

144
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO HISTOLOGICO DE LA MADUREZ
GONADAL DEL RATON DE LOS VOLCANES
(Neotomodon alstoni alstoni) EN EL
LABORATORIO (F₁).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ROSARIO ORTIZ HERNANDEZ

México, D. F.

Marzo de 1990



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO.

Introducción..... 1

PRIMERA PARTE.

Revisión de la literatura sobre la madurez sexual en los mamíferos.

1.- Pubertad y Madurez Sexual en los mamíferos..... 5
2.- Madurez Sexual en los roedores..... 11
3.- Madurez Sexual en Neotomodon alstoni alstoni..... 15
4.- Factores ambientales en la madurez sexual..... 17

SEGUNDA PARTE.

Revisión de la literatura sobre la Histofisiología del Testículo y del Ovario.

I.- Testículo.

1.- Endocrinología del eje hipotálamo-hipófisis-testículo..... 22
2.- Espermatogénesis..... 37
3.- Célula de Sertoli..... 64
4.- Célula de Leydig..... 69

II.- Ovario.

1.- Ciclo Estral..... 73
2.- Ciclo Ovárico..... 75
3.- Mecanismos intraovaricos en el crecimiento folicular..... 80
4.- Crecimiento folicular..... 87
5.- Histología del ovario..... 95

TERCERA PARTE.

Sección Experimental.

1.- Objetivos.....	113
2.- Material y Métodos.....	114
3.- Resultados.	
A.- Testículo.....	119
B.- Ovario.....	126
4.- Discusión.....	137
A.- Testículo.....	138
B.- Ovario.....	148
5.- Conclusiones.....	157

CUARTA PARTE.

Resumen General, Figuras, Tablas, Gráficas Bibliografía.

1.- Resumen General.....	158
2.- Figuras.....	162
3.- Tablas.....	184
4.- Gráficas.....	187
5.- Bibliografía.....	193

INTRODUCCION.

Desde la década de los 50, numerosos investigadores han planteado la necesidad de adaptar al laboratorio nuevas especies silvestres, con la finalidad de que estas permitan superar de alguna manera el actual retraso que representa el número limitado de especies en las que se experimenta y estudia la biología y etiología de las enfermedades tanto humanas como animales.

En México se ha estudiado en los últimos años Neotomodon alstoni alstoni roedor endémico de la fauna mexicana con el propósito de ofrecerlo en un futuro no lejano a México y demás países del mundo, como un nuevo animal de laboratorio. Se ha elegido a este animal por la facilidad con que se captura, docilidad de manejo, su buena capacidad de adaptación al laboratorio y la facilidad con que se reproduce en el laboratorio (Granados, 1976; Estrada, et. al., 1978).

El género Neotomodon fué descrito por Merriam en 1898, considerandose la existencia de tres especies N. alstoni, N. perotensis y N. orizabae, más tarde Miller y Rhen (1902) consideraron a estas tres especies dentro de la subfamilia Neotomidae de la familia Muridae, al lado de los géneros Neotoma, Nelsonia, Xenomus y Hodamus. En 1910, Goldman estudió al género Neotomodon y lo colocó en la subfamilia Cricetinae junto con

Peromyscus y otros géneros semejantes, además Davis y Follasbee (1945), estudiando los hábitos, la morfología somática y craneal determinaron que el género Neotomodon esta relacionado con el género Peromyscus y además que el género Neotomodon está constituido por dos subespecies, Neotomodon alstoni alstoni y Neotomodon alstoni perotensis (Zarco, 1981). Sin embargo Williams, et. al., en 1985, no consideran al género Neotomodon sinónimo de Peromyscus basando su argumentación principalmente en estudios anatómicos. La reubicación taxonómica de Neotomodon según estos autores es a partir del nivel de superfamilia, familia y subfamilia quedando así en un grupo diferente al del género Peromyscus. Para el propósito específico de nuestro trabajo, consideramos poco pertinente discutir esta divergencia en cuanto a la ubicación taxonómica de Neotomodon, considerándolo por tanto dentro de la clasificación establecida en 1984 (Zarco, 1981).

Clasificación según Merrian
en 1898.

Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Clase: Mammalia
Subclase: Eutheria
Orden: Rodentia
Familia: Cricetidae
Subfamilia: Cricetinae
Género: Neotomodon

Clasificación según Williams
et. al. 1985.

Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Clase: Mammalia
Subclase: Eutheria
Orden: Rodentia
Familia: Muridae
Subfamilia: Sigmodontidae
Género: Neotomodon

Especie: alstoni

Especie: alstoni

Subespecie: alstoni

Subespecie: alstoni

Neotomodon alstoni alstoni es una especie endémica del eje transversal neovolcánico. En cuanto a sus características somáticas la coloración del dorso es gris negruzca, siendo más oscura a lo largo de la columna vertebral. La región ventral es plomiza mezclada con blanco, y en la región pectoral, hay difundido un color amarillento. Las rodillas y tobillos son negruzcos, las patas blancas y la cola es negruzca en la parte dorsal y blanquecina en la parte ventral (Estrada, 1978; Zarco, 1981).

En estudios en los que se describe el crecimiento de animales silvestres en el laboratorio, se ha visto que los machos alcanzan un peso promedio máximo de 62 grs. a las 76 semanas posteriores a su captura; y en las hembras el peso promedio máximo es de 65 grs. a las 63 semanas (Granados, y Ramirez, 1986).

Neotomodon es un animal de hábitos nocturnos, su actividad comienza al atardecer, terminando cerca de la media noche, con un máximo entre 8 y 9 de la noche.

Su periodo de reproducción en el campo no se ha establecido, sin embargo, se ha descrito que en estado silvestre la actividad reproductora se inicia antes del 23 de junio y termina a mediados de agosto (Zarco, 1981); otros reportes hablan de que los

apareamientos se inician en el mes de marzo (Villa, 1952). En el laboratorio se han observado nacimientos durante todos los meses del año, excepto en noviembre. El periodo de gestación dura de 25 a 35 días con un promedio aproximado de 30 días (Martin y Alvarez, 1982).

El estudio que ha continuación se presenta forma parte del proyecto de investigación sobre la biología fundamental del ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni), que se realiza en el laboratorio de Biología Animal Experimental desde 1974.

El presente trabajo comprende la investigación sobre un aspecto básico de la biología de la reproducción de este ratón, en el cual se establece la madurez gonadal histológica del testículo y del ovario, proponiendo con ello un parámetro más a los ya existentes, para definir la madurez sexual en estos animales.

PRIMERA PARTE

1.- Pubertad y Madurez Sexual en Mamíferos.

A lo largo del tiempo, para definir la pubertad y madurez sexual se ha hecho énfasis principalmente en características tales como la capacidad de copular y la perforación del orificio vaginal, así como la presencia de ciclo estral para las hembras; en el caso de los machos están involucrados el descenso de los testículos al escroto y la presencia de espermatozoides en testículo y epidídimo (Asdell, 1964; Austin, y Short, 1972). En la última década esta información se ha relacionado con estudios en cuanto a los niveles de la hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH) y esteroides gonadales, la capacidad de respuesta de las gónadas a dichas hormonas, así como con los diferentes factores genéticos y medio ambientales que influyen en este proceso. Incluso hay literatura en cuanto a las características previas y posteriores al establecimiento de la pubertad (Bogdanove, 1972).

Ha resultado difícil dar una definición que enmarque de manera total todos los aspectos que se dan en esta etapa, incluso se ha visto que existe dificultad para delimitar en qué momento de la vida de los individuos se inicia la pubertad y en qué momento concluye. Desde el siglo pasado se ha intentado definir la pubertad

resultado la producción de un producto viable.

En los setentas, la definición de la pubertad comenzó a enfatizar otros aspectos, por ejemplo, Ramírez en 1973, la definió como un estadio de desarrollo psicosexual, en el cual el individuo alcanza la madurez sexual y es capaz de reproducirse (Ojeda, et. al., 1980). Otras definiciones se basan exclusivamente en el juego hormonal que se dá antes de la primera ovulación, pudiéndose definir a la pubertad como el tiempo en el que la unidad hipotálamo-hipófisis es capaz de responder a un incremento en los niveles circulantes de estrógenos dando como resultado la ola preovulatoria de LH y FSH Ojeda et., al. (1980) y Odell (1976) consideran que la pubertad es el resultado de las secreciones de FSH y LH.

Sin embargo, existe diferencia temporal en la ocurrencia de estos eventos y tal vez resulte conveniente comentar como han definido a la pubertad y a la madurez algunos otros investigadores. Faulkner (1969) define la pubertad como el principio de la capacidad reproductora que es resultado de complejas interacciones del hipotálamo, las hormonas hipofisiarias y de las gónadas, y define a la madurez sexual como el estado de capacidad sexual "total". Chipman (1980), estudiando los mecanismos involucrados en el control de la pubertad, la definió como un proceso complejo en el cual existen cambios fisiológicos eventuales que conducen a la madurez reproductiva.

Según Bearden y Fuguay (1982) la pubertad en el macho puede definirse como el tiempo de inicio de la espermatogénesis, y para el caso de las hembras se define como la edad en la que se observa el primer ciclo estral con ovulación. Olivera (1984) define la pubertad como la edad en que se presentan características anatómicas como la perforación vaginal en las hembras y el descenso de testículos en los machos y la madurez sexual la relaciona con un estado funcional para la capacidad de copular por primera vez.

Bronson, et. al., (1986) haciendo una revisión de la biología de la pubertad, concluye que efectivamente, la pubertad es el inicio de la fertilidad y un periodo en el que se da un desarrollo rápido del organismo; él considera necesario analizar este proceso desde tres puntos de vista básicos que permitan abordar el fenómeno in toto, ofreciéndose de esta manera una perspectiva más integrada de este proceso, por la participación de los genes, los factores medioambientales que interactúan para que de esta forma, se regule la actividad neuroendócrina que es la ruta que controla el inicio de la fertilidad. Como podemos ver esta definición dada por Bronson et., al. involucra una serie de procesos que son la culminación de importantes fuerzas evolutivas, genéticas y ecológicas, ya que los factores genéticos y ambientales interactúan programando el tiempo del desarrollo de la pubertad. Cada uno de estos elementos ha participado en su momento en el

inicio de la fertilidad, influyendo en fomentar el desarrollo somático y conductual que los individuos experimentan, y por último influyendo en los sucesos evolutivos de las poblaciones a las cuales los individuos pertenecen.

La pubertad es por tanto, un periodo de la vida durante el cual ocurre un desarrollo acelerado del individuo que le permite obtener al final la capacidad de reproducirse. Los cambios ocurren en general, en las características físicas y de manera importante en las características sexuales de los organismos. Esto es el resultado del establecimiento paulatino del complejo sistema neuroendócrino que involucra a los factores liberadores de gonadotrofinas en el hipotálamo, la secreción cíclica de LH y FSH a nivel hipofisiario, andrógenos, estrógenos y progesterona a nivel gonadal. De modo también paulatino, existen tejidos y órganos que también desarrollan en este periodo, la capacidad de responder a los estímulos hormonales antes mencionados; anatómica e histológicamente puede observarse a esta edad características tales como la perforación del orificio vaginal, el establecimiento del primer ciclo estral, el crecimiento y diferenciación de los folículos ováricos en las hembras y el descenso de los testículos al escroto así como la diferenciación de las células del epitelio germinal en diferentes etapas de la espermatogénesis. Conductualmente se capacita el individuo para copular por primera vez. Los factores que determinan la aparición de este periodo involucran la participación del genoma en interacción con el medio

ambiente. El final de este periodo determina la madurez sexual, en la que los organos sexuales secundarios son los apropiados; gonadalmente en la hembra ocurre la ovulación y en los machos existen espermatozoides fértiles. La descripción histológica de las gónadas a esta edad de madurez se encuentra bien establecida en varias especies pero no así en Neotomodon alstoni alstoni.

MADUREZ SEXUAL EN ALGUNOS ROEDORES.

La información que hasta ahora se tiene en cuanto al inicio de la pubertad en roedores, varía considerablemente, pues va desde los cambios observados desde el punto de vista somático (Asdell, 1964), hasta los cambios en los perfiles hormonales durante este periodo, llegando incluso a discutir la participación de hormonas gonadotróficas, prolactina y esteroides gonadales en la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y los probables mecanismos de retroalimentación específicos, en el establecimiento de la pubertad (Döhler y Wuttke, 1975).

En la literatura que se aboca a los cambios somáticos durante la pubertad se establece una relación entre el tamaño del individuo, el peso corporal, la perforación del orificio vaginal, presencia del ciclo estral para el caso de las hembras, o el descenso de los testículos y la presencia de espermatozoides en los túbulos seminíferos y epidídimo para el caso de los machos, como parámetros para definir de una manera sencilla y objetiva el momento en el cual se dá el establecimiento de la pubertad. Sin embargo, la relación que guardan estos parámetros es específica para cada especie en particular (Layne, 1968).

En la hembra de Rattus norvegicus, la pubertad se alcanza cuando la apertura vaginal aparece, al alcanzarse una talla de 102

cm. y un peso de 143 grs. La edad promedio a la que las ratas alcanzan la pubertad varía considerablemente entre las diferentes cepas, aunque existen parámetros poco variables, como la aparición del cuerpo luteo y la longitud corporal. En cepas híbridas, la pubertad se alcanza a los 36 días, edad similar a aquella en que se alcanza en la rata blanca, que es a los 41 días. La apertura del orificio vaginal y la ovulación son prácticamente simultáneos en el 46% de las ratas, además de que ocurre con una diferencia menor de 10 días en un 80%. Si las hembras y los machos están juntos todo el tiempo, la primera cópula fértil ocurre en promedio 16 días después de la apertura del orificio vaginal en la cepa Long-Evans y en la cepa Cornell Nutrition, 6 días después. En el macho de esta especie, en los túbulos seminíferos de los testículos se pueden observar espermatozoides a los 56 días de edad y en el epidídimo a los 72 días de edad (Asdell, 1964).

En el ratón de campo del género Mus, la hembra inicia la pubertad con un peso entre los 8 y 12 grs., cuando mide 2.5 pulgadas; la apertura del orificio vaginal ocurre aproximadamente a los 66 días de edad, observándose ya folículos maduros en los ovarios de estos animales. En el macho, la pubertad se inicia cuando pesan entre 10 y 15 grs. lo que coincide cronológicamente con el descenso de los testículos, que se lleva a cabo a los 25 días de edad aproximadamente, y a los 40 días de edad se observan ya espermatozoides en el epidídimo (Asdell, 1964).

En el ratón albino de laboratorio (Mus musculus), la edad a

la que la hembra presenta apertura del orificio vaginal es variable, sin embargo se ha visto que puede suceder en promedio a los 35 días de edad; el peso promedio cuando ocurre la apertura del orificio vaginal es cuando pesa 13.5 grs. En el caso de los machos, los testículos se desarrollan hasta los 60 días de edad y después de esta edad el crecimiento que se da es lento, sin embargo los ratones son completamente maduros a los 40 días de edad, ya que los primeros espermatozoides se observan a los 30 días en los túbulos seminíferos de los testículo (Asdell, 1964).

En la hembra del Hamster (Mesocricetus auratus) el primer ciclo estral se presenta a las 7 u 8 semanas de edad o cuando pesan 60 grs. El orificio vaginal se perfora entre los 10 y 15 días de edad y el establecimiento de la pubertad se da entre los 33 y 38 días. Se ha observado además en estos animales que los primeros ciclos estrales se presentan sin que se dé la ovulación. En los machos se ha visto que a las 5 semanas y media los túbulos seminíferos contienen espermatozoides (Asdell, 1964).

Se han realizado estudios en animales del género Peromyscus de origen silvestre criados en laboratorio, en los cuales se ha determinado el momento en el cual se inicia la pubertad. Dichos estudios reportan lo observado en algunas especies del género Peromyscus (Layne, 1968). En Peromyscus manicularis las hembras presentan el primer ciclo estral a los 48 días en promedio y en los machos se observan espermatozoides en el epidídimo a los 60

días de edad. En P. gossypinus en la hembra se perfora el orificio vaginal a los 65 días de edad y en los machos se observan espermatozoides en túbulos seminíferos y epidídimo a los 73 días de edad. En P. eremicus la edad promedio a la que se presenta el ciclo estral es a los 39 días y la observación de espermatozoides maduros en epidídimo en los machos es a los 40 días de edad (Layne, 1968).

MADUREZ SEXUAL EN NEOTOMODON ALSTONI ALSTONI.

Estudios realizados por Olivera en 1984 establecen que la edad a la que se inicia el ciclo estral de Neotomodon en condiciones de laboratorio es a los 49 días de edad, en promedio, y que la capacidad de copular y reproducirse está presente a los 65 días de edad. Esto fué posible establecerlo al observarse a 36 parejas que fueron aisladas desde el destete. A las hembras diariamente se les tomó frotis vaginal, el cual reveló la presencia de espermatozoides por primera vez en la vagina de una de las hembras, a los 66 días de edad. De esta muestra se obtuvo que el 69.44% de las hembras se aparearon entre los 66 y 250 días de edad, teniendo en su totalidad partos viables. Por estos resultados podemos señalar que en el caso particular de Neotomodon al parecer existe una marcada diferencia entre la edad a la que se perfora el orificio vaginal, y la edad a la que las hembras muestran conducta reproductora. Incluso Olivera establece, con base en estas observaciones, una diferencia conceptual entre pubertad, a la que define con el argumento de la apertura vaginal, y la madurez sexual, con la capacidad funcional de copular por primera vez. En cuanto a los machos, no se encontró ningún indicador para determinar, de manera concreta el inicio de la pubertad, pues hasta los 79 días de edad en ningún animal de los estudiados por Olivera se observó descenso de los testículos al escroto y no aporta datos en edades posteriores, ya que en los animales sacrificados hasta los 60 días de edad todos los

testículos se localizaron en la cavidad abdominal (Olivera, 1984; Olivera, et. al., 1986). Sin embargo, Martin y Alvarez (1982) reportaron en un estudio realizado sobre el crecimiento y desarrollo de Neotomodon, en machos de 14 meses haber localizado los testículos escrotados además de haber logrado fertilización, por lo que concluyen que la madurez se alcanza aproximadamente al año de edad.

En un estudio realizado sobre la descripción del ciclo espermatogénico en animales silvestres de Neotomodon, se observó también que los testículos se encontraban en la cavidad abdominal (Beltran, 1986); considerando el peso promedio de los animales empleados que fué de 45 grs. en este estudio, es muy probable que estos animales capturados en el campo fueran animales juveniles o adultos (Beltran, 1986; Granados, y Ramirez, 1986).

FACTORES AMBIENTALES EN LA MADUREZ SEXUAL.

La actividad reproductiva de los animales, esta dada por un complejo de factores tanto externos, medio ambientales, como inherentes al organismo, tanto genéticos como endócrinos.

La reproducción en los animales adultos esta influida por factores ambientales a los que responden los organismos. Esta influencia del medio ambiente en el inicio de la pubertad (madurez sexual) ha resultado de interés para algunos investigadores ya que tiene una importante participación en la regulación de la actividad reproductora de los animales. Esta influencia se ha visto que puede estar relacionada directamente con las condiciones ambientales en las que se desarrolla el organismo, así como por las condiciones ambientales derivadas de la interrelación entre los organismos de la población en su medio. Además de saber actualmente, que esta capacidad de respuesta a los estímulos del medio ambiente, está vinculada de manera directa con las estrategias desarrolladas por los organismos durante su proceso evolutivo (Bronson, et. al. 1986).

La regulación del apareamiento o de la crianza, durante las épocas más propicias del año, es una muestra palpable de la participación del medio ambiente en la actividad reproductora, pues se vincula estrechamente con la conducta, el coeficiente

metabólico, el coeficiente de crecimiento, el tamaño corporal, la longevidad, la capacidad de reproducción, el número de crías, el sexo del organismo y la naturaleza de la estructura social.

En el laboratorio se han realizado estudios en los que se ha comprobado la influencia de alguna de estas variables de manera particular sobre el inicio de la pubertad, a pesar de que es pertinente señalar que los factores ambientales intervienen de manera integral sobre los organismos y no aisladamente. Entre las variables estudiadas en el laboratorio se encuentra la luz, que se ha visto puede modificar el inicio de la pubertad, dependiendo de los ciclos de luz-obscuridad; es así que en las ratas sometidas a periodos de luz continuos desde el nacimiento hasta los 21 días de edad, presentan apertura vaginal 6 días antes que las hembras sometidas a periodos normales de luz-obscuridad. Cuando a las ratas desde el nacimiento se les pone en obscuridad continua, la apertura vaginal se presenta 16 días después, en comparación de las ratas control. Estos resultados se han comparado con los datos obtenidos al medir los niveles hormonales en estos animales, encontrándose que las gonadotrofinas se elevan tempranamente en las ratas que presentaron apertura vaginal temprana (Sandlier, 1969).

La influencia de la temperatura en el inicio de la pubertad se ha estudiado también en varias especies. En el ratón de laboratorio se puede observar que, manteniendo a los animales a -3°C con respecto al grupo control, que se mantuvo a 21°C , se da

un retraso de 7 días en la apertura vaginal de los ratones tratados, pues en el grupo control la apertura vaginal se dió a los 26 días, mientras que, en el grupo tratado se presentó a los 33 días. En estos experimentos, se reporta también una diferencia notable en el establecimiento del ciclo estral, pues en el grupo tratado se estableció en promedio a los 61 días, a diferencia del grupo control, en donde se presentó a los 38 días de edad. Sin embargo, debemos señalar que en ambos grupos la apertura vaginal se dió teniendo los animales el mismo peso corporal de 13 gramos. Estos estudios realizados por Barnelt en 1962 lo condujeron a sugerir que el retraso en el inicio de la pubertad, se puede deber a las demandas prioritarias necesarias para el metabolismo. Una consideración necesaria es mencionar que la temperatura a la cual se realizó el estudio, que fué de -3° C, tal vez sea una temperatura muy baja que de alguna manera drástica está modificando el inicio de la pubertad. Estudios realizados por Knudsen en 1962, en los que trabajó diferentes rangos de temperatura (18° , 25° y 32° C) no se encontró diferencia en la edad a la que se incio la pubertad (Sandlier, 1969).

En estudios en los que se ha empleado a la rata, se ha visto que es más resistente al efecto del frío que el ratón, ésto se demostró estudiando poblaciones de ratas que se encontraron en Alaska, en condiciones extremas, y otras localizadas en Baltimore USA, en condiciones más estables, y se observó que el establecimiento de la pubertad, en ambos grupos no presentó

diferencias. Por estas investigaciones, se ha considerado que la temperatura si modifica el inicio de la pubertad en los roedores, aunque este efecto va a variar según la especie y también según los factores relacionados con la deplesión en la tasa de crecimiento de los organismos, ya que hasta el momento resulta un poco difícil separar, entre los efectos primarios de la temperatura al reducir el crecimiento, y el efecto primario sobre el inicio de la pubertad (Sandlier, 1969).

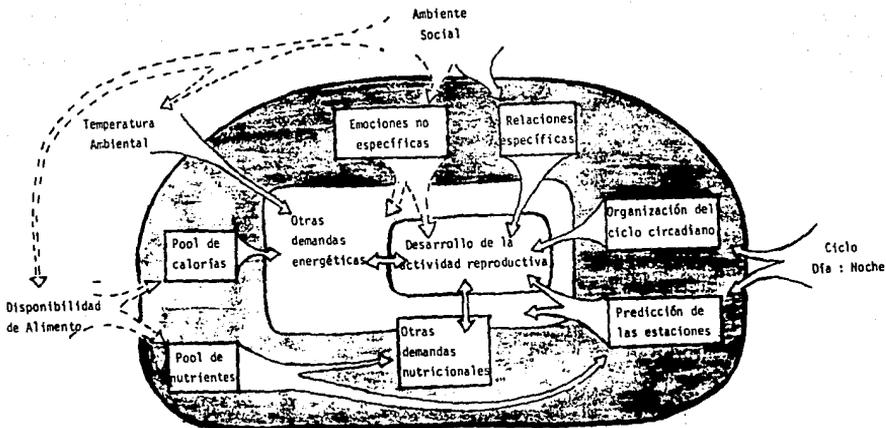
El factor nutricional es una variable difícil de evaluar y de cuantificar en el inicio de la pubertad, ya que participan las proteínas, grasas, carbohidratos, minerales y vitaminas que constituyen el régimen nutricional adecuado; por lo que al realizarse estudios en cuanto a su efecto, resulta complejo de interpretar, pues cada elemento tiene un efecto sobre los procesos reproductivos, además de que realmente no sabemos si estos nutrientes participan en las necesidades energéticas de la reproducción o en las necesidades energéticas que no tienen relación con la reproducción (Sandlier, 1969; Bronson, et. al., 1986).

Los experimentos en los que se han utilizado animales de laboratorio a los cuales se les ha reducido el aporte nutricional, se ha visto que presentan un marcado retraso en el inicio de la pubertad. Por ejemplo ratas a las que se alimento con raciones de 1/3 a 1/4 de su ración calórica normal la madurez sexual se

alcanzó después que el grupo control. Reduciendo en la dieta, las proteínas o dando una concentración alta de proteínas, pero restringiendo algún mineral como el fósforo, o el sodio se puede provocar también un retraso considerable. En el macho, la deficiencia de vitamina E en su dieta desde el nacimiento, produce una degeneración irreversible en el epitelio seminífero al llegar a la pubertad (Sandlier, 1969).

El factor social es otro regulador del inicio de la pubertad, que según Bronson et. al. (1986), puede ser abordado desde dos categorías de regulación, que en ocasiones no son sencillas de separar. La primera es la vía que han desarrollado de manera directa y específica muchos mamíferos para modular los estadios finales del desarrollo reproductivo, por medio de discretas señales táctiles y ferhormonales que se envían entre los miembros de la misma especie. Y la segunda categoría social en la que se involucra un estado emocional de aversión, que puede tener efectos notables sobre el desarrollo puberal (Bronson, et. al., 1986).

Bronson et. al., (1986) propone un modelo de, como el medio ambiente regula el desarrollo reproductivo en los mamíferos, que nosotros reproducimos a continuación (Esquema 1).



Esquema 1.- Diagrama de la regulación del medio ambiente sobre el desarrollo de la actividad reproductora. Los factores ambientales mejor conocidos y que al parecer son los de mayor importancia se encuentran fuera del área oscura y las interacciones derivadas de estos factores ambientales se localizan en el área oscura. Las líneas punteadas muestran una influencia al azar mientras que las líneas continuas muestran rutas de adaptación al medio ambiente. En este diagrama se considera al medio ambiente social como la presencia de una fuente potencial de múltiples experiencias que se dan azarosamente y que se pueden interpretar como diferencias en el crecimiento corporal de los individuos. El momento en el que se inicie la fertilidad en los organismos generalmente es el resultado entre las distintas influencias ambientales antes esquematizadas. (Bronson et. al., 1986)

SEGUNDA PARTE.

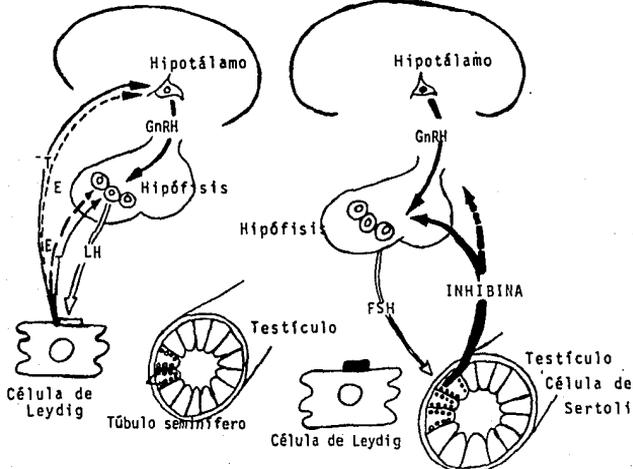
Revisión de la literatura sobre la histofisiología del testículo y ovario.

1.- Endocrinología del Testículo.

En el aspecto endocrinológico de la reproducción, el llamado eje hipotálamo-hipófisis-gónada es el encargado principal de la regulación de esta actividad de importancia en la perpetuación de las especies. Mucho de lo que actualmente se conoce en cuanto a los mecanismos de regulación de este eje, es la herencia de investigadores que desde hace muchos años se preocuparon por observar y experimentar acerca de la reproducción animal, sin embargo, vale la pena mencionar que en la época reciente se ha obtenido una gran cantidad de información y se ha progresado en la comprensión de los mecanismos hormonales involucrados en la regulación de la actividad reproductiva, gracias al desarrollo de técnicas más sofisticadas y precisas.

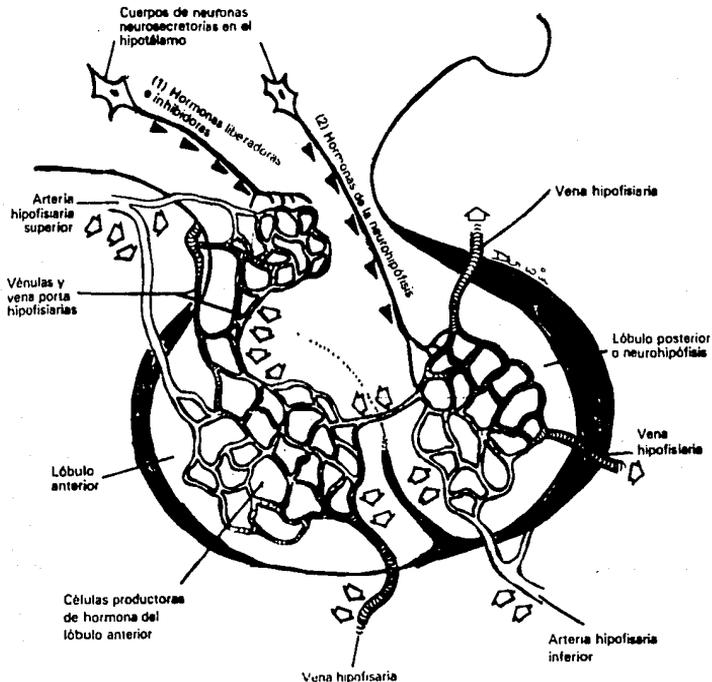
Básicamente el funcionamiento endócrino relacionado con la reproducción depende de un grupo de sustancias liberadas en ciertas partes del sistema nervioso central, y de manera sobresaliente a nivel del hipotálamo, como son los factores liberadores, que estimulan a la secreción en la hipófisis anterior,

cuyas hormonas gonadotróficas a su vez, tienen un efecto sobre las gónadas para la producción, entre otros factores, de estrógenos y andrógenos, y estos esteroides a su vez regulan al hipotálamo y otras estructuras del sistema nervioso así como a la hipófisis misma. Se establecen de esta manera dos sistemas, uno de estimulación hormonal entre el hipotálamo e hipófisis y entre la hipófisis y las gónadas; y otro de retroalimentación o feedback entre las gonadas y el sistema nervioso e hipotálamo y entre las gónadas y la hipófisis (Esquema 2) (Bogdanove, 1972).



Esquema 2.- Mecanismos de retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-testicular. La GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas) estimula la liberación de la LH (hormona luteinizante) y FSH (hormona folículo estimulante). La LH estimula a la célula de Leydig para la síntesis de testosterona (T) y estradiol (E), los cuales van a tener un efecto negativo o positivo sobre la hipófisis y el hipotálamo, según el caso. La FSH estimula a la célula de Sertoli, que se localiza en los túbulos seminíferos a la síntesis de inhibina, que va a tener un efecto negativo sobre la hipófisis y tal vez sobre el hipotálamo. (Morgan, 1983)

La relación entre el hipotálamo y la hipófisis es una relación íntima, anatómicamente representada por el sistema porta hipofisiario (Esquema 3) que proporciona una vía por la cual las hormonas o factores liberadores de hormonas hipofisiarias, producidos en las neuronas del hipotálamo, son liberados en los sinusoides de la adenohipófisis, y estimulan a las células de esta a sintetizar y secretar (Bogdanove, 1972).



Esquema 3.- Sistema porta-hipofisiario. (Ham, 1987)

El tratamiento de animales con LHRH produce un incremento en los niveles séricos de LH, y también en los niveles de FSH aunque de menor proporción. La liberación de LHRH durante 24 horas sucede a manera de pulsos y no de modo constante, a lo largo de la vida reproductiva (Morgan, 1983). La LH es liberada siguiendo un patrón bifásico, lo que se ha demostrado en el varón adulto normal y en la mujer en las diferentes fases del ciclo menstrual, excepto durante un periodo corto cercano a la ovulación en que se registra una descarga grande de LH. Al parecer la FSH también sigue un patrón bifásico de secreción, pero este sólo se ha podido demostrar en la mujer, durante la fase folicular del ciclo menstrual, en el varón este patrón bifásico para la FSH no se ha reconocido. Los eventos celulares que ocurren durante esta secreción bifásica no se conocen, sin embargo se ha postulado un diferente umbral de respuesta de las células gonadotropas hipofisarias a los pulsos de LHRH que sería menor para LH que para FSH (de Kretser, et. al., 1983).

En relación con el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, se ha identificado que las neuronas de los núcleos hipotalámicos producen un decapeptido capaz de estimular a las células gonadotropas de la adenohipófisis. Esta hormona o factor liberador se conoce con el nombre de hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) por la primera acción que le fue reconocida. Sin embargo, se ha visto que es también capaz de provocar la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), por lo que se le ha llamado de modo más

general, hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH). Es importante señalar que existen algunos reportes que sugieren la existencia de una hormona liberadora de FSH, sin embargo los datos experimentales que se han presentado no apoyan esta hipótesis (Morgan, 1983). La evidencia de que la LHRH produce la secreción de FSH y LH es contundente, sin embargo la potencia que tiene el factor liberador sobre cada gonadotrofina es diferente. Por lo que no se descarta la posibilidad de que exista también otro mecanismo que regule de manera independiente a la FSH bajo ciertas condiciones (de Kretser, et. al., 1983).

Los esteroides gonadales, son también un factor capaz de modular la magnitud y la forma del patrón de secreción de las gonadotrofinas, como sucede con el estradiol, que puede ser el responsable del cambio del patrón bifásico al monofásico de gran magnitud que precede a la ovulación, evidencia de ello es el que, en las neuronas que contienen LHRH en el hipotálamo se ha demostrado la presencia de estradiol en pequeñas cantidades, además de haberse demostrado que los esteroides gonadales son capaces de estimular a las neuronas del sistema nervioso central (SNC) para la liberación de péptidos que, actualmente se sabe participan en la actividad reproductiva y en la conducta en general. La manera de cómo actúan dichos esteroides en las células del SNC para que sean liberados estos péptidos aún no se ha establecido con claridad (Kalra, y Kalra, 1986).

En la etapa puberal se ha visto que existe un incremento en la secreción de FSH y LH, probablemente mediado por un incremento en la secreción endógena de LHRH, pues, en niños en etapa prepuberal y en varones con Hipogonadismo Hipogonadotrófico, la LH presenta episodios de liberación de menor proporción, lo cual, muy probablemente se deba a una deficiencia endógena de LHRH. Todo ésto ha conducido a que se postule que la LHRH participa de manera muy importante en la producción y liberación de la FSH y LH por la adenohipófisis, aun sin que se haya establecido la madurez (de Kretser, et. al., 1983).

La LH y la FSH son sintetizadas por determinadas poblaciones celulares que se encuentran en la hipófisis, a las cuales se les ha intentado caracterizar con base en diferentes parámetros entre los que se han considerado su capacidad tintorial al aplicarse algunas técnicas, o por su afinidad a alguna reacción inmunohistoquímica, o con base en la ultraestructura que presentan. Sin embargo, los hallazgos encontrados no arrojan información que, de manera concreta, defina si existen poblaciones celulares diferentes para cada gonadotropina, pues se ha visto, con pruebas inmunohistoquímicas, que tanto la LH como la FSH se localizan en las mismas células. Estas células redondeadas se sitúan ordinariamente junto a los sinusoides; son PAS positivas, pero no se tiñen con la aldehído-fucsina. A la microscopía electrónica se ha observado que las células gonadotropas de la hipófisis contienen un complejo de Golgi yuxtenuclear muy grande y retículo

endoplásmico bien desarrollado, con cisternas tortuosas, frecuentemente dilatadas por un contenido homogéneo de baja densidad, además se ha demostrado la existencia de gránulos esféricos que, al parecer, permiten hacer una distinción entre dos tipos de células, pues existen unas que presentan gránulos secretores que miden 200 nm. y otras células que presentan gránulos secretores de 200 y 700 nm. Esto se ha interpretado de dos maneras diferentes, ya que algunos consideran que se trata de diferentes fases de un ciclo secretor y otros investigadores proponen que se trate de diferencias celulares en la secreción por un lado de LH y por otro de la FSH (Fawcett, 1987; de Kretser, et. al., 1983).

Las gonadotrofinas secretadas por la hipófisis son glucoproteínas constituidas por dos cadenas peptídicas denominadas alfa (ó) y beta (β). La subunidad ó de la LH y de la FSH son parecidas, incluso se ha visto que otras glucoproteínas como la hormona tirotrófica (TSH) y la gonadotrofina coriónica (hCG), en su subunidad ó son similares. A diferencia de la subunidad β, la cual al parecer determina las diferencias tanto estructurales como biológicas, pues experimentalmente se ha visto que al combinar la subunidad ó de la TSH y la subunidad β de la LH, el híbrido formado actúa como hormona luteinizante, a diferencia, si se constituye un híbrido que tenga la subunidad ó de la LH y la subunidad β de la TSH, el resultado que se obtiene es que este híbrido funciona como hormona tirotrófica estimulando a la tiroides. Se ha visto también que la actividad biológica de la LH y hCG es la misma incluso se

sabe que, en la estructura de la cadena β , sólo difieren en el número de aminoácidos agregados en el carboxilo terminal (Morgan, 1983).

La LH secretada por la hipófisis se descubrió en el varón y se le denominó hormona estimulante de la célula intersticial (ICSH) pues se vió que estimulaba a la célula intersticial del testículo (célula de Leydig) para la síntesis de andrógenos (Morgan, 1983).

Actualmente se sabe que la LH de las hembras y la ICSH de los machos son idénticas. Se ha comprobado además por diversos estudios que la LH y la hCG se ligan con alta afinidad y especificidad a la célula de Leydig, siendo dicha captación de la hormona a nivel de la membrana plasmática; después de un tiempo, estas gonadotrofinas se pueden localizar intracelularmente, lo que provoca que se cuestione el mecanismo de acción de las gonadotrofinas sobre las células de Leydig (Castro, et. al., 1972; Ascoli, 1977). A pesar de estos resultados experimentales, no se puede apoyar la posibilidad de que las gonadotrofinas actúen a nivel nuclear, sino más bien las pruebas experimentales apoyan de una manera contundente la acción de las gonadotrofinas a nivel de la membrana plasmática (de Kretser, et. al., 1983).

La LH, una vez liberada por la hipófisis, llega al testículo y estimula a la célula de Leydig para que se dé la esteroidogénesis, que conduce a la síntesis y liberación de

andrógenos. Esta síntesis de andrógenos es iniciada por la unión de la LH a receptores específicos que se localizan en la membrana plasmática de la célula de Leydig. Esta unión de la LH al receptor estimula a la Adenilciclase, que se localiza fija en la membrana plasmática, catalizando la síntesis de AMPc, el cual se une a una subunidad receptora de la proteínquinasa, que a su vez activa una subunidad catalítica. Se cree que la fosforilación de estas proteínas de las células de Leydig, facilita la conversión del colesterol a pregnenolona y aumenta la síntesis de andrógenos (Morgan, H. E., 1983).

La liberación de la LH por la hipófisis regula la cantidad de andrógenos liberados a la circulación por la célula de Leydig, estimulando la síntesis de testosterona in vivo e in vitro. Cabe señalar que en la regulación de la testosterona también pueden estar implicadas la FSH y la prolactina. La respuesta aguda de la célula de Leydig a la LH, involucra la activación del complejo enzimático que controla el sitio de ruptura del colesterol, a diferencia de los efectos obtenidos a largo plazo en los que se involucra la síntesis de nuevas proteínas y un incremento en la actividad de algunos sistemas enzimáticos involucrados en la síntesis de testosterona (de Kretser, 1983).

Observaciones hechas en animales adultos hipofisectomizados han permitido demostrar que el incremento en la respuesta testicular a la LH que se observa durante la madurez sexual es un

efecto mediado por la FSH, la cual actúa sobre los túbulos seminíferos y también en el tejido intersticial incrementando el número de receptores a LH en la célula de Leydig (Odell, et. al., 1973).

Se ha propuesto también que la acción ejercida por la LH, puede verse aumentada probablemente por la prolactina, modulando la cantidad de receptores que contiene la célula de Leydig, pues en ratones enanos en los que los receptores a LH están disminuidos, pueden ser incrementados con la administración de prolactina. También en el Hamster, la regresión sexual estacional que sufren estos animales, está asociada a la caída en los niveles plasmáticos de testosterona y, por lo tanto, a una reducción de los receptores testiculares a la LH; lo más interesante de estos fenómenos, es que pueden prevenirse con la administración de prolactina (de Kretser, et. al., 1983).

En cuanto a los mecanismos de inhibición de la secreción de LH, se ha demostrado que el estradiol participa de manera sobresaliente en la supresión de la LH y FSH. Esta inhibición se da administrando cantidades en microgramos, a diferencia de la inhibición provocada por testosterona en donde se requieren de cantidades en miligramos para que se dé una respuesta inhibitoria (Naftolen, et. al., 1971 a). Otro hallazgo importante es el de haber demostrado que, en el hipotálamo, el sistema límbico, y la hipófisis, la testosterona puede ser aromatizada a estradiol.

(Naftolen, et. al., 1971 b), lo que permite postular que el estradiol pueda mediar una influencia negativa sobre la secreción de LH, además de considerarse que la testosterona puede inhibir a la LH a través de su aromatización a estradiol (de Kretser, et. al., 1983). Aunque, en un estudio realizado por Santen en 1975 postuló que la testosterona y el estradiol ejercen efectos diferentes sobre la secreción de LH (de Kretser, et. al., 1983).

El aumento en la LH produce una hipertrofia de las células de Leydig y un aumento en la secreción de andrógenos, mientras que los niveles bajos de LH están asociados a una reducción en la actividad de las células de Leydig. Un descenso en la concentración de testosterona produce un aumento en la liberación de LH en la circulación general y, en respuesta a este ascenso de LH en la sangre, las células de Leydig secretan testosterona que a su vez, inhibe la secreción de LH. De tal manera que el hipotálamo, la hipófisis y las células de Leydig forman una unidad funcional (Morgan, 1983).

Otros factores muy importantes que intervienen de manera sustancial en la regulación de la función testicular son la FSH y la Prolactina.

La FSH, como ya mencionamos anteriormente, es una gonadotropina secretada por la adenohipófisis, que tiene un patrón de secreción, un efecto sobre la actividad testicular y un

mecanismo de feedback, diferente al de la LH.

Los primeros estudios que permitieron establecer la importancia de la FSH sobre la actividad gonadal se derivan de las observaciones realizadas en animales castrados, los cuales presentaban niveles muy altos de FSH. Estas observaciones iniciales, fueron más tarde corroboradas con la medición de los niveles de FSH en animales con daños en ovario y testículo (de Kretser, et. al., 1983).

Cuando se estudió la asociación del daño al epitelio seminífero por medio de procedimientos experimentales y el subsecuente incremento en los niveles circulantes de FSH, se postuló la posibilidad de la existencia de un factor liberado por el túbulo seminífero, capaz de regular la liberación de la FSH. Inicialmente se pensó en la testosterona como posible supresor, pues se vió que era capaz de suprimir la liberación de FSH, sin embargo, para que ésta supresión se diera era necesario administrar dosis muy altas, además de que se observó que esta inhibición se daba a nivel de la liberación de FSH y no sobre su síntesis, por lo que más tarde algunos investigadores propusieron que la testosterona podía estar actuando en combinación con alguna otra substancia intratubular que fuera un esteroide diferente, para así modular en conjunto la secreción de la FSH. Esta hipótesis se planteó con base en los estudios ultraestructurales de la célula de Sertoli, la cual muestra un retículo endoplásmico liso,

mitocondrias con crestas tubulares e inclusiones lipídicas, o sea todos los rasgos de las células productoras de esteroides, además de asociar la evidencia experimental de la capacidad de los túbulos seminíferos para la síntesis de esteroides (Fawcett, 1975).

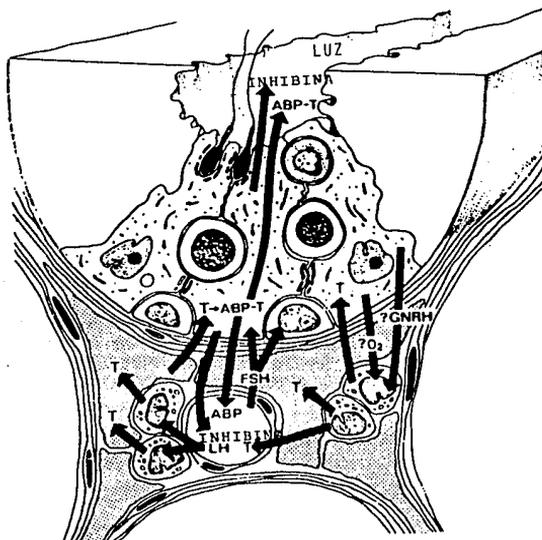
La capacidad de la célula de Sertoli de convertir androstenediona a estradiol, provocó que se planteara la posibilidad de que el estradiol pudiera ejercer una influencia selectiva en la secreción de la FSH, sin embargo esta hipótesis no cuenta con la evidencia experimental suficiente (de Kretser, et. al., 1983).

Otros estudios revelaron la existencia de un extracto no esteroide que actualmente se sabe es sintetizado por la célula de Sertoli, al cual se le denominó Inhibina. La Inhibina es una hormona glucoprotéica, constituida por dos subunidades diferentes, ligadas por puentes disulfuro, las cuales inhiben la producción y/o secreción de las gonadotrofinas hipofisarias, preferencialmente a la FSH. Se ha sugerido la nomenclatura α y β para las dos subunidades. La subunidad α es una molécula de 20 kilodalton (kDA) la subunidad β de la inhibina es de 31-32 kDA., la cual ha sido purificada y clonada de suero porcino, bovino, ovino y humano. A la inhibina por lo tanto se le puede asignar un peso molecular de 6-44 (Burger, 1988). La liberación de FSH en sistemas in vivo e in vitro es suprimida por esta sustancia. (de Kretser, et. al., 1983).

En cuanto a la participación biológica de la FSH, se ha demostrado que la célula de Sertoli sufre cambios morfológicos al administrarse FSH en ratas que han sido previamente hipofizectomizadas. Además de observarse que la FSH es necesaria para la iniciación de la espermatogénesis en etapas puberales, aunque cabe mencionar que para el mantenimiento de la espermatogénesis, la FSH no resulta indispensable en algunos animales como la rata adulta, en la que se puede mantener la espermatogénesis con la administración de testosterona o dihidrotestosterona, a diferencia de otras especies como los primates o el borrego en donde la espermatogénesis se mantiene administrando FSH y andrógenos (de Kretser, 1983).

Se sabe también que la FSH participa estimulando a la célula de Sertoli para la producción de la proteína transportadora de andrógenos (ABP) (Esquema 4). Experimentalmente se ha visto que la administración intravenosa de FSH a ratas de 14 a 16 días de edad provoca, un incremento en el contenido testicular de ABP, aunque este efecto también se ha demostrado con la administración de LH o testosterona. Sin embargo, los resultados obtenidos experimentalmente permiten establecer que la FSH es principalmente la hormona responsable de la secreción de ABP hacia la luz de los túbulos seminíferos. Algo también notable es el hecho de que la producción de ABP se modifica en el túbulo seminífero, dependiendo de la etapa del ciclo espermatogénico en la que este se encuentre siendo un 70% más abundante cuando el epitelio seminífero se

encuentra en la etapa VII-VIII en la rata adulta (de Kretser, et. al., 1983).



Esquema 4.- Diagrama de la función hormonal de la célula de Sertoli. La FSH (hormona folículo estimulante) secretada por la hipófisis estimula a la célula de Sertoli para que sintetice ABP (proteína transportadora de andrógenos) que se conjuga con la T (testosterona) sintetizada por la célula de Leydig, la que ha sido estimulada por la LH (Hormona luteinizante). En el caso de la rata la ABP-T es vertida solo hacia la luz de los túbulos, a diferencia del humano en donde también se vierte hacia los capilares. (de Kretser, et. al., 1983)

2.- Espermatogénesis.

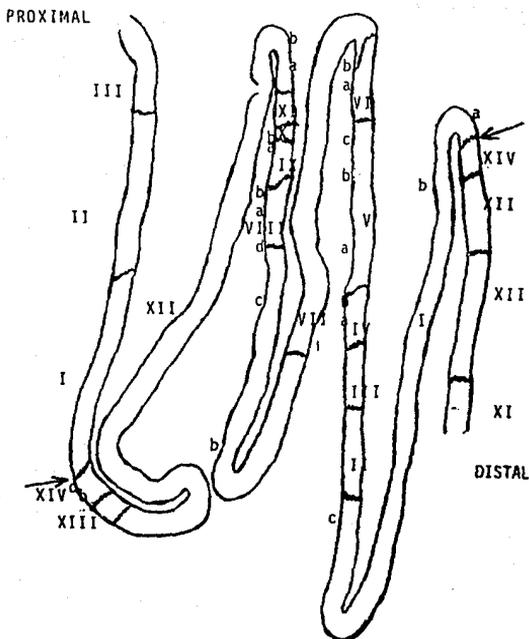
Los estudios acerca del epitelio seminífero, han permitido reconocer los cambios que ocurren durante la formación de los espermatozoides, así como la dinámica del túbulo seminífero que tiene lugar durante el proceso espermatogénico. Es así como se conocen las asociaciones celulares que se dan en dicho epitelio, las cuales se suceden unas a otras a lo largo del túbulo. La secuencia completa de las diferentes asociaciones celulares se conoce como ciclo espermatogénico.

El que exista durante el ciclo espermatogénico la formación de asociaciones celulares específicas y una secuencia en su aparición en un área dada del túbulo seminífero es un proceso bien sincronizado. Incluso existe una relación numérica entre los diferentes tipos celulares dentro del testículo y su número absoluto dentro de un corte transversal del túbulo (Steinberger, y Steinberger, 1975).

Von Ebner (1871) formuló el concepto de onda del epitelio seminífero apoyándose en el análisis de la cinética, de la espermatogénesis en relación al tiempo y al espacio. Más tarde Regaud en 1901 amplía este concepto y postula la idea de que la "onda es en el espacio y el ciclo es en el tiempo". La existencia de una onda en el epitelio seminífero ha sido descrita en el testículo de varios mamíferos como el ratón, toro, cobayo, conejo,

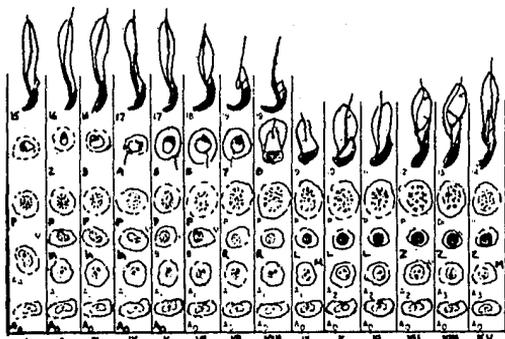
carnero, oso, perro, gato y marsupiales (Steinberger, y Steinberger, 1975; Austin, y Short, 1982).

En 1961 este concepto de onda propuesto por Von Ebner y Regaud fue confirmado y definido con gran precisión en los túbulos seminíferos de la rata (esquema 5). Haciendo un análisis de cortes seriados en los que se llevó a cabo una reconstrucción de los túbulos seminíferos, estableciéndose la presencia de estadios específicos del ciclo en un arreglo consecutivo a lo largo del túbulo, así dos segmentos adyacente son entre si, menos o más avanzados en su desarrollo y siempre con una dirección. Sin embargo los segmentos pueden variar en longitud en los diferentes túbulos. Examinando longitudinalmente en dirección distal a la rete testis, las asociaciones celulares se muestran en orden descendente. Esta secuencia se rompe ocasionalmente por distancias cortas, lo que se ha llamado modulaciones de los segmentos ordenados (Steinberger, y Steinberger, 1975).



Esquema 5.- Representación del concepto de onda espermatogénica en la rata. Se muestra la secuencia de la onda espermatogénica en el túbulo seminífero de la rata. Note la continuidad de los segmentos y el orden descendente que tienen de la porción proximal a la distal, así como el que pueden ocurrir diferencias en la longitud de los segmentos. (Steinberger y Steinberger, 1975).

Leblond y Clermont (1952) establecieron, con base en las características morfológicas y los cambios que suceden en el acrosoma de las espermátidas, la existencia de pasos o fases bien definidas en la diferenciación de éstas hacia espermatozoides, que para la rata son 19. Esto ayudó a la elaboración de un concepto más claro de lo que se entiende por ciclo espermatogénico, al cual se le define "como una serie de cambios en un área dada del túbulo seminífero entre dos estadios de desarrollo aparentemente iguales". En la rata el ciclo completo consta de 14 estadios o 14 asociaciones celulares típicas. (Esquema 6)



Esquema 6.- Estadios del ciclo espermatogénico en la rata. Distribución de las 14 asociaciones observadas en el epitelio seminífero de la rata. En cada columna están los tipos de células que definen a cada asociación celular (número romano en la base). Cada asociación celular se define por el grado de desarrollo de la espermátida presente. Courout, et. al., 1970)

Al seguirse este esquema, uno puede ver el progreso de una sola célula germinal a lo largo de las diferentes fases de desarrollo, es decir, esta maduración se puede seguir desde la espermatogonia tipo A hasta la formación de espermatozoides localizados en la luz del túbulo.

Para la formación de espermatozoides en el proceso espermatogénico se sabe que son necesarios cuatro ciclos del epitelio seminífero en la rata. La duración de la espermatogénesis ha sido determinada en algunas especies de mamíferos entre las que se encuentra el ratón que presenta una espermatogénesis de 34.5 días, la rata de 48 días, y en el hombre de 64 días. Existen trabajos en los que esta duración del ciclo se describe detalladamente, especificando el tiempo empleado en la duración de la fase S del ciclo celular en las diferentes espermatogonias, el tiempo transcurrido en la profase meiótica de los espermatocitos primarios, así como el del proceso de espermiogénesis de las espermátidas (Courot, et. al., 1970).

El estudio de la cinética en la maduración del epitelio seminífero como ya lo mencionamos, se comenzó a delinear desde el siglo pasado por Von Ebner en 1871, y por Benda en 1887 quienes sugirieron que el epitelio seminífero está en un constante y progresivo desarrollo, caracterizado por la formación de células más maduras y más diferenciadas a partir de células germinales no diferenciadas aún. Esto ha provocado en las dos últimas décadas,

que diversos autores propongan numerosas hipótesis en las que se plantea una explicación a la cinética de la espermatogénesis (Steinberger, y Steinberger, 1975).

Por investigaciones realizadas en nuestro siglo a este respecto se ha podido ver que existe degeneración celular en los diferentes niveles de las divisiones celulares, que varía según la especie, ya que en la rata es aproximadamente de un 50% en las espermatogonias tipo A, a diferencia del carnero y del toro en donde esta degeneración se dá en las espermatogonias de tipo intermedio (Courot, et. al., 1970).

La sucesión de varias generaciones de espermatogonias en la cinética de la espermatogénesis, ha apoyado la idea de que este proceso permite la renovación de las células madre, ya que se da una proliferación continua del epitelio germinal a lo largo de la vida adulta del macho. Existen varias teorías formuladas para explicar como es este proceso de renovación de las células madre (espermatogonias). Una de las teorías propuestas por Clermont y Leblond (1953) plantea la hipótesis de que, al comenzar cada ciclo espermatogénico las divisiones de las células madre dan como resultado la formación de nuevas células madre adicionales, las cuales se mantiene en estado de latencia hasta el siguiente ciclo, y la formación de espermatogonias tipo A, las cuales entran en el proceso espermatogénico. Las espermatogonias adicionales latentes se dividen para formar una nueva generación de células madre

adicionales y una nueva generación de espermatogonias tipo A y de esta manera repetir el proceso cada ciclo. Como consecuencia de esta explicación de la posible renovación de las células madre, se ha hecho una distinción morfológica de los tipos de espermatogonia tipo A que se forman durante los cuatro picos de mitosis que se dan en estadios específicos del proceso espermatogénico (estadios IX; XII; XIV y I-II), los diferentes tipos de espermatogonias producidas en estos picos se han designado como espermatogonias tipo A1, A2, A3, y A4. Es a la luz de estos hallazgos que se han propuesto diversas hipótesis con respecto a las características de las células madre. Una de esas es la propuesta por Monesi en 1962, que plantea el que la espermatogonia tipo A es la célula madre; a diferencia de Hilscher, et. al., en 1969, que consideran a la espermatogonia tipo intermedio como la célula madre. Sin embargo, Clermont y Bustos-Obregon (1968) proponen a la espermatogonia A4 como la célula madre, DeRooj y Kramer (1968) consideran un planteamiento similar (Steiberger, y Steinberger, 1975).

El planteamiento hecho por Clermont y Bustos-Obregon (1968) para la renovación de las células madre en la rata, se basa en la existencia de cinco distintos tipos de espermatogonias tipo A (A0, A1, A2, A3, y A4). Según esta hipótesis las espermatogonias que van del tipo A1 al A4 son las encargadas de la actividad proliferativa que conduce a la formación de más células germinales. A esta serie celular se le considera células madre "renovables", la espermatogonia A0 es considerada en esta propuesta, como la célula

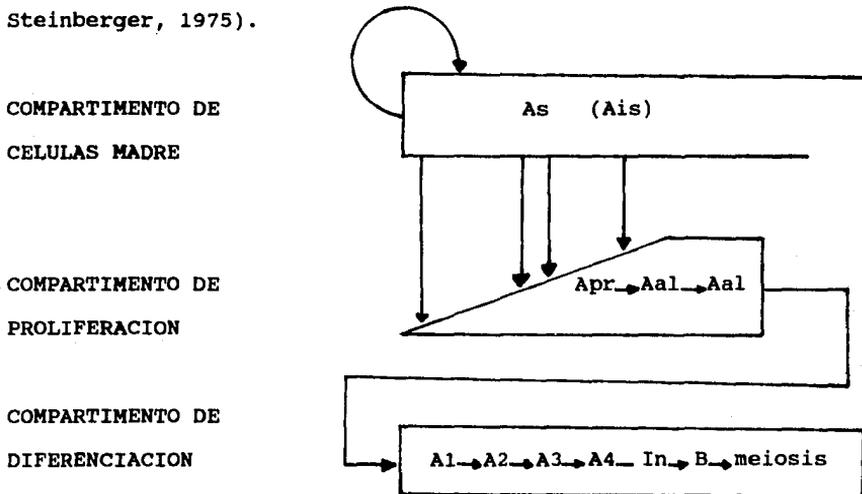
madre de "reserva", esta célula permanece en un estado de latencia hasta que por algún motivo el epitelio seminífero sufre daño y es necesario la restauración total del mismo. Tal vez esta espermatogonia A0 sea análoga a la espermatogonia primitiva tipo A descrita por Steinberger, et. al., en 1964, o a la espermatogonia inmadura tipo A descrita por Sapsforden 1962, o a la célula transicional descrita por Beamont y Mandl en 1963 (Steinberger, y Steinberger, 1975).

Huckins en 1971, propuso una hipótesis completamente diferente en la cual, no se incluye el concepto de espermatogonia tipo A0, él ha propuesto la siguiente clasificación en la que caen todos los tipos de espermatogonias pero de una manera muy diferente.

- 1.- células madre (As)
- 2.- células proliferativas (Apr, Aal)
- 3.- células diferenciadas (A1, A2, A3, A4, Ain y B)

Según estas categorías las células As se encuentran distribuidas al azar a lo largo del túbulo seminífero, siendo éstas las "verdaderas" células madre que constituyen el compartimento de células de reserva. Las espermatogonias As se dividen periódicamente de manera azarosa dando origen a sus células hijas, las espermatogonias Apr, éstas entran en una serie de divisiones sincronizadas que conducen a la formación de las células en cadena o espermatogonias alineadas (Aal), las cuales constituyen

el compartimento proliferativo y que se transforman en espermatogonias A1, éstas entran al compartimento de diferenciación de las espermatogonias, que se caracteriza por una serie de divisiones sincronizadas en estadios específicos del ciclo, por lo que se da la formación de espermatogonias A2, A3, A4, intermedias y B; en la última división se forman las células meióticas o espermatocitos primarios (Steinberger, 1974: Steinberger, y Steinberger, 1975).



Modelo propuesto por Huckins (1971) para la renovación y diferenciación de las espermatogonias en el testículo de la rata adulta. Este modelo de renovación de las células madre y

diferenciación de las espermatogonias ha sido apoyada por estudios realizados en el testículo del ratón, empleando timidina tritiada

como marcador. Los datos obtenidos apoyan este concepto de renovación de las células madre y no el de que exista una espermatogonia tipo A0. Sin embargo, aunque los datos experimentales recientes apoyan la hipótesis de renovación propuesta por Huckins en 1971, existen aún muchas incógnitas a resolver en cuanto a los mecanismos involucrados en la inducción de las espermatogonias madre para entrar a la etapa proliferativa (Huckins, 1971).

Steinberger en 1974, apoyándose en este modelo de renovación y diferenciación de las espermatogonias en el testículo de rata, y en la evidencia experimental existente de la participación hormonal en este proceso, propuso un esquema tentativo del control hormonal en la iniciación de la espermatogénesis. Dicho esquema contempla al proceso espermatogénico desde la vida fetal hasta la vida adulta, dividida en tres etapas; la fetal, la transicional y adulta (cuadro 1), en el que se establece la probable influencia hormonal en la transición de los tipos celulares. No se ha demostrado de manera concluyente la participación hormonal en la replicación de los gonocitos, pero su transformación a espermatogonia primitiva probablemente requiera testosterona. La replicación de las células del compartimento de proliferación (Apr, Aa1) puede ser que no requiera de hormonas y la diferenciación de este compartimento de proliferación al compartimento de diferenciación (A1, etc.) sea un evento independiente de la acción hormonal. A partir de la diaquinesis, para que las divisiones

meióticas se completan y para la formación de espermatidas se requiere de manera absoluta la testosterona. Para la diferenciación completa de la espermatide en sus últimas fases es necesaria la FSH (Steinberger, 1974).

CUADRO 1

tipo celular	evento	control hormonal
	replicación	?
GONOCITOS	diferenciación	probablemente no requiere ninguna hormona
	transformación	
	replicación	?
ESPERMATOGONIA	diferenciación	? testosterona
PRIMITIVA TIPO A	transformación	testosterona
	replicación	? testosterona
ESPERMATOGONIA	diferenciación	?
TIPO A	transformación	probablemente no requiere ninguna
ESPERMATOGONIA	diferenciación	?
TIPO B	transformación	no requiere
ESPERMATOCITO	profase	no requiere
DIAQUINESIS	división	testosterona
ESPERMATIDE		
PASO 1	diferenciación	? testosterona
ESPERMATIDE		
PASO 15	diferenciación	FSH y ? testosterona
ESPERMATIDE		
PASO 19		

Esquema tentativo del control hormonal en el inicio del proceso de espermato génesis. (Steinberger, 1974)

El cuadro 1 es un esquema tentativo del control hormonal en el inicio del proceso de espermatogenesis (Steinberger, 1974).

Las espermatogonias son las células madre de las cuales se derivan los otros tipos celulares. En los mamíferos, en los que se ha descrito el proceso de espermatogénesis, se han identificado distintos tipos de espermatogonias, entre las que se consideran a las espermatogonias las tipo A, tipo intermedias, y las tipo B. En términos generales podemos decir que esta clasificación propuesta por diferentes investigadores se basa principalmente en las características del tamaño nuclear y la disposición de la cromatina (Roosen-Rung, 1962; Courot, et. al., 1970).

Las espermatogonias de tipo A1 en todos los mamíferos, son células grandes con un núcleo ovoide que tiene el eje mayor paralelo a la membrana basal y su cromatina con un aspecto homogéneo y de apariencia polvosa, aunque en el caso de los roedores el nucleoplasma es oscuro. Estas células se sabe sufren una serie de divisiones mitóticas sucesivas que da una serie de espermatogonias tipo A, que se pueden clasificar según el número de divisiones sufridas, siendo muy variable dependiendo de cada especie. Por ejemplo en la rata y el ratón se sabe existen cuatro generaciones de espermatogonias tipo A, a diferencia del toro en el que suceden tres generaciones. Clermont y Leblond (1953) al estudiar estas divisiones mitóticas de las espermatogonias A en rata, encontraron que en cada ciclo, ésta espermatogonia da origen

a otras dos espermatogonias las cuales dan cuatro células tipo A, de las cuales una queda en estado de latencia hasta el siguiente ciclo (Courot, et. al., 1970; Austin y Short, 1982).

Las espermatogonias intermedias denominadas así por algunos, son las células de la primera o de las dos primeras generaciones en las que el núcleo tiene una apariencia grumosa y que se encuentra precediendo a los espermatoцитos primarios. Sin embargo otros investigadores no hacen una distinción entre las espermatogonias que presentan un núcleo con cromatina grumosa y la generación siguiente considerándolas a todas como espermatogonias tipo B. Estas células ya sean tipo intermedio o tipo B se caracterizan por presentar un decremento progresivo en su tamaño y una tendencia a tomar una forma esférica a lo largo de las divisiones hasta llegar a la última generación de espermatogonias. La membrana nuclear presenta acumulaciones de cromatina que hacen que se tiña más intensamente el núcleo, incluso en el nucleoplasma existen unos pequeños gránulos de heterocromatina. A las generaciones de espermatogonias intermedias se les ha descrito en diversas especies como en la rata, ratón, carnero, toro y oso, en las que se presenta una sola generación de espermatogonias intermedias, a diferencia del conejo en donde se han descrito dos generaciones; en el hombre y en el mono no se ha reportado ninguna generación de espermatogonias intermedias. El número de generaciones en las espermatogonias tipo B se ha visto que depende también de la especie, pues en algunas

existen una generación y en otras dos o cuatro (Courot, et. al., 1970; Roosen-Runge, 1962).

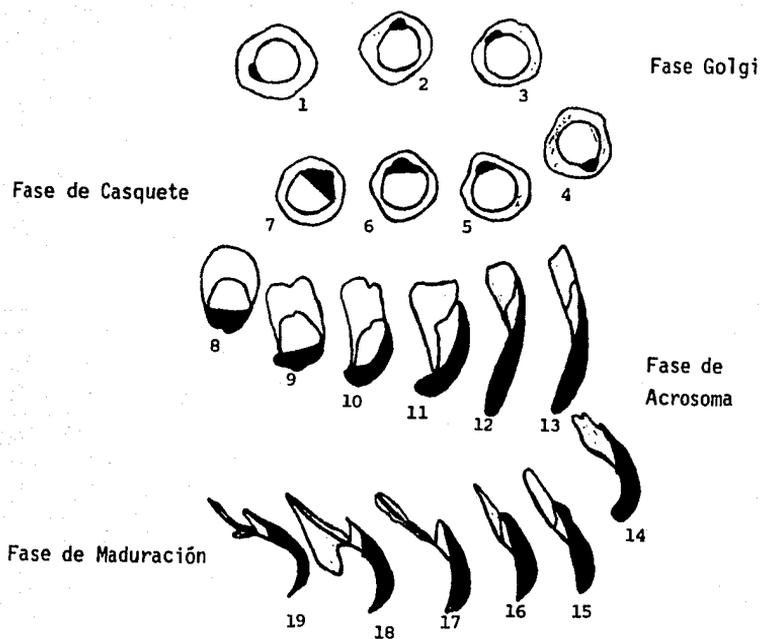
Después de la espermatogonia se forma el espermatocito primario. Este espermatocito recién formado presenta características muy similares a las de las espermatogonias de las cuales se derivaron, sin embargo, conforme avanzan hacia la luz del túbulo comienza a aumentar su citoplasma y a ser claramente mayores. Estos espermatocitos primarios pasan por una corta fase de G1 y por una etapa de duplicación de DNA; esta fase que precede a la profase se le denomina preleptoteno. Inmediatamente después de éste el espermatocito primario entra en la profase meiótica. En esta etapa la cromatina del núcleo se comienza a organizar en cromosomas filamentosos finos, que son típicos del leptoteno de la meiosis. Los cromosomas homólogos que se duplicaron ya en el preleptoteno, se aparean de manera muy estrecha durante el zigoteno por medio de complejos sinaptoténicos, en este estadio es en el que se lleva a cabo la recombinación del material genético, esto es conocido como crossing over. Después de esto viene el diplótено, estadio en el cual los cromosomas completan sus procesos de acortamiento y desaparecen los complejos sinaptoténicos. Una vez que se ha completado el emparejamiento de los cromosomas en los que se han formado los cromosomas bivalentes o tetradas continúa el enrollamiento y acortamiento, que da como resultado la formación de cordones cromosómicos más gruesos y más evidentes, lo cual es característico del estadio de paquiteno; durante este estadio a

los cromosomas duplicados se les puede observar como diadas o cromátidas hermanas que se mantienen unidas por sus centrómeros. Como estos estadios de la profase meiótica son largos, se ha reportado que para algunas especies dura aproximadamente veintidos días, es posible ver en cortes transversales de túbulos seminíferos, espermatoцитos primarios en cualquiera de los diferentes estadios de la profase. Cuando la profase concluye la membrana nuclear desaparece; las tetradas se disponen en la placa ecuatorial de la metafase I. En la anafase I los centrómeros de cada par homólogo se desplazan hacia los polos opuestos del espermatoцитo primario llevando con ellos a ambas cromátidas. La anafase I y telofase I se terminan rápidamente, de lo que resulta la formación de espermatoцитos secundarios que tiene sólo la mitad de cromosomas presentes al inicio de este proceso. Los espermatoцитos secundarios permanecen en interfase poco tiempo y es por eso que difícilmente se les observa en cortes de los túbulos seminíferos. La segunda división meiótica que sufren los espermatoцитos secundarios es muy corta, con una breve metafase II en la que los cromosomas se alinean en la placa ecuatorial, después viene la anafase II en la que los centrómeros se dividen como ocurre en la mitosis, permitiéndose así que las cromátidas hermanas se desplacen, cada una, hacia los polos opuestos. Al concluir la meiosis con la telofase II, se forman espermátidas que cuentan ya con una dotación haploide de cromosomas (Courot, et. al., 1970; Fawcett, 1987).

Además de los cambios nucleares sufridos por los espermatoцитos durante la meiosis, se han hecho otro tipo de observaciones como el aumento en la cantidad de RNA de manera significativa en las etapas tempranas del espermatoцитo primario, además de existir una ausencia notable en el crecimiento del citoplasma y del núcleo en fases posteriores. La actividad metabólica en estas células es alta en periodos específicos, a diferencia de las espermatogonias en las cuales, es muy reducida. Cuando el espermatoцитo primario está en la fase de leptoteno, presenta una elevada actividad de fosfatasa, la cual declina durante el paquiteno y que vuelve a incrementarse en el diploteno. En los espermatoцитos secundarios la síntesis de RNA se ha detectado en el carnero y de manera muy débil en el ratón (Rossen-Runge, 1962; Courot, et. al., 1970; Fawcett, 1987).

Las espermátidas que resultan de la segunda división meiótica son células redondas de características citológicas muy similares a los espermatoцитos secundarios. Estas espermátidas, células haploides, no sufren ya ninguna división sino un proceso de transformaciones que va a dar origen al espermatozoide. Este proceso de metamorfosis involucra modificaciones estructurales del núcleo y la formación de nuevos organelos. A este proceso por el cual, pasa la espermátide se le ha denominado Espermiogénesis, para facilitar su descripción, se le ha dividido en cuatro fases que son: La fase Golgi, la fase de casquete, la fase acrosómica y la fase de maduración. Cuando la espermátida está en una etapa

temprana, se caracteriza por ser una célula relativamente pequeña esférica o poligonal de núcleo esférico pequeño de 5 a 6 μ de diámetro que contiene cromatina finamente granular y teñido pálido; puede verse un pequeño aparato de Golgi en el citoplasma yuxtenuclear. Las fases de la espermiogénesis se han establecido apoyándose en las observaciones realizadas en cortes teñidos con la técnica de PAS con la que es posible distinguir las glucoproteínas de las estructuras acrosómicas que reaccionan con esta técnica, incluso estas cuatro fases se les ha podido subdividir en varias subfases por los estudios realizados en microscopia electrónica, las cuales varían según la especie siendo 19 en la rata (Esquema 7), 16 en el ratón y 14 en el mono (Steinberger, y Steinberger, 1975; Austin y Short, 1982).



Esquema 7.- Espermiogénesis en la rata. Del paso 1 al 3 se encuentra la fase de Golgi; del paso 4 al 7 la fase de casquete; del paso 8 al 14 la fase de acrosoma y del paso 15 al 19 la fase de maduración. (Steinberger y Steinberger, 1975)

Durante la fase de Golgi los gránulos proacrosómicos que se encuentran separados de la región del Golgi, se fusionan en un glóbulo grande y único, el gránulo acrosómico, que está contenido dentro de una vacuola o vesícula acrosómica envuelta por una membrana. Este gránulo se adhiere a la cara externa de la envoltura nuclear, el lugar de esta adherencia señala el futuro extremo anterior del núcleo del espermatozoide. El aparato de Golgi permanece estrechamente relacionado con la superficie de la vesícula acrosómica y continúa formando pequeñas vesículas que se van fusionando con la membrana de la vesícula acrosómica y vierten su contenido en ella, a la vez que la van agrandando (Austin y Short, 1982).

En la segunda fase, la membrana limitante de la vesícula acrosómica va aumentando su superficie de contacto con la envoltura nuclear, y forma un delgado pliegue que se extiende sobre el polo del núcleo, llegando por último a cubrir toda su superficie hemisférica anterior en forma de un capuchón. El gránulo acrosómico, mientras tanto, permanece localizado en el polo del núcleo. Mientras están en marcha las primeras fases de la formación del acrosoma en el polo anterior del núcleo, los centriolos emigran al extremo opuesto de la espermátida. Aquí el centriolo distal se orienta perpendicularmente a la superficie de la célula y actúa como corpúsculo basal del flagelo que crece fuera de la célula aunque cubierto por la membrana plasmática (Austin y Short, 1982).

En la tercera fase, o fase acrosómica se dan profundas modificaciones en el acrosoma, en el núcleo y el flagelo, caracterizada por una condensación de la cromatina y un alargamiento de la espermátida. Aunque la mayor parte del acrosoma permanece localizado en el polo anterior del núcleo, durante esta fase de la espermiogénesis, su sustancia se va extendiendo gradualmente en una delgada capa dentro de la membrana que constituye el capuchón hasta que, al final, coinciden en extensión el acrosoma y el capuchón, constituyéndose entonces el capuchón acrosómico, llamado a menudo simplemente acrosoma. En su forma definitiva es una estructura en forma de capuchón, limitada por membrana y que contiene una sustancia rica en hidratos de carbono y en enzimas hidrolíticas, que varía de tamaño y forma en las diferentes especies, pero está presente en los espermatozoides de todos los mamíferos. El núcleo de la espermátida se alarga y se aplana durante este periodo. Su cromatina granular, fina y uniformemente dispersa, se va transformando en finas bandas o filamentos que posteriormente se acortan y se engruesan para formar gránulos densos y gruesos (Austin y Short, 1982).

Conforme progresa el desarrollo, la masa del citoplasma se desplaza para colocarse detrás del polo caudal del núcleo y se alarga para rodear la parte proximal del flagelo. El cuerpo cromatoide, estructura especial que está presente dentro del citoplasma también en las fases anteriores, se aproxima al centriolo distal para formar una estructura en forma anular que se

llama anillo, esta estructura se tiñe intensamente con hematoxilina férrica y a la microscopía electrónica parece estar constituido por material denso filamentosos y granular. Esta estructura era llamada, por los histólogos clásicos, centriolo anular, en la creencia de que se originaba por una división desigual de uno de los centriolos. Las mitocondrias, que hasta este momento se encontraban distribuidas en la periferia del citoplasma, migran hacia el flagelo y lo rodean. Más tarde darán lugar a la vaina mitocóndrica de la parte media del espermatozoide. Casi al mismo tiempo los microtúbulos citoplásmicos se reúnen para formar una estructura cilíndrica, llamada vaina caudal o manguito, que parece ser se inserta en el núcleo y rodea la parte inicial del flagelo (Courot, et. al., 1970; Astin y Short, 1982).

Durante la cuarta fase o fase de maduración, los gránulos densos del núcleo se hacen aún más gruesos, aumentando su tamaño a expensas de los espacios interpuestos, hasta que por último, se fusionan y el núcleo se transforma en una masa densa y homogénea (Austin y Short 1982; Fawcett, 1987).

El anillo o centriolo anular que rodea al flagelo se mueve a lo largo de éste a cierta distancia del centriolo distal y marca los límites entre la parte media y la parte principal del flagelo. El manguito o vaina caudal desaparece durante la fase final del desarrollo de la espermátida. Al principio de esta cuarta fase se forman nueve fibras largas externas alrededor de los microtúbulos

axiales del flagelo, las cuales corren a lo largo de éste y terminan un poco antes de su extremo distal final. Las fibras externas se fusionan para formar una vaina a nivel de los Centriolos, que cubre al centriolo distal; dichas fibras pueden continuarse con el centriolo proximal que, parece ser, posibilita el movimiento del flagelo. Esta vaina presenta el punto de inserción del flagelo y constituye la pared de la porción que lo conecta con el cuello. Al nivel de la parte flagelar, las mitocondrias se alinean en espiral alrededor de las fibras externas formando la vaina mitocóndrica de la porción media. En la porción distal, se forma una vaina fibrosa alrededor de las fibras externas, y en la porción terminal del flagelo no hay vaina fibrosa ni fibras externas (Fawcett, 1987).

Durante la fase de maduración en la rata aparece una nueva estructura en la cabeza de la espermátida denominada bastoncillo, que se localiza en la porción apical del núcleo debajo del acrosoma, probablemente en el espacio subacrosómico, se desconoce por completo su naturaleza y función (Austin y Short, 1982).

Cuando concluye la espermiogénesis se elimina la mayor parte del exceso de citoplasma, éste contiene un gran número de ribosomas, gotitas de lípidos, mitocondrias en degeneración, así como membranas del aparato de Golgi constituyendo así lo que se conoce con el nombre de cuerpo residual de Regaud, el cual se elimina hacia la luz de los túbulos o es fagocitado por la célula de Sertoli, misma que ha tenido la función de soporte para la

espermátide durante este proceso de cambio. Inmediatamente después de la fagocitosis de los cuerpos residuales, las espermátidas maduras son liberadas, quedando en la luz de los túbulos seminíferos como espermatozoides libres (Roosen-Runge, 1962; Austin y Short, 1982).

En cuanto a la capacidad de síntesis de estas células durante este proceso tan complejo, se sabe que, al inicio de la espermiogénesis, las espermátides son capaces de sintetizar RNA, esto se demostró en experimentos realizados en ratón y jamster, además de probarse que esta capacidad no está presente en las espermátidas que están ya alargadas (Courot, et. al., 1970).

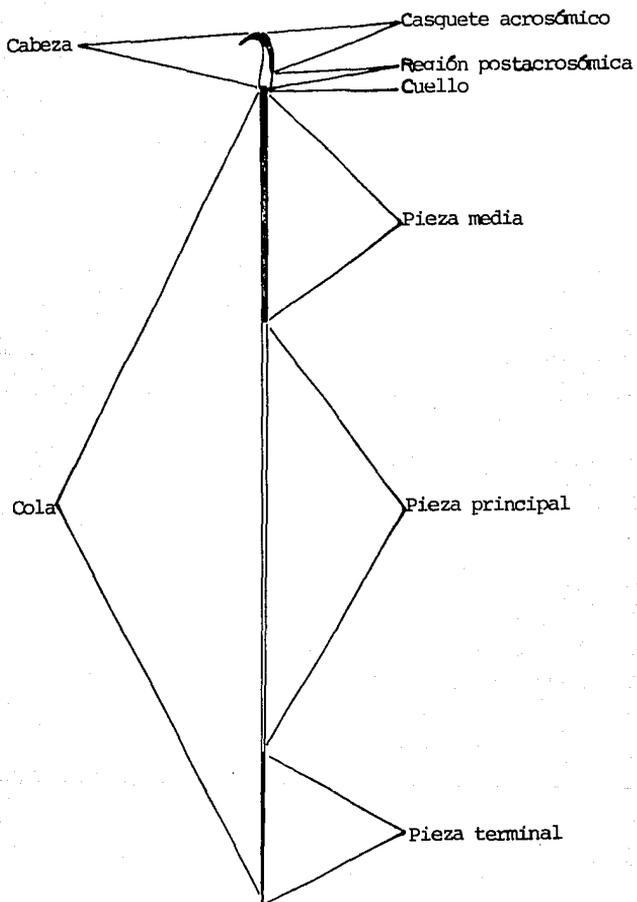
Durante la fase de maduración, las espermátidas elongadas presentan un fenómeno de reemplazo de las histonas nucleares, características de las histonas de las células somáticas que son ricas en lisina, por un nuevo tipo de histonas ricas en arginina, se ha visto la incorporación de arginina tritiada en el ratón y en el carnero, a esta histona nueva se le ha llamado histona espermática (Roosen-Runge, 1962; Courot, et. al., 1970; Austin y Short, 1982).

Una vez que los espermatozoides están libres en la luz de los túbulos seminíferos, estos viajan lentamente por los conductos seminíferos rectos y por la red testicular, de ahí pasan a través de los conductos eferentes para llegar al epidídimo en donde pueden

ser almacenados por largos periodos, este almacenamiento se dá principalmente en la cola del epidídimo (Courot, et. al., 1970).

Los espermatozoides que se emiten del testículo, no son funcionalmente maduros, éstos adquieren su movilidad y su capacidad de fertilización durante su paso a través del epidídimo en un proceso final de maduración (Courot, et. al., 1970; Austin y Short, 1982).

La morfología final del espermatozoide consta de dos porciones la cabeza y un flagelo o cola, el flagelo se subdivide en cuello, pieza media, pieza principal y la pieza terminal (Austin y Short, 1982; Fawcett, 1987) (Esquema 8).



Esquema 8.- Espermatozoide de rata (Austin y Short, 1982).

Existe un cierto porcentaje de degeneración celular en los diferentes niveles de las divisiones mitóticas (Courot, et. al., 1970). Se sabe que existen tres puntos críticos en la diferenciación de las células germinales, en los que se da una pérdida celular considerable. El primer punto crítico ocurre durante el desarrollo de la espermatogonia, en donde se involucran principalmente espermatogonias tipo A2 y A3, incluso se sabe que casi el 10.6% de todas las células de tipo A2 forman racimos necróticos durante la profase. Se reporta por Oakberg (1956) que las células de tipo A en el ratón degeneran en un 25% (Huckins, 1978).

El siguiente punto crítico en el que se aprecia una pérdida de células, se da durante las divisiones meióticas. En la rata por ejemplo, Clermont (1962) observó que la producción de espermátidas fué de sólo del 73% del valor esperado, mientras en el ratón Oakberg (1956) obtuvo una producción del 87% del valor anticipado. Más tarde durante la espermiogénesis en el paso 10 y 11, las espermátidas son particularmente vulnerables y se ha calculado que existen un 18% de pérdida en este paso. En resumen, la producción de espermatozoides es sólo de alrededor del 50% del número teóricamente esperado (Huckins, 1978).

3.- Célula de Sertoli.

Otro tipo celular que se encuentra dentro de los túbulos seminíferos y que no forma parte de las células germinales, es la población de células de soporte no proliferativas, llamadas células de Sertoli. A esta célula se le ha descrito de manera clásica por los morfólogos, como una célula con un núcleo ovoide irregular o piramidal, orientado de modo perpendicular a la lámina basal. Con la ayuda de la microscopía electrónica, se ha revelado que la célula de Sertoli presenta una forma compleja. Su núcleo se ha visto es de forma irregular, su nucleoplasma es homogéneo y parece contener una buena cantidad de eucromatina de textura fibrogranular. Presenta también un prominente complejo nucleolar que ha provocado controversia entre los investigadores, por sus estructuras muy particulares de las que se desconoce su función (Fawcett, 1975).

En cuanto a sus organelos citoplasmáticos se ha visto que contienen un buen número de mitocondrias delgadas y largas, que presentan una configuración interna ortodoxa con crestas orientadas generalmente de manera transversal. Su matriz es moderadamente densa y contiene típicamente pocos gránulos. Las mitocondrias del citoplasma basal están orientadas azarosamente, mientras éstas, en la porción supranuclear tienden a estar orientadas paralelamente al eje de la célula (Fawcett, 1975).

El aparato de Golgi no es un organelo completamente localizado en la porción yuxtannuclear de otras células, sino que por estudios realizados en microscopía electrónica parece consistir de varios complejos de Golgi o dictiosomas, dispersos en todas las prolongaciones de la célula. Estos complejos de Golgi están constituidos por cisternas paralelas un poco cortas y asociadas a pequeñas vesículas. Hasta ahora no se han identificado específicamente las sustancias metabolizadas y secretadas por este organelo en esta célula (Fawcett, 1975).

Existe retículo endoplásmico liso y rugoso. El retículo endoplásmico rugoso es predominante en el citoplasma basal y está generalmente arreglado en forma de túbulos, pero ocasionalmente se amontona en cisternas paralelas. El retículo endoplásmico liso es generalmente más abundante que el rugoso pero pueden existir diferencias en cuanto a la abundancia según la especie. Al parecer en los rumiantes es considerablemente más abundante que en los roedores comúnmente utilizados en el laboratorio. En el carnero existen agregados tubulares conspicuos y elementos de cisterna del retículo que se encuentran en la región basal y que frecuentemente se asocian con lípidos. Algo notable es la localización de masas densas de retículo endoplásmico liso en el citoplasma de las células de Sertoli que inmediatamente rodea a las espermátidas durante el desarrollo del acrosoma. Esta localización es más obvia en el toro, cerdo, cordero, antilopes,

gacelas y otros artiodáctilos, aunque cabe señalar que también es notable en algunos roedores. Estas concentraciones de retículo endoplásmico liso se observan primero en las células de Sertoli que soportaban espermátidas en la fase temprana del acrosóma (Fawcett, 1975).

En la fase tardía, la malla que forma el retículo endoplásmico liso en las etapas anteriores, se dispersa quedando una cisterna de retículo que permanece muy cerca a la membrana plasmática de la célula de Sertoli. Esta cisterna que se encuentra por debajo de la superficie, es ya de retículo endoplásmico rugoso la cual frecuentemente tiene pocos ribosomas sobre la superficie que da al citoplasma y ninguno en la cara que da hacia la superficie celular. Generalmente está separada de la membrana celular por una capa delgada rica en paquetes ordenados de filamentos. Este complejo parece constituir una especialización para mantener la cohesión entre la espermátida y la célula de soporte (Fawcett, 1975).

En cuanto a las inclusiones citoplasmáticas, rara vez se encuentran en células de los animales de laboratorio y domésticos, sin embargo en las células de Sertoli del testículo humano, se presentan dos tipos de cristales. Los cristales grandes de 10 a 25 μ de largo por 2 a 3 μ de ancho y que originalmente fueron descritos por Lubarsch referidos como cristales de Charcot-Böltcher y cristales pequeños de 1 a 5 μ de largo por 1 μ de ancho descubiertos por Spangaro y que generalmente se denominan con este

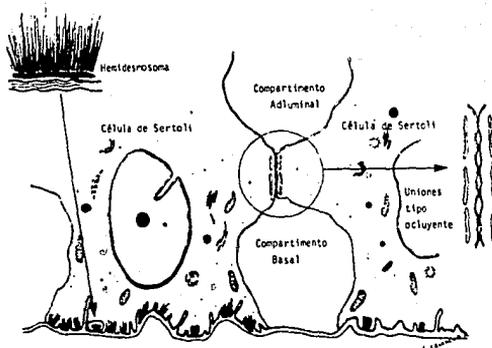
nombre. No se sabe cual pueda ser la función de estos cristales (Fawcett, 1975).

El contenido de lípidos en la célula de Sertoli es muy variable de especie a especie, en cuanto a la cantidad total y al tamaño de la gotas de lípidos. En la rata, las gotas de lípidos son abundantes en los estadios IX al I del ciclo espermatogénico, las gotas son grandes después de la liberación de los espermatozoides. Lacy () describió los cambios cíclicos del contenido lipídico de las células de Sertoli de la rata, el máximo ocurre justo después de la liberación de los espermatozoides y después disminuye lentamente en los siguientes estadios del ciclo espermatogénico. Los lípidos presentes inmediatamente después de la espermiación, son probablemente derivado de la fagocitosis de los cuerpos residuales. Incluso se sabe que después de daños al epitelio germinal, en los que se provoque degeneración de las células germinales, la cantidad de lípidos de la célula de Sertoli aumenta. Estas observaciones llevaron a Lacy en 1967 a proponer que en el ciclo espermatogénico normal la fagocitosis de cuerpos residuales por las células de Sertoli, provee material utilizable para estas células, para la síntesis de uno o más esteroides que actúan como hormonas locales o estimulando a los espermatoцитos a completar la meiosis (Fawcett, 1975).

Otra característica anatomo-funcional de la célula de Sertoli, muy importante, es el de formar con las demás células de Sertoli

la barrera hematotesticular (Esquema 9). Esta barrera constituida por uniones de tipo ocluyente permite la formación de dos compartimentos, el compartimento basal y el compartimento adluminal. En el compartimento basal se localizan espermatogonias y espermatocitos en preleptoteno mientras que en el compartimento adluminal, pasando la barrera hematotesticular se localizan los diferentes tipos celulares germinales. Se sabe, por estudios en los que se ha probado la permeabilidad de la barrera, que las sustancias no penetran al compartimento adluminal, además de que el establecimiento de esta barrera de protección para las células germinales precede al inicio de la espermatogénesis en etapas puberales, ya que en la rata por ejemplo la aparición de la barrera hematotesticular, como tal, se da entre los 16 y 19 días de edad. En los roedores de laboratorio, la barrera hematotesticular está constituida por dos componentes, un componente adventicio constituido por las uniones de las células epiteloides de la capa contractil peritubular y las de Sertoli (Fawcett, 1975).

La participación de esta célula de Sertoli en cuanto a la regulación endócrina del testículo ya fué descrita en párrafos anteriores. Sólo resta decir, que a pesar de lo que se conoce en cuanto a su estructura y su participación en la regulación endócrina del testículo, aún se desconoce mucho de su papel en los procesos de la espermatogénesis.



Esquema 9.- Barrera Hematotesticular. (Casanova)

4.- Célula de Leydig.

Otra célula importante en el testículo es la célula de Leydig o célula intersticial del testículo que se localiza en el estroma del tejido conectivo de los testículos, entre los túbulos seminíferos.

Estas células tienen, en el periodo fetal, una participación muy importante en la síntesis de andrógenos requeridos para la diferenciación del aparato reproductor masculino. La actividad secretora de la célula de Leydig en la vida prenatal, parece entrar en regresión después del nacimiento. Durante el periodo prepuberal las células de Leydig adquieren un aspecto indiferenciado, hasta

el inicio de la pubertad, en donde nuevamente, tienen el aspecto de una célula de Leydig bien diferenciada (Clegg, 1966; Knorr, et. al., 1970).

La abundancia y las relaciones topográficas de la célula de Leydig en el tejido intersticial varían considerablemente entre las especies. De un estudio comparativo realizado por Fawcett, et. al., en 1973, se concluye que existen tres patrones de organización del tejido intersticial, 1) en el que existe un volumen pequeño de células de Leydig asociadas con tejido conectivo escaso y con sinusoides linfáticos peritubulares extensos; 2) racimos de células de Leydig con abundante tejido conectivo laxo drenado por vasos linfáticos y 3) células de Leydig abundantes que ocupan el tejido intertubular, pero con poco tejido conectivo y pocos vasos linfáticos (Hodgson y Hudson 1983).

La célula de Leydig en el testículo adulto, en la rata, se caracteriza por encontrarse en racimos, los cuales se localizan relacionados estrechamente a vasos sanguíneos. Los vasos sanguíneos y las células de Leydig están separados sólo por una delgada capa de endotelio.

Su forma es poliédrica irregular ó esférica, miden aproximadamente 10 μ de diámetro, presentan un núcleo grande y esférico con heterocromatina dispuesta periféricamente y con uno o dos nucleolos bien evidentes. El aparato de Golgi de estas células

está bien desarrollado. Sus mitocondrias son abundantes y de diferentes formas y tamaños, aunque algo muy característico de este organelo es la presencia de crestas tubulares. Algunas mitocondrias contienen en su matriz algo que parecen ser inclusiones lipídicas. Presenta un retículo endoplásmico liso extenso característico de las células esteroideogénicas. En la rata, está moderadamente desarrollado y compuesto completamente por túbulos interconectados formando una red a través del citoplasma. Estos túbulos del retículo endoplásmico liso son más irregulares en el diámetro y arreglo en la rata que en el hombre. En estudios morfométricos muy detallados del retículo endoplásmico liso en la rata, se ha calculado que ocupa un 23.7 % del volumen citoplasmático y con una superficie total que es once veces la membrana plasmática. Esta área tan basta del retículo endoplásmico liso en la célula de Leydig, contiene muchas enzimas necesarias para la biosíntesis de esteroides, incluso se ha calculado que secreta hasta 10800 moléculas de testosterona por minuto (Hodgson y Hudson, 1983). Se han encontrado parches de retículo endoplásmico rugoso disperso a lo largo del citoplasma y frecuentemente interconectado al retículo endoplásmico liso. También existen abundantes peroxisomas, que son de un diámetro pequeño y de forma irregular, así como lisosomas, los cuales generalmente son esféricos con un diámetro promedio de 0.48μ . Se sabe que generalmente contienen fosfatasa ácida que probablemente digiere material tomado por la célula o regiones citoplasmáticas focales que se han desgastado, además de relacionárseles en el proceso de internalización del receptor a LH

y su regulación (Hodgson y Hudson, 1983). En el humano pueden observarse en el citoplasma la presencia de cristales citoplasmáticos de 3μ o más de grosor y de unas 20μ de largo a los cuales se les conoce con el nombre de cristales de Reinke, de los cuales hasta ahora se desconoce su función. El citoplasma de la célula de Leydig es acidófilo y con abundantes gotitas de lípidos necesarias para la síntesis de andrógenos (Fawcett, 1987).

En cuanto al citoesqueleto de la célula de Leydig, no se observa un arreglo específico de los microtúbulos, aunque algunas veces aparece radial en la vecindad de los centriolos hacia el interior de la zona de Golgi. El diámetro de los microtúbulos es entre los 250 \AA y contrasta con los microfilamentos, los cuales son aproximadamente de 60 \AA (Hodgson y Hudson, 1983).

2.- Endocrinología del ovario.

1) Ciclo estral.

La secreción de esteroides ováricos, así como la secreción de gonadotrofinas hipofisiarias y factores liberadores del hipotálamo, actúan sobre el ovario mismo, dando como resultado el crecimiento y maduración de los folículos, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. El proceso ocurre de manera cíclica con la participación del SNC a través de algunos mecanismos bien conocidos, como es el caso de los roedores, en los que la ovulación requiere de estímulos externos como la vista, la olfacción y el contacto con otros individuos del sexo opuesto y de otros mecanismos aún poco conocidos.

La regulación del ciclo está determinada por una red compleja de eventos secretores anatómicos y conductuales que interactúan de manera rítmica y que funcionan para asegurar la reproducción (Bronson, et. al., 1966).

En principio el ciclo estral fué descrito en los roedores a partir de datos aportados por Sockard y Papanicolau en los que describieron los cambios cíclicos del contenido celular de un frotis vaginal, lo que permitió determinar el momento del calor en las hembras. Más adelante el ciclo estral fué estudiado con detalle en el ratón por Allen (1931), Reitschel (1929), Clauberg (1931) y

otros, estableciéndose así, las bases de los cambios sufridos en el epitelio vaginal (Snell, 1941). La periodicidad que se observa en el ciclo estral de hembras ya maduras, es el resultado directo de cambios también cíclicos que ocurren en la actividad hipotalámica, en la secreción de gonadotrofinas y en el ovario.

El ciclo estral en el ratón y en la rata se ha dividido convenientemente en cinco estadios o etapas llamadas, proestro, estro, metaestro 1, metaestro 2, y diestro, los cuales se establecen por el examen del frotis vaginal que refleja características celulares específicas que dependen de los estrógenos. Los tres tipos de células que se encuentran en el frotis vaginal son: leucocitos, células epiteliales cornificadas y células epiteliales nucleadas, la abundancia relativa de estos tipos de células, son los que marcan la pauta para definir cada etapa o estadio (Bronson, et. al., 1966).

En el ciclo estral del ratón albino de laboratorio se han establecido cinco fases son:

Proestro.- abundantes células epiteliales nucleadas, algunas células epiteliales cornificadas y escasos leucocitos.

Estro.- células epiteliales cornificadas y unas pocas células epiteliales nucleadas.

Metaestro 1.- abundante cantidad de células epiteliales cornificadas.

Metaestro 2.- abundantes células epiteliales cornificadas y

abundantes leucocitos.

Diestro.- abundantes leucocitos, pocas células epiteliales nucleadas y un poco de moco.

Los primeros dos estadios son etapas anabólicas en las cuales la actividad de crecimiento es progresiva en varias partes del tracto genital. Estos cambios coinciden en el ovario, con la ovulación para que, si ocurre apareamiento, haya fertilización. El tercero y el cuarto estadio, el metaestro 1 y 2 se caracterizan por ser estadios catabólicos, en los que se dan cambios degenerativos del tracto genital. Y en el último o primer estadio (según se vea), el diestro es un periodo de quiescencia o poco crecimiento (Snell, 1941; Bronson, et. al., 1966).

2) Ciclo ovárico.

Los cambios proliferativos e involutivos que se manifiestan en la citología vaginal durante las etapas del ciclo estral, son el reflejo de los cambios, cíclicos también, en las concentraciones de hormonas, sobre todo de los estrógenos, en la sangre. En este ciclo hormonal participan, además hormonas hipotalámicas, las gonadortofinas hipofisarias, los estrógenos ya mencionados, la progesterona y los andrógenos. Las estructuras anatómicas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, son por tanto las encargadas de llevar a cabo a través de la secreción y reguladas por mecanismos de retroalimentación positivos y negativos, este ciclo hormonal

también llamado ciclo ovárico (Bronson, et. al., 1966; Peter. et.al., 1983).

El ciclo ovárico que se presenta en los mamíferos, se ha dividido para su estudio en cuatro fases llamadas: La fase folicular, la fase proliferativa, la fase ovulatoria y la fase lutea.

La fase folicular temprana se caracteriza por un incremento en los niveles plasmáticos de FSH, así como un ascenso muy leve en los niveles de LH; los estrógenos se mantienen bajos con cambios pequeños, igual que las otras hormonas gonadales. Morfológicamente esta etapa se caracteriza porque en el ovario hay un crecimiento de algunos de los folículos de reserva. También puede relacionarse a esta etapa, con la fase de Diestro I del ciclo estral de la rata (Morgan, 1983).

En la etapa tardía de la fase folicular o fase proliferativa del ciclo ovárico correspondiente al diagnóstico de Diestro II y Proestro en frotis vaginales, ocurre un aumento en los niveles de estrógenos, que inicialmente es lento y después es rápido, alcanzando el pico más alto justo antes de la ovulación. También ocurre que los niveles de FSH disminuyen y los de LH se incrementan lentamente pero de manera constante. Los niveles de progesterona son bajos durante toda la fase folicular, la secreción de LHRH (hormona liberadora de gonadotrofinas), ocurre a modo de pulsos

durante las 24 horas del día (Morgan, 1983; Peter, et.al., 1983).

En la fase ovulatoria hay un incremento brusco en los niveles de LH; al mismo tiempo, se dá un aumento en los niveles de FSH, aunque de menores dimensiones. La cantidad de estrógenos y de 17 O-hidroxiprogesterona disminuye y la progesterona comienza a incrementarse lentamente. Los niveles altos de LH duran aproximadamente 24 horas y después caen también de modo brusco. Todos estos cambios hormonales conducen a la maduración final de los folículos prevulatorios y a la ruptura y expulsión del ovocito, en los seleccionados (Griff, y Vande-Wiele, 1974). La fase ovulatoria corresponde por sus características al inicio del Estro.

La fase del cuerpo luteo corresponde al Metaestro I y II para el caso del ratón, y al Metaestro e inicio del Diestro I en el caso de la rata en los frotis vaginales, Se caracteriza por altos niveles plasmáticos de progesterona, estradiol, estrona y de la 17 O-hidroxiprogesterona. Los niveles de FSH y LH siguen bajando y llegan a un mínimo que corresponde con el nivel máximo de progesterona (Griff, y Vande-Wiele, 1974; Peter, et. al. 1983). Histológicamente en esta fase, se observa la formación del cuerpo amarillo.

La secreción de gonadotrofinas es controlada por mecanismos de retroalimentación, en los que el estradiol es el componente ovárico más importante (Knobil, 1983).

El efecto de retroalimentación sobre las secreciones de FSH y LH es ejercido de manera diferencial; durante el curso de la fase folicular en que existe una elevación del nivel sérico de FSH y declive posterior durante las etapas temprana y tardía, respectivamente, durante esta fase, presentándose así un mecanismo de feedback negativo. Contrariamente, los estrógenos ejercen efecto positivo o facilitador sobre la secreción de LH cuyos niveles plasmáticos se incrementan paulatinamente en el curso de la fase folicular del ciclo (Morgan, 1983).

Experimentalmente el feedback positivo o negativo que ejerce el estradiol, se demuestra por los distintos efectos que se obtienen, sobre la secreción de gonadotrofinas, dependiendo de la dosis administrada y del momento del ciclo en la que se actúa (Griff, y Vande-Wiele, 1974).

Además de estos mecanismos, se ha demostrado que la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis a la inhibición inducida por los estrógenos, se modifica de acuerdo a la cantidad de estrógenos circulantes y su asociación con catecolaminas y prostanglandinas cerebrales sobre todo en la regulación de la secreción de LHRH (Morgan, 1983). Incluso estos mecanismos se han considerado como básicos en el inicio de la pubertad (Ojeda, et. al., 1980).

En la fase folicular temprana, el incremento que se da de la FSH, se supone causado porque los estrógenos disminuyen durante la regresión del cuerpo luteo. En esta fase los niveles de progesterona circulantes se mantienen bajos, por lo que se presentan pulsos de secreción de LHRH cada hora o cada dos horas, es decir, son frecuentes, lo mismo ocurre durante la fase proliferativa (Morgan, 1983).

La información acumulada apoya la teoría de que durante la fase ovulatoria del ciclo, el aumento de los niveles de estrógenos es el gatillo que dispara el pico preovulatorio de LH; la 17 Ó-hidroprogesterona, probablemente también participe en este disparo que tiene como consecuencia la ola de LH que a su vez estimula la secreción de progesterona (Griff, y Vande-Wiele, 1974).

Durante la fase de cuerpo luteo los esteroides ováricos ejercen una fuerte inhibición sobre la secreción de gonadotrofinas, lo que se puede ver claramente hacia la mitad de esta fase. Se ha visto que la progesterona ejerce un efecto inhibitor sobre la liberación hipotalámica de LHRH, lo que se refleja también en la secreción de LH. La frecuencia de los pulsos de la LHRH durante esta fase se reducen a un pulso cada 4 a 6 horas en la mujer (Peter H. et. al., 1983).

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

3.- Mecanismos intraováricos en el crecimiento folicular.

Durante las fases del ciclo ovárico se dan una serie de cambios hormonales y anatómicos que tienen como producto el promover el crecimiento y maduración de los folículos ováricos que han de ser ovulados durante la fase ovulatoria, como respuesta a una ola de LH. Este proceso del ciclo ovárico depende de la liberación de LHRH y su acción sobre la hipófisis, la cual a su vez secreta FSH y LH en las cantidades adecuadas para así influenciar la secreción de hormonas gonadales, que a su vez van a regular la secreción de gonadotrofinas (Peter, 1983).

Durante el crecimiento y maduración de los folículos hacia folículos preovulatorios o de Graaf, los esteroides ováricos secretados por estos folículos, tienen un papel relevante, ya que al parecer constituyen un mecanismo intraovárico que regula el crecimiento folicular, sumándose éste, a la compleja red de influencias hormonales involucradas en el ciclo ovárico. (Richards, 1978).

El crecimiento folicular se pensaba que era un evento cíclico, sin embargo, en los estudios en los cuales se ha llevado a cabo marcaje en las células de la granulosa, se vio que es un evento continuo en el cual, algunos de los folículos que constituyen la reserva comienzan a crecer hasta tamaños preantrales, sin que exista una estimulación por parte de las gonadotrofinas

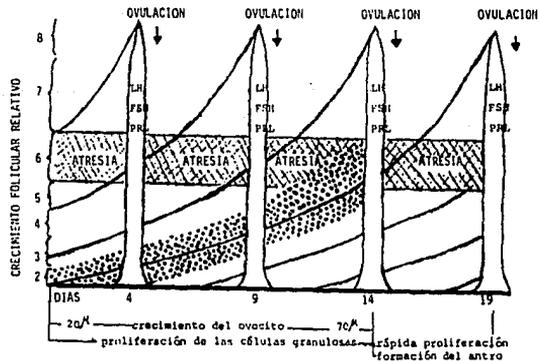
hipofisiarias y estableciéndose que, el inicio del crecimiento folicular está aparentemente regulado por mecanismos intraováricos, los cuales actúan aún en estadios de preñez y de lactancia (Peters, et. al., 1975).

En ratas y cobayos maduros en los que se practicó hipofisectomía, se demostró el desarrollo de folículos hasta tallas preantrales, así como un incremento en la atresia folicular de los folículos más grandes, lo que se interpretó como que al parecer las hormonas gonadales no son esenciales para el crecimiento temprano de los folículos y que la atresia sufrida por los folículos preantrales es consecuencia de la ausencia de gonadotrofinas (Nakano, et. al., 1975).

El crecimiento folicular en folículos medianos y grandes, por el contrario, es dependiente de la estimulación de gonadotrofinas (Peters, et. al., 1975). La FSH sola es la responsable principal de la proliferación de las células de la granulosa, y luego con la participación de la LH durante el ciclo, se promueve un enriquecimiento de la teca, que ya se ha diferenciado, realzando el desarrollo vascular y la formación de antro, e induciendo de manera notable la síntesis de la 20 Ó-hidroxiesteroide deshidrogenasa. Incrementándose además el número de receptores a las gonadotrofinas conforme se da el crecimiento folicular, constituyendo ésto un modulador más en el crecimiento folicular (Lunenfeld, et. al., 1975).

El crecimiento folicular que conduce a la formación de folículos de Graaf, que son ovulados en respuesta a la ola de gonadotrofinas de un ciclo, comienzan a crecer al menos 19 días antes, estando así expuestos a tres o más olas consecutivas de gonadotrofinas. Este crecimiento folicular continuo se da en etapas de preñez o lactancia, probablemente se deba a que los folículos de la reserva pueden responder a los estímulos proporcionados por los niveles basales de FSH y LH. El mecanismo por el cual se va a determinar cuales folículos comiencen a crecer, maduren y sean ovulados, aún no se conoce del todo, sin embargo se sabe que los cambios en los niveles de FSH y LH durante el ciclo ovárico son determinantes (Esquema 10), así como la capacidad de respuesta de los elementos que constituyen al folículo (Griff, y Vande-Wiele, 1974; Richards, 1980).

PROBABLE PATRON DEL CRECIMIENTO FOLICULAR DURANTE CUATRO CICLOS ESTRALES EN LA RATA



Los folículos están constituidos por las células de la granulosa y de la teca, las cuales forman una unidad que participa como uno más de los mecanismos en la regulación intraovárica del crecimiento folicular. El funcionamiento de esta unidad de células tecales y granulosas, está ligado de manera estrecha a la estimulación de gonadotrofinas, a la cantidad de receptores de estas células a dichas hormonas y al estímulo proporcionado por los estrógenos producidos en esta relación sinérgica (Richards, y Midgley, 1976).

La localización de receptores específicos a hormonas gonadotróficas ha demostrado que la captación de FSH está restringida a las células de la granulosa mientras que la captación de LH se localiza en las células tecales y células luteales. Esta cuantificación de los sitios de captación a la hormona en las poblaciones celulares del ovario ha provisto la evidencia para sustentar el concepto de que la respuesta del folículo o del cuerpo luteo depende no sólo de los cambios en las concentraciones séricas de FSH, LH y prolactina (PRL) sino también a los cambios en el contenido de sitios de captación a las gonadotrofinas en las células (Richards, J.S., 1978).

Además se ha demostrado, la presencia de receptores a LH en las poblaciones de células intersticiales del ovario que constituyen la glándula intersticial, encargada de la síntesis de androstenediona y dehidroepiandrosterona, precursoras de la

testosterona. La importancia fisiológica de la síntesis de andrógenos ováricos es que, son precursores obligados de la biosíntesis de estrógenos por las células de la granulosa, además de inducir la atresia folicular (Erickson, et. al., 1985).

Se demostró hace pocos años la capacidad de las células de la granulosa para, a partir de testosterona y androstenediona sintetizar estradiol ya que poseen un sistema activo de aromatasas capaz de llevar hasta el final la reacción de biosíntesis de estrógenos. Así, células de la granulosa en cultivo, en presencia de testosterona y estimuladas con FSH, pueden incrementar la acumulación de estradiol, sugiriéndose un aumento dependiente de FSH en la actividad de aromatasas. Observaciones realizadas en estudios in vivo en los cuales se ha administrado FSH a ratas inmaduras hipofizectomizadas el contenido de estradiol ovárico aumenta cuando se proporciona testosterona pero no cuando se da dihidrotestosterona (Richards, 1980).

En folículos pequeños, medianos y grandes las células de la granulosa presentan receptores a FSH, a diferencia de las células de los folículos preovulatorios las que tienen receptores a FSH y LH, por lo que se puede postular que los cambios en el contenido de receptores de las células de la granulosa puede determinar la respuesta de estos folículos a hormonas específicas. Cuantificando a lo largo del ciclo estral la cantidad de receptores para gonadotrofinas en las células granulosas se obtuvo que los

receptores para FSH permanecen más o menos constantes a lo largo del ciclo a diferencia de los receptores a

LH los cuales, se incrementan marcadamente en el proestro, es más este aumento en los receptores a LH es previo al pico de LH/FSH que se dá al final del proestro (Richards, y Midgley, 1976; Richards, 1978).

En las células de la teca existen cambios en el contenido de receptores a LH. Esto se ha demostrado en animales hipofisectomizados en los que la atresia folicular en folículos preantrales aumenta alcanzando valores del 90%, el ovocito y las células de la granulosa degeneran y las células tecales se hipertrofian. Estas células hipertrofiadas tienen abundantes receptores a LH distribuidos homogéneamente en la membrana celular, además de contener 3 β hidroxisteroide deshidrogenasa (3 BSDH) muy activa y un almacén de ésteres de colesterol. La importancia de esto es que los receptores a LH de las células tecales son capaces de iniciar una respuesta funcional (Erickson, et.al., 1985).

En la rata se ha demostrado que los folículos en el proestro tienen una respuesta mayor a FSH, LH y adenilciclase así como un aumento en la producción de AMPc con respecto a los folículos que existen en el diestro o estro. Aunque el incremento en la respuesta a LH parece relacionarse en parte a un incremento en el número de receptores a LH en las células tecales y granulosas; el aumento en la respuesta a FSH se dá en ausencia de un cambio en

los receptores a FSH por lo tanto la respuesta a FSH produce un aumento en el número de células granulosas por folículo o probablemente un incremento en el sistema adenilciclasa mediados por estradiol (Richards, y Midgley, 1976; Hirshfield, y Midgley, 1978 a y b; Richards, 1980).

Desde los años 30 se estableció que el estradiol puede aumentar la respuesta ovárica a las gonadotropinas *in vivo* en ratas adultas que se encuentren ciclando o al final de la preñez. El crecimiento folicular hasta folículos preovulatorios parece requerir un incremento en la síntesis de estradiol, el cual a su vez parece depender de un incremento en la respuesta de las células tecales a la LH y a un incremento en la producción de andrógenos derivados de la teca (Richards, 1980).

La participación del estradiol en los folículos preovulatorios combinado con la producción de AMPc como respuesta a la estimulación dada por las gonadotropinas es al parecer otro punto muy importante en el desarrollo de los folículos preovulatorios. El cómo es el mecanismo por el cual actúa el estradiol de manera sinérgica con las gonadotropinas es aún poco claro, sin embargo, se ha establecido claramente que la respuesta de las células ováricas a las gonadotropinas no sólo depende de la concentración de estas hormonas en el plasma, sino también de el contenido de sus receptores en las células blanco, así como de la composición del sistema adenilciclasa, pues el incremento en la actividad de

adenilciclasa y la producción de AMPc en respuesta a la FSH en células de la granulosa de folículos preovulatorios de rata ocurre sin que haya un cambio en el número de receptores a FSH en la célula de la granulosa, pues al parecer este cambio es en el sistema de adenilciclasa (Richards, y Midgley, 1976; Richards, 1980).

4.- Crecimiento Folicular.

El crecimiento folicular se ha descrito como un evento continuo, en el que los folículos experimentan cambios morfológicos y funcionales en los que se involucra la citodiferenciación de los elementos que constituyen el folículo. El crecimiento folicular, como ya hemos mencionado depende de la compleja red hormonal que se lleva a cabo durante el ciclo ovárico y de mecanismos intraováricos que aún no se conocen del todo (Peters, et. al., 1975).

Los cambios morfológicos que se dan en el desarrollo de un folículo primario hacia un folículo preovulatorio o de Graaf ha permitido establecer las modificaciones en el tamaño, en el número y en el rango de crecimiento de estos folículos durante el ciclo estral y en etapas prepuberales.

El cuantificar dichas variaciones en la población de folículos en el ovario durante el ciclo estral, obligó a los investigadores

a proponer distintas clasificaciones que permitieran reconocer los cambios en la talla de los folículos durante su crecimiento en las distintas etapas del ciclo estral.

Una de las clasificaciones más utilizadas es la propuesta por Pedersen y Peters (1968) para los folículos del ovario del ratón, en la cual, se evalúan y comparan los cambios en el ovocito y el crecimiento folicular. Esta clasificación se basa en (1) el tamaño del ovocito de acuerdo al grado de desarrollo del folículo; (2) el tamaño del folículo caracterizado por el número de células de la granulosa; (3) la morfología del folículo. Los folículos se dividen en tres grandes grupos: pequeños, medianos y grandes (Esquema 11). Estos grupos a su vez están subdivididos en tipos de folículos de acuerdo al número de células foliculares de la capa granulosa cuantificadas en un corte transversal del folículo en el que se defina claramente el núcleo y nucleólo del ovocito (Pedersen y Peters, 1968).

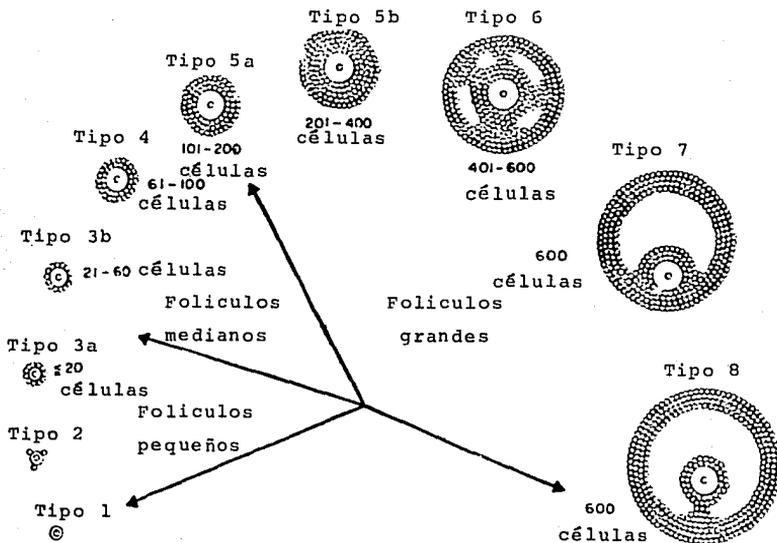
Los folículos pequeños son los de tipo 1, 2 y 3a. Los folículos tipo 1 son los que presentan un ovocito pequeño con un diámetro menor de 20μ y sin células foliculares que rodeen su superficie. Los folículos tipo 2 presentan un ovocito aún pequeño, pero rodeado por células foliculares que no llegan a formar una cubierta completa o un anillo alrededor del ovocito. Los folículos tipo 3a tienen un ovocito pequeño que se encuentra rodeado en su totalidad por células foliculares, las cuales no son

mas de 20.

Los folículos medianos son los de tipo 3b, 4 y 5a. En los folículos tipo 3b el ovocito ha comenzado a crecer y se observa rodeado por células foliculares que van de 21 a 60 células. Los folículos tipo 4 el ovocito tiene un diámetro que oscila entre los 20 y 70 μ , y se encuentra rodeado por dos capas de células foliculares, las cuales van de 61 a 100 células. Los folículos tipo 5a es un estadio transitorio, entre los folículos medianos y grandes de suma importancia, en el que a los folículos se les denomina también folículos preantrales. En algunos folículos de este tipo el ovocito mide aún menos de 70 μ de diámetro y en otros ya alcanzado el máximo tamaño. Las células foliculares que rodean al ovocito ya son tres capas y su número oscila entre 100 y 200 células.

La categoría de folículos grandes o antrales esta constituida por los folículos tipo 5b, 6, 7 y 8. Los folículos 5b presentan un ovocito que ya tiene el tamaño máximo y se encuentra rodeado por varias capas de células foliculares, las cuales van desde 201 a 400 células, aún no existe fluido folicular. Los folículos tipo 6 tienen varias capas de células foliculares que comienzan a estar separadas por áreas de fluido folicular, el número de células foliculares va de 401 a 600 células. En los folículos de tipo 7 el antro folicular se define con claridad y el número de células que lo constituye es mayor de 600 y el cumulus ophorus aún no se

ha formado. Los folículos tipo 8 tienen ya el cumulus ophorus bien desarrollado y representa el tipo de folículo prevulatorio.



Esquema 11.- Clasificación de los folículos del ovario de ratón.
(Pedersen y Peters, 1968)

A la luz de esta clasificación y otras similares se ha descrito la cinética del crecimiento folicular durante el ciclo estral en diferentes roedores y se ha visto que existe una asociación entre el tipo de folículos presentes y la etapa del ciclo estral en la que se encuentre la hembra, así como la

existencia de una modificación en el porcentaje de atresia en los distintos tamaños de folículos en las etapas del ciclo estral.

En el ratón por ejemplo, los cambios más notables se dan en los folículos que constituyen la población de folículos grandes. Durante el proestro los folículos de tipo 5b son los más abundantes y no existen folículos de tipo 6. Durante el estro se observan únicamente folículos de tipo 7 y durante el metaestro se ven folículos de tipo 6 siendo estos los más abundantes (Pedersen, 1970).

Mandl y Zuckerman en 1952, reportaron en la rata la existencia de diferencias significativas en el número de folículos mayores de 350μ de diámetro, correspondientes a los folículos grandes en el ratón, en las diferentes fases del ciclo estral. Siendo que el proceso de atresia y de degeneración en esta especie es más marcado en los folículos de 250μ y 349μ de diámetro, que son considerados folículos antrales pre-Graaf y que en el ratón serían los folículos medianos, en el inicio del estro y en el momento de la ovulación. También ocurre un número alto de degeneración entre los folículos de 350μ y 449μ de diámetro, que corresponden a los folículos de tipo 5b, y siendo rara la atresia y la degeneración entre los folículos mayores de 450μ de ovarios normales en la rata.

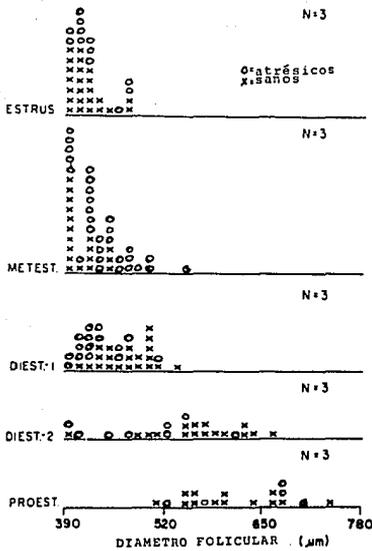
Estos hallazgos coinciden con las observaciones de Hirshfield y Midgley en 1978a, en las que reportan que en la fase de estro se

presentan únicamente folículos que van de las 390 μ de diámetro a las 500 μ (folículos de tipo 5b), de los cuales algunos cuantos sufren atresia. Durante el metaestro se mantienen los folículos de estas dimensiones, aunque con un ligero descenso en cuanto al número total de folículos y un incremento en la atresia folicular. En el diestro I se continúan presentando folículos entre los 390 y 520 μ de diámetro a diferencia del diestro II en que se observan folículos de entre 500 y 650 μ de diámetro (folículos grandes de tipo 6), mientras que en el proestro se presentan folículos de 500 y 750 μ y la ausencia de los folículos medianos, siendo además en estas etapas el porcentaje de atresia bajo. Además de verse que los folículos por debajo de las 390 μ de diámetro están presentes en todas las fases del ciclo estral (folículos medianos) (Esquema 12).

Esta distribución de determinados tamaños de folículos observados en la rata, se ha relacionado con los cambios hormonales de la FSH y LH durante el ciclo estral, interpretándose por ejemplo la ausencia de folículos grandes (mayores de 500 μ de diámetro) durante el estro, el metaestro y el diestro I, como un período de sensibilidad limitada del ovario durante la ola de LH (Hirshfield, y Midgley, 1978 a y b).

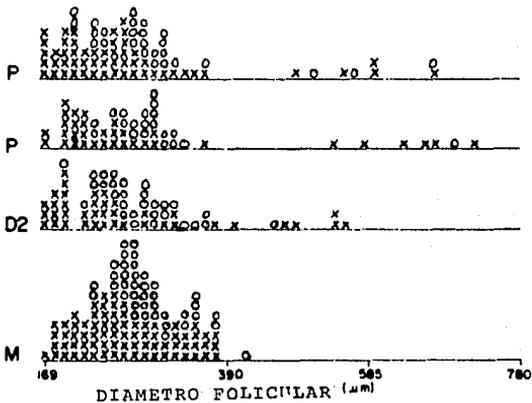
El pico de FSH y LH probablemente promueven en conjunto la estimulación del crecimiento de los folículos de reserva, de los cuales saldrá el folículo preovulatorio de los ciclos subsecuentes. Existe la evidencia experimental de que la administración de un

antisuero a FSH durante el proestro provoca una reducción marcada en el número de folículos entre las 200 y 500 μ de diámetro en el estro además de producir modificaciones en el patrón de desarrollo folicular de otros tipos (Hirshfield, y Midgley, 1978a; Hirshfield, y Midgley, 1978b; Richards, 1980).



Esquema 12.- Incidencia de atresia folicular en folículos de tipo 5 y 6 durante el ciclo estral en la rata. (Hirshfield y Midgley, 1978)

Esquema 12.- Incidencia de atresia folicular en folículos de los tipos 4 al 8 durante el ciclo estral en la rata (Hirshfield y Midgley, 1978)



5.- Histología del ovario.

El ovario como elemento del eje hipotálamo hipófisis gónada en la hembra madura, desarrolla una actividad dual en la actividad reproductora, que por un lado está definida por la síntesis de esteroides que participan en el ciclo ovárico promoviendo los cambios proliferativos y degenerativos en el tracto reproductor femenino y por otro lado participa en la formación de un óvulo maduro y su liberación. Estas dos funciones que lleva a cabo el ovario durante la etapa fértil de la hembra, están vinculadas a los cambios estructurales que sufren los elementos histológicos que constituyen el ovario (Bronson, et. al., 1966; Geneser, 1984).

El ovario de los mamíferos es un órgano par, que en la mayoría de las especies es pequeño, aplanado y de forma ovoide o esférica, y en el que se distinguen dos regiones. La región medular que contiene numerosos vasos sanguíneos, vasos linfáticos, tejido conectivo laxo y fibras musculares lisas. En la región cortical, predominan los folículos ováricos en distintas etapas de crecimiento, cuerpos lúteos, tejido intersticial y tejido estromal. Estas dos regiones que se observan en el ovario no presentan límites precisos (Hummel, 1966; Harrison, y Weir, 1977).

La superficie del ovario esta cubierta por una lámina continua de una sola capa de células cúbicas o columnares que constituyen el epitelio germinal, el cual descansa sobre una membrana basal,

por debajo de la cual existe una capa de tejido conectivo denso, que constituye la túnica albuginea del ovario y que es la responsable del color blanquecino de éste (Harrison, y Weir, 1977).

Los folículos ováricos que se encuentran inmersos en el tejido intersticial y en el tejido estromal de la región cortical, están constituidos por un ovocito y células foliculares alrededor de él. Se distinguen folículos primordiales, folículos primarios, folículos secundarios y folículos preovulatorios o de Graaf. El número total de ovocitos en el ovario varía desde el nacimiento hasta el final de la vida reproductiva, existiendo un decremento en el número total de ovocitos que es muy rápido durante el periodo desde el nacimiento hasta la pubertad y que después continúa, pero de una manera menos acentuada en la vida fértil de la hembra (Jones, et. al., 1961). En la rata el número de ovocitos en ambos ovarios al nacimiento es de 35000 aproximadamente, disminuyendo a medida que aumenta la edad. A los 23 días de edad existen 11000 ovocitos y este número se mantiene casi constante hasta la pubertad, continuando una disminución a 7000 ovocitos a los 70 días de edad. El decremento sufrido después en el número total de ovocitos es bastante regular (Arai, 1920). Algo similar ocurre en la mujer en la que existe un decremento en el número total de ovocitos, terminando después de la menopausia, cuando desaparecen los últimos folículos en la mujer (Junqueira y Carneiro, 1987).

Durante cada ciclo estral se va a dar como respuesta a la

estimulación de la FSH y LH, un reclutamiento, selección y dominancia de los folículos para que sean ovulados, sin embargo, de todos los folículos que crecen y se desarrollan, sólo unos cuantos alcanzan la madurez y serán ovulados, y los demás se quedarán detenidos en diferentes etapas del crecimiento folicular y por lo tanto sufrirán atresia (Richards, y Midgley, 1976).

La mayoría de los folículos que se encuentran en el ovario son folículos primordiales que se encuentran principalmente en la periferia de la corteza, inmediatamente por debajo de la túnica albugínea y constituyen la reserva a partir de la cual se van a reclutar los folículos que han de iniciar su crecimiento. Estos folículos están constituidos por un ovocito que se encuentra rodeado por una capa única de células foliculares aplanadas. El ovocito del folículo es pequeño, con un núcleo redondo y grande situado excéntricamente y un único nucleolo de gran tamaño. El ovocito se encuentra en una etapa suspendida de la meiosis denominada dictioteno. Los folículos primordiales pueden contener más de un ovocito, siendo éste frecuente en etapas prepuberales (Kent, 1960). Estos folículos primordiales equivalen a los folículos de tipo 2 y 3a.

Los folículos primarios son folículos que han comenzado a crecer. El inicio de este crecimiento que se da, implica cambios citológicos en el ovocito, en las células foliculares y en las células intersticiales que rodean al folículo. El ovocito

incrementa su diámetro y sufre cambios notables en la distribución de sus organelos. El aparato de Golgi yuxtannuclear da origen a complejos múltiples que se dispersan ampliamente por el citoplasma, el retículo endoplásmico rugoso se hace mayor y aumenta el número de polirribosomas libres. Las mitocondrias proliferan y se dispersan por todo el citoplasma y el número de vesículas pequeñas y de cuerpos multivesiculares aumenta. Entre el ovocito y las células de la granulosa que lo rodean, se desarrolla una cubierta de material extracelular amorfo, constituida por glucoproteínas, que se denomina zona pelúcida, la cual se tiñe fuertemente con la reacción de PAS. Ultraestructuralmente se ha visto que esta zona es penetrada por prolongaciones citoplasmáticas de las células foliculares y por microvellosidades que sobresalen de la superficie del ovocito, este contiene además muchas vesículas revestidas, lo que se ha interpretado como una captación macromolecular a partir de su microambiente, por medio de la endocitosis mediada por receptores (Fawcett, 1987; Cormack, 1987)

Las células foliculares aplanadas que rodean al ovocito se vuelven cúbicas o cilíndricas bajas (folículo de tipo 3b), comenzando después a proliferar por divisiones mitóticas, constituyendo así un folículo multilaminar (folículos de tipo 4 y 5a). Conforme se da este desarrollo las células foliculares incrementan el número de mitocondrias, de retículo endoplásmico rugoso y ribosomas libres, así como el mostrar un complejo de Golgi más llamativo. En algunas especies se presentan acumulaciones de

lípidos. La capa granulosa al iniciar este desarrollo se encuentra limitada de tejido intersticial por una nítida membrana basal (Fawcett, 1987).

A medida que los folículos aumentan de tamaño, se desplazan gradualmente a zonas más profundas de la corteza. Acorde a este proceso se proliferación y de cambios estructurales en las células foliculares de la capa granulosa, las células intersticiales que se han ido concentrando en torno al folículo, se han comenzado a diferenciar para constituir la teca folicular. La que se diferencia en una capa interna vascularizada, con células secretoras y una capa externa formada principalmente por tejido conectivo. Desde la teca externa penetran hacia la teca interna muchos vasos pequeños que forman una red capilar abundante en la teca interna; sin embargo, la capa granulosa de células foliculares durante todo el crecimiento del folículo permanece avascular (Bjersing, 1978).

Las células de la teca interna son fusiformes al principio, con aspecto de fibroblastos pero conforme se avanza en el desarrollo del folículo van acumulando gotitas de lípidos y su citoplasma adquiere los rasgos ultraestructurales de las células secretoras de esteroides. Las células de la teca externa presentan cambios citológicos posteriores y siguen pareciéndose a fibroblastos (Fawcett, 1987).

En los folículos secundarios que corresponden a folículos de

tipos 5b y 6, comienzan a aparecer finísimas discontinuidades intercelulares llenas de acúmulos de líquido folicular entre las células foliculares. Los espacios entre estas células se fusionan hasta transformarse en un solo espacio llamado antro folicular que es una estructura que define a los folículos tipo 7. El líquido folicular contiene proteínas, hormonas esteroides y carbohidratos que cambian constantemente su concentración a lo largo del crecimiento folicular; existen además electrolitos y un pH en este líquido muy similar al del plasma sanguíneo. Contiene vesículas foliculares con acumulación de glucosaminglicanos secretados por las células de la granulosa, y filtrado seroso del compartimento vascular localizado en la teca interna. El incremento en el tamaño del antro folicular se da por la continua actividad mitótica de las células de la granulosa. Esta actividad mitótica alta se presenta en las células de la pared que rodea la cavidad del antro y en las células que rodean al ovocito. En el proestro la actividad mitótica de los folículos permite que éstos alcancen diámetros de 575μ en la rata (Fawcett, 1987; Richards, 1980).

Al final de la maduración de los folículos secundarios tenemos que el ovocito ya ha alcanzado el diámetro máximo y que se encuentra rodeado por una capa sencilla de células foliculares cuboides cuyas prolongaciones apicales están firmemente ancladas en la zona pelúcida. Este revestimiento celular se llama corona radiata. Además de que se forma otra estructura como consecuencia de un engrosamiento local en uno de los lados del antro folicular

por parte de las células foliculares de la capa granulosa que se denomina cumulus ophorus. Este sobresale en la cavidad antral llena de líquido folicular (Fawcett, D. W., 1987) (Esquema 13).

En varias especies los estudios ultraestructurales de las células de la granulosa durante el crecimiento folicular permiten evaluar los cambios morfológicos de estas células y relacionarlos con algunos cambios que sufren en cuanto a la presencia de receptores a esteroides y gonadotrofinas. Durante el crecimiento de los folículos antrales las células epiteliales foliculares presentan un incremento gradual del retículo endoplásmico liso y mitocondrias con un sistema interno complejo, constituido frecuentemente de crestas tubulares, a este proceso de transformación se le ha definido como luteinización, en el cual una célula granulosa se diferencia hacia una célula lutea, en la que la síntesis de progesterona se da en folículos preovulatorios maduros (Bjersing, 1978).

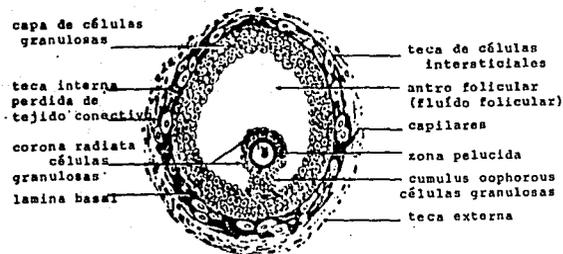
Las células granulosas en folículos antrales en el ovario de rata, contienen algunas mitocondrias en forma de bastón con espacios regulares entre sus crestas, el citoplasma es rico en partículas ribonucleoprotéicas. En folículos grandes y maduros (tipo 7 y 8) las mitocondrias tienden a ser ovoides con una estructura tubular interna y el aumento en el retículo endoplásmico liso. También se nota la presencia de organelos celulares característicos de las células productoras de esteroides, así como

el aumento en inclusiones lipídicas. Presentan uniones intercelulares conocidas como uniones de tipo nexó que en el folículo de Graaf son comunes. El significado histológico de esta especialización en la membrana celular no está bien clara en este tipo de células. Sin embargo se sabe que proporcionan vías de baja resistencia para su acoplamiento eléctrico y metabólico. Experimentalmente se ha visto que después de la hipofisectomía las uniones tipo nexó disminuyen y cuando se administra a ratas dietilestibestrol subcutáneamente estas uniones, tipo nexó aumentan nuevamente. En estudios recientes en folículos de rata que están en proestro, antes del pico de LH, se han observado uniones tipo nexó entre las células granulosas y el cumulus ophorus y entre las células de la teca interna. También se han encontrado uniones tipo nexó entre el ovocito y las células de la granulosa, así como desmosomas, lo que sugiere que estas uniones pueden aparecer secuencialmente entre las poblaciones celulares durante el desarrollo folicular (Bjersing, 1978; Fawcett, 1987).

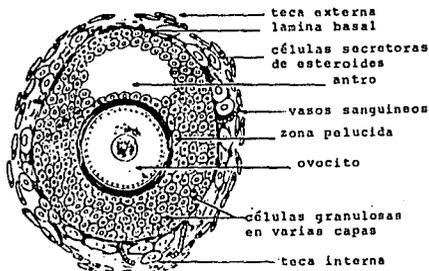
En las células tecales de folículos antrales en la rata se ha observado la presencia de retículo endoplásmico liso y mitocondrias ovaladas con crestas tubulares. Esta teca de células epiteloides con organelos esteroideogénicos pueden estar en contacto directo con la membrana basal o pueden separarse de ella por células de características y organelos celulares de células comunes del tejido conectivo (Cormack, 1987).

El máximo grado de desarrollo de la teca interna en los mamíferos placentados se alcanza en el estro y de acuerdo con Mossman y Ducke (1973) esta constituye después una glándula endócrina que puede ser llamada glándula tecal. Los tejidos que rodean los folículos toman un estado funcional que se inicia en el proestro y que degenera después de la ruptura del folículo. La teca externa esta constituida por una capa delgada de células fusiformes que se acomodan sobre la superficie de la teca interna que se esta diferenciando. Al principio la teca interna consiste de células intersticiales, las cuales presentan mitosis frecuentemente. Esta proliferación trae como consecuencia muchos cambios en el tamaño de las células hasta que el folículo es claramente grande y vesicular. Paralelamente con la maduración final del folículo, las células de la teca se desarrollan, adquiriendo más gránulos y disminuyendo su actividad mitótica. Este proceso centrífugo de engrosamiento y diferenciación de la teca se detiene cerca de la fase del estro (Bjersing, 1978; Motta, y Van Blerkom, 1979).

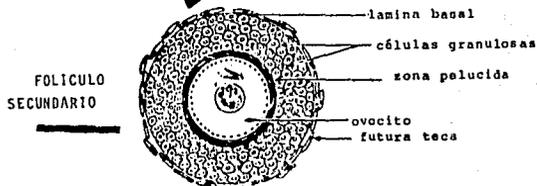
Esquema 13.- Representación del crecimiento y desarrollo de un folículo primordial hasta el estadio de folículo de Graaf. (Erickson, et. al., 1985)



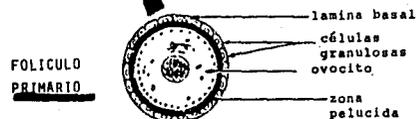
FOLICULO DE GRAAF



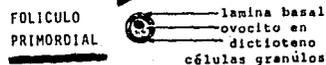
FOLICULO TERCARIO TEMPRANO



FOLICULO SECUNDARIO



FOLICULO PRIMARIO



FOLICULO PRIMORDIAL

Todos los cambios estructurales que se dan en las poblaciones celulares que constituyen a los folículos, conducen a la formación de los folículos preovulatorios, terciarios o de Graaf, los cuales sobresalen de la superficie del ovario. Estos folículos maduros son los protagonistas del fenómeno de Ovulación. No todos los folículos que inician su crecimiento llegan a ser de Graaf, algunos de ellos sufren atresia durante el crecimiento y desarrollo (Weir, y Rowlands, 1977).

El tamaño del folículo de Graaf es generalmente proporcional al peso corporal de la hembra. En la mayoría de las especies el folículo está casi totalmente metido dentro de la matriz de tejido conectivo del ovario. Macroscópicamente la superficie se ve translúcida como una ampolla. El primer estudio de la ultraestructura de los folículos de Graaf durante la ovulación se llevo a cabo en 1967 por Espey. Más tarde Bjersing y Cajander realizaron un analisis de la estructura del folículo preovulatorio en el conejo (Motta, y Van Blerkom, 1979).

La túnica albuginea y la teca son capas de tejido conectivo que dan una distinción estructural del folículo y del ovario respectivamente. En la punta del folículo estas dos capas de tejido tecal se enredan en un estrato compacto formando una capa de fibroblastos asociados a fibras de colágena. Esta capa de colágena contribuye a una mayor resistencia de la pared folicular (Weir, y Rowland, 1977; Motta, y Blerkom, 1979).

La teca interna es una capa altamente diferenciada en los folículos maduros constituye el principal sitio de secreción esteroide. Una característica importante de la teca interna es su plexo capilar, el cual se distribuye a lo largo de su borde interno. Aparentemente este plexo es el principal suplemento vascular del ovario de mamíferos que proporciona de nutrientes a esta capa secretora activa (Motta, y Blerkom, 1979).

La capa granulosa está compuesta por células pequeñas poliédricas o cúbicas con un citoplasma granular, en el periodo preovulatorio. Estas células son ricas en RNA y parecen tener actividad de síntesis protéica, la cual puede estar asociada a la producción primaria del líquido folicular. Además estas células de la granulosa pueden estar secretando nutrientes para el ovocito el cual está suspendido en el cumulus ophorus lejos del suplemento vascular (Motta y Blerkkom, 1979).

El cumulus ophorus va perdiendo gradualmente relación con la capa granulosa de tal manera que cerca de la ovulación el cumulus con el ovocito están generalmente flotando libres en el fluido folicular. Las mitosis se incrementan en el cumulus ophorus y la corona radiata, sin embargo desaparecen justo antes de la ruptura folicular. Mientras que las células del cumulus se vuelven fibroblásticas, las células de la corona siguen un proceso de alargamiento. El núcleo del ovocito asume una posición excéntrica

antes de la ruptura del folículo previo a la ovulación, el primer cuerpo polar ya ha sido expulsado, el ovocito entra en metafase II donde permanece hasta la ruptura folicular (Fawcett, 1987).

Cuando el folículo de Graaf esta listo para ser ovulado las estructuras que lo constituyen han alcanzado el grado máximo de diferenciación. La teca externa y la túnica albugínea estan principalmente constituídas por tejido conectivo formando una red, la teca interna presenta células secretoras grandes con nucleo oval y un nucleolo prominente, y con un citoplasma lleno de gránulos de lípidos, mitocondrias y aparato de Golgi. La vascularización de esta capa por el plexo capilar es bien evidente. La teca interna esta separada de la capa granulosa es ya multilaminar con células de forma poliédrica o cúbica. Las células granulosas que formaron el cumulus ophorus se han desorganizado haciendo que el ovocito flote en el líquido folicular, este ovocito esta ya en metafase II y rodeado por la zona pelúcida y las células de la granulosas que forman la corona radiata (Motta y Blerkom, 1979).

El folículo de Graaf es esteroidogénicamente más activo que otro tipo de folículos y el que responde más a las gonadotrofinas (Richards, 1980).

La ruptura del folículo de Graaf está precedida por cambios en el arreglo de la capa granulosa en donde hay una disociación, así como en el epitelio superficial, túnica albugínea y capa tecal

hay degeneración y desorganización. Estos cambios se han asociado con un cambio en la fuerza de tensión de la pared folicular. Además se ha observado que en el sitio de ruptura, la pared folicular se muestra translúcida llamándose a este sitio "Estigma", esta estructura es pasajera en la pared folicular. Todos estos cambios se cree sean consecuencia del estímulo dado por las gonadotrofinas (Hafez, y Makabe, 1979).

Cuando la ovulación del folículo maduro esta cerca se dá un aumento en la vascularización y se hincha la superficie del ovario (Hafez, y Makabe, 1979).

La ruptura del folículo se dá después del pico de LH. En dicha ruptura existe la acción de enzimas proteolíticas como la colagenasa, sobre la pared del folículo; hay aumento en el volumen del líquido folicular y se dá también un aumento en la concentración de prostanglandinas. El ovocito es expulsado estando rodeado por la corona radiata y el cumulus ophorus además de estar acompañado por algunas células granulosas y fluido folicular. El ovocito es capturado por la fimbria de la trompa para de esta manera, continuar su trayecto por el tracto reproductor femenino (Weir, y Rowlands, 1977; Hafez, y Makabe, 1979).

Durante la ruptura o colapso del folículo que es ovulado se produce una pequeña hemorragia que provoca, la formación de un coágulo de sangre y que se forme el llamado cuerpo hemorrágico. Lo

que queda del folículo de Graaf después de la ovulación forma el cuerpo luteo. Se sabe que previo a la ovulación se inicia la luteinización de las células de la granulosa, la cual se evidencia plenamente después de la ovulación cuando se establece el cuerpo luteo. Este cuerpo lúteo o cuerpo amarillo es invadido por los capilares hasta las células de la granulosa, las cuales se han hipertrofiado, cuando el cuerpo lúteo alcanza el pico máximo de diferenciación las células tecales y granulosas se han luteinizado completamente, sintetizando progesterona, además de encontrarse bien vascularizado (Motta, y Blerkom, 1979; Hafez, y Makabe, 1979).

El proceso de luteinización que sufren las células de la granulosa es el resultado de la estimulación dada por la ola preovulatoria de LH sobre estas células, en el cual se involucra la hipertrofia de éstas, las cuales aumentan su citoplasma y el diámetro de su núcleo, además de presentar una marcada expansión del retículo endoplásmico liso así como la aparición de numerosas gotas de lípidos que contienen los ésteres de colesterol. Es evidente que la diferenciación de estas células a células lúteas proporciona una gran capacidad de desarrollo para la síntesis de novo de progesterona la cual es inherente de sus progenitoras, las células de la granulosa y de la teca. En algunas especies, como el conejo y la vaca la actividad de aromataza de las células lúteas desaparece días después de la ovulación, a diferencia de otras especies como el humano o la rata en las cuales las células del cuerpo luteo mantienen la actividad de aromataza para la producción

de estrógenos además de la síntesis de progesterona (Morgan, 1982; Keyes, y Willbank, 1988).

Si la fecundación o la implatación no ocurren, el cuerpo lúteo inicia su regresión que se manifiesta por una reducción en la cantidad de sangre que entra en los capilares y en una disminución en la síntesis de progesterona. Con la regresión del cuerpo lúteo se inicia nuevamente un ciclo ovárico. Pero si ocurre la implantación, el embrión envía señales para que continúe sintetizando progesterona y previniéndose así la regresión del cuerpo luteo (Keyes y Willbank, 1988).

Durante el crecimiento folicular existen folículos que sufren atresia, la cual histológicamente se caracteriza por la desorganización de las células foliculares, la presencia de picnosis en su núcleo, así como la existencia de polimorfonucleares. En el ovocito, en fases de atresia muy avanzado, su núcleo se ve picnótico. La atresia en folículos tipo 4 y 5 es difícil distinguirla histológicamente a diferencia de los folículos grandes, en los que se evidencia la desorganización en el antro y las células foliculares, tienen algunos núcleos picnóticos y la teca se encuentra hipertrofiada (Byskov, 1974; Weir, y Rowlands, 1977). Estudios realizados cuantificando el porcentaje de folículos atrésicos a diferentes edades y en las distintas etapas del ciclo estral indican que la atresia folicular varía en cuanto al porcentaje según el tipo de folículo, así como

en las etapas del ciclo estral la atresia se modifica. Algo que llama la atención es que ya establecida la madurez sexual, la atresia folicular se dá en los folículos medianos y grandes en un porcentaje mayor que en los pequeños. Dicho porcentaje es del 70% en la rata y del 50% en el ratón (Byskov, 1978).

El que los folículos que están en crecimiento sufran atresia se ha atribuido a varias causas, sin embargo el porque de este proceso es aún desconocido (Weir, y Rowland, 1977).

En el feto muchos ovocitos sufren atresia incluso antes de que sean rodeados por células de la granulosa o en el neonato y animales prepúberes, la atresia se presenta principalmente en folículos preantrales, a diferencia de animales adultos que se encuentren ciclando en los que ocurre en los folículos antrales pequeños, por ejemplo en la reserva de donde el folículo preovulatorio va a ser seleccionado, sin embargo en muchas especies incluyendo la rata y el borrego esta atresia se da aún en los folículos grandes de tamaño preovulatorio. Se ha observado que las células de la teca de los folículos grandes que se hacen atrésicos, sufren hipertrofia y un aumento en su contenido lipídico, aunque dicha hipertrofia no ha sido observada de manera consistente en folículos pequeños con atresia, lo cual puede interpretarse como que la teca puede estar involucrada. Desde el punto de vista bioquímico se ha visto que los sitios de captación a FSH en las células de la granulosa se reducen en los folículos atrésicos, así

como que la respuesta de las células tecaes a la LH no se desarrolla (Byskov, 1978; Richards, 1980).

TERCERA PARTE.**SECCION EXPERIMENTAL.****1.- Objetivos.**

El objetivo de la presente investigación ha sido el establecer a través de la histología del ovario y testículo la madurez gonadal del ratón de los volcanes en el laboratorio, y a través de la cual proponer un parámetro más para definir la madurez sexual en estos animales. La finalidad de esto, es contribuir al conocimiento fundamental de un aspecto básico de la biología de la reproducción de Neotomodon, además de aplicar los resultados de dicha investigación a los futuros proyectos con este animal y poder obtener también un rendimiento óptimo en la reproducción del Neotomodon en el laboratorio.

La relevancia de esta investigación es evidente, ya que es el primer trabajo publicado sobre este tema en particular en el Neotomodon.

2.- Material y Métodos.

Se realizó una primera etapa de experimentación, con base en la bibliografía revisada (Olivera, 1984); tomando dos animales de cada sexo, de edades comprendidas entre los 14 y los 100 días de edad, los animales se tomaron de las camadas del Lote 3 de la colonia establecida en el bioterio de la Facultad de Ciencias, de la U.N.A.M. Los intervalos de tiempo a los que se tomaron las muestras, se establecieron de acuerdo con las edades en que ha sido reportado que se presentan cambios significativos en las gonadas de los roedores que son entre los 20 y 70 días de edad (Zuckerman, 1951; Jones, y Krohn, 1961; Clermont, y Perey, 1957; Ekwall, et. al., 1984.

Los animales de esta primera fase experimental se sacrificaron en un período comprendido de junio a octubre de 1985. Las edades utilizadas se muestran en la TABLA 1.

Con base en los resultados de la primera etapa, se tomaron animales de la cuarta camada del mismo Lote 3 F1, de edades comprendidas entre los 37 y los 52 días de edad, en el caso de las hembras y hasta los 59 días en el caso de los machos. En esta etapa los animales se sacrificaron en un período que va de marzo a octubre de 1986. Tomando en consideración observaciones hechas por Kent (1960), y por Ekwall, et. al., (1984) se modificaron los intervalos de muestreo, siendo éstos de cuatro días para las

hembras y de cinco días para los machos (TABLA 2).

En los dos experimentos, se tomó el peso corporal y se asignó un número a cada animal, se sacrificaron por decapitación, anotándose en la segunda etapa los siguientes parámetros, si el orificio vaginal estaba perforado o no en las hembras y la presencia o no de eyaculación que se efectúa durante la decapitación.

CUADRO 1

machos	hembras
14 días	14 días
35 días	35 días
50 días	50 días
60 días	60 días
74 días	70 días
82 días	80 días
90 días	91 días
100 días	100 días

Edades de los especímenes de la primera fase experimental en la que se sacrificaron dos individuos de cada edad, haciendo un total de 32 individuos entre machos y hembras.

CUADRO 2.

machos	hembras
37 días	37 días
42 días	41 días
49 días	45 días
54 días	49 días
59 días	52 días

Edades de los especímenes de la segunda fase experimental, en la que se sacrificaron tres individuos de cada edad, haciendo un total de 30 animales entre machos y hembras.

En el primer experimento, se fijaron las muestras de testículo y ovario en formol al 10% amortiguado en buffer de fosfatos. En el segundo experimento se fijaron las muestras en solución de Bouin durante una hora y se postfijaron con formol al 10% amortiguado en buffer de fosfatos. Con la ayuda de un microscopio estereoscópico marca Zeis, se disecaron las muestras fijadas, retirando el tejido conectivo y adiposo que se encontraba rodeando a los órganos. Se colocaron las muestras en cápsulas con su identificación, para ser procesadas automáticamente por la técnica de inclusión en parafina, haciendo uso de un Histoquinette marca Tissue teck modelo 4640-B.

Los pasos sucesivos automáticamente fueron: deshidratación en alcoholes etílicos al 60%, 70%, y 80% de una hora cada cambio; alcohol etílico al 96% dos cambios de una hora cada uno; alcohol etílico absoluto dos cambios de una hora cada uno; solución de alcohol etílico absoluto-xilol en proporción 1:1 por una hora y xilol, dos cambios de dos horas cada uno.

La inclusión se hizo en parafina Merck con la ayuda de un aparato Embebing Tissue teck 4603.

Utilizando un micrótopo American Optical modelo 820 se hicieron cortes de 5 μ de espesor. De los correspondientes a la primera etapa se montaron los representativos de la parte media y se tiñieron con hematoxilina de Harris y eosina alcohólica. Los cortes correspondientes a las muestras obtenidas en la segunda etapa se cortaron seriados y se montaron en su totalidad para el caso de los ovarios (10 cortes en cada portaobjetos) y de los testículos se montó un corte cada 50 μ (4 cortes en cada portaobjetos), guardando los cortes intermedios para necesidades posteriores, las tinciones utilizadas fueron hematoxilina de Harris, hematoxilina de Gill y eosina alcohólica, técnica de PAS (ácido peryódico de Schiff), tricrómico de Masson e impregnación de Wilder para fibras reticulares.

Los cortes de ovario y testículo de la primera etapa

experimental se observaron al microscópio únicamente para definir la estructura histológica.

Los cortes de los ovarios de la segunda etapa se observaron en un microscopio Zeiss modelo 4289263 con cámara lúcida, con la que se dibujaron, con los objetivos de 16X y 40X, los folículos con dos o más capas de células de la granulosa al nivel en que el ovocito mostrara núcleo y nucleolo, además de considerar las células de la granulosa en mitosis, en proceso de necrobiosis, la presencia de polimorfonucleares y la presencia de antro folicular. Se contaron las células de la granulosa de cada uno de los folículos dibujados para, de esta manera, ubicar a los folículos en la clasificación establecida por Pedersen (1968). Los folículos en los que se encontraron células de la granulosa picnóticas y polimorfonucleares se consideraron como folículos atrésicos.

Para los cortes de testículo de la segunda fase experimental, se observaron en un microscopio Zeiss con cámara lúcida, se dibujaron los túbulos seminíferos de cuatro campos diferentes del corte de los cuales se dibujo un promedio de 30 a 40 túbulos seminíferos por campo a lo largo del corte, considerandose 20 cortes por cada testículo obteniendose un total de 80 dibujos por testículo; los dibujos se hicieron con el objetivo de 10X y se midieron los diámetros mayores y menores de los túbulos cortados transversalmente y varios de los diámetros de los túbulos cortados longitudinalmente, con la ayuda de un digitalizador Hewlett Packard

9874 A conectado a una computadora Hewlett Packard 9825 T. Además de la medición de los diámetros de los túbulos seminíferos se midió el diámetro mayor y menor del testículo con una retícula óptica y el objetivo de 4X. A los datos obtenidos del diámetro mayor y menor del testículo se les aplicó la prueba T y a los datos obtenidos de los diámetros tubulares se procesaron estadísticamente aplicándose un análisis factorial, prueba T, y prueba F.

De las preparaciones histológicas tanto de ovario como de testículo se eligieron campos representativos para las fotomicrografías que ilustran esta investigación, las cuales se tomaron en un microscopio Polivar Reichert-Jung utilizando película Technical-Pan.

3.- Resultados.

Testículo.

14 días.

A esta edad el peso corporal promedio fué de 10 gr. En el testículo la túnica albuginea está constituida por tejido conectivo laxo y está vascularizada. Los túbulos seminíferos aún no adquieren luz, de manera que nos referimos a ellos como cordones (fig. 1). Existe una buena cantidad de células pericordoniales con núcleo fusiforme, teñido intensamente y citoplasma acidófilo, especialmente abundante hacia la membrana basal de los cordones.

Se identifican células de Sertoli que descansan sobre la membrana basal, su pericarión tiene una forma piramidal en el que se encuentra un núcleo muy teñido; se observa también como estas células envían prolongaciones hacia el interior del túbulo. Entre las células de Sertoli se observan espermatogonias, apoyadas en la membrana basal y tienen un núcleo ovoide con gránulos de cromatina. El centro de los túbulos a esta edad, se encuentra ocupado por prolongaciones citoplásmicas y por células grandes con núcleos en necrobiosis y citoplasma intensamente acidófilo que pueden corresponder a espermatogonias en degeneración (fig. 2).

35 - 37 días.

A esta edad el peso corporal promedio para los organismos de 35 días de edad fué de 35.55 y para los de 37 días de edad fué de 27.37 gr. En el testículo la túnica albugínea muestra un aspecto más organizado, las fibras de colágena adquieren un arreglo bien definido, son más gruesas, entre ellas hay un número menor de células que tienen aspecto de fibrocitos, constituyendo todo esto una cápsula de tejido conectivo denso. Los túbulos seminíferos han incrementado su diámetro presentando un diámetro tubular promedio de 53.40μ , sin embargo no se aprecia aún luz tubular (fig. 3 y 4) y se reconocen en el epitelio germinal varios tipos celulares (fig. 5), como espermatocitos en paquiteno y leptoteno.

Las células de Sertoli comienzan a presentar la morfología típica que ocurre durante la espermatogénesis, con forma piramidal

y prolongaciones citoplásmicas hacia la luz (fig. 6). Apoyadas en la membrana basal persisten espermatogonias esféricas con núcleo ovoide y cromatina granular, algunas se observan más oscuras que otras (fig. 7). Es evidente que el epitelio germinal ha incrementado su grosor, hacia la luz se observan espermatoцитos en leptoteno y paquiteno (fig. 8). Hay células grandes en degeneración con varios núcleos picnóticos, los cuales probablemente sean espermatoцитos (fig. 9). En algunos tubulos se observan células en metafase, que por su ubicación podemos considerarlos espermatoцитos primarios.

42 días.

El peso corporal promedio fué de 36.46 gr. La túnica albugínea se observó organizada. Los tubulos seminíferos continúan incrementando su diámetro presentando un diámetro promedio de 64.02 μ y por lo tanto el testículo también a crecido teniendo un diámetro mayor promedio de 610.21 μ y un diámetro menor promedio de 332.21 μ . A esta edad se aprecia luz en los tubulos seminíferos y varios estratos de células (fig. 10), algunos de los tubulos mostraron abundantes espermatoцитos primarios en leptoteno y paquiteno, además de presentarse células en degeneración (fig. 11).

En los tubulos seminíferos en los que se aprecia luz tubular el epitelio seminífero presenta ya varios tipos de células, entre las que se aprecian espermatoцитos primarios en distintas fases de

meiosis y algunas espermatidas redondas y alargadas. Las células de Sertoli en esta edad se aprecian con su forma típica y su arreglo característico además de estar sosteniendo espermatidas en distintas fases de la espermiogénesis (fig. 12). Entre los túbulos se localizan claramente grupos de células de Leydig.

A esta edad la imagen histológica que presentaron los testículos en uno de los individuos fué mas avanzada que en el resto de los especímenes considerados para esta edad.

49 - 50 días.

El peso corporal promedio para los individuos de 49 días fué de 31.63 gr. y para los de 50 días fué de 26.75 grs. La cápsula que recubre al testículo es más gruesa a esta edad y de aspecto más organizado. Las células pericordonaes son más alargadas que en edades anteriores y las fibras reticulares que rodean a los túbulos se aprecian más finas que en las edades anteriores (fig. 13). La luz tubular se ha incrementado notablemente y el epitelio seminífero también ha incrementado su grosor e incluso puede decirse que existen ya 4 a 5 estratos de células (fig. 14), las espermatogonias son de morfología y ubicación semejantes a las edades anteriores, los espermatoцитos se encuentran en gran actividad meiótica, observándose muchos núcleos en leptoteno y sobretodo en paquiteno, algunos de los cuales sufren degeneración (fig. 15). A esta edad se identifican en todos los túbulos espermatidas redondas, las cuales son pequeñas, muestran un núcleo

esférico de cromatina granular, rodeado totalmente por citoplasma, así como algunas espermatidas alargadas que presentan su flagelo proyectado hacia la luz así como cuerpos residuales (fig. 16). Hay también células gigantes en degeneración de grandes núcleos y que ocupan el centro de los túbulos, están aparentemente descamadas (fig. 17).

En el intersticio los grupos de las células de Leydig se hacen más aparentes que antes, así como su vascularización (fig. 14).

54 días.

El peso corporal promedio fué de 36.4 gr. La túnica albugínea se ha engrosado y presenta un arreglo definido en las fibras de colágena, las células pericordonaes son alargadas y se distinguen ya con cierta dificultad entre los túbulos. El testículo ha incrementado su tamaño presentando un diámetro mayor promedio de 835μ y un diámetro menor promediode 400.50μ y por lo tanto el diámetro tubular promedio fué de 78.53μ y la luz tubular es mayor. En los túbulos se observan espermatocitos en profase meiótica en degeneración con un núcleo teñido intensamente y un citoplasma acidófilo. Dichas células se localizan en la parte media del túbulo (fig. 18). En algunos túbulos se observan células descamadas grandes multinucleadas con dos a cuatro núcleos, ubicadas hacia el centro del túbulo. En el epitelio de los túbulos seminíferos, se observan casi todos los tipos celulares que se presentan en la espermatogénesis, existiendo algunas asociaciones celulares

correspondientes a un ciclo espermatogénico al parecer completo (fig. 19, 20 y 21).

59 - 60 días.

El peso corporal promedio fué de 35.2 grs. La túnica albugínea albugínea presenta características muy similares a la de los 50 días de edad, aunque la vascularización al parecer es más abundante. El epitelio seminífero se ha diferenciado más, en el cual se observan todos los tipos celulares germinales en diferentes estadios (fig 22). Las espermatogonias se mantienen en una situación similar a las de las edades anteriores, aunque se definen en un mismo túbulo espermatogonias con un núcleo ovoide con cromatina muy fina y otras de núcleo ovoide pero de cromatina de gránulos más gruesos. Existen en algunos túbulos unas pocas células picnóticas que por su ubicación y forma tal vez puedan ser espermatogonias. Se ven espermatidas en fases tardías de maduración, las cuales, tienen un núcleo alargado con un extremo agudo y con cromatina muy densa y con escaso citoplasma, en algunos túbulos se encuentran proyectados hacia la luz cuerpos residuales (fig. 23). En algunos túbulos de observan células gigantes multinucleadas. Podemos decir que entre los 59 y 60 días de edad se ha establecido la espermatogénesis y el epitelio presenta la diversidad celular típica del ciclo espermatogénico (fig. 24). En el epidídimo a esta edad se observaron espermatozoides libres (fig. 25).

74 - 100 días.

Lo más notable en este intervalo es la buena definición de la luz tubular (fig. 26). Se identifican varios estratos en el epitelio seminífero, en el cual, se observan células germinales en los distintos estadios para la formación de espermatozoides. Las asociaciones celulares varían en los túbulos de un mismo corte, pues en unos túbulos es posible identificar espermatidas en las fases de maduración y en otras se identifican en la fase de Golgi, cuando aún se observan esféricas. Es notorio que no se observaron espermatozoides libres en la luz de los túbulos (fig. 27). En el intersticio los grupos de células de Leydig se presentan bien desarrollados.

En las edades de 80, 90 y 100 días de edad, en el testículo de Neotomodon, no existen diferencias histológicas significativas, pues se mantiene un patrón histológico similar, en el que se presenta una túnica albugínea de tejido conectivo denso y algunos vasos sanguíneos, grupos bien definidos de células de Leydig y la presencia de todos los tipos celulares de la espermatogénesis en el epitelio seminífero. Por lo tanto, la imagen histológica de los testículos a estas edades es la de un testículo maduro en plena actividad espermatogénica (fig. 28 y 29). El peso corporal en las edades de 74, 82, 90 y 100 días de edad aumentó ligeramente conforme avanzó la edad (cuadro 3).

En lo que se refiere a los datos morfométricos obtenidos de

los organismos de la segunda fase experimental, se obtuvo que en general se presenta una tendencia ascendente acorde a la edad en la que el peso corporal se incrementa conforme aumenta la edad (Gráfica 1). El diámetro de los túbulos seminíferos también se incrementa de acuerdo a la edad y el grado de maduración del epitelio seminífero (Gráfica 2 y cuadro 4), aunque entre las edades de 49 y 54 días de edad este incremento en el diámetro tubular no tiene una diferencia significativa ($p=0.23$) (cuadro 7). El tamaño del testículo en su diámetro mayor y menor aumenta de acuerdo a la edad (Gráfica 3) siendo además este crecimiento más notable en el diámetro mayor, el cual se incrementa más; ambos diámetros según el análisis de varianza presentan diferencias significativas ($p=0.05$) (cuadro 5 y 6).

Ovario.

14 días.

El peso corporal promedio fué de 10.6 grs. El ovario tiene un tamaño pequeño y su forma es ovoide, su superficie es regular y se encuentra envuelto por una capa de tejido conectivo. El epitelio germinal del ovario está constituido por un epitelio cúbico. A esta edad se distingue claramente la zona medular del ovario y la zona cortical (fig. 30). La zona medular en su región central presenta tejido conectivo laxo, células de núcleo ovoide levemente teñido y un citoplasma vacuolado y de límites irregulares por lo que tiene

una apariencia "laxa", ésto constituye el tejido intersticial del ovario (fig. 31). Se observa como esta zona medular se une al mesovario, por el cual, penetran vasos sanguíneos. La zona cortical se encuentra ocupada por folículos primarios (folículos tipo 3a) que se caracterizan por tener un ovocito pequeño y menos de 20 células foliculares planas (fig. 32). Se observan también folículos de tipo 3b y 4, los cuales se localizan hacia el interior de la zona cortical (fig. 30).

35 días.

El peso corporal promedio fué de 19.6 grs. El ovario ha incrementado su tamaño manteniendo su forma ovoide. El epitelio germinal está constituido por células cúbicas bajas de núcleo alargado con la cromatina teñida intensamente y citoplasma acidófilo, estas células descansan sobre una lámina propia. Por debajo de este epitelio y lámina propia se observa en el intersticio células con distintas características, que en algunas zonas presentan un arreglo arremolinado y cerca de los folículos siguen el contorno de éstos y se define como una capa de células alargadas de núcleos grandes y fusiformes de citoplasma poco teñido. Se identifican también células de núcleos irregulares ovoides y con cromatina granular y un citoplasma claro; estas células cuando se encuentran cerca de los folículos primarios (tipo 3a), tienen también un arreglo direccional alrededor de ellos. En la corteza del ovario se presentan principalmente folículos tipo 3a rodeados de células foliculares planas; en algunos casos el

ovocito ya ha incrementado su diámetro y las células foliculares que lo rodean son cúbicas (folículos tipo 3b). En algunas regiones de la zona cortical se observan folículos de tipo 4, 5a y 5b sanos y atrésicos (fig. 33 y 34). De estos folículos en crecimiento, algunos de ellos se localizan hacia el interior de la corteza, mientras otros están localizados hacia la periferia. Estos folículos preantrales tienen ya varias capas de células foliculares, las cuales presentan un núcleo grande y esférico, en el que se identifica el nucleolo levemente teñido y gránulos de cromatina muy finos, su citoplasma es claro. La teca que rodea a estos folículos está constituida por células alargadas que aun no se diferencian del todo en teca interna y teca externa, presentando alguna vascularización (fig 34). Los folículos en proceso de atresia se caracterizan por la presencia de leucocitos y células de la granulosa picnóticas, además de manifestar una pérdida en el arreglo celular en esta capa granulosa (fig 33).

37 días.

El peso corporal promedio fué de 20.4 grs. La superficie del ovario se presenta ligeramente irregular. El epitelio germinal es cúbico bajo y se encuentra descansando sobre la lámina propia, la cual en algunas zonas se hace poco aparente. En la corteza se observan folículos primarios de tipo 3a que presentan un ovocito con núcleo grande ligeramente excéntrico, hay también otros folículos en distintas etapas de crecimiento que corresponden a folículos medianos y grandes en los que se ve de manera notable

actividad mitótica de las células de la granulosa. Los folículos grandes tipo 5b y 6 se encuentran desplazados hacia la región interna de la corteza. La vascularización de la médula del ovario se ramifica hacia la región cortical por medio de capilares muy finos que se encuentran rodeando a los folículos de tipo 5b y 6. La atresia folicular no es muy abundante (fig 35).

La reacción al PAS fué positiva en la membrana basal de los folículos medianos y grandes y en la zona pelúcida de los ovocitos. Las fibras reticulares constituyen una compleja red en todo el ovario siendo más aparentes en la lámina propia y en la membrana basal de los folículos en crecimiento.

El tejido intersticial que rodea a los folículos con varias capas de células, se distribuye homogéneamente constituyendo la teca interna que se observa vascularizada por pequeños capilares, y la teca externa, la cual tiene células con apariencia de fibroblastos. La médula del ovario se encuentra vascularizada con arteriolas y vénulas, el tejido conectivo de esta región es de apariencia laxa y se observa su relación con el mesovario que contiene algunas fibras musculares. En la médula se observan además de las fibras reticulares, fibras de colágena. La gráfica 4 muestra el número total de folículos de cada tipo a esta edad y la grafica 5 presenta la distribución de los folículos sanos y atrésicos.

41 días.

El peso corporal promedio fué de 28.16 grs. La forma del ovario se observa irregular y el epitelio continúa siendo cúbico bajo. En la región cortical se localizan folículos primarios en grupos. Se observan folículos en crecimiento que se ubican en la región cortical profunda. Es notable a esta edad la atresia folicular de los folículos en crecimiento que en algunos casos está muy avanzada presentando el ovocito necrótico y una ausencia casi total de células de la granulosa observándose el ovocito "flotando", y lo que sería la capa granulosa invadida de polimorfonucleares, detritus celulares y una delgada capa de células granulosas descansando sobre la membrana basal del folículo. Otra característica histológica es que en los folículos en proceso de atresia la reacción al PAS es tenue o nula en la zona pelúcida. Se observan en diferentes etapas de crecimiento, folículos poliovulares con 2 a 3 ovocitos. El número total de cada tipo de folículo se muestra en la gráfica 6 y la distribución de los folículos sanos y atrésicos se muestra en la gráfica 7.

45 días.

El peso corporal promedio a esta edad fué de 30.55 grs. El ovario ha incrementado su tamaño. En la región cortical externa son abundantes los folículos de tipo 3a y los folículos en crecimiento; los folículos tipo 5b y 6 se localizan hacia la profundidad de la corteza, en ellos las células de la granulosa tienen actividad mitótica y comienza a formarse el antro folicular.

La teca de estos folículos en crecimiento está ya diferenciada y también se presentan mitosis. La atresia folicular es más frecuente que en la edad anterior y ocurre en folículos que se consideran de tipo 5b, 6 y 7 (fig. 36). En cortes a niveles en los que se distingue bien corteza y médula se observó "una buena vascularización" y abundantes fibras reticulares, fibras colágenas y fibroblastos (fig. 37). El número total de folículos se muestra en la grafica 8 y la cuantificación de los folículos sanos y atrésicos por cada tipo se muestra en la gráfica 9.

49 días.

El peso corporal promedio fué de 30.36 grs. El ovario adquiere una forma irregular que se puede asociar a la gran diversidad de folículos en diferentes etapas de crecimiento y que marcan prominencias en la superficie. Los folículos de tipo 3a se encontraron dispersos a lo largo de la corteza entre folículos de tipo 3b, 4, 5a, 5b, 6 y 7, existiendo zonas en el interior de la corteza en donde los folículos de tipo 3a son escasos y el tejido estromal al parecer es menor a diferencia de zonas externas en la corteza en donde los folículos primarios son más abundantes y el tejido intersticial que los rodea se ve denso. Se observan mitosis y atresia folicular. Se distinguen folículos de tipo 4, 5a y 5b poliovulares con dos a cuatro ovocitos (fig. 38) y folículos tipo 8 (fig. 39). El tejido intersticial muestra una gran diversidad en cuanto al arreglo y tipo de células que lo constituyen, distinguiéndose zonas en la corteza del ovario extremadamente

densas y otras no tan densas, incluso se pudo observar que esta densidad en el tejido intersticial al parecer se debe a una mayor cantidad de células o a una mayor basofilia nuclear de algún tipo de célula en específico. La región medular presenta un aspecto laxo y una buena vascularización; el mesovario se encuentra asociado a tejido adiposo que en ocasiones esta rodeando casi en su totalidad al ovario. El número total de folículos por cada tipo se muestra en la gráfica 10 y el porcentaje de folículos sanos y atrésicos se muestra en la gráfica 11.

50 días.

El peso corporal promedio fué de 30.85 grs. A esta edad en la región cortical se presentan grupos de folículos de tipo 3a, localizados en la zona más superficial rodeados por estroma denso no diferenciado. Existen también folículos de tipo 5a, 5b, 6 y 7, con varias capas de células epiteliales foliculares, con teca interna y teca externa bien diferenciadas; algunos folículos en crecimiento son poliovulares. En los cortes histológicos se destacó la presencia de un cuerpo lúteo de gran tamaño que ocupa 1/3 del ovario, con evidencia de hemorragia central, asociada con un material homogéneo acidófilo que corresponde a fibrina (fig. 40). Las células que constituyen este cuerpo lúteo en comparación a las células de la granulosa son grandes, de núcleo ovoide o esférico, con dos nucleólos y cromatina levemente teñida; el citoplasma es abundante, de apariencia vacuolada. Entre las células se observan eritrocitos en finos capilares. La atresia folicular a esta edad

se observa más frecuentemente en los folículos grandes 5b, 6 y 7.

52 días .

El peso corporal promedio fué de 31.16 qrs. El ovario presenta folículos en diferentes etapas de crecimiento sanos y atrésicos, así como la presencia de cuerpo lúteo, el cual ocupa aproximadamente un cuarto de la totalidad del ovario. Se observan algunos folículos poliovulares. Los folículos tipo 3a se encuentran dispersos a lo largo de la región cortical en grupos que van de cuatro a 12 folículos los cuales en ocasiones se encuentran hacia el interior de la corteza. Se presentaron ovocitos binucleados en algunos folículos en crecimiento. El núcleo de los ovocitos una vez que éstos han alcanzado su máximo diámetro adquiere una posición excéntrica bien definida, ésto sucede en folículos que se consideran de tipo 5b en adelante. El número total de folículos en cada tipo a esta edad se muestran en la gráfica 12 y en la gráfica 13 se muestran los porcentajes de folículos sanos y atrésicos en cada tipo de folículo.

60 días.

El peso corporal promedio fué de 44.9 grs. El ovario tiene una superficie irregular, determinada por el crecimiento folicular y la presencia de varios cuerpos luteos. En la corteza se encuentran folículos tipo 3b y 4 y en la región más profunda folículos de tipo 5 y 6, con una teca bien definida. Algunos de éstos presentan atresia. Hay varios cuerpos lúteos, en diferentes

etapas, algunos en maduración y otros en proceso de regresión, con células más acidófilas, más vacuoladas y pérdida de la organización tisular e infiltración de leucocitos (fig. 41 y 42).

A partir de los 60 días de edad el ovario del Neotomodon, presenta la histología típica de un ovario maduro, en el cual existe un crecimiento continuo de los folículos, la presencia de cuerpos lúteos y folículos grandes con antro (tipo 6 y 7), algunos en proceso de atresia.

70 días.

El peso corporal promedio fué de 48.2 grs. El ovario ha adquirido una forma completamente irregular. Los folículos tipo 3a se localizan en la región más superficial de la corteza en grupos que van desde 2 a 11 folículos, éstos se encuentran distribuidos a lo largo del ovario, insertados entre cuerpos lúteos en diferentes etapas de involución, así como de folículos en crecimiento, los cuales en las primeras etapas de desarrollo, están hacia la región superficial de la corteza y en estadios más avanzados están hacia la profundidad de la corteza (fig. 43). La atresia folicular se aprecia en folículos con antro (fig. 44). Se observan evidencias de que ha ocurrido ovulación pues, aunque no se observa el estigma, las células de la granulosa se ven en proceso de luteinización. En la región medular se observa una muy buena vascularización de arteriolas y vénulas.

La estructura histológica corresponde a un ovario maduro, igual a la de los 80, 90 y 100 días de edad del ovario de Neotomodon. El peso corporal promedio en estas edades continuo incrementandose ligeramente (cuadro 3).

De las hembras de la segunda fase experimental en las que se cuantificó el número total de folículos por tipo y el número de folículos sanos y atrésicos se obtuvieron los siguientes resultados: conforme se incrementa la edad aparecen folículos más desarrollados, estableciéndose todos los tipos aquí considerados desde los 45 días de edad. La distribución por tipos de folículos a partir de los 45 días y los 52 días de edad es similar (Gráfica 14). En la gráfica se muestra una aparente disminución en el porcentaje folicular de los tipos 5a y 5b,

Al considerar en particular a cada uno de los tipos de folículos por edad obtuvimos que el porcentaje de folículos de tipo 5a disminuye de los 37 y 41 días de edad hasta llegar a los 45 días en donde se mantiene una proporción similar para las edades siguientes. Los folículos de tipo 5b presentaron mucha variación entre las distintas edades, además de ser menos abundante que el tipo folicular anterior. Los folículos de tipo 6 son escasos a los 37 y 41 días y aumentan en los casos de 45 días para después disminuir un poco a los 49 y 52 días de edad. Los folículos de tipo 7 tuvieron porcentajes mayores del 20% a partir de los 45 días de edad, siendo incluso semejantes a los obtenidos para los folículos

de tipo 6 para los 45, 49 y 52 días de edad. Los folículos de tipo 8 son escasos en comparación a todos los otros tipos, y además se presentan únicamente a partir de los 45 días de edad incrementándose de manera muy leve hasta los 52 días de edad (Gráfica 15).

En cuanto a los folículos sanos en cada una de las edades se observa una semejanza con los resultados obtenidos para los folículos totales. Se da una gran diversidad de tipos de folículos y un decremento paulatino en cuanto a la cantidad (Gráfica 16). Los folículos sanos de tipo 5a son muy abundantes a los 37 días de edad y van en descenso conforme avanza la edad, teniendo una estabilización a partir de los 45 días, donde ya no se da una fluctuación descendente tan marcada. En los folículos 5b existe una tendencia suave y ascendente de acuerdo a la edad, aunque existe en menor cantidad que los folículos del tipo anterior. Entre los folículos de tipo 6 existe diversidad y porcentajes más bajos con respecto a los tipo de folículos anteriores, a los 45 días se dá el pico más alto para después declinar conforme avanza la edad. Los folículos tipo 7 sanos se hacen evidentes a partir de los 45 días con ligera variación a los 49 y 52 días de edad, pues se presentan en porcentajes semejantes. Los folículos tipo 8 sanos se presentan a los 45, 49 y 52 días de edad aumentando su número levemente conforme se incrementa la edad (Gráfica 17).

La atresia folicular, en términos generales se incrementa

conforme aumenta la edad y la aparición de tipos de folículos más desarrollados (Gráfica 18), aunque dicho aumento se da en folículos grandes pues en los folículos de tipo 5a y 5b la atresia aumenta a partir de los 45 días de edad (Gráfica 19). Analizando la atresia folicular por cada tipo en las edades consideradas tenemos que para el tipo 5a el porcentaje más alto se dá a los 41 días siguiendole los 37 días, las edades restantes muestran porcentajes de atresia bajos. La atresia de los folículos tipo 5b es alta también a los 37 y 41 días y decae a los 45 días, aunque a porcentajes no tan bajos como en el tipo anterior, a los 49 y 52 días la atresia aumenta. Los folículos atrésicos de tipo 6 son pocos a los 41 días y más frecuentes en las edades siguientes, alcanzando casi el 50%. La atresia de los folículos de tipo 7 se manifestó a partir de los 45 días de edad, presentando un patrón variable. La atresia de los folículos tipo 8 fue baja y se presentó a los 49 y 52 días de edad (Gráfica 20).

4.- Discusión.

La pubertad es un periodo crucial en la vida de los organismos, pues es el momento en el que ocurre una transición entre el estado juvenil y el adulto, y por lo tanto un periodo en el que se dá la integración de los sistemas involucrados en la reproducción, con cambios fisiológicos profundos que traen como consecuencia cambios en las características morfológicas y

conductuales de los animales (Reiter, 1982).

La madurez sexual en los organismos es el resultado de estos múltiples eventos neuroendócrinos y endócrinos, los cuales, permiten asegurar al organismo la capacidad reproductora, que le va a conducir a la perpetuación de su especie.

Los cambios morfológicos sufridos durante el periodo puberal han sido por mucho tiempo uno de los parámetros utilizados para definir a esta etapa, estableciéndose también una correlación con los cambios neuroendócrinos y endócrinos responsables de todas estas modificaciones. La comprensión de la transición sufrida en la etapa puberal es fundamental para el entendimiento de los eventos llevados a cabo durante la madurez sexual.

Utilizando exclusivamente parámetros de morfología somática en Neotomodon se ha establecido que la pubertad se presenta en promedio a los 49 días, lo que se identifica en la hembra por la apertura del orificio vaginal y se sabe también que la madurez sexual de éstos está establecida a los 65 días, pues es capaz de quedar preñada. En el macho, no se ha establecido si ocurre el descenso testicular, sin embargo su conducta reproductora es madura también a los 65 días (Olivera, 1984). Esto a la luz de nuestros resultados consideramos se cumple.

Testículo.

Las modificaciones morfológicas que tienen lugar en el testículo de Neotomodon durante las edades estudiadas muestran que existe una asociación entre la edad, el peso corporal y los cambios histológicos en el testículo. Esta asociación entre la edad y el peso corporal es directamente proporcional, que se relaciona con el aumento del tamaño del testículo y con su maduración histológica.

A los 14 días de edad la imagen histológica es la de un testículo inmaduro, en el cual se observan únicamente un tipo de células germinales, que son las espermatogonias y un diámetro tubular pequeño. Comparando con lo reportado en rata, especie en la que se ha descrito que entre los 15 y 18 días de edad se observa la presencia de espermatocitos primarios en los estadios iniciales de la profase meiótica (Clermont, et. al., 1957), además de que a los 20 días se han observado espermatogonias en degeneración, que se tiñen intensamente (Russell, et. al., 1987), Neotomodon presenta una imagen histológica menos avanzada, estos cambios histológicos descritos en la rata ocurren durante el periodo infantil (7-21 ds.) en donde se sabe que la sensibilidad de las células de Sertoli a FSH disminuye, se establece la barrera hematotesticular que se relaciona estrechamente con la formación de la luz tubular y los niveles de FSH sérico comienzan a incrementarse, además de que es en este periodo cuando la secreción de testosterona alcanza su valor mínimo (Ojeda, et. al., 1980).

A los 35-37 días las modificaciones histológicas sufridas no son drásticas, con respecto a los 14 días de edad, debido a que aunque el diámetro tubular se ha incrementado, aún no se define con claridad una luz tubular. En el epitelio seminífero se ha dado un incremento en el grosor que coincide con la aparición de espermatoцитos en leptoteno y paquiteno, así como de células en degeneración. Estos cambios, en la rata, se dan en edades más tempranas, o sea que la aparición de los espermatoцитos en leptoteno y paquiteno ocurre antes de los 20 días, así como la degeneración de de la primera generación de células en estas etapas (Russell, et. al., 1987).

Es evidente que la maduración del testículo en Neotomodon hacia el establecimiento de la espermatogénesis en estos intervalos esta retrasada con respecto a la rata y el ratón. Esto se puede afirmar por las imágenes histológicas observadas en Neotomodon a los 14 y 35-37 días de edad, las cuales corresponden a la etapa infantil según Ojeda, et. al. en 1980.

En la rata en el lapso de 23-26 días los espermatoцитos se observan en todas las fases de la profase y espermátidas jóvenes en unos cuantos túbulos, el índice de degeneración en los espermatoцитos es elevado (Clermont, y Perey, 1957) lo cual, no sucede aún en neotomodon a estas edades. El diámetro tubular en Neotomodon es menor pues según nuestros resultados fué de $53.40 \pm$

5.8 μ y en la rata a los 20 días de edad de $97.2 \pm 5.8 \mu$ (Ekwal, et. al., 1984).

El proceso de maduración gonadal en Neotomodon es más lento lo que nos permite sostener que probablemente los cambios neuroendócrinos y endócrinos llevados a cabo en la rata en edades tempranas comprendidas entre los periodos infantil y juvenil (Ojeda, et. al., 1980) ocurren en edades más avanzadas en Neotomodon lo que se asocian con la maduración gonadal manifestada en cambios histológicos notables en edades posteriores a los 35-37 días de edad.

A los 42 días de edad en Neotomodon es evidente ya la asociación entre el incremento de la edad, la ganancia de peso corporal, el aumento en el tamaño del testículo y la maduración del epitelio seminífero, vinculado a un aumento en el diámetro tubular. La imagen histológica que se aprecia a esta edad, apareciendo incluso espermatidas tempranas, nos permite pensar en cambios endócrinos importantes, como los descritos en la rata, en que se sabe que entre los 26 y 50 días de edad los niveles de FSH se incrementan a valores que exceden los 250 ng/ml, después caen significativamente entre los 51 y 60 días de edad y este decremento en los niveles séricos de FSH se asocian con el momento en el cual se liberan los primeros espermatozoides y se observan los primeros cuerpos residuales (de Kretser, et. al., 1983). A esta edad aun no se observan en Neotomodon espermatidas en fases tardías

de maduración en todos los animales, sin embargo el que ya existan espermatidas en las primeras etapas de la espermiogénesis, se puede interpretar como que se está llevando a cabo la diferenciación de la espermatide como una consecuencia de la participación de la FSH y la testosterona (Steinberger, 1974; Lostroh, 1976). El diámetro tubular a esta edad es pequeño al compararse con el de la rata que a los 40 días de edad es de $208.4 \pm 11.8 \mu$, este diámetro es seis veces más grande que el diámetro tubular promedio a los 42 días de edad en Neotomodon que fué de $64.02 \pm 7.10 \mu$.

A los 54 días de edad los cambios en el peso corporal, el tamaño del testículo y su diámetro mayor y menor y el diámetro tubular presentan un incremento con respecto a la edad anterior y cambios en la imagen histológica del epitelio seminífero lo cual se puede asociar con el momento en el que el epitelio seminífero esta por completar la espermatogénesis. El tipo de células grandes multinucleadas en degeneración observadas a esta edad y la anterior en Neotomodon, en la rata corresponden a espermatidas multinucleadas las cuales, constituyen una característica única de la espermatogénesis puberal, esta degeneración de las espermatidas se presenta asociada con la presencia de células redondas a alargadas detenidas a la mitad del ciclo (Russell, et. al., 1987). En Neotomodon estas células gigantes multinucleadas creemos son espermatidas que no completaron su espermiogénesis y que se encuentran fusionadas en células gigantes a causa de los puentes citoplasmáticos existentes entre las células germinales durante la

espermatogénesis. El que a los 54 días de edad aún se observen unas cuantas células gigantes en degeneración nos indica que aún los niveles de FSH y LH no son adecuados para la completa maduración (Russell, et. al., 1987).

Es evidente que la estimulación dada por la LH se puede apreciar de manera indirecta a través de la síntesis de testosterona, la que se incrementa de manera previa a la diferenciación de las espermatidas (Russell et. al., 1987). Se sabe que para la diferenciación de estas células es necesaria la influencia hormonal tanto de FSH como de testosterona. El que a la edad de 54 días en Neotomodon observemos las primeras espermatidas en diferenciación nos indica que se está dando una maduración del epitelio seminífero que apunta hacia el establecimiento de la espermatogénesis.

El perfil hormonal durante el periodo juvenil y puberal en la rata muestra cambios significativos. En el periodo juvenil en la rata se da un incremento en el contenido de receptores testiculares a LH que preceden al momento en donde se inicia el periodo puberal en el que los niveles séricos de testosterona comienzan a incrementarse rápidamente, lo cual coincide con el momento en que los primeros espermatozoides son liberados observándose en la luz del túbulo y la separación del balano prepucial se completa (Ojeda, et. al., 1980).

La transición histológica de los 54 días al intervalo 59-60 días de edad en el testículo de Neotomodon se manifiesta por un incremento considerable en el diámetro tubular, así como un aumento en los tipos de células germinales en diferentes estadios de la espermatogénesis. El que se presenten células picnóticas en algunos túbulos se entiende como parte del porcentaje de células en degeneración una vez establecida la espermatogénesis. Es importante señalar que la degeneración de las células germinales no es privativa de la etapa prepuberal y puberal sino que es un evento que se dá a lo largo de la vida del organismo (Huckins, 1978) . Lo que si es una característica única de la espermatogénesis puberal es la presencia de células gigantes multinucleadas (Ekwall, et. al., 1984; Russell, et. al., 1987), las cuales continúan presentándose a esta edad, lo que nos indica que posiblemente en Neotomodon las relaciones hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-testículo aún no están del todo establecidas. Otro hallazgo en relación con el establecimiento de la espermatogénesis a esta edad es la presencia de cuerpos residuales. En la rata a los 47 días de edad se observa la presencia de tales cuerpos residuales en algunos túbulos, y esto se ha interpretado como indicativo de que algunos espermatozoides han sido liberados a la luz (de Kretzer, et. al., 1983). La presencia de cuerpos residuales y espermatozoides maduros, nos permite hablar de madurez testicular a los 59 ó 60 días de edad en Neotomodon, sin embargo para relacionar a ciencia cierta, la histología con los eventos neuroendócrinos y endócrinos que se llevan a cabo en Neotomodon y ubicar a esta edad en un

periodo puberal tardío como lo llama Ojeda et. al., (1980) ó de madurez, sería necesario tener un perfil hormonal de Neotomodon.

El que aún se presenten células gigantes en degeneración y que éstas se identifiquen como espermátidas que no completaron su diferenciación, se puede interpretar efectivamente como una falta de acoplamiento entre las gonadotrofinas y la testosterona. Pues se sabe que para la diferenciación de las espermátidas se requiere de FSH y testosterona (Steinberger, 1974; Lostroh, 1976; de Kretser, et. al., 1983; Revilla y Dominguez, 1984). Es probable que éstas existan ya en los niveles necesarios pero tal vez la capacidad fisiológica de respuesta aún no sea efectiva al 100%.

En cuanto al último intervalo estudiado, éste es entre los 70 y 100 días de edad, vemos que el testículo presenta la apariencia de un testículo histológicamente maduro, lo que coincide con la rata, la cual a los 75 días de eda presenta una espermatogénesis bien establecida (Russell, et. al., 1987). Esto se puede asociar con el establecimiento funcional total del eje hipotálamo hipófisis testículo que en el periodo puberal tardío ya secreta las cantidades hormonales requeridas (Ojeda et. al., 1980) de acuerdo al patrón observado en los adultos, además de estar demostrando que el testículo ya ha madurado fisiológicamente (Ojeda, et. al., 1980). En este intervalo se dió un incremento ligero en el peso corporal promedio, lo que suponemos se debe a que los organismos continúan su crecimiento hacia una madurez sexual "completa".

La diferenciación observada en el testículo de Neotomodon a lo largo de las edades estudiadas, mostró una evolución esperada relacionada con la edad y el incremento en el peso corporal del animal. Sin embargo cabe señalar que en las edades estudiadas no siempre la imagen histológica observada correspondió a la edad cronológica, ya que hubieron animales que presentaron una imagen histológica menos avanzada de lo esperado y otros con una maduración histológica más avanzada. Estos casos coinciden con el hecho de que los animales con diferenciación histológica relativamente retrasada, tenían un peso corporal menor que el promedio para los animales de su edad; lo mismo ocurre en el caso de una maduración adelantada, coincidiendo con un peso corporal superior al peso corporal promedio (Martin, y Alvarez, 1980; Olivera, 1984). Es posible que estas diferencias pudieran hacerse coincidir con las reportadas por Ekwall, et. al., (1984), donde se establece relación entre el peso corporal, estructura histológica y edad.

En cuanto al diámetro del testículo mayor y menor así como del diámetro tubular en las edades en las que se consideró se vió que efectivamente existe un incremento en éstos conforme aumenta la edad, además de relacionarse con la maduración del testículo, lo cual resulta lógico ya que dicho incremento en el tamaño total del testículo y del diámetro tubular se traduce en una mayor diversidad en la población celular del epitelio y una

diferenciación de las células intersticiales. Aquí también se presentaron diferencias significativas entre los organismos de una misma edad, lo cual creemos se debió a la diferencia en el peso corporal, por lo que parece que éste es un factor importante en el inicio de la pubertad.

A los 35-37 días comienza este proceso que se va desarrollando de manera lenta a lo largo de las demás edades hasta llegar a los 59-60 días de edad en donde el testículo tiene la imagen de un testículo maduro. Los cambios estructurales más significativos entre estas edades son: la aparición de células germinales más maduras conforme aumenta la edad y la presencia de células germinales en degeneración en determinadas etapas. La degeneración de las células germinales es un fenómeno que se da también en el adulto durante la espermatogénesis (Huckins, 1978; Russell, et. al. 1986) sin embargo, durante el período juvenil y puberal presenta características distintivas (Russell, et. al. 1986. Ekwall, et. al., 1984.) A los 35-37 días de edad la degeneración celular es menor que a los 42 días, edad a la que ocurre principalmente en células que se encuentran en la profase meiótica. A los 49-50 días y 54 días de edad se continúan presentando espermatocitos en profase meiótica en degeneración y además células gigantes multinucleadas. El que se hagan evidentes células en degeneración en determinado número en las edades estudiadas indica que aunque el testículo va madurando histológicamente, y que probablemente aún no se tiene el ambiente hormonal adecuado para que las células

alcancen su maduración completa.

Ovario.

Los cambios histológicos observados en el ovario de neotomodon en las edades estudiadas manifestaron el desarrollo de éste hacia su madurez. Estos cambios en la estructura histológica del ovario son una de las manifestaciones de transición que ocurren durante la pubertad; pues el que se aprecie la aparición de folículos preovulatorios así como cuerpo lúteo, nos indica la posible participación de las hormonas gonadotropas que estimulan dicho crecimiento.

El advenimiento de la madurez gonadal en las hembras de Neotomodon se observa a los 50 días de edad, en donde se aprecian folículos de características preovulatorias, así como la presencia de cuerpo luteo, a diferencia de lo que sucede con la rata en la cual se sabe madura a las 5 semanas o sea a los 34-40 días de edad (Ojeda, et. al., 1980; Ojeda, et. al., 1983) y con el ratón, el cual alcanza la madurez a los 35 días de edad (Pedersen, 1969; Peters, 1969).

El que a esta edad el ovario de Neotomodon muestre madurez conduce a decir que el advenimiento de la pubertad en este organismo es más lento, en comparación a lo que sucede en la rata y el ratón, y de hecho esto se puede apreciar observando las fluctuaciones de los tipos de folículos en las edades previas a

los 50 días de edad, así como los cambios en la estructura histológica.

Los cambios histológicos que se observaron entre los 14 y 50 días de edad son cambios considerables, pues a los 14 días de edad observamos únicamente los folículos primarios y algunos ovocitos aún desnudos, así como una muy buena definición de los cordones medulares, esta descripción corresponde a la descrita para el ovario infantil de roedores (Mossman, 1966). Aunque al correlacionar ésto con lo descrito para la rata no coincide, pues según Ojeda et. al., (1980) a esta edad podemos observar en el ovario folículos del tipo 5b (preantrales), lo cual, en el caso de Neotomodon aún no sucede. El que en la rata se presenten este tipo de folículos se ha relacionado con el hecho de que durante el periodo infantil (7-21 ds.) la FSH alcanza niveles muy altos aunque después declina y alcanza sus niveles más bajos en la etapa juvenil (21-32 ds. de edad) y ésto se ha interpretado como una consecuencia de los niveles de FSH así como de la feto proteína alfa (AFP) que transporta estrógenos que al parecer promueven el crecimiento de los folículos (Ojeda, et al. 1980). Algo similar sucede en el ratón, en el que se ha visto que a los 14 días existen folículos de tipo 5a además de saberse que en los primeros 10 días de edad de vida existe un crecimiento y desarrollo folicular notable (Peters, 1969).

A los 35 y 37 días de edad en el ovario de Neotomodon se

observa que aparecen folículos de tipo 5a, 5b y 6 y evidencias de atresia folicular, ésto que sucede en el ovario de Neotomodon se ha descrito en la rata y en el ratón pero en edades más tempranas pues esto se aprecia en el periodo infantil (7-21 ds.) y juvenil (21-32 ds.) en la rata (Ojeda, et. al., 1980) y a los 21 días en el ratón (Peters, 1969), se cree que ésto es una consecuencia de los cambios hormonales que se presentan en estos periodos, los cuales son muy importantes, pues como ya mencionamos anteriormente se piensa que el crecimiento folicular en estas edades tan tempranas sea provocada por los niveles altos de FSH y LH que van declinando hasta llegar a los niveles más bajos en el periodo juvenil y prepuberal comprendidos entre los 32 días y 1ª ovulación, por lo tanto al ir declinando los niveles séricos de gonadotropinas y no existir ya AFP, los folículos ya no tienen el estímulo hormonal para continuar creciendo y por lo tanto sufren atresia (Ojeda, et. al., 1980; Ojeda, et. al., 1983; Hishfield, y Midgley, 1978). Esta atrésia descrita en la rata en este periodo también se ha descrito en el ratón a las 3 semanas de edad (21 días) y se piensa que es consecuencia de la falta de un juego hormonal adecuado en el ratón inmaduro (Pedersen, 1969). En Neotomodon a los 35-37 días de edad, según lo descrito para el ovario de roedores tenemos la imagen histológica típica de un ovario prepuberal, el cual se caracteriza por la presencia de numerosas mitosis en las células de la granulosa, folículos de mayor tamaño y la evidencia de atresia en algunos de estos folículos (Mossman, 1966).

A los 41 días de edad se aprecia poca diferencia comparado con el periodo de 35-37 días de edad que se manifiesta principalmente en un incremento en la atresia sufrida por los folículos en crecimiento. Esto confirma de alguna manera los bajos niveles de las hormonas gonadotróficas para sostener el crecimiento folicular. Esto que sucede nos permite también proponer que la maduración del ovario de Neotomodon ocurra en edades más avanzadas con respecto a la rata y el ratón.

A los 45 días de edad es notable la disminución en cuanto al número total de folículos medianos con respecto a las edades anteriores y el incremento en la atresia. De hecho lo que se aprecia a partir de los 45 días en adelante son patrones de distribución muy semejantes, lo cual se parece a lo reportado en estudios realizados en la rata y en el ratón. Pues en la rata durante el periodo prepuberal se sabe esta caracterizado por una marcada respuesta ovárica a las gonadotrofinas, lo que culmina con la primera ola preovulatoria de gonadotrofinas, la apertura vaginal, y en consecuencia el primer ciclo estral y el inicio de la función lutea (Odell, y Swerdloff, 1976; Ojeda, et. al., 1980; Ojeda, et. al., 1983). Esto que sucede en la rata tiene como resultado la modificación de la cinética del crecimiento folicular en el ovario inmaduro y en consecuencia al acercarse el momento del primer ciclo estral, el ovario responde de diferente manera, pues incluso se sabe que la capacidad esteroidogénica del ovario es

diferente durante el periodo prepuberal y la pubertad (Ojeda, et. al., 1980). La imagen histológica que se aprecia a esta edad, 45 días en Neotomodon, coincide con la descrita para un ovario puberal en el que se observan folículos maduros en los que se define perfectamente la teca interna bien vascularizada y la teca externa, incluso esta imagen histológica en el ovario de roedores se ha asociado a la respuesta a gonadotrofinas para el primer ciclo estral (Mossman, 1966).

En las edades de 49 y 50 días, el ovario presenta un aspecto maduro. A los 49 días la estructura histológica del ovario muestra una evolución en cuanto a la cantidad de los tipos de folículos en crecimiento, pues es a esta edad en la que se observa el mayor número de folículos considerados grandes. La imagen observada a esta edad tal vez pueda ser considerada la de un ovario puberal que se caracteriza por presentar folículos maduros en los que se definen muy bien la capa granulosa y las tecas, lo que se ha interpretado como un rasgo cercano al momento de la ovulación, debido a que el desarrollo de los folículos es notable y además se observa una atresia folicular en folículos en distintas fases de crecimiento (Mossman, 1966). Un rasgo particular de los ovarios estudiados de Neotomodon a esta edad fue la presencia de folículos poliovulares en crecimiento, los cuales se han descrito en el ratón, a las 6 semanas de edad (Kent, 1960), y para otras especies de mamíferos aunque se habla de ovario inmaduro (Harrison, y Weir, 1977). Esto se cree sucede por una falta de estrógenos, así como

por una falta de acoplamiento en el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario debido a que ocurre con mayor frecuencia en animales inmaduros. Experimentalmente se ha observado que la presencia de folículos poliovulares esta asociada con los niveles de estrógenos, ya que administrando estrógenos a un animal inmaduro la presencia de estos folículos poliovulares se reduce (Harrison, y Weir, 1977). El que a los 49 días en Neotomodon se presenten folículos poliovulares en crecimiento se puede interpretar como que posiblemente el ovario aún no está completamente maduro fisiológicamente y por lo tanto aún no sintetiza las cantidades suficientes de estrógenos. La presencia de folículos poliovulares a esta edad, se asocia también con la información existente acerca de que el ovario es el último elemento que madura fisiológicamente del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Ojeda, et. al., 1980; Ojeda, et. al., 1983), ya que se conoce el hecho de que la hipófisis, desde edades tempranas, presenta receptores a GnRH, así como que contiene grandes cantidades de FSH (Chappel, et. al., 1983) y que la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario existe tempranamente, pues la administración de estradiol provoca un incremento en la liberación de gonadotrofinas en edades cercanas a la pubertad (Döhler, y Wuttke, 1975). Es muy probable pensar también, con base en lo descrito para otras especies, y nuestros resultados que ésto sea una consecuencia de esa integración de los elementos hipotálamo-hipófisis-ovario para el primer ciclo estral y que por lo tanto los niveles de gonadotrofinas promueven el crecimiento de estos folículos que tal

vez más adelante sean ovulados o sufran atresia. Es importante resaltar que en el ratón se reporta el pico de este tipo de folículos a las 6 semanas de edad siendo que según la bibliografía a esta edad el ratón ya ha alcanzado la madurez (Bronson, et. al., 1966; Asdell, 1964).

En ovarios de 50 días de edad vemos la imagen histológica clásica de un ovario ovulatorio por la presencia de folículos en distintas etapas de desarrollo, atresia folicular y la presencia de cuerpos luteos (Mossman, 1966). Aquí cabe señalar que la presencia de cuerpo luteo es la evidencia más objetiva de que se ha presentado el primer ciclo estral y por lo tanto el ovario es maduro. A partir de esta edad observamos evidencias de ovulación, sin embargo se sabe que el primer ciclo estral es un ciclo estral no evidente, pues a pesar de que hubo ovulación de un folículo de Graaf y la formación de cuerpo lúteo no se manifiestan conductas de apareamiento en las hembras, por lo que podemos decir que se ha llevado a cabo "un ciclo estral silencioso", ésto se cree sucede por la falta de pequeñas cantidades de progesterona durante el proestro del primer ciclo estral, ya que la progesterona condiciona al SNC a la estimulación por estrógenos y que se provoque así el estro psíquico manifestado por la conducta de apareamiento en las hembras (Asdell, 1964; Faulkner, 1969). Esto puede asociarse también con los reportes acerca de que el registro de apareamiento a los 65 días de edad en Neotomodon aún no sea al 100% (Olivera, 1984), pues también debemos considerar que aunque la hembra esta

ovulando la maduración del eje SNC-hipófisis aún no es completa en algunos animales (Ojeda, et. al., 1980).

En lo que se refiere a las fluctuaciones en la abundancia de los folículos que se presentan entre los 37 y 54 días de edad en Neotomodon tenemos que es semejante a lo observado en el ratón entre los 14 y 35 días de edad en el que se ha visto el aumento en el número de folículos, así como la presencia de folículos de los tipos más desarrollados (Pedersen, 1969; Peters, 1969), lo que coincide con nuestros resultados, aunque no coincide con las edades, ya que en Neotomodon se presenta a los 45 días de edad lo que creemos se asocia con el hecho de que Neotomodon alcanza la madurez más tardíamente que la rata y al ratón. El descenso en el número de folículos de tipo 5a y 5b observado entre los 37 y 45 días de edad creemos puede explicarse con la aparición de los demás tipos de folículos como resultado de un estímulo constante de gonadotrofinas a partir de los 45 días de edad. Este descenso observado entre las edades en Neotomodon es similar al observado en el ratón, especie en la que a partir de los 21 días de edad se observa una disminución en los tipos de folículos 5a, 5b y en el tipo 6 a los 28 y 35 días de edad. Esto se ha interpretado como una caída en la velocidad del crecimiento folicular asociada a la falta de gonadotrofinas necesarias para promover el crecimiento de los folículos de la reserva hasta folículos grandes (Pedersen, 1969). En nuestros resultados a partir de los 45 días de edad, se estabiliza el número de folículos de cada tipo, aunque con

moderadas fluctuaciones en cuanto al tiempo empleado por cada tipo de folículo en crecer y pasar a la siguiente categoría. Se ha demostrado que durante el ciclo estral se dan modificaciones en cuanto al número total de folículos, los tipos de folículos en desarrollo presentes y el porcentaje de atresia folicular; este fenómeno se ha visto que coincide con las etapas del ciclo estral, pues por ejemplo en la rata en el estro se observan folículos casi en su totalidad sanos que no rebasan las 520 μ de diámetro a diferencia del proestro en donde se han visto folículos de 780 μ los cuales se consideran folículos preovulatorios. Estas diferencias de tamaño se asocian con las fluctuaciones hormonales, específicamente de la FSH durante el ciclo estral, además de saberse también que la velocidad de crecimiento de los folículos varía según el tipo (Pedersen, 1969; Pedersen, 1970; Hirshfield, y Midgley, 1978 a; Hirshfield, y Midgley, 1978 b).

La atresia folicular que se observó durante nuestro estudio presenta patrones semejantes a los descritos para otras especies (Pedersen, 1970; Hirshfield, y Midgley, 1978). Sin embargo el índice mayor de atresia se observó en los folículos de tipo 6 y 7 a diferencia de los reportes en ratón en donde se sabe es mayor en los folículos de tipo 5b y 6 (Pedersen, 1970). Creemos que esta diferencia estriba tal vez en la clasificación utilizada o quizá sea real el hecho de que para Neotomodon en particular la mayor atresia se presente en los folículos de tipo 7.

5.- Conclusiones.

1.- El testículo de Neotomodon a los 59 días de edad es ya maduro, pues se presentan asociaciones celulares características del ciclo espermatogénico establecido y espermatozoides libres en la luz de los túbulos seminíferos.

2.- El ovario de Neotomodon a los 52 días de edad ya es maduro, pues se presenta cuerpo lúteo que es la evidencia irrefutable de ovulación.

3.- La madurez del testículo de Neotomodon presentó una relación directa entre el incremento del peso corporal, el tamaño del testículo, y el diámetro tubular.

4.- La madurez sexual en machos y hembras de Neotomodon se presenta a edades más avanzadas con respecto a los reportes que existen para la rata y el ratón.

CUARTA PARTE.

1.- Resumen General.

Neotomodon alstoni alstoni es un roedor endémico de la fauna mexicana que se ha estudiado en los últimos años con el propósito de ofrecerlo en un futuro no lejano como modelo de investigación en áreas morfológicas, fisiológicas y farmacológicas entre otras. Este roedor se ha elegido por la facilidad con que se captura, su docilidad al manejo y su buena capacidad de adaptación al laboratorio.

El desarrollo histológico postnatal del testículo y del ovario se ha considerado en esta investigación para establecer la madurez gonadal del ratón de los volcanes, con el propósito de proponer un parámetro más y de esta manera poder definir con mayor precisión la madurez sexual.

El estudio se llevó a cabo en dos fases experimentales: la primera se consideraron ratones hembras y machos a partir de los 14 a 100 días de edad en los que se hizo únicamente la descripción histológica del desarrollo y evolución de las gónadas en las diferentes edades. Y en la segunda fase experimental en la que se utilizaron machos entre los 37 y 54 días de edad y hembras entre

los 37 y 52 días de edad, de los cuales se hizo la descripción histológica así como estudios morfométricos.

Los resultados obtenidos en los machos muestran que existe una relación entre la edad, el peso corporal y el desarrollo del testículo, así como el incremento del diámetro tubular con la consecuente madurez del epitelio germinal conforme nos acercamos a la madurez gonadal. Pues a los 14 días de edad el peso corporal es bajo y la imagen histológica está caracterizada por células de Sertoli, espermatogonias y células en degeneración. A los 35-37 días de edad el peso corporal se ha incrementado, así como el tamaño del testículo presentándose ya un epitelio con dos a tres estratos de células germinales entre las que se distinguen espermatoцитos primarios en meiosis. A los 42 días de edad se aprecian espermátidas en diferentes etapas de espermiogénesis y células en degeneración descamadas hacia la luz. A los 49-50 días de edad la luz tubular se ha incrementado notablemente, se observa además la presencia de 4 a 5 estratos de células en el epitelio germinal así como células gigantes multinucleadas. A los 54 días de edad se observan espermátidas alargadas en los últimos estadios de la espermiogénesis y células gigantes multinucleadas. A los 59-60 días de edad se observó la espermatogénesis bien establecida, caracterizada por la presencia de espermatozoides libres en la luz de los túbulos seminíferos y del epidídimo. De los 70 a los 100 días de edad se observó la imagen de un testículo histológicamente maduro en plena actividad espermatogénica.

En el caso del ovario se observó una relación entre la edad, el crecimiento y maduración del ovario manifestada por la aparición de folículos en crecimiento en etapas más avanzadas y por la presencia de folículos atrésicos. A los 14 días de edad se observaron folículos primarios que ocupaban toda la región cortical del ovario. A los 35 días de edad comenzaron a observarse folículos primarios y algunos folículos secundarios. A los 37 días se observaron folículos primarios y secundarios que tienen una actividad mitótica notable en las células de la granulosa y la formación de antro folicular. A los 41 días de edad se nota la presencia de folículos en crecimiento poliovulares y un mayor número de folículos que a los 37 días. A los 45 días existen más folículos en crecimiento presentándose ya folículos terciarios. A los 49 días de edad el número total de folículos se ha incrementado así como la diversidad en la etapa de crecimiento además de ser notorio el aumento en la atresia folicular. A los 52 días de edad se observa un ovario activo con folículos en diferentes estadios de crecimiento, la presencia de folículos atrésicos que en su mayoría son de tipo 6 y tipo 7, así como la presencia de cuerpo luteo. A partir de los 60 días de edad en adelante se observa la imagen histológica de un ovario maduro.

Los resultados de la investigación realizada nos permiten concluir que la madurez gonadal del macho del ratón de los volcanes se establece a los 59 días de edad; y en las hembras se presenta

a los 52 días de edad. La aportación hecha por este trabajo abre un panorama a explorar en relación con los eventos neuroendócrinos endócrinos y morfofisiológicos durante la pubertad, la cual es crucial en la vida de los organismos.

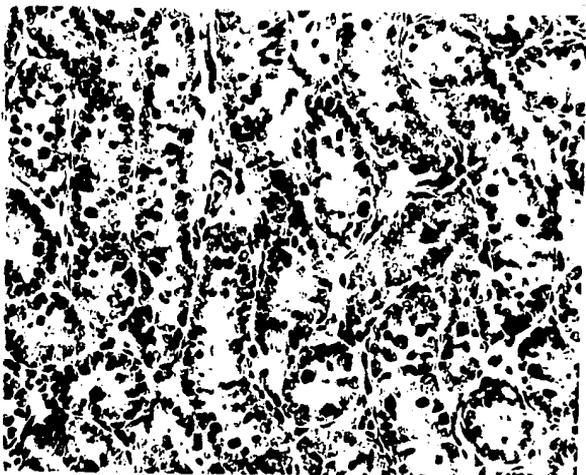


Fig. 1.- Panorámica de parénquima testicular a los 14 días de edad (Tec. H. E. 100 X).

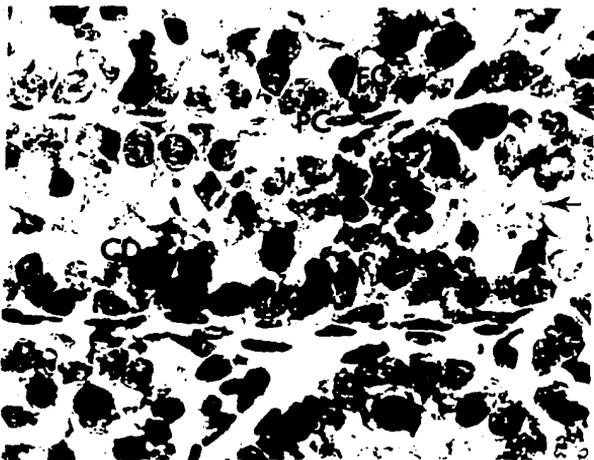


Fig. 2.- Testículo a los 14 días de edad. Se observan espermatogonias (EG), células de Sertoli (S), células en degeneración (CD), células pericordiales (PC) y prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli (-), (Tec. H.E.1000 X).

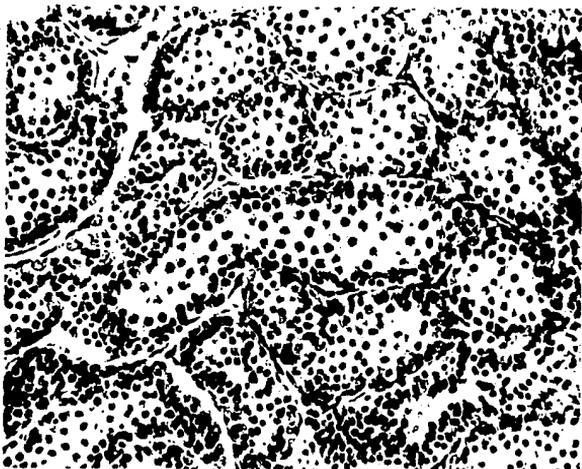


Fig. 3.- Testículo de 37 días de edad. Se ve el incremento en el diámetro tubular y espermatocitos en actividad meiotica (Tec. H.E. 400 X).

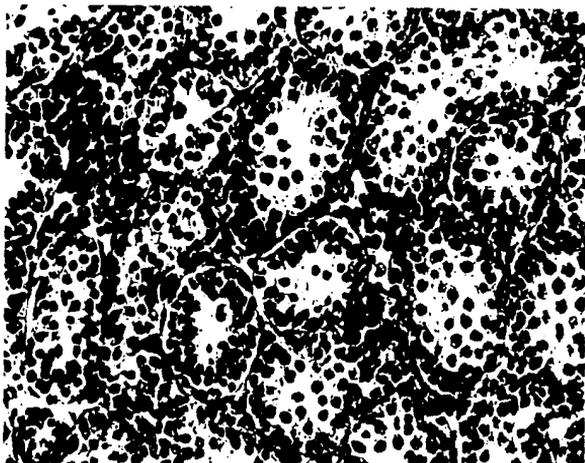


Fig. 4.- Panorámica de parénquima testicular a los 37 días de edad. Se aprecian espermatocitos en actividad meiotica (Tec. H.E.400 X).

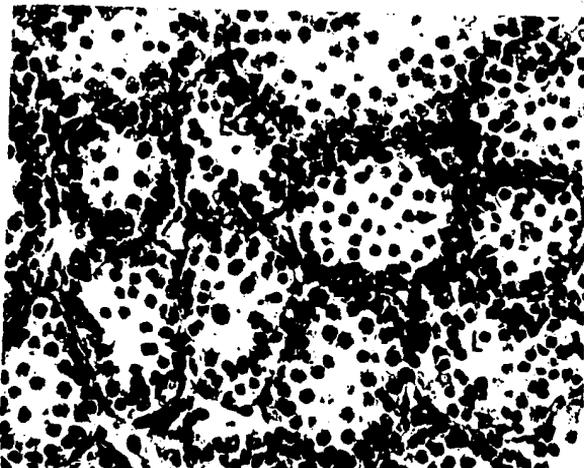


Fig. 5.- Testículo de 37 días de edad. Se visualizan espermatogonias (EG), espermatocitos en leptoteno (L) y paquiteno (P) así como células de Sertoli (S), (Tec. H.E.400 X).

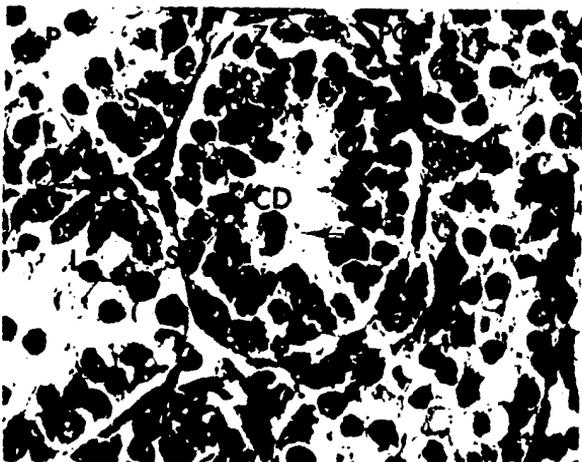


Fig. 6.- Testículo de 37 días de edad. Se observan células pericardiales (PC), espermatogonias (EG), espermatocitos primarios en leptoteno (L), zigoteno (Z) y paquiteno (P), células en degeneración (CD) y células de Sertoli (S) con sus proyecciones citoplasmáticas (↔), (Tec. H.E.400 X).

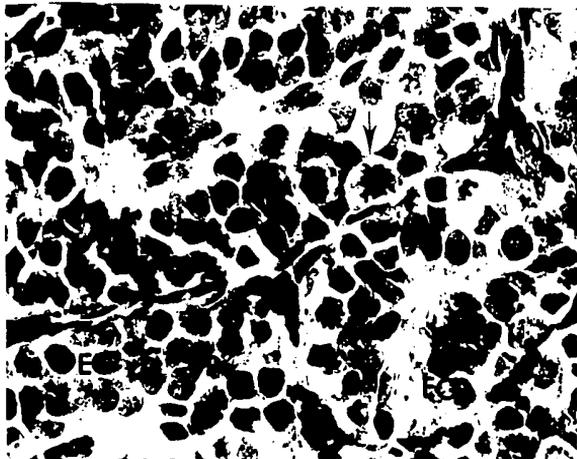


Fig. 7.- Testículo de 37 días de edad. El campo microscópico muestra células pericordales (PC), espermatocitos primarios en leptoteno (L), zigoteno (Z) y paquiteno (P) y una espermatogonia en mitosis (↑), (Tec. H.E.1000 X).

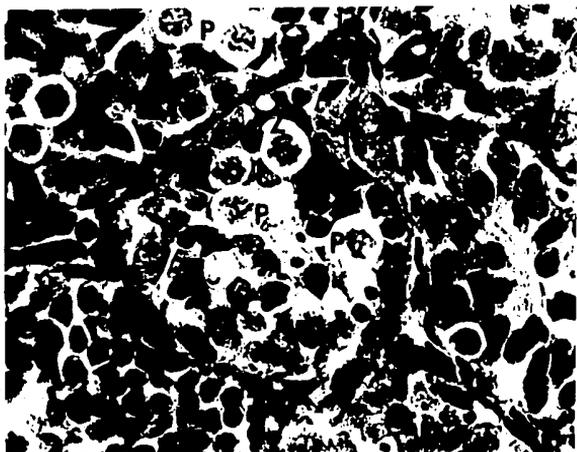


Fig. 8.- Testículo a los 37 días de edad. Se visualizan diferentes tipos de espermatogonias (EG), células de Sertoli (S), células de Leydig (LY), espermatocitos primarios en estadios de: leptoteno (L), zigoteno (Z) y en paquiteno (P) y células pericordales (PC), (Tec. H.E.400 X).

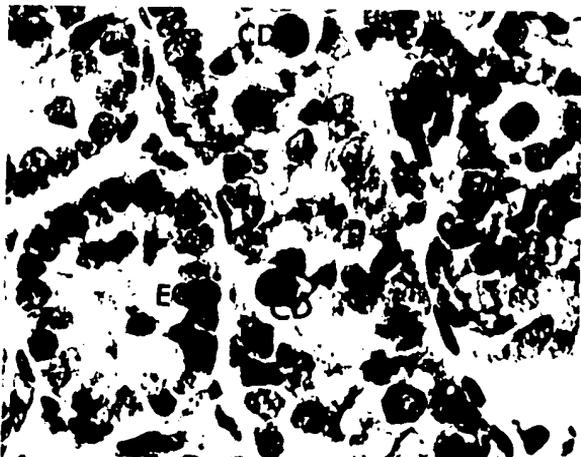


Fig. 9.- Testículo a los 35 días de edad. Notese la presencia de espermatogonias (EG), células de Sertoli (S) y células en degeneración (CD), (Tec. H.E.1000 X).

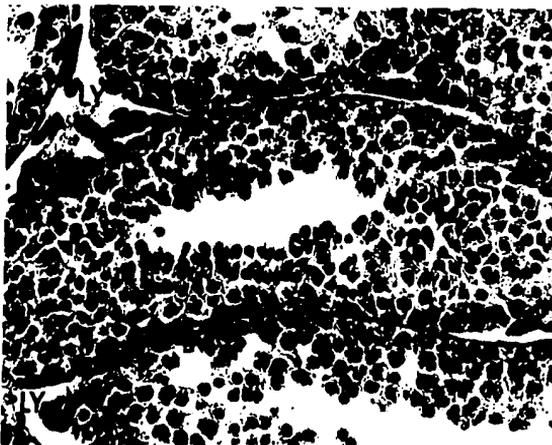


Fig. 10.- Sección longitudinal de túbulos seminíferos de un testículo de 42 días de edad. Notese la presencia de luz en los túbulos seminíferos y varios estratos de células en distintas etapas de la espermatogénesis y grupos de células de Leydig (LY), (Tec. H.E.400 X).

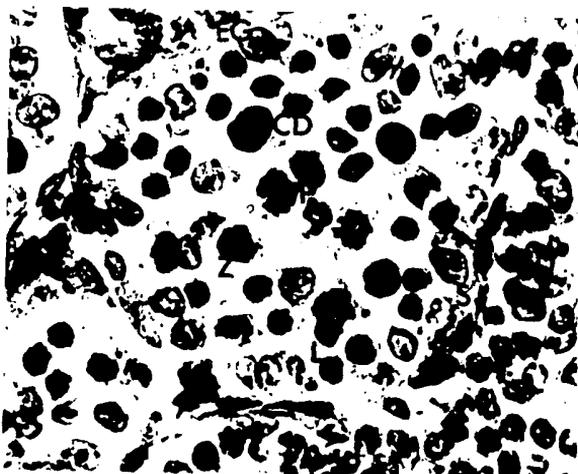


Fig. 11.- Testículo de 42 días de edad. Se observan espermatogonias (EG), espermatoцитos primarios en leptoteno (L), zigoteno (Z) y paquiteno (P), células en degeneración (CD) y células de Sertoli de forma piramidal (S), (Tec. H.E.1000 X).

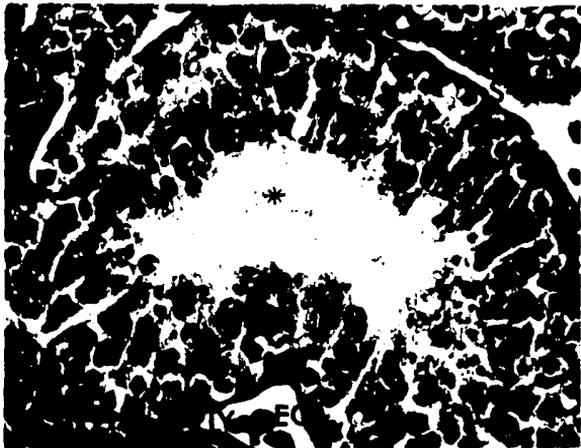


Fig. 12.- Testículo de 42 días de edad. La fotografía muestra un epitelio seminífero con distintos tipos celulares entre los que se definen claramente células de Sertoli (S), espermatogonias (EG), espermatoцитos primarios en paquiteno (P), espermátidas alargadas (E), flagelos en la luz tubular (*) y células de Leydig (LY), (Tec. H.E.400 X).



Fig. 13.- Panorámica de un testículo de 49 días de edad. Se observa el arreglo de las fibras reticulares (FR) de los túbulos seminíferos, así como los distintos tipos celulares en el proceso de espermatogénesis (Tec. fibras reticulares 400 X).

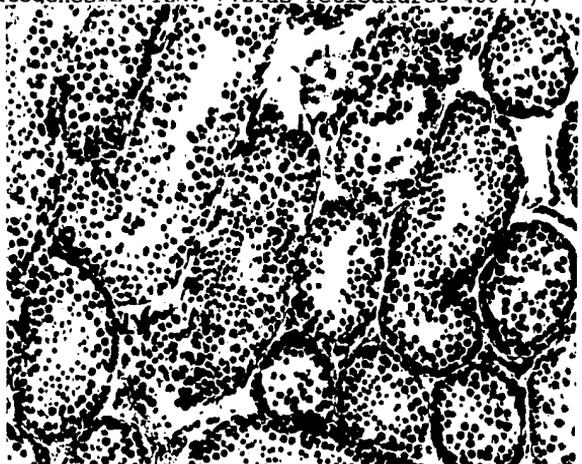


Fig. 14.- Panorámica de un testículo de 49 días. Se aprecia una vena (V) entre los túbulos seminíferos y grupos de células de Leydig (LY), la luz tubular se ve claramente así como la diversidad en el epitelio seminífero de cada uno de los túbulos, (Tec. H.E.250 X).

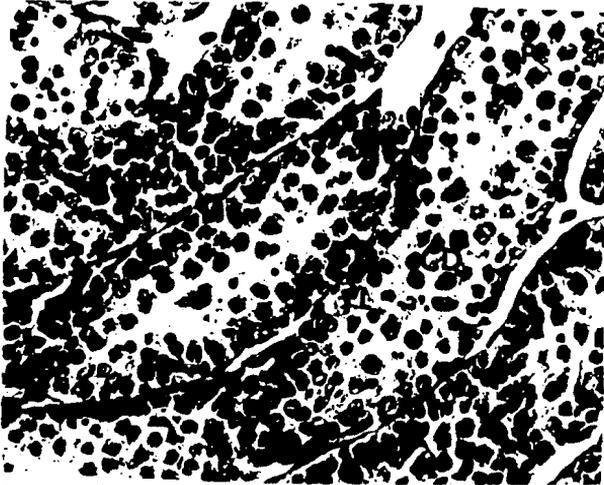


Fig. 15.- Panorámica de túbulos seminíferos de 49 días de edad. El epitelio seminífero exhibe varios estratos celulares y entre ellos se aprecian bien espermatoцитos primarios en leptoteno (L) y paquiteno (P) así como células en degeneración (CD), (Tec. H.E.250 X).

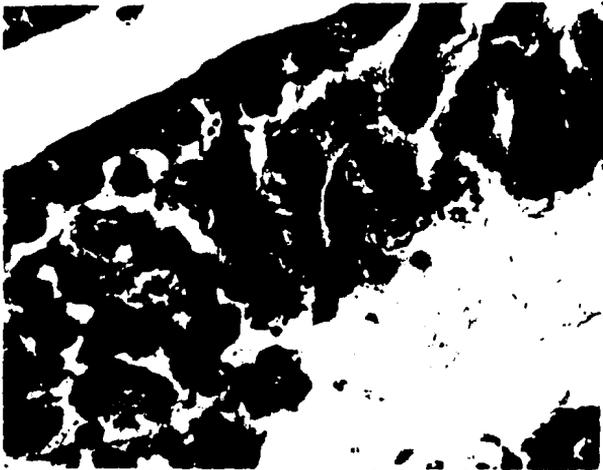


Fig. 16.- Testículo de 49 días de edad. Túbulo seminífero en el se aprecian espermatoцитos primarios en leptoteno (L) y paquiteno (P) y espermátidas alargadas (E) con cuerpos residuales (R) (Tec. H.E.1000 X).

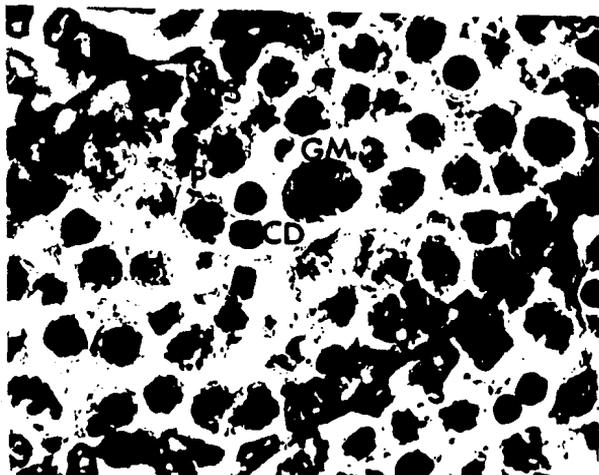


Fig. 17.- Testículo de 49 días de edad. Se observan espermatocitos primarios en paquitenio (P), células gigantes multinucleadas (GM), células en degeneración (CD) y células de Sertoli (S), (Tec. H.E.1000 X).

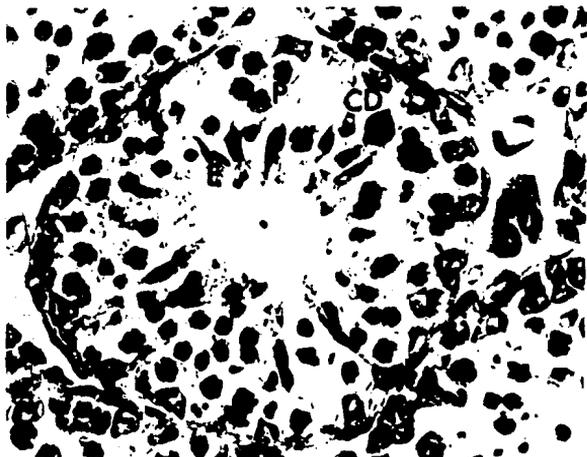


Fig. 18.- Testículo de 54 días de edad. Notese espermatocitos en profase meiotica en degeneración (CD), espermatocitos primarios en paquitenio (P), espermátidas alargadas (E), (Tec. H.E.1000 X).

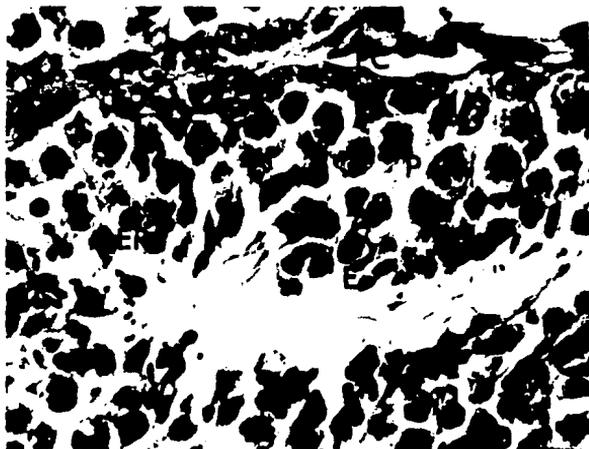


Fig. 19.- Testículo de 54 días de edad. Presenta varios estratos celulares entre los que se observan con claridad células pericardiales (PC), espermatogonias (EG), espermatocitos primarios en paquitenio (P), espermatidas redondas (ER) y espermatidas alargadas (E). (Tec. H.E.1000 X).

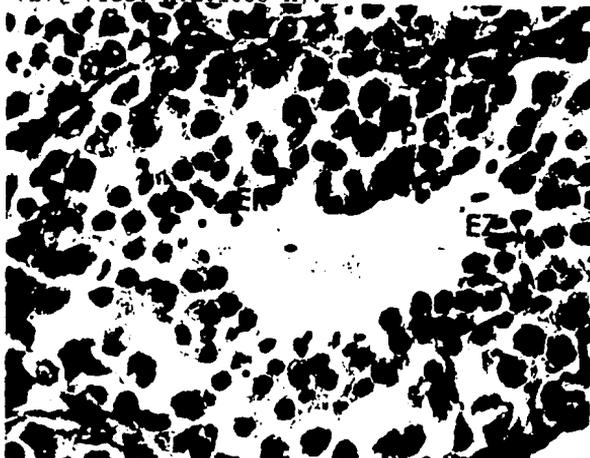


Fig. 20.- Testículo de 54 días de edad. Se aprecian cinco estratos celulares, las células que se localizan son espermatocitos primarios en paquitenio (P), espermatidas redondas (ER) y espermatozoides (EZ), (Tec. H.E.1000 X).

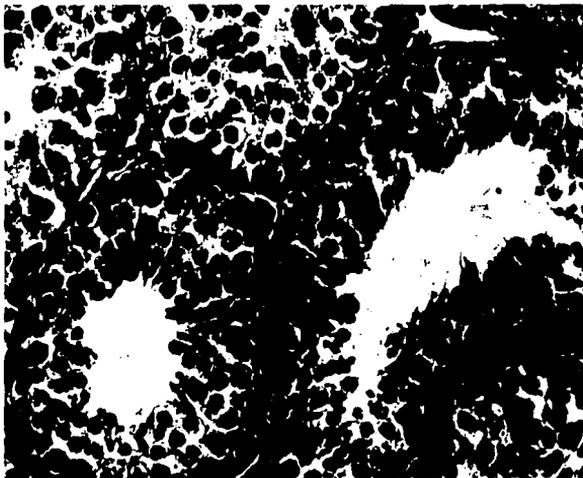


Fig. 21 .- Testículo de 54 días de edad. Muestra el epitelio seminífero con asociaciones celulares de la espermatogénesis (Tec. H.E.400 X).

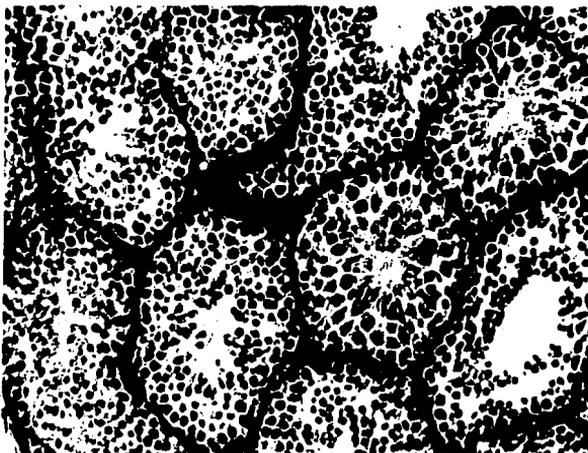


Fig. 22.- Parenquima testicular a los 60 días de edad. Se observan todos los tipos celulares germinales en diferentes estadios en cada túbulo (Tec. H.E.250 X).

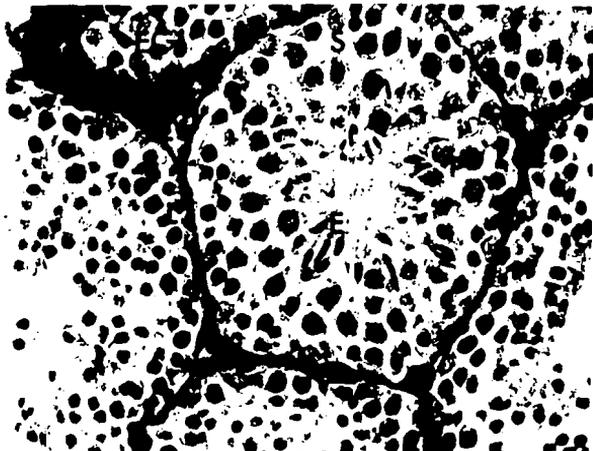


Fig 23.- Túbulo seminífero de un testículo de 60 días de edad en el que se muestran células de Sertoli (S), espermatogonias (EG), espermatocitos primarios en leptoteno (L) y paquiteno (P) así como espermátidas alargadas (E) en estadios finales de maduración. Entre los túbulos se hay grupos de células de Leydig (LY) (Tec. H.E.250 X amplificación).

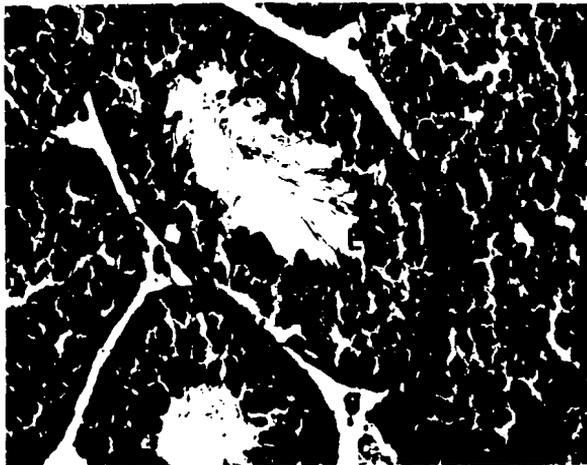


Fig. 24.- Parenquima testicular a los 59 días de edad. Se aprecian espermátidas (E) en las últimas etapas de maduración encajadas en las células de Sertoli (S) (Tec. H.E.400 X).



Fig. 25.- Epidídimo de neotomodon a los 59 días de edad. Se observan espermatozoides (EZ) libres en la luz (Tec. H.E.400 X).

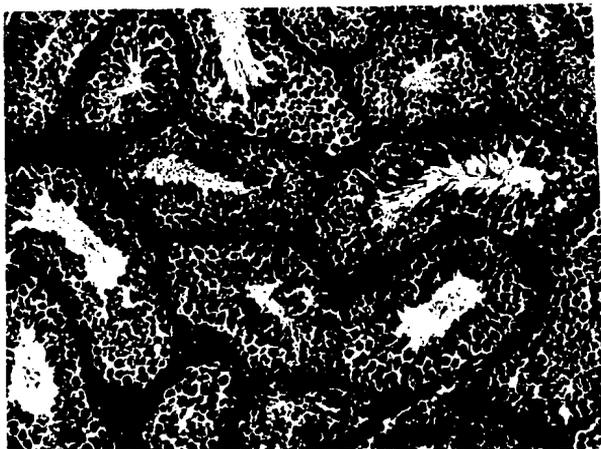


Fig. 26.- Panorámica de testículo a los 70 días de edad. Se presentan diferentes asociaciones celulares de la espermatogénesis (Tec. H.E.250 X).

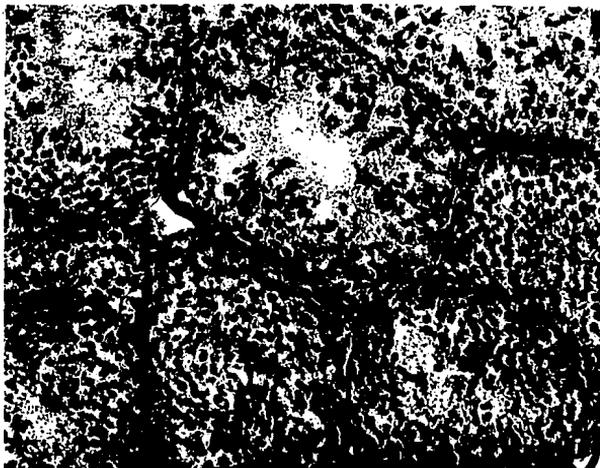


Fig. 27.- Testículo a los 135 días de edad. Notese la presencia de distintas etapas de la espermatogénesis en los túbulos seminíferos (Tec. H.E.400 X).

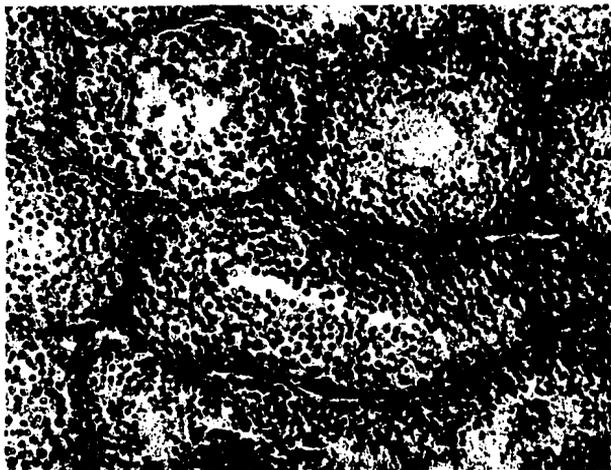


Fig. 28.- Panorámica de un testículo de 135 días de edad. Se aprecia la imagen histológica típica de un testículo maduro con una espermatogénesis bien establecida (Tec. Masson 400 X).

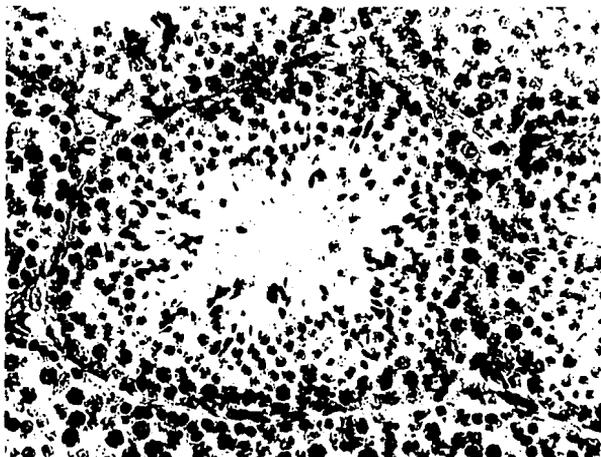


Fig. 29.- Testículo de 135 días de edad. Se muestra un corte transversal de un túbulo seminífero (Tec. Masson 400 X amplificación).

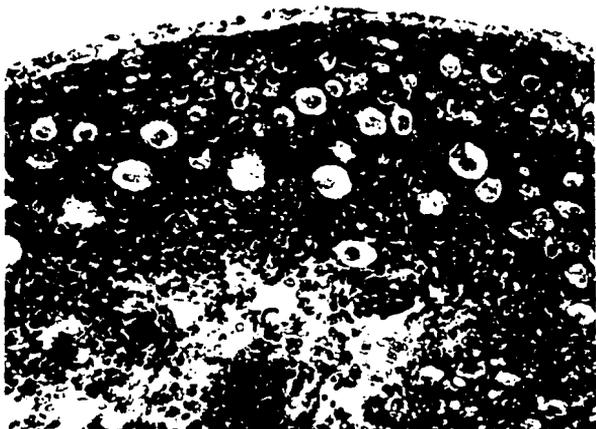


Fig. 30.- Panorámica de un ovario a los 14 días de edad. Se aprecian en la region cortical folículos tipo 3a y algunos de tipo 3b y 4; en la región medular se presenta tejido conectivo laxo (TC) (Tec. H.E.100 X).

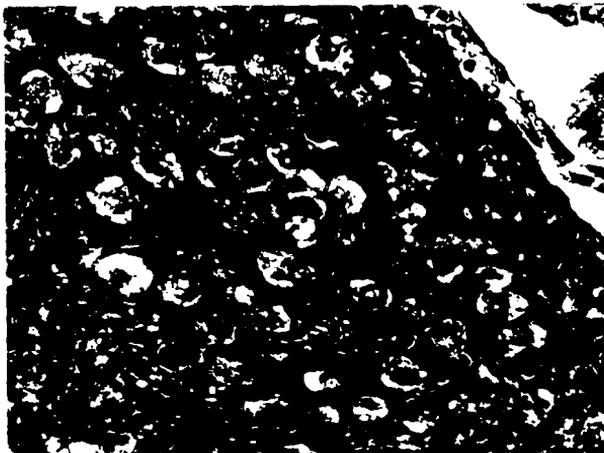


Fig. 31.- Ovario de 14 días de edad. Esta constituido casi en su totalidad por folículos tipo 3a en la región cortical (Tec. H.E.400 X).



Fig. 32.- Ovario de 14 días de edad. Se observan folículos de tipo 3a que tienen una sola capa de células foliculares planas (CF) alrededor del ovocito inmersos en el estroma ovárico (Tec. H. E.1000 X).

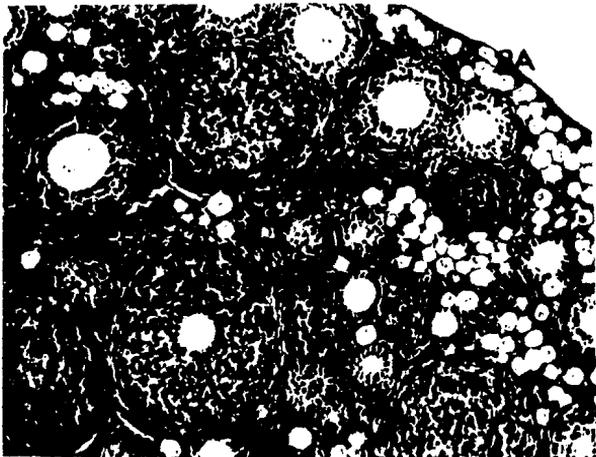


Fig. 33.- Ovario de 35 días de edad. Se visualiza la abundancia de los folículos de tipo 3a arreglados en grupos entre los folículos en crecimiento en distintas etapas. En los folículos en proceso de atresia (FA) se notan células picnóticas (P) en la capa granulosa así como una pérdida en el arreglo de ésta. La atresia se ve en folículos preantrales (Tec. H.E.250 X).

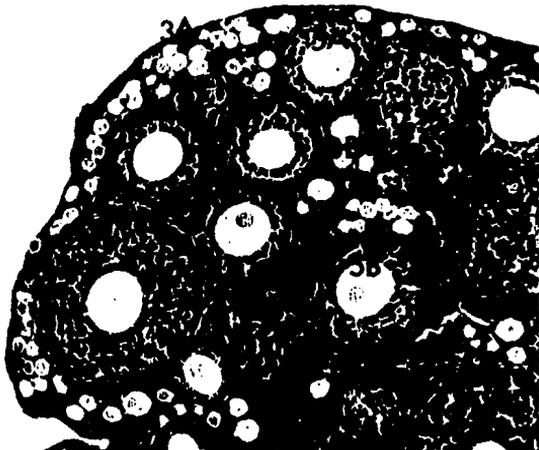


Fig. 34.- Ovario de 35 días de edad. Se aprecian folículos de diferentes tipos (3a, 3b, 4, 5a y 5b). En los folículos de tipo 5b se aprecia las tecas (T) (Tec. H.E.250 X).

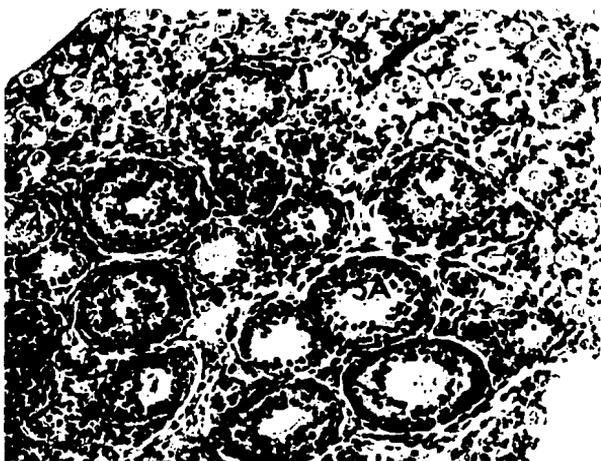


Fig. 35.- Ovario de 37 días de edad. Se observan folículos de tipo 3a, 3b, 4 y 5a inmersos en el tejido intersticial(TI)(Tec. H.E.250X).

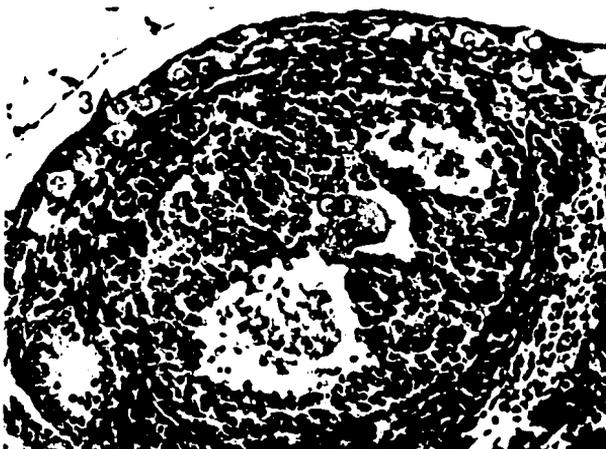


Fig. 36.- Ovario de 45 días de edad. Notese el folículo atrésico con células de la granulosa en picnosis (P) así como una pérdida en el arreglo de ésta se aprecian también la teca interna y el ovocito en degeneración (OD). Existen folículos de tipo 3a en la región cortical (Tec. H.E.250 X).

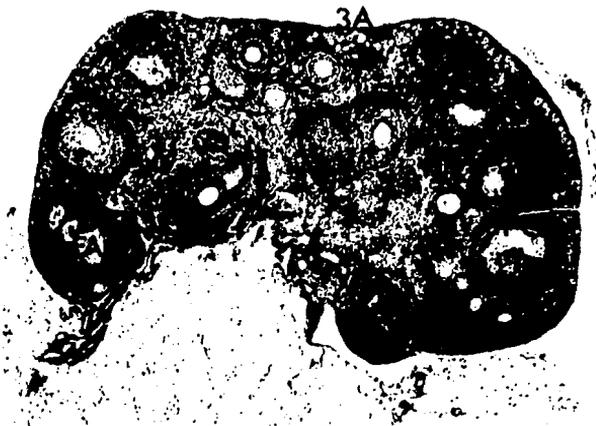


Fig. 37.- Panorámica de un ovario a los 45 días de edad. Se observan folículos en crecimiento (FC), algunos de ellos con atresia (FA). A los largo de la región cortical se localizan grupos de folículos 3a. Se ve la médula y el mesovario asociado a tejido adiposo (Tec. H.E.40 X).

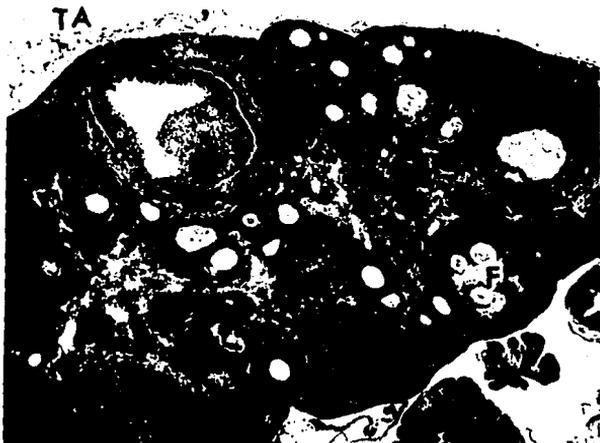


Fig. 38.- Ovario de 49 días de edad. Muestra un crecimiento folicular notable con algunos folículos poliovulares (FP) y otros en proceso de atresia (FA). Alrededor del ovario se aprecia tejido adiposo (TA) y porciones iniciales del oviducto (Tec. H.E.100 X).



Fig. 39.- Ovario de 49 días de edad que muestra un folículo de tipo 8 con un cumulus ophorus (CO) y antro folicular (AF) bien desarrollados la capa granulosa (CG) está constituida por varios estratos celulares y la teca interna (TI) y externa (TE) están bien definidas. La médula del ovario presenta vasos sanguíneos (C) y tejido conectivo laxo (TC) (Tec. H.E.100 X).



Fig. 40.- Ovario de 50 días de edad. Se muestra un cuerpo luteo (CL) y folículos en distintas etapas de crecimiento, algunos de ellos en atresia (FA), en la corteza se localizan folículos primarios (3a) (Tec. H.E.100 X).



Fig. 41.- Ovario de 60 días de edad. Se aprecia un cuerpo luteo (CL) en estadio temprano de diferenciación, el cual comienza a vascularizarse, existen eritrocitos (E) extravasados en lo que constituía el antro folicular (AF) (Tec. H.E.250 X).

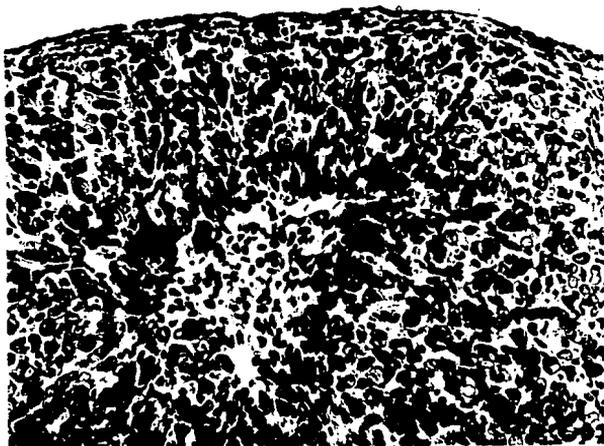


Fig. 42.- Ovario de 60 días de edad. Presenta cuerpo luteo con células luteas (L) bien diferenciadas con núcleo grande y citoplasma vacuolado (Tec. H.E.250 X).

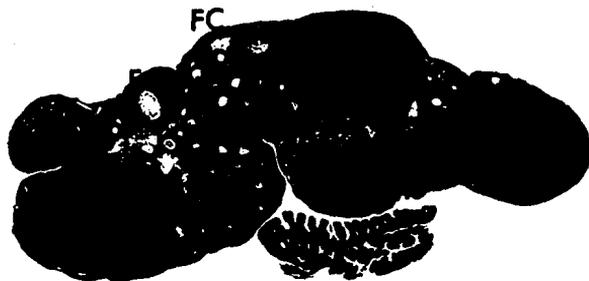


Fig. 43.- Panorámica de un ovario de 70 días de edad. Muestra cinco cuerpos luteos (CL) y folículos en crecimiento (FC) (Tec. H.E. 40X).

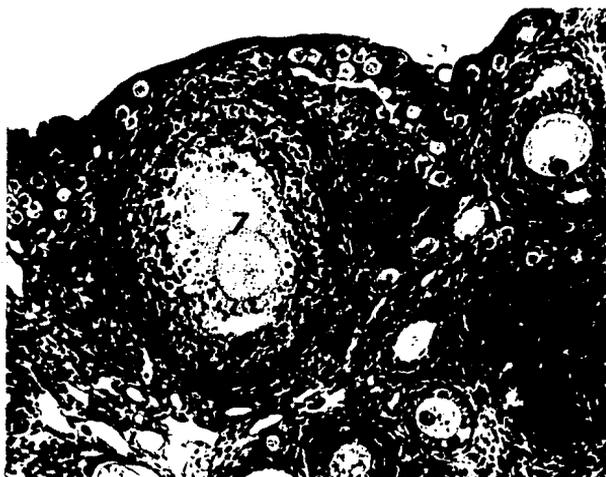


Fig. 44.- Ovario de 70 días de edad. Se observa un folículo tipo 7 atrésico y folículos en crecimiento (FC) de varios tipos (Tec. H.E. 250 X).

MACHOS		HEMBRAS	
edad (días)	peso promedio (grs.)	edad (días)	peso promedio (grs.)
14	10.55	14	10.60
35	35.55	35	19.65
50	26.75	50	30.85
60	34.65	60	59.60
74	39.70	70	48.20
82	38.50	80	42.55
90	52.20	90	58.55
100	40.15	100	42.75

Relación entre la edad y el peso corporal promedio de los machos y las hembras de la primera fase experimental. Notese como conforme se incrementa la edad el peso corporal promedio aumenta.

CUADRO 4

edad (días)	peso (grs.)	diámetro testicular promedio		diámetro tubular promedio (μ)
		mayor (μ)	menor (μ)	
37	27.37	610.21	332.21	53.40
42	36.43	784.64	433.55	64.02
49	31.63	917.25	470.63	74.59
54	34.90	835.00	400.50	78.83

Relación entre los promedios del peso corporal, el diámetro mayor y menos del testículo y el diámetro tubular en cada una de las edades estudiadas en la segunda fase experimental.

CUADRO 5

edad (días)	número de casos	media (μ)	desviación standar	límite	
				inferior	superior
37	19	332.21	23.26	320.99	343.42
42	22	433.55	72.62	401.35	465.74
49	16	470.63	50.20	443.88	497.37
54	8	400.50	13.13	389.52	411.4

Se muestra el número de casos de los machos de la segunda etapa experimental, la media del diámetro menor del testículo, su desviación standar así como los límites inferior y superior. El análisis de varianza que se aplicó mostró que existen diferencias significativas en el diámetro menor del testículo en todas las edades. ($\alpha = 0.05$)

CUADRO 6

edad (días)	número de casos	media (μ)	desviación standar	límite	
				inferior	superior
37	19	610.21	55.02	583.69	636.72
42	22	784.74	168.60	709.88	859.39
49	16	917.25	226.78	796.40	1038.09
54	8	835.00	86.04	760.56	909.43

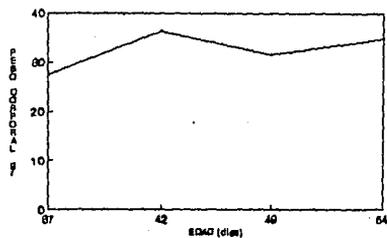
Número de casos, media, desviación standar y límites inferior y superior del diámetro mayor del testículo. El análisis de varianza aplicado mostró que existen diferencias significativas en el diámetro mayor en todas las edades. ($\alpha = 0.05$)

CUADRO 7

grupo	edad (días)	# casos	media (μ)	desviación standar	valores de F	valores de T	grados lib.
1	37	29	57.18	3.865	3.69	-5.87	77
	42	50	64.64	7.427			
2	37	29	57.18	3.865	11.9	-8.45	56
	49	29	79.03	13.384			
3	37	29	57.18	3.865	9.72	-9.25	58
	54	31	78.27	12.053			
4	42	50	64.64	7.427	3.25	-5.33	77
	49	29	79.03	13.384			
5	42	50	64.64	7.427	2.63	-5.66	79
	54	31	78.27	12.053			
6	49	29	79.03	13.384	1.23	0.23	58
	54	31	78.27	12.053			

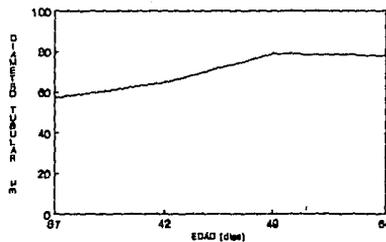
Grupos de todas las posibles comparaciones de los diámetros tubulares con respecto a la edad. Basado en la Prueba T (igualdad de medias) calculada de acuerdo a los valores arrojados por la Prueba F (igualdad de varianzas) y con el nivel de significancia del 0.05 se obtuvieron diferencias significativas para pruebas de dos colas los primeros cinco grupos; el grupo 6 fué el único en el que no se presentó una diferencia significativa.

GRAFICA 1
RELACION DE EDAD Y PESO CORPORAL
PROMEDIO



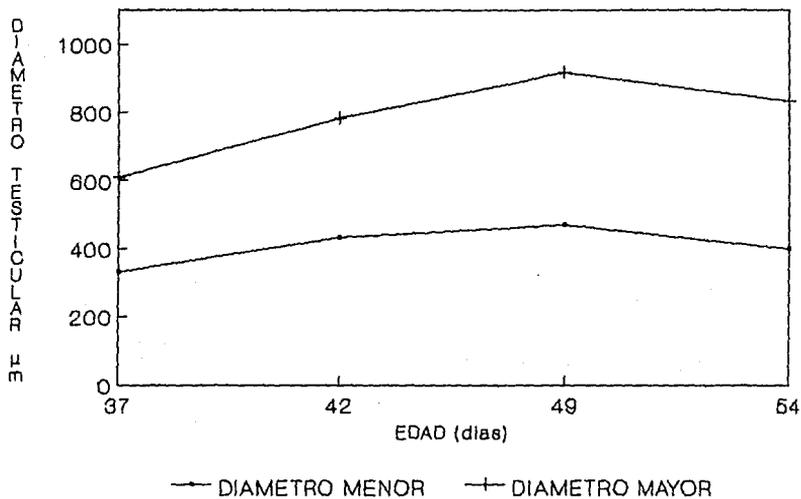
Los promedios son en base a 8 individuos

GRAFICA 2
RELACION ENTRE EDAD Y DIAMETRO TUBULAR
PROMEDIO

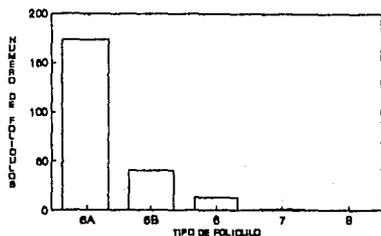


El promedio es en base a 8 individuos

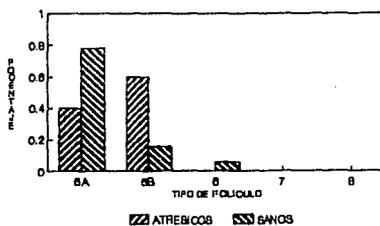
GRAFICA 3
RELACION DIAMETRO MAYOR /DM. MENOR



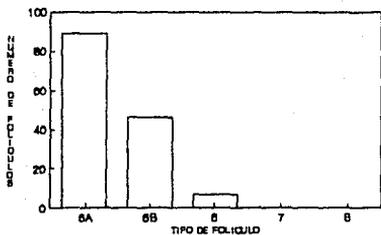
GRAFICA 4
RELACION ENTRE EL NUMERO TOTAL DE
FOLICULOS A LOS 87 DIAS DE EDAD.



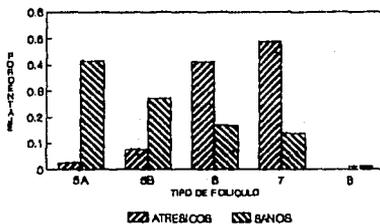
GRAFICA 5
PORCENTAJE DE FOLICULOS SANOS Y
ATREVICOS A LOS 87 DIAS DE EDAD.



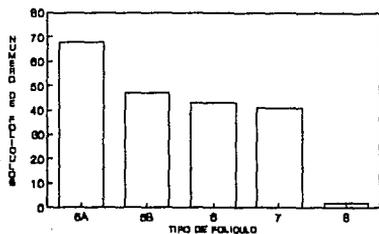
GRAFICA 6
RELACION ENTRE EL NUMERO TOTAL DE
FOLICULOS A LOS 41 DIAS DE EDAD.



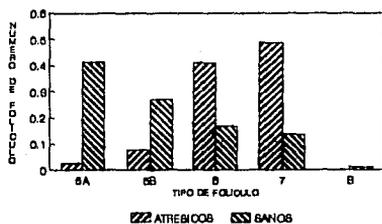
GRAFICA 7
PORCENTAJE DE FOLICULOS SANOS Y
ATREVICOS A LOS 41 DIAS DE EDAD.



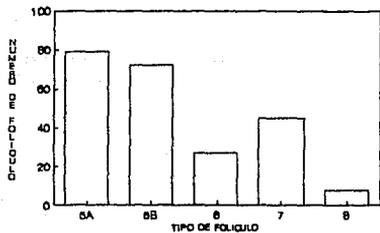
GRAFICA 8
RELACION ENTRE EL NUMERO TOTAL DE
FOLICULOS A LOS 48 DIAS DE EDAD.



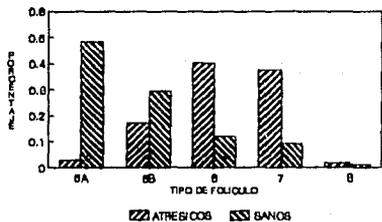
GRAFICA 9
PORCENTAJE DE FOLICULOS SANOS Y
ATRESICOS A LOS 48 DIAS DE EDAD.



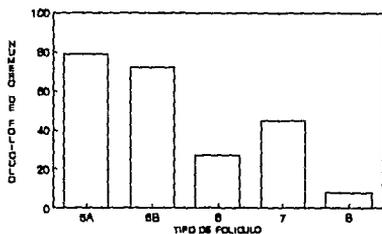
GRAFICA 10
RELACION ENTRE EL NUMERO TOTAL DE
FOLICULOS A LOS 48 DIAS DE EDAD.



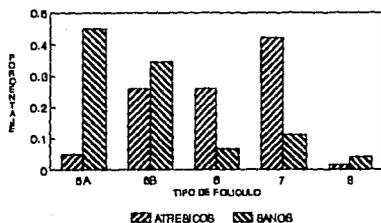
GRAFICA 11
PORCENTAJE DE FOLICULOS SANOS Y
ATRESICOS A LOS 48 DIAS DE EDAD.



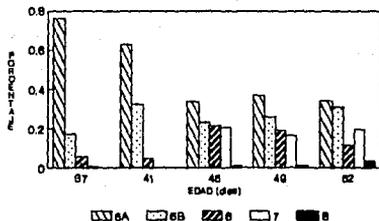
GRAFICA 12
RELACION ENTRE EL NUMERO TOTAL DE
FOLICULOS A LOS 82 DIAS DE EDAD.



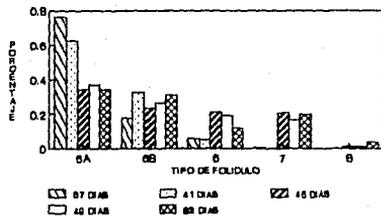
GRAFICA 13
PORCENTAJE DE FOLICULOS SANOS Y
ATRESICOS A LOS 82 DIAS DE EDAD.



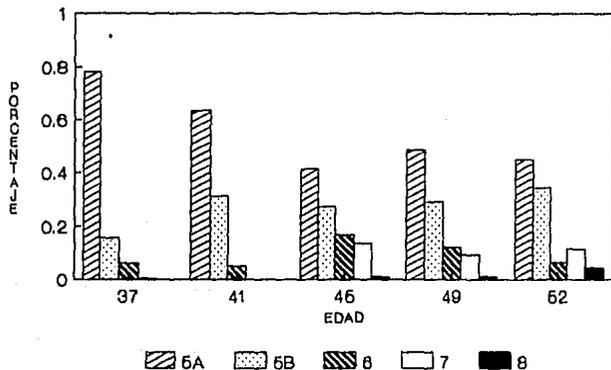
GRAFICA 14
RELACION PORCENTUAL DEL TOTAL DE
CADA TIPO DE FOLICULO EN CADA EDAD



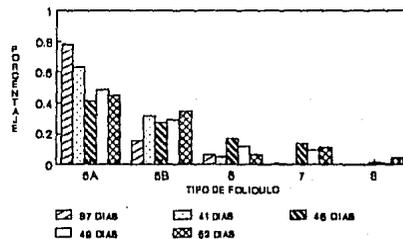
GRAFICA 15
RELACION PORCENTUAL DE LOS TIPOS
DE FOLICULO SEGUN LA EDAD



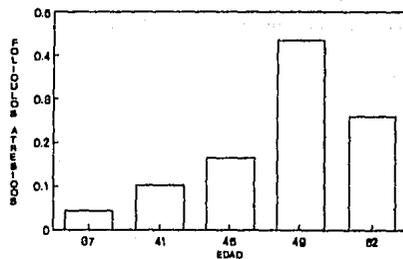
GRAFICA 16
RELACION EDAD Y FOLICULOS SANOS
DE CADA TIPO



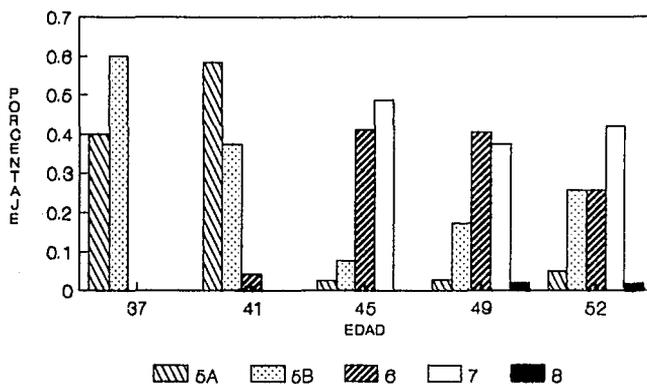
GRAFICA 17
RELACION PORCENTUAL DE LOS TIPOS
DE FOLICULOS SANOS Y LA EDAD.



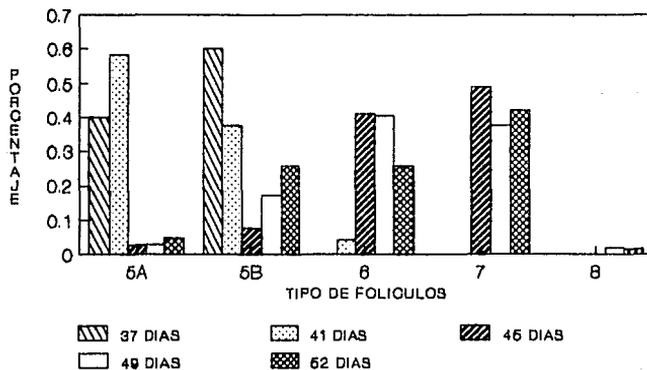
GRAFICA 18
RELACION EDAD Y PORCENTAJE
DE ATRESIA



GRAFICA 19
RELACION ENTRE LA EDAD Y EL PORCENTAJE
DE ATRESIA EN CADA TIPO FOLICULAR.



GRAFICA 20
RELACION PORCENTUAL DE LOS TIPOS DE
FOLICULOS ATRESICOS Y LA EDAD.



5.- Bibliografía.

- Arai, H. (1920) On the postnatal development of ovary (albino rat) with especial reference to number of ova. *Am. J. Anat.* 27" 405-462.
- Ascoli, M.P., and D. Puelt (1977) Intracellular uptake and catabolism of lutropin by testicular tissue in vitro. *FEBS Lett* 75" 77-82.
- Asdell, S.A. (1964) Patterns of mammals reproduction. New York: Comstock Publishing Associates, p. 670.
- Austin, C.R., and R.N. Short (1982) Procesos de Reproduccion en mamiferos. *Celulas germinales y Fertilizacion*. Mexico: La Prensa Medica Mexicana, p. 141.
- Bearden, H.J., and J.W. Fuquay (1982) Reproduccion Animal Aplicada. Mexico: El Manual Moderno, p. 358.
- Beltran, D.M. (1986) Estudio histológico del testículo, epidídimo y conducto deferente en Neotomodon alstoni alstoni. México: Tesis Licenciatura UNAM.
- Bjersing, L. (1978) Maturation, morphology and endocrine function of follicular wall in mammals. In R.J. Jones (ed): *The Vertebrate Ovary*. New York: Plenum Press, p. 853.
- Bogdanove, E.M. (1972) Hypothalamic-hipophysial interrelationships: basic aspects. In H. Balin and S. Glasser (eds): *Biology Reproductive*. Amsterdam: Excerpta Medica Amsterdam, p. 973.

- Bronson, F.H., and E.F. Rissman (1986) The Biology of Puberty. Biol. Rev. 61" 157-195.
- Bronson, H.F., P.C. Dagg, and D.G. Snell (1966) Reproduction. In E.L. Green (ed): Biology of Laboratory Mouse. New York: Mc. Graw-Hill Book, p. 376.
- Burger, H. (1988) Inhibin. Definition and nomenclature, including related substances. Endocrinology 122" 1701-1702.
- Byskov, A.G.S. (1974) Cell kinetic studies of follicular atresia in the mouse ovary. J. Reprod. Fert. 37" 277-285.
- Byskov, A.G.S. (1978) Follicular atresia. In R.E. Jones (ed): The Vertebrate Ovary. New York: Plenum Press, p. 853.
- Castro, A.E., A.C. Seiquer, and R.E. Mancini (1970) Electron microscopic study of the localization of labelled gonadotropins in the Sertoli and Leydig cells of the rat testis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 133" 582-586.
- Chappel, S.C., A. Ulloa-Aguirre, and J.A. Romaley (1983) Sexual maturation in female rats: time-related changes in the isoelectric focusing pattern of anterior pituitary follicle-stimulating hormone. Biology of Reproduction 28" 196-205.
- Chipman, J. (1980) Pubertal control mechanisms as from human studies. Federation Proc. 39" 2391-2394.
- Clegg, E.J. (1966) Pubertal growth in the Leydig cells and accessory reproductive organs. J. Anat. 100" 369-379.

- Clermont, Y., and B. Perey (1957) Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. *Am. J. Anat.* 100" 241-260.
- Cormack, D.H. (1987) *Histologia de Ham. Mexico*: 892, p. 892.
- Courot, M., M.T. Hochereau-deReviere, and R. Ortavant (1970) Spermatogenesis in the testis. In A.D. Jonson, W.R. Gomes, and N.L. Vandermark (eds): *The Testis. Development Anatomy and Physiology*. New York: Academic Press, p. 684.
- deKretser, D.M., H.G. Buerger, and W.J. Bremner (1983) Control of FSH and LH secretion. In D.M. deKretser, H.G. Burger, and B. Hudson (eds): *The pituitary and testis*. New York: Springer Verlag, p. 186.
- Döhler, K.D., and W. Wuttke (1975) Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocrinology* 97" 898-907.
- Donovan, B.T., and J. van der Werf ten Bosch (1965) *Physiology of Puberty*. Baltimore: Williams and Wikins Co..
- Ekwall, H., A. Janson, P. Sjoberg, and L. Ploen (1984) Differentiation of the rat testis between 20 and 120 days of age. *Arch. of Andrology* 13" 27-36.
- Erickson, G.F., D.A. Magoffin, C.A. Dyer, and C. Hofeditz (1985) The ovarian androgen producing cells: A review of structure/function relationships. *Endocrine Review* 6" 371-.

- Estrada, L.E. (1978) Estudio sobre la reproducción del ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni) silvestre y nacido en el laboratorio. : Tesis Profesional U.N.A.M..
- Faulkner, L.C. (1969) Female reproductive system. In L.E. McDonald (ed): Veterinary endocrinology and reproduction. Philadelphia: Lee & Febiger, p. 460.
- Fawcett, D.W. (1975) Ultrastructure and function of the Sertoli cell. In W.D. Hamilton (ed): Handbook of physiology. Sect 7 Endocr. Male Reproduction system. : American Physiological Society, pp. 21-55.
- Fawcett, D.W. (1987) Tratado de Histología. España: Interamericana Mc Graw-Hill, p. 1026.
- Geneser, F. (1984) Histología. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, p. 740.
- Granados, H. (1976) Estudios sobre la biología del ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni Merriam 1898) I. Observaciones introductorias XIX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Durango, Dgo. :, p. Resúmenes p. 91.
- Granados, H., and J. Ramirez (1986) Estudios sobre la biología del ratón de los volcanes (N. a. alstoni) IX. Crecimiento de animales silvestres en el laboratorio. Arch. Invest. Med. (Mex.) 17" 285-297.

- Griff, T.R., and R.L. Vande-Wiele (1974) The Ovaries. In H.R. Williams (ed): Textbook of Endocrinology. Philadelphia: W. B. Saunders Company, p. 1138.
- Hafez, E.S.E., and S. Makabe (1979) Scanning electron microscopy of ovulation. In E.S.E. Hafez (ed): Human Ovulation. Netherlands: Holland Biomedical Press, p. 546.
- Harrison, L.J., and B.J. Weir (1977) Structure of the mammalian ovary. In P.L. Zuckerman and B.J. Weir (eds): The Ovary. London: Academic Press, p. 517.
- Hirshfield, A.N., and A.R.J.r. Midgley (1978a) Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology of reproduction* 19" 597-605.
- Hirshfield, A.N., and A.R.J.r. Midgley (1978b) The role of FSH in selection of large ovarian follicles in the rat. *Biology of Reproduction* 19" 606-611.
- Hodgson, Y., and B. Hudson (1983) Leydig cell function. In D. M. deKretser, H.G. Burger, and B. Hudson (eds): The Pituitary and Testis. New York: Springer-Verlag, p. 183.
- Huckins, C. (1971) The Spermatogonial Stem Cell population in adult rats I. Their morphology, proliferation and maturation. *Anat. Rec.* 169" 533-558.
- Huckins, C. (1978) The morphology and kinetics of spermatogonial degeneration in normal adult rats: An analysis using a simplified classification of germinal

- epithelium. Anat. Rec. 190" 905-920.
- Hummel, K.P., F.L. Richardson, and E. Fekete (1966) Anatomy. In E.L. Green (ed): Biology of Laboratory Mouse. New York: Mc Graw-Hill Book Co., p. 373.
- Jones, E.C., and P.L. Krohn (1961) The relationships between age, numbers of oocytes and fertility in the virgin and multiparous mice. J. Endocrinol. 21" 469-495.
- Junqueira, L.C., and J. Carneiro (1987) Histología Basica. Mexico: Salvat, p. 544.
- Kalra, P.S., and S.P. Kalra (1986) Steroidal modulation of regulatory neuropeptides: luteinizing hormone releasing hormone, neuropeptide Y and endogenous opioid peptides. J. steroid biochem. 25" 733-740.
- Kent, A.H. (1960) Polyovular follicles and multinucleate ova in the ovaries of young mice. Anat. Record 137" 521-524.
- Keyes, P.L., and M.C. Wiltbank (1988) Endocrine regulation of the corpus luteum. Ann. Rev. Physiol. 50" 465-482.
- Knobil, E. (1983) Control of ovulation in the Rhesus Macaque. In N.L. Reid (ed): Neuroendocrine aspects of reproduction. USA: Academic Press, p. 430.
- Knorr, D.W., T. Vanha-Perttula, and M.B. Lipsetl (1970) Structure and function of rat testis through pubescence. Endocrinology 86" 1298-1304.

- Layne, J.N. (1968) Ontogeny. In J.A. King (ed): Biology of Peromyscus (Rodentia). USA: Spec. Publ. Amer. Soc. Mamm., p. 593.
- Leblond, C.P., and Y. Clermont (1952) Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin sulfuric acid technique. Am. J. Anat. 90" 167-215.
- Lostron, A.J. (1976) Hormonal control of spermatogenesis. In C.H. Spilman (ed): Regulatory mechanisms of male reproductive physiology. Netherlands: Excerpta Medica Amsterdam, p. 217.
- Lunenfeld, B., Z. Kraiem, and A. Eshkol (1975) The function of growing follicle. J. Reprod. Fert. 45" 567-574.
- Mandl, A.M., and S. Zuckerman (1952) Cyclical changes in the number of medium and large follicles in the adult rat ovary. J. Endocrinol. 8" 341-346.
- Martin, F.E., and S.T. Alvarez (1982) Crecimiento y desarrollo en el laboratorio de Neotomodon alstoni (Rodentia: Cricetidae). An. Esc. nac. Cienc. biol. 26" 55-84.
- Morgan, H.E. (1982) Control hormonal de la función testicular. In R.J. Brobek and C.H. Rorer (eds): Bases fisiológicas de la practica medica. México: Ed. Medica Panamericana, p. 1560.

- Mossman, H.W. (1966) The rodent ovary. In I.W. Rowlands and B. J. Weir (eds): Comparative of reproduction in mammals. London: Academic Press, p. 482.
- Mossman, H.W., and K.L. Ducke (1973) Comparative morphology of mammalian ovary. USA: University Wisconsin Press Madis, p. 461.
- Motta, P.M., and J. vanBlerkom (1979) Structure and Ultrastructure of ovarian follicles. In E.S.E. Hafez and S. Makabe (eds): Human Ovulation. Netherlands: Biomedical Press, p. 546.
- Naftolin, F., K.J. Ryan, and Z. Petro (1971a) Aromatization of androstenedione by the diencephalon. J. Clin. Endocrinol. Metab. 33: 368-370.
- Naftolin, F., K.J. Ryan, and Z. Petro (1971b) Aromatization of androstenedione by limbic system tissue from human fetuses. J. Endocrinology 51: 795-796.
- Nakano, R., T. Mizuno, K. Katayama, and S. Tojo (1975) Growth of ovarian of follicles in rats in absence of gonadotrophins. J. Reprod. Fert. 45: 545-546.
- Odell, W.D., and R.S. Swerdloff (1976) Etiologies of sexual maturation: A model system based on the sexually maturing rat. Recent. Progres. Horm. 32: 245-488.

- Odell, W.D., R.S. Swerdloff, H.S. Jacobs, and M.A. Hescoc
(1973) FSH induction of sensitivity to LH: On cause of
sexual maturation in the male rat. *Endocrinology* 92" 160-
165.
- Ojeda, S.R., L.I. Aguado, and W.S. Smith (1983) Neuroendocrine
mechanisms controlling the onset of female puberty the rat
as a model. *Neuroendocrinology* 37" 30-46.
- Ojeda, S.R., W.W. Andrews, J.P. Advis, and W.S. Smith (1980)
Recent advances in endocrinology of Puberty. *Endocrinology*
1" 228-257.
- Olivera, J. (1986) Reproducción de Peromyscus (Neotomodon)
alstoni (Mammalia: Muridae) en condiciones de laboratorio.
Acta Zool. Mex 16".
- Olivera, L.J.I. (1984) Reproduccion de Neotomodon alstoni
alstoni (Rodentia: Cricetidae) en condiciones de
laboratorio. Mexico: Tesis de Maestria UAM.
- Pedersen, T. (1969) Follicle growth in the immature mouse
ovary. *Acta Endocrinologica* 62" 117-132.
- Pedersen, T. (1970) Follicle kinetics in the ovary of the
cyclic mouse. *Acta Endocrinologica* 64" 304-323.
- Pedersen, T., and H. Peters (1968) Proposal for a
classification of oocytes and follicles in mouse ovary. *J.*
Reprod. Fert. 17" 555-557.

- Peter, H., G. Schneider, and G. Leyendecker (1983) Physiology of Ovarian Cycle. In G.B. Serra (ed): The Ovary. New York: Raven Press.
- Peters, H. (1969) The development of the mouse ovary from birth to maturity. *Acta Endocrinologica* 62" 98-116.
- Peters, H., A.G. Byskov, R. Himelstein-Brow, and M. Faber (1975) Follicular growth: The basic event in the mouse and human ovary. *J. Reprod. Fert.* 45" 559-566.
- Reiter, E.O. (1982) Neuroendocrine control mechanisms and onset of puberty. *Ann. Rev. Physiol.* 44" 595-613.
- Revilla, R., and R. Dominguez-Casala (1984) Testicular changes in the rat by prepuberal administration of a synthetic antiandrogen. *Archives of Andrology* 13" 59-62.
- Richards, J.S. (1978) Control of follicular growth and maturation. In J.R. Jones (ed): The Vertebrate Ovary. New York: Plenum Press, p. 853.
- Richards, J.S. (1980) Maturation of ovarian follicles: Actions and Interactions of Pituitary and Ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiological Reviews* 60" 51-89.
- Richards, J.S., and A.R.J.r. Midgley (1976) Protein hormone action: A key to understanding ovarian follicular and luteal cell development. *Biology of Reproduction* 14" 82-94.

- Roosen-Runge, E.C. (1962) The process of spermatogenesis in mammals. Biol. Rev. 37" 343-377.
- Russell, L.D., L.E. Alger, and L.G. Nequin (1987) Hormonal control of pubertal spermatogenesis. Endocrinology 120" 1615-1632.
- Sandler, R.M.F.S. (1969) The ecology of reproduction in Wild and domestic mammals. London: Methuen and Co. L. T. D., p. 321.
- Snell, D.G. (1941) Reproduction. In D.G. Snell (ed): Biology of the laboratory mouse. New York: Dover Publications Inc, p. 497.
- Steinberger, E. (1974) Maturation of male germinal epithelium. In M.M. Grumbach, G.D. Grave, and F.E. Mayer (eds): Control onset of Puberty. New York: John Wiley and Sons, p. 484.
- Steinberger, E., and A. Steinberger (1975) Spermatogenic function of testis. In R.O. Greep, E.B. Astwood, D.W. Hamilton, and S.R. Geiger (eds): Handbook of physiology. Sect 7. Endocr. Male Reproductive system. : American Physiological Society, pp. 1-19.
- Villa, B. (1952) Mamíferos silvestres del Valle de México. An. Inst. de Biol. Univ. Nal. Auton. Mex. 23" 269-492.

Weir, B.J., and I.W. Rowlands (1977) Ovulation and atresia.

In P.L. Zuckerman and B.J. Wier (eds): The Ovary. London: Academic Press, p. 517.

Williams, S.L., P. Ramirez, and R. Baker (1985) Mammalian species Peromyscus alstoni. The American society of Mammalogist " 1-4.

Zarco, P.B.L. (1981) Estudio sobre el crecimiento del ratón de los volcanes (Neotomodon alstoni alstoni) nacidos en el laboratorio (F1 y F2). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. :, p. 107.

Zuckerman, S. (1951) The number of oocytes in the mature ovary. Recent Prog. Horm. Res. 6" 63-109.