

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**Descripción histológica del tejido testicular y su espermatogénesis en
un Olinguito (*Bassaricyon neblina*).**

Doménica Camila Mafla Bonifaz

Medicina Veterinaria

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Médico Veterinario

Quito, 23 de diciembre de 2022

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias de la Salud

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Descripción histológica del tejido testicular y su espermatogénesis en
un Olinguito (*Bassaricyon neblina*).**

Doménica Camila Mafla Bonifaz

Rommel Lenin Vinueza DMVZ, M.Sc

Quito, 23 de diciembre de 2022

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Doménica Camila Mafla Bonifaz

Código: 00136464

Cédula de identidad: 1717418808

Lugar y fecha: Quito, 23 de diciembre de 2022

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

El olinguito (*Bassaricyon neblina*) es un mamífero de la familia de los prociónidos de hábitos nocturnos que fue identificado hace apenas 35 años. Un individuo macho adulto de esta especie, procedente del zoológico de Guayllabamba de Quito, falleció por causas desconocidas y su cuerpo fue recuperado para la necropsia. Posterior a este proceso, se fijaron en etanol y formaldehído los testículos del individuo los cuales presentaron diferencias físicas entre sí. Los testículos fueron sometidos a un proceso de inclusión en parafina y tinción con hematoxilina para su estudio morfológico celular y su ciclo de espermatogénesis. En este trabajo se propuso recopilar información histológica para describir el tejido testicular y la espermatogénesis de este animal. Como resultado se encontró similitudes en la morfología celular y en el ciclo de la espermatogénesis con caninos y felinos. Se describió al tejido testicular en el que se encontraron presentes túbulos seminíferos, conductos epididimarios, conducto deferente y sus epitelios, también células germinales y células de Sertoli. Se realizó una comparación entre el testículo de aspecto normal y el testículo edematoso, señalando sus diferencias entre ellos y las similitudes con otras especies de mamíferos y octópodos. Finalmente, se estableció que su espermatogénesis consiste en ocho estadios, característica que comparte con felinos y caninos.

Palabras claves: Olinguito, testículo, tejido testicular, histología, espermatogénesis, túbulos seminíferos, epididimarios, epitelio, estadios.

ABSTRACT

The olinguito (*Bassaricyon neblina*) is a nocturnal mammal of the procyonid family that was identified just 35 years ago. A male adult of this specie, from the Guayllabamba Zoo in Quito, died of unknown causes and his body was recovered for necropsy. After this process, the testicles of the individual were fixed in ethanol and formaldehyde because they presented physical differences between them, which is the reason why they aroused interest in carrying out this study. The testicles were subjected to paraffin inclusion and staining with hematoxylin for the study of their cellular morphology and their spermatogenesis cycle. In this work, it was proposed to collect histological information to describe the testicular tissue and spermatogenesis of this animal. As a result, similarities were found in cell morphology and in the spermatogenesis cycle with canines and felines. The testicular tissue was described in which were found seminiferous tubules, epididymal ducts, vas deferens and their epithelia, as well as germ cells and Sertoli cells. A comparison was made between the normal-looking testicle and the edematous testicle, pointing out their differences between them and the similarities with other species of mammals and octopods. Finally, it was established that its spermatogenesis consists of eight stages, a characteristic that the olinguito shares with felines and canines.

Key words: Olinguito, testicle, testicular tissue, histology, spermatogenesis, seminiferous tubules, epididymis, epithelium, stages.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
TABLA DE CONTENIDOS	7
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	8
ÍNDICE DE FIGURAS	9
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	10
INTRODUCCIÓN.....	11
Generalidades.....	12
Antecedentes	13
Objetivo General.....	16
Objetivos Específicos.....	16
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
RESULTADOS	20
Macroscópico.....	20
Microscópico.....	219
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES	36
REFERENCIAS	37

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Olinguito <i>Bassaricyon neblina</i> en estado silvestre.....	11
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Testículo Normal de Olinguito.....	20
Figura 2. Testículo Edematoso de Olinguito.	20
Figura 3. Testículo Normal: Corte transversal de región caudal del testículo de un Olinguito.....	20
Figura 4. Testículo Edematoso: Corte transversal de región caudal del testículo de un Olinguito.....	21
Figura 5. Túbulos seminíferos. Corte transversal de región craneal del testículo normal de un Olinguito.	23
Figura 6. Túbulos seminíferos. Corte transversal de región craneal del testículo edematoso de un Olinguito.	24
Figura 7. Túbulo Seminífero. Corte transversal de región craneal del testículo normal de Olinguito.....	25
Figura 8. Epidídimo. Corte transversal de región medial del testículo normal de Olinguito.....	26
Figura 9. Conducto deferente. Corte transversal de región medial del testículo normal de Olinguito.....	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Inclusión en parafina. Proceso con materiales y tiempos.....	17
Gráfico 2. Tinción Hematoxilina. Proceso con materiales y tiempos.	18
Gráfico 3. Porcentaje de aparición de estadios de espermatogénesis en el Olinguito....	27

INTRODUCCIÓN

Generalidades

El *Bassaricyon neblina*, conocido en Ecuador como Olinguito, es un mamífero terrestre que forma parte de la familia de prociónidos. En el Ecuador se puede encontrar a la especie en las Provincias del Cotopaxi y en Pichincha en bosques lluviosos montanos, mayormente en las estribaciones occidentales de los Andes (Tirira, 2018).



Ilustración 1. Olinguito *Bassaricyon neblina* en estado silvestre.
Fuente: (UICN, 2020).

El Olinguito es de tamaño pequeño con un peso aproximado de 2 kg, de hábitos solitarios y nocturnos, donde su alimentación principal se basa en frutas. Su pelaje es

coloreado en gama de naranja a café rojizo, siendo este muy denso y largo en todo su cuerpo, en su dorso el pelaje se torna más oscuro hasta hacerse negro. Posee una cola corta, en ocasiones con anillos coloreados, tiene un hocico redondeado y menos alargado en comparación a los olingos, su rostro y orejas son pequeñas y muy peludas. A nivel reproductivo, esta especie tiene una sola cría al año, lo que la convierte en un individuo de reproducción lenta, por ello no existe una población significativa en estado silvestre. Por ese motivo, por mucho tiempo fue difícil evaluar su estado de conservación en el Ecuador y a nivel internacional en la IUCN¹. Actualmente se registra en estado “Vulnerable” en la Lista Roja de Mamíferos del Ecuador y en estado “Casi amenazado” en la Lista Roja de la UICN (Carrión, 2022; UICN, 2020).

El Olinguito fue avistado hace 50 años en estado silvestre, fue identificado apenas hace 35 años como una nueva especie por Kristofer Helgen del Instituto Smithsonian. Dentro de la familia de los prociónidos, en el Ecuador se encuentran los mapaches, cusumbos, olingos, coatís y al olinguito. Se desconocía su existencia debido a que es fácil de confundir con los especímenes de su misma familia antes mencionados (Cardona et al., 2016). El olinguito es de menor tamaño y posee menor masa craneal en comparación a sus congéneres aun así, se lo confunde con olingos y cusumbos debido a que no siempre se realizan las mediciones correctas de los individuos (Helgen et al., 2013). Se debe tomar en cuenta que no existen registros de estudios realizados en la especie a nivel clínico, pues se registran solo investigaciones sobre su taxonomía. También se desconoce su morfología interna y la fisiología de su reproducción.

¹ Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza

Antecedentes

Un ejemplar macho adulto fue rescatado y trasladado por entes de la Unidad de Protección del Medio Ambiente el mes de diciembre 2021 al Zoológico de Quito ubicado en Guayllabamba. El individuo se encontraba en mal estado y en shock, pese a los tratamientos administrados por los médicos del zoo, el animal no mostró mejoría y posteriormente falleció. Se evaluó algunos de los órganos que no fueron comprometidos con la razón de su muerte, entre ellos los testículos, y se los fijó en etanol y formaldehído para su posterior estudio a cargo de personal capacitado para su manejo.

Durante la necropsia, el personal observó que los testículos presentaban diferencias físicas entre sí, por lo que se propuso su estudio.

Gracias a que el zoológico se encuentra autorizado para el manejo de medios de conservación y manejo ex situ de especies de la vida silvestre y de sus partes anatómicas fue posible desarrollar el estudio histológico de los testículos, para contribuir a la información de la fisiología reproductiva de la especie, específicamente sobre sus características histológicas y su espermatogénesis. No se registran estudios de este ámbito en el olinguito, pero sí en uno de sus congéneres como el mapache (Uno et al., 2014).

La histología es una de las ramas de la medicina que se encarga de estudiar a los tejidos por medio de una observación microscópica para la identificación de células, sistemas y órganos (Gartner et al., 2002). En este estudio el tejido de interés es el testicular que gracias a las técnicas de histología básicas puede ser estudiado por su morfología y su funcionamiento. Existen estudios publicados que describen al tejido testicular en carnívoros y rumiantes domésticos (Arévalo et al., 2022; Eslava & Torres, 2008). Además, un estudio histológico del tejido testicular permite observar hallazgos que ayudan a evaluar la morfología interna, los estadios de la espermatogénesis, la integridad y el funcionamiento de dicho órgano. Esto se logra por medio de la

elaboración de láminas histológicas que se analizan a través de un microscopio electrónico (Romero, 2016).

La espermatogénesis es un proceso que da lugar en el testículo de un individuo macho, en el que ocurre una división y transformación celular en el epitelio germinal del órgano, en el que se diferencian las células. Las “espermatogonias” o células primordiales se desarrollan y forman espermatocitos, los cuales se transforman en espermátidas y al final estas se diferencian y forman a las células reproductoras “espermatozoides”. Todo el proceso ocurre dentro del testículo en los túbulos seminíferos que se encuentran agrupados en porciones tubulares. Dentro de cada una se concentran las células germinales en diferentes etapas, como las que se mencionan anteriormente, y forman los estadios de la espermatogénesis, apareciendo con menor o mayor frecuencia en cada porción tubular. Este proceso es similar en las diferentes especies, pero lo que varía es el número de estadios que se presenten en la espermatogénesis (Sánchez, 2004).

La eficiencia de este proceso se mide por la cantidad de gametos presentes en sus estadios o fases principales denominadas como: espermatocitogénesis, meiosis y espermiogénesis. También se los clasifica por nomenclatura romana, como estadio I, II, III, etc. (Aponte & Bastidas, 2001). Identificar el funcionamiento del ciclo de la espermatogénesis de cada especie permite que se pueda conocer la eficiencia del proceso, es decir si su capacidad fisiológica permite que el órgano produzca los espermatozoides viables para la reproducción (Romero, 2016). Este último punto es de gran interés para el estudio de fauna silvestre cuando se habla de fisiología reproductiva.

El objetivo de este trabajo es describir la estructura histológica del tejido testicular y su ciclo de espermatogénesis en un olinguito (*Bassaricyon neblina*) por medio de técnicas histológicas, con el fin de aportar a la información existente sobre la morfología y fisiología reproductiva de la especie.

Objetivo General

Describir la estructura anatómica histológica del tejido testicular y su ciclo de espermatogénesis en un Olinguito (*Bassaricyon neblina*) por medio de técnicas histológicas.

Objetivos Específicos

- Utilizar técnicas de histología para obtener láminas histológicas del tejido testicular para su estudio.
- Analizar las láminas histológicas del material biológico e identificar las estructuras celulares visibles observando sus semejanzas y diferencias frente a otras especies.
- Describir el ciclo de espermatogénesis en el tejido testicular, a través de un análisis histológico observando sus semejanzas y diferencias frente a otras especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio, se aplican algunas técnicas básicas de histología para el manejo del material biológico. En primera instancia se realizó una fijación del testículo edematoso en formaldehído, compuesto que es muy utilizado por su adaptabilidad para las tinciones y una fijación del testículo de aspecto normal en etanol 70%. Este proceso se realizó para la conservación del tejido al instante en el que se retiraron los órganos del individuo. Los testículos se mantuvieron fijados desde el mes de diciembre del 2021 hasta octubre del 2022, fecha en la que se empezó con el siguiente proceso, de inclusión en parafina. Para esto, se realizó cortes horizontales para delimitar las regiones a observar y se las clasificó como: craneal, intermedio, caudal, cordón espermático y varicocele, este último solamente en el testículo edematoso. Cada región fue depositada en casetes que fueron rotulados respectivamente.

En la inclusión, el tejido dentro de los casetes se sometió a un lavado con etanol a concentraciones diferentes, luego a una sustancia intermedia, el xileno, para que se aclaren los tejidos y posteriormente pasaron por una inclusión en parafina líquida. A continuación, se detalla los pasos que se realizaron en este proceso:

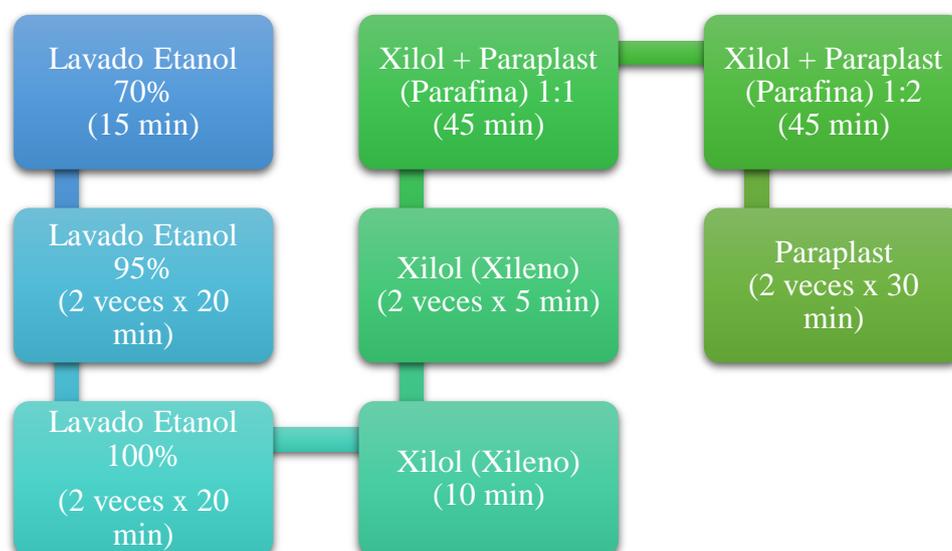


Gráfico 1. Inclusión en parafina. Proceso con materiales y tiempos.
Fuente: (Yepes, 2003).

Una vez que se dejaron enfriar y reposar los moldes con el tejido incluido en parafina, se realizaron cortes seriados de grosor de 5 μm con un microtomo de histología. Los cortes que mostraban mayor cantidad de tejido visible y viable se colocaron en los portaobjetos y se dejaron secar. Se realizaron al menos 3 placas por cada región para que al final se pudieran utilizar las mejores de cada zona para ser observadas y estudiadas en el microscópico. Posterior a ello, se tiñeron las placas con tinción hematoxilina para la identificación de estructuras, proceso que se detalla en el Gráfico 2. Las placas con el tejido, se sometieron de nuevo a xilol para lograr quitar la parafina, luego a etanol, algunos lavados con agua destilada y a la tinción con hematoxilina (Mejía et al., 2017).

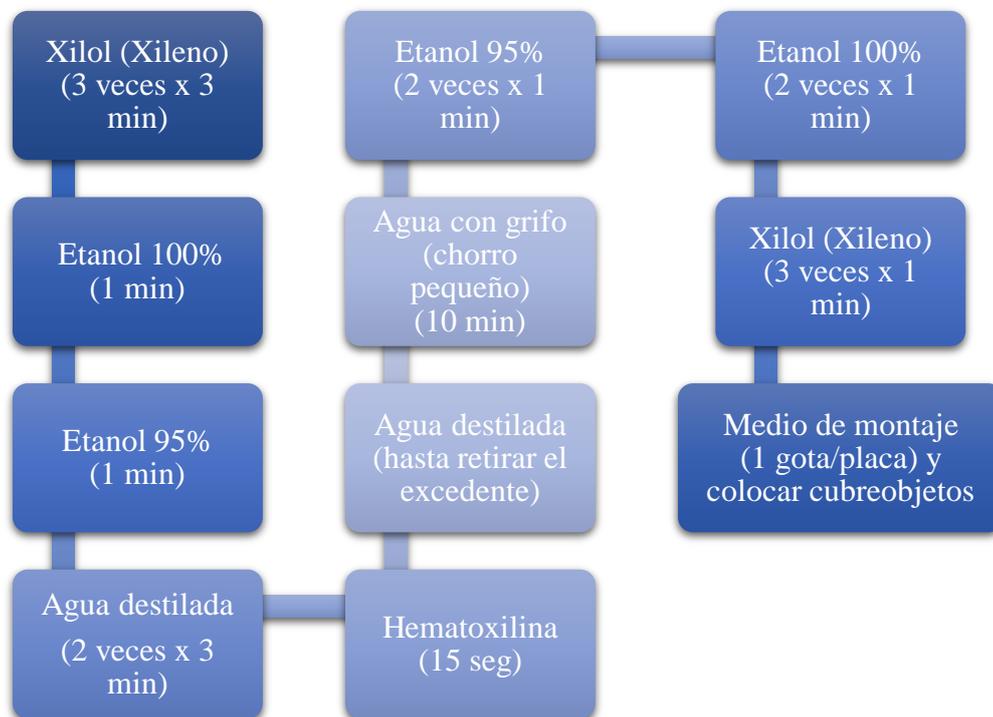


Gráfico 2. Tinción Hematoxilina. Proceso con materiales y tiempos.

Fuente: (Mejía et al., 2017).

Una vez obtenidas las láminas histológicas los datos se recopilaban por medio de registro fotográfico. Después de observar las placas de cada región, se seleccionó las mejores que mostraran la mayor cantidad de estructuras visibles para su posterior descripción y comparación frente a otras especies. Luego se rotularon señalando el

nombre de las estructuras presentes, siendo estas señaladas por flechas y asteriscos. Además, se colocó la descripción de la parte del órgano, la tinción y el aumento utilizado. De esta manera, se analizaron bajo un microscopio electrónico en aumentos de 10X y 40X, donde las placas teñidas con hematoxilina muestran a las células presentes esperando encontrar estructuras como: túnicas, túbulos y epitelios.

De la misma forma se evaluó la presencia de gametos y en cuál de las fases principales de la espermatogénesis se encontraban. Para lograrlo, se consideraron diversas porciones tubulares al azar para ser observadas ya que en ellas es donde se pueden identificar la mayor cantidad de gametos. Tomando como referencia un estudio realizado en varias razas de perros, se compararon los estadios ya establecidos en esa especie y se comparó con los que presentaba el olinguito en su tejido testicular. De esta manera, las células germinales se presentaron en diferentes etapas de desarrollo en cada porción tubular. Con ello, se formaron combinaciones similares a las que presentaban los perros y se le dio un nombre a cada combinación como: estadio I, estadio II, estadio III, etc. Hasta el estadio VIII (Soares et al., 2009).

Una vez que cada estadio tenía su nomenclatura, se procedió a realizar un conteo del número de veces en el que apareció cada uno en un total de 38 porciones tubulares que como se menciona anteriormente, se tomaron al azar (Aponte & Bastidas, 2001). Así se realizó un cuadro de barras donde se muestra la frecuencia en modo de porcentaje que apareció cada estadio. Los resultados en % se obtuvieron por medio de una regla de tres. Una vez conocido el número de estadios se puede comparar con otras especies que pueden ser de su misma familia de prociónidos o de otros tipos.

RESULTADOS

Macroscópico

Se analiza por medio de técnicas histológicas el tejido proveniente de un par de testículos de un Olinguito de subespecie *B. neblina* de edad adulta. Los testículos muestran una morfología distinta, pues uno de ellos presenta anomalías en su estructura, señalando un signo edematoso consiguiente a la presencia de un varicocele. Ambos se extirparon del organismo y fueron fijados independientemente en etanol y formaldehído.



Figura 1. Testículo Normal de Olinguito.



Figura 2. Testículo Edematoso de Olinguito.

El órgano de aspecto normal se muestra en la *Figura 1*, que presenta una tonalidad generalizada amarillo pálido, capilares y venas de tonalidad rojiza, estructura ovalada, tamaño de 1.2 cm de ancho y 2.6 cm de largo, cordón espermático y vena testicular de grosor uniforme. En la *Figura 2*, se observa el órgano con edematización que presenta una coloración de tipo amarillento oscuro, tamaño de 1.5 cm de ancho y 3.1 cm de largo, estructura irregular, coloración morada en venas y capilares, engrosamiento del cordón espermático y de vena testicular.

Microscópico

Los cortes transversales realizados de cada órgano se clasifican en 4 y 5 regiones tales como: craneal, medial, caudal, cordón espermático y varicocele, este último solamente en el testículo edematoso. Adicional, en los cortes obtenidos de cada región se identifican las estructuras internas por medio de nomenclatura, asteriscos, líneas, puntos y flechas.

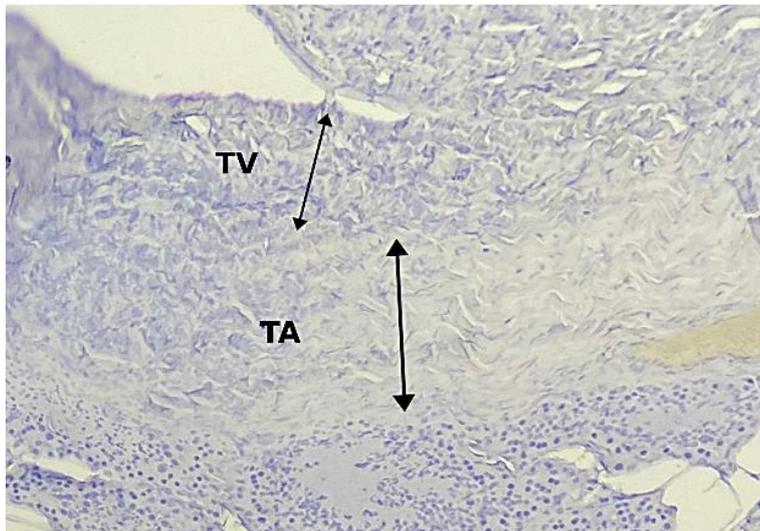


Figura 3. Testículo Normal: Corte transversal de región caudal del testículo de un Olinguito. Túnica vaginal (TV) y túnica albugínea (TA) se delimitan por una flecha de doble punta. Tinción Hematoxilina (10X).

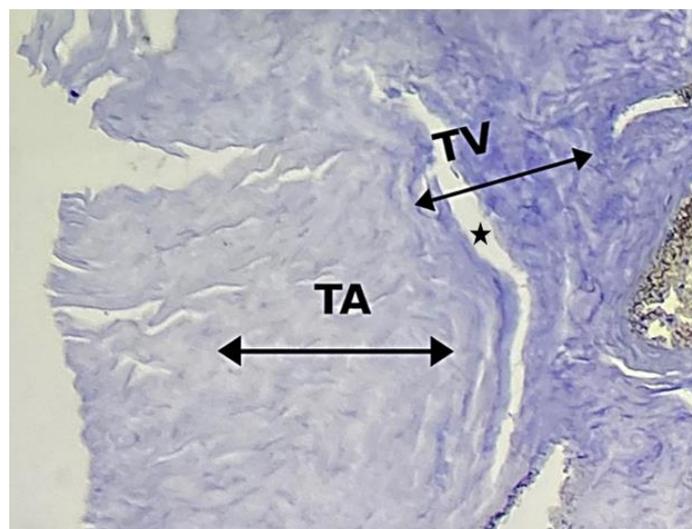


Figura 4. Testículo Edematoso: Corte transversal de región caudal del testículo de un Olinguito. Túnica vaginal (TV) y túnica albugínea (TA) se delimitan por una flecha de doble punta. Vaso sanguíneo (★). Tinción Hematoxilina (10X).

En la Figura 3. y Figura 4. se observa dos estructuras en la periferia del órgano, siendo la túnica vaginal (TV) una capa serosa ubicada en la zona más externa. Se forma por tejido conectivo con gran cantidad de fibroblastos y algunos vasos sanguíneos (★). De la misma forma se visualiza a la túnica albugínea (TA) ubicada medialmente formando una estructura similar a un septum para dar forma lobulada al interior del órgano. La TA se conforma de una capa densa de tejido conectivo con muchas fibras colágenas alargadas dispuestas paralelamente entre ellas. También presentan vascularizaciones pequeñas.

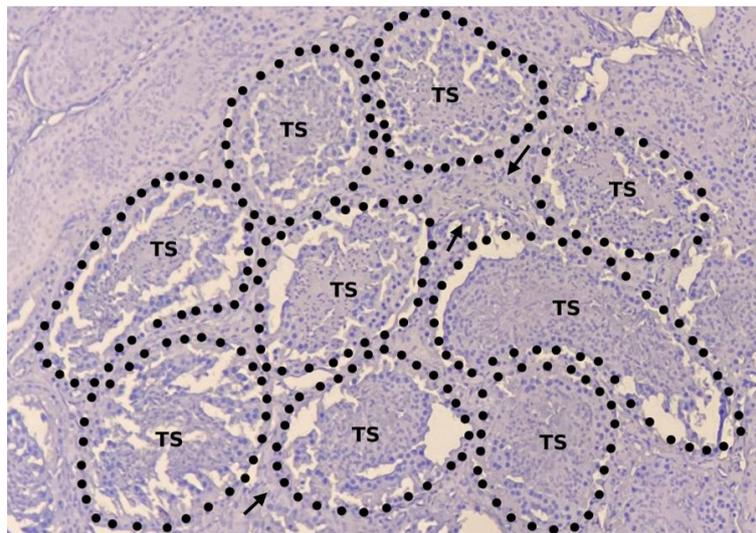


Figura 5. Túbulos seminíferos. Corte transversal de región craneal del testículo normal de un Olinguito. Túbulos seminíferos (TS) se delimitan por una línea entrecortada. Flechas señalan tejido conectivo. Tinción Hematoxilina (10X).

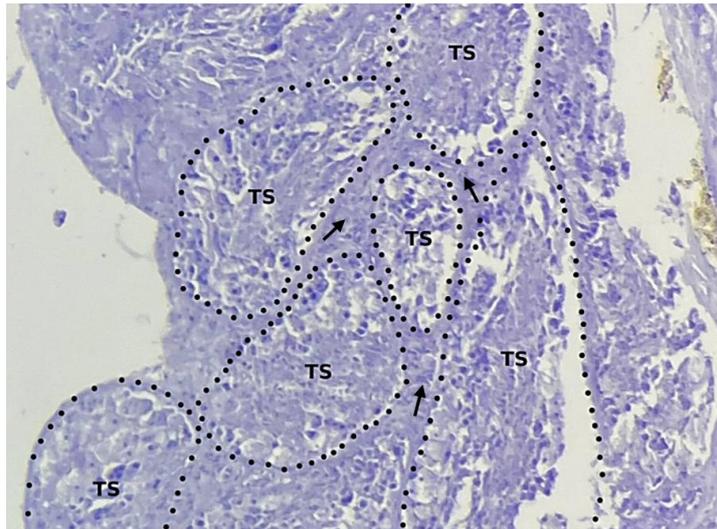


Figura 6. Túbulos seminíferos. Corte transversal de región craneal del testículo edematoso de un Olinguito. Túbulos seminíferos (TS) se delimitan por una línea entrecortada. Flechas señalan tejido conectivo. Tinción Hematoxilina (10X).

Los túbulos seminíferos que se observan en la Figura 5. se señalan por una línea entrecortada. Se puede divisar varios TS colindados entre sí, mayormente de forma ovalada con una gran concentración de células divisibles en la periferia y en la luz (centro) de cada túbulo. Se conectan entre ellos por medio de tejido conectivo abundante, señalado por flechas negras. En la Figura 6. de la misma forma se observa a los TS, pero estos corresponden al tejido testicular edematoso. La estructura de estos es irregular y alargada. Se muestra algunos de los túbulos rotos y desprendidos. Hay poca visibilidad para identificar las células presentes. De la misma forma el tejido conectivo presente entre túbulos se señala con flechas negras.



Figura 7. Túbulo Seminífero. Corte transversal de región craneal del testículo normal de Olinguito. En el interior del túbulo seminífero se identifican células de Sertoli (CS), células de Leydig (CL), espermatocito (ETC), espermatogonia (EG) y espermatidas elongadas (E). Tinción Hematoxilina (40X).

Se muestra en la Figura 7. a nivel interno un túbulo seminífero de tejido normal sin anomalías aparentes. En este se observan células de Sertoli (CS) de aspecto triangular y ovalado ubicadas en la periferia de la estructura. Las células de Leydig (CL) se observan de núcleo independiente y de doble núcleo en el intersticio. Hay una gran cantidad de células espermatidas (E) y espermatozoides agrupados en la luz. Las espermatogonias (EG) se divisan de forma redondeada con varios núcleos en el interior. Los espermatocitos (ETC) son de tamaño mayor a las EG.

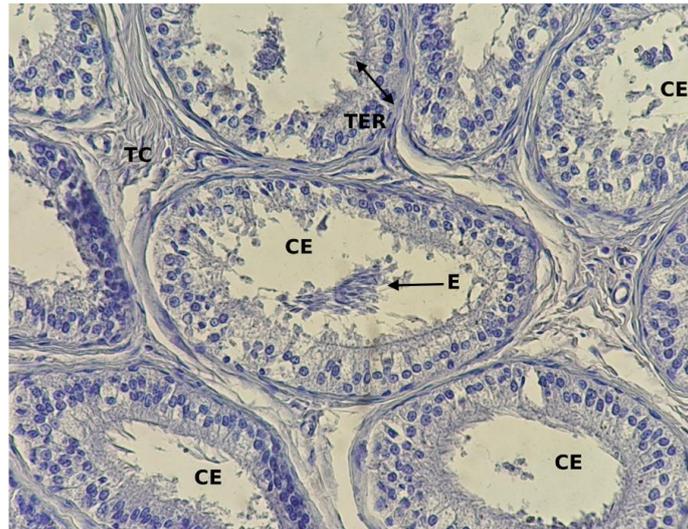


Figura 8. Epidídimo. Corte transversal de región medial del testículo normal de Olinguito. En el interior se identifican los conductos del epidídimo (CE), se observa tejido conectivo intersticial (TC), tejido epitelial de revestimiento (TER) y espermatozoides (E). Tinción Hematoxilina (40X).

En la Figura 8. se divisa a los conductos del epidídimo (CE) como estructuras redondeadas con un acumulo de células en los márgenes que corresponden a tejido epitelial de revestimiento (TER) de tipo pseudoestratificado cilíndrico con estereocilios. En la luz se observan varias espermátidas y espermatozoides. Entre los conductos hay afluencia de tejido conectivo.

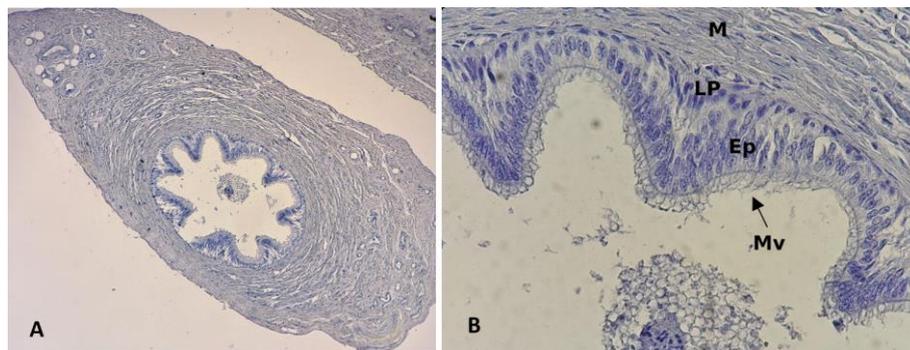
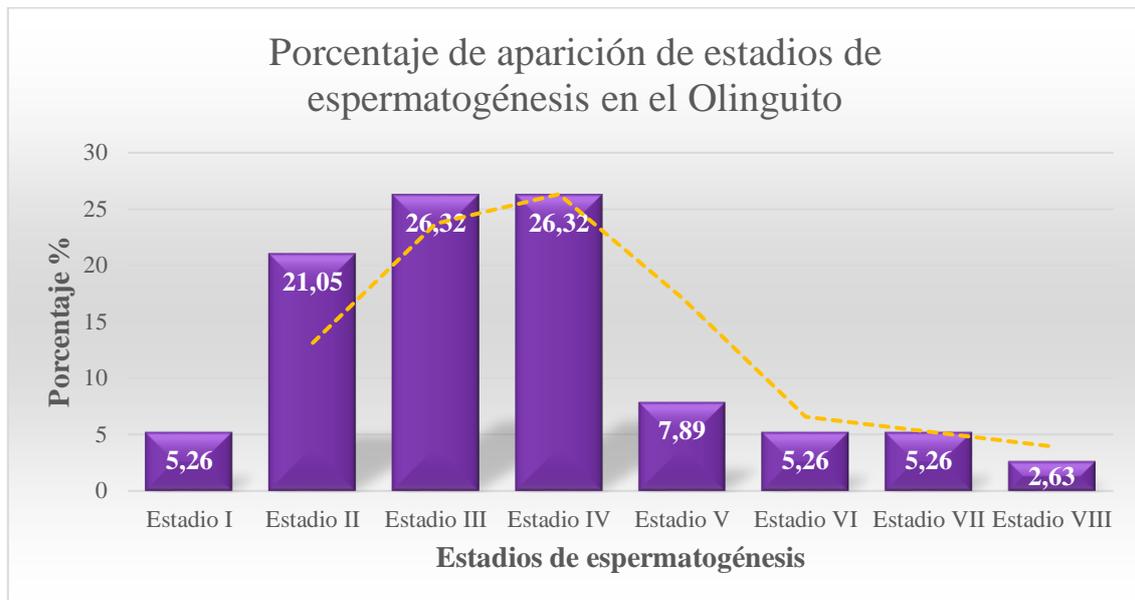


Figura 9. Conducto deferente. Corte transversal de región medial del testículo normal de Olinguito. A. Conducto deferente, tinción Hematoxilina (10X). B. Tejido muscular (M), lámina propia (LP), epitelio (Ep) y microvellosidades (Mv), tinción Hematoxilina (40X).

En la Figura 9. A) Se identifica al conducto deferente de borde externo ovalado y borde interno similar a una estrella. B) Se observa hacia el borde una capa densa de tejido muscular (M) a continuación, una lámina propia (LP) que rodea a la estructura, seguida

de una capa de epitelio (E) cilíndrico con microvellosidades (Mv) dispuestas medialmente.



*Gráfico 3. Porcentaje de aparición de estadios de espermatogénesis en el Olinguito.
Fuente directa*

En la Gráfico 1. se divisan los estadios de la espermatogénesis que se presentan en el Olinguito y los mismos se clasifican en 8 estadios con nomenclatura romana del I al VIII. En el interior de cada estadio se describe el número de veces que apareció el mismo en la espermatogénesis del Olinguito y se representa dicho valor en términos de porcentaje. En una línea naranjada entrecortada se puede observar la curva de distribución del gráfico, la cual avanza su mayor auge en los estadios III y IV. Se observa que el estadio VIII corresponde al de menor porcentaje de aparición en la espermatogénesis.

DISCUSIÓN

El sistema reproductor masculino de un Olinguito al igual que en otros prociónidos, consiste en un conjunto de órganos: pene, prepucio, conductos genitales, glándulas accesorias, testículos y epidídimo, los dos últimos son los órganos de interés en este estudio. Los testículos son órganos ovalados que se encuentran en la cavidad abdominal del olinguito recubiertos de una capa de piel llamada escroto y se disponen de manera horizontal. Estos órganos son los encargados de producir espermatozoides y de la secreción de hormonas sexuales masculinas como la testosterona. La ubicación de los testículos al interior del escroto tiene como fin mantenerlos protegidos y con una temperatura ideal para el bienestar de sus espermatozoides, además de que permite que se den con normalidad las funciones testiculares (Okuyama, 2014).

La coloración normal de un testículo es de tipo amarillo pálido, debido a que se encuentra recubierto por una capa llamada túnica albugínea que posee una gran densidad de tejido conectivo. Adicional, el testículo es de estructura lisa y ovalada, es altamente irrigado y presenta un cordón alargado en la región craneal y continuando por toda la región lateral (Uno et al., 2014). Dichas características se pueden observar en un testículo sano como en la Figura 1. En el mapache, individuo de la misma familia de prociónidos, presenta testículos de morfología y tonalidad igual a la que se describe en el Olinguito (Okuyama, 2014).

Por otro lado, se pueden observar las diferencias evidentes entre la Figura 1 y 2 pues la segunda corresponde al testículo edematoso del mismo individuo. En la misma se observan signos de edema, además de coloración cianótica o morada, secundaria a la formación de un varicocele. El varicocele corresponde a una dilatación de las venas testiculares que evita que exista un correcto intercambio de oxígeno del resto del cuerpo hacia el testículo. Esta patología llega a causar infertilidad en el individuo si llega a afectar

a ambos testículos, debido a que altera totalmente el funcionamiento correcto del testículo y la viabilidad de los espermatozoides (Lacasta et al., 2009).

En una vista microscópica en la Figura 3 y 4 se identifica a las capas de tejido que recubren y protegen al testículo. Se rotulan en ambas figuras como única albugínea y en túnica vaginal. En esta estructura capsular se observa una gran cantidad de tejido conectivo modelado que posee muchas fibras colágenas y fibroblastos. Esta característica histológica se observa similar en otras especies silvestres como el zorro, que de la misma manera presenta una fina capa de tejido conectivo con presencia de fibras colágenas y además de fibras elásticas (Mehanna et al., 2018). La túnica albugínea y vaginal son irrigadas, por lo que en los cortes histológicos también se pueden identificar venas y capilares. Al analizar la Figura 4 se identifica un incremento de la densidad de las tunicas (TA y TV) en las que se dificulta ver la separación entre fibras presentes. Esos hallazgos corresponden al edema causado por el varicocele del testículo edematoso (Lacasta et al., 2009).

Los túbulos seminíferos son el componente que más abunda en el testículo y en ellos es donde se da la formación de las células espermatogénicas y de las células de Sertoli. Los túbulos seminíferos en los mamíferos se presentan en su mayoría como estructuras redondeadas que se conectan entre sí por tejido conectivo intersticial. La Figura 6 que corresponde al testículo edematoso, indican que hay mucha pérdida de integridad de los túbulos, además muestran signos evidentes de edema. Este signo patológico, el edema, se caracteriza por la acumulación de líquido en el intersticio a causa de una inflamación aguda (Lacasta et al., 2009). Este trastorno hemodinámico limita la visibilidad de las células espermatogénicas en la Figura 6, por ello su identificación no es posible y tampoco la estimación de los estadios presentes ni la frecuencia en la que estos se dan dentro de los mismos túbulos del testículo edematoso. Es importante mencionar

que la fijación de los tejidos cumple un rol importante pues es un factor predisponente para la pérdida de integridad del tejido, ya que muchas veces el tejido se deshidrata en exceso. Se considera posible que esto se evidencia en el testículo edematoso de la Figura 6 (López, 2009).

Al contrario, en la Figura 5 la morfología de los túbulos es redondeada, se puede observar el tejido conectivo entre ellos, el líquido intersticial presente y se visibilizan las células espermatozógenas en las periferias y varias hacia la luz (Soares et al., 2009). Su morfología característica puede observarse en otros mamíferos como en ratones (*Mus musculus*) y en mapaches (*Procyon lotor*). De hecho, en este último se pueden apreciar a la mayoría de túbulos mucho más redondos y uniformes que en el Olinguito (Okuyama, 2014).

Cada túbulo se forma por una columna epitelial de células que puede presentarse en diferentes estadios de la espermatogénesis. Se forman diferentes combinaciones de los estadios en cada túbulo, es decir que no van a ser iguales en todos los túbulos. Es decir, que forman etapas o estadios de crecimiento de las células diferentes, que en conjunto dan la formación de un proceso llamado espermatogénesis. Las células que según su funcionalidad y morfología se describen en este proceso como: espermatogonia, que es la célula en fase proliferativa donde la célula atraviesa una división mitótica; espermatocito en que la célula atraviesa una división meiótica; y finalmente la espermátida que es la fase diferenciada en la que la célula se forma en un espermatozoide (Aponte & Bastidas, 2001).

En la Figura 7 se identifican a las células de Sertoli cuya morfología es tipo triangular u ovalado y se disponen hacia los extremos del túbulo en la membrana basal. Son células somáticas que poseen un núcleo de tono claro y se encuentran entre las células germinales. Cumplen con un rol fundamental en el testículo porque funciona como célula

secretora y endocrina, que emite el líquido testicular dentro del túbulo y le permite mantener su forma. Por otro lado, al ser endocrina ayuda a liberar hormonas que van a la hipófisis, como la inhibina que permite evaluar la función del testículo y por ende el estado de su espermatogénesis (Eslava & Torres, 2008). En la Figura 7 también se puede observar los diversos estadios con la presencia de: espermatogonias de tipo A, espermátocitos en paquiteno, espermátidas elongadas en la luz y espermatozoides.

La espermatogénesis es un proceso en el que se dividen y se especializan las células germinales del testículo. Este proceso, como antes se menciona, consiste en varias etapas y subetapas. En la fase de espermatogonia se clasifica para la misma como tipo “A” y “B”; la fase de espermátocito se subdivide en preleptoteno, leptoteno, cigoteno y paquiteno; finalmente la espermátida puede ser de tipo elongada y redonda (Aponte & Bastidas, 2001).

A continuación, el epidídimo también es muy importante en el testículo. Se conforma de una cabeza, un cuerpo y una cola que se disponen en la región craneal y lateral del testículo, en el interior de un cordón espermático, por donde se transportan todos los espermatozoides que ya han sido formados en los túbulos. Esta estructura se puede observar en la Figura 8. como un conjunto de conductos epididimarios que están rodeados por tejido conectivo, específicamente de tipo peritubular, que se conforma de fibrocitos, células fibroblásticas, musculares y vasos sanguíneos. En la luz de cada conducto se puede observar un acumulo de residuos de espermatozoides. Este corte histológico corresponde al testículo normal del olinguito, por ello se evidencia la presencia de estos espermatozoides, es decir que este testículo era viable y fértil, característica que no se pudo identificar en el testículo edematoso (Varesi et al., 2013)..

En la misma figura también se identifica el tejido epitelial de revestimiento que recubre a los conductos epididimarios, es de tipo pseudoestratificado cilíndrico con

estereocilios. La función de los estereocilios o microvellosidades es encargarse del transporte de los espermatozoides a través de los conductos epididimarios hacia el conducto deferente. Por otro lado, dicho epitelio se presenta diferente en una especie de octópodo (*Octopus rubescens*) cuyos conductos del epidídimo poseen una estructura ovalada similar, en su intersticio existe tejido conectivo, pero cada conducto se recubre de un epitelio de tipo simple de células cúbicas ciliadas. Esta estructura cumple con la misma función pero sus células son diferentes (López, 2009).

En la Figura 9 se identifica al conducto deferente que corresponde al último segmento por el que se conducen los espermatozoides. En la imagen A) se observa la capa densa de músculo que rodea a la ampolla, estructura que permite que se puedan transportar los espermatozoides hacia el conducto eyaculador. Se observa en los límites del borde del conducto un aspecto estrellado que se forma por el adelgazamiento de la lámina propia, generando así varios pliegues longitudinales que se pliegan hasta dar esa forma característica (Gonçalves & Borelli, 2003).

En la imagen B) con mayor aumento se pueden ver con más detalle a las células presentes. En la capa muscular se identifican a los filamentos de miosina y actina alargados y dispuestos entre sí. A continuación, se observa a la delgada capa de lámina propia, seguida de una membrana densa de epitelio. Este es similar al de los conductos epididimarios, es decir que son tejido epitelial de tipo pseudoestratificado cilíndrico con estereocilios. Se identifican a las microvellosidades o estereocilios que permite el movimiento de los espermatozoides del testículo hacia el conducto eyaculador. Finalmente, en el centro del conducto, al igual que en el epidídimo, se presencia vestigios de espermatozoides (Mehanna et al., 2018).

Por otra parte, en cada porción tubular se presentan diferentes combinaciones de etapas de diferenciación en el que se encuentra cada célula germinal. Como se menciona

anteriormente cada célula pasa por una etapa diferente, ahora en cada porción de túbulo existe un acumulo de células que pasan por dichas etapas de espermatogénesis en un orden diferente, estas fases forman ciertas combinaciones que permiten determinar el estadio en que se encuentra ese túbulo. En otras palabras, se agrupan las fases y sub-fases, se asocian y se establecen los estadios. Como referencia se tomó a un estudio realizado en perros de diferentes razas (Soares et al., 2009). Se referenció los estadios presentes en los perros con los estadios observados en el Olinguito y como se ve en la Figura 10. el número de estadios de la espermatogénesis fue el mismo, es decir VIII estadios en total. En el mismo estudio se observa (Fig 2.) una relación de porcentaje de frecuencia de aparición de los estadios I-VIII, resultados que se compararon con los obtenidos en el olinguito, siendo así el III y IV los que se presentan con más frecuencia en el olinguito y en perros solo el IV. En contraste, en las diferentes razas de perros del estudio mencionado el estadio II es el que aparece con menor frecuencia, pero en el olinguito el estadio VIII es el menos frecuente.

En otros estudios realizados en veterinaria se describen que en felinos se identifican de la misma manera 8 estadios en la espermatogénesis. Caso contrario en monos y ratones de estado adulto, se ha llegado a describir hasta 12 estadios (Sánchez, 2004). En especies rumiantes como los bovinos y ovinos presentan 14 estadios en su proceso de espermatogénesis (Arévalo et al., 2022).

En base al estudio realizado por (Soares et al., 2009), en el estadio II, las espermátidas redondas tempranas suelen tener una vesícula acrosomal protuberante en la que se ven gránulos pro acrosomales en algunas ocasiones. Al terminar esta etapa, las pequeñas vesículas tienen un solo gránulo acrosómico el cual toma contacto con el núcleo. Por otro lado, las espermátidas elongadas se observan que se mueven hacia la luz del túbulo seminífero. Los espermátocitos de paquiteno se ubican más cercanos a la

lámina basal. Algunas espermatogonias tipo “B” se observan en esta etapa en la periferia del túbulo, así mismo como las células de Sertoli.

En el estadio III, se observa que en las espermátidas redondas presentan un acrosoma que se extiende sobre el núcleo de la célula y la vesícula acrosomal se observa todavía redonda y protuberante. Las espermátidas elongadas se concentran hacia la luz del túbulo, algunas de sus haces se observan disociadas. Las espermatogonias tipo “A” e intermedias se observan en gran cantidad, además de espermátocitos en paquiteno, cuyos núcleos se ven de mayor tamaño que en el anterior estadio (Peters et al., 2000).

En el estadio IV se puede observar que varias de las espermátidas redondas ya poseen una vesícula acrosomal extendida. Las espermátidas elongadas se presentan en proceso de espermiación dirigiéndose ordenadamente hacia la luz del túbulo y grandes cuerpos residuales también se pueden observar justo en el centro del túbulo, esta característica le diferencia de los demás estadios. Las espermatogonias tipo “A” están presentes dispuestas distalmente hacia la lámina basal. Los espermátocitos en fase de preleptoteno y paquiteno se divisan de mayor densidad y en pequeñas cantidades. Las células de Sertoli se disponen en la periferia (Basheva et al., 2008).

En el estadio VIII, la característica principal es la presencia de células germinales en meiosis, por lo tanto, están presentes espermátocitos secundarios y espermátidas redondas tempranas. En comparación con la etapa anterior, los núcleos de las espermátidas elongadas tienen una forma alargada, pero sin definición completa y se disponen de manera desordenada. Los espermátocitos de fase de cigoteno experimentan una transición a paquiteno. Se observa varias espermatogonias tipo “A” y células de Sertoli en la lámina basal (Peters et al., 2000).

Como se observa cada estadio está formado por una combinación diferente de las células germinales en sus distintas etapas de espermatogénesis. De esta manera se

establecen los estadios de la especie, y cada uno de ellos se diferencia justamente por las células presentes, las ausentes y las fases en las que aparecen. En el olinguito se observa con mayor frecuencia al estadio III y IV debido a que en estos es donde hay más concentración de espermatidas elongadas y de cuerpos residuales de espermatozoides. Es decir que son estadios en los que hay mayor auge de actividad de la espermatogénesis que demuestra viabilidad y correcto funcionamiento del testículo, sobre todo el estadio IV donde ocurre la espermiación. De la misma forma se menciona que el estadio IV presenta mayor frecuencia de aparición en los túbulos debido a que su duración es más larga en el proceso de espermatogénesis (Soares et al., 2009).

Los estadios II y VIII aparecen con menor frecuencia en las diferentes razas de perros y en el olinguito por su diversidad celular. En el II predominan células germinales en fases tempranas y en el VIII hay muchos elementos en meiosis, por ende, en ambos las células están en estado cambiante o en un estado transitorio de duración muy corta la cual es previa a la etapa más importante de la diferenciación de la espermatida. Por ello, dichos estadios presentan un porcentaje bajo frente a las otras etapas (Soares et al., 2009).

CONCLUSIONES

Se describió por medio de técnicas histológicas básicas con inclusión en parafina y tinción con hematoxilina al tejido testicular de un olinguito de especie *Bassaricyon neblina*. Con ello, se logró identificar estructuras como los túbulos seminíferos, conductos epididimarios, conducto deferente y sus epitelios. Se describieron las células germinales y las células de Sertoli presentes al interior de los túbulos. Además, se realizó una comparación del tejido correspondiente a un testículo de aspecto normal junto a un testículo con signos edematosos, señalando sus diferencias entre ellos y las similitudes con otras especies de mamíferos y octópodos.

De la misma forma, se clasificó y describió los estadios de la espermatogénesis presente en el olinguito por medio de las placas histológicas obtenidas. De esta manera, se comparó los resultados del olinguito con otras especies determinando su gran similitud con caninos y con felinos, pertenecientes a la familia carnívora al igual que el individuo estudiado. Se concluyó que dentro de los estadios que se observan el IV es el que se presenta con mayor frecuencia en el olinguito y en varias razas de perros debido a su periodo prolongado y su concentración de células en etapa de espermiación.

REFERENCIAS

- Aponte, P., & Bastidas, P. (2001). *Evaluación morfológica cuantitativa del epitelio seminífero en bovinos de raza brahman durante el periodo prepupal*.
https://www.researchgate.net/publication/48360962_EVALUACION_MORFOLOGICA_CUANTITATIVA_DEL_EPITELIO_SEMINIFERO_EN_BOVINOS_DE_RAZA_BRAHMAN_DURANTE_EL_PERIODO_PREPUBERAL
- Arévalo, D., Flores, A. C., Diaz, R. F., Garcia-Herreros, M., & Aponte, P. M. (2022). Filgrastim (r-met-hu G-CSF) enhances the efficiency of spermatogenesis in prepubertal *Bos indicus* bulls. *Reproduction in Domestic Animals*, 57(4), 438-443. <https://doi.org/10.1111/rda.14068>
- Basheva, E., Bidau, C., & Borodin, P. (2008). General pattern of meiotic recombination in male dogs estimated by MLH1 and RAD51 immunolocalization. *Chromosome Research*, 16(5), 709-719. <https://doi.org/10.1007/s10577-008-1221-y>
- Cardona, D., Meza-Joya, F. L., & Colmenares, J. (2016). *New Olingo records (genus Bassaricyon) from the Colombian Andes*. 8.
- Carrión, C. (2022). *Bassaricyon neblina* En: Brito, J., Camacho, M. A., Romero, V. Vallejo, A. F. (eds). *Mamíferos del Ecuador. Version 2018.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador*.
<https://bioweb.bio/faunaweb/mammaliaweb/FichaEspecie/Bassaricyon%20neblina>
- Eslava, P., & Torres, G. (2008). Neoplasias testiculares en caninos: Un caso de tumor de células de Sertoli. *Revista MVZ Córdoba*, 13(1).
<https://doi.org/10.21897/rmvz.413>

- Gartner, L. P., Hiatt, J. L., & Orizaga, J. (2002). *Histología: Texto y atlas* (2^a ed). McGraw-Hill Interamericana.
- Gonçalves, A. M. M., & Borelli, V. (2003). Morphological aspects of the spermatic cord of mice (*Mus musculus*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 40. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962003000700009>
- Helgen, K. M., Pinto, M., Kays, R., Helgen, L., Tsuchiya, M., Quinn, A., Wilson, D., & Maldonado, J. (2013). Taxonomic revision of the olingos (*Bassaricyon*), with description of a new species, the Olinguito. *ZooKeys*, 324, 1-83. <https://doi.org/10.3897/zookeys.324.5827>
- Lacasta, D., Ferrer, L. M., Ramos, J. J., & Ochoa, P. G. (2009). Ultrasonographic Diagnosis of Unilateral Scrotal Hernia, Varicocele and Sperm Granuloma in a Ram. *Acta Veterinaria Brno*, 78(4), 657-659. <https://doi.org/10.2754/avb200978040657>
- López, D. (2009). Descripción histológica de los estadios de maduración gonadal en los pulpos *Octopus bimaculoides* y *Octopus rubescens*. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*, 9(16), 128. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2016.16.56907>
- Mehanna, M., Ferreira, A. L. S., Ferreira, A., Paz, R. C. R. da, & Morgado, T. O. (2018). Histology of the testis and the epididymal ducts from hoary fox *Lycalopex vetulus* (Lund, 1842). *Bioscience Journal*, 1697-1705. <https://doi.org/10.14393/BJ-v34n6a2018-39395>
- Mejía, J. A., Sánchez, H., Priego, A., Cárdenas, E., & Sánchez, J. A. (2017). Rbdomiosarcoma testicular primario: Reporte de un caso. *Cirugía y Cirujanos*, 85(2), 143-147. <https://doi.org/10.1016/j.circir.2015.09.007>

- Okuyama, M. (2014). *Male reproductive characteristics and genetic polymorphism of feral raccoons (Procyon lotor) in Hokkaido*. Hokkaido University.
<https://doi.org/10.14943/doctoral.k11275>
- Peters, M., de Rooij, D., & Teerds, K. (2000). *Spermatogenesis and testicular tumours in ageing dogs*.
- Romero, N. M. (2016). *Descripción de la espermatogénesis en el caballo empleando la biopsia testicular: Descripción de 3 casos*. 38.
- Sánchez, Belén. (2004). *Evolución testicular felina: Estudio histológico, inmunohistoquímico y ultraestructural : trabajo presentado para optar al grado de Doctor en Veterinaria*. [Universidad Complutense], Servicio de Publicaciones.
- Soares, J. M., Avelar, G. F., & França, L. R. (2009). The seminiferous epithelium cycle and its duration in different breeds of dog (*Canis familiaris*). *Journal of Anatomy*, 215(4), 462-471. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.01122.x>
- Tirira, D. (2018). *MAMMALS OF ECUADOR: UPDATED SPECIES CHECK LIST*. 49.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16053.58080>
- UICN. (2020a). *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-1*. Available at: <https://www.iucnredlist.org/es/species/48637280/166523067>. (Accessed: 08 Dec 2022).
- UICN. (2020b). *The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-1*.
Bassaricyon neblina.
<https://www.iucnredlist.org/es/species/48637280/166523067>
- Uno, T., Kato, T., Seki, Y., Kawakami, E., & Hayama, S. (2014). Methods of evaluating the spermatogenic ability of male raccoons (*Procyon lotor*). *Journal of*

Reproduction and Development, 60(6), 421-425.

<https://doi.org/10.1262/jrd.2014-011>

Varesi, S., Vernocchi, V., Faustini, M., & Luvoni, G. C. (2013). Morphological and acrosomal changes of canine spermatozoa during epididymal transit. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 55(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-17>