



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ANÁLISIS HISTOLÓGICOS DE LOS TÚBULOS
SEMINÍFEROS DE LAS RATAS
HEMICASTRADAS**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA:

NÓVAYA PRÁVDA CORDERO FLORES

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. UBALDO QUIRÓZ LÓPEZ

OCTUBRE, 2017.



AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis el M. en C. Ubaldo Quiroz López por todo su apoyo, guía y sobre todo la motivación en el proceso de dicho trabajo. Por la confianza puesta en mí y la gran familia que se formó en el laboratorio.

A mis revisores de tesis, la Dra. Rosalina Reyes Luna y al Dr. Juan Carlos Flores Alonso por su tiempo, asesoramiento y aportación de sus conocimientos para la culminación de esta tesis.

Al Dr. Francisco Ramos Collazo del Bioterio “Claude Bernard – BUAP” por todo su apoyo, asesoramiento, disponibilidad y la amistad que me brindó.

A mis padres y hermanos, Muchas gracias por creer en mí y apoyarme a lo largo de este camino. Los amo.

A Nancy, Mariana y Germán, muchas gracias por compartir este proyecto, por todos los buenos y malos momentos que compartimos, por todo su apoyo, y sobre todo por la gran amistad que llegamos a formar, los quiero mucho.

ÍNDICE

Resumen.....	4
1. Introducción.....	5
1.1. Estructura de los testículos.....	6
1.2. Túbulos seminíferos.....	8
1.3. Histología de los testículos.....	9
1.4. Epidídimo.....	10
1.5. Glándulas sexuales.....	11
1.6. Espermatogénesis.....	12
1.7. Inervación.....	14
1.8. Fibras sensoriales.....	16
2. Antecedentes.....	19
3. Justificación.....	22
4. Hipótesis.....	23
5. Objetivos.....	24
5.1 Objetivo general.....	24
5.2 Objetivo particular.....	24
6. Material y Métodos.....	25
6.1 Hemicastración.....	25
6.2 Análisis histológico de túbulos seminíferos.....	27
6.3 Análisis Estadístico.....	28
7. Resultados.....	29
8. Discusión.....	32
9. Conclusiones.....	37
10. Perspectivas.....	38
11. Bibliografía.....	39

RESUMEN

El sistema reproductor masculino tiene principalmente dos funciones, la secreción de hormonas y la espermatogénesis. Dichas funciones se llevan a cabo en los testículos y son reguladas por el eje hipotálamo – hipófisis – testículos. Sin embargo, existe una vía neural directa entre testículos y SNC. Los testículos reciben inervación simpática, parasimpática y sensorial, estas fibras convergen en las gónadas a través de los nervios espermáticos superior e inferior (SSN e ISN).

Aún se desconoce si la inervación que reciben los testículos es igual en cantidad y tipo de fibras. Existen evidencias de que muchos órganos pareados son anatómicamente y fisiológicamente diferentes. En el caso de los testículos se ha mostrado una asimetría entre el izquierdo y el derecho. Se ha propuesto que la inervación pudiera ser una de las razones de esta asimetría. Previamente mostramos que en la rata macho la hemicastración izquierda provoca un aumento en el número de espermatozoides, mientras que el grupo de animales con hemicastración derecha, el número y viabilidad de los espermatozoides disminuyeron de manera significativa, así como la fertilidad en un 50 %. Estos resultados se acompañan con cambios en la morfología dendrítica de las neuronas piramidales de los núcleos CA1 y CA3 del hipocampo de ratas hemicastradas.

Por lo que en este trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis histomorfométrico de los testículos de ratas Long Evans hemicastradas del lado izquierdo (HI) o el lado derecho (HD) o con operación simulada del lado izquierdo (OSI) o derecho (OSD) a los 21 días de edad y sacrificadas los tres meses de edad. Nuestros resultados mostraron que la hemicastración en el grupo HI provocó un aumento en el área del túbulo seminífero, área del lumen y área del epitelio germinal, en comparación con su operación simulada (OSI).

Los resultados obtenidos en esta investigación, nos permiten apoyar la idea de una respuesta asimétrica de los testículos en la espermatogénesis, presentando mayor respuesta compensatoria el testículo derecho en comparación al testículo izquierdo.

1. INTRODUCCIÓN

El sistema reproductor tiene diversas funciones en los vertebrados, quizá una de las más importantes es la producción de gametos, células haploides especializadas en la transmisión de información genética durante la eyaculación. Todos los organismos pluricelulares tienen un periodo de vida limitado, y la supervivencia requiere de un mecanismo que permita la producción de nuevas generaciones de la misma especie, es decir, la capacidad de reproducción. El sistema reproductor masculino puede dividirse en gónadas, conductos, vesículas asociadas y órganos reproductores. Las gónadas masculinas se denominan testículos, los cuales se encargan de la producción de gametos (espermatozoides) además de sintetizar hormonas esteroides y peptídicas. La reproducción en los machos es una función integrada, la cual depende de las diversas interacciones hormonales y nerviosas del sistema central, hipotálamo, hipófisis y testículo.

El sistema reproductor masculino en mamíferos comprende: testículos, epidídimos, conductos deferentes, glándulas sexuales accesorias y pene. Las células de Leydig se encuentran localizadas en los testículos, adyacentes a los túbulos seminíferos. Secretan andrógenos que inducen la diferenciación del conducto mesonéfrico (o de Wolff) del epidídimo, conducto deferente, algunas de las glándulas sexuales accesorias y de los genitales externos (Setchell *et. al.*, 2006). Las células de Sertoli son células somáticas de los testículos, esenciales para la formación de los testículos y el proceso de espermatogénesis en el adulto, además de ejercer un papel importante en la regulación de la hormona folículo estimulante y la testosterona (Griswold, 1998).

La determinación sexual en los mamíferos se basa en la cascada génica que se presenta en las gónadas; las cuales participan para determinar el fenotipo sexual. El desarrollo de la gónada comienza con la expresión del factor determinante testicular (FTD) codificado por el gen SRY (sex determining región on Y-chromosome), el cual hace que el testículo se desarrolle a partir de una gónada

bipotencial indiferenciada, localizado en la posición Yp11.3 (Sinclair et. al. 1991, Gubbay et. al. 1990). La determinación sexual en los mamíferos se basa en el control de la cascada génica que se lleva a cabo en las gónadas. El gen SRY, está presente en el brazo corto del cromosoma Y, el cual conduce a la diferenciación testicular por medio de una cascada de fenómenos, pues activa a otros genes (Sox9, Sox8, Fgf9, Dmrt1, y Dax1), que estimulan el desarrollo de las células de Leydig y los túbulos espermáticos; y mediante el factor determinante testicular (TDF) que regula la producción del antígeno HY (regulador de la histocompatibilidad entre sexos), los cuales contribuyen a la diferenciación sexual (Bajo et. al; 2009). El SRY sólo se produce durante un período corto de tiempo en las células somáticas de los cordones gonadales, durante determinado tiempo se diferencian las células de Sertoli, necesarias para el desarrollo gonadal.

1.1 Estructura de los testículos

Los testículos de los mamíferos son órganos ovoides pares contenidos dentro del escroto afuera de la pared abdominal, suspendidos de los cordones espermáticos y adheridos al escroto por los ligamentos escrotales, el testículo izquierdo habitualmente está situado en una posición más inferior que el testículo derecho. Poseen una resistente cápsula fibrosa, la túnica albugínea, que se engruesa en su parte posterior e interna y forma un relieve denominado mediastino del testículo, el cual envía dentro del testículo tejido conectivo a la pared interlobular denominado septo o septula. Cuando estos son muy pequeños, también cubre el conducto del epidídimo, cuyo interior contiene un gran número de túbulos seminíferos contorneados, productores de espermatozoides mediante el proceso de espermatogénesis, además de la producción de testosterona (T) y otras hormonas (Figura 1) (Constantinescu, 2007). Estas hormonas características del sistema reproductor masculino determinan el estado fisiológico de los conductos, glándulas accesorias y condicionan la aparición de los caracteres sexuales secundarios (Ruíz, 1998).

El desarrollo y organización de las células de Sertoli y las células espermáticas en los túbulos seminíferos es muy importante para la función testicular (Orth, 1993). Las células de Sertoli proporcionan nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes vitales a las células germinales.

La superficie de los testículos está recubierta por la capa visceral de la túnica vaginal, excepto en la zona donde los testículos se unen al epidídimo y cordón espermático. La túnica vaginal es un saco peritoneal cerrado que rodea al testículo, la capa visceral de la túnica vaginal está íntimamente aplicada sobre el testículo, el epidídimo y la parte inferior del conducto deferente (Figura 1) (Moore, 2003g).

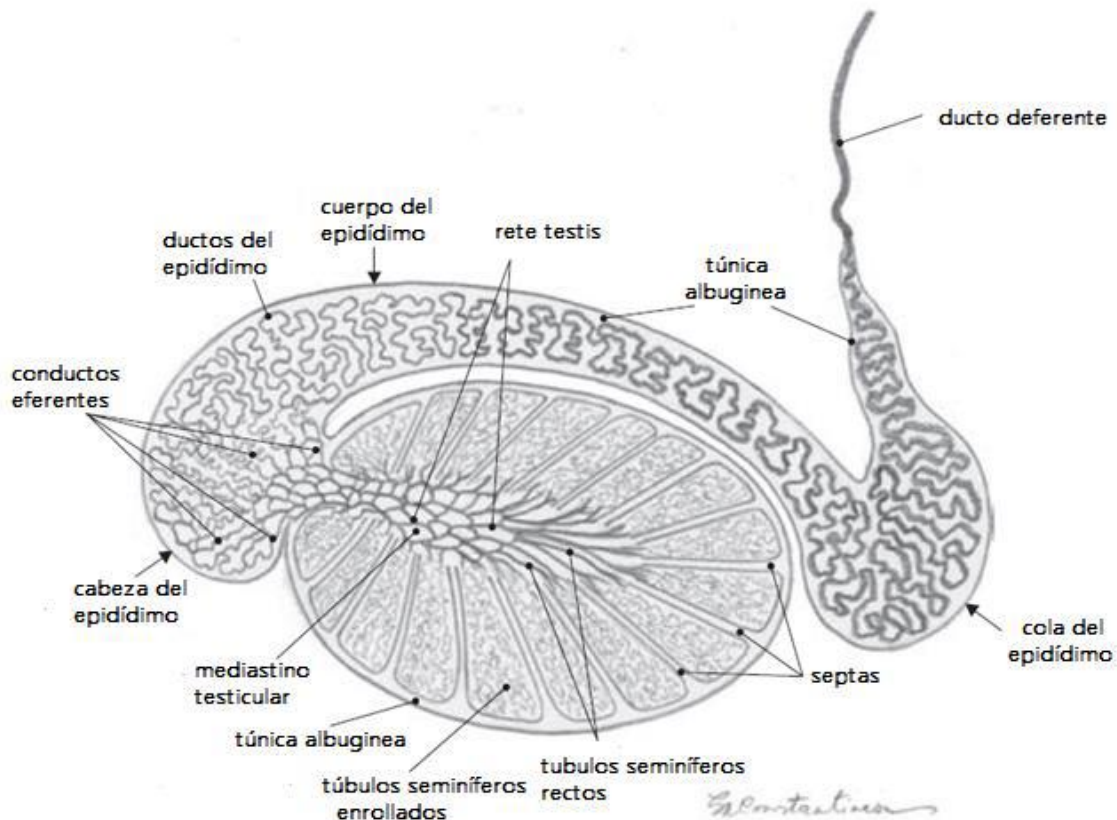


Figura 1. Organización interna del testículo y el epidídimo. Tomado de Constantinescu, 2007.

1.2 Túbulos Seminíferos

Los túbulos seminíferos (Figura 2) forman parte de la estructura de los testículos y su función principal es la producción de espermatozoides, aparecen a una edad muy temprana del desarrollo embrionario, aproximadamente entre los 43 – 50 días después de la concepción. Los túbulos se componen de dos tipos de células: células germinativas y células sustentaculares.

Las células germinativas son aquellas que terminan por convertirse en espermatozoides a través del proceso de división celular denominado Meiosis.

Las células sustentaculares o células no germinativas son las células de Sertoli, aparecen alrededor del día 42 y se localizan en la membrana basal formando una capa continua que se conecta por uniones intercelulares alrededor de la circunferencia de cada túbulo seminífero formando una barrera hematotesticular, las moléculas de la sangre deben atravesar por el citoplasma de las células de Sertoli antes de entrar a las células germinales. De esta manera la barrera evita que el sistema inmunitario sensibilice a los antígenos en el espermatozoide en desarrollo y por ende evita la destrucción autoinmunitaria del mismo. El citoplasma de las células de Sertoli se extiende desde la membrana basal hasta la luz del túbulo seminífero (Figura 2) (Fox, 2014).

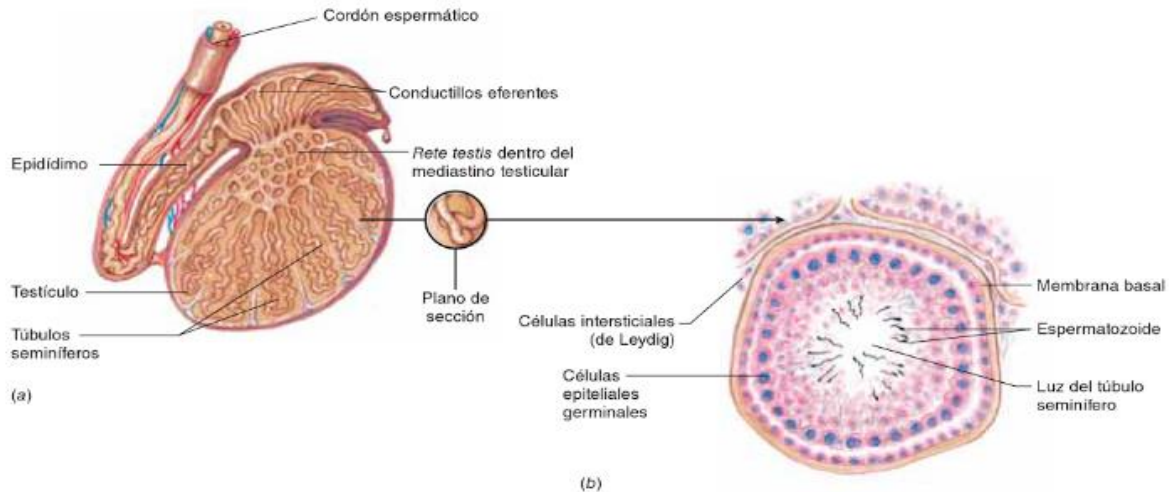


Figura 2. Diagrama que representa los túbulos seminíferos en donde se puede apreciar a) Corte sagital de un testículo y b) corte transverso del túbulo seminífero. Tomado de Fox, 2014.

1.3 Histología de los testículos

Los testículos están cubiertos por una cápsula testicular formada por tejido epitelial y tejido conjuntivo, a su vez está formada por dos capas o túnicas: siendo la más externa la túnica vaginal, formada por células mesoteliales derivadas del peritoneo y tienen una cápsula de tejido conjuntivo denso. Mientras que la capa interna corresponde a la túnica albugínea, formada por tejido conjuntivo fibroelástico denso y algunas células musculares lisas, dentro de la misma se localiza un estrato o capa vascular. La cual se proyecta al interior del órgano, formando el mediastino testicular; zona en la que se localizan vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y los conductos intratesticulares.

A partir del mediastino testicular se forman tabiques que se encargan de dividir al testículo en lóbulos, cada uno contiene de 1 – 4 túbulos seminíferos; los cuales están formados por la membrana basal o túnica propia y el epitelio germinal o seminífero.

El epitelio germinal o seminífero es un tipo de epitelio estratificado formado por dos clases de células: células de Sertoli o sustentaculares y las células espermatogénicas (Figura 3) (Fortoul, 2013). Las células germinales proliferan en este epitelio, atraviesan la meiosis y se diferencian hasta llegar a espermatozoides (Welsh et. al; 2006).

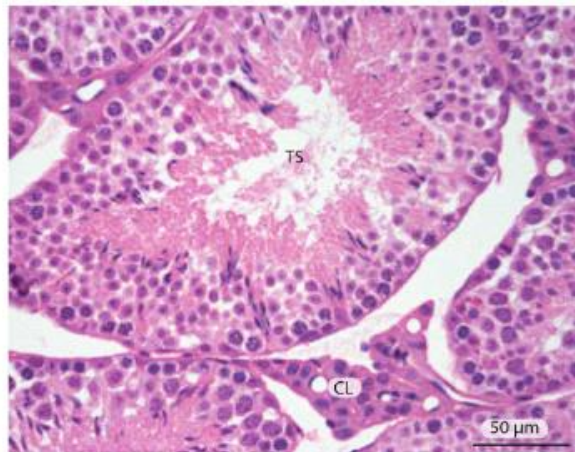


Figura 3. Fotomicrografía de un corte histológico de testículo en donde se observa parte de un túbulo seminífero (TS) y en la parte intersticial a un grupo de células de Leydig (CL). Técnica de tinción: H-E. Tomado de Fortoul, 2013.

1.4 Epidídimo

El epidídimo es una estructura alargada localizada en la superficie posterior del testículo y está conformado por conductos eferentes y conductos epididimales rodeado por la túnica albugínea testicular, desarrollado del conducto mesonéfrico. Los conductos epididimales están compactados dentro de la túnica y son extremadamente largos en todas las especies de mamíferos. En algunos mamíferos las regiones del epidídimo han sido clasificadas en base a la estructura del epitelio y morfología macroscópica, se diferencia la cabeza, cuerpo y cola. La cabeza es la parte superior ensanchada que contiene los conductos eferentes del

testículo y los conductos epididimales, en esta región se reciben los espermatozoides y fluidos de los vasos eferentes. El cuerpo es la parte más estrecha y está formado por el conducto del epidídimo plegado, además conecta la cabeza con la cola. Los ductos eferentes y los conductos epididimales se localizan dentro de los lóbulos del epidídimo. El conducto del epidídimo continúa en el interior de la cola del epidídimo junto con el conducto deferente. La cola del epidídimo se ancla al testículo y se encarga de almacenar los espermatozoides hasta que hay una eyaculación (Figura 1) (Constantinescu, 2007).

El epidídimo es la vía de paso de los espermatozoides que provienen desde los testículos hasta su parte final (cola), convirtiéndose en la zona principal de almacenamiento de los espermatozoides maduros (Regalado, 1992).

1.5 Glándulas sexuales accesorias

El sistema reproductor masculino presenta tres glándulas accesorias: las glándulas bulbouretrales (Glándulas de Cowper), las vesículas seminales y la próstata, cuya función principal es la de secretar una mezcla líquida que contiene diferentes sustancias (fructosa, ácido cítrico, zinc y la fosfatasa ácida) que se agregan al semen durante la eyaculación. En muchas especies de mamíferos estas glándulas son diferentes en cuanto a tamaño y funcionamiento, debido a los niveles de andrógenos (Setchell, 2006).

Las glándulas bulbouretrales o glándulas de Cowper son dos estructuras que miden de 3 a 5 mm de diámetro, se localizan debajo de la próstata. Posee una cápsula fibroelástica, la cual contiene fibroblastos, células del músculo liso y fibras del músculo esquelético derivadas de los músculos del diafragma urogenital. Cada glándula se divide en varios lobulillos mediante tabiques derivados de la cápsula. La secreción que producen las glándulas bulbouretrales, es de un líquido alcalino,

viscoso y resbaloso que lubrica el revestimiento de la uretra, siendo la primera secreción que se expulsa después de la erección del pene.

Las vesículas seminales son dos estructuras tubulares sumamente enrolladas, aproximadamente miden 5 cm de longitud. Se localizan en la parte inferior y posterior del cuello de la vejiga y la glándula prostática; se unen a la ampolla del conducto deferente. La mucosa de las vesículas seminales está muy contorneada y forma fondos de saco similares a laberintos, estas producen un líquido alcalino rico en fructosa, prostaglandinas y fibronógeno, el cual constituye un 70% del volumen del semen.

La próstata, es la más grande de las glándulas sexuales accesorias, situada debajo de la vejiga, inmediatamente del recto y es perforada por la uretra y los conductos eyaculadores. La cápsula delgada de la glándula se compone de tejido conectivo denso irregular, colagenoso, vascularizado, entremezclado con células de músculo liso. La próstata es un conglomerado de 40 a 50 glándulas túbulo alveolares compuestas, cada glándula tiene un conducto que lleva el producto secretorio de la uretra prostática. Las células glandulares segregan un líquido alcalino de aspecto lechoso que forma parte del líquido seminal, contiene ácido cítrico, calcio y varias enzimas (Guillamas *et. al*; 2017).

1.6 Espermatogénesis

La espermatogénesis (Figura 4) es un proceso de diferenciación y proliferación celular, que se lleva a cabo en las gónadas y es de vital importancia para todas las especies que presentan reproducción sexual, el resultado de este mecanismo es la formación de los gametos masculinos (espermatozoides). Este proceso comienza cuando las células germinales de los túbulos seminíferos de los testículos se multiplican, para ingresar a la primera división meiótica y transformarse a espermatoцитos primarios. Al final de esta primera división

meiótica, en la etapa de interfase no existe duplicación del material genético, y por lo tanto los espermatoцитos primarios ahora pasaran a ser espermatoцитos secundarios, los cuales van a iniciar la segunda división meiótica, como células haploides. El resultado de las dos divisiones meióticas, origina cuatro células haploides, las cuales se denominan espermátidas redondas, y es así como ingresan a la fase de diferenciación haploide (espermiogénesis), durante esta fase las espermátidas presentan una modificación de elongación nuclear (espermátidas elongadas) y la a parición de un flagelo. La espermiogénesis finaliza con la liberación de los espermatozoides hacia el lumen de los túbulos seminíferos (Figura 3) (Wschebor, 2003).



Figura 4. Proceso de espermatogénesis. Tomado de Matorras, 2011.

La espermatogénesis (Figura5) se lleva a cabo en los túbulos seminíferos, los cuales están constituidos por las células de Sertoli, encargadas de brindar sostén y nutrir a los gametos en diferenciación, de igual manera forma la barrera hemato-

testicular. La regulación de la espermatogénesis se lleva a cabo bajo influencias hormonales, que implica la relación entre el eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo. La LH es secretada por la hipófisis, la cual estimula a las células de Leydig, que participan en la regulación y producción de los espermatozoides (O'Donnell et al., 2006).

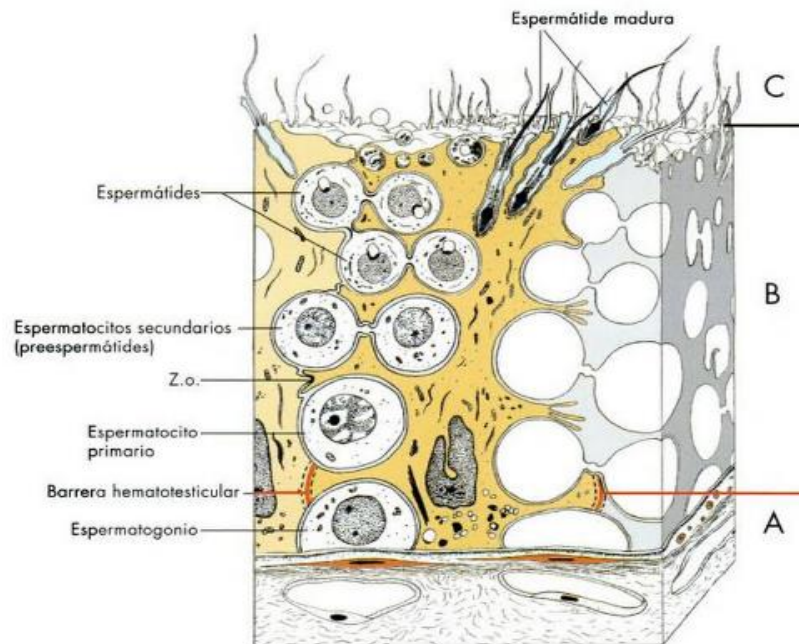


Figura 5. Espermatogénesis entre dos células de Sertoli (color anaranjado). Las etapas del desarrollo de los espermatozoides están representadas esquemáticamente. Compartimento basal con espermatogonias (A). Compartimento adluminal con espermatoцитos primarios, secundarios y espermatídes (B). Compartimineto luminal (C). Zona occludens (Z.o.) – compartimento luminal. Tomado de Rohen, 2007.

1.7 Inervación

Los órganos del sistema reproductor masculino en mamíferos presentan doble inervación, proveniente de fibras nerviosas post-ganglionares parasimpáticas y simpáticas, las cuales pertenecen al sistema nervioso central (SNC).

Las fibras nerviosas simpáticas se encuentran en el área intermedio lateral de la médula espinal torácica inferior y en los segmentos lumbares superiores de la misma. Las fibras nerviosas parasimpáticas proceden del núcleo dorsal vago y del núcleo sacral parasimpático. Las fibras post-ganglionares que inervan a los testículos se originan del ganglio paraventral o pélvico. Además de los neurotransmisores clásicos del sistema nervioso autónomo de las fibras nerviosas y los órganos, existen otro tipo de neurotransmisores y neuropéptidos que incluyen la serotonina, polipéptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P (SP), péptido generador de calcitonina y galactina (Gerendai, 2004).

El testículo es inervado por el nervio espermático superior (SSN) y el nervio espermático inferior (ISN). El nervio espermático superior, es el principal contribuyente de la inervación testicular. La información neural que recibe el testículo participa en el control del flujo sanguíneo testicular y la producción de testosterona. También tiene un papel regulador sobre el comportamiento endócrino del órgano (Gerendai, 2004).

Existen estructuras conectadas transneuronalmente con las gónadas las cuales se encargan de controlar las funciones gonadales independientes de la hipófisis. Este control neural directo es considerado un mecanismo de control de ajuste, estas estructuras fueron descritas por técnicas de rastreo viral, donde marcan las células nerviosas vinculadas, en las diferentes regiones del tronco cerebral (A1, A5, A7 noradrenérgicas, núcleo del raphe caudal, locus coeruleus), diencefalo (núcleo hipotalámico paraventricular) y el telencefalo (base del núcleo de la estría terminal, núcleo central de amígdala, corteza frontal, corteza insular), involucradas en la respuesta fisiológica del testículo (Gerendai *et. al.*,2005).

Las fibras simpáticas que llegan a los testículos, proyectan sus axones a través del SSN y del ISN. El SSN se origina de los plexos mesentérico y renal e ingresa junto a la arteria testicular, mientras que el ISN se deriva del plexo pélvico y mesentérico inferior, recorriendo a lo largo del conducto deferente, inervando

primero al epidídimo y después al testículo (Kuntz et. al 1946, Rauchenwald et al., 1995).

La inervación del epidídimo y el conducto deferente se deriva del ganglio mesentérico inferior y el plexo pélvico a través del hipogástrico inferior y de los nervios espermáticos medios (Setchell, 2006). El nervio espermático inferior acompaña al conducto deferente, el cual continúa y se desplaza dentro del epidídimo, llegando a los testículos. Las fibras sensoriales se encuentran en todos los tractos nerviosos, estas viajan con el nervio pélvico a la raíz dorsal de la médula espinal del segmento T10, con los nervios sacros al tronco simpático y suben hasta la médula espinal (Kamazawa, 1986).

1.8 Fibras sensoriales

El sistema nervioso periférico está compuesto por un conjunto de nervios y ganglios, los cuales establecen una comunicación entre la médula espinal y el encéfalo con el resto del cuerpo.

Los nervios periféricos se componen por distintos tipos de axones, los cuales se clasifican de acuerdo a tamaño, función o característica fisiológica. La clasificación de los axones reconoce fibras aferentes (sensoriales) y fibras eferentes (motoras). Estos términos hacen alusión a la dirección en que los axones envían información al SNC sobre hechos que se producen en la periferia, siendo las fibras eferentes encargadas de esta acción. Los axones se clasifican según su velocidad de conducción que a su vez es proporcional a su tamaño. Si un nervio periférico es estimulado eléctricamente y se registra la actividad evocada a cierta distancia a lo largo del nervio, se registra una onda de actividad eléctrica. La onda es generada por la cantidad de actividad de cada uno de los axones del nervio involucrados. Estas ondas se clasifican en ondas A, B y C. La velocidad de conducción de las fibras guarda una correlación con su morfología. Los axones mielinizados conducen impulsos a mayor velocidad a diferencia de los axones amielínicos, y

entre los axones mielinizados los que conducen a mayor velocidad los impulsos son aquellos con mayor diámetro. Por tanto, la clasificación de las fibras A y B son axones mielinizados de distintos diámetros y velocidades de conducción, mientras que las fibras C son amielínicas con un diámetro pequeño y por tanto con velocidad de conducción lenta. Transmiten sensaciones de dolor, térmicas y de presión, nociceptiva. (Palastanga et. al., 2000).

Las fibras C o nociceptores son terminaciones nerviosas libres con cuerpos celulares en los ganglios de las raíces dorsales con terminación en el asta dorsal de la medula espinal, localizados por todo el cuerpo.

El daño tisular causa la liberación de varios agentes químicos (serotonina, histamina, iones de potasio, acetilcolina, sustancia P, entre otros), estos agentes son importantes factores en el desarrollo del dolor. Las prostaglandinas son mediadores locales o cofactores que aumentan la sensibilidad de las terminaciones nerviosas.

En la medula espinal, los nociceptores envían mensajes a través de la liberación de neurotransmisores del dolor: glutamato, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (Piérola, 2007).

Las fibras sensoriales en los testículos desempeñan un papel muy importante, el control del flujo sanguíneo y la regulación de la secreción hormonal (Testosterona) (Gerendai, 2004). La inervación desde y hacia los testículos ejerce una acción reguladora sobre el comportamiento endocrino del órgano. Existen estructuras cerebrales conectadas transneuronalmente con las gónadas las cuales se encargan de controlar las funciones gonadales por medio de un mecanismo independiente de la hipófisis, este control neural directo es considerado como un mecanismo de control de ajuste, estas vías fueron descritas por las técnicas de rastreo viral, donde el virus inyectado es capaz de invadir y marcar las células nerviosas de diferentes regiones del tronco cerebral telencéfalo y diencefalo (Figura 6) (Gerendai, 2005).

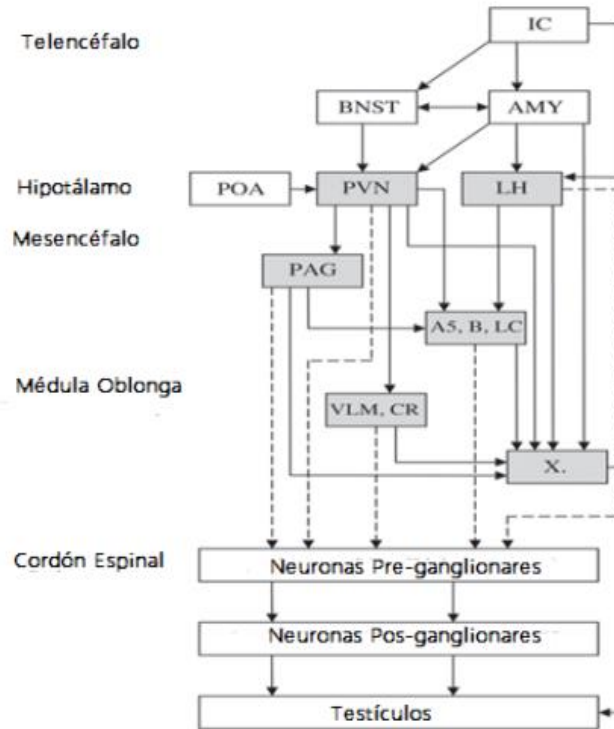


Figura 6. Esquema simplificado de las conexiones descendentes entre las estructuras del SNC hacia el testículo. A5: grupo de células noradrenergicas; AMY: amígdala; B: núcleo de Barrington; BNTS: base del núcleo de estría terminalis; CR: núcleo de raphe caudal; IC: corteza insular; LC: locus coeruleus; LH: hipotálamo lateral; PAG: Sustancia gris periacueductal; POA: área preóptica; PVN: núcleo paraventricular; VLM: médula ventrolateral; X: núcleo vagal. Modificado de Gerendai et. al. 2005.

2. ANTECEDENTES

El desarrollo y la función de los testículos en los mamíferos son controlados por el SNC y factores endócrinos. Existe gran información sobre el eje neuroendócrino en el desarrollo de los testículos, sin embargo hay muy pocos estudios sobre los efectos que produce la hemicastración en la inervación intrínseca y estructura de los testículos.

Es bien sabido que el SNC establece un control gonadal a través del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas, así como la participación de los nervios autónomos en el control de los vasos sanguíneos y vasomotores. Además de que existen evidencias que indican que la comunicación neural entre el SNC y las gónadas participan en el control de secreción de hormonas gonadales, siendo una vía independiente de la hipófisis (Jennes et al., 1995).

La denervación bilateral de los nervios espermáticos, en la rata adulta no presenta efectos en el peso testicular, la espermatogénesis, comportamiento sexual y concentraciones plasmáticas de Testosterona, cuando los animales tratados son sacrificados a las 1, 2 y 4 semanas pos – operatorias. Existe la posibilidad de que la falta de estos efectos no se presente debido al periodo de tiempo que se trataron a los animales, ya que es un tiempo muy corto. (Frankel et al., 1981).

Se ha demostrado que la técnica de rastreo transneuronal, utiliza un virus (alfa-herpesvirus), el cual tiene la capacidad de invadir y multiplicarse en las neuronas, una vez que este infectó a las neuronas de primer orden situadas en el ganglio de la raíz dorsal de los nervios espinales o en los ganglios sensitivos de los pares craneales V, VII, IX y X, sigue con las neuronas de segundo orden, se originan de los fascículos sensoriales medulares ascendentes. Siendo las que reciben los impulsos de las fibras aferentes (Torres, 2001). Las neuronas infectadas definen la vía por la cual viajan las fibras eferentes para originar la inervación del órgano, esto demuestra la vía neural entre los testículos y el cerebro (Gerendai, 2005).

En ratas Sprague-Dawley la disección de los SSN y ISN, disminuye el peso del testículo, provoca atrofia de los túbulos seminíferos y disminuye el número de espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo, también inhibe el desarrollo de espermocitos primarios a espermátides, debido a que impide el desarrollo de la meiosis de espermocitos primarios y afecta la secreción de testosterona, además todos estos defectos se mantienen en la etapa adulta, lo que sugiere que la inervación modula el desarrollo testicular y espermatogénesis de la rata (Huo et al., 2010).

También se ha demostrado que el papel de la inervación sobre el epidídimo provoca un aumento en la acumulación de espermatozoides en la cola del epidídimo, cuando a este se le realiza una denervación quirúrgica del SSN en ratas adultas. Con esto se sugiere que la inervación estimula el paso de los espermatozoides a través del epidídimo (Ricker et al., 1996).

En ratones vasectomizados, se ha demostrado que los túbulos seminíferos sufren cambios degenerativos, las capas de la membrana basal incrementan su volumen y en ratones con mayor tiempo de ser vasectomizados los núcleos de las células de la membrana basal pierden su forma alargada y ovalada. Las células de Sertoli aumentan en cuanto a tamaño y cantidad, debido a esto disminuye la espermatogénesis (Ureña y Malavasi, 1979).

Se sabe que el desarrollo testicular es regulado por las gonadotropinas pituitarias. En apoyo a lo anterior, se ha evidencia hipertrofia testicular compensatoria (CTH) en ratas adultas hemicastradas, lo que provocó un incremento en el tamaño del testículo, y por ende la longitud de los túbulos seminíferos en comparación con ratas del grupo control. Por lo que se puede considerar que la hemicastración provoca una disminución en la concentración de testosterona ante la falta del otro testículo, ejerciendo un mecanismo compensatorio que regule la secreción hormonal, hasta que el eje hipotálamo – hipófisis – testículos alcance un nuevo estado estacionario (Putra, 1982).

En la rata prepúber, la combinación de un tratamiento gonadotóxico con una orquidectomía unilateral provocó cambios en la concentración de testosterona, bajo peso testicular y una disminución de espermatogonias en los túbulos seminíferos. Estos resultados muestran que el tratamiento combinado obstaculiza negativamente el proceso de espermatogénesis en ratas tratadas en una edad prepúber, lo cual indica un déficit en la producción de espermatozoides. En cuanto a ratas adultas, el tratamiento combinado muestra una respuesta compensatoria relacionada con un aumento en el peso testicular, lo que indica una mayor producción de espermatozoides, es posible que dicha respuesta se deba a la maduración sexual de las ratas (Rombaut, 2016).

Se ha reportado que la denervación testicular mediante la sección de SSN y el ISN provoca cambios apoptóticos en las células de Leydig, como la condensación de cromatina, atrofia y la formación de cuerpos apoptóticos, lo que sugiere que la inervación no sólo regula el proceso de espermatogénesis, sino también se involucra en el desarrollo y la supervivencia de las células de Leydig (Gong et. al, 2009).

3. JUSTIFICACIÓN

Existen evidencias que muestran que la inervación extrínseca regula la secreción de andrógenos y la espermatogénesis. También se ha mostrado mediante estudios inmunohistoquímicos y fisiológicos la existencia de una comunicación neural entre los testículos y el sistema nervioso central de los mamíferos. Por ejemplo, se han observado la presencia de fibras inmunoreactivas a catecolaminas y neuropeptidos como el NPY. Dichas células presentan principalmente una forma ganglionar. Este tipo de inervación se les ha designado como inervación intrínseca. Poco se sabe acerca de cómo la inervación modula las funciones del testículo. Por lo que en este estudio se analizarán los efectos de la hemicastración sobre la histología del testículo remanente.

4. HIPÓTESIS

Hemos mostrado previamente que la hemicastración realizada en la rata macho a los 21 días de edad provoca una respuesta asimétrica del testículo *in situ* en la producción de espermatozoides, siendo mayor cuando el testículo *in situ* es el derecho. Dado que la hemicastración implica una pérdida de la comunicación por vía neural entre el testículo extirpado y el SNC. Hemos sugerido que el testículo derecho tiene una mayor comunicación neural con el SNC que la que tiene el izquierdo. Entonces los testículos derechos de los animales con hemicastración izquierda presentarán menos alteraciones morfométricas en los túbulos seminíferos que los testículos izquierdos de los animales del grupo con hemicastración derecha.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

- Realizar un análisis morfométrico de los túbulos seminíferos (área total, área del epitelio germinal y área del lumen) del testículo *in situ* en las ratas con hemicastración izquierda o derecha o con operación simulada realizada a los 21 días postnatales y sacrificadas a los tres meses de edad.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar el análisis morfométrico del área del túbulo seminífero del testículo *in situ* en las ratas con hemicastración izquierda o derecha o con operación simulada realizada a los 21 días y sacrificadas a los tres meses de edad.
- Realizar el análisis morfométrico del área del lumen del testículo *in situ* en las ratas con hemicastración izquierda o derecha o con operación simulada realizada a los 21 días y sacrificadas a los tres meses de edad.
- Realizar el análisis morfométrico del epitelio germinal del testículo *in situ* en las ratas con hemicastración izquierda o derecha o con operación simulada realizada a los 21 días y sacrificadas a los tres meses de edad.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el presente proyecto se utilizaron 30 ratas machos de la cepa Long Evans de 21 días de edad del bioterio "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales de bioterio: libre acceso al alimento y agua, en un ciclo constante de luz-oscuridad 14/10 hrs. conforme la NOM-060-ZOO1999, que establece el uso y cuidado de animales de laboratorio. Los animales se dividieron en 5 grupos equitativamente: hemicastración izquierda (HI-n=6), operación simulada izquierda (OSI-n=6), hemicastración derecha (HD-n=6), operación simulada derecha (OSD-n=6), testigo absoluto (TA-n=6).

6.1 Hemicastración

Los animales hemicastrados o con operación simulada fueron anestesiados con ketamina/xilacina en dosis de 0.20 ml/kg ip, en la región genital se colocó una solución de detergente líquido con antiséptico, con el objetivo de desinfectar la zona. Posteriormente se les realizó una laparatomía y se expuso el testículo correspondiente. A los animales con hemicastración se ligaron las arterias espermáticas y se procedió a extirpar el testículo correspondiente se suturó el músculo y la piel, mientras que los animales con operación simulada se les realizó el mismo procedimiento sin extirpar la gónada. Una vez suturados los animales se les colocó una solución de alcohol yodado. Finalmente, un grupo más de animales no recibió ningún tratamiento y servirá como grupo testigo absoluto (TA).

6.2 Análisis histológico de Túbulos Seminíferos

Una vez sacrificados los animales de cada grupo se fijaron los testículos en solución Bouin. Transcurridas 12 hrs. en esta solución cada testículo se cortó por la mitad y se dejó otras 12 hrs. en el fijador. Pasadas las 12 horas se realizó un cambio de Bouin por alcohol al 70%, con respectivos lavados sucesivos de alcohol

70% hasta disminuir el color amarillo que deja el Bouin al órgano, para posteriormente realizar los siguientes cambios crecientes de alcohol y cloroformo:

- 3 hrs de Alcohol 96%.
- 3 hrs de Alcohol 100%
- 24 hrs de Cloroformo
- 2 hrs de Cloroformo

Deshidratado el tejido se procedió a la inclusión en parafina durante 3 hrs. Listos los cubos de parafina se realizaron cortes de 10 μ m en micrótomo manual (modelo: erma Tokyo). Se utilizó la técnica de tinción Hematoxilina-Eosina (H-E) por lo que se procedió a desparafinar los cortes en una cámara de formol durante 24 hrs. para después pasarlos al tren de tinción H-E de la siguiente manera:

- 1.5 min. Xilol
- 1.5 min. Xilol
- 1.5 min -OH 100%
- 1.5 min. -OH 96%
- 1.5 min. Agua destilada
- 1.5 min. Hematoxilina de Meyer
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 15 seg. Eosina
- 1.5 min -OH 96%

- 1.5 min. –OH100%
- 1.5 min Carbol-Xilol
- 1.5 min Xilol

Terminado el proceso, los cortes histológicos fueron cubiertos con resina sintética para su análisis por microscopía. El análisis morfométrico se hizo en un microscopio óptico (Zeiss) equipado con un sistema de captura de imágenes y el software Motic versión 9.1.

6.3 Análisis morfométrico de los Túbulos Seminíferos

Una vez teñidos y montados los cortes, se eligieron a 5 individuos de cada grupo, cada uno con sus respectivas laminillas de testículo derecho e izquierdo. Se seleccionaron de 45 a 60 cortes de cada testículo. El procedimiento para el análisis morfométrico se realizó de la siguiente manera:

- Solo se utilizaron cortes de testículo (derecho-izquierdo) completos de la parte media del testículo.
- De cada corte seleccionado se tomó una micrografía mediante un microscopio óptico con un analizador de imagen conectado a una computadora.
- Cada micrografía presentaba de 5 a 10 túbulos seminíferos, solo se utilizaron aquellos que estaban completos dentro de la micrografía.
- Se midió el área total del túbulo seminífero, área del lumen y el área del epitelio germinal, de 100 túbulos de testículo derecho y testículo izquierdo de los 5 individuos de cada grupo respectivamente, mediante el programa Motic, dibujando un círculo para cada uno de los parámetros; para el área del epitelio se realizó la resta del área del lumen al área total del túbulo seminífero.

6.4 Análisis Estadístico

El análisis morfométrico de los túbulos seminíferos se realizó en un microscopio óptico (Zeiss) equipado con el analizador de imagen Motic versión 9.1, a los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) el programa Graph Pad Prism 6.0. Se aceptaron aquellas diferencias en las que la probabilidad fue de ≤ 0.05 .

7. RESULTADOS

Nuestros resultados mostraron que la hemicastración izquierda (HI, testículo derecho *in situ*) realizada en ratas macho de 21 días de edad provocó a los tres meses de edad un incremento del área de los túbulos seminíferos del testículo *in situ* en comparación al testículo derecho *in situ* del grupo con operación simulada izquierda (OSI, Figura 6).

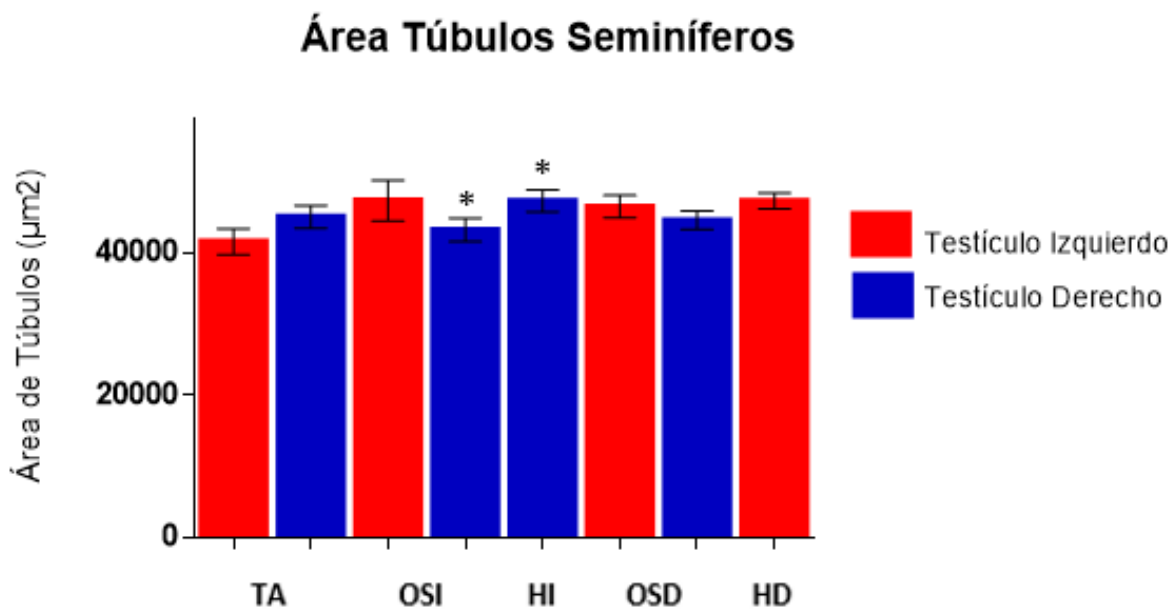


Figura 7. Gráfica que representa la Media \pm e.e.m. del área total de los túbulos seminíferos de testículo derecho e izquierdo, de ratas sacrificadas a los tres meses de edad que fueron testigo absoluto (TA) o sometidas a los 21 días de edad a operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) o con hemicastración izquierda (HI) o derecha (HD). (* $p < 0.05$; prueba ANOVA).

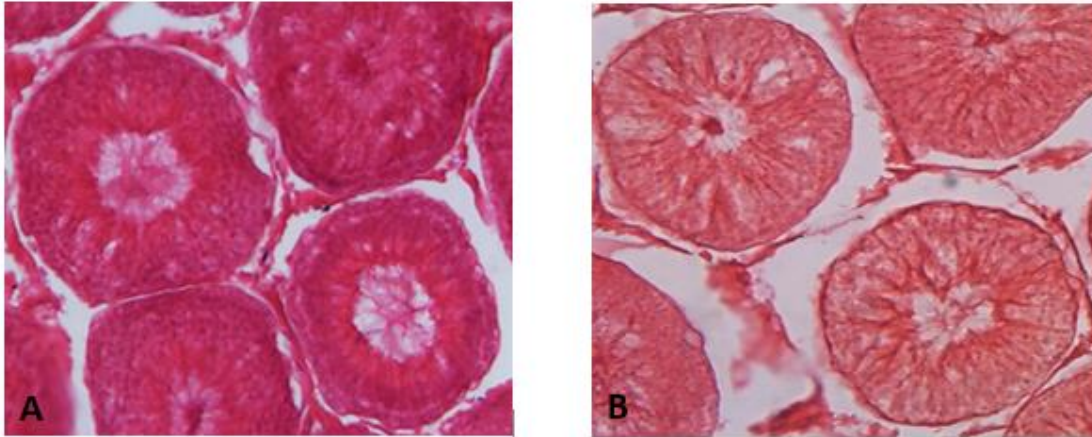


Figura 8. Micrografía de túbulos Seminíferos del testículo derecho de ratas sacrificadas a los tres meses de edad. **A.** Túbulos seminíferos de ratas que fueron sometidas a los 21 días de edad a operación simulada izquierda (OSI). **B.** Túbulos seminíferos de ratas que se les realizó a los 21 días de edad una hemicastración izquierda (HI). Tinción HE, 400x.

Con respecto al área luminal, también se observaron diferencias significativas entre los grupos con HI y OSI (testículo derechos *in situ*), mostrando un aumento significativo en el área luminal de los túbulos seminíferos con respecto al grupo OSI.

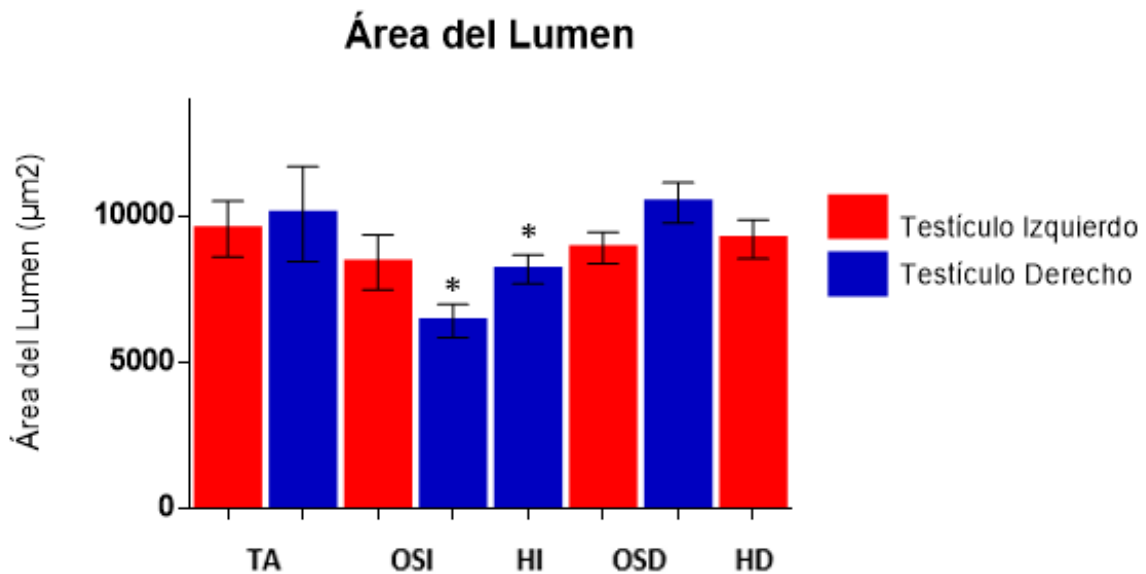


Figura 9. Gráfica que representa la Media \pm e.e.m. del área del lumen de los túbulos seminíferos de testículo derecho e izquierdo, de ratas sacrificadas a los tres meses de edad que fueron testigo absoluto (TA) o sometidas a los 21 días de edad a operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) o con hemicastración izquierda (HI) o derecha (HD). (* $p < 0.05$; prueba ANOVA).

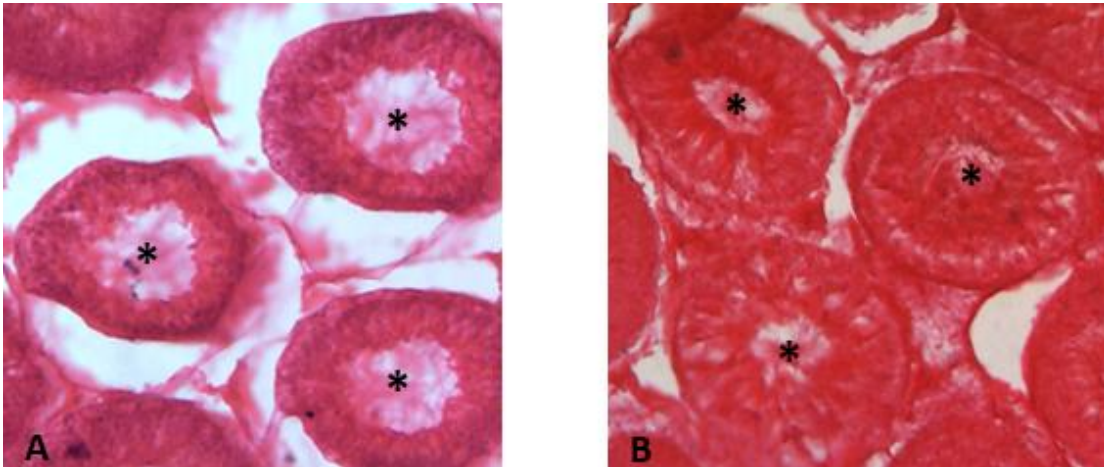


Figura 10. Micrografía del lumen (*) de túbulos seminíferos del testículo derecho de ratas sacrificadas a los tres meses de edad. **A.** Túbulos seminíferos de testículo derecho, de ratas que fueron sometidas a los 21 días de edad a operación simulada izquierda (OSI). **B.** Túbulos seminíferos de ratas que se les realizó una hemicastración izquierda (HI) a los 21 días de edad. Tinción HE, 400x.

La HI provocó un aumento significativo en el área del epitelio germinal de los túbulos seminíferos en comparación a los del grupo OSI (Figura 10).

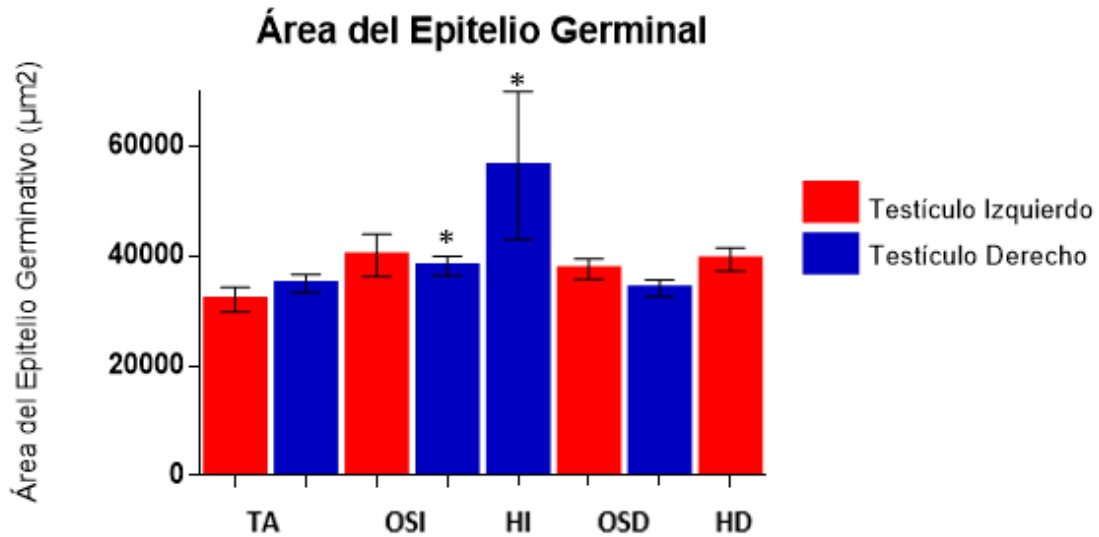


Figura 11. Gráfica que representa la Media \pm e.e.m. área del epitelio germinal de los túbulos seminíferos de testículo derecho e izquierdo, de ratas sacrificadas a los tres meses de edad que fueron testigo absoluto (TA) o sometidas a los 21 días de edad a operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD) o con hemicastración izquierda (HI) o derecha (HD). (* $p < 0.05$; prueba ANOVA).

8. DISCUSIÓN

En nuestro estudio el análisis morfométrico mostró que la hemicastración izquierda provocó un incremento significativo en el área total de los túbulos seminíferos, área de lumen y área del epitelio germinal, en comparación al testículo derecho de su operación simulada. Esta respuesta asimétrica apoya lo reportado por Frankel et al., (1988), quienes mostraron que en la rata macho hemicastrado cuando se queda el testículo derecho *in situ*, es decir en la hemicastración izquierda, tiene una mayor respuesta compensatoria en la secreción de testosterona que cuando queda *in situ* el testículo izquierdo (hemicastración derecha). Es posible que esta respuesta asimétrica de los testículos se deba a que el testículo y el epidídimo derechos reciben una mayor cantidad de fibras nerviosas que el lado izquierdo. Al momento no existe un estudio anatómico que respalde esta hipótesis, tal y como ya se ha demostrado en los ovarios que son órganos pareados, que el ovario izquierdo tiene una mayor respuesta compensatoria que se relaciona con una mayor inervación que el ovario derecho Gerendai et al., (2001). En apoyo a todo lo anterior, se ha demostrado en ratas adultas la participación de la inervación en la respuesta compensatoria del testículo, mediante la eliminación de fibras sensoriales y simpáticas a través de la sección del ISN o ISN – SSN, tiene como resultado una disminución en la secreción de testosterona, pero no en la secreción de LH y FSH, lo que sugiere que el efecto es independiente de la acción de las gonadotropinas. En la rata macho dicha respuesta disminuye con la sección del SSN, lo que sugiere que las principales fibras que inervan a los testículos son las fibras eferentes, las cuales provienen de los ganglios pélvicos y de la cadena simpática del ISN en lugar del SSN. Esto indica que los nervios espermáticos (ISN – SSN) participan en la regulación de la testosterona testicular (Zhu et al., 2000). En nuestro estudio sugerimos que la hemicastración modifica la comunicación neural bidireccional que presenta los testículos y el SNC, gran parte de las estructuras involucradas en esta comunicación han sido descritas por Gerendai et al., (2005). Además, sugerimos que esta comunicación neural que mantiene el testículo izquierdo con el SNC es diferente a la comunicación del testículo derecho con el SNC. Es necesario realizar más estudios para probar dicha hipótesis.

Por otra parte, se sabe que los testículos, el epidídimo y el conducto deferente reciben inervación aferente y eferente que se deriva de un grupo de ganglios; mesentérico caudal, hipogástrico y pélvico, los cuales están cercanos a la médula espinal. El testículo es inervado por los nervios espermáticos (ISN – SSN) a través de fibras nerviosas, las cuales se encargan de llevar información. El SSN se deriva principalmente del ganglio mesentérico caudal en la mayoría de las especies, pero en el caso de los humanos se deriva de los plexos celíaco, aórtico y directamente de los nervios espláncnicos lumbares. Las fibras del SSN inervan a los testículos junto con los vasos sanguíneos. Mientras que el ISN se deriva del plexo pélvico, contiene fibras simpáticas y parasimpáticas, se extiende a lo largo del conducto deferente hasta la cauda del epidídimo, desde aquí los nervios llegan al testículo a través de la conexión ligamentosa entre la cola del epidídimo y extremidad caudal del testículo. Las fibras nerviosas que suministran al conducto deferente provienen del ganglio mesentérico y el plexo pélvico, a través de los nervios hipogástricos. Estas fibras son de tipo adrenérgico, purinérgico, colinérgico y peptidérgico, las cuales se asocian con elementos epiteliales musculares, vasculares (Setchell, 2006).

En un estudio realizado por Malavasi Y Ureña (1980) en hámsters vasectomizados, en el cual el conducto deferente es cortado transversalmente y los extremos libres ligados, encontraron cambios estructurales y fisiológicos en los túbulos seminíferos, tales como el engrosamiento de la membrana basal debido a la separación de sus capas, así como un aumento de volumen en las células de los epitelios que conforman la membrana del túbulo. En cuanto al epitelio germinativo, en animales vasectomizados con un periodo mayor a 8 meses, la espermatogénesis cesa debido a los cambios degenerativos que sufren los túbulos seminíferos, solo se presentan espermatogonios tipo A y células de Sertoli, lo cual indica la destrucción de las células y el aumento de fagocitosis por parte de las células de Sertoli. Las células que presentan más alteraciones son los espermatocitos y las espermátides en sus diferentes estadios de la espermiogénesis y los espermatozoides, Probablemente estas diferencias son en parte debido a la destrucción de las fibras nerviosas aferentes y eferentes por

efecto de la vasectomía, lo que impide la comunicación neural, y por lo tanto alteraciones en la comunicación neuroendocrina y/o neural que regulan la espermatogénesis por lo que se observan las alteraciones histológicas mencionadas anteriormente. Este mismo grupo de investigadores han mostrado que la vasectomía también provoca cambios histológicos en el epidídimo como son alteraciones en las células claras del epitelio, modificación en los cilios, una acumulación de cuerpos densos y vacuolas en el citoplasma. Además de una disminución significativa de gametos en el lumen de los tubos del epidídimo, lo cual disminuye el proceso de meiosis. Lo que puede estar asociado a la producción de anticuerpos debido al bloqueo que provoca la vasectomía, ocasionando una obstrucción del fluido seminal originando la destrucción de los espermatozoides en el epidídimo y una malformación de los mismos (Ureña y Malvasi, 1981). A pesar de que en nuestro trabajo no realizamos ligadura en el cuerpo del epidídimo, estos resultados pueden estar asociados a nuestro análisis morfométrico ya que el grupo sometido a una hemicastración, donde las arterias espermáticas se ligaron mostró cambios en el área total del túbulo seminífero y un incremento el área total del lumen, lo que apoyaría la idea de que la información neural se modifica al realizar la hemicastración.

Esta idea también es respaldada por los resultados obtenidos por Mehmet y Timurkaan (2014), quienes demostraron que los túbulos seminíferos sufren alteraciones degenerativas, cuando las ratas son sometidas a una ligadura en el cuerpo del epidídimo. La obstrucción que genera la ligadura del epidídimo en ratas al día 90 y los 120 días provocó un aumento en el diámetro de los túbulos seminíferos y el espesor del epitelio germinal, así como el engrosamiento de la membrana basal. Estos cambios se deben a la ligadura en el epidídimo, que genera una obstrucción intratubular en los testículos postobstructiva, haciendo que se detenga el flujo sanguíneo causando hipoxia y el deterioro de la vasomoción, lo que conduce a cambios en el proceso de espermiogénesis y espermatogénesis.

Todo lo anterior nos permite suponer que la vasectomía afecta la comunicación que va desde los conductos deferentes hacia los testículos, ya que la inervación

de los conductos deferentes proviene del plexo hipogástrico inferior y presenta un gran cantidad de fibras nerviosas autónomas, lo que facilita una rápida contracción para la expulsión de los espermatozoides durante la eyaculación (Moore et. al; 2003).

En este estudio demostramos que en ratas a los 21 días de edad sólo la hemicastración derecha provocó alteraciones morfométricas significativas en los túbulos seminíferos del testículo izquierdo disminuyendo de manera significativa el área de epitelio germinal que pueden estar asociada a que éste testículo mantenga una menor comunicación neural con el SNC por lo que es más sensible cuando hace falta el testículo derecho, por lo tanto observamos una inhibición o retraso de la espermatogénesis.

Estudios han demostrado que el papel de la inervación que reciben los testículos y los epidídimos regula el paso de los espermatozoides, almacenamiento y acumulación de los mismos. En la rata macho adulta la sección a nivel epidididimal del SSN, provoca un aumento en el número de espermatozoides en la cola del epidídimo, y con esto incapacidad en el desarrollo embrionario después de la fertilización, como consecuencia de un almacenamiento prolongado de los espermatozoides en la cauda epididimal (Ricker et al., 1996). Lo que sugiere que la inervación simpática y/o sensorial tiene un papel muy importante en transporte de los espermatozoides a través del epidídimo. En nuestro trabajo sugerimos que el aumento en el área del epitelio germinal del testículo derecho está relacionado con un efecto estimulador en la espermatogénesis. Tal y como ha sido reportado por González et al., (2016) quienes observaron un incremento significativo en el número de espermatozoides del testículo derecho de ratas con hemicastración izquierda. Es decir, nuestros resultados respaldan histológicamente un incremento de la espermatogénesis sugerido por los autores de dicho trabajo.

A pesar de que en nuestro trabajo no realizamos ligadura en el cuerpo del epidídimo, estos resultados pueden estar asociados a nuestro análisis morfométrico ya que el grupo sometido a una hemicastración, donde las arterias espermáticas se ligaron mostró cambios en el área total del túbulo seminífero y un

incremento el área total del lumen, lo que apoyaría la idea de que la información neural se modifica al realizar la hemicastración.

En apoyo a lo anterior se ha visto que la sección de los SSN e ISN en la rata prepúber, disminuye el peso testicular, que puede estar asociado a un incremento de la apoptosis de las células de Leydig y las células germinales, lo que conlleva a una disminución en la secreción de Testosterona y a un mal desarrollo de los túbulos seminíferos (Huo et al., 2010). A pesar de que en nuestro trabajo no realizamos cuantificación de testosterona podemos inferir que en los animales con hemicastración derecha, presentaron una disminución de Testosterona, tal y como ya ha sido reportado por Frankel et al (1984).

Previamente mostramos que en ratas macho denervadas sensorialmente al nacimiento mediante la administración de capsaicina provocó una disminución en el número y viabilidad de los espermatozoides, siendo significativamente mayor en el testículo izquierdo. Los datos obtenidos mediante el análisis morfométrico de los túbulos seminíferos también apoyan esta diferencia entre los testículos, siendo el testículo izquierdo quien presentó un área menor del epitelio germinal y de lumen de los túbulos seminíferos en comparación a su testículo derecho, estos resultados nos indica que el proceso de espermatogénesis fue parcialmente inhibido en la rata denervada sensorialmente al nacimiento (Hernández, 2014).

Nuestros resultados nos permiten apoyar al idea de que la inervación modula de manera estimuladora la espermatogénesis. Más aún que los testículos tienen también diferencias en la comunicación neural con el SNC probablemente en la cantidad de fibras nerviosas que reciben o incluso el tipo de fibras. Estas diferencias explicarían la respuesta asimétrica entre el testículo izquierdo y el derecho, es decir el testículo derecho tendría una mayor comunicación neural con el SNC que el izquierdo. Se requieren más estudios para esclarecer estos hechos.

9. CONCLUSIONES

La inervación neural regula de manera estimuladora el desarrollo estructural y funcional de los túbulos seminíferos de la rata.

Los testículos responden de manera diferente ante la falta de uno de ellos, siendo más sensible el testículo izquierdo sobre la regulación de la espermatogénesis.

Los testículos de la rata presentan una regulación neural asimétrica ante los diferentes cambios neuroendócrinos, siendo el testículo derecho el que presenta una mayor respuesta compensatoria.

10.PERSPECTIVAS

En este trabajo se han presentado resultados relevantes, tomando en cuenta que se sabe muy poco sobre el papel que tiene la vía neural entre las gónadas y el SNC en la regulación de los mecanismos que controlan la reproducción.

Entre las perspectivas se considera llevar a cabo, para corroborar nuestros resultados y confirmar dicha relación entre el SNC y los testículos, emplear el modelo de la rata macho hemicastrada y combinarla con secciones quirúrgicas de los (SSN – ISN). De esta manera podríamos dilucidar la participación de éstos en la respuesta compensatoria del testículo *in situ*. También se podría probar una hemicastración, en conjunto con una denervación farmacológica que nos permitiría saber qué tipo de neuronas son las que participan en en la morfología de los túbulos seminíferos y por ende la espermatogénesis.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Bajo M; Lailla M; y Xercavins J. 2009. Fundamentos de Ginecología. En: Estados intersexuales I. Alteraciones de la determinación, Alteraciones prenatales de la diferenciación pseudohermafroditismo. Eds. Pérez M; y De Diego R. 2da edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. pp. 183-197.
- Constantinescu G. 2007. Anatomy of Reproductive Organs. En: Comparative Reproductive Biology. Eds. Schatten H, Constantinescu GM. USA: Blackwell Publishing Professional. pp. 5-60.
- Frankel A., Ryan L. 1981. Testicular Innervation is necessary for the response of plasma testosterone levels to acute stress. *Biology of Reproduction*. 24: 491-495.
- Frankel A., Chapman J., y Cook B. 1998. Testes are assymetric in the testicular hemicastration response of the male rat. *J. Endocrinol*. 122(2) 485-488.
- Fox S. 2014. Fisiología Humana. En: Reproducción. 13va Edición. Ed. Médica Panamericana. pp. 700-719.
- Fortoul T. 2013. Histología y Biología celular. En: Aparato reproductor masculino. Eds. Bizarro P; y Acevedo S. 2da edición. Ed. Mc Graw Hill Interamericana editores. Pp. 279-294.
- Gerendai I., Halász B. 2001. Asymmetry of the neuroendocrine system. *News Physiol. Sci*. 16(2): 92-95
- Gerendal I. 2004. New data on the neural control of gonadal functions. Supraspinal innervation of the gonads. *TMJ*. 54:218-224.

- Gerendai I., Banczerowski P., Halasz B. 2005. Functional significance of the Innervation of the gonads. *Endocrine*. 28(3): 209-318.
- Griswold M. 1998. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Cell & Developmental Biology*. 9: 411-416.
- Goodfellow, P. 1994. The biochemical role of SRY in sex determination. *Mol Reprod. Dev.* 39: 184-193.
- Gong Y., Wang Y., Gu M., Feng M., Zhang W., Ge R. 2009. Deprivation of testicular innervation induces apoptosis of Leydig cells via caspases-8-dependent signaling: A novel survival pathway revealed. *Biochem Biophys Res Commun*. 382(1): 165-170.
- González F; Cordero N; Santos N; López G; Reyes R; López D; Quiróz U. 2016. Efectos de la hemicastración sobre la fertilidad de la rata macho. Cartel #24.XLI REUNIÓN ANUAL DE LA CADEMIA DE INVESTIGACIONES EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN, A.C. AIBIR. Llevado a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal del Altiplano; FMVZ. UNAM. Tequisquiapan, Querétaro.
- Gubbay J, Collignon J, Koopman P et al. 1990. A gene mapping to the sex determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. *Nature*. 346: 245-250.
- Guillamas C; Gutiérrez E; Hernando A; Méndez N; Cascado G; Tordesillas L. 2017. Técnicas básicas de enfermería. Ed. Editex. España. pp. 257-259.
- Hernández G. 2014. Participación de la inervación sensorial sobre la espermatogénesis de la rata. Tesis para obtener el título de Biólogo. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

- Huo S., Xu Z., Zhang X., Zhang J., Sheng C. 2010. Testicular denervation in prepuberty rat inhibits seminiferous tubule development and spermatogenesis. *Journal of Reproduction and Development*. 56(4): 370-378.
- Jennes L., Brame B., Centers A., Janovick J., Conn M. 1995. Regulation of hippocampal gonadotrophin releasing hormone (GnRH) receptor mRNA and GnRHstimulated inositol phosphate production by gonadal steroid hormones. *Molecular Brain Research*. 33: 104-110.
- Kumazawa T. 1986. Sensory innervation of reproductive organs. *Progress in Brain Research*. 67: 115-131.
- Kuntz A., Morris R. 1946. Components and distribution of the spermatic nerves and the nerves of the vas deferens. *J Comp Neurol*. 85:33-44.
- Matorras R; Remohí J. 2011. Casos clínicos de ginecología y obstetricia. 3ra edición. Ed. Médica Panamericana. pp. 170-180.
- Mehme F; Timurkaan Sema. 2014. The effects of prepuberal epididymal ligation upon the rat testis. *J. Reprod. Med*. 12: 673-680.
- Moore K., Dalleyll A. 2003. Fundamentos de Anatomía con orientación clínica. En: Órganos genitales masculinos. 2da edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires.
- pp. 234-237.
- O'Donnell L., Meachem S., Stanton P., McLachlan R. 2006. Endocrine Regulation of Spermatogenesis. En: *Physiology of Reproduction*. Eds. Knobil y Neill's. USA: Elsevier Academic Press. 3ra Ed. pp. 1017-1069.

- Orth J. 1993. Cell biology of testicular development in the fetus and Neonate. En: Cell and molecular biology of the testis. Eds. Desjardins C, Ewing LL. New York: Oxford University Press, Inc. pp. 5- 42.
- Palastanga N., Field D., Soames R. 2000. Sistema Nervioso. En: Anatomía y movimiento humano. Estructura y funcionamiento. Eds. Paidotribo. Barcelona. pp. 553- 590.
- Piérola Z. 2007. Bases fisiopatológicas del dolor. Acta Med Per. 24(2): 105-108.
- Putra D., Blackshaw W. 1982. Morphometric studies of compensatory testicular hypertrophy in the rat after hemicastration. Aust. J. Biol. Sci. 35: 287-93.
- Rauchenwald M., Steers W., Desjardins C. 1995. Effetent innervation of the rat testis. Biology of Reproduccion. 52:1136-1143.
- Regalado-Sánchez F. 1992. Proteínas de secreción del epidídimo de conejo: caracterización y regulación por andrógenos y temperatura. Tesis para obtener el grado de Doctor en Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Biología Molecular.
- Ricker D., Crone J., Chamness S., Klinefelter G. y Chang T. 1996. Partial sympathetic denervation of the rat epididymis permits fertilization but inhibits embryo development. Journal of Andrology, 17 (2): 117-126.
- Rohen J; Drrecoll E. 2007. Embriología Funcional: Una perspectiva desde la biología del desarrollo. 3ra. Ed. Médica panamericana. Buenos aires. pp. 15-18.

- Rombaut C; Faes K; Goossens E. (2016). The effect of a unilateral orchidectomy before gonadotoxic treatment on the contralateral testis adult and prepubertal rats. *Journal.Plos one*. 11(10).
- Ruíz D. Ma. 1998. Ciclo reproductor de los vertebrados. En: *Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción*. 1ra. Ed. UNAM. México. pp. 45-89.
- Setchell B., Breed W. *Anatomy*, 2006. Vasculature and innervation of the male reproductive tract. En: *Physiology of Reproduction*. Eds. Knobil y Neill's. USA: Elsevier. 3ra Ed. pp. 771-825.
- Sinclair A, Berta P, Palmer M et al. 1991. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA binding motif. *Nature*. 346: 240-244.
- Ureña F, Malavasi J. 1980. Estudio ultraestructural en testículo de hámster vasectomizado (*Mesocricetus auratus*). *Rev. Biol. Trop.* 28: 41-59.
- Ureña F, Malavasi J. 1981. Estudio ultraestructural en epidídimo de hámster vasectomizado (*Mesocricetus auratus*). *Rev. Biol. Trop.* 29: 237–249.
- Wschebor G. 2003. Expresión genética diferencial durante la espermatogénesis de la rata. Tesis para obtener el grado de Doctor en Biología Celular y Molecular. Universidad de la República.
- Welsh U. 2006. Histología. En: *Aparato genital*. 2da edición. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. pp. 473-497.
- Zhu B., Chiocchio S., Han J., Cavicchia J. 2000. Neural control of the compensatory increase of testosterona in hemicastrated adult male rats. *Acta Physiologica Sinica*. 52(1): 10-16.

