

20322

155



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto de la administración temprana de gonadotropina coriónica humana en ratas con criptorquidia experimental

T E S I S

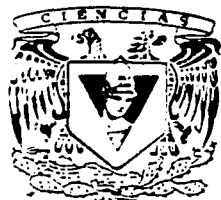
PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO

PRESENTA

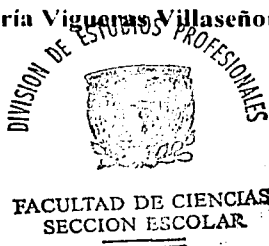
VALERIA QUINTANAR JURADO

Director de Tesis:

M en C. Rosa María Viguera Villaseñor



MÉXICO, D.F.



2003

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

... General de Bibliotecas no lo
... en formato electrónico e impreso el
... de mi trabajo recepcional.

INE: Quintanas
Jurado Valeria
02/05/03
Meléndez

DRA. MARÍA DE LOURDES ESTEVA PERALTA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo escrito: "Efecto de la administración temprana de gonadotropina coriónica humana en ratas con criptorquidia experimental."

realizado por Quintanar Jurado Valeria

con número de cuenta 9134756-5 , quién cubrió los créditos de la carrera de Biología

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis
Propietario

M. en C. Rosa María Viguera Villaseñor.

Propietario

Dra. Norma Angélica Moreno Mendoza.

Propietario

M. en C. Julio Cesar Rojas Castañeda

Suplente

Dra. María Elena Calderón Segura.

Suplente

M. en C. Marco Antonio Martínez Avila.

Consejo Departamental de

M. en C. Juan Manuel Rodríguez Chávez.

FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

B

Agradecimientos

A la Directora de Investigación: Dra. Alexandra Carnevale Canton y a la Subdirectora de Medicina Experimental: Dra. Sara Frías Vázquez, de la torre de Investigación "Dr. Joaquín Cravioto" del Instituto Nacional de Pediatría en donde se realizó este trabajo.

A la M en C Rosa María Viguera Villaseñor: Jefa del Laboratorio de Histomorfología y directora de esta tesis; por las facilidades prestadas para realizar este trabajo, pero principalmente por brindarme su confianza.

A los miembros del Jurado: Dra. Norma Angélica Moreno Mendoza, Dra. María Elena Calderón Segura, M en C Julio Cesar Rojas Castañeda y M en C Marco Antonio Martínez Ávila por sus sugerencias y comentarios.

Con mucho cariño a mis compañeros de Laboratorio: Andrea Ramos, Gabriela Reyes, Pedro Medina y Edgar Daniel Cervantes, por compartirme sus conocimientos, brindarme su amistad y hacer que cada día de trabajo fuera agradable.

DEDICATORIA

A Dios que me amo y pensó en mi desde siempre.

Con especial reconocimiento a mis padres Luis y Socorro, a quienes agradezco profundamete su paciencia y amor.

A mis hermanos: José Luis, Héctor, Luz María, Salvador y Paola, a quienes agradezco el cariño, apoyo y confianza que siempre me han brindado.

Con cariño a mis cuñadas: Claudia, Angélica y Leticia.

A mis niños: Claudia, Héctor, Abigail, Luis y Julietita.

Con especial cariño a mis abuelos: Manuel, Agustina, Carmen y Vicente.

A mis grandes amigos: Laura, Mirna, Rubén, José y Agustín.

A mi buena amiga Andrea y a mi nueva amiga Eli.

A todos mis profesores a quienes brindo un sincero agradecimiento.

CONTENIDO

RESUMEN	1
1.- ASPECTOS GENERALES	2
1.1. Origen embrionario del testículo.....	3
1.2. Anatomía del testículo.....	4
1.3. Epitelio seminífero.....	7
1.4. Espermatogénesis.....	8
1.5. Ciclo del epitelio seminífero.....	13
1.6. Fisiología.....	17
2.- ANTECEDENTES	22
2.1. Mecanismo de descenso testicular.....	22
2.2. Generalidades de la criptorquidia.....	23
2.3. Etiología.....	24
2.4. Patologías asociadas a la criptorquidia.....	25
2.5. Tratamiento hormonal.....	27
3.- JUSTIFICACIÓN	29
4.- OBJETIVOS	29
5.- HIPÓTESIS	30
6.- MATERIAL Y MÉTODO	30
7.- RESULTADOS	33
8.- DISCUSIÓN	41
9.- CONCLUSIÓN	46
10.- REFERENCIAS	47
11.- APÉNDICE A	58
12.- APÉNDICE B	59

RESUMEN

La criptorquidia o falta de descenso testicular es una patología pediátrica frecuente. Una de las causas más comunes que la generan es la deficiencia en la secreción de andrógenos debido a diferentes factores. Considerando que durante los primeros días de vida postnatal se lleva a cabo el descenso testicular y al mismo tiempo diversos procesos de proliferación y diferenciación de las células testiculares. En este proyecto evaluamos el efecto de la inducción del descenso testicular empleando tempranamente gonadotropina coriónica humana (hCG), en un modelo de criptorquidia experimental en ratas; esperando restablecer la espermatogénesis y la fertilidad. Nuestros resultados mostraron que la administración temprana de hCG induce la espermatogénesis normal comparando con los animales de administración tardía. Sin embargo la tasa de fertilidad en ambos grupos fue nula. Basados en estos resultados llegamos a la conclusión de que el tratamiento con hCG aplicado en una etapa temprana del desarrollo postnatal, a ratas con criptorquidia experimental, puede restaurar el daño del epitelio seminífero y promover la espermatogénesis sin éxito en la fertilidad.

1. ASPECTOS GENERALES DEL TESTÍCULO.

1.1. ORIGEN EMBRIONARIO.

El aparato urinario y el genital están estrechamente relacionados, sobre todo a nivel embrionario ya que ambos se derivan del mesodermo intermedio (Jiménez, 1993).

El sexo del embrión es determinado por tres procesos: en el primero se establece el sexo cromosómico en el momento de la fecundación, en el segundo se presenta la diferenciación de la gónada hacia ovario o testículo y durante el tercero ocurre la diferenciación de los genitales internos y externos como consecuencia de las hormonas involucradas en este proceso de diferenciación sexual. En la rata, la gónada se establece durante el desarrollo embrionario a partir de los 11 días posteriores al coito (dpc).

En los embriones de los mamíferos, las células germinales primordiales (CGP), aparecen en una etapa temprana del desarrollo. En el periodo inicial se sitúan en la pared del saco vitelino cerca del alantoides. Desde ese sitio migran, por movimientos ameboides, siguiendo el mesenterio dorsal del intestino posterior hacia la región de las crestas genitales que son la primera manifestación de las gónadas en forma de un par de eminencias longitudinales. Durante la llegada de las CGP, el epitelio celómico del pliegue gonadal prolifera y las células epiteliales se introducen en el mesenquima subyacente, en el cual forman varios cordones

irregulares, los cordones sexuales primitivos que, poco a poco rodean a las CGP invasoras. Estos cordones están unidos al epitelio de la superficie y en esta etapa del desarrollo es imposible diferenciar entre gónada femenina y masculina, por lo que es denominada gónada indiferenciada (Langman, 1993).

La diferenciación del testículo en los mamíferos se inicia con la expresión del gen Sry (del cromosoma Y) responsable de transformar el tejido somático de la gónada indiferenciada a testículo (Koopman y cols., 1990). Si no se encuentra el gen Sry y sus genes dependientes, o funcionan anormalmente, el camino de desarrollo es automáticamente hacia ovario. La acción del Sry induce la diferenciación de las células de Sertoli que producen la sustancia inhibidora de los conductos de Müller (MIS), que suprime el desarrollo de estos conductos. Las células intersticiales de Leydig se diferencian a partir del tejido mesenquimático y producen testosterona, que masculiniza los conductos de Wolff e inducen el desarrollo del epididimo, conductos deferentes y vesícula seminal (Short, 1998).

Los cordones sexuales se separan del epitelio celómico como consecuencia de la invasión de mesénquima y vasos sanguíneos provocando la compactación de los cordones sexuales, que desde ese momento se denominan cordones testiculares. El traslado de los cordones a la región medular de la gónada es un movimiento morfogénético que implica cambios en la adhesividad de las células epiteliales y un activo depósito de las moléculas que forman la lámina basal (laminina y colágena principalmente). Las células que rodean a los cordones

testiculares se aplanan en forma paralela a la lámina basal. La diferenciación de estas células da lugar a células mioides que, junto con las células epiteliales se encargan de la formación de la membrana basal (Domínguez, 1991).

Los cordones testiculares consisten de células germinales y células de Sertoli. Los cordones son macizos hasta la pubertad, momento en el que dan origen a los tubos seminíferos. Los tubos se unen rápidamente al rete testis y desembocan en los conductos deferentes. Cuando el mesonefros presenta regresión, los tubos excretores situados junto a la gónada desaparecen por completo, los tubos epigenitales preceden los glomérulos y se acortan. Al continuar el desarrollo, estos tubos se ponen en contacto con los conductos del rete testis y forman los conductos eferentes (Langman, 1993).

1.2. ANATOMÍA DEL TESTÍCULO.

En la mayor parte de los mamíferos los testículos se localizan en unas bolsas cutáneas llamadas escrotos (Romer, 1983).

En la rata adulta, el testículo mide aproximadamente 10 mm de largo y pesa 2.3g. Su color es blanco azulado de consistencia firme y elástica y tiene forma de un ovoide aplanado en sentido transversal con dos caras laterales, una externa convexa y una interna casi plana. El testículo está cubierto por la túnica albugínea,

que es una membrana fibrosa de 1mm de grueso que rodea completamente el testículo, la superficie exterior es lisa y la interior emite numerosas trabéculas que se hunden en el tejido y que uniendo sus bordes la dividen en varias cavidades secundarias de forma piramidal. Los tubos seminíferos llenan estas cavidades formando los lóbulos espermáticos que se dividen en grandes, medianos y pequeños. Cada lóbulo está constituido por tres o cuatro tubos seminíferos. Los tubos nacen de la base de los lóbulos formando una red con extremidades libres dispuestas en ciego. Al llegar al vértice del lóbulo, los tubos se reúnen para formar conductos rectos muy cortos que se unen a los conductos de la red testicular los cuales se fusionan para formar los conductos eferentes y se unen a los tubos del epididimo. Estos últimos se forman de los tubos del mesonefros que desembocan en el conducto mesonéfrico. Su porción proximal se convierte en el epidídimo y la porción distal en el conducto deferente (figura 1) (Eliséiev y cols., 1985; Testut, 1992).

Una vez ubicados en el escroto, los testículos quedan contenidos en un sistema de cubiertas concéntricas que se designan como bolsas. Las bolsas se componen de 6 túnicas, regularmente superpuestas que se describen a continuación (algunas se muestran en la figura 1):

- Escroto: es la piel delgada, de color oscuro, extensible y elástica, formando numerosos pliegues transversales. Presenta pelos largos y rígidos, glándulas sudoríparas y glándulas sebáceas muy numerosas y desarrolladas.

- **Dartos:** es una hoja delgada, de color rojizo, formada por fibras musculares lisas, aplicada a la cara interna del escroto y adherida íntimamente a la misma. Existe un saco dartoico para cada testículo.
- **Túnica celulosa:** se encuentra encima del dartos, representa el tejido celular subcutáneo y la aponeurosis superficial de la pared abdominal.
- **Túnica eritroides:** túnica muscular formada por la expansión de músculo cremaster.
- **Túnica fibrosa:** reviste la forma de un surco que envuelve a la vez el cordón y el testículo. Es delgada a nivel del cordón y se hace más gruesa a medida que desciende.
- **Túnica vaginal:** es una porción del peritoneo que al descender el testículo arrastra a las bolsas (Testut, 1992).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

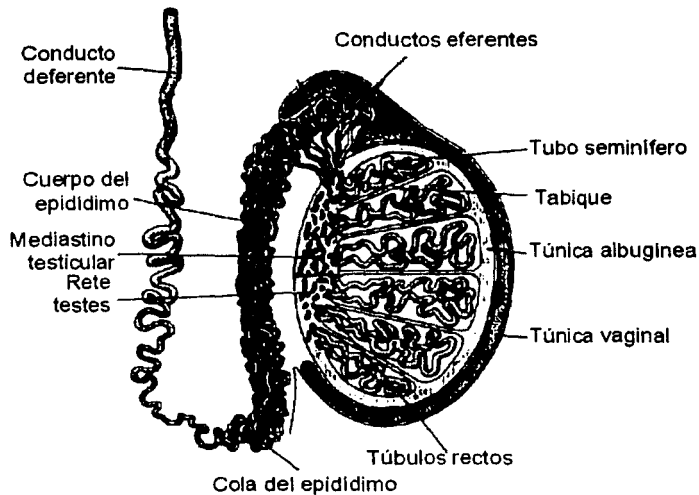


Figura 1. Esquema de un testículo maduro cortado longitudinalmente, en el que se pueden apreciar las diferentes estructuras que lo conforman (Tomado de Alvarez, 1988).

1.3. EPITELIO SEMINÍFERO.

Las prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli envuelven a las espermatogonias y forman la barrera hematotesticular, la cual está constituida por uniones estrechas entre las células de Sertoli. Estos complejos dividen al epitelio en dos compartimentos, el basal y el adluminal (figura 2). El primero contiene a las espermatogonias y espermatocitos primarios, el segundo contiene a los espermatocitos más avanzados y espermatidas en diferenciación (William, 1986).

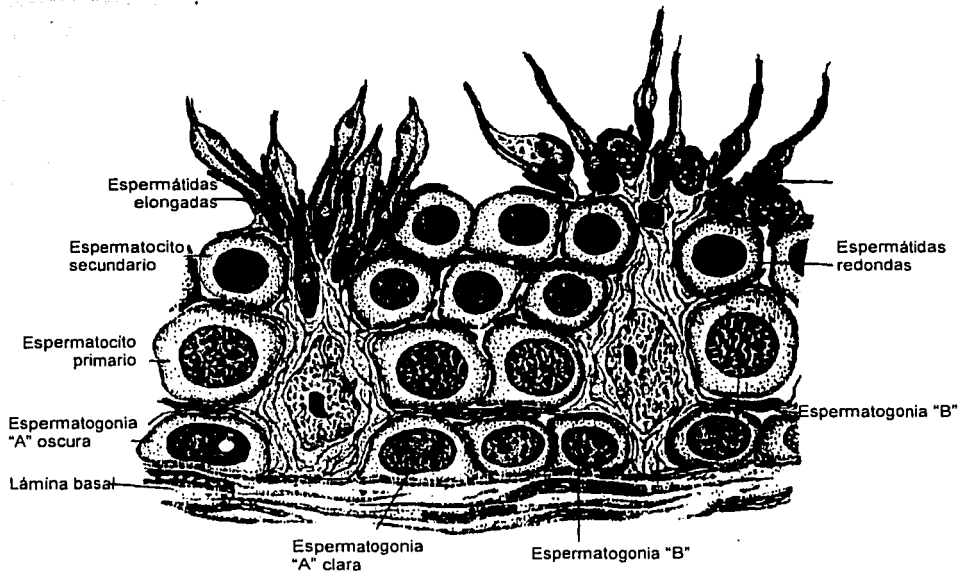


Figura 2. Imagen esquemática del epitelio seminífero, mostrando los diferentes tipos celulares que lo conforman así como su arreglo histológico (Tomado de Lesson, 1990).

1.4. ESPERMATOGÉNESIS.

La espermatogénesis, es el proceso por el cual las espermatogonias se dividen y se diferencian a espermatozoides. Este proceso implica una serie de cambios nucleares y citoplasmáticos que dan por resultado células haploides altamente móviles (figura 3). Los tubos seminíferos son responsables de la producción de los gametos masculinos, en tanto que el epidídimo ayuda a su maduración.

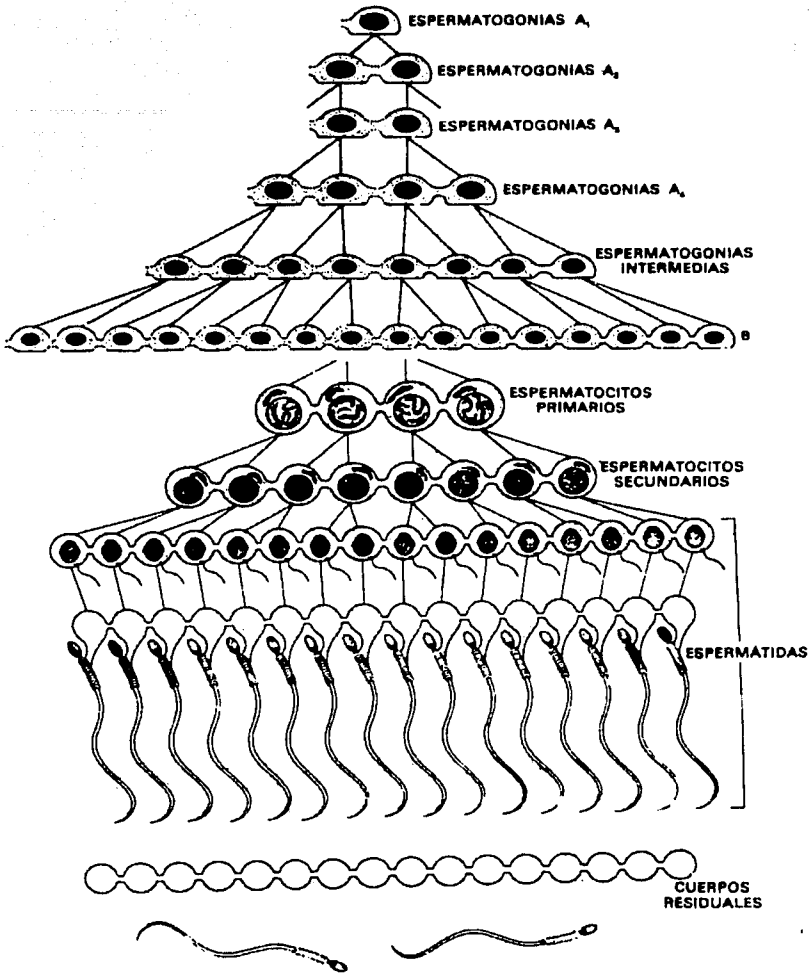


Figura 3. Esta figura muestra el proceso de la espermatogénesis en el cual las espermatogonias se dividen y se diferencian a espermatozoides (Tomado de Ross y Romrell, 1998).

La espermatogénesis se divide en tres fases: espermatogónica, espermatocítica y la fase de espermiogénesis (figura 4). En la **fase espermatogónica** las células se dividen para formar una célula precursora de reemplazo y para proporcionar una población de espermatogonias que se habrán de diferenciar a espermatozoides. Existen espermatogonias: tipo A, oscuras, tipo A, claras y tipo B intermedias. Se cree que las de tipo A oscuras, son las precursoras que se dividen con intervalos regulares para dar origen a un par de espermatogonias tipo A claras. Estas llevan a cabo varias divisiones mitóticas sucesivas, con lo cual se incrementa su cantidad y quedan conectadas en su citoplasma de manera similar a un collar. Estas conexiones son necesarias para su desarrollo sincrónico; posteriormente las espermatogonias tipo A se diferencian a tipo B y pasan a la siguiente fase.

Durante la **fase espermatocítica** las espermatogonias tipo B por medio de mitosis producen espermatocitos primarios que después de su formación replican su DNA siendo diploides antes de iniciar la meiosis. Las células provenientes de la primera división meiótica se diferencian como espermatocitos secundarios, las cuales ingresan de inmediato a la profase de la segunda división meiotica sin replicar el DNA, por lo tanto al completarse la segunda división meiotica se forman dos espermátidas haploides de cada espermatocito secundario (Leblond y Clermont, 1952). La **espermiogénesis** es el proceso mediante el cual las espermátidas experimentan cambios morfológicos necesarios para transformarse

en espermatozoides; cada espermátida pasa por cuatro fases: Golgi, casquete, acrosómica y la fase de maduración (figura 4).

En la primera fase los complejos de Golgi comienzan a acumular gránulos proacrosómicos ricos en glucoproteínas que coalescen para formar la vesícula acrosómica delimitada por una membrana. La vesícula aumenta de tamaño y se localiza en el polo anterior de la espermátida, pegada a la membrana nuclear. En esta fase los centríolos migran desde la región yuxtannuclear hacia el polo posterior de la espermátida. El centríolo distal se ubica en un ángulo recto con la membrana plasmática e inicia la síntesis de nueve dobletes de microtúbulos periféricos y dos centrales, que constituyen el complejo axonémico de la cola del espermatozoide. En la fase de casquete, la vesícula acrosómica es más densa y se extiende hasta cubrir la mitad anterior del núcleo. La porción de la membrana nuclear ubicada por debajo del casquete acrosómico pierde sus poros y se observa más gruesa y densa. Durante la fase acrosómica, las espermátidas se reorientan de manera que la cabeza queda incluida en el intersticio de las células de Sertoli, en dirección a la lámina basal, mientras que el flagelo en desarrollo se extiende hacia la luz del tubo seminífero. El núcleo condensado de la espermátida se aplanar y se alarga, su acrosoma adopta una posición cercana a la membrana plasmática anterior y el citoplasma se desplaza hacia la parte posterior. Los microtúbulos se organizan y forman una vaina llamada manguito, que se extiende desde el borde posterior del acrosoma hacia el polo posterior de la espermátida; el centríolo proximal se fija a una cavidad poco profunda del núcleo, se modifica y forma la región del cuello.

Los centriolos producen nueve fibras gruesas, que se extienden hacia el interior de la cola y constituyen las fibras densas externas periféricas a los microtúbulos del axonema. Conforme la membrana plasmática se dirige hacia la parte posterior para cubrir el flagelo en crecimiento, desaparece el manguito y las mitocondrias migran desde el resto del citoplasma para formar la pieza intermedia de la cola. Durante la fase de maduración se elimina el citoplasma en exceso como cuerpos residuales que son fagocitados por las células de Sertoli. Los puentes intercelulares característicos de los gametos en desarrollo permanecen con los corpúsculos residuales y se observan espermatidas individuales y separadas en la luz del tubo. Este proceso de liberación de las espermatidas es conocido como **espermación** (Lesson, 1990; Ross y Romrell, 1998).

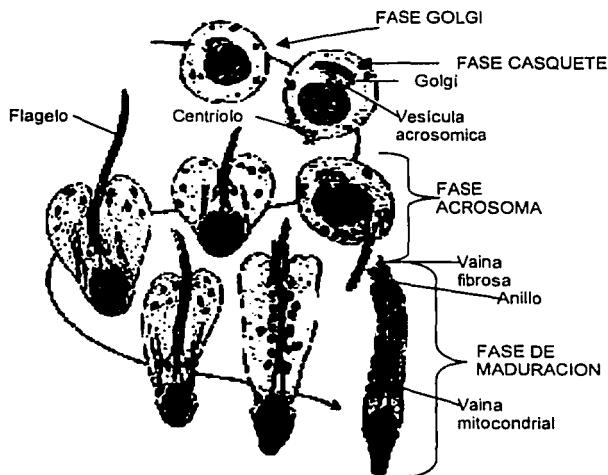


Figura 4. Este esquema ilustra los cambios morfológicos que se presentan en las espermatidas hasta su transformación en espermatozoides y que propiamente es llamado espermiogénesis (Tomado de Gilbert, 2000).

Los espermatozoides recién liberados son transportados desde los túbulos seminíferos con un líquido secretado por las células de Sertoli. El líquido y los espermatozoides fluyen a través de los túbulos seminíferos, en un movimiento facilitado por las contracciones de las células mioideas peritubulares a través de los túbulos rectos e ingresan al rete testis en el mediastino. Una vez en el mediastino se movilizan a través de la porción extratesticular de los conductillos eferentes, la primera parte del sistema de vías espermáticas, hacia la porción proximal del conducto del epidídimo donde adquieren movilidad a medida que lo atraviesan. Por acción peristáltica, continúa el transporte de los espermatozoides, hasta que alcanzan la porción distal del conducto del epidídimo, donde se almacenan antes de la eyaculación (Austin, 1982; Lesson, 1990; Ayala, 1995; Ross y Romrell, 1998).

1.5. CICLO DEL EPITELIO SEMINÍFERO (CES).

El CES se refiere a los cambios en la apariencia citológica de una determinada sección histológica del tubo seminífero. La duración de este ciclo varía según la especie, siendo uno de los más largos el del ser humano, mientras que en la rata dura aproximadamente 13 días y fue descrito por Leblond y Clermont en 1952.

La cinética de la espermatogénesis se caracteriza por tres fenómenos: 1) en cualquier segmento dado del tubo seminífero las espermatogonias tipo A inician una serie de divisiones mitóticas que preceden a la meiosis en intervalos extremadamente regulares; 2) una vez que las espermatogonias tipo A han iniciado el proceso de multiplicación y de diferenciación, cada paso de la espermatogénesis tiene una duración fija y constante; 3) en cualquier área del epitelio seminífero, antes de que finalice la formación de los espermatozoides, varias series nuevas de espermatogonias tipo A inician su desarrollo. Estos tres factores explican la alineación típica de las células germinales a lo largo del epitelio seminífero (Lesson, 1990).

El número de etapas del CES varía según la especie, por ejemplo en el hombre se ha dividido en 6 etapas; en cambio en la rata existen 14 etapas (figura 5). Cada etapa se compone de una asociación celular diferente, y se describen a continuación según lo observado por Leblon y Clermont en 1952:

I) Las espermátidas se encuentran en el estado 15 de la espermiogénesis están alejadas de la membrana basal y se presenta un nuevo grupo de espermátidas en estado 1; se observan espermatoцитos en preleptoteno y algunas espermatogonias tipo A en mitosis.

II) Hay presencia de espermátidas en estado 2, que están separadas por grupos de espermátidas en estado 15 insertadas en el epitelio; predominan las espermatogonias tipo intermedio y se observan algunas espermatogonias tipo A, además de espermatoцитos.

III) Las espermátidas se observan en el estado 3 y están separadas por grupos de espermátidas en estado 16; hay muchas espermatogonias tipo intermedio y pocas tipo A, los espermátocitos se observan de mayor tamaño.

IV) Comienza con la presencia de las espermátidas en estado 4 y 17, la mitosis de las espermatogonias A origina las espermatogonias tipo B, hay pocos cambios en los espermátocitos.

V) Se observan espermátidas en estado 5 separadas por grupos de espermátidas en estado 17; hay gran cantidad de espermatogonias tipo B, y se da un aumento de tamaño de los espermátocitos en paquiteno.

VI) A lo largo de la membrana basal se observan pocas espermatogonias tipo A y muchas tipo B que producen una nueva generación de espermátocitos. Los espermátocitos maduros se encuentran en paquiteno y las espermátidas en estado 6 y 18, las cuales se sitúan entre el lumen y la membrana basal.

VII) Se observan espermátidas en estado 7, pocas espermatogonias tipo A, además de espermátidas en estado 18 pegadas a la luz del tubo.

VIII) Hay espermátidas en estado 8, cerca de la membrana basal. Existen espermátocitos en preleptoteno y paquiteno, y se observan ya espermátocitos alineados en el lumen que completan la eliminación de su citoplasma.

IX) Comienza con la aparición de las espermátidas en estado 9, hay espermatogonias tipo A y los espermátocitos permanecen en preleptoteno. Van desapareciendo los cuerpos residuales y algunos espermátocitos permanecen en el lumen.

X) Hay pocas espermatogonias tipo A ubicadas a lo largo de la membrana basal, espermatoцитos en leptoteno y paquiteno; las espermátidas en estado 10 están separadas por grupos de espermatoцитos primarios en crecimiento.

XI) No hay cambios significativos en las espermatogonias ni espermatoцитos. Pero se caracteriza por que las espermátidas en estado 11 forman grupos entre los espermatoцитos en paquiteno.

XII) Incrementa el número de espermatogonias tipo A asociadas con espermatoцитos en leptoteno, los espermatoцитos en paquiteno pasan a diploteno, y se pueden observar espermátidas en estado 12.

XIII) Hay espermatogonias tipo A que se alternan con espermatoцитos en zigoteno, los espermatoцитos en diploteno inician la diacinesis; existen también grupos de espermátidas en estado 13.

XIV) Presencia de espermatogonias tipo A, a lo largo de la membrana basal, el cambio de los espermatoцитos de zigoteno a paquiteno, y los espermatoцитos primarios dan origen a espermatoцитos secundarios. Hay espermátidas en estado 14.

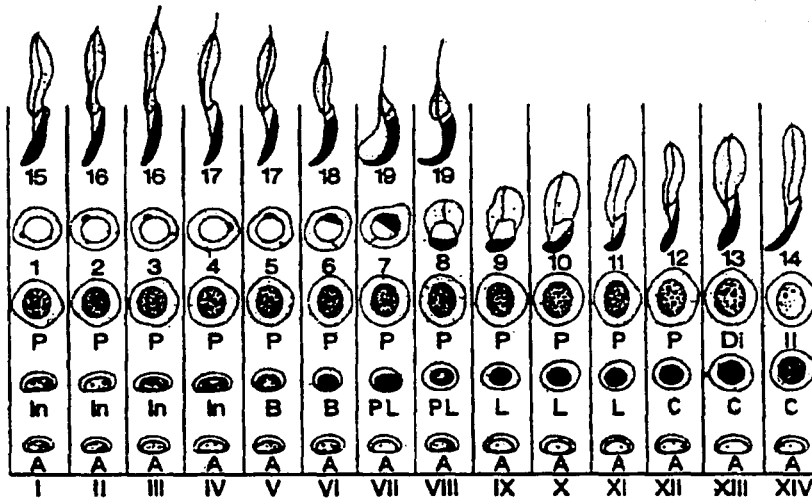


Figura 5. Ciclo del epitelio seminífero de la rata. Se esquematizan las 14 etapas del ciclo, así como los 19 diferentes estados de las espermatidas durante la espermiogénesis (Tomado de Knobil y Neill, 1988).

1.6. FISIOLÓGÍA.

En el macho la función testicular es controlada por hormonas hipofisarias como las gonadotropinas: hormona luteinizante y folículo estimulante, conocidas como LH y FSH por sus siglas en inglés. La LH es esencial para la secreción de la testosterona que se induce minutos después de que esta gonadotropina interacciona con su sitio receptor correspondiente en la membrana plasmática de las células de Leydig. La LH en combinación con la prolactina actúa incrementando la actividad estereoidogénica de las células de Leydig. Además

promueve la existencia de un micro ambiente intratesticular donde prevalece una concentración elevada de testosterona. La actividad de la LH está medida por la activación de la adenilato ciclasa e influenciada por la concentración de calcio libre intracitoplasmático. La FSH se une a los receptores membranales de las células de Sertoli. Estos receptores activan el sistema adenilato ciclasa, regulando diversos procesos celulares como el flujo de iones, metabolismo de nucleótidos cíclicos, síntesis de ácido ribonucleico, síntesis y secreción de esteroides y proteínas y, la división y movilidad celular. Las células de Sertoli son los principales elementos secretores del epitelio seminifero, se han identificado aproximadamente 70 moléculas secretadas por estas células, como: ceruloplasmina, transferrina, glicoproteína B, ABP, inhibina y otras. La interacción de FSH, testosterona y un factor de crecimiento llevan a la producción de inhibina, que reduce la síntesis y secreción de FSH, así como su concentración plasmática (Domínguez ,1991; Hutson y cols, 1997; Velásquez, 1998).

La secreción de la LH y FSH es controlada por el cerebro (figura 6), vía la GnRH (hormona liberadora de las gonadotropinas). Este decapeptido es liberado por neuronas hipotalámicas y su liberación esta influenciada por factores internos y externos que actúan vía sistema nervioso central y es regulado por retroalimentación negativa. Los efectos estimulantes e inhibitorios de los esteroides sexuales sobre la secreción de las gonadotropinas, se llevan a cabo tanto sobre la hipófisis como sobre el hipotálamo. Su acción depende de la duración y la amplitud de la exposición del hipotálamo, lo que modifica la

frecuencia de la liberación pulsátil de GnRH. Los esteroides no solo modulan la secreción de la GnRH, sino también de otros péptidos que están involucrados en la secreción de las gonadotropinas, sea directa o indirectamente por intermedio de la GnRH (Lipshultz y Howards, 1991).

Las hormonas LH y FSH están constituidas por dos subunidades moleculares diferentes, una subunidad α idéntica en ambas hormonas, y una subunidad β diferente que las distingue entre sí. En la rata un pulso de GnRH es emitido cada 30-45 minutos y parece ser suficiente para la activación del gen que transcribe la subunidad β de la LH. En cambio el gen que codifica para la subunidad β de la FSH es activado más eficientemente por un pulso de GnRH emitido cada 90-120 minutos. Por otra parte, un amplio rango de frecuencias en los pulsos de GnRH, o inclusive una liberación continua de esta hormona, estimula la transcripción del gen que codifica para la subunidad α . La traducción específica de las subunidades α y β , la glicosilación post-traducción, el empaquetamiento en vesículas exocitóticas, y la secreción eficiente de moléculas integras de la LH y FSH por las células gonadotropas de la hipófisis, son eventos que deben estar coordinados con el estado reproductivo del individuo (Knobil y Nelly, 1988).

En los niños la producción de gonadotropinas comienza entre los 60-90 días de gestación lo que resulta en la proliferación de las células de Leydig. Estas células responden produciendo testosterona, que se propone induce la

diferenciación de las células germinales. El primer paso es la transformación de células germinales en espermatogonias oscuras que se completa a los 6 meses. Estas espermatogonias representan un grupo de células progenitoras que van a abastecer de espermatogonias durante toda la vida. El segundo paso es el desarrollo de espermatogonias oscuras a espermatocitos primarios alrededor de los 3 años de edad. De este modo los 6 primeros meses de vida postnatal son cruciales para la función normal del testículo en el adulto (Rosansky y Bloom, 1995). En el desarrollo normal del testículo de rata, los gonocitos atraviesan por dos fases de actividad proliferativa, una en la etapa embrionaria y otra entre los 3 y 4 días posparto (dpp). Las células germinales migran del centro a la periferia de los cordones seminíferos y los niveles de testosterona se elevan (Vergouwen y cols, 1991; Li y cols 1997). La diferenciación de células germinales a espermatogonias A y B se lleva a cabo durante los primeros 14 dpp y se detiene en espermatocitos primarios en leptoteno. Posteriormente continúan su diferenciación a espermatocitos secundarios, mientras el testículo sigue descendiendo y pasa gradualmente de una temperatura de 36.8°C a una de 32°C. Por último se produce la primera ola de espermatidas a los 30 dpp (Zhou y cols., 1998).

Es necesario que existan elevadas concentraciones de testosterona en el epitelio seminífero, para que se lleve a cabo la diferenciación de las células germinales. Las concentraciones periféricas menores de testosterona influyen

sobre la diferenciación del SNC, el aparato genital, el sistema de conductos, el desarrollo y mantenimiento de las glándulas sexuales anexas, los procesos anabólicos y metabólicos generales y el comportamiento sexual (Russell y cols., 1987; Ross y Romrell, 1998).

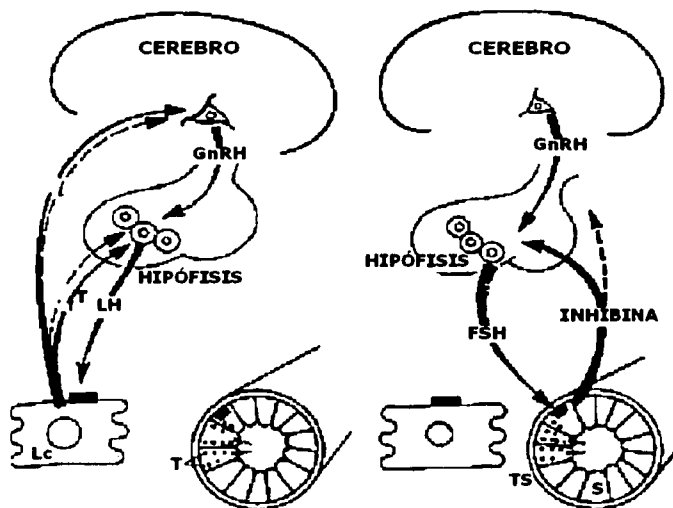


Figura 6. En el hipotálamo se produce la GnRH que actúa sobre la hipófisis estimulando la liberación tanto de hormona luteinizante (LH) como de hormona estimulante del folículo (FSH). La LH actúa sobre las células de Leydig (Lc) estimulando la producción de testosterona (T), la cual regula negativamente el eje hipotálamo-hipofisiogonada. Por otro lado la FSH se une a los receptores membranales de las células de Sertoli (S) estimulandolas a producir las diferentes moléculas generadas por estas células; entre ellas se encuentran proteínas séricas y proteínas específicas del testículo, algunas de ellas afectan directamente la función de células germinales (gc) y también influyen sobre otras células del testículo y del epidídimo. Otro de los productos de la secreción de S es la inhibina que reduce la síntesis y secreción de la FSH (Tomado Taylor, 1986).

2. ANTECEDENTES.

2.1. MECANISMO DE DESCENSO TESTICULAR.

Para que se presente una adecuada espermatogénesis los testículos deben ubicarse en el escroto, al exterior del cuerpo, en un ambiente de menor temperatura corporal. Para adquirir esta posición los testículos deben llevar a cabo el descenso testicular. El descenso testicular se relaciona con el desarrollo de varias estructuras como el gubernáculo, el proceso vaginal, el canal inguinal, los vasos espermáticos y el escroto (Hutson y cols., 1997).

El descenso de los testículos se presenta en dos etapas, la transabdominal y la transinguinal. La primera ocurre en el humano en la semana 12 de la gestación y en la rata a los 15 días *post coitum* (dpc). La segunda etapa ocurre en el humano entre la semana 26 a 32 de gestación, mientras que en la rata ocurre entre el día 19 de gestación a 21 postnatal (Hutson y Donahue, 1986).

En etapas embrionarias el testículo se localiza en el abdomen para posteriormente desplazarse hacia el escroto. En posición abdominal, el testículo está suspendido por dos ligamentos; uno que lo une al riñón, llamado ligamento suspensor craneal (LSC) y otro que conecta al testículo y el epidídimo al piso del escroto, conocido como gubernáculo.

La fase transabdominal se caracteriza por el crecimiento del gubernáculo, debido tanto a la proliferación de sus células, como a la síntesis de glicosaminoglicanos y ácido hialurónico. Estos procesos dilatan el canal inguinal y el escroto facilitando el paso del testículo por estas estructuras. En esta fase del descenso también participan la sustancia inhibidora de los conductos de Müller (MIS) y el factor asociado a la insulina-3 (InsI 3). Durante el descenso transinguinal del testículo, se lleva a cabo la regresión del gubernáculo quedando solo como un tejido fibroso que mantiene anclado el testículo al escroto. Esta fase del descenso está bajo control de la testosterona y la presión abdominal (Hutson y cols, 1997).

2.2. GENERALIDADES DE LA CRIPTORQUIDIA.

El significado etimológico de criptorquidia es "testículo oculto", lo que hace referencia a la ausencia del testículo en el escroto, estando situado en algún punto de su trayecto normal de descenso. Se puede llegar a palpar pero no desciende manualmente al escroto (Pomero y Arrondo, 1994; Ayala, 1995).

La criptorquidia se considera una de las alteraciones congénitas más frecuentes en el varón, observándose una frecuencia del 3.4% en los niños nacidos a término. El descenso espontáneo es muy común en los primeros meses de vida postnatal lo que reduce el porcentaje de incidencia a 0.8% al año de edad. La frecuencia en la pubertad es aproximadamente del 1% y de 0.3% en el adulto, (Rabinowitz y Hulbert, 1997; Thong y cols., 1998., Mayr y cols., 1999). Durante los

últimos 30 años se ha reportado un incremento en la frecuencia de la criptorquidia a nivel mundial, debido a factores medioambientales (Hutson y cols, 1997; Thong y cols., 1998).

De acuerdo a su localización los testículos criptorquídicos se pueden clasificar como: **intraabdominales** cuando se localizan dentro del anillo inguinal interno; **caniculares** cuando se localizan entre el canal inguinal y el anillo inguinal interno y externo y **ectópicos** cuando se localiza fuera de la vía de descenso normal (Elder, 1988).

2.3. ETIOLOGÍA.

El establecimiento de un eje-hipotálamo-hipófisis-gónada intacto es necesario para que se lleve a cabo el descenso testicular normal. Este mecanismo de descenso requiere de la compleja interacción tanto de factores hormonales, mecánicos y anatómicos, por lo que las causas de la criptorquidia pueden ser variables (Hutson y Donahoe, 1986; Elder, 1988; Cortes, 1998). La fase transabdominal del descenso es afectada raramente (5-10% de los casos). En cambio es más probable que se presente algún problema en la fase transinguinal en donde existe la participación del gubernáculo y los andrógenos (Hutson y cols., 1997)

Se cree que las causas más comunes del criptorquidismo se pueden deber a defectos en la secreción prenatal de andrógenos y/o deficiencias en la estimulación de las gonadotropinas hipofisarias, o su baja producción (Hutson y Donahoe, 1986). Aunque actualmente se ha demostrado que existen algunas deficiencias de andrógenos que provocan una función anormal del nervio genitofemoral (NGF) y como consecuencia una falla en la migración del gubernáculo (Hutson y cols, 1997; Cortes, 1998). Así mismo, se han reconocido patologías endocrinas, tales como defectos en la síntesis de testosterona y MIS o en la función de sus receptores, causando criptorquidismo (Ayala, 1995; Cortes, 1998; Chrisstiansen y cols., 2002).

2.4. PATOLOGIAS ASOCIADAS A LA CRIPTORQUIDIA.

En los niños con criptorquidismo la producción de gonadotropinas es deficiente; provocando anomalías en la maduración de las células germinales y en la función endócrina del testículo culminando con esterilidad. Las células de Leydig no proliferan y por consiguiente no se presenta la oleada de testosterona que llevaría a la maduración de las células germinales (Ozen y cols., 1989; Ring y cols., 1990; Rosansky y Bloom, 1995).

En biopsias testiculares realizadas a niños criptorquídicos se ha observado una disminución en el número de células de Leydig, retraso tanto en la diferenciación de gonocitos como en la aparición de espermatogonias oscuras,

fallas en el desarrollo de espermatocitos primarios y un bajo número de células germinales (Setchell y cols, 2001, 2002). La degeneración secundaria de los testículos criptorquídicos esta relacionada con la elevación de la temperatura (35-37°C) comparado con la localización normal en el escroto (33°C). La estereoidogénesis comienza a tener trastornos a los pocos meses del nacimiento (O'Shaughnessy y Sheffield, 1991; Steinberger, 1991).

Todos los pacientes con criptorquidia tienen un proceso vaginal abierto que favorece el desarrollo de una hernia inguinal indirecta y su presencia indica que se debe efectuar orquidopexia. El testículo criptorquídico tiene mayor peligro de torsión del cordón y de sus apéndices que un testículo normal. La aparición de un tumor de células germinativas en un niño con criptorquidia es muy probable, pero el periodo latente para su desarrollo es de más de 20 años. En el adulto, las probabilidades de que ocurra malignización son de 35 a 50 veces más para un testículo criptorquídico que para uno normal, (Ayala, 1995; Taskinen y Wikstrom, 1997; Shin y cols., 1997).

Una de las consecuencias más importantes del criptorquidismo es la repercusión que tiene en la fertilidad del individuo cuando llega a su edad reproductiva. La recuperación de la espermatogénesis en el testículo criptorquídico no ocurre siempre, incluso, en pacientes que se sometieron a orquidopexia. Los pacientes con criptorquidia bilateral sin tratamiento hasta la edad adulta son

estériles. La edad a la que inicia el deterioro histológico esta en discusión (Mieusset y cols. 1995; Taskinen y cols., 1996).

2.5. TRATAMIENTO HORMONAL.

El tratamiento hormonal del testículo ha sido objeto de estudio desde los años cuarenta. La base para usar la terapia hormonal, es que el no descenso de los testículos es comúnmente causado por alteraciones en el eje hipotálamo – hipófisis-gónada, y en segundo lugar por una deficiencia de andrógenos; por lo que el tratamiento de los niños criptorquídicos ha sido mediante el empleo de gonadotropina coriónica humana (hCG), de la GnRH o ambas, teniendo un porcentaje de éxito en la fertilidad del 10% al 20% de los casos (Smals y cols., 1979; Fonkalsrud, 1996; Cortes y cols., 2000).

En Europa y Centro América se utiliza el tratamiento hormonal de manera común, sin embargo en otras partes del mundo como Estados Unidos y Australia no se aceptado el uso de hCG, por las consecuencias secundarias que puede acarrear. En estos lugares se recomienda la aplicación nasal de GnRH (Hutson y cols., 1997).

Se ha propuesto que la estimulación hormonal puede restaurar la función testicular después de practicar una cirugía, medida por el incremento en el número

de células germinales y de Leydig. (Dunkel y cols., 1985; Cortes, 1998; Christiansen y cols., 2002).

El tiempo en el que se debe aplicar el tratamiento a los niños con criptorquidia, a sido motivo de controversia en el ambiente clínico. Algunos autores como Rajfer (1977) recomiendan la terapia hormonal temprana, con la esperanza de restaurar un ambiente endocrino normal y maximizar el potencial de fertilidad futura. La terapia hormonal puede corregir una deficiencia endocrina, sobre todo en aquellos niños criptorquídicos con deficiencia en la producción de gonadotropinas a los 3 meses de edad. El remplazo hormonal temprano puede promover la maduración de las células germinales teniendo como propósito restaurar la actividad testicular. Sin embargo, otros autores opinan que el tratamiento temprano no siempre mejora la función del testículo, ni asegura la fertilidad de los individuos (Mieusset y cols., 1995; Foresta y cols., 1996).

3. JUSTIFICACIÓN.

Debido a que durante los primeros días de vida postnatal se lleva a cabo el descenso testicular y al mismo tiempo algunos procesos de proliferación y diferenciación de las células testiculares; proponemos que la administración temprana de hCG induce el descenso de los testículos logrando restablecer el ambiente endocrino normal y la espermatogénesis en ratas con criptorquidia experimental.

4. OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto de la administración temprana de gonadotropina coriónica humana, sobre el descenso testicular de ratas con criptorquidia experimental.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Correlacionar el efecto de la administración temprana y tardía de hCG, sobre el descenso testicular de ratas con criptorquidia experimental.
2. Estudiar la tasa de fertilidad en ratas criptorquídicas con administración temprana de hCG.
3. Evaluar histológicamente el desarrollo de las células que conforman el testículo, en los diferentes grupos experimentales.

5. HIPÓTESIS.

Si la administración temprana de hCG induce el descenso de los testículos criptorquídicos y promueve la producción de testosterona, entonces esperamos inducir los procesos de proliferación y diferenciación de las células testiculares; restableciendo la fertilidad e histología testicular normal en ratas con criptorquidia experimental.

6. MATERIAL Y MÉTODO.

Se utilizaron 21 ratas macho de la cepa Wistar, recién nacidas. Estas fueron proporcionadas por el bioterio del Instituto Nacional de Pediatría, en el cual permanecieron durante los 120 días que duró la fase experimental, bajo las siguientes condiciones: 12 h de luz y 12 h de oscuridad, a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y libre acceso de agua y alimento. A los 3 días postparto (dpp), se formaron los siguientes grupos con 3 crías cada uno:

GPO	TIPO DE TRATAMIENTO	SIGLAS
1	Control sano	CS
2	Control sano con administración temprana de hCG	CSHCGTEM
3	Control sano con administración tardía de hCG	CSHCGTAR
4	Criptorquídico con administración temprana de hCG	CRhCGTEM
5	Criptorquídico con administración temprana del vehículo	CRVhTEM
6	Criptorquídico con administración tardía de hCG	CRhCGTAR
7	Criptorquídico con administración tardía del vehículo	CRVhTAR

Los animales pertenecientes a los grupos 4,5,6 y 7, se les indució la criptorquidia aplicando un modelo propuesto por Lein y cols., en 1996. Este modelo consiste en la administración de 17 β -estradiol (17-Acetato 1,3,5[10]-Estratriene-3, 17 β -diol 17-acetato, de SIGMA México), vía subcutánea, en la región superior del cuello, en las siguientes dosis: del día 3 al 13 de edad se les dio 0.01 mg de estradiol en 0.1 ml de aceite de olivo, del día 14 al 23 se les inyectó 0.02 mg de estradiol en 0.2 ml de aceite de olivo y del día 24 al 33 de edad se les administró 0.03 mg de estradiol en 0.3 ml de aceite de olivo.

Por otra parte los animales de los grupos 2 y 4 a los 18 dpp se les administró hCG (Gonakor del laboratorio Sanfer, México), vía intramuscular en una dosis de 50 U.I/kg/día durante 15 días (el grupo 4 continuó con la administración de estradiol). Mientras que al grupo 5 solo se le administró el vehículo (agua bidestilada). A los 33 dpp se inició la administración de la misma dosis de hCG en los grupos 3 y 6 , mientras que al grupo 7 solo se le inyectó el vehículo.

Una vez que los animales cumplieron 120 días de edad, todos los machos fueron apareados con 2 hembras, permaneciendo con ellas durante dos ciclos estrales y se realizaron frotis vaginales diarios, para detectar la presencia de espermatozoides en el conducto vaginal. Al nacer las crías, se valoró su aspecto y el número de estas. Los machos experimentales se sacrificaron a los 130 días utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico (Sedal-vet del laboratorio TTOKKYO, México). Después de pesar a los animales, se les realizó una incisión

en la cavidad abdominal para exponer los testículos y determinar su posición (inguinal o escrotada). Posteriormente se disecaron los testículos, se pesaron y perfundieron con fijador de Karnovsky (Karnovsky, 1965), vía arteria espermática, para continuar con la técnica de inclusión en epon (ver apéndice A).

De estos bloques se hicieron cortes semifinos (1μ) en un ultramicrotomo Leica Ultracut UCT. Los cortes fueron teñidos con azul de toluidina y se montaron con resina para observarlos al microscopio óptico. En los tubos cortados transversalmente, se realizó un conteo de los diferentes tipos celulares utilizando el objetivo 40X de un microscopio óptico y un contador de células, se determinó la etapa del ciclo del epitelio seminífero, el grado de maduración de este epitelio o índice de Johnsen (Salman y cols., 1988) (apéndice B) y se midió el área del epitelio seminífero en cada uno de los tubos cortados transversalmente utilizando el sistema analizador de imágenes Metamorph. Los datos se trataron estadísticamente con una ANOVA, seguida de una prueba de TUKEY considerando una $p < 0.05$ como diferencia significativa.

7. RESULTADOS.

En la tabla 1 se muestran los resultados de la tasa de descenso testicular al momento de la disección de los animales. Como se puede observar los tres primeros grupos experimentales que corresponden a los controles sanos (CS, CShCGTEM y CShCGTAR), el grupo de criptorquidia con administración temprana de hCG (CRhCGTEM), en dos terceras partes del grupo de criptorquidia con administración tardía (CRhCGTAR), los testiculos se localizaron en posición escrotada. Mientras que un animal del grupo de CRhCGTAR y los grupos que solo recibieron el vehículo de la gonadotropina (CRVhTEM y CRVhTAR) presentaron testiculos inguinales.

Tabla 1. Tasa de descenso testicular

GRUPOS EXPERIMENTALES	POSICIÓN ESCROTADO
CS	3/3
CShCGTEM	3/3
CShCGTAR	3/3
CRhCGTEM	3/3
CRVhTEM	0/3
CRhCGTAR	2/3
CRVhTAR	0/3

Control sano	CS
Control sano con administración temprana de hCG	CShCGTEM
Control sano con administración tardía de hCG	CShCGTAR
Criptorquidico con administración temprana de hCG	CRhCGTEM
Criptorquidico con administración temprana del vehículo	CRVhTEM
Criptorquidico con administración tardía de hCG	CRhCGTAR
Criptorquidico con administración tardía del vehículo	CRVhTAR

Se consideraron fértiles (Tabla 2) los machos que dejaron descendencia, al aparearlos con hembras. Solo los machos de los 3 primeros grupos experimentales, correspondientes a los controles (CS, CShCGTEM y CShCGTAR) fueron fértiles y contrariamente a lo esperado ninguno de los grupos restantes dejaron descendencia, ni siquiera el grupo de CRhCGTEM.

Tabla 2. Fertilidad

GRUPOS EXPERIMENTALES	TASA DE FERTILIDAD
CS	3/3
CShCGTEM	3/3
CShCGTAR	3/3
CRhCGTEM	0/3
CRVhTEM	0/3
CRhCGTAR	0/3
CRVhTAR	0/3

Control sano	CS
Control sano con administración temprana de hCG	CShCGTEM
Control sano con administración tardía de hCG	CShCGTAR
Criotorquídico con administración temprana de hCG	CRhCGTEM
Criotorquídico con administración temprana del vehículo	CRVhTEM
Criotorquídico con administración tardía de hCG	CRhCGTAR
Criotorquídico con administración tardía del vehículo	CRVhTAR

En la tabla 3 podemos observar el número de células de Sertoli y germinales de cada uno de los diferentes grupos experimentales en donde es necesario mencionar que se presentó un mayor número de espermatogonias y espermatidas redondas en el grupo de CRhCGTEM comparado con el grupo de

CRhCGTAR ($p < 0.05$) y al comparar los grupos CRhCGTEM y CS no se determino diferencia significativa ($p > 0.05$).

Tabla 3. Número de células de Sertoli y germinales

GRUPOS EXPERIMENTALES	CELULAS DE SERTOLI	ESPERMATOGONIAS	ESPERMATOCITOS	ESPERMATIDAS
CS	25.8±0.72	18.0±1.84	83.6±4.25	197.8±7.70
CShCGTEM	22.9±0.73	24.5±2.17	65.3±5.42	199.8±7.52
CShCGTAR	20.4±0.70	32.8±2.26	78.6±5.00	223.1±5.10
CRhCGTEM	20.5±0.65	22.2±2.3*	62.1±4.03	159.5±8.30**
CRVhTEM	24.9±0.87	4.0±0.44	5.4±1.63	3.2±1.31
CRhCGTAR	26.5±1.04	10.6±1.57	38.4±5.48	87.9±16.02
CRVhTAR	23.4±0.96	10.8±1.64	19.8±2.93	83.2±14.50

Control sano
 Control sano con administración temprana de hCG
 Control sano con administración tardía de hCG
 Criptorquidico con administración temprana de hCG
 Criptorquidico con administración temprana del vehículo
 Criptorquidico con administración tardía de hCG
 Criptorquidico con administración tardía del vehículo

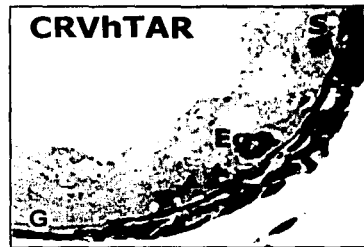
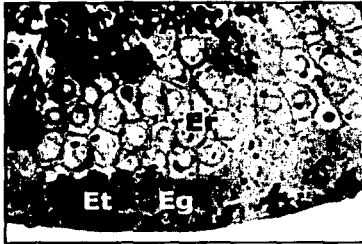
CS
 CShCGTEM
 CShCGTAR
 CRhCGTEM
 CRVhTEM
 CRhCGTAR
 CRVhTAR

* Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTEM & CRhCGTAR ($p < 0.05$).

** Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTEM & CRhCGTAR ($p < 0.05$).

En la lámina 1, las imágenes A, B y C muestran el epitelio seminífero de animales sanos con gran número de células, presencia de espermatidas largas y una citoarquitectura normal. La apariencia del epitelio seminífero de los animales criptorquídicos que fueron sometidos a recuperación con administración de hCG tempranamente (D), mostró gran cantidad de espermatidas elongadas en la luz de los tubos. En cambio, en los animales criptorquídicos que recibieron la

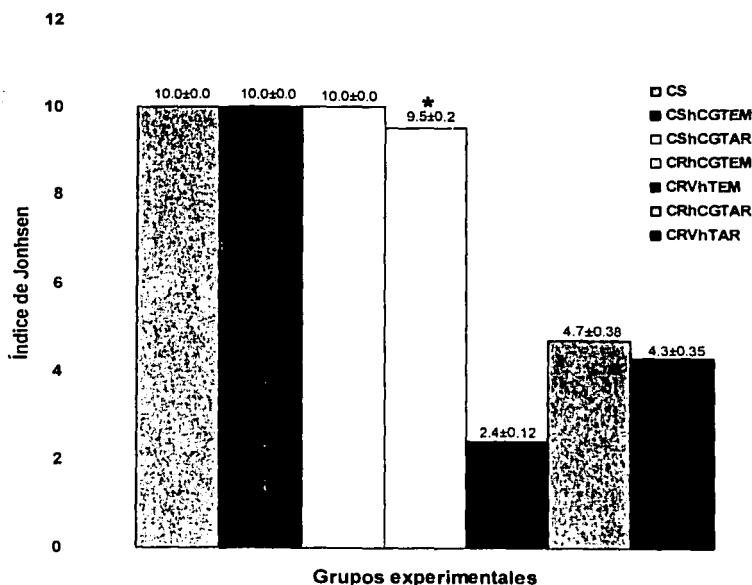
gonadotropina tardiamente (F) se observó un epitelio seminífero desorganizado, con células desprendidas, que se localizaron en la luz del tubo, en donde también fue posible observar la presencia de células multinucleadas; además se podría decir que las espermátidas redondas no mostraron signos de diferenciación pues no se observan espermátidas largas en la luz del tubo. El epitelio seminífero de los animales criptorquídicos que solo recibieron el vehículo de la gonadotropina (E y G) se caracterizó por la ausencia de células, a excepción de algunas espermatogonias, espermaticitos y células de Sertoli en la base de los tubos.



Lamina 1. Cortes transversales de tubos seminíferos en etapa VIII del ciclo del epitelio seminífero, a excepción de las imágenes E, F y G en donde no fue posible determinar la etapa. De los diferentes grupos experimentales la imagen A (CS), B (CShCGTEM), C (CShCGTAR), D (CRhCGTEM), E (CRVhTEM), F (CRhCGTAR), G (CRVhTAR). En donde se pueden apreciar los siguientes tipos celulares: Sertoli (S), espermatogonias (Eg), espermatidas redondas (Er), espermatoцитos (Et) y prolongaciones citoplasmáticas de las células de Sertoli (PCS). Azul de Toluidina 40X.

En la gráfica 1 se muestra el índice de Johnsen, no se encontró diferencia significativa entre los grupo CS y CRhCGTEM ($p > 0.05$), lo cual indica que el grado de maduración del epitelio seminífero en estos dos grupos fue similar. En cambio se determinó diferencia significativa entre los grupos CRhCGTEM y CRhCGTAR ($p < 0.05$) lo que demuestra que hubo una mejor recuperación del epitelio seminífero en los animales criptorquídicos que recibieron tempranamente el tratamiento con hCG.

Gráfica 1. Índice de Johnsen



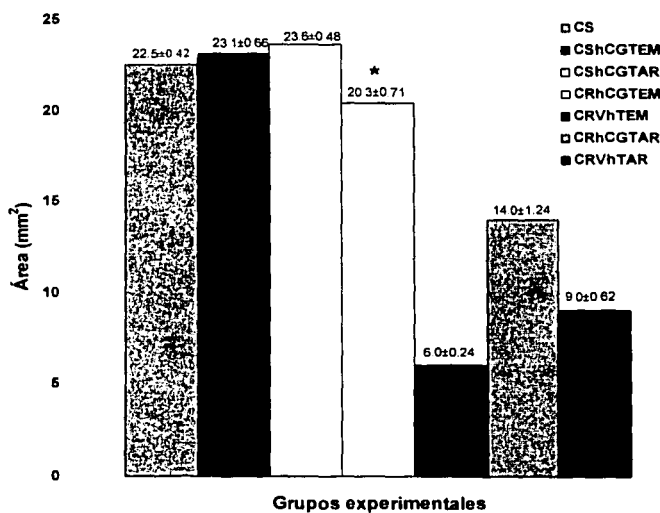
Control sano
 Control sano con administración temprana de hCG
 Control sano con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración temprana de hCG
 Criptorquídico con administración temprana del vehículo
 Criptorquídico con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración tardía del vehículo

CS
 CShCGTEM
 CShCGTAR
 CRhCGTEM
 CRVhTEM
 CRhCGTAR
 CRVhTAR

*Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTEM & CRhCGTAR ($p < 0.05$).

El área del epitelio seminífero (gráfica 2) no mostró diferencia significativa entre los grupos CS y CRhCGTEM ($p>0.05$), sin embargo si mostró diferencia, al comparar el grupo CRhCGTEM con el CRhCGTAR ($p<0.05$), reafirmando que hubo mayor recuperación en los individuos criptorquídicos que recibieron la hCG tempranamente.

Gráfica 2. Área del epitelio seminífero



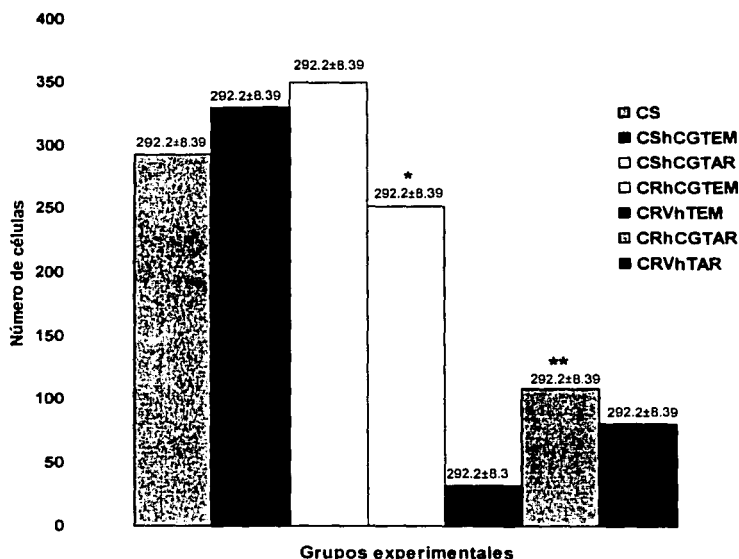
Control sano
 Control sano con administración temprana de hCG
 Control sano con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración temprana de hCG
 Criptorquídico con administración temprana del vehículo
 Criptorquídico con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración tardía del vehículo

CS
 CS hCGTEM
 CS hCGTAR
 CRhCGTEM
 CRVhTEM
 CRhCGTAR
 CRVhTAR

* Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTEM & CRhCGTAR ($p<0.05$).

El número total de células (gráfica 3) demuestra las diferencias significativas entre los grupos CRhCGTEM y CS ($p > 0.05$) y entre los animales de los grupos CRhCGTAR y CRhCGTEM ($p < 0.05$). Lo que indica que la recuperación del epitelio seminífero en los animales criptorquídicos que recibieron tempranamente la gonadotropina no alcanza los niveles de animales sanos en cuanto al número de células que conforman el epitelio, sin embargo la recuperación es mucho mejor que el de los animales con administración tardía de hCG.

Gráfica 3. Número total de células



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Control sano
 Control sano con administración temprana de hCG
 Control sano con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración temprana de hCG
 Criptorquídico con administración temprana del vehículo
 Criptorquídico con administración tardía de hCG
 Criptorquídico con administración tardía del vehículo

CS
 CShCGTEM
 CShCGTAR
 CRhCGTEM
 CRVhTEM
 CRhCGTAR
 CRVhTAR

* Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTEM & CS ($p < 0.05$).

** Denota diferencia significativa al comparar los grupos de CRhCGTAR & CRhCGTEM ($p < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

La criptorquidia es una patología común en urología pediátrica, y para su corrección se han empleado diversos tratamientos considerando las causas que generan la enfermedad. Cuando el daño es anatómico, el paso a seguir es la intervención quirúrgica (Shin y cols., 1997; Lee y Coughlin, 2002). Cuando existen alteraciones en la producción de testosterona por diferentes factores, como son altos niveles de estradiol intrauterino, se recomienda la terapia hormonal (Bernstein y cols., 1988; Sharpe y Skakkebaek, 1993; Mathews y cols., 1997; Hadziselimovic, 2000, Nef y cols., 2000).

Se han utilizado diversas hormonas como tratamiento de la criptorquidia; y la gonadotropina coriónica humana (hCG) es una de las más empleadas, debido a su semejanza estructural y funcional con la hormona luteinizante (LH). La hCG estimula a las células de Leydig a producir testosterona (Elder, 1988., Zhou y cols., 1993; Christiansen y cols., 2002) y como se mencionó anteriormente, este esteroide completa el descenso testicular transinguinal (Rozansky y Bloom 1995). También la hCG induce la maduración de las células de Leydig fetales (Smals y cols., 1979). Se ha observado que la administración de hCG induce el descenso testicular en ratas con criptorquidia experimental (Rajfer y Wash., 1977; Viguera y cols., 1999).

Cuando el tratamiento, ya sea quirúrgico u hormonal, es administrado tardíamente (después del primer año de edad en el ser humano), disminuye el pronóstico de fertilidad (Patkowski y cols., 1992; Taskinen y Wikstrom., 1997). Esto nos motivó a estudiar el uso temprano de la hCG comparada con el tardío en ratas con criptorquidia inducida por la administración de estradiol.

Encontramos que el tratamiento hormonal temprano mejora la histología testicular, es decir, aumenta la población de células germinales y el índice de Johnsen (empleado como parámetro para determinar el grado de maduración del epitelio seminífero) a un nivel casi similar al de los controles sanos. En ratas con tratamiento tardío y los tratados con el vehículo, los daños fueron irreversibles a largo plazo. Se conoce que la criptorquidia, como tal, induce una serie de daños en el epitelio seminífero, como la disminución de la masa testicular y del epidídimo, así como la disminución del número de espermatocitos, espermatidas y espermatozoides; además de una reducida capacidad de las espermatogonias para repoblar los tubos seminíferos (Chowdhury y Steinberger 1964; Setchell y cols., 2001).

Es probable que en las ratas criptorquídicas con administración temprana de hCG, la mejoría histológica observada sea debido a que la gonadotropina evito la degeneración de gonocitos presentes en los primeros días de vida postnatal. De modo que probablemente estas células se diferenciaron a espermatogonias y continuaron con el proceso de espermatogénesis. En estudios del desarrollo

normal del testículo de rata, se ha demostrado que los gonocitos atraviesan por dos fases de actividad proliferativa, una en la etapa embrionaria y otra entre los 3 y 4 días posparto (dpp), momento en el cual los gonocitos migran del centro de los cordones seminíferos a la periferia y los niveles de testosterona se elevan (Vergouwen y cols, 1991; Li y cols 1997). La diferenciación de gonocitos a espermatogonias A y B, y de estas a espermatocitos primarios en leptoteno, se lleva a cabo durante los primeros 14 dpp. Posteriormente continúan su diferenciación a espermatocitos secundarios mientras el testículo sigue descendiendo y pasa gradualmente de una temperatura de 36.8°C a una de 32°C. Por último se produce la primera ola de espermatidas a los 30 dpp cuando el testículo se encuentra escrotado (Zhou y cols., 1998).

La aparente recuperación de la población celular observada en los animales con tratamiento temprano puede deberse al escaso número de gonocitos que degeneraron en el corto tiempo que permanecieron los testículos a una temperatura mayor, por causa de la criptorquidia en estas ratas (25 días). Con respecto al grupo de administración tardía, la baja población celular se pudo deber a una mayor exposición del testículo a una alta temperatura (43 días) consecuencia de la criptorquidia, que provocó la muerte de gonocitos y esto se vio reflejado en una disminución de la población celular a largo plazo.

Al evaluar la fertilidad de hombres que fueron sometidos a tratamiento hormonal temprano, y comparándolos con hombres que recibieron un tratamiento pospubertal, se ha observado que la calidad del semen es semejante en ambos. Es por esto que varios autores han reportado que el tratamiento temprano de la criptorquidia no siempre mejora la función testicular (Miesusset y cols., 1995; Rozanski y Bloom, 1995; Foresta et al, 1996).

El propósito de una corrección temprana en el ser humano con criptorquidia es restaurar la actividad testicular y por consiguiente la fertilidad. En el presente estudio el uso de gonadotropina no mejoró la fertilidad, a pesar de que la morfología testicular mostró gran recuperación con la administración temprana de hCG. Es probable que el daño en la fertilidad se deba a diferentes factores: a) alteraciones funcionales en el epidídimo, provocado por la criptorquidia; pues se ha comprobado que en el humano esta patología provoca malformaciones en el epidídimo que puede ocasionar problemas en la maduración y transporte de los espermatozoides (Thorup y cols, 1984; Elder, 1988., Kocak y cols, 2001); b) por el estradiol empleado para inducir la criptorquidia, ya que se conoce que la acción directa del esteroide sobre las células de Leydig altera la esteroidogénesis de forma irreversible (Steinberge, 1991; O'Shaughnessy y Sheffield, 1991); c) por la administración de hCG, ya que se ha reportado que aquellos pacientes que presentaron criptorquidia durante la infancia y que fueron tratados con hCG, para inducir el descenso testicular presentaron bajos niveles de fertilidad en la etapa adulta. Se ha propuesto que puede ser debido a que la gonadotropina induce una

elevación de los niveles de testosterona (Smals y cols., 1979; Friedman y cols., 1994; Christiansen y cols., 2002) y al eliminar la hCG al momento del descenso del testículo, la baja drástica de los niveles de testosterona, puede producir apoptosis de las espermatogonias (Friedman y cols., 1994; Dunkel y cols., 1985; Watts y cols., 2000). En este trabajo no determinamos apoptosis, sin embargo la población celular se vio disminuida significativamente en los animales con tratamiento temprano, comparado con el control.

La observación histológica de las laminillas de los grupos que sólo recibieron el vehículo de la gonadotropina, tanto temprana como tardíamente, los tubos seminíferos se observan prácticamente vacíos, solo es posible observar algunas espermatogonias, las prolongaciones citoplasmáticas de algunas células de Sertoli y en algunos casos células multinucleadas; esto también se ha reportado en niños y adultos con criptorquidia. Es probable que tales alteraciones se deban a la falta de testosterona (provocada por la administración del estradiol, empleado para inducir la criptorquidia), ya que este andrógeno es indispensable para el mantenimiento de la espermatogénesis (Meehan y cols 2000). Se ha demostrado que la falta de gonadotropinas impide la maduración de las células de Sertoli y Leydig, necesarias en la espermatogénesis (Orth y cols., 2000; Antich y cols., 1995; Rozanski y Bloom., 1995). Se conoce que la presencia de células de Sertoli inmaduras, es característica de los testículos criptorquídicos y que tales células son incapaces de desarrollar una barrera hematotesticular normal (Pinart y cols., 2000). La presencia de células multinucleadas se ha explicado por una

incompleta división del citoplasma celular ocasionado por la temperatura elevada, que afecta la división celular de las espermatogonias tipo B y los espermatoцитos primarios (Nishimune y Aizawa., 1978; Ozen y cols, 1989; Ring y cols., 1990; Codesal y cols., 1993; Jannes y cols., 1998).

El hecho de que en los animales con tratamiento temprano de hCG, presenten una gran recuperación del epitelio seminífero sin lograr ser fértiles, nos hace llegar a la conclusión de que el testículo escrotado no es sinónimo de fertilidad. Por lo tanto es importante que en la práctica clínica se de atención, no solo en la inducción del descenso, sino en tratar de restaurar la fertilidad futura.

Sin embargo, resta investigar otros factores que induzcan el descenso y restauren el ambiente endocrino de manera normal, reparando los daños provocados por la criptorquidia.

9. CONCLUSIÓN

El tratamiento con gonadotropina coriónica humana aplicado en una etapa temprana del desarrollo postnatal, puede restaurar el daño del epitelio seminífero y promover la espermatogénesis sin éxito en la fertilidad, cuando es administrada a ratas con criptorquidia experimental inducida por la aplicación de estradiol.

10. REFERENCIAS

Álvarez, V. J. (1988). Anatomía comparada básica. Trillas. México.

Antich M., Fabian E., Sarquella J., Bassas L. (1995). Effect of testicular damage by cryptorchidism on insulina-like growth factor I receptors in rat Sertoli cells. J. Reprod. Fertil. 104:267-278.

Austin C. R. (1982). Procesos de reproducción en los mamíferos. Prensa medica mexicana. México.

Ayala A.R. (1995). Medicina de la reproducción humana. Grupo Azabache. México.

Berstein L., Pike C. M., Depue H. R., Ross R. K., Moore J. W., Henderson B. E. (1988). Maternal hormone levels in early gestation of cryptorchid males: a case-control study. Br. J. Cancer. 58:379-381.

Chowdhury A. K., Steinberger E. (1964). A quantitative study of the effect of heat on germinal epithelium of rat testes. Am. J. Anat. 115:509-524.

Codesal J., Paniagua R., Queizan A., Santamaría L., Nistal M. (1993). Cytophotometric DNA quantification in human spermatogonia of cryptorchid testes. J. Urol. 149:382-385.

Cortes D. (1998). Cryptorchidism- aspects of pathogenesis, histology and treatment.

J. Urol. Nephrol. 196:1-30.

Cortes D., Thorup J., Visfeldt J. (2000). Hormonal treatment may harm the germ cells in 1 to 3 year-old boys with cryptorchidism. J. Urol. 163:1290-1292.

Christiansen P., Andersson M. A., Skakkebaek N. E., Juul. (2002). Serum inhibin B, FSH, LH and testosterone levels before and after human chorionic gonadotropin stimulation in prepuberal boys with cryptorchidism. Eur. J. Endocrinol. 147:95-101.

Domínguez Casalá Roberto. (1991). Tópicos selectos de biología de la reproducción. México. UNAM-Miguel Angel Porrúa.

Dunkel L., Perheentupa J., Apter D. (1985). Kinetics of the steroidogenesis response to single *versus* repeated doses of human chorionic gonadotropin in boys in prepuberty and early puberty. Pediatric Res. 19:2-4.

Eliséiev G. V., Afanasiev I. Y., Yúrina A. N. (1985). Histología. Mir Moscú. URSS.

Elder Jack S. (1988). The Undescended Testis. Surg. Clin. N. Amer. 68:983-1005.

Fonkalsrud W. E. (1996). Current management of the undescended testis. Sem. Pediatric Surg. 5:2-7.

Foresta C., Ferlin A., Garolla A., Milani C., Oliva G., Rossato M. (1996). Functional and cytologic features of the contralateral testis in cryptorchidism. Fertil Steril. 66:624-629.

Friedman M., López J. F., Tucker J. A., King L. R., Negro-Vilar A. (1994). Fertility after cryptorchidism: a comparative analysis of early orchidopexy with and without concomitant hormonal therapy in the young male rat. The J. Urol. 151:227-233.

Gilbert F. S. (2000). Developmental Biology. SINAVER. E. U.

Hadziselimovic F., Geneto R., Emmons L. R. (2000). Elevated placental estradiol: a possible etiological factor of human cryptorchidism. The J. Urol. 164:694-1695.

Hutson J. M., and P. K. Donahoe. (1986). The hormonal control of testicular descent. Endocr. Rev. 7:270-283.

Hutson M. J., Hasthorpe S. and Heyns F. C. (1997). Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. Endocrinology. 18:250-279.

Jannes P., Spiessens C., Van der Auwera I., Hooghe T. D., Verhoeven G., Vanderschueren D. (1998). Male subfertility induced by acute heating affects embryon quality in normal female mice. Hum. Reprod. 13:372-375.

Jiménez C.J.F. (1993). Tratado de urología. PROUS. España.

Karnovsky, M. J. (1965). A Formaldehyde-Glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J. cell Biol. 27:137A.

Knobil E. Neill J. (1988). The physiology of reproduction. Vol. I. Raven Press. Estados Unidos.

Kocak I., Dundar M., Culhaci N. (2001). Epididymal changes associated with cryptorchidism in rats. Asian J. Androl. 3:277-280.

Koopman P., Munsterberg A., Blanche C., Vivian N., Lovellbadge R. (1990). Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation. Nature 348:450-452.

Langman Jan. (1993). Embriología médica. Panamericana. México.

Leblond, C. P. Clermont Y. (1952). Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. Ann. N. Y. Acad. Sci. 55:548-573.

Lee P.A., Coughlin M.T. (2002). Leydig cell function after cryptorchidism: evidence of the beneficial result of early surgery. *J Urol.* 167:1824-1827.

Lein, M., D. Tahlenkamp., B. Schönberger., S. Prollius. 1996. The pharmacological effect of the gonadotrophin-releasing hormona on experimental cryptorchidism in rats. *Scand. J. Urology.* 30:185.

Lesson, S. T. (1990). *Histología.* Interamericana, México.

Li H., Papadopoulos V., Vidic B., Dym M., Culty M. (1997). Regulation of rat testis gonocyte proliferation by platelet derived growth factor and estradiol: identification of signaling mechanisms involved. *Endocrinology.* 138:1289-1298.

Lipshultz I. Howards S. (1991). *Infertility in the male.* Mosby year book. Estados Unidos.

Mathews R., Phol H. G., Costabile R. A., Kennedy W. A., Mevorach R. A. (1997). The undescended testis: An update. *Dialogues in Pediatric. Urol.* 20:1-8.

Mayr J.M., Lawrenz K., Berghold A. (1999). Undescended testicles: an epidemiological review. *Acta Paediatrica.* 88:1089-1093.

Meehan T., Schlatt S., O'Bryan K. M., Kretser M. D., Lakoski Loveland K. (2000). Regulation of germ cell and Sertoli cell development by activin, follistatin and FSH. *Dev. Biol.* 220:225-237.

Mieusset R., Bujan L., Massat A., Pontonnier F. (1995). Clinical and biological characteristics of infertile men with a history of cryptorchidism. *Hum. Rep.* 10:613-619.

Nef S., Shipman T., Parada L. F. (2000). A molecular basis for estrogen-induced cryptorchidism. *Dev. Biol.* 224:354-361.

Nishimune Y., Aizawa S. (1978). Temperature sensitivity of DNA synthesis in mouse testicular germ cells in vitro. *Exp. Cell Res.* 113:403-408.

Orth M. J., Jester F. W., Li L-H., Laslett L. A. (2000). Gonocyte-Sertoli cell interaction during development of the Neonatal Rodent Testis. *Curr. Topics Dev. Biol.* 50:103-124.

O'Shaughnessy P. J., Sheffield J. W. (1991). Effect of temperature and the role of testicular descent on post-natal testicular androgen production in the mouse. *J. Reprod. Fert.* 91:357-364.

Ozen H., Ayhan A., Esen A., Ergen A., Dogan A., Huracán S., Remzi D. (1989). Histopathological changes in adult cryptorchid testes. 63:520-521.

Patkowski D., Czernik J., Jelén M. (1992). The natural course of cryptorchidism in rats and the efficacy of orchidopexi or orchidectomy in its treatment before and after puberty. *J. Ped. Surg.* 27:870-873.

Pinart E., Sancho S., Briz M. D., Garcia N., Badia E. (2000). Ultraestructural study of the boar seminiferous epithelium: changes in cryptorchidism. *J. Morph.* 244:190-202.

Pomero M. J. M y Arrondo A. J. L. (1994). *Práctica andrológica.* Masson-Salvat. España.

Rabinowitz R., Hulbert W. (1997). Late presentation of cryptorchidism: the etiology of testicular re-ascent. *J. Urol.* 157:1892-1894.

Rajfer J., Walsh P. (1977). Hormonal regulation of testicular descent: experimental and clinical observations. *J. Urol.* 118:985-990.

Ring K., Burbige K. A., Benson M. C., Karp F., Hensle T. W. (1990). The flow cytometric analysis of undescended testes in children. *J. Urol.* 144:494-498.

Romer S. A. (1983). *Anatomía comparada.* Interamericana. México.

Ross, Ph. D. y J. L. Romrell. (1998). *Histología.* Interamericana. México.

Russell L. D., Alger L. E., Nequin L. G. (1987). Hormonal control of pubertal spermatogenesis. *Endocrinology*. 120:1615-1632.

Rosansky T. A., Bloom D. A. (1995). The undescended testis. Common problems in *pediatr. Urol.* 22:107-115.

Setchell B. P., Plöen L., Ritzen E. M. (2001). Reduction of long-term effect of local heating of the testis by treatment of rats with a GnRH agonist and an anti-androgen. *Reproduction*. 122:255-263.

Setchell B. P., Ploen L., Ritzen E. M. (2002). Effect of local heating of rat teste after suppression of spermatogenesis by pretreatment with a GnRH agonist and an anti-androgen. *Reproduction*. 124:133-140.

Sharpe R. M., Skakkebaek N. L. (1993). Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet*. 341:1392-1395.

Shin D., Lemack G. E., Goldstein M. (1997). Induction of spermatogenesis and pregnancy after adult orchiopexy. *J. Urol.* 158:2242.

Short V. R. (1998). Difference between a testis and ovary. *J. Exp. Zool.* 281:359-361.

Smals G. H. A., Pieters G. F. F. M., Drayer J. I. M., Benraad J. T., Kloppenborg W C. P. (1979). Leydig cell responsiveness to single and repeated human chorionic gonadotropin administration. 49:12-14.

Steinberger A. (1991). Effects temperature on the biochemistry of the testis. Plenum Press. E.U. 33-45.

Salman T, Stanton A. E., Fonkalsrud E. (1988). Morphologic effects of unilateral cryptorchidism on the contralateral descended testis. J. Ped. Surg. 23:439-443.

Taskinen S., Wikstrom S. (1997). Effect of age at operation, location of testis and preoperative hormonal treatment on testicular growth after cryptorchidism. Am. J. Urol. 158:471-473.

Taskinen S., Hovatta O., Wikstrom S. (1996). Early treatment of cryptorchidism, semen quality and testicular endocrinology. J. Urol. 156:82-84.

Taylor. (1986). Fisiologia humana. Interamericana. México.

Testut L. (1992). Compendio de anatomía descriptiva. Salvat. México.

Thong M. K., Lim C. T., Fatimah H. (1998). Undescended testes: incidence in 1,002 consecutive male infants and outcome at 1 year of age. *Pediatr. Surg. Int.* 13:37-41.

Thorup J., Kvist N., Larsen P., Tygstrup I., Mauritzen K. (1984). Clinical results of early and late operative correction of undescended testes. *British Assoc. Urol.* 56:322-325.

Velásquez M. J. (1998). *Biología de la reproducción*. UAM. México.

Vergouwen R., Jacobs S. G. P. M., Huiskamp R., Davis J. A. C., de Rooij D. G. (1991). Proliferative activity of gonocytes, Sertoli cells and interstitial cell during testicular development in mice. *J. Rep.* 93:233-243.

Vigueras V. R. M., Reyes T. G., Cuevas O. J., Rojas C. J. C., Merchant L. H. A. (1999). The histological effect of the human chorionic gonadotropin and luteinizing hormone-releasing hormone on experimental cryptorchidism in rats. *Proc West Pharmacol Soc.* 42:71-73.

Watts M. L., Hasthorpe S., Farmer J. P., Hutson M. J. (2000). Apoptotic cell death and fertility in three unilateral cryptorchid rat models. *Urol Res.* 28:332-337.

William J.B. (1986). *Histología veterinaria aplicada. El manual moderno*. México.

Zhou B., Hutson J. M., Hasthorpe S. (1998). Efficacy of orchidopexy on spermatogenesis in the immature mutant "trans-scrotal" rat as a cryptorchid model by quantitative cytological analysis. *British J. Urol.* 81:290-294

11. Apéndice A. Técnica de fijación en Karnovsky e inclusión en EPON.

1. Fijación en karnovsky durante 18 horas.
2. Lavar con buffer de cacodilatos 0.1M.
3. Postfijación con tetroxido de osmio al 1% durante 60 a 90 minutos.
4. Lavados con agua destilada varias veces.
5. Deshidratación con cambios de alcoholes graduales de 60 al 100% por 15 minutos en cada cambio.
6. Dos cambios de oxido de propileno de 20 minutos cada uno.
7. Impregnación en una mezcla 2:1 de oxido de propileno/EPON, por 2 h.
8. Impregnación en una mezcla 1:1 oxido de propileno/EPON 1:2 por 2 h.
9. Impregnación en EPON puro durante 24 horas.
10. Inclusión en EPON puro y se dejan polimerizar en una estufa a 60°C durante 24 horas.

12. Apéndice B. Criterios para determinar el Índice de Johnsen.

- 10 Espermatogénesis completa con gran cantidad de espermatozoides.
- 09 Poca cantidad de espermatozoides, menos de 5 por tubo.
- 08 Sin espermatozoides maduros, pero con espermatidas en proceso de diferenciación.
- 07 Muchas espermatidas pero sin signos de diferenciación.
- 06 Pocas espermatidas presentes, menos de 5 por tubo.
- 05 Muchos espermatoцитos presentes.
- 04 Pocos espermatoцитos presentes, menos de 5 por tubo.
- 03 Solo presentan espermatogonias.
- 02 Solo presentan células de Sertoli, sin células germinales.
- 01 Tubos vacíos.