de la rata.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Estudios sobre la función de las glándulas sexuales accesorias

Se han realizado diversos estudios tratando de determinar la función de cada una de las glándulas sexuales accesorias. En el hamster dorado se colectaron las secreciones de las ampullas, lóbulos prostáticos ventrales, dorsales y laterales, glándulas coagulantes y vesículas seminales y se determinaron las concentraciones totales de proteínas, ácido cítrico, fructosa, fosfatasa ácida, sodio, potasio, calcio, magnesio, y zinc. Se observó que las ampullas secretan predominantemente ácido cítrico, sodio y fosfatasa ácida. El zinc es secretado por los lóbulos prostáticos laterales, aunque la mayor cantidad es aportada por la glándula coagulante. La mayor concentración de potasio, calcio y magnesio se encontró en las secreciones de los lóbulos prostáticos ventrales. Los lóbulos dorsales y laterales así como la glándula coagulante aportan la mayor concentración de proteínas. Los resultados mostraron que, de acuerdo a las secreciones de las glándulas sexuales accesorias, el hamster resulta más similar al ratón, que con la rata (Chow y cols. 1993).

Con respecto al análisis de la composición del fluido seminal, se han realizado estudios para comparar los componentes de las secreciones de la próstata en el semen de hombres jóvenes y adultos. Estos componentes incluyeron la fosfatasa ácida prostática, ácido cítrico, espermina, espermidina, putrescina, fructosa, zinc y prostaglandinas y se observó que las concentraciones de fosfatasa ácida, ácido cítrico, espermina, espermidina y fructosa disminuían mientras que los niveles de zinc aumentaron en las muestras de semen obtenidas de hombres adultos. Estos cambios pueden deberse a posibles disturbios en la función prostática y patologías del hombre adulto (Rui y cols. 1986).

Particularmente, en el caso de la próstata se han realizado numerosos estudios en el hombre para determinar su participación y función sobre las capacidades reproductivas. Los estudios se han enfocado en padecimientos como la prostatitis crónica, que es una enfermedad común en los hombres adultos y que puede resultar en infertilidad principalmente por la alteración de algunos parámetros del semen (volumen, pH, componentes, viscosidad y licuefacción). Se ha descrito que existe una estrecha relación entre la prostatitis crónica y el retardo en la licuefacción seminal debida a la fosfatasa ácida prostática, al factor tisular, a la falta de zinc y al pH (Zhang y Liang 2007). También se ha

Actualmente, se han descrito, en nuestro laboratorio, los valores de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y del tapón seminal mediante la adecuación de las técnicas utilizadas para analizar el semen de hombre, borrego y conejos y hemos

correspondiente (Goyal y cols. 2001).

Para la morfología espermática se han determinado las anomalías de los espermatozoides, aquellos que presentan defectos de cabeza, pieza intermedia, pieza principal, gota citoplásmica y cabeza separada; sin embargo no se ha dado el valor

#### **Morfología espermática**

Otro parámetro evaluado en muestras obtenidas del útero después de la cópula en la rata ha sido la concentración espermática donde se encontró  $20 \times 10^6$  (Austin y Dewsbury 1986), mientras que en cópulas de hasta 4 horas bajo condiciones monándricas se encontró  $79 \times 10^6$  de espermatozoides (Pound y Gage 2004).

#### **Concentración espermática**

En la rata, que ha sido el modelo más ampliamente utilizado en la fisiología reproductiva, se ha evaluado la movilidad espermática utilizando programas computarizados (IVOS y CASA) en muestras obtenidas mediante de punción de la cauda del epidídimo y los resultados varían desde un 76% (Synthín y Robaire 2001) hasta un 42% (Goyal y cols. 2001) de espermatozoides con movilidad progresiva rápida

#### **Movilidad espermática**

#### **sexuales accesorias**

### **2.2 Parámetros evaluados en el semen de la rata y su relación con las glándulas**

relacionado la baja concentración de zinc del plasma seminal con la disminución del potencial fértil ya que la reducción de zinc está acompañada del decremento en la movilidad espermática (Mannar y cols. 1975; Caldamone y cols. 1980; citado el Nikolaos y cols. 1993). Además, el incremento en el volumen de secreciones prostáticas está relacionado con un inminente descenso del pH en el semen (Glezerman y Bartoov 1986, citado en Nikolaos y cols. 1993).

utilizado la misma terminología descrita por la OMS. Además, propusimos otros parámetros para el tapón seminal ya que sólo se habían propuesto el tamaño y peso (Tlachi-López 2007, Lucio y Tlachi 2008). Esto ha permitido realizar estudios donde se evalúa la participación de las diferentes glándulas sexuales accesorias en la formación del fluido seminal.

### 2.3 Parámetros evaluados en el tapón seminal de la rata y su relación con las glándulas sexuales accesorias

Se han realizado estudios *in vitro* para determinar la coagulación del semen estudiando la participación de las secreciones de distintas glándulas accesorias de rata, ratón y hamster. Se observó que al mezclar las secreciones de las vesículas seminales y bulbouretrales o las de vesículas seminales y coagulantes se producía un coagulado débil, mientras que si se mezclaban las secreciones de las tres glándulas se producía un coagulado fuerte, independientemente de la especie utilizada (Hart y Greenstein 1968). Después se identificó que el agente responsable de iniciar la coagulación del semen provenía de la glándula coagulante (Camus y Gley 1899, cita do en Hart y Greenstein 1968) y se determinó que se trataba de una enzima denominada vesiculasa (Walter 1919 citado en Hart y Greenstein 1968).

Además, se ha descrito que las secreciones de las glándulas bulbouretrales reaccionan *in vitro* con las secreciones de vesículas seminales para producir un coagulo (Hart y Greenstein 1968).

En otros experimentos, se mezcló la secreción de la próstata con la de las glándulas bulbouretrales y coagulantes y se encontró que el semen se endurecía por lo que se sugirió que la próstata se relaciona con la formación del tapón seminal (Martínez A 2003).

También se ha mostrado que la extirpación parcial de las vesículas seminales modifica la formación del tapón seminal, reduce la concentración espermática y la fertilidad (Carballada y Esponda 1992). En la rata, se ha observado que la remoción parcial de las vesículas seminales provoca un decremento en el porcentaje de espermatozoides en el útero, relacionado con la reducción en la secreción de las vesículas, estimada por el peso del tapón seminal (Carballada y Esponda 1992).

Estudios en la rata mostraron que machos con remoción bilateral de las glándulas coagulantes eran capaces de preñar a las hembras (Lawson y Sorensen 1964; Lucio y cols. 2003). Contrariamente, se ha descrito que después de la ablación de glándulas coagulantes y vesículas seminales no hay fertilización ya que el tapón seminal no se forma (Blandau 1945), además de que la ablación de las glándulas coagulantes causó infertilidad en el 75% de los machos (Queen y cols. 1981). También se ha descrito que la infertilidad causada por la ablación de las glándulas coagulantes es debida a la ausencia del tapón seminal, lo que ocasiona que los espermatozoides no lleguen al útero (Carballada y Esponda 1992).

En hamster se encontró que la remoción bilateral de los lóbulos prostáticos ventrales, los dorsales y laterales, las glándulas coagulantes, ampullas, y las vesículas seminales disminuyó la fertilidad (Chow y cols. 1986). Este resultado también se obtuvo con la remoción sólo de los lóbulos prostáticos ventrales (Chow y cols. 1986).

En hamster se encontró que la remoción bilateral de los lóbulos prostáticos preñez y el tamaño de la camada de forma crítica (Pang y cols. 1979).

Estudios realizados sobre la participación de las glándulas sexuales accesorias en la fertilidad del ratón mostraron que la ablación de las glándulas coagulantes no modificó la tasa de preñez. La ablación de lóbulos prostáticos ventrales y dorsales la disminuyó un poco, mientras que la ablación de vesículas seminales, glándulas coagulantes y lóbulos ventrales y dorsales, así como únicamente de vesículas seminales, disminuyeron la tasa de preñez y el tamaño de la camada de forma crítica (Pang y cols. 1979).

#### **2.4 Extracción de las glándulas sexuales accesorias y su efecto sobre la fertilidad**

También se ha descrito que la ablación de las glándulas bulbouretrales y coagulantes modifica la formación del tapón seminal, el color y la viscosidad del semen. La ablación de las glándulas coagulantes disminuye el endurecimiento del tapón seminal y la concentración espermática (Tlachi-López 2007).

La extracción parcial de las vesículas seminales en la rata afecta al tapón seminal haciéndolo pequeño y con forma de copa, y la falta de secreciones de vesículas seminales ocasiona una disminución en el porcentaje de espermatozoides en los cuernos uterinos (Carballada y Esponda 1993). Estos resultados dejan al margen el análisis total del semen y tapón seminal.

Con respecto a la próstata, la remoción de los lóbulos prostáticos ventrales no afectó la fertilidad, no así la remoción de los lóbulos dorsales y laterales que provocó infertilidad (Queen y cols. 1981). En contraste, se ha descrito que la remoción de lóbulos ventrales y dorsales en la rata no produce cambios en la fertilidad (Gunn y Gould 1958, citado en Wilson y French 1980).

En la rata, la próstata es una glándula multilobulada y cada lóbulo (ventral, lateral y dorsal) tiene funciones secretoras diferentes. Los estudios han mostrado que la extirpación de cada lóbulo prostático tiene resultados diferentes sobre la fertilidad por lo que cabe preguntar si la participación de cada lóbulo influye de forma diferente sobre las características del eyaculado.

### 3. JUSTIFICACIÓN

Determinar la participación de los lóbulos prostáticos ventrales y dorsales sobre las características del eyaculado en la rata

## 5. OBJETIVO

En la rata, los lóbulos prostáticos ventrales y dorsales participan en la formación del eyaculado promoviendo la formación del tapón seminal y la movilidad espermática.

## 4. HIPÓTESIS



## 6. METODOLOGÍA GENERAL

### 6.1 Animales

Se utilizaron ratas Wistar adultas del bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, machos (300-350 g) y hembras (200-250 g) de peso corporal, mantenidas en condiciones estándar con ciclo invertido de luz-oscuridad de 12-12 horas (la luz se encendía a las 20:00 horas y se apagaba a las 8:00 horas). Se les proporcionó agua y alimento (nutricubos, Purina) *ad libitum*. Las hembras fueron ovariectomizadas bilateralmente y se les indujo el estro mediante tratamiento hormonal administrado subcutáneamente (10 µg de benzoato de estradiol 48 horas antes de la prueba copulatoria y 2 mg de progesterona 4 horas antes de la misma).

### 6.2 Pruebas copulatorias

Para su entrenamiento sexual, los machos fueron sometidos a pruebas copulatorias (4 pruebas de una serie eyaculatoria cada 3 días) realizadas durante el segundo tercio del periodo de oscuridad (Mercier y cols. 1987). Se colocó al macho en una arena cilíndrica (50 cm de altura x 50 de diámetro) durante 5 minutos para su habituación. Inmediatamente después se introdujo a una hembra ovariectomizada a la que se le indujo el estro mediante tratamiento hormonal. Los patrones conductuales que realiza el macho durante la cópula son: monta, intromisión y eyaculación (Larsson 1956).

**Monta.** Se identifica cuando el macho se coloca sobre la hembra quedando sus regiones pélvica y perineal apoyadas sobre la grupa femenina. Con las extremidades delanteras sujeta a la hembra y le palpa los flancos mientras realiza movimientos pélvicos rítmicos alternantes hacia delante y atrás. Posteriormente el macho realiza una desmonta lenta.

**Intromisión.** Implica la monta más la inserción del pene en la vagina. Se identifica cuando el macho realiza un movimiento pélvico de penetración seguido de una desmonta brusca y el autoacicalamiento del pene.

**Eyaculación.** Es cuando el macho monta a la hembra y despliega un movimiento pélvico

caracterizado por ser más profundo y duradero que el de una intromisión. Inmediatamente después el macho eleva la porción superior del cuerpo, extiende hacia los lados las extremidades anteriores y se desmonta lentamente para autoacicalarse el pene.

La duración de la prueba fue de 15 minutos cuando el macho no realizó intromisiones ó de 30 minutos después de la primera intromisión si no ocurría la eyaculación (Lucio y Tlachi 2008).

Se registraron los parámetros copulatorios convencionales descritos por Larsson (1956), (Lucio y cols. 1994):

- Número de montas: Número de veces que se presenta este patrón motor antes de la eyaculación.
- Número de intromisiones: Número de veces que se presenta esta conducta previa a la eyaculación.
- Latencia de monta: Intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce a la hembra con el macho hasta que se presenta la primera monta.
- Latencia de intromisión: Intervalo de tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra en la arena de observación, hasta que se presenta la primera intromisión.
- Latencia de eyaculación: Intervalo de tiempo entre la primera intromisión y la eyaculación.

Los machos que durante las cuatro pruebas copulatorias de entrenamiento eyacularon durante los primeros 15 minutos de cada una de las pruebas se consideraron como sexualmente expertos y fueron seleccionados para el estudio.

# 7. EXPERIMENTO I: LESIÓN QUÍMICA DE LOS LÓBULOS VENTRALES Y DORSALES Y SU EFECTO SOBRE EL EYACULADO

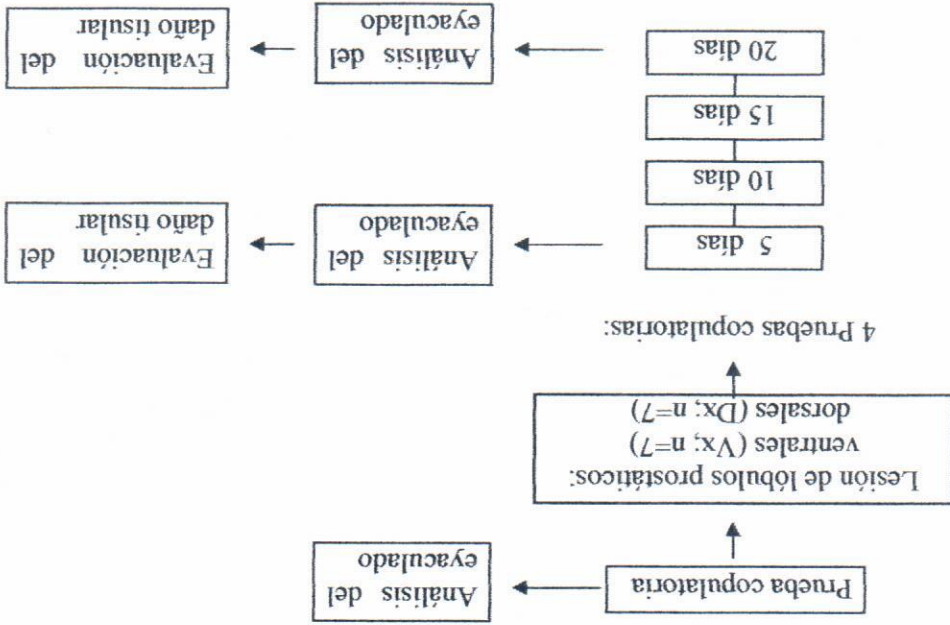
## 7.1 Objetivo específico

1. Determinar la participación de los lóbulos prostáticos ventrales y dorsales sobre los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y tapón seminal después de la lesión química con el esclerosante tetradecil sulfato de sodio.

## 7.2 Material y métodos

### 7.2.1 Protocolo experimental

Los machos sexualmente expertos se sometieron a una prueba copulatoria y se obtuvo el eyaculado de la hembra para su análisis. Un día después se practicó la lesión. Después de la lesión se realizaron 4 pruebas copulatorias con intervalo de 5 días entre ellas, sólo en la primera (5 días) y la última (20 días) se obtuvo el eyaculado para su análisis. Un día después de cada análisis de eyaculado se sacrificaron machos de cada condición (n=3 en la primera prueba y n=4 en la última) y se extrajo la próstata para evaluar el daño tisular.



### 7.3 Obtención y análisis del semen y tapón seminal de la rata

Después de que el macho presentó el patón copulatorio de eyaculación, se dejaron transcurrir 5 minutos para que ocurriera el transporte espermático, luego la hembra inseminada fue anestesiada con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (26 mg/kg; Pfizer S.A. de C.V.) y se colocó en posición supina sobre la mesa de cirugía.

Se realizó una incisión sobre la línea media de la pared abdominal, incluyendo piel y músculos estriados. Se localizaron y ligaron los cuernos uterinos en sus extremos proximal y distal y se extrajeron de la cavidad abdominal. Inmediatamente se colocaron en una caja Petri que contenía solución salina (0.9%) a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  para evitar el shock térmico a los espermatozoides, lo que provocaría cambios en las características del eyaculado. Con unas pinzas de disección se sujetó uno de los cuernos uterinos del extremo distal y con unas tijeras se cortó y desprendió el tejido que contenía abundantes vasos sanguíneos y tejido graso adherido a la pared externa de los cuernos uterinos para evitar la contaminación de la muestra al momento de ser extraída del interior de los cuernos. El desprendimiento se realizó con extremo cuidado evitando rasgar la pared del cuerno uterino, lo que resultaría en la pérdida del semen (Fig. 8). Una vez limpios ambos cuernos uterinos se eliminó el exceso de solución salina colocándolos sobre papel absorbente. Luego se realizó una incisión en cada extremo distal, y se vació el fluido contenido dentro de un tubo de microcentrífuga. El tubo de microcentrífuga fue transparente y de 1.5 mililitros de capacidad. El fluido seminal obtenido en los cuernos y contenido en el tubo de microcentrífuga se mantuvo en un termobanco (Fehisa® FE-371) a  $36\pm 1^\circ\text{C}$  para su análisis inmediato (Lucio y Tlachi 2008).

El tapón seminal se obtuvo quirúrgicamente de la misma hembra de la que se extrajo el semen de los cuernos uterinos. Se hizo una incisión longitudinal en la piel desde el orificio vaginal, hasta el cérvix. Se rompió la sínfisis púbica y se realizó una incisión longitudinal en la pared ventral de la vagina. De este modo se pudo observar el tapón seminal adherido en su porción rostral al cérvix y en sus bordes laterales a la pared vaginal. Con una espátula delgada se desprendió el tapón de la pared vaginal y se depositó en un tubo de microcentrífuga mantenido en un termobanco a  $36\pm 1^\circ\text{C}$ .

volumen y tamaño.

Los parámetros macroscópicos evaluados en el tapón seminal fueron: consistencia, peso,

### 7.3.2 Parámetros macroscópicos y microscópicos del tapón seminal de la rata

objetivo 100x.

espermática se utilizó un objetivo de 20x, mientras que para la viabilidad se utilizó el microscopio Optiphot-2 Nikon. Para la concentración, la movilidad y la morfología viabilidad y morfología. El análisis microscópico del semen se realizó utilizando un

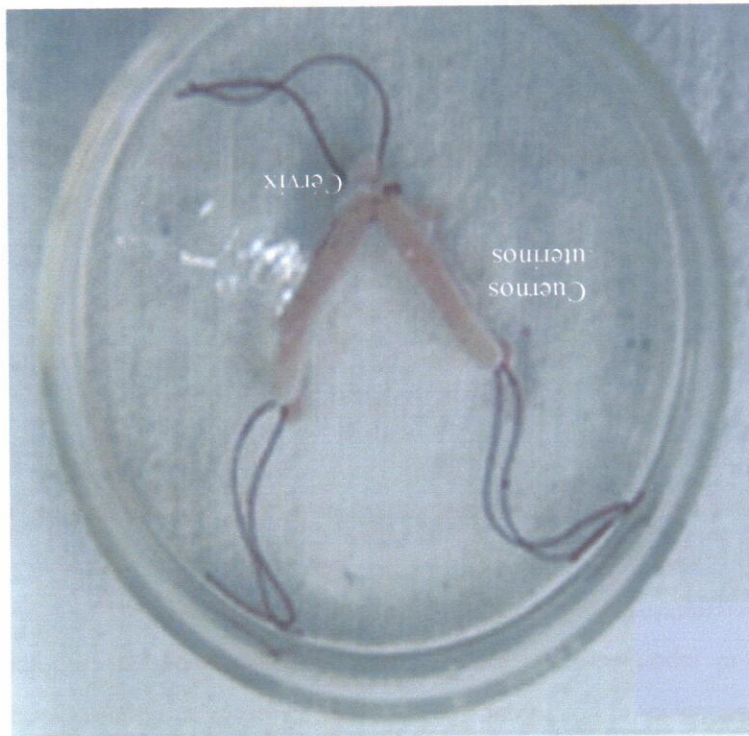
Los parámetros microscópicos evaluados fueron: concentración, movilidad, determinaron utilizando el semen fresco contenido en el tubo de microcentrífuga.

Los parámetros macroscópicos analizados en el semen fueron: color, viscosidad y pH. Se

### 7.3.1 Parámetros macroscópicos y microscópicos del semen de la rata

Lucio y Tlachi, 2008).

Fig. 8 Sistema reproductor de rata hembra recién eyaculada. Se muestran los cuernos uterinos y el cérvix (tomada de



Con el fin de determinar el daño de la inyección del esclerosante sobre el tejido prostático se extrajo la glándula para su análisis histológico. Y, puesto que el interés histológico sobre la muestra es meramente estructural se utilizó el fijador Bouin-Duboscq que penetra rápidamente en los tejidos (Ver anexo B).

#### 7.5 Técnica histológica (hematoxilina-eosina)

Cabe mencionar que no se consideró la inyección de los lóbulos laterales ya que, como se comentó anteriormente, adosado a éstos se encuentra el ganglio pélvico mayor, y si éste resultara lesionado con la aguja o por efecto de la sustancia esclerosante se dañarían los nervios encargados de la inervación de las estructuras sexuales, lo que implicaría que el macho no podría presentar la erección penéana (Lucio y cols. 1994).

los lóbulos prostáticos, se suturó el tejido muscular y la piel. Cabe mencionar que no se consideró la inyección de los lóbulos laterales ya que, como se comentó anteriormente, adosado a éstos se encuentra el ganglio pélvico mayor, y si éste resultara lesionado con la aguja o por efecto de la sustancia esclerosante se dañarían los nervios encargados de la inervación de las estructuras sexuales, lo que implicaría que el macho no podría presentar la erección penéana (Lucio y cols. 1994).

Los lóbulos prostáticos, se suturó el tejido muscular y la piel. Cabe mencionar que no se consideró la inyección de los lóbulos laterales ya que, como se comentó anteriormente, adosado a éstos se encuentra el ganglio pélvico mayor, y si éste resultara lesionado con la aguja o por efecto de la sustancia esclerosante se dañarían los nervios encargados de la inervación de las estructuras sexuales, lo que implicaría que el macho no podría presentar la erección penéana (Lucio y cols. 1994).

Para la lesión química se consideró la inyección de una solución del esclerosante tetradecil sulfato de sodio (ALDRICH 293938-1G) (Ver anexo A).

#### 7.4 Lesión química (inyección de tetradecil sulfato de sodio en lóbulos prostáticos ventrales y dorsales)

Los parámetros microscópicos del tapón seminal se refieren a los elementos citológicos presentes en el por lo que se evaluaron las cabezas, flagelos y espermatozoides contenidos en el tapón seminal. Se observó al microscopio con el objetivo 20x para cuantificar los elementos citológicos (Ver anexo C).

## 7.6 Prueba estadística

Para los datos obtenidos de la evaluación de los parámetros del semen y tapón seminal en las pruebas de los 5 y 20 días después de la cirugía se aplicó una prueba de Friedman en la que sólo se consideró  $n=4$  para la prueba antes de la lesión, a los 5 días y a los 20 días después de la lesión debido a que en esta última sólo se probaron 4 machos por condición. Para las pruebas se estableció un nivel de significancia de 0.05.

## 7.7 Resultados

### 7.7.1 Machos antes de la lesión

Para los parámetros macroscópicos, el 100% de las muestras de semen mostraron una coloración blanquecina con una viscosidad de  $2.1 \pm 0.09$  mm y pH de  $8.1 \pm 0.09$ . Con respecto a los parámetros microscópicos el  $52.6 \pm 2.5\%$  de los espermatozoides mostraron movilidad progresiva rápida, el  $23.1 \pm 0.8\%$  mostraron movilidad progresiva lenta mientras que el porcentaje de espermatozoides con movilidad *in situ* fue  $17.07 \pm 1.7\%$  y el de inmóviles  $7.9 \pm 1.04\%$  por lo que el índice de movilidad fue de  $0.7 \pm 0.01$ . La concentración espermática de las muestras obtenidas en las pruebas antes de la lesión fue aproximadamente de  $13.5 \pm 1.02 \times 10^6$  espermatozoides por mililitro; y aproximadamente el  $72.9 \pm 2.06\%$  de los espermatozoides estuvieron vivos, y  $99.8 \pm 0.1\%$  mostraron morfología normal al momento de ser eyaculados.

Con respecto al tapón seminal, las pruebas antes de la lesión evidenciaron para los parámetros macroscópicos un tapón endurecido que pesaba aproximadamente  $111 \pm 0.7$  mg, con un volumen de  $91.5 \pm 5.8$  mm<sup>3</sup>, y un tamaño de  $12.4 \pm 0.2$  mm de largo y  $5.2 \pm 0.1$  mm de ancho.

Para los parámetros microscópicos del tapón seminal, la evaluación de los elementos citológicos contenidos en cada una de las tres regiones (rostral, medial y caudal) mostraron que, en la región rostral del tapón seminal el porcentaje de cabezas contenidas fue el mayor, seguido por el porcentaje de espermatozoides y de flagelos. En la región medial y caudal del tapón seminal el porcentaje de cabezas contenidas fue el mayor, seguido por el porcentaje de flagelos y por último el de espermatozoides.

### 7.7.2 Machos con lesión de los lóbulos prostáticos ventrales

Para el grupo con lesión de los lóbulos ventrales (Vx) los valores de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y del tapón seminal no mostraron modificaciones a los 5 ni a los 20 días después de la lesión.

En el caso de la evaluación de los parámetros del semen, las pruebas estadísticas empleadas de Friedman ( $n=4$ ) para evaluar el efecto inmediato de la lesión (5 días) y el efecto a largo plazo (20 días) no mostraron diferencias significativas ya que todas las muestras obtenidas tuvieron una coloración blanquecina además de que los valores que se obtuvieron para la viscosidad y el pH fueron semejantes a las reportadas en la prueba antes de la lesión.

Para la mayoría de los parámetros microscópicos del semen los valores obtenidos no mostraron variación con respecto a los obtenidos antes de la lesión, la excepción fue la concentración espermática que mostró una tendencia a disminuir con el tiempo, de  $13.5 \pm 1.02$  antes de la lesión a  $13.5 \pm 1.2$  y  $11.12 \pm 2.6$  a los 5 y 20 días después de la lesión (Tablas 2 y 3).

Tabla 2. Valores de los parámetros macroscópicos del semen en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos ventrales. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre los días de pruebas (Friedman,  $p > 0.05$ )

SEMEN	Días después de la lesión		
	1 (n=7)	5 (n=7)	20 (n=4)
Macrosópicos			
Muestras blancas (%)	100	100	100
Viscosidad (mm)	2 (2.2±0.1)	2 (2.1±0.09)	2.2 (2.2±0.1)
pH	8 (8.1±0.09)	8 (8.1±0.09)	8.25 (8.25±0.1)
			$p < .6065$
			$p < .3678$

Los datos se expresan como mediana, y (media  $\pm$  error estándar).



Tabla 3. Valores de los parámetros microscópicos del semen en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos ventrales. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre los días de pruebas (Friedman,  $p > 0.05$ )

SEMEN	Días después de la lesión		
	1 (n=7)	5 (n=7)	20 (n=4)
<b>Microscópicos</b>			
Movilidad rápida (%)	53.5 (52.6±2.5)	49.5 (50.3±3.3)	51 (51.6±1.3)
Movilidad lenta (%)	24 (24.2±1.2)	23.5 (22.9±1.8)	22.75 (24.1±2.4)
In situ (%)	14 (13.7±1.2)	14.5 (16.4±2.1)	16 (15.6±1.9)
Immovilidad (%)	9 (9.2±0.6)	8.5 (10.2±1.8)	10 (8.6±1.9)
Índice de movilidad	0.7 (0.7±0.01)	0.7 (0.6±0.01)	0.7 (0.7±0.02)
Concentración ( $10^6/ml$ )	13 (13.5±1.02)	12.5 (13.5±1.2)	11.25 (11.12±2.6)
Viability (%)	67.5 (67.8±1.02)	64.5 (64.8±2.9)	66.5 (68.1±2.3)
Mortología (%)	100 (99.8±0.1)	100 (100±0)	100 (100±0)

Los datos se expresan como mediana, y (media ± error estándar)  
Spz=espermatozoides

En el caso de los parámetros del tapón seminal, la prueba estadística de Friedman no mostró diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados, tanto macroscópicos como microscópicos a los 5 ni a los 20 días después de la lesión y tampoco se observó alguna tendencia (Tablas 4 y 5).

Tabla 4. Valores de los parámetros macroscópicos del tapón seminal en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos ventrales. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre los días de pruebas (Friedman,  $p > 0.05$ )

TAPÓN SEMINAL	Días después de la lesión		Días antes de la lesión	Macroscópicos
	5 (n=7)	20 (n=4)		
Tapones endurecidos (%)	100	100	100	
Peso (mg)	110 (110.4±0.6)	110 (110.5±0.5)	111 (111±0.7)	$p < .9355$
Volumen (mm <sup>3</sup> )	86.3 (90.0±4.9)	91.9 (89.6±2.6)	88.9 (91.5±5.8)	$p < .7788$
Tamaño-largo (mm)	12.2 (12.4±0.2)	12.3 (12.3±0.1)	12.1 (12.4±0.2)	$p < .7788$
Tamaño-ancho (mm)	5.2 (5.2±0.09)	5.3 (5.2±0.06)	5.3 (5.2±0.1)	$p < .8071$

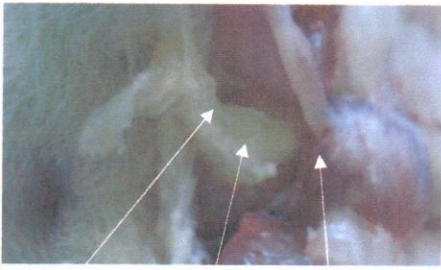
Los datos se expresan como mediana y (media ± error estándar).

Como ya se mencionó anteriormente, el tapón se seccionó en tres regiones (rostral, medial y caudal) y se realizó un frotis de cada una de éstas en el cual se evaluaron los elementos citológicos contenidos.

Los resultados obtenidos para cada región en los diferentes días de prueba se presentan como porcentajes y no muestran diferencias entre los valores obtenidos antes de la lesión con los obtenidos a los 5 y 20 días después de la lesión (Tabla 5 y Fig. 9).

Tabla 5. Valores de los parámetros microscópicos del tapón seminal depositado por ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos ventrales.

		TAPÓN SEMINAL		
		Días antes de la lesión	Días después de la lesión	
		1 (n=7)	5 (n=7)	20 (n=4)
<b>Microscópicos</b>				
<b>Elementos citológicos</b>				
Rostral	Cabezas (%)	50.14	50.69	77.59
	Flagelos (%)	13.65	16.01	14.82
	Spz (%)	36.19	33.29	7.58
Medial	Cabezas (%)	77.53	78.72	79.13
	Flagelos (%)	19.17	17.4	17.85
Caudal	Spz (%)	3.29	3.86	3.01
	Cabezas (%)	95.19	93.16	91.8
Caudal	Flagelos (%)	4.11	6.21	8.16
	Spz (%)	0.68	0.62	0



Regiones

Los datos se expresan como porcentajes  
Spz= espermatozoides

Con respecto al análisis histológico de los lóbulos prostáticos, en cortes de próstata de machos intactos teñidos con hematoxilina-eosina, se observa que los lóbulos ventrales se componen por adenómeros secretores con epitelio columnar simple y núcleos basales, además, los adenómeros son de mayor diámetro que en los otros lóbulos y presentan pocos pliegues en el epitelio. La secreción presentó una acidofilia ligera lo que sugiere una composición química ligeramente alcalina.

En los lóbulos laterales y dorsales se observó un epitelio cuboidal y núcleos centrales, los adenómeros en los lóbulos laterales presentaron mayor número de pliegues que los observados en los lóbulos ventrales y en los adenómeros de los lóbulos dorsales se observó el epitelio con el mayor número de pliegues además de que éstos fueron más pronunciados. La secreción en los lóbulos laterales se tiñó de un rojo intenso, indicando su naturaleza altamente básica, mientras que en los lóbulos dorsales, la secreción mostró una coloración rosada, es decir, de naturaleza básica.

También se observó que el estroma entre los adenómeros es mayor en los lóbulos dorsales, donde se aprecian fibras de músculo liso y tejido conectivo (Fig. 10).

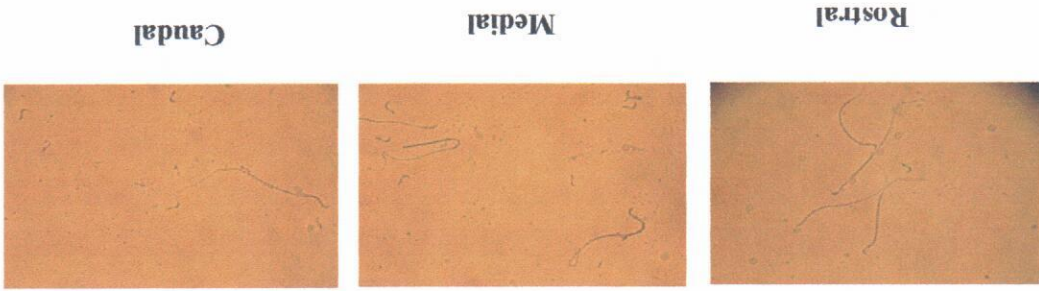
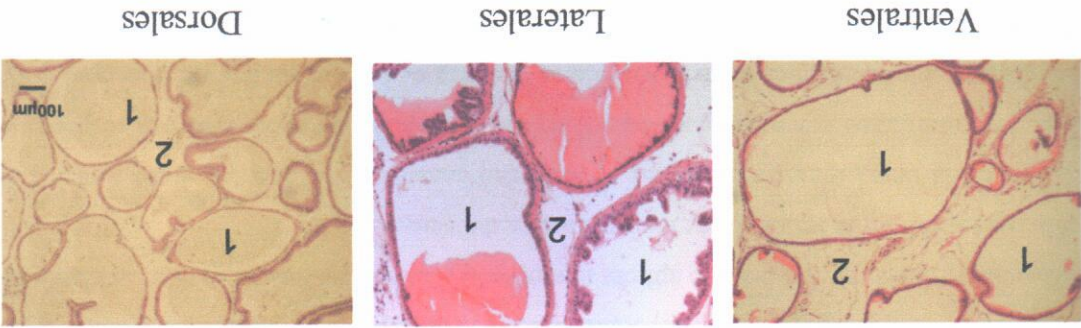


Fig. 9 Fotomicrografías de los frotis de las tres regiones del tapón seminal depositado por machos con inyección de los lóbulos prostáticos ventrales a los 5 días después de la lesión observadas con el objetivo 20x.

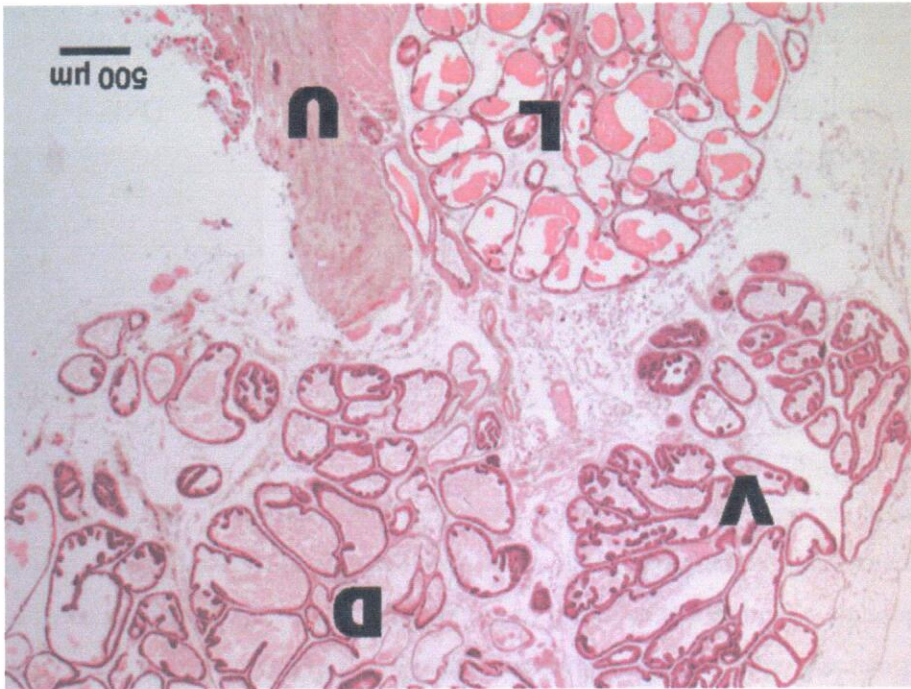
Fig. 11 Fotomicrografías de los cortes histológicos de los lóbulos prostáticos ventrales, laterales y dorsales a los 5 días después de la lesión de los lóbulos prostáticos ventrales. Se muestran los adenómeros (1) y el estroma (2) de cada lóbulo de la glándula (H-E, barra=100µm).



(Fig. 11).

El análisis histológico realizado en las muestras obtenidas después de la prueba de eyaculado a los 5 días después de la lesión se observó un proceso inflamatorio en los lóbulos ventrales lesionado por la presencia de leucocitos en el estroma. El análisis histológico de los lóbulos laterales y dorsales de los machos con lesión de los lóbulos prostáticos ventrales no mostró daño estructural ni presencia de leucocitos

Fig. 10 Fotomicrografía panorámica de los lóbulos prostáticos ventrales (V), laterales (L) y dorsales (D). Se muestra la pared de la uretra (U) (H-E, barra=500µm).



En la única muestra en la que se encontró semen en los cuernos uterinos a los 5 días, los parámetros macroscópicos no mostraron diferencias significativas con respecto a los valores obtenidos antes de la lesión. En la mayoría de los parámetros microscópicos se observaron diferencias y, como sólo se obtuvo un valor por parámetro no se presenta como mediana o media, solamente como porcentaje. Para la movilidad, sólo el 15.5% de los espermatozoides mostraron movilidad progresiva rápida; 8.5% movilidad progresiva lenta, efecto causado por la lesión sobre los parámetros del semen.

Con respecto al grupo de machos con lesión en los lóbulos dorsales (Dx) se observaron diferencias en las características del semen y del tapón seminal a los 5 días después de la cirugía. Las muestras obtenidas de los cuernos uterinos en 6 de las 7 hembras que copularon con los 7 machos lesionados no mostraron la coloración blanquecina que se observó en las muestras de los machos intactos antes de la lesión sino que eran incoloras. Esta ausencia de semen en los cuernos uterinos imposibilitó la evaluación de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen en 6 de 7 muestras. Debido a la ausencia de datos, no fue posible aplicar una prueba estadística, aunque resultó evidente el

### 7.7.3 Machos con lesión de los lóbulos prostáticos dorsales

Fig. 12 Fotomicrografías de los cortes histológicos de los lóbulos prostáticos ventrales, laterales y dorsales a los 20 días después de la lesión de los lóbulos prostáticos ventrales. Se muestran los adenómeros (1) y el estroma (2) de cada lóbulo de la glándula (H-E, barra=100µm).



Los resultados obtenidos del análisis histológico a los 20 días después de la lesión en los lóbulos prostáticos ventrales mostró que el proceso inflamatorio observado en los cortes histológicos a los 5 días disminuyó, observándose un número menor de leucocitos en el estroma, además de que no se evidenció daño estructural en el epitelio de los adenómeros. (Fig. 12).

50% movimiento *in situ* y 26% de los espermatozoides no mostraron movimiento, el índice de movilidad fue de 0.2 a los 5 días después de la lesión. El valor obtenido para la concentración espermática fue de  $7.5 \times 10^6$  espermatozoides por mililitro.

20 días después de la lesión las muestras obtenidas de los cuernos uterinos (n=4) mostraron coloración blanquecina por lo que los parámetros macroscópicos y microscópicos pudieron evaluarse. Los valores obtenidos para los parámetros macroscópicos no mostraron diferencias con respecto a los obtenidos antes de la lesión. Los parámetros microscópicos mostraron diferencias con respecto a los valores obtenidos antes de la lesión. Se evaluaron 21.5% de espermatozoides con movilidad progresiva rápida. En la movilidad progresiva lenta el valor fue de 30.7% mientras que 36.5% de los espermatozoides mostraron movimiento *in situ*, y 11.2% no mostraron movimiento. El índice de movilidad fue de 0.4. Por último, para la concentración espermática el valor fue de  $7.3 \times 10^6$  espermatozoides por mililitro (Tablas 6 y 7).

Tabla 6. Valores de los parámetros macroscópicos del semen en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos dorsales. Se muestran los resultados de las pruebas estadísticas y los parámetros que resultaron con diferencias significativas así como el valor de p (Friedman,  $p < 0.05$ ).

SEMEN	Días antes de la lesión		Días después de la lesión		p
	1 (n=7)	5 (n=6)	20 (n=4)		
Macrosópicos	100	14.28	100		
Muestras blancas (%)	2	0	2.5		$p < 0.0381$
Viscosidad (mm)	$(2.1 \pm 0.09)$	$(0.2 \pm 0.2)$	$(2.5 \pm 0.2)$		
pH	8	8	8.25		$p < 0.7788$
	$(8.1 \pm 0.09)$	$(8.1 \pm 0.09)$	$(8.25 \pm 0.1)$		

Los datos se expresan como mediana y como (media  $\pm$  error estándar).

Con respecto al tapón seminal, se encontró tapón depositado en la vagina en el 100% de las pruebas a los 5 días después de la lesión aunque en 6 de las 7 pruebas el tapón no estaba adherido a las paredes de la vagina debido a que se encontraba embebido en el semen que no se transportó a los cuernos uterinos y, a pesar de que la evaluación de los parámetros macroscópicos no mostró diferencias significativas, evidenciando un tapón seminal normal, en los parámetros microscópicos, la evaluación de los elementos citológicos presentes en el tapón reveló, en el frotis realizado en la región rostral, la presencia de millones de espermatozoides contenidos en el tapón lo que impidió la

Tabla 7. Valores de los parámetros microscópicos del semen en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos dorsales.

SEMEN	Días antes de la lesión		Días después de la lesión	
	1 (n=7)	5 (n=6)	1 (n=1)	20 (n=4)
Microscópicos	53 (51.8±1.6)	13.5 (21.5±8.3)	s/spz	13.5 (21.5±8.3)
Movilidad rápida (%)	24 (23.1±0.8)	8.5 (30.7±2.6)	s/spz	32.25 (30.7±2.6)
Movilidad lenta (%)	15.5 (17.07±1.7)	50 (36.5±7.6)	s/spz	41 (36.5±7.6)
In situ (%)	7.5 (7.9±1.04)	26 (11.2±2.2)	s/spz	13 (11.2±2.2)
Índice de movilidad	0.7 (0.7±0.02)	0.2 (0.4±0.1)	s/spz	0.4 (0.4±0.1)
Concentración (10 <sup>6</sup> /ml)	13 (14.9±1.3)	7.5 (7.3±0.7)	s/spz	7.5 (7.3±0.7)
Viabilidad (%)	71 (72.9±2.06)	60 (69.7±1.6)	s/spz	71 (69.7±1.6)
Morfología (%)	100 (98.07±1.8)	100 (99.3±0.3)	s/spz	99.5 (99.3±0.3)

Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).  
Spz=espermatozoides



evaluación de las cabezas y flagelos. En los frotis realizados en las regiones medial y caudal no se observaron diferencias entre los valores obtenidos antes de la lesión a los obtenidos a los 5 días después de la lesión. Para el único tapón seminal depositado y adherido a las paredes de la vagina a los 5 días después de la lesión, los valores de los parámetros macro y microscópicos no mostraron diferencias con respecto a los obtenidos antes de la lesión. A los 20 días después de la lesión, los valores obtenidos de los parámetros macroscópicos no mostraron diferencias con respecto a los obtenidos antes de la lesión. Los parámetros microscópicos tampoco mostraron diferencias en ninguna de las evaluaciones de elementos citológicos en las tres regiones del tapón seminal (Tablas 8 y 9, Fig. 13 y 14).

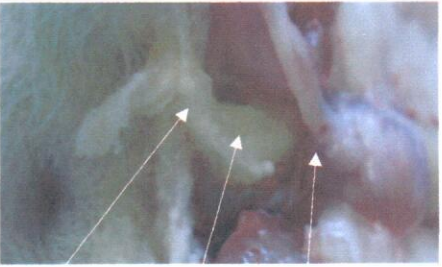
Tabla 8. Valores de los parámetros macroscópicos del tapón seminal en ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos prostáticos dorsales. Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre los días de pruebas (Friedman,  $p > 0.05$ )

TAPÓN SEMINAL	Días antes de la lesión		Días después de la lesión	
	1 (n=7)	5 (n=7)	5 (n=4)	20 (n=4)
Macroscópicos				
Tapones endurecidos (%)	100	100	100	100
Peso (mg)	112 (111.5±0.6)	109 (109.1±1.03)	111 (110±0.7)	p<9048
Volumen (mm <sup>3</sup> )	100 (98.3±3.3)	98.99 (92.3±13.5)	98.35 (98.1±2.2)	p<1.000
Tamaño-largo (mm)	13.1 (13.4±0.8)	12.1 (11.7±1.2)	12.6 (12.6±0.06)	p<6270
Tamaño-ancho (mm)	5.4 (5.3±0.1)	5.4 (5.3±0.1)	5.4 (5.4±0.06)	p<1.000

Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).

Tabla 9. Valores de los parámetros microscópicos del tapón seminal depositado por ratas macho antes y después de la lesión de los lóbulos dorsales.

TAPÓN SEMINAL	Días antes de la lesión		Días después de la lesión				
	1 (n=7)	5 (n=7)	(n=6)	(n=2)	20 (n=4)		
<b>Microscópicos</b> Elementos citológicos	Regiones						
	Rostral	% Cabezas	51.11	43.96	s/distinguir	61.04	54.31
		% Flagelos	11.44	7.75	s/distinguir	3.64	12.76
		% Spz	37.43	48.27	millones	35.3	32.92
	Medial	% Cabezas	69.68	92.38	60.26	92.2	86.89
		% Flagelos	17.27	7.61	19.19	7.52	11.61
		% Spz	13.03	0	20.53	0.27	1.49
	Caudal	% Cabezas	81.79	97.29	47.92	70.9	88.31
		% Flagelos	16.41	2.7	18.72	29.09	11.68
		% Spz	1.79	0	33.34	0	0



Los datos se expresan como porcentajes.  
Spz= espermatozoides

Con respecto al análisis histológico de los lóbulos prostáticos, las muestras obtenidas después de la prueba de análisis del eyaculado a los 5 días después de la lesión mostraron un infiltrado severo de leucocitos en el estroma y en el adenómero lo que provocó la pérdida de la integridad estructural del epitelio. El análisis histológico de los lóbulos laterales y ventrales de los machos con lesión de los lóbulos prostáticos dorsales no mostró daño estructural ni presencia de leucocitos en los adenómeros (Fig. 15).

Fig. 14 Fotomicrografías de los frotis de las áreas del tapón seminal depositado por machos con lesión de los lóbulos prostáticos dorsales a los 5 días después de la cirugía lesión observadas con el objetivo 20x.

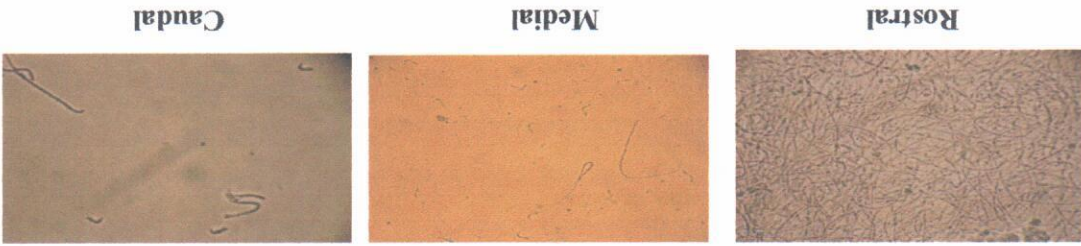


Fig. 13 Fotografías de la región perineal de una rata hembra recién inseminada por un macho con lesión de los lóbulos prostáticos dorsales. Se muestra el clitoris (C), orificio vaginal (OV) y el orificio anal (OA). En la fotografía de la entrada vaginal se muestra el semen depositado en la vagina. Se realizó un corte longitudinal del orificio vaginal hacia el cérvix para exponer el tapón seminal que se muestra en la fotografía del tapón seminal en la vagina.

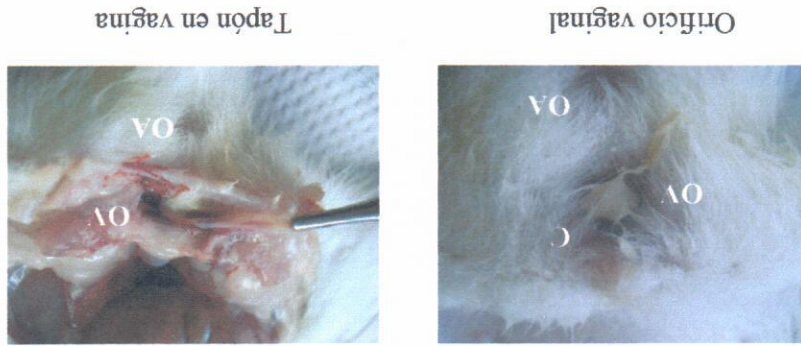
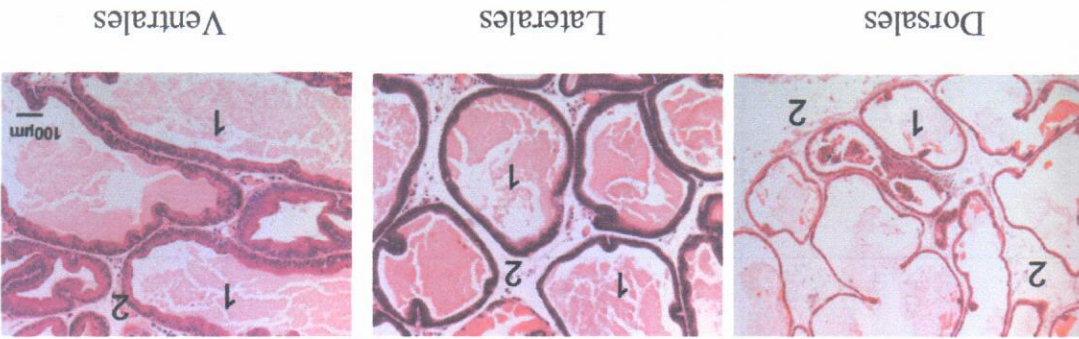
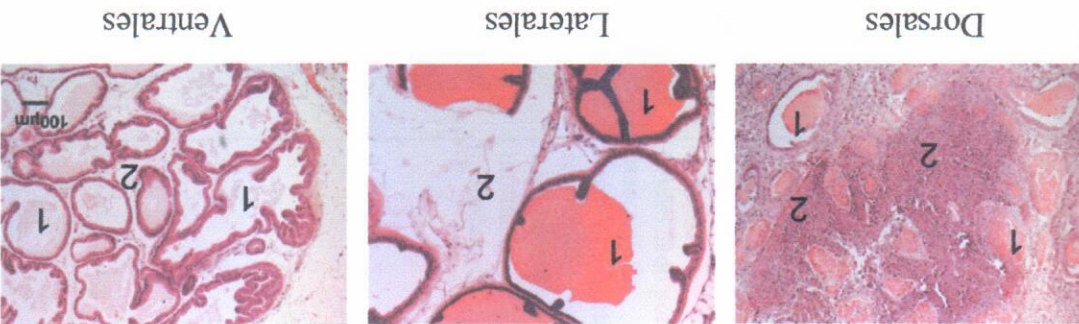


Fig. 16 Fotomicrografías de los cortes histológicos de los lóbulos prostáticos dorsales, laterales y ventrales a los 20 días después de la lesión de los lóbulos prostáticos dorsales. Se muestran los adenómeros (1) y el estroma (2) de cada lóbulo de la glándula (H-E, barra=100µm).



En los resultados obtenidos del análisis histológico a los 20 días después de la lesión en los lóbulos prostáticos dorsales no se observó el proceso inflamatorio severo ni el daño estructural que se evidenció en los cortes histológicos a los 5 días, al contrario, los cortes a los 20 días mostraron el estroma casi libre de leucocitos y el epitelio del adenómero restaurado, así como secreción contenida dentro del adenómero (Fig. 16).

Fig. 15 Fotomicrografías de los cortes histológicos de los lóbulos prostáticos dorsales, laterales y ventrales a los 5 días después de la lesión de los lóbulos prostáticos dorsales. Se muestran los adenómeros (1) y el estroma (2) de cada lóbulo de la glándula (H-E, barra=100µm).



5 días después de la lesión			20 días después de la lesión			
Lesión química de los:	Semen	Tapón seminal	Daño tisular	Semen	Tapón seminal	Histología
<b>Lóbulos ventrales</b>	No hubo diferencias antes <i>versus</i> 5 días después de a lesión.	No hubo diferencias antes <i>versus</i> 5 días después de a lesión.	Proceso inflamatorio por inyección del esclerosante, evidenciado por leucocitos en el estroma.	No hubo diferencias antes <i>versus</i> 20 días después de a lesión.	No hubo diferencias antes <i>versus</i> 20 días después de a lesión	Proceso inflamatorio por inyección del esclerosante, evidenciado por leucocitos en el estroma.
<b>Lóbulos dorsales</b>	No se encontró semen contenido en los cuernos uterinos, lo que impidió la evaluación del semen.	Se encontró tapón seminal en vagina aunque no adherido por estar embebido en el semen que no se transportó a cuernos uterinos. El peso, tamaño y volumen similares a los de antes de la lesión. Al evaluar los parámetros microscópicos y realizar el corte de la región rostral del tapón se observaron millones de espermatozoides contenidos lo que impidió la evaluación del número de cabezas y flagelos.	Proceso inflamatorio severo por inyección del esclerosante y evidenciado por infiltrado leucocitario en estroma y adenómeros. Así como daño en epitelio.	Se encontró semen contenido en los cuernos uterinos. La movilidad espermiática disminuyó en comparación con los valores obtenidos antes de la lesión. De la misma forma se observó una disminución drástica en la concentración espermiática con respecto a los valores obtenidos antes de la lesión.	Los parámetros macroscópicos del tapón seminal fueron semejantes a los obtenidos antes de la lesión así como los parámetros microscópicos	Proceso inflamatorio evidenciado por presencia de leucocitos. Epitelio regenerado y los adenómeros sin infiltrado leucocitario.

Caro resumen de los resultados del experimento I

## 7.8 Discusión

Con los años, la literatura sobre la morfología, fisiología, bioquímica y biología molecular de la próstata ha sido más extensa. Se ha descrito que la próstata de la rata está compuesta por diferentes lóbulos: ventrales y dorsolaterales, que pueden ser subdivididos en lóbulos laterales y dorsales (Price y Williams-Ashman 1961). Cada lóbulo está compuesto de ductos que vierten sus secreciones a la uretra y que arborizan conforme se alejan de ésta, además, cada lóbulo se encuentra rodeado por una capsula cuya función es unir los ductos y dar a cada lóbulo una forma particular. La diferencia en la estructura de los lóbulos también se observa en la diversa especificidad secretora ya que se ha descrito que cada lóbulo secreta compuestos diferentes durante el proceso de emisión seminal para la formación del semen, por ejemplo, los lóbulos dorsales y anteriores son los sitios de mayor secreción de fructosa (Humphrey y Mann 1949, Mann 1964) que, como se mencionó anteriormente, es el sustrato glicolizable más importante para los espermatozoides, los lóbulos ventrales secretan citatos, poliaminas como espermina y espermidina (Price y Williams-Ashman 1961) que participan en la coagulación del semen, y prostetinas (Lea y cols. 1979) mientras que los lóbulos laterales secretan la mayor cantidad de zinc (Gunn y Gould 1957). Por lo tanto al lesionar químicamente los diferentes lóbulos y alterar la actividad secretora de éstos, se modifican las características del semen y del tapón seminal.

Los resultados mostraron que, en las pruebas antes de la lesión para cada uno de los grupos (Vx y Dx) los valores de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y tapón seminal fueron semejantes a los descritos en otros estudios (Lucio y Tlachi 2008).

Aunque los lóbulos ventrales son los más prominentes de la glándula prostática y, a pesar de que secretan compuestos para la formación del eyaculado, su función principal es convertir la testosterona a dihidrotestosterona, el andrógeno principal en próstata tanto del hombre como de los mamíferos, y esta función la lleva a cabo por acción de isoenzimas de 5 $\alpha$ -reductasa (Normington y Russell 1992). Cabe mencionar que la función de la próstata está bajo control endocrino, siendo los lóbulos ventrales los de mayor respuesta a los andrógenos (Banerjee y cols. 1995; Kiplund y cols. 1988) y se ha descrito que la ausencia de andrógenos ocasiona la atrofia inmediata de los lóbulos ventrales debido a su alta dependencia a andrógenos (Price y Williams-Ashman 1961), por lo que la lesión química de éstos lóbulos no modificó las características del eyaculado.

Los resultados también mostraron que a los 20 días después de la lesión los valores de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y del tapón seminal se podían evaluar aunque no se parecieran a los obtenidos en los machos intactos antes de la lesión, lo que sugiere que el efecto de la lesión química a los 20 días después de la lesión ya no era tan agudo como el que se observó a los 5 días después de la lesión. Histológicamente, esto sugiere que el epitelio glandular se regeneró. Como ya se mencionó anteriormente, la glándula prostática es dependiente de andrógenos y se ha descrito que éstos estimulan la

cols. 1991).

causaría un decremento del peso prostático y la pérdida de granulos secretores (Wang y secretora de las glándulas, el proceso de erección, y más específicamente en la próstata, causaría una alteración de las funciones de estas estructuras, impidiendo la actividad vejiga urinaria y tejido eréctil del pene, por lo que la lesión del ganglio pélvico mayor (Keast 1995), así también, emerge inervación hacia las glándulas accesorias restantes, autonómica de la próstata, en su mayoría, emerge del ganglio pélvico mayor (Kepper y se encuentra adosado el ganglio pélvico mayor. Estudios han demostrado que la inervación

Los lóbulos laterales no fueron considerados para el estudio debido a que en éstos transporte de los espermatozoides hacia los cuernos uterinos.

sobre las características del tapón seminal que, al no estar bien adherido a las paredes de la vagina por la ausencia de las secreciones de los lóbulos prostáticos dorsales, impide el dorsales afecta la secreción de las proteínas específicas de este lóbulo la cual se refleja similitudes en el epitelio de ambas estructuras. Por lo tanto, la lesión de los lóbulos Williams-Ashman 1961) y funcionales (Humphrey y Mann 1949) para demostrar que hay realizado estudios histoquímicos (Korenchevsky y Dennison 1935), histológicos (Price y la rata, aún a pesar de ser anatómicamente diferentes. Para validar esta idea, se han glándulas coagulantes como los lóbulos dorsales podrían llevar a cabo la misma función en cabo funciones enzimáticas similares a las de la vesícula, lo que sugiere que tanto las que secretan proteínas de 120 y 65 KDa como la proteína DP-I y DP-II las cuales llevan a dorsales y anteriores tienen un perfil proteico semejante al de las glándulas coagulantes ya vesículas seminales (Williams-Ashman y cols. 1972). Se ha descrito que los lóbulos enzima llamada vesícula que cataliza la coagulación de una proteína secretada por las tapón seminal. La glándula coagulante, o próstata anterior, es conocida por secretar una

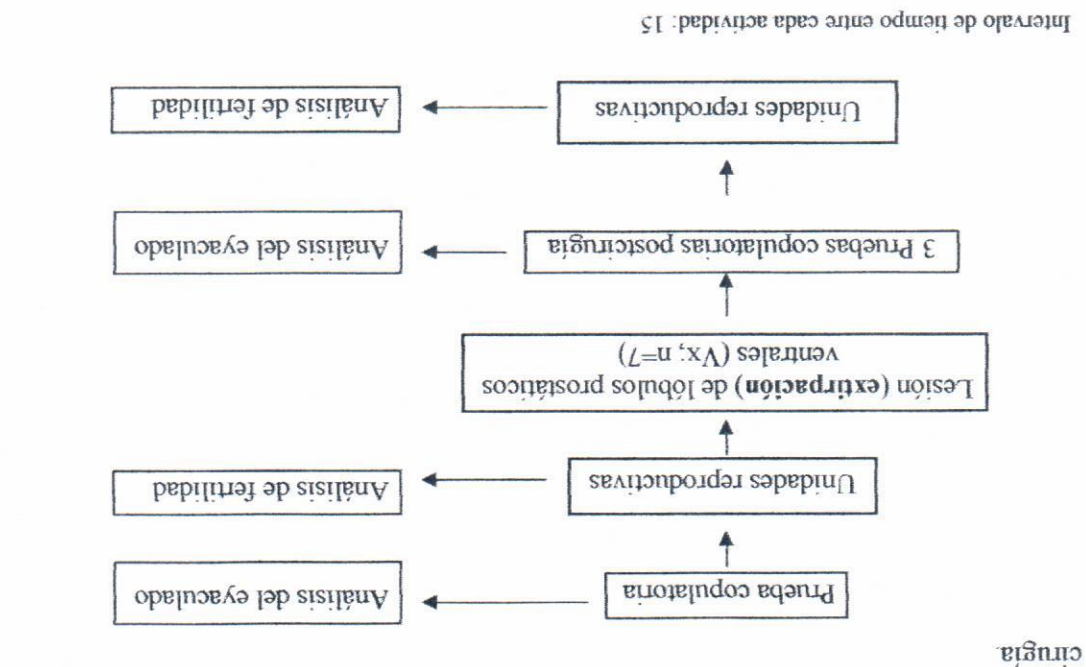
El efecto de la lesión de los lóbulos dorsales se observó sobre las características del

proliferación e inhiben la muerte de las células epiteliales (Gao e Isaacs 2001) evitando así el crecimiento patológico de la glándula (Cuadro-Resumen). Estos resultados confirman que hay diferentes procesos entre y en los lóbulos prostáticos, además de que la organización morfológica varía entre los lóbulos.

La lesión química de los lóbulos ventrales no mostró cambios en los valores de los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen ni del tapón seminal, debido a estos resultados se decidió realizar la ablación de estos lóbulos para verificar el resultado y así eliminar la probabilidad de que los resultados obtenidos durante la lesión hayan sido debidos a algún error durante la administración del agente químico.

No se consideró la ablación de los lóbulos dorsales debido a que se encuentran colocados en un área de difícil acceso por lo que su manipulación causaría daño a estructuras adyacentes.





Los machos expertos se sometieron a 4 pruebas copulatorias como se describió en el experimento I, una antes y tres después de la cirugía, con 15 días de intervalo entre ellas. Se analizó el eyaculado antes de la cirugía y en la primera y última prueba después de la cirugía. Los machos se sometieron a pruebas de fertilidad 15 días antes y 60 después de la cirugía.

**8.2.1 Protocolo experimental**

**8.2 Material y métodos**

1. Determinar la participación de los lóbulos prostáticos ventrales sobre los parámetros macroscópicos y microscópicos del semen y tapón seminal.
2. Determinar la participación de los lóbulos prostáticos ventrales sobre los parámetros de fertilidad de los machos.

**8.1 Objetivos específicos**

**8. EXPERIMENTO II: EXTIRPACIÓN DE LOS LÓBULOS VENTRALES Y SU EFECTO SOBRE EL EYACULADO Y LA FERTILIDAD**

Para los datos obtenidos de la evaluación de los parámetros del semen y tapón seminal se aplicó una prueba de Friedman ya que los datos no mostraron distribución normal. Se estableció un nivel de significancia de 0.05.

### **8.6 Prueba estadística**

Los machos fueron anestesiados con pentobarbital sódico (26 mg/kg; ip). Después de realizar una incisión abdominal, se localizaron los dos lóbulos prostáticos ventrales. A continuación se removió el tejido conectivo, se disecaron, ligaron y extrajeron. Se suturó el tejido muscular, seguido por la piel. Finalizada la cirugía, el macho fue inyectado con penicilina (Bencilpenicilina, 10 000 U/kg; im).

### **8.5 Lesión quirúrgica (extirpación de lóbulos prostáticos ventrales)**

Se formaron unidades reproductivas antes y después de la cirugía, constituidas por 3 hembras vírgenes y 1 macho con extirpación de los lóbulos prostáticos ventrales. Los animales estuvieron alojados en una jaula colectiva de acrílico transparente durante 15 días, considerando tres ciclos estrales. Después, las hembras fueron separadas en jaulas individuales de acrílico transparente hasta el día del parto (Ver anexo D).

### **8.4 Pruebas de fertilidad**

**8.3.2 Parámetros macroscópicos y microscópicos del tapón seminal de la rata**  
Los parámetros evaluados fueron los mismos descritos en el experimento I.

**8.3.1 Parámetros macroscópicos y microscópicos del semen de la rata**  
Los parámetros evaluados fueron los mismos descritos en el experimento I.

El semen y el tapón seminal se obtuvieron de la misma forma como se describió en el experimento I.

### **8.3 Obtención y análisis del semen y tapón seminal de la rata**

## 8.7 Resultados

El análisis estadístico no mostró diferencias significativas al comparar los valores de los parámetros macro y microscópicos del semen antes y después de la cirugía (Tablas 10 y 11).

Tabla 10. Valores de los parámetros macroscópicos del semen en ratas macho antes y después de la extracción de los lóbulos prostáticos ventrales. (Friedman,  $p < 0.05$ ).

Macrosópicos	SEMEN		
	Días antes de cirugía 30 (n=7)	Días después de cirugía 15 (n=7)	45 (n=7)
Muestras blancas (%)	100	100	100
Viscosidad (mm)	2 (2.2±0.1)	2 (2±0)	2 (1.8±0.2)
pH	8 (8.0±0.07)	8 (8±0)	8 (8.1±0.14)
			p < .6065

Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).

Tabla 11. Valores de los parámetros microscópicos del semen en ratas macho antes y después de la extracción de los lóbulos prostáticos ventrales. (Friedman,  $p < 0.05$ ).

Microscópicos	SEMEN		
	Días antes de cirugía 30 (n=7)	Días después de cirugía 15 (n=7)	45 (n=7)
Índice de Movilidad	0.83 (0.8±0.03)	0.7 (0.7±0.03)	0.7 (0.6±0.06)
Concentración (millones/ml)	12 (13.2±0.9)	14.5 (12.9±1.1)	12.5 (12.4±2.0)
Viabilidad (%)	69.5 (69.1±0.7)	69 (69.5±3.3)	67.5 (70.2±3.8)
Morfología (%)	100 (99.7±0.1)	100 (99.7±0.2)	100 (99.8±0.09)
			p < .7788
			p < .3678
			p < .8574
			p < .1044

Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).

Con respecto al tapón seminal, ningún parámetro se modificó después de la remoción de los lóbulos prostáticos ventrales (Tablas 12 y 13).

Tabla 12. Valores de los parámetros macroscópicos del tapón seminal en ratas macho antes y después de la extirpación de los lóbulos prostáticos ventrales. (Friedman,  $p < 0.05$ ).

Macrosópicos	TAPÓN SEMINAL		
	Días antes de cirugía	Días después de cirugía	
Tapones endurecidos (%)	100	100	
Peso (mg)	110 (110.2±8.7)	109 (111.2±3.4)	$p < .9636$
Volumen (mm <sup>3</sup> )	92.02 (88.7±6.4)	100 (91.7±7.4)	$p < .7716$
Tamaño-ancho (mm)	5.2 (5.1±0.1)	5.4 (5.2±0.1)	$p < .8948$
Tamaño-largo (mm)	13 (12.5±0.2)	13 (12.5±0.2)	$p < .7470$

Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).  
Spz = espermatozoides

Tabla 13. Valores de los parámetros microscópicos del tapón seminal en ratas macho antes y después de la extirpación de los lóbulos prostáticos ventrales. (Friedman,  $p < 0.05$ ).

Microscópicos	TAPÓN SEMINAL		
	Días antes de cirugía	Días después de cirugía	
Elementos citológicos			
Cabezas (%)	72.3 (75.4±1.8)	71.42 (78.22±1.7)	$p < .8668$
Flagelos (%)	20.95 (19.9±2.4)	20.75 (17.3±4.6)	$p < .8668$
Spz (%)	4.7 (4.5±1.3)	4.5 (4.3±1.7)	$p < .6178$

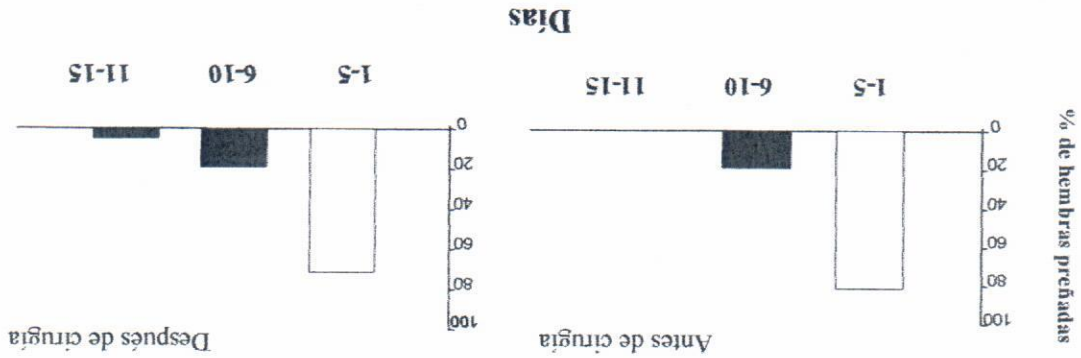
Los datos se expresan como mediana y como (media ± error estándar).  
Spz = espermatozoides

En este experimento se evaluaron los parámetros macroscópicos y microscópicos de semen y tapón seminal, así como los parámetros de fertilidad en ratas macho con ablación de los lóbulos prostáticos ventrales y los resultados mostraron que no hubo modificaciones en los parámetros después de la cirugía.

Estudios previos han mostrado que las secreciones prostáticas en la rata promueven la movilidad y el transporte espermático en los conductos de la hembra (Ventura y Freund 1969) debido a los altos niveles de zinc y prostaglandinas secretadas principalmente por

### 8.8 Discusión

Fig. 17 Porcentaje de hembras preñadas en cada periodo (1-5, 6-10 y 11-15 días) por machos con remoción de los lóbulos prostáticos ventrales antes y después de cirugía.



### Machos con extirpación de los lóbulos prostáticos ventrales (n=7)

Para la fertilidad, los parámetros evaluados no mostraron diferencias antes *versus* después de la cirugía. En la prueba de fertilidad antes de cirugía así como en la realizada después de la cirugía, el 100% de las hembras se preñaron (n=42 hembras). En la Fig. 19 se puede observar que el porcentaje de hembras preñadas durante el primer ciclo estral (1<sup>er</sup>-5<sup>to</sup> día de cohabitación) antes de la cirugía fue del 80% mientras que el porcentaje después de la cirugía fue de 70% de hembras preñadas, aproximadamente. Durante el segundo ciclo estral (6<sup>to</sup>-10<sup>mo</sup> día de cohabitación) el 20% de las hembras se preñaron, tanto antes como después de la cirugía. Para el tercer ciclo estral (11<sup>vo</sup>-15<sup>vo</sup> día de cohabitación) ninguna hembra se preñó en la prueba antes de cirugía, mientras que en la prueba después de la cirugía se preñó el 10% de las hembras, aproximadamente.

Los lóbulos dorsales y laterales (Gunn y Gould 1957). Como en este experimento se extriparon los lóbulos ventrales, no se afectó el aporte de zinc y prostaglandinas para la formación del plasma seminal por parte de la próstata, por lo que la movilidad no se modificó, así tampoco la fertilidad de la rata macho.

Con respecto a los parámetros restantes, se ha descrito que la viscosidad del semen es mantenida por las secreciones de las glándulas bulbouretrales y coagulantes (Tlachi-López 2007) por lo que la ausencia de los lóbulos ventrales no la modifica.

En el caso del pH existen estudios que muestran que el valor del pH seminal es dependiente del volumen de fluido prostático secretado, esto es, a mayor volumen el pH es más ácido (Nikolaos y cols. 1993) aunque en este estudio no se observó ningún cambio en este parámetro debido a la falta de las secreciones de los lóbulos prostáticos por lo que tal vez las secreciones de la próstata ventral no participan en la formación del semen.

La concentración, viabilidad y la morfología espermática son parámetros que dependen tanto de los procesos espermatógenicos y espermiogénicos que se llevan a cabo en los testículos, así como de los procesos de maduración que se llevan a cabo en los epididimos (Austin y Short 1972). Por tanto, la ablación de los lóbulos ventrales no modifica estos parámetros.

En lo que respecta al tapón seminal, se ha descrito que la coagulación de éste depende de la enzima vesicular secretada por las glándulas coagulantes (Camus y Gley 1899, citado en Hart y Greenstein 1968) y de las secreciones de las vesículas seminales ya que aportan el mayor volumen al eyaculado, además de que secretan las proteínas SVS que sirven de sustrato para la enzima vesicular. A pesar de esto, otros estudios han mostrado que las secreciones prostáticas mezcladas con secreciones de vesículas seminales *in vitro* forman un coagulado fuerte (Hart y Greenstein 1968). En este experimento no se observaron diferencias en ninguno de los parámetros del tapón seminal antes y después de la citugía, lo que sugiere que las secreciones de los lóbulos ventrales no participan en la formación del tapón seminal.

Cabe mencionar que en este experimento el 100% de tapones obtenidos fueron endurecidos, además de que para cada eyaculación se encontró tapón en la vagina, es decir, al 100% de las eyaculaciones correspondió el 100% de tapones, lo que contradice a estudios que describen que al 100% de eyaculaciones corresponden 70% de tapones depositados en la vagina.

Para los parámetros de fertilidad, nuestros resultados mostraron que no hubo diferencias en el periodo en que se preñaron las hembras, en el número de hembras preñadas ni en el número de crías al nacimiento en las pruebas antes y después de cirugía, lo que concuerda con resultados obtenidos en otros estudios donde se muestra que la ablación bilateral de los lóbulos ventrales no tiene efecto sobre la fertilidad de la rata macho, lo que se probó formando unidades reproductivas de 1 macho con 2 hembras durante una semana (Queen y cols. 1981). Aunque el tiempo de convivencia y el número de hembras fue menor que en nuestro experimento, los resultados fueron similares. Estos resultados pueden estar relacionados con lo que se ha descrito en otros estudios en los que se ha mencionado que la función principal de los lóbulos ventrales es la conversión de testosterona a dihidrotestosterona más que la formación del eyaculado por lo que la extirpación de éstos no modifica las características del semen ni del tapón seminal.

Los estudios para evaluar la fertilidad del macho después de la extirpación de glándulas accesorias describen que los lóbulos dorsales y laterales de la próstata son esenciales para la fertilidad del macho, lo que se demostró con pruebas de fertilidad donde 1 macho sin lóbulos prostáticos dorsales y laterales y 2 hembras cohabitaron durante una semana. En los resultados ninguna hembra quedó gestante (Queen y cols. 1981) aunque no se explica la razón de la infertilidad del macho, que puede deberse a la falta de movimiento de los espermatozoides ya que se ha descrito que las secreciones de los lóbulos dorsales y laterales son ricas en compuestos que promueven la movilidad espermática. También, como se mostró en este estudio, las secreciones de los lóbulos dorsales son necesarias para que el tapón seminal se adhiera a las paredes de la vagina y permita el transporte de los espermatozoides lo cual puede ser la causa de la infertilidad reportada en machos con extirpación de lóbulos dorsales y laterales. De igual forma, como se ha descrito, el ganglio pélvico mayor se encuentra adosado a los lóbulos laterales de la próstata y su extirpación impediría la erección lo que podría ser la causa de la infertilidad del macho reportada. De forma contraria, se ha descrito que no hay efecto sobre la fertilidad después de la extirpación de los lóbulos dorsales y laterales (Gunn y Gould 1958, citado en Wilson y French 1980), mientras que, en ratones con extirpación de los lóbulos ventrales y dorsales y cohabitando con una hembra durante 11-14 días se observa una disminución en el porcentaje de hembras preñadas (Pang y cols. 1979).

## 9. CONCLUSIONES

Con las herramientas y la metodología utilizadas en este estudio, podemos concluir que los lóbulos ventrales no participan en la formación del tapón seminal ni sobre las características del semen.

Los lóbulos dorsales son fundamentales para la adhesión del tapón seminal a la vagina por lo que la lesión evitó la adhesión del tapón a las paredes de la vagina ocasionando que el transporte espermático fuera deficiente, lo que se reflejó en una concentración espermática reducida de  $13.5 \pm 1.02 \times 10^6/\text{ml}$  en los machos antes de la lesión a  $7.3 \pm 0.7 \times 10^6/\text{ml}$  de los machos a los 20 días después de la lesión. Además de participar en la adhesión del tapón seminal, los lóbulos dorsales participan en la movilidad de los espermatozoides ya que se observó una disminución en el porcentaje de espermatozoides con movilidad progresiva rápida de  $52.6 \pm 2.5$  a  $21.5 \pm 8.3\%$ , por lo que podemos concluir que los lóbulos dorsales son necesarios para la fertilidad del macho. Por lo tanto, la contribución de los lóbulos prostáticos ventrales y dorsales sobre las características del eyaculado es diferente.

La adhesión del tapón seminal a las paredes de la vagina es muy importante ya que sin ésta no hay transporte espermático y, por ende, no hay fertilidad, por lo que se propone a la adhesión como otro parámetro en la evaluación del eyaculado en la rata.

Con respecto al daño causado con el agente químico esclerosante tetradecil sulfato de sodio, se puede concluir que los lóbulos dorsales son más susceptibles al tratamiento químico debido a su estructura ya que poseen mayor cantidad de estroma rodeando los adenómeros y que la lesión química de la próstata causa un efecto inmediato (5 días) y de corta duración (20 días).



## 10. REFERENCIAS

- Allen WE. 2001. Fertilidad y Obstetricia equina. Editorial ACRIBIA. S.A. México. pp. 210.
- Ali SZ, Johar KS, Datta IC y Quady MA. 1978. Some biochemical constituents of buffalo spermatozoa & association of DNA with dimensional characteristics of sperm. *Indian J Exp Biol*; 16:242-4.
- Aughey E. 1969. Histology and histochemistry of the male accessory glands of the red deer, *Cervus elaphus* L. *J Reprod Fertil*; 18:399-407.
- Austin D y Dewsbury DA. 1986. Reproductive capacity of male laboratory rats. *Physiol Behav*; 37:627-632.
- Austin CR y Short RV. 1982. Células Germinales y Fertilización. Procesos de reproducción en los Mamíferos. La Prensa Médica Mexicana, S. A. Ediciones Científicas. Vol. I.
- Banerjee PP, Banerjee S, Tilly KI, Tilly JL, Brown TR y Zirkin BR. 1995. Lobe-specific apoptotic cell death in rat prostate after androgen ablation by castration. *Endocrinology*; 136:4368-4376.
- Benson GS. 1988. Male sexual function: erection, emission and ejaculation. En: The Physiology of Reproduction. Knobil E y Nelly JD (eds). Editorial Raven Press. New York. pp. 1063-1175.
- Blandau RJ. 1945. On the factors involved in sperm transport through the cervix uteri of the albino rat. *Am J Anat*; 77:253-272.
- Carballada R y Esponda P. 1992. Role of the fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats. *J Reprod Fertil*; 95:639-648.
- Carballada R y Esponda P. 1993. Structure of the vaginal plugs generated by normal rats and by rats with partially removed SV's. *J Exp Zool*; 265:61-68.
- Chatdarong K, Pongolowhapan S, Manlee-In S y Pongphet K. 2006. The use of propofol for electroejaculation in domestic cats. *Theriology*; 66:1615-1617.
- Chow PH, Chan CW y Cheng YL. 1993. Contents of fructose, citric acid, acid phosphatase, proteins and electrolytes in secretions of the accessory sex glands of the male golden hamster. *Int J Androl*; 16:41-5.
- Chow PH, Pang SF, Ng KW y Wong TM. 1986. Fertility, fecundity sex ratio and the accessory sex glands in the male golden hamsters. *Int J Androl*; 9:312-320.

Dall WG, Trujillo D, Rosa D de la y Walton G. 1989. Autonomic innervation of reproductive organs; analysis of the neurons whose axons project in the main penile nerve in the pelvic plexus of the rat. *Anat Rec*; 224:94-101.

Eckstein P y Zuckerman S. 1956. Morphology of the reproductive tract. En: Parkes AS, ed. Marshall's Physiology of Reproduction, 3<sup>ra</sup> ed. Vol. 1, Londres: Longmans, pp. 43-155.

Elwishy AB, Mobarak AM y Fouad SM. 1972. The accessory genital organs of the one-humped male camel (*Camelus dromedarius*). *Anat Anz*; 131:1-12.

Fischman ML, Suhevic J, Rivoita MA y Cissale HO. 2003. Collection of wild boar semen by electroejaculation. *Vel Rec*; 153:365-366.

Frank J, Confino E, Friberg J, Dudkiewicz AB y Gleicher N. 1986. Effect of ejaculation frequency on sperm quality. *Arch Androl*; 16:203-207.

Ganong WF. 1992. *Fisiología Médica*. Editorial El Manual Moderno, S. A. de C. V. México, D. F.

Gao J, Isaacs JT. 2001. Mixed lineage kinase (MLK) family members are not involved in androgen regulation of prostatic proliferation or apoptosis. *Prostate*; 48:67-70.

Goodman MH. 1974. Reproduction. En: *Fisiología Médica*. Vernon MB (ed). Vol II. Mosey Company. Saint Louis, Mo. pp. 1646-1672.

Goyal HO, Braden TD, Mansour M, Williams CS, Kamaleidin A y Srivastava KK. 2001. Diethylbestrol-treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm motility parameters but without alterations in sperm production and sperm morphology. *Biol Reprod*; 64:927-934.

Gunn SA y Gould TC. 1957. A correlative anatomical and functional study of the dorsolateral prostate of the rat. *Anat Rec*; 128:41-53.

Guyton CA. 1987. *Fisiología Humana*. 6<sup>ta</sup> edición. Ed. Interamericana S. A. de C. V. México, D. F.

Hart RG y Greenstein JS. 1968. A newly discovered role for Cowper's gland secretion in rodent semen coagulation. *J Reprod Fertil*; 17:87-94.

Hayashi N, Sugimura Y, Kawamura J, Donjacour AA y Cunha G. 1991. Morphological and functional heterogeneity in the rat prostatic gland. *Biol. Reprod*; 45:308-321.

Hebel R y Stromberg MW. 1986. *Anatomy and Embryology of the Laboratory Rat*. Editorial BioMed Verlag. Alemania.

Howarth B. Jr. 1978. Oxidation of [U-14C] palmitic acid by cock spermatozoa. *Poult Sci*; 57:1751-1754.

Hummel KP, Richardson FL y Fekete E. 1966. Anatomy. En: Biology of the laboratory mouse. Gree (ed). Editorial McGrawHill. New York pp. 247-307.

Humphrey GF, Mann T. 1949. Studies on the metabolism of semen. 5. Citric acid in semen. *J Biochem*; 44:97-105.

Jesik CJ, Holland JM y Lee C. 1982. An anatomic and histologic study of the rat prostate. *Prostate*; 3:81-97.

Kepper M y Keast J. 1995. Immunohistochemical properties and spinal connections of pelvis autonomic neurons that innervate the rat prostate gland. *Cell tis*; 281:533-542.

Kjellesund KM, Halgunset J, Fjosne HE y Sunde A. 1988. Light microscope morphometric analysis of castration effects in the different lobes of the rat prostate. *Prostate*; 13:221-232.

Korenchevsky V y Dennison M. 1935. The assay of crystalline male sexual hormone (androstosterone). *J Biochem*; 29:1720-31.

Larsson K. 1956. Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. Almqvist & Wiksell. Stockholm. pp. 14-35.

Lawson RL y Sorensen AM Jr. 1964. Ablation of the coagulating gland and subsequent breeding in the albino rat. *J. Reprod. Fertil.* 8: 415-417.

Lea OA, Petrusz P y French FS. 1979. Prostatein. A major secretory protein of the rat ventral prostate. *J Biol Chem*; 254:6196-202.

Lee C, Sintich SM, Mathews EP, Shah AH, Kundu SD, Perry KT, Cho JS, Lho KY, Cronauer MV, Janulis L, Sensibar JA. 1999. Transforming growth factor-beta in benign and malignant prostate. *Prostate*; 39: 285-90.

Lucio RA, Flores-Rojas G y Velazquez-Moctezuma J. 2003. La coagulante: Una glándula sexual accesoría y la fertilidad masculina. En: Fisiología, Ecología y Comportamiento: Una propuesta multidisciplinaria. Martínez-Gómez M, Cruz Y, Hudson R, Lucio RA (eds). UAT-UNAM. México. pp. 25-33.

Lucio RA, Manzo J, Martínez-Gómez M, Sachs BD y Pacheco P. 1994. Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behaviour. *Physiol Behav*; 55:241-246.

Lucio RA y Tlachi-López JL. 2008. Análisis de la cópula y el eyaculado de la rata albina (*Rattus norvegicus*). Manual de Laboratorio. Universidad Autónoma de Tlaxcala. CONACYT. Editorial Góngora. México.

Lucio RA y Zempoalteca R. 1998. Musculatura estriada y fisiología reproductiva masculina. En: Martínez-Gómez M, Velazquez-Moctezuma J, editores. Bases neurobiológicas y ecológicas de la conducta. Tlaxcala. UAT-UNAM-UV-UNAM; 311-27.

- Luke MC y Coffey DS. 1994. The male sex accessory tissues. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E y Nelly JD (eds). Editorial Raven Press. New York. Vol 2. pp. 1063-1175.
- Mann T. 1964. The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Methuen: London.
- Marmar JL, Katz S, Prais DE y DeBenedictis. 1975. Semen zinc levels in infertiles and postvasectomy patients and patients with prostatitis. *Fertil Steril*; 26:1057-1063.
- Martinez A. 2003. Caracterización anatómica y funcional de la uretra y de su esfínter externo de la rata macho. Tesis de Doctorado en Neuroetología. Universidad Veracruzana.
- Mathews M y Adler NT. 1977. Facilitative and inhibitory influences of reproductive behavior on sperm transport in rats. *J Comp Physiol Psychol*; 91:727-741.
- Mathews M Jr y Adler NT. 1978. Systematic interrelationship of mating, vaginal plug position and sperm transport in the rat. *Physiol Behav*; 20:303-309.
- McClintock MK y Adler NT. 1978. The role of the female during copulation in wild and domestic Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Behavior*; 67:67-96.
- McClintock MK, Anisko JJ y Adler NT. 1982. Group mating among Norway rats II. The social dynamics of copulation: competition, cooperation, and mate choice. *Anim Behav*; 30:410-425.
- McVary KT, Razzag A, Lee C, Venegas MF, Rademaker A, McKenna KE. 1994. Growth of the rat prostate gland is facilitated by the autonomic nervous system. *Biol. Reprod*; 51:99-107.
- Meisel RL y Sachs BD. 1994. The physiology of male sexual behaviour. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E y Neill JD (eds). Editorial Raven press. New York. Vol 2. pp. 3-105.
- Mercier O, Perrault J y Stadler J. 1987. A method for the routine observation of sexual behaviour in rats. *Lab Anim*; 21: 125-30.
- Mortimer ST. 1997. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. *Hum Reprod Update*; 3:403-39.
- Nikolaos V, Sofikitis M y Ikno M. 1993. Endocrinological, biophysical, and biochemical parameters of semen collected via masturbation versus sexual intercourse. *J Androl*; 14:366-373.
- Normington K y Russell DW. 1992. Tissue distribution and kinetic characteristics of rat steroid 5 $\alpha$ -reductase isozymes. *J Biol Chem*; 19548-19554.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2000. Manual de laboratorio para el análisis del semen y la interacción del espermatozoide con el moco cervical. Cambridge University Press.

Pang SF, Chow PH y Wong TM. 1979. The role of the seminal vesicle, coagulating gland and prostate glands on the fertility and fecundity of mice. *J Reprod Fertil*; 56:129-132.

Pinelli P, Trivulzio S, Colombo R, Cocchi D, Faravelli R, Caviezel F, Galmozzi G y Cavallano R. 1987. Antiprostatic effect of cimetidine in rats. *Agri Actis*; 22:197-201.

Paredes PS. ¿Qué es la próstata? <http://www.visionveterinaria.com/articulos/69.htm>. 2005.

Pound N y Gage MJ. 2004. Prudent sperm allocation in Norway rats, *Rattus norvegicus*: a mammalian model of adaptive ejaculate adjustment. *Anim Behav*; 68:819-823.

Price D. 1936. Normal development of the prostate and seminal vesicles of the rat with a study of experimental postnatal modifications. *Am J Anat*; 60:79-127.

Price D y Williams-Ashman HG. 1961. The accessory reproductive glands of mammals. En: Sex and internal secretions, 2<sup>da</sup> Ed. W. C. Young, Williams y Wilkins Co., Baltimore, pp. 366-448.

Queen K, Dhabuwala CB y Pierrepont CG. 1981. The effect of the removal of the various accessory sex glands on the fertility of male rats. *J Reprod Fertil*; 62:423-426.

Rodger JC y Hughes RL. 1973. Studies of the accessory glands of male marsupials. *Aust J Zool*; 21:303-320.

Rui H, Haug E, Mevag B, Thomassen Y y Purvis K. 1985. Short-term effects of prolactin on prostatic function in rats with lisuride-induced hypoprolactinaemia. *J Reprod Fertil*; 75:421-432.

Rui H, Thomassen Y, Oldereid NB y Purvis K. 1986. Accessory sex gland function in normal young (20-25 years) and middle-aged (50-55 years) men. *J Androl*; 7:93-9.

Setchell BP. 1975. Reproduction in male marsupials. En: Stonehouse B, Gilmore D, eds. The Biology of Marsupials, Londres: Macmillan, pp. 411-457.

Setchell BP, Maddocks S y Brooks DE. 1994. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. En: The Physiology of Reproduction. Knobil E y Nelly JD (eds). Editorial Raven Press. New York. Vol 2. pp. 1063-1175.

Short RV, Mann T y Hay MF. 1967. Male reproductive organs of the African elephant, *Loxodonta africana*. *J Reprod Fertil*; 13:517-36.

Syntin P y Robaire B. 2001. Sperm structural and motility changes during aging in the brown Norway rat. *J Androl*; 22:235-244.

- Tissell LE y Salander H. 1975. The lobes of the human prostate. *Scand J Urol Nephrol*; 9:185.
- Tlachi-López JL. 2007. Efecto de la extracción de las glándulas bulbouretrales y coagulantes sobre las características del eyaculado de la rata. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Ventura WP y Freund M. 1969. An in-vitro study of the effects of rat semen and accessory gland secretions on female reproductive tract of rat. *Fed Proc*; 28:637.
- Wang JM, McKenna KE, McVary KT y Lee C. 1991. Requirement of innervation for maintenance of structural and functional integrity in the rat prostate. *Biol Reprod*; 44:1171-1176.
- Williams-Ashman HG y Canelakakis ZN. 1979. Polyamines in mammalian biology and medicine. *Perspect Biol Med*; 22:421-453.
- Williams-Ashman HG, Notides AC, Pabalan SS y Lorand L. 1972. Transamidase reactions involved in the enzymic coagulation of semen: Isolation of -glutamyl-lysine dipeptide from clotted secretion protoma of guinea pig seminal Vehicle. *Proc Natl Acad Sci EUA*; 69:2322-5.
- Wilson EM y French FS. 1980. Biochemical homology between rat dorsal prostate and coagulating gland. Purification of a major androgen-induced protein. *J Biol Chem*; 255:10946-10953.
- Zempoalteca R, Martínez-Gómez M, Hudson R, Cruz Y y Lucio RA. 2002. An anatomical and electrophysiological study of the genitofemoral nerve and some of its targets in the male rat. *J Anat*; 201:493-505.
- Zhang YF y Liang CZ. 2007. Progress in the studies of semen delayed liquefaction from chronic prostatitis. *Zhonghua Nan Ke Xue*; 13:53-6.

A. Preparación del tetradecil sulfato de sodio para producir la lesión química

Para preparar 5 ml de solución de tetradecil sulfato de sodio al 2% se pesaron 0.1578 g de la sal en una balanza analítica. En un matraz se depositaron 5 ml de agua destilada y la sal de tetradecil sulfato de sodio previamente pesada. El matraz se colocó en un sonicador durante 5 minutos y posteriormente en una plancha para agitarse a 35°C durante 5 minutos en los cuales la sal se disolvió dándole un aspecto cristalino a la solución. Cabe mencionar que la solución se preparó el mismo día en que se inyectó en los lóbulos prostáticos.

Con respecto al tetradecil sulfato de sodio, es un agente antiótico superficicte-activo utilizado por sus propiedades humectantes en la industria y utilizado en la medicina como agente irritante y en escleroterapia.

La escleroterapia originalmente se utilizó en el tratamiento de várices y consiste en inyectar una solución esclerosante dentro de las venas con la ayuda de una micro-aguja para producir trombosis localizada y reduciendo el diámetro de las venas por la irritación de las paredes venosas y eventualmente fibrosis y obliteración de los vasos por lo que las venas se blanquean y desaparecen gradualmente.

La terapia consiste en la inyección de una pequeña cantidad agente esclerosante (2cc) con una micro-aguja directamente en el lumen de la vena varicosa. La solución irrita el recubrimiento interno de la vena provocando que se inflame y se adhieran sus paredes y la sangre en su interior se coagule. La aplicación del esclerosante es sólo para venas superficiales por lo que el flujo sanguíneo continúa por el sistema venoso profundo por lo que el tratamiento no pone en riesgo la vascularidad de la pierna.

Inmediatamente después de retirar la aguja se ejerce presión sobre el área tratada. La corrección definitiva de las zonas tratadas no siempre se logra en el primer tratamiento; en la mayoría de los casos entre el 50 y el 70% de los vasos tratados desaparecerán. Cada sesión dura entre 15 y 30 minutos y el intervalo entre sesiones es de 1 semana y puede, en determinados casos, evitar una cirugía invasiva.

Actualmente es utilizado también en el tratamiento de hemorroides, várices esofágicas y gástricas y hemorragias producidas por úlceras pépticas.

## II. ANEXOS

### Anexo A

Para las varices esofágicas se administra el esclerosante de forma paravariceal e intravariceal una vez por semana de 2-3 semanas hasta 6-8 meses. De igual forma, se ha utilizado la escleroterapia para tratar los hemangiomas de tejidos blandos en la cavidad bucal para que el tejido forme fibrosis y así eliminar la lesión.



## Anexo B

B. Descripción de la técnica histológica (hematoxilina- eosina) para analizar el daño de la lesión química

### Preparación del fijador (450 ml)

Solución acuosa saturada de ácido pícico al 1.2 por 100 p/v. 75 ml

Formol concentrado 25 ml

Acido acético glacial 5 ml

Se colocó la solución de ácido pícico en un vaso de precipitado, a continuación se depositó el formol y el ácido acético, se agitó aproximadamente durante 10 minutos en un agitador de laboratorio (Corning PC320).

### Fijación de la glándula

Los machos fueron sacrificados mediante dislocación cervical, inmediatamente después se realizó una incisión en la línea media cortando piel y músculo. Con una pipeta de bulbo se rocío fijador dentro del área abdominal y se procedió a extraer la glándula prostática con las vesículas seminales, glándulas coagulantes y vejiga. Una vez disecada, se colocó en una caja petri y se rocío con el fijador. Se ligaron las vesículas seminales con hilo azul (derecha) y rojo (izquierda) y se realizó un corte sagital. Las dos porciones resultantes fueron colocadas en un contenedor de 100 ml de plástico con 70 ml de fijador Bouin-Duboscq. Las muestras permanecieron 18 horas en el fijador, posteriormente se les realizaron baños de alcohol 70% tres veces al día (10, 16 y 22 hrs respectivamente). Cumplida una semana de la fijación, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de histología de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) donde fueron procesadas para el análisis histológico.

### Procedimiento para la tinción (Hematoxilina-Eosina)

Se realizaron entre 150-200 cortes de parafina a 7 micras con un microtomo de parafina.

Manera de hacerse

- Solucion de eosina.
- Eosina Y (yellow) amarillenta. 5 gr.
- Dicromato de Potasio. 2.5 gr.
- Solucion saturada de Acido Picrico. 50 c.c.
- Alcohol absoluto. 10 c.c.
- Agua destilada. 400 c.c.

1. Disolver la hematoxilina en alcohol absoluto, calentarlo ligeramente en botella cerrada.
2. Disolver el alumbre de Potasio en agua fria.
3. Mezclar ambas soluciones y ponerlas a hervir inmediatamente; cuando empieza a hervir se agrega el óxido rojo de mercurio poco a poco, evitando que haga mucha espuma y se tire; se le agrega el ácido acético y se deja reposar un mes.

Manera de hacerse.

- Para Hematoxilina 100 c.c.
- Hematoxilina 0.5
- Alumbre de Potasio. 10
- Oxido rojo de Hg. 2.5
- Alcohol absoluto. 5
- Agua destilada. 100
- Acido Acético 4
- Para Hematoxilina 500 c.c.
- Hematoxilina 2.5
- Alumbre de Potasio. 50
- Oxido rojo de Hg. 1.25
- Alcohol absoluto. 25
- Agua destilada. 500
- Acido Acético 20
- Para Hematoxilina 1000 c.c.
- Hematoxilina 5 gr.
- Alumbre de Potasio. 100 gr.
- Oxido rojo de Hg. 2.5 gr.
- Alcohol absoluto. 50 c.c.
- Agua destilada. 1000 c.c.
- Acido Acético 40 c.c.

**Hematoxilina de Harris.**

**Reactivos:**

Núcleos se tiñen de azul.  
Citoplasma se tinte de rosa.

**Resultados:**

1. Desparafinado.
- Estufa durante 30 min. a 60°.
- Sumergimos en xilol durante 10 o 15 min.
2. Hidratación.
- Alcohol absoluto-5min, alcohol 96°-5min, alcohol 70°-5min
3. Lavar en H<sub>2</sub>O destilada.
4. Hematoxilina-5 min
5. Lavar en H<sub>2</sub>O-2 min
6. Eosina-alcohólica-1 min
7. Deshidratar.
- Alcohol de 70°, alcohol de 96°, alcohol absoluto, xilol.
8. Montaje

**Técnica:**

1. Se disuelve la Fosina en agua tibia y se le agrega el Dicromato de Potasio, se agita hasta que se disuelve perfectamente.
  2. Agregar la solución saturada de Acido Píctico y el alcohol absoluto.
- Alcohol ácido**  
Para  
Alcohol de 96%  
Agua destilada.  
Acido Clorhídrico.
- 300 c.c.  
210 c.c.  
90 c.c.  
3 c.c.

C. Evaluación de los parámetros macroscópicos y microscópicos del eyaculado

Parámetros macroscópicos del semen

1. **Color del semen.**- Es la tonalidad del fluido seminal. Se evaluó por inspección directa inmediatamente después de haber obtenido el semen de los cuernos uterinos. El semen es de color blanco, la ausencia de color indicaría que no hay fluidos seminales ni espermatozoides en la muestra colectada. Se determinó el número de muestras de color blanco con relación al número de eyaculaciones y se expresó en porcentaje.

2. **Viscosidad del semen (mm).**- Consistencia del fluido seminal. Se determinó al medir la longitud del filamento que se forma al liberar una muestra de semen. Para ello, con una pipeta de transferencia (desechable y graduada, de 14.2 centímetros de longitud y 2 milímetros de diámetro interno) se toman 0.125 mililitros de semen. La punta de la pipeta se coloca sobre el borde de microcentrífuga, se liberan 0.60 mililitros retirando la pipeta lentamente del borde del tubo para observar a formación o no de un filamento de semen. La longitud del filamento de semen se mide con un vernier digital (Mitutoyo MTC700-113), y se expresa en milímetros. A mayor viscosidad, mayor longitud del filamento de semen

3. **pH del semen.**- Acidez o alcalinidad del fluido seminal. Se valoró colocando una muestra de semen sobre el papel indicador de pH para sustancias viscosas, con un rango de 5.5-9.0. Para ello, con una micropipeta se tomaron 10 microlitros del semen colectado. El contenido se liberó sobre el papel indicador. Inmediatamente después se comparó el color que adquiere el papel indicador con los colores estándares impresos en la caja.

## Parámetros microscópicos del semen

1. **Concentración ( $10^6/ml$ )**. Es la estimación del número de espermatozoides contenidos en el semen y se expresa en relación a 1 mlilitro. Se determinó utilizando una cámara de recuento celular, como la de Neubauer. Para evaluar la concentración se determinó la densidad espermática del semen. Estudios realizados en el laboratorio indicaron que la densidad espermática del semen de rata adulta e intacta presenta un rango cuyo valor mínimo es de 63 y máximo de 120 espermatozoides contados en tres campos seleccionados al azar. En promedio se ha estimado en el laboratorio que la densidad espermática es de 93.33 espermatozoides.

La dilución espermática se realizó utilizando una pipeta de dilución Sali para eritrocitos y una manguera de succión de 40-30 centímetros de largo, 1 milímetro de espesor en su pared y 3 milímetros de diámetro en su luz. La pipeta de dilución tiene un tubo capilar en su interior que se dilata formando un bulbo que separa los dos extremos de la pipeta. El extremo largo está dividido en diez partes iguales y tiene dos señales "0.5" y "1", el extremo corto tiene la señal "101".

La manguera de succión se conectó al extremo corto de la pipeta de dilución. El extremo largo se introdujo en la muestra de semen y con la manguera se succionó semen hasta la señal "0.5" de la pipeta, asegurándose que el capilar del interior tuviera una columna continua de semen, sin burbujas de aire. La punta de la pipeta de dilución se secó con papel filtro e inmediatamente se succionó el líquido de dilución (formaldehído al 10%) hasta la señal "101", el llenado fue exacto. La manguera se retiró colocando la pipeta horizontalmente y tapando su extremo libre con el dedo índice y en el otro extremo se colocó el dedo pulgar. La pipeta se agitó manualmente mediante movimientos horizontales y vigorosos durante 2-4 minutos hasta que la muestra fue homogénea. Un flotador de plástico dentro del tubo de la pipeta facilitó la mezcla. De esta manera, el semen del bulbo se diluyó 1:200 y por ello, el contenido del capilar del extremo largo de la pipeta se desechó (aproximadamente 5 gotas). El semen así diluido se vertió en un tubo de microcentrifuga. De esta dilución de semen se tomó la muestra para determinar la concentración espermática utilizando la cámara de Neubauer.

La cámara de Neubauer tiene dos pares de canales laterales, un par derecho y otro izquierdo. Cuenta también con dos ramuras centrales, una superior y otra inferior que

Para determinar el movimiento espermático se trazó una "línea horizontal imaginaria" en el campo de observación. De este modo, los espermatozoides que tardaron menos de 3 segundos en atravesar, vertical o diagonalmente la línea imaginaria fueron

portabojetos fue nuevo y no gelatinizado para evitar la adherencia de los espermatozoides coloco un cubreobjetos, se analizó en un microscopio óptico utilizando el objetivo 20x. El del semen colectado. El contenido se liberó sobre un portabojetos y sobre la muestra se movimiento de cada uno de ellos. Para esto, con una micropipeta se tomaron 10 microlitros evaluando 100 espermatozoides con un contador digital, distinguiendo el tipo de **2. Movilidad (%)**, Movimiento individual de los espermatozoides. Se determinó

fila, luego los de la segunda fila, hasta completar las cuatro filas. izquierda a derecha contando primero las cabezas de los espermatozoides de la primera se realizó en ambas cuadrículas y el resultado se multiplica por 10°. El conteo se realizó de el número de cabezas de espermatozoides de cada subcuadro y se promediaron. El conteo límites (superior e izquierdo) de cada subcuadro, formando una "L" invertida. Se sumaron cuadros pequeños, así como las cabezas que estuvieron sobre la línea roja que forma los consideraron las cabezas de los espermatozoides que se encontraron dentro de los 16 observándolos con el objetivo 20x. Cada subcuadro contiene 16 cuadros más pequeños. Se solamente los espermatozoides que estuvieron en los subcuadros E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, y E<sub>5</sub> que los espermatozoides sedimentaran. Después se realizó el conteo espermático contando semen diluido que difundieron por capilaridad. Se dejó transcurrir entre 8-10 minutos para cuadrículas. En la ranura central cercana a cada cuadrícula se depositaron 10 microlitros de A la cámara de Neubauer se le colocó un cubreobjetos con cuidado de cubrir ambas

reloj. De esta manera el cuadro E contiene los subcuadros E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, y E<sub>5</sub>. números arábigos iniciando en el cuadro superior izquierdo y siguiendo las manecillas del cuadro E tiene 25 subcuadros, sólo los de las esquinas y el central se identifican con inferiores son C y D respectivamente, el cuadro central se identifica con la letra E. El siguiendo las manecillas del reloj. Los cuadros superiores se llaman A y B, los cuadros cuadro central se identifican con letras iniciando en el cuadro superior izquierdo y el separadas entre sí. Cada cuadrícula consta de nueve cuadros, sólo los de las esquinas y el desembocan cada una en una cuadrícula. Ambas cuadrículas son centrales y están

**4. Morfología (%).** Es la estimación del número de espermatozoides que presentan morfología normal (cabeza en forma de hoz y flagelo largo que termina en punta). Se determinó evaluando espermatozoides que se reconocen como normales o anormales. Se contaron 100 espermatozoides al azar en diferentes campos con ayuda de un contador de células y el resultado se expresó en porcentaje. La muestra se observó con el objetivo 20x.

**3. Viabilidad (%).** Estimación del número de espermatozoides vivos contenidos en la muestra de semen. Se determinó contando espermatozoides que se identifican como vivos o muertos. Se contaron 100 espermatozoides al azar en diferentes campos y el resultado se expresó en porcentaje, se utilizó un contador de células digital. La viabilidad espermática se analizó en una muestra de espermatozoides teñidos con un colorante. Para preparar la muestra se depositaron 10 microlitros de semen fresco en un portaobjetos y sobre ellos se agregaron 10 microlitros de colorante (eosina-nigrosina). El semen y el colorante se mezclaron con un palillo de madera hasta homogenizar la muestra. Se colocó un cubreobjetos y se dejaron transcurrir cuando menos 5 minutos antes de realizar el análisis observando la muestra con el objetivo 100x (se adicionó sobre el cubreobjetos una gota de aceite de inmersión).

considerados como espermatozoides con movilidad progresiva rápida, los que tardaron más de 4 segundos se consideraron espermatozoides con movilidad progresiva lenta, aquellos que se movieron sin avanzar, es decir, sin desplazarse fueron considerados con movilidad *in situ* y los espermatozoides sin movimiento se consideraron inmóviles. Los espermatozoides que se movieron paralelamente a la línea imaginaria no fueron considerados para la evaluación. La evaluación se realizó de izquierda a derecha del primer campo, terminada la evaluación se cambió a un segundo campo hasta completar 100 espermatozoides. Se realizó una regla de tres para calcular el porcentaje de espermatozoides con cada tipo de movimiento. Una vez evaluado el movimiento de los 100 espermatozoides se calculó el índice de movilidad. Para ello, se sumó el número de espermatozoides con movilidad progresiva rápida más el número de espermatozoides con movilidad progresiva lenta y se dividió entre 100, el resultado tuvo un rango de 0-1.

**1. Elementos citológicos.** Son las cabezas, flagelos y espermatozoides contenidos en el tapón seminal. Para ello, con pinzas de disección se sujetó el tapón seminal de un extremo, con un bisturí se realizaron tres cortes transversales sobre la región rostral, medial y caudal del tapón (experimento I), para el experimento II se realizó un solo corte sobre la línea media ecuatorial separando al tapón en dos partes iguales. La cara interna del tapón seminal de una de las regiones cortadas se deslizó horizontalmente de izquierda a derecha sobre un portaobjetos realizando un froto. El deslizamiento abarcó el largo del portaobjetos y se repitió cuatro veces evitando traslapar los barridos pero abarcando el ancho del portaobjetos. Se observó al microscopio con el objetivo 20x para cuantificar los elementos citológicos.

Los parámetros microscópicos del tapón seminal se refieren a los elementos citológicos presentes en el.

#### Parámetros microscópicos del tapón seminal

4. **Tamaño del tapón seminal (mm).** Largo y ancho del tapón. Se evaluó utilizando un vernier digital. El tamaño se expresó en milímetros.
3. **Volumen (mm<sup>3</sup>).** Es la medida del espacio que ocupa el tapón seminal y se expresó en milímetros cúbicos. Se determinó utilizando la siguiente fórmula:  $V = (\text{radio})^2 (\text{largo del tapón}) (\pi) / 3$ .
2. **Peso del tapón seminal (mg).** Masa del tapón seminal. Fue determinado utilizando una balanza analítica (Mettler AE50).

1. **Consistencia del tapón seminal.** Solidez del tapón seminal. Se determinó al presionarlo con los dedos pulgar e índice, verificando que no cambiara su firmeza. La evaluación se realizó inmediatamente después de su obtención. La consistencia de un tapón normal es endurecida.

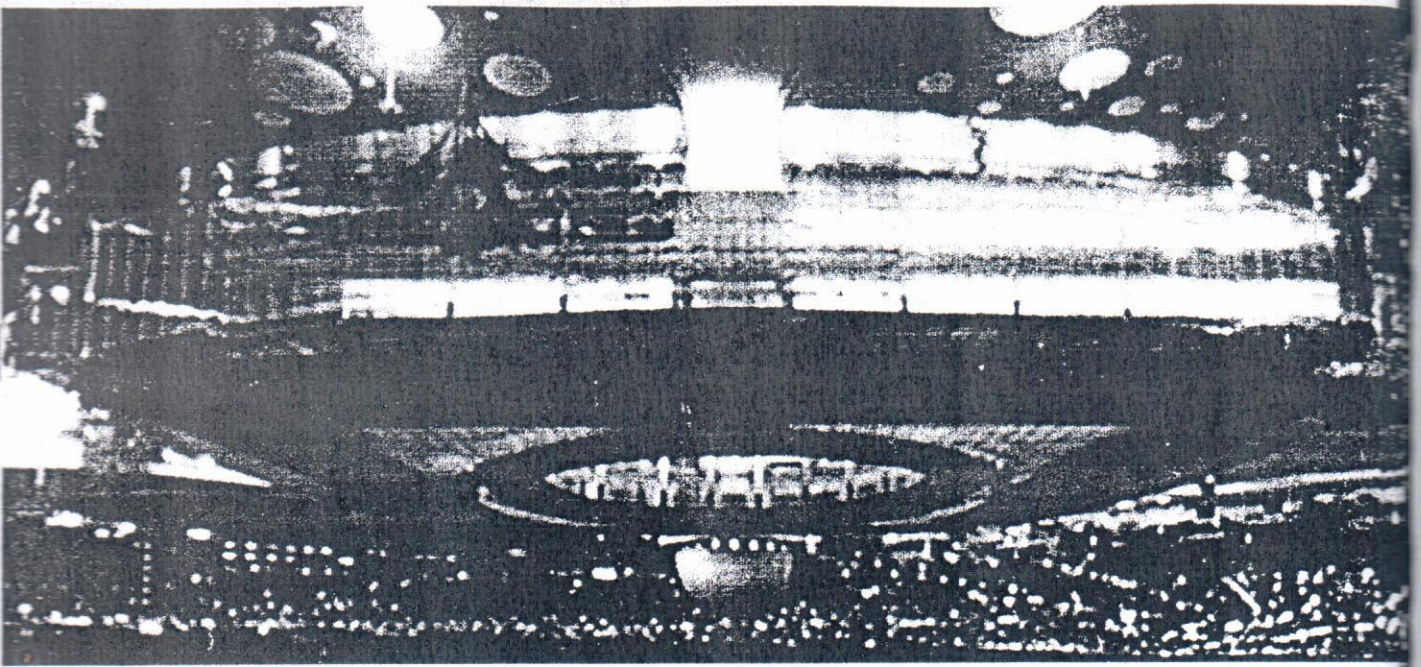
#### Parámetros macroscópicos del tapón seminal



**D. Parámetros de fertilidad**

- **Día de preñez:** Se determinó al registrar el día del parto y contando 21 días de manera regresiva.
- **Número de hembras gestantes:** Se determinó cuantificando el número de hembras gestantes por unidad reproductiva.
- **Número de crías al nacimiento:** Se determinó cuantificando la cantidad de crías que nacieron vivas o muertas.
- **Potencial fértil:** Se calculó con la siguiente fórmula: número de hembras preñadas/número de hembras preñadas + número de hembras no preñadas. El valor osciló entre 0 y 1.

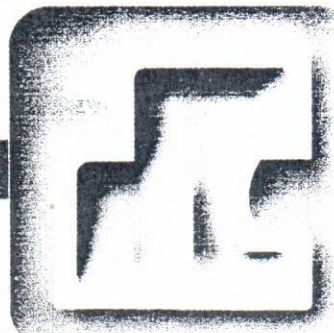
A. Congresos Nacionales



Ciencias Fisiológicas

Congreso Nacional

QUERETARO  
Septiembre 4 al 8 2006



ECTO DE LA EXTIRPACIÓN DE GLÁNDULAS SEXUALES ACCESORIAS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN Y TAPON SEMINAL DE  
LA RATA

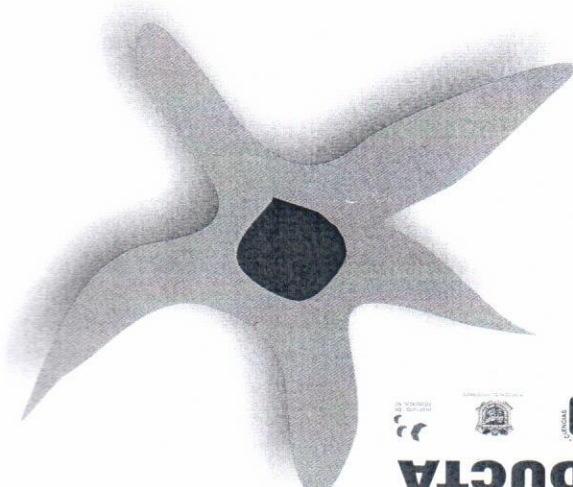
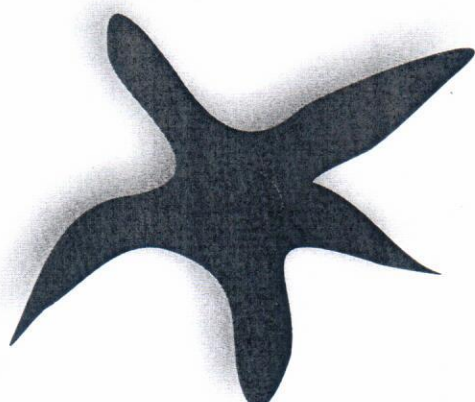
Tlachi-López JL<sup>1</sup>, López AA<sup>1</sup>, Zempoalteca R<sup>2</sup>, Velázquez-Moctezuma J<sup>3</sup>, Lucio RA\*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, <sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala; <sup>3</sup>Depto. Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Izt. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

La eyaculación de la rata consiste en la expulsión de semen y la formación de un tapón seminal. El eyaculado se compone de espermatozoides y reciones de las glándulas sexuales accesorias cuya importancia sobre el eyaculado, ha sido poco estudiada. Así, el objetivo del trabajo fue determinar la icipación de algunas glándulas sexuales accesorias en las características macro- y microscópicas del semen y del tapón seminal. Se utilizaron ratas tar sexualmente expertas (4 meses de edad) mantenidas en condiciones estándar de bioterio. Los machos realizaron seis pruebas copulatorias de una e eyaculatoria, (tres pre- y tres postquirúrgicas), con 15 días de intervalo entre ellas. Inmediatamente después de cada eyaculación, las hembras eran stesiadas (pentobarbital sódico 26 mg/kg peso; ip) para obtener el semen de los cuernos uterinos y el tapón seminal de la vagina. A los machos les on extirpadas las bulbouretrales (Bux; n=6), coagulantes (Cox; n=6) o bulbouretrales y coagulantes (Bux-Cox; n=6). A los machos control se les realizó rugia sin extirpación de glándulas (Ctl; n=6). Se analizaron parámetros macro- y microscópicos en el semen: volumen, viscosidad, pH, índice de ilidad, concentración espermática, viabilidad y normalidad; en el tapón seminal: consistencia, volumen, peso, tamaño, espermatozoides móviles o óviles. En el semen no hubo diferencias entre grupos respecto al volumen, 0.4±0.02 ml; pH, 8.2±0.1; índice de movilidad, 0.7±0.02 y normalidad, 98±0.8 Sin embargo, la viscosidad fue 1.5±0.2 mm en Bux-Cox vs 2.4±0.2 mm en Ctl. La concentración espermática fue 12.7±2.9x10<sup>6</sup>/ml en Cox y Bux-Cox vs 2±1.9x10<sup>6</sup>/ml en Ctl. La viabilidad fue 59.5±4.8% en Bux vs 66.5±1.1% en Ctl. En el tapón seminal no hubo diferencias en volumen 0.1±0.007 mm<sup>3</sup>; ni laño 12.2±0.2x5±0.07 mm (largo x ancho). El tapón fue semicoagulado con espermatozoides móviles en Bux-Cox vs coagulado con espermatozoides óviles en Ctl. Por lo tanto, las secreciones de las bulbouretrales y coagulantes contribuyen con la viscosidad y viabilidad de los espermatozoides del nen, así como con la coagulación del tapón seminal, características requeridas para la fertilidad de la rata macho.

*XLIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; Querétaro, Qro.  
Septiembre 4-8, 2006*

# BASES BIOLÓGICAS DE LA CONDUCTA



**CON**  
C A V O  
**EN**  
C U R S O  
12 AL 15 DE OCTUBRE 2006

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA

CARTEL 18. PARTICIPACIÓN DE LA PRÓSTATA VENTRAL EN LA CALIDAD DEL SEMEN Y LA FERTILIDAD EN LA RATA MACHO

Aurora A. López González<sup>1</sup>, José Luis Tlachi López<sup>1</sup>, René Zempoalteca<sup>2</sup> y Rosa Angélica Lucio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas y <sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala-UNAM

La próstata es una glándula sexual accesoria que presentan todos los mamíferos. La secreción prostática más las secreciones de las otras glándulas (ámpulas, coagulantes, vesículas seminales y bulbouretrales) proporcionan el medio adecuado para la sobrevivencia de los espermatozoides una vez eyaculados en los conductos reproductivos femeninos. Se ha descrito que las secreciones prostáticas contienen zinc, importante para la movilidad espermática. En individuos astenozoospermicos, es decir, que sus espermatozoides presentan bajo índice de movilidad, la concentración de zinc del plasma seminal es considerablemente menor que en aquellos normales. En la rata, la próstata es un complejo de lóbulos que se identifican como ventrales y dorsolaterales (Fig. 1). Dado que en estudios previos de laboratorio determinamos los valores de referencia de los parámetros de semen y tapón seminal, nuestro objetivo es determinar si los valores de los parámetros se modifican por efecto de la ablación de los lóbulos ventrales prostáticos. No se ha considerado la extirpación de los lóbulos dorsolaterales porque es difícil distinguir su delimitación anatómica; además, adosado a éstos se localiza el ganglio pélvico mayor, de donde se origina la inervación a las estructuras reproductivas.

LÓBULOS PROSTÁTICOS  
VISTA VENTRAL  
VISTA DORSAL

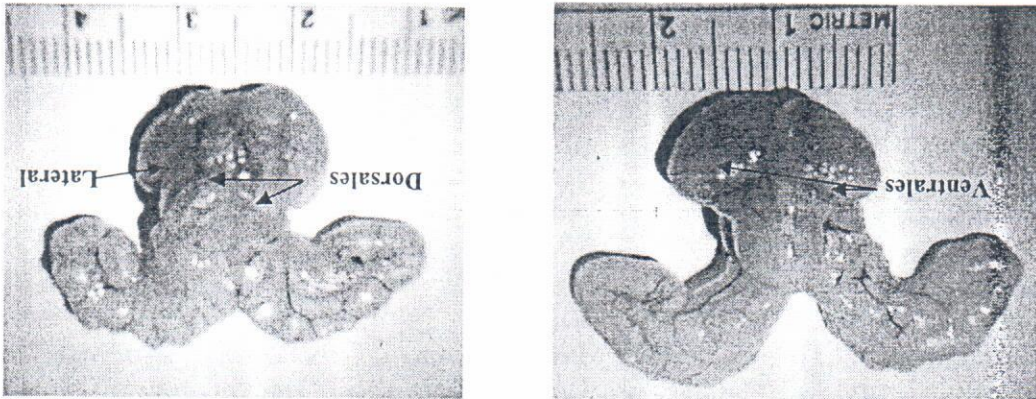


Fig. 1. Próstata de la rata.

Se utilizaron machos sexualmente expertos sometidos a una prueba copulatoria antes de la cirugía y tres después de la misma, con 15 días de intervalo entre ellas. Se evaluaron los parámetros: número de montas y de intromisiones, latencia de monta, de intromisión y de eyaculación, de una serie eyaculatoria. Mediante espermatobioscopia indirecta se evaluaron en el semen: color, volumen, viscosidad, pH, índice de movilidad, concentración, viabilidad y morfología; y en el tapón seminal: color, consistencia, peso, volumen, tamaño, número de cabezas, de flagelos y de espermatozoides inmóviles. Además, se obtuvo el porcentaje de hembras preñadas antes y después de la cirugía (simulada, n=4; extirpación bilateral de los lóbulos ventrales prostáticos, n=9). Resultados preliminares. Por el momento sólo se tienen los datos de 2 machos con cirugía simulada y 5 con ablación bilateral de los lóbulos ventrales prostáticos. La mayoría de los parámetros macro y microscópicos del semen fueron similares antes *versus* después de cirugía, sin embargo la viscosidad, viabilidad del semen, así como el volumen del tapón seminal mostraron una tendencia a disminuir en los machos con ablación de los lóbulos ventrales prostáticos. El porcentaje de hembras preñadas por machos con cirugía simulada y con extirpación de los lóbulos ventrales prostáticos fue similar.

Conclusión preliminar. Se ha descrito que el contenido bioquímico de los lóbulos prostáticos es distinto, así como su participación en la composición del eyaculado. Es por ello que, nuestro primer acercamiento fue determinar el efecto de la remoción de los lóbulos ventrales de la próstata encontrando que no influyen de manera determinante sobre la calidad del semen, específicamente en la movilidad espermática; tampoco en la fertilidad. En estudios realizados en nuestro laboratorio se obtuvieron los valores de referencia de los parámetros espermáticos en pruebas realizadas con intervalos de 15 días, por lo que se utilizó el mismo intervalo en este trabajo ya que se pretende determinar el efecto, a largo plazo, de la extirpación de los lóbulos ventrales prostáticos, puesto que se ha observado que en la remoción de glándulas bulbouretrales, coagulantes y del complejo bulbouretrales-coagulantes el efecto continúa aún después de 45 días de la cirugía. El número de animales deberá completarse para constatar los resultados.

No obstante, falta determinar el efecto de los lóbulos dorsolaterales, pero debido a la dificultad para extirparlos y el daño que causaría a los tejidos adyacentes, se ha considerado utilizar una sustancia quelante para dañar la mayor superficie prostática posible, evadiendo al ganglio pélvico mayor. Con esto se podrían obtener resultados sobre el efecto de la ausencia de la glándula prostática en la calidad espermática y la fertilidad de la rata macho.

ANIVERSARIO



9 - 13 DE SEPTIEMBRE 2007

L CONGRESO NACIONAL  
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
Puebla 2007





**PARTICIPACIÓN DE LOS LÓBULOS VENTRALES PROSTÁTICOS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DEL EYACULADO Y LA FERTILIDAD DE LA RATA**

López AA<sup>1</sup>, Tlachi-López JL<sup>1</sup>, Zempoalteca R<sup>2</sup>, Velázquez-Moctezuma J<sup>3</sup>, Lucio RA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas y <sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. <sup>3</sup>Departamento de Neurociencias, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

Correo Electrónico: ushuaia2404@hotmail.com

La próstata es una glándula sexual accesoria presente en todos los mamíferos. Sus secreciones constituyen el 15% del fluido seminal. En la rata, la próstata es una estructura compuesta por lóbulos ventrales, laterales y dorsales, todos ellos pareados. Los lóbulos difieren en su composición bioquímica, su respuesta a los andrógenos y en su función secretora, aunque se desconoce su participación sobre el eyaculado. En el presente trabajo se estudió la participación de los lóbulos ventrales (por ser los más prominentes) en las características del eyaculado. El semen de ratas macho sexualmente expertas se obtuvo de los cuernos uterinos, de hembras que recibieron una eyaculación, para analizar los parámetros macro (color, viscosidad, pH) y microscópicos (concentración, movilidad, viabilidad y morfología de los espermatozoides). También se evaluaron parámetros macro (consistencia, peso, volumen y tamaño) y microscópicos (porcentaje de cabezas, flagelos y espermatozoides) del tapón seminal. Posteriormente, los machos (n=7) fueron intervenidos quirúrgicamente para extirparles ambos lóbulos ventrales prostáticos, a otros (n=3) se les realizó la cirugía simulada. A los 15, 30 y 45 días después de la cirugía, se les realizaron pruebas copulatorias y sólo en la primera y última se analizaron los parámetros de semen y tapón seminal. Con estos mismos machos también se formaron unidades reproductivas (un macho y tres hembras adultas intactas cohabitando de semen y tapón seminal. Con estos mismos de la cirugía. Se determinó el día de preñez, el número de crías al nacimiento y el potencial fértil. En el análisis del eyaculado, los parámetros macro y microscópicos del semen y del tapón seminal antes y después de la cirugía no mostraron diferencias significativas (Friedman p<0.05). Las pruebas de fertilidad tampoco mostraron cambios significativos. Por lo anterior, sugerimos que la próstata ventral no contribuye de manera importante ni en las características del eyaculado, ni sobre la fertilidad del macho. En estudios posteriores se analizará la participación de los lóbulos laterales y dorsales ya que así como difieren en su anatomía y función secretora, es plausible que también difieran en su importancia sobre los parámetros del semen, tapón seminal y fertilidad.

Agradecimientos: CONACYT Beca 198782 (AALG) y 188574 (JLTL) y Proyecto 52744 (RAL).

**L Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas; Puebla, Pue.  
Septiembre 9-13, 2007**

# PROGRAMA

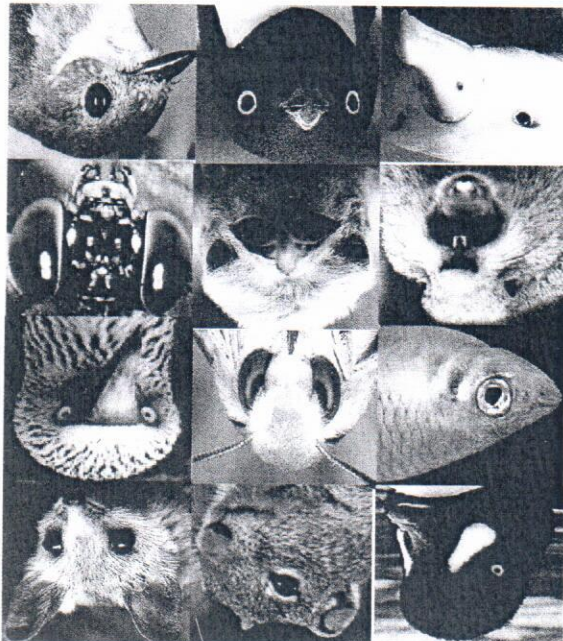


11 AL 14 DE OCTUBRE TLAXCALA, TLAX, 2007

## BASES BIOLÓGICAS DE LA CONDUCTA

C U R S O

# DOCEavo



Semen y Tapón Seminal? Para Qué Sirve la Próstata?

Aurora Adriana López González<sup>1</sup>, René Zempoalteca<sup>2</sup>, Yolanda Cruz<sup>2</sup>, Margarita Martínez Gómez<sup>3</sup> y Rosa Angélica Lucio<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala;  
<sup>2</sup>Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala y <sup>3</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de México (México)

La próstata es una glándula sexual accesoria presente en todos los mamíferos. En la rata, es una estructura compuesta de lóbulos pareados que anatómicamente se identifican como ventrales, laterales y dorsales. Según estudios bioquímicos, *in vitro* y endocrinos se ha determinado que los lóbulos prostáticos difieren en su función secretora y respuesta a los andrógenos, por lo que su contribución al fluido seminal es distinto. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es determinar la participación de cada lóbulo prostático sobre las características del semen y tapón seminal.

Para constatar esta hipótesis se lesionaron quirúmicamente los lóbulos ventrales y dorsales de ratas Wistar cuyo semen y tapón seminal obtenidos de una eyaculación fueron analizados. Los machos con experiencia sexual y las hembras con esto inducido fueron colocados, una pareja a la vez, en un redondel comúnmente utilizado durante pruebas copulatorias. Una vez identificado el patrón motor de eyaculación, el macho era removido del redondel y después de 5 minutos, la hembra era anestesiada para obtener quirúmicamente el semen de los cuernos uterinos y el tapón seminal de la vagina. Se analizaron los parámetros macroscópicos (color, viscosidad, pH) y microscópicos del semen (concentración, movilidad, viabilidad y morfología de los espermatozoides). También se evaluaron parámetros macroscópicos (consistencia, peso, volumen y

tamaño) y microscópicos (porcentaje de cabezas, flagelos y espermatozoides) del tapón seminal. Las pruebas copulatorias y el análisis del eyaculado se realizaron con machos antes y a los 5 y 20 días después de la inyección de un esclerosante, el tetradecil sulfato de sodio. Así se formaron tres grupos, cada uno de 7 ratas, con lesión de lóbulos ventrales, lesión de lóbulos dorsales y lesión de lóbulos ventrales-dorsales.

Los machos con lesión en los lóbulos prostáticos ventrales no mostraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros del eyaculado. No obstante, en aquellos con lesión en los lóbulos dorsales y lesión en los ventrales-dorsales las diferencias fueron significativas al corto plazo (5 días después de la lesión) mostrando una recuperación al mediano plazo (20 días). La lesión de estos lóbulos resultó en tapones seminales no endurecidos, embebidos en semen y, por tanto, no adheridos a las paredes vaginales, impidiendo así el transporte espermático. El análisis microscópico del tapón seminal evidenció la presencia de millones de espermatozoides en su porción rostral, que no se observan en un tapón normal. Esto explica la ausencia de espermatozoides en los cuernos uterinos. Debido a esto, los parámetros microscópicos del semen no pudieron ser evaluados.

Solo en el 50% de los eyaculados a los 20 días se pudieron evaluar los parámetros macroscópicos y microscópicos correspondientes. Sin embargo éstos no fueron similares a los valores de los machos intactos.

Entonces, de acuerdo con los análisis del eyaculado, consideraríamos que: 1) la próstata ventral no participa con sus secreciones a las características del eyaculado; 2) las secreciones de la próstata dorsal son necesarias para formar un tapón seminal endurecido y adherido a las paredes vaginales; 3) la falta de coagulación del tapón seminal impide que los espermatozoides se transporten hacia los cuernos uterinos; y finalmente 4) la concentración espermática tan disminuida o nula en semen contenido en útero resultaría en la infertilidad de los machos.



# SEMEN Y TAPÓN SEMINAL? PARA QUÉ SIRVE LA PRÓSTATA?

Aurora López<sup>1</sup>, René Zempoalteca<sup>2</sup>, Margarita Martínez-Gómez<sup>2</sup>, Rosa Angélica Lucio<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Maestría en Ciencias Biológicas y <sup>2</sup> Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta,  
 Universidad Autónoma de Tlaxcala (Unidad Periférica del IIB-UNAM y <sup>3</sup> IIB-UNAM.

Maestría en  
 Ciencias Biológicas

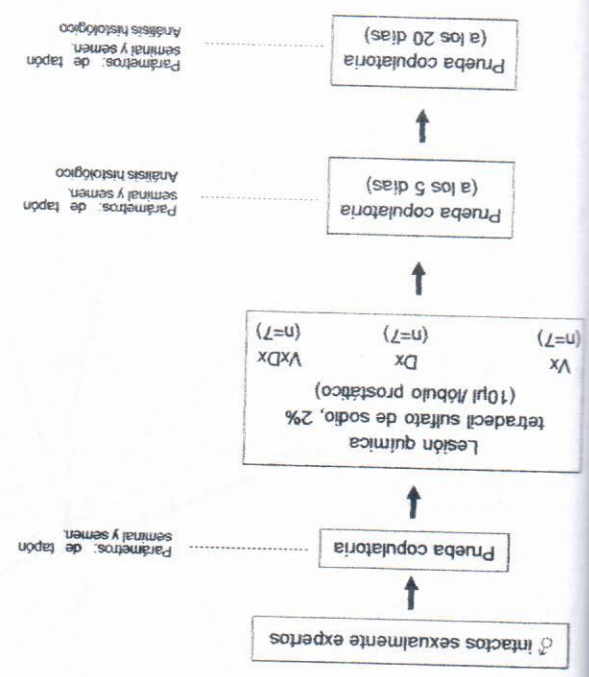
**Introducción** La próstata es una glándula sexual accesoría presente en todos los mamíferos. En la rata, es una estructura compuesta de lóbulos pareados que anatómicamente se identifican como ventrales, laterales y dorsales (Fig. 1).

En los lóbulos laterales se adosa el ganglio pélvico mayor, de donde se origina la inervación hacia los órganos que participan en las funciones sexuales y urinarias. Según estudios bioquímicos, *in vitro* y endocrinos se ha determinado que los lóbulos prostáticos difieren en su función secretora y respuesta a los andrógenos, esto sugiere que su contribución al fluido seminal es distinta.



**Objetivo** Determinar la participación de los lóbulos prostáticos ventrales y dorsales) sobre las características del semen y tapón seminal de la rata macho.

**Metodología** Se lesionaron químicamente los lóbulos ventrales (Vx), dorsales (Dx) y ventrales-dorsales (VxDx) de ratas Wistar adultas cuyo semen y tapón seminal fueron obtenidos de la muestra eyacuclada, 5 min después de una serie eyaculatoria. Se determinó el color, viscosidad, pH, movilidad, concentración, consistencia, peso, volumen, tamaño y composición en el tapón seminal.



**Resultados** Los machos con lesión en los lóbulos ventrales no mostraron diferencias significativas en ninguno de los parámetros del tapón seminal ni del semen (Tabla 1). No obstante, en aquellos con lesión en los lóbulos dorsales y ventrales-dorsales fueron significativas al corto plazo (5 días después de la lesión, Wilcoxon,  $p < 0.05$ ) mostrando una recuperación al mediano plazo (20 días, Friedman,  $p < 0.05$ ).

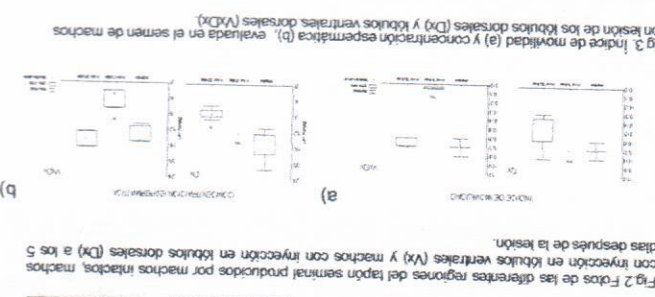
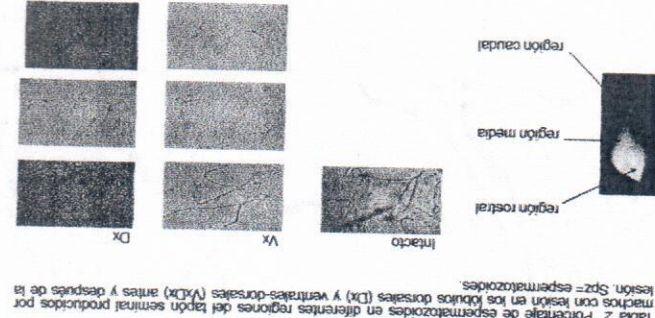
La lesión de los lóbulos dorsales y ventrales-dorsales produjo tapones seminales no endurecidos, embudidos en semen y no adheridos a las paredes vaginales (Tabla 2). El análisis microscópico del tapón seminal evidenció la presencia de millones de espermatozoides en su región rostral, que no se observaron en un tapón normal (Fig. 2).

Tabla 1. Porcentaje de espermatozoides en las diferentes regiones del tapón seminal producido por machos con lesión en los lóbulos ventrales (Vx) y después de la lesión. Spz= espermatozoides.

Región	Intactos		Después de la lesión	
	Endurecidos (100%)	No endurecidos (58%)	Endurecidos (85.71%)	No endurecidos (58%)
región rostral	36.19	3.29	33.29	0.62
región media	3.19	0.68	3.86	0
región caudal	0	0	0	0

Tabla 2. Porcentaje de espermatozoides en diferentes regiones del tapón seminal producidos por machos con lesión en los lóbulos dorsales (Dx) y ventrales-dorsales (VxDx) antes y después de la lesión. Spz= espermatozoides.

Región	Después de la lesión		Después de la lesión	
	Endurecidos (100%)	No endurecidos (57.14%)	Endurecidos (75%)	No endurecidos (58%)
región rostral	48.27	0	35.3	0
región media	13.83	1.78	0.27	1.68
región caudal	0	0	0	0



**Discusión y Conclusión** De acuerdo con los análisis del eyacuclado, se consideró que: 1) la próstata ventral no participa con sus secreciones a las características del eyacuclado; 2) las secreciones de la próstata dorsal son necesarias para formar un tapón seminal endurecido y adherido a las paredes vaginales; 3) la falta de coagulación del tapón seminal impide que los espermatozoides se transporten hacia los cuernos uterinos; y finalmente, 4) la concentración espermática tan disminuida o nula en semen contenido en útero resultaría en la infertilidad de los machos.