

Ciclo del Epitelio Seminífero en Ratones Rockland. Efecto de una Dosis Aguda de Radiación Gamma*

ESTELA PEDRAZZINI y GRACIELA E. HURTADO de CATALFO

*Cátedra de Biología General, Departamento de Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,
calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

RESUMEN. El ciclo del epitelio seminífero se analizó en secciones de testículo de ratones adultos teñidas con PAS-Hematoxilina. En un grupo no tratado y en otro sacrificado 52 h después de la irradiación con 40 rad de rayos Gamma se halló una particular distribución de las frecuencias relativas en túbulos en los 12 estadios en los ratones Rockland. El análisis estadístico demostró la existencia de variaciones individuales en ambos grupos. Como el ciclo espermatogénico ha sido determinado en diversas cepas o híbridos en disímiles condiciones experimentales, se sugiere considerar el ciclo promedio de una cepa teniendo en cuenta las variaciones entre ratones y trabajar en condiciones de asignación óptima para la muestra (número de animales) y la submuestra (número de túbulos contados por ejemplar) para controlar esa variabilidad. En los animales irradiados se observó un leve alargamiento de los estadios I a VIII pero la cinética del ciclo no resultó sustancialmente alterada, porque el tiempo requerido para que las espermatogonias en desarrollo tipos A₄, Intermedio y B alcanzaran los estadios VI, VII y VIII, respectivamente, fue de 52 h para ambos grupos experimentales.

SUMMARY. "Cycle of the seminiferous epithelium in Rockland mice. Effect of a single dose of Gamma radiation". The cycle of the seminiferous epithelium was analyzed in PAS-Hematoxylin stained testicular sections from adult mice. An untreated group and another killed 52 h after irradiation with 40 rad of Gamma-rays showed a particular distribution of the relative frequencies of the 12 tubular stages for the Rockland mice. Individual variations for both groups were demonstrated by statistical analysis. As the spermatogenic cycle has been determined in several strains or hybrids under various experimental conditions, it is suggested to consider the average cycle of a strain taking notice of variations between mice and to control such a variability working in conditions of the optimum assignment for the sample (number of animals) and the subsample (number of tubules scored per each mouse). Although it was observed a slight lengthening from stages I to VII in the irradiated animals, it may be concluded that the cycle kinetics has not been substantially disturbed, because the time required for the developing type A₄, Intermediate and type B spermatogonia to reach stages VI, VII and VIII respectively was of 52 h for both experimental groups.

* El presente trabajo se realizó con el apoyo del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina.

** Miembro de la Carrera del Investigador Científico y Tecnológico del CONICET.

PALABRAS CLAVE: Testículo de ratón; Epitelio seminífero; Estadios espermatogénicos; Efecto de radiación Gamma.

KEY WORDS: Mouse testis; Seminiferous epithelium; Spermatogenic stages; Gamma radiation effect.

INTRODUCCION

El testículo es altamente susceptible a la acción de agentes nocivos, cuyos efectos pueden tener consecuencias negativas sobre el individuo, su actividad reproductora y eventualmente su progenie. Por sus características estructurales y funcionales constituye un excelente modelo experimental para evaluar el daño inducido en las células espermatogénicas por radiaciones o fármacos.

Quienes contribuyeron inicialmente al conocimiento de la estructura testicular y del mecanismo de la espermatogénesis en ratón fueron Leblond y Clermont¹, Oakberg²⁻⁴ y Huckins y Oakberg⁵, definiendo 12 estadios en el ciclo del epitelio seminífero y un modelo de renovación de las células espermatogénicas.

Después que Oakberg³ determinara las frecuencias relativas de los estadios del ciclo en ratones C3Hx101, utilizando los criterios por él establecidos diversos investigadores realizaron el mismo análisis en otras cepas o híbridos⁶⁻⁸. Así se demostró que si bien las asociaciones celulares que caracterizan a cada uno de los estadios y la duración de un ciclo son constantes para la especie, existen diferencias intraespecíficas en la distribución de frecuencias de los 12 estadios y por lo tanto en la duración de los mismos.

El análisis de la cinética del ciclo en ratón fue de gran utilidad para evaluar la acción de agentes químicos y radiaciones ionizantes sobre las células espermatogénicas⁷⁻¹². Quedó así establecido que toda vez que se desee evaluar la quimio- y/o radiosensibilidad de poblaciones celulares del epitelio seminífero analizando su sobrevivencia en estadios específicos del ciclo, será necesario conocer la cinética de la espermatogénesis en la cepa de ratones en experimentación.

También existen antecedentes de estudios sobre la cinética del ciclo en animales

tratados con radiaciones ionizantes (Gamma, X, piones) en condiciones diversas y con resultados diversos. En ratones SAS/4 no se hallaron diferencias significativas en la distribución de frecuencias de túbulos seminíferos en los 12 estadios entre un grupo control y otro irradiado con X y piones, muestreando 46 o 96 h después de la irradiación⁷. En ratones KP, KE, CBA-Kw y C57Bl-Kw irradiados con 50 rad de rayos X y evaluando el ciclo luego de 28 días de iniciado el tratamiento, se hallaron diferencias significativas entre controles e irradiados manifestándose la cepa C57Bl-Kw como la más radioresistente⁸.

En este trabajo se analiza el ciclo del epitelio seminífero, tanto en animales controles como en animales tratados con una dosis aguda de radiación Gamma, con el objetivo de conocer la cinética de la espermatogénesis y la radiosensibilidad del ciclo en ratones Rockland.

El conocimiento del ciclo en esta cepa de ratones podrá ser de utilidad para estudiar la acción de fármacos utilizados en quimioterapia, especialmente drogas anticancerígenas cuya toxicidad produce cambios morfológicos y/o muerte celular en estadios específicos del ciclo¹³⁻¹⁵.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ratones machos de la cepa Rockland* de 11 semanas de edad que fueron mantenidos en condiciones controladas de temperatura y humedad, con iluminación programada (12 h de luz - 12 h de oscuridad) y con acceso constante a alimento y agua. El grupo control estuvo constituido por 8 ratones; los restantes 6 recibieron 40 rad de radiación Gamma (⁶⁰Co)**, a una tasa de radiación de 50 rad/min.

* cepa endocriada en los Laboratorios Bagó - La Plata, Argentina.

** realizado en el Instituto de Medicina Nuclear de La Plata.

Una vez disecados, los testículos se fijaron en líquido de Orth, se incluyeron en parafina y se realizaron cortes seriados de 5 micrones de espesor. Las preparaciones se colorearon mediante la técnica de PAS-Hematoxilina¹; esta coloración pone en evidencia los cambios morfológicos del acrosoma de las espermátides en maduración, los que se hallan sincronizados con los que ocurren en las espermatogonias y espermatocitos de la periferia de los túbulos seminíferos.

El análisis del ciclo del epitelio seminífero se realizó en túbulos de sección circular con las 4 capas de células espermatogénicas completas. El espaciamiento mínimo entre los cortes fue de 100 micrones. Se contó un mínimo de 500 túbulos por animal, con un total de 5.048 túbulos en el control y 3.000 en el grupo irradiado.

En primer término se determinaron en los controles las frecuencias relativas de los 12 estadios y la duración de cada uno, teniendo en cuenta la duración del ciclo en la especie, estimada en 207 h³. Para determinar el tiempo entre irradiación y muestreo del grupo tratado se adoptó como criterio utilizar el tiempo requerido en los controles para que las espermatogonias en desarrollo tipo A₄ (Estadios I-II), tipo Intermedio (Estadios II-IV) y tipo B (Estadios IV-VI) alcanzaran los estadios VI, VII y VIII respectivamente, transcurriendo al menos una división mitótica.

Métodos estadísticos. Los datos fueron analizados mediante pruebas de χ^2 y análisis de varianza. El test χ^2 fue utilizado para evaluar la homogeneidad en la distribución de túbulos en los 12 estadios en cada grupo experimental. La variabilidad subyacente a valores de χ^2 significativos fue estudiada mediante residuos ajustados¹⁶. Los residuos ajustados son muy útiles en estudios de reproducción donde se realicen conteos de

diversos estadios del desarrollo de células sexuales¹⁷.

La transformación $y = \text{arc sen } \sqrt{f}$ se utilizó para calcular la varianza de cada estadio, tanto en el grupo control como en el grupo irradiado, a fin de determinar el número óptimo de ratones (muestra) y el número óptimo de túbulos a contar en cada ejemplar (submuestra). Se tuvo en cuenta, además: a) el tiempo transcurrido para obtener las preparaciones y para reconocer un estadio, y b) la precisión deseada en la determinación de la frecuencia media de cada estadio¹⁸.

Para evaluar la incidencia del factor dosis sobre el ciclo se realizó, por una parte, el test χ^2 y análisis de residuos, utilizando el ciclo promedio de cada grupo experimental. Por otra parte, con las frecuencias transformadas se realizó análisis de varianza jerarquizado, empleando los datos recopilados en los 6 animales tratados y en 6 de los controles.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se consignan las frecuencias relativas de los 12 estadios (I a XII) del ciclo del epitelio seminífero de los ratones Rockland, controles y tratados respectivamente, así como el número de túbulos contados en cada ejemplar y los totales correspondientes a cada grupo experimental. Con las frecuencias totales del grupo control se calculó la duración en horas de cada estadio y de acuerdo al criterio referido en el capítulo anterior, se estimó en 52 h el intervalo entre irradiación y muestreo del grupo tratado.

El test χ^2 mostró variaciones entre individuos en ambos grupos ($p < 0,001$ en controles, $p < 0,05$ en tratados). Se señalan en la Tabla 1 los estadios y los animales con residuos significativos que dan origen a la heterogeneidad observada.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
fR_1 $nR_1 = 602$	0,1196	0,0847*	0,0316	0,1013	0,0631**	0,1179	0,0797	0,0764*	0,1030	0,0449	0,0880	0,0897
fR_2 $nR_2 = 588$	0,1173	0,1173	0,0289	0,0901	0,0459	0,1156	0,0561	0,0833	0,0918*	0,0408	0,1054	0,1071
fR_3 $nR_3 = 500$	0,1280	0,1160	0,0320	0,0940	0,0340	0,1080	0,0760	0,0800	0,1200	0,0500	0,1100	0,0520
fR_4 $nR_4 = 506$	0,1008	0,1126	0,0375	0,0791	0,0356	0,0968	0,0929*	0,1245*	0,1245	0,0316	0,0771	0,0870
fR_5 $nR_5 = 512$	0,1152	0,1387*	0,0371	0,0996	0,0449	0,1230	0,0605	0,0977	0,1172	0,0176	0,0547	0,0938
fR_6 $nR_6 = 698$	0,0974	0,1160	0,0473	0,0888	0,0444	0,1132	0,0587	0,0917	0,1347	0,0559	0,0960	0,0559
fR_7 $nR_7 = 777$	0,1107	0,1081	0,0476	0,0862	0,0347	0,0656**	0,0669	0,0978	0,1532*	0,0502	0,0991	0,0798
fR_8 $nR_8 = 865$	0,0936	0,1029	0,0370	0,0925	0,0358	0,0948	0,0694	0,1318*	0,1225	0,0520	0,0659	0,1017
f Total $nT = 5048$	0,1090	0,1109	0,0380	0,0913	0,0420	0,1024	0,0693	0,0994	0,1224	0,0444	0,0868	0,0840

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Tabla 1a. Grupo control - Frecuencias relativas de los 12 estadios

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
fB_9 $nB_9 = 500$	0,1060	0,0960	0,0240*	0,0940	0,0380	0,1160	0,1000	0,0720	0,1160	0,0480	0,0880	0,1020
fB_{10} $nB_{10} = 500$	0,1220	0,1360	0,0400	0,0760	0,0420	0,1120	0,0780	0,0820	0,1120	0,0380	0,0660	0,0960
fB_{11} $nB_{11} = 500$	0,1280	0,1140	0,0360	0,1000	0,0440	0,0960	0,0740	0,0920	0,1280	0,0360	0,0780	0,0740
fF_{31} $nF_{31} = 500$	0,1100	0,1420	0,0580*	0,0980	0,0640	0,1100	0,0720	0,0780	0,1020	0,0480	0,0540	0,0640
fF_{32} $nF_{32} = 500$	0,1160	0,1180	0,0520	0,1100	0,0640	0,1220	0,0980	0,0860	0,1020	0,0320	0,0420	0,0580
fF_{33} $nF_{33} = 500$	0,1040	0,0960	0,0340	0,0700	0,0320	0,1020	0,0920	0,1240**	0,1060	0,0540	0,0920*	0,0940
f Total $nT = 3.000$	0,1143	0,1170	0,0407	0,0913	0,0473	0,1097	0,0857	0,0890	0,1110	0,0427	0,0700	0,0813

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Tabla 1b. Grupo irradiado - Frecuencias relativas de los 12 estadios.

Calculada la asignación óptima de la muestra y la submuestra para cada grupo, admitiendo un error de $\pm 0,02$, con una seguridad de 0,95, en la determinación de la frecuencia media de cada estadio se halló un óptimo de 6 animales y 497 túbulos, para el grupo control, y un óptimo de 5 ratones y 488 túbulos para el grupo irradiado. De la comparación con los datos experimentales indicados en la Tabla 1 se infiere que se han analizado los dos grupos en condiciones de asignación óptima. Se puede decir entonces que el ciclo calculado con las frecuencias totales de túbulos en cada estadio representa el ciclo promedio de la cepa y de la cepa irradiada con 40 rad de rayos Gamma, respectivamente.

En la Tabla 2 se expresa en horas la duración de los estadios del ciclo promedio, el cual se halla representado en escala lineal en la Fig. 1. Se indican para ambos grupos los estadios I a XII y los sectores correspondientes a las espermatogonias A_4 , Intermedias y B.

El análisis de varianza para evaluar si la radiación afecta significativamente el ciclo de la cepa Rockland luego de 52 h de realizado el tratamiento, indicó una variación no significativa entre dosis (0 y 40 rad). Sin embargo la comparación de los valores medios entre el grupo control y el irradiado para cada uno de los 12 estadios, arrojó diferencias significativas para los estadios VII y XI (método de mínimas diferencias significativas). Por otra parte el test χ^2 dio dife-

Estadio	Duración (horas)	
	Grupo control	Grupo irradiado
I	22,6	23,7
II	23,0	24,2
III	7,9	8,4
IV	18,9	18,9
V	8,7	9,8
VI	21,2	22,7
VII	14,3	17,7
VIII	20,6	18,4
IX	25,3	23,0
X	9,2	8,8
XI	18,0	14,5
XII	17,4	16,8

Tabla 2. Duración de los 12 estadios del ciclo del epitelio seminífero.

rencias significativas ($p < 0,05$) entre el ciclo promedio del grupo control y el ciclo promedio del grupo irradiado, independientemente de las variaciones individuales, y se verificó mediante análisis de residuos que esas diferencias se debieron a los estadios VII y XI. El estadio VII fue significativamente más frecuente en el grupo irradiado ($p < 0,01$) en tanto que el XI lo fue en el grupo control ($p < 0,01$).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis del ciclo del epitelio seminífero en los ratones Rockland reveló una particular distribución de los estadios y la

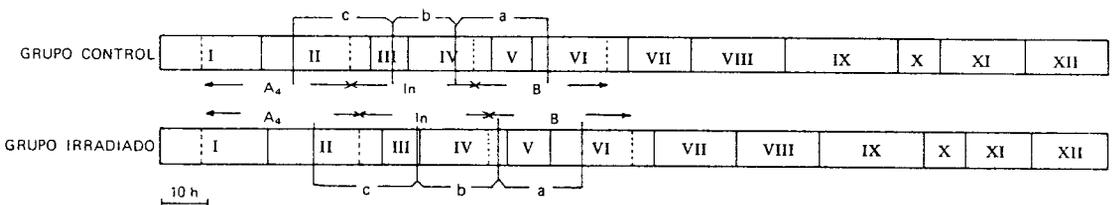


Figura 1. Representación lineal del ciclo del epitelio seminífero de ratones Rockland. a: sector de las espermatogonias en desarrollo que, en 52 h alcanzarán el estadio VIII; b: sector de las que alcanzarán el VII; c: sector de las que alcanzarán el VI.

a)

autor	Oakberg 1956	Bianchi - Tiglao 1976			Lambert 1982	Gasińska - Godowicz 1983			
cepa	F ₁ C3H♂ x 101♀	C3H	F ₁ C3H♂ x C57Bl♀	F ₁ ARR♂ x C3H♀	SAS/4	KP	KE	C57Bl-Kw	CBA-Kw
Nº animales	12	8 + 2	6	6	?	7	6	7	8
Nº túbulos por animal	250	500 1000	500	500	?	100	100	100	100
Nº túbulos totales	3000	6005	3008	3019	2000	700	600	700	800

b)

autor	Lambert 1982	Gasińska - Godowicz 1983			
cepa	SAS/4	KP	KE	C57Bl-Kw	CBA-Kw
radiación	X-Pion	X	X	X	X
dosis	?	50 rad	50 rad	50 rad	50 rad
Nº animales	?	5	5	6	6
Nº túbulos por animal	?	100	100	100	100
Nº túbulos totales	2000	500	500	600	600

Tabla 3. Cepas o híbridos en que se determinó el ciclo. a) sin irradiar. b) irradiados.

existencia de variaciones entre individuos, tanto en controles como en tratados. Dicha variabilidad no es exclusiva de esta cepa de ratones, tal como lo verificamos efectuando el mismo análisis estadístico con los datos que nos suministrara la Dra. Marilena Bianchi (European Organization for Nuclear Research-CERN, Ginebra, Suiza) de los ratones C3H, C3HxC57Bl y ARRxC3H⁶. Sería lícito presuponer que en otras cepas (C3Hx101², KP, KE, C57Bl-Kw y CBA-Kw⁸) podrían darse variaciones individuales, aún cuando no haya sido mencionado. Sin embargo dicha variabilidad debería tomarse en consideración cuando se persiguen propósitos comparativos o cuando se desea evaluar el efecto de algún agente nocivo sobre las células espermatogénicas.

Cabe señalar que en las secciones testiculares los estadios de túbulos seminíferos adyacentes no están ubicados al azar, existiendo una distribución ordenada de los túbulos dentro del testículo, controlada quizás localmente, tal como ha sido descrito por Redi¹⁹. Esta podría ser una de las causas de la diversidad encontrada en las distintas cepas de ratones y aún de las diferencias individuales.

Al comparar nuestros datos con los de otros autores (Tabla 3) advertimos las condiciones muy disímiles en que se determinó el ciclo en las diversas cepas o híbridos (irradiados y sin irradiar).

Teniendo en cuenta estas consideraciones surgió nuestra propuesta de trabajar en condiciones de asignación óptima tanto pa-

Calculada la asignación óptima de la muestra y la submuestra para cada grupo, admitiendo un error de $\pm 0,02$, con una seguridad de 0,95, en la determinación de la frecuencia media de cada estadio se halló un óptimo de 6 animales y 497 túbulos, para el grupo control, y un óptimo de 5 ratones y 488 túbulos para el grupo irradiado. De la comparación con los datos experimentales indicados en la Tabla 1 se infiere que se han analizado los dos grupos en condiciones de asignación óptima. Se puede decir entonces que el ciclo calculado con las frecuencias totales de túbulos en cada estadio representa el ciclo promedio de la cepa y de la cepa irradiada con 40 rad de rayos Gamma, respectivamente.

En la Tabla 2 se expresa en horas la duración de los estadios del ciclo promedio, el cual se halla representado en escala lineal en la Fig. 1. Se indican para ambos grupos los estadios I a XII y los sectores correspondientes a las espermatogonias A_4 , Intermedias y B.

El análisis de varianza para evaluar si la radiación afecta significativamente el ciclo de la cepa Rockland luego de 52 h de realizado el tratamiento, indicó una variación no significativa entre dosis (0 y 40 rad). Sin embargo la comparación de los valores medios entre el grupo control y el irradiado para cada uno de los 12 estadios, arrojó diferencias significativas para los estadios VII y XI (método de mínimas diferencias significativas). Por otra parte el test χ^2 dio dife-

Estadio	Duración (horas)	
	Grupo control	Grupo irradiado
I	22,6	23,7
II	23,0	24,2
III	7,9	8,4
IV	18,9	18,9
V	8,7	9,8
VI	21,2	22,7
VII	14,3	17,7
VIII	20,6	18,4
IX	25,3	23,0
X	9,2	8,8
XI	18,0	14,5
XII	17,4	16,8

Tabla 2. Duración de los 12 estadios del ciclo del epitelio seminífero.

rencias significativas ($p < 0,05$) entre el ciclo promedio del grupo control y el ciclo promedio del grupo irradiado, independientemente de las variaciones individuales, y se verificó mediante análisis de residuos que esas diferencias se debieron a los estadios VII y XI. El estadio VII fue significativamente más frecuente en el grupo irradiado ($p < 0,01$) en tanto que el XI lo fue en el grupo control ($p < 0,01$).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

El análisis del ciclo del epitelio seminífero en los ratones Rockland reveló una particular distribución de los estadios y la

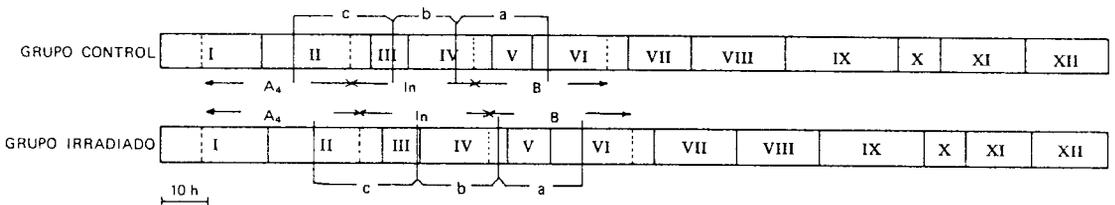


Figura 1. Representación lineal del ciclo del epitelio seminífero de ratones Rockland. a: sector de las espermatogonias en desarrollo que, en 52 h alcanzarán el estadio VIII; b: sector de las que alcanzarán el VII; c: sector de las que alcanzarán el VI.

a)

autor	Oakberg 1956	Bianchi - Tiglao 1976			Lambert 1982	Gasińska - Godowicz 1983			
cepa	F ₁ C3H♂ x 101♀	C3H	F ₁ C3H♂ x C57Bl♀	F ₁ ARR♂ x C3H♀	SAS/4	KP	KE	C57Bl-Kw	CBA-Kw
Nº animales	12	8 + 2	6	6	?	7	6	7	8
Nº túbulos por animal	250	500 1000	500	500	?	100	100	100	100
Nº túbulos totales	3000	6005	3008	3019	2000	700	600	700	800

b)

autor	Lambert 1982	Gasińska - Godowicz 1983			
cepa	SAS/4	KP	KE	C57Bl-Kw	CBA-Kw
radiación	X-Pion	X	X	X	X
dosis	?	50 rad	50 rad	50 rad	50 rad
Nº animales	?	5	5	6	6
Nº túbulos por animal	?	100	100	100	100
Nº túbulos totales	2000	500	500	600	600

Tabla 3. Cepas o híbridos en que se determinó el ciclo. a) sin irradiar. b) irradiados.

existencia de variaciones entre individuos, tanto en controles como en tratados. Dicha variabilidad no es exclusiva de esta cepa de ratones, tal como lo verificamos efectuando el mismo análisis estadístico con los datos que nos suministrara la Dra. Marilena Bianchi (European Organization for Nuclear Research-CERN, Ginebra, Suiza) de los ratones C3H, C3HxC57Bl y ARRxC3H⁶. Sería lícito presuponer que en otras cepas (C3Hx101², KP, KE, C57Bl-Kw y CBA-Kw⁸) podrían darse variaciones individuales, aún cuando no haya sido mencionado. Sin embargo dicha variabilidad debería tomarse en consideración cuando se persiguen propósitos comparativos o cuando se desea evaluar el efecto de algún agente nocivo sobre las células espermatozógenas.

Cabe señalar que en las secciones testiculares los estadios de túbulos seminíferos adyacentes no están ubicados al azar, existiendo una distribución ordenada de los túbulos dentro del testículo, controlada quizás localmente, tal como ha sido descrito por Redi¹⁹. Esta podría ser una de las causas de la diversidad encontrada en las distintas cepas de ratones y aún de las diferencias individuales.

Al comparar nuestros datos con los de otros autores (Tabla 3) advertimos las condiciones muy disímiles en que se determinó el ciclo en las diversas cepas o híbridos (irradiados y sin irradiar).

Teniendo en cuenta estas consideraciones surgió nuestra propuesta de trabajar en condiciones de asignación óptima tanto pa-

ra la muestra (número de animales) como para la submuestra (número de túbulos contados en cada ejemplar) con el objeto de eliminar fuentes de variación metodológicamente controlables.

En cuanto al efecto de una dosis de 40 rad sobre el ciclo de los ratones Rockland, no se hallaron razones de índole biológica para explicar las diferencias en los estadios VII y XI entre controles y tratados. El ligero desplazamiento de los estadios I a VII en los ratones irradiados podría interpretarse como debido a un alargamiento de los ciclos celulares de las espermatogonias A₄, Intermedias y B, producido por un retraso en la iniciación de la mitosis. Ese retraso ha sido estimado en 2,5 h después de 20-50 rad y en 3 a 4 h después de 100 rad²⁰. Esta observación se correlaciona bien con nuestros resultados (Fig. 1).

A pesar de las diferencias entre el ciclo promedio de controles y tratados y de los fundamentos que intentan explicarlas, con un intervalo de 52 h para la toma de muestra, los estadios VI, VII y VIII del ciclo representan, en los irradiados, la progenie de las células que 52 h antes eran, respectivamente, espermatogonias A₄, Intermedias y B. Esta referencia, que ha sido tomada por nosotros para evaluar la radiosensibilidad

del ciclo, no se ha modificado por efecto de la dosis suministrada, en relación a los controles (Fig. 1). Por lo tanto concluimos que con una dosis de 40 rad de radiación Gamma y con un tiempo de fijación post-irradiación de 52 h no se afectaría sustancialmente el ciclo de los ratones Rockland.

Nuestros resultados se aproximan a los de Lambert *et al.*⁷ con rayos X o piones, quienes utilizaron tiempos post-irradiación semejantes (46 h para espermatogonias tipo B y 96 h para tipos A₄ e Intermedio) y concluyeron que la cinética de la espermatogénesis no ha sido afectada. Por el contrario se apartan de los de Gasinska y Godowicz⁸, quienes analizaron el ciclo 28 días después de una dosis de 50 rad de rayos X. No debería descartarse la incidencia del factor tiempo transcurrido entre irradiación y muestreo, ni tampoco la mayor o menor susceptibilidad a la radiación inherente a cada cepa, en la manifestación de alteraciones del ciclo más o menos importantes y de carácter transitorio o permanente.

AGRADECIMIENTOS. Al Dr. R.L. Wainberg por su dirección, al Laboratorio Bagó y al Instituto de Medicina Nuclear de La Plata. A los Lic. Carlos del Santo y Jorge López Camelo por su asesoramiento en el análisis estadístico.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Leblond, C.P. y Y. Clermont (1952) *Am. J. Anat.* 90: 167-215
2. Oakberg, E.F. (1956) *Am. J. Anat.* 99: 391-409
3. Oakberg, E.F. (1956) *Am. J. Anat.* 99: 507-16
4. Oakberg, E.F. (1971) *Anat. Rec.* 169: 515-32
5. Huckins, C. y E.F. Oakberg (1978) *Anat. Rec.* 192: 519-28
6. Bianchi, M. y X.V. Tiglao (1976) *Experientia* 32: 503-4
7. Lambert, B.E., M.L. Phipps, J.E. Coggle, R.W. Davies y D.M. Peel (1982) *Brit. J. Radiol.* 55: 147-50
8. Gasińska, A. y B. Godowicz (1983) *Folia Histochem. Cytochem.* 21: 219-30
9. Oakberg, E.F. (1955) *Radiat. Res.* 2: 369-91
10. Oakberg, E.F. (1957) *J. Exp. Zool.* 134: 343-56
11. Bianchi, M. (1983) en "Cytotoxic Insult to Tissue: Effects on Cell Lineages" (C.S. Potten y J.H. Hendry, Eds.), Churchill Livingstone, Edinburgh, págs. 259-307

11. Bianchi, M., J.I. Delic, G. Hurtado de Catalfo y J.H. Hendry (1985) *Int. J. Radiat. Biol.* 48: 579-88
13. Hodel, C., R.A. Ettlín y A. Zschauer (1984) *Arch. Toxicol.*, Suppl. 7: 147-50
14. Ettlín, R.A., R. Bechter, I.P. Lee y C. Hodel (1984) *Arch. Toxicol.*, Suppl., 7: 151-4
15. Da Cunha, M.F., M.L. Meistrich y M.V. Finch-Neimeyer (1985) *J. Androl.* 6: 225-9
16. Haberman, S.J. (1973) *Biometrics* 29: 205-20
17. Grant, A. y P.A. Tyler (1983) *Int. J. Inv. Reprod.* 6: 271-83
18. Cochran, W. (1971) "Técnicas de Muestreo", CECSA, México
19. Redi, C.A. (1986) *Andrologia* 18: 25-32
20. Monesi, V. (1962) *Radiat. Res.* 17: 809-38