

R. 10.260

R
33



UNIVERSIDAD DE SEVILLA - FACULTAD DE MEDICINA
CATEDRA DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICAS II

"EFECTOS DE LOS GLUCOCORTICOIDES
SOBRE LA LIBERACION DE TESTOSTERONA
POR LA CELULA DE LEYDIG".

ANTONIO ROMERO ZURITA

Septiembre, 1.977

CATEDRA DE PATOLOGIA MEDICA
DE SEVILLA
Prof. Dr. AZNAR REIG



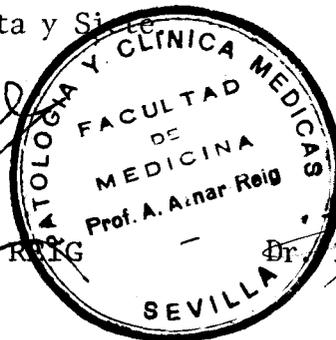
ANTONIO AZNAR REIG, CATEDRATICO NUMERARIO
DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICAS II, DE LA FACULTAD
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA.

C E R T I F I C A : Que la presente TESIS DOCTORAL titulada:
"Efectos de los glucocorticoides sobre la libera-
ción de testosterona por la célula de Leydig." ;
ha sido realizada integramente en mi Departamen-
to por D. ANTONIO ROMERO ZURITA, bajo mi direc-
ción y la del Dr. D. EMILIO HERRERA-JUSTINIA-
NO.

Se presenta esta Tesis Doctoral para aspirar
al grado de Doctor, con mi aprobación.

Y para que conste, firmo el presente en SEVI-
LLA a Dieciseis de Septiembre de Mil Novecientos
Setenta y Siete.

Prof. A. AZNAR REIG



Dr. E. HERRERA-JUSTINIANO

A mi madre, esposa e hijos.

Mi sincero agradecimiento:

Al Prof. A. AZNAR REIG y Dr. E. HERRERA—
JUSTINIANO, bajo cuya dirección y consejo he logrado cul-
minar mi labor.

A la Dra. M. DIAZ GALVEZ por su desinteresada ayuda en la aportación de sus conocimientos los cuales -
me han permitido resolver la metodología de trabajo.

Al Dr. A. AZNAR MARTIN por su colaboración durante el desarrollo de la presente Tesis.

A D. RAFAEL FERNANDEZ ALVAREZ, Licenciado en Veterinaria y Director del Servicio de Animales de la Facultad de Medicina de Sevilla.

A mis compañeros FRANCISCO TABOADA GONZALEZ y MARIA JOSE HERRERO GRIBAJA por su aportación personal en el tratamiento farmacológico y manipulación de los animales.

A MERCEDES NAVARRO LOPEZ, SILVIA SALAZAR NAVARRETE y MARIA DE LOS ANGELES ROMERO DE LA OSA ROMERO, Auxiliares del Laboratorio de nuestro Servicio de Endocrinología por su desinteresada labor.

I N D I C E



	<u>pág.</u>
Abreviaturas empleadas	8
INTRODUCCION	10
A) Maduración y desarrollo gonadal de la rata macho.	11
B) Receptores de esteroides.	26
OBJETIVO DEL TRABAJO	29
MATERIAL Y METODOS	33
RESULTADOS OBTENIDOS	48
EPICRITICA DE LOS RESULTADOS	88
CONCLUSIONES	97
B i b l i o g r a f í a	102

ABREVIATURAS EMPLEADAS

DNA	:	<i>Acido Desoxiribonucleico</i>
FP	:	<i>Flavo Proteina</i>
FSH	:	<i>Hormona Folículo Estimulante</i>
GH	:	<i>Hormona Somatotropa</i>
hGH	:	<i>Hormona Somatotropa Humana</i>
H ³	:	<i>Tritio</i>
LH	:	<i>Hormona Luteotropa</i>
LH-RH	:	<i>Factor Liberador Hipotalámico de Gonadotrofinas</i>
NHI	:	<i>Ferropoteína no Hem</i>
TSH	:	<i>Hormona Tireotrofica</i>
µg.	:	<i>Microgramo</i>
µl.	:	<i>Microlitro</i>
pg.	:	<i>Picogramo</i>

I N T R O D U C C I O N

Con intención de facilitar el desarrollo del tema propuesto, como objeto de esta nuestra Tesis para adquirir el grado de Doctor, comenzamos exponiendo en esta sección de Introducción algunos aspectos generales básicos, estrechamente relacionados con ella. Así expondremos conceptos referidos a la maduración y desarrollo de la gonada de la rata macho así como a receptores de la molécula esteroidea.

A) MADURACION Y DESARROLLO GONADAL DE LA RATA MACHO

a) EPITELIO GERMINAL:

Existen variaciones considerables en cuanto a la maduración y desarrollo testicular de las diferentes especies de animales. En los primates - existe un intervalo de varios años entre el nacimiento y el comienzo de un crecimiento ostensible del testículo, así en el mono los testes presentan solo muy pequeñas variaciones en el peso durante los primeros dos años y medio de vida, que es seguido de un crecimiento acelerado a esta edad, asociado con la aparición de la espermatogénesis (VAN WANGENEN, G., y SIMPSON, M.E. - 1.954), de forma parecida, en el hombre, existe un periodo silente entre el nacimiento y el momento de la pubertad en que el testículo comienza un desarrollo rápido hasta alcanzar su tamaño adulto (ALBERT, A., UNDERDAHL, L.O., - GREENE, L.F. y LORENZ, N., 1.953). En la rata por el contrario el aumento de peso es de forma más progresiva hasta que se alcanza el tamaño adulto (PAYNE, A.H., KELCH, R.P., MURONO, E.P. y KERLAN, J.T., 1.977), este incremento testicular está asociado con un aumento en el diámetro y longitud de los túbulos seminíferos (ALBERT, A., y cols., 1.953).

El desarrollo de los túbulos seminíferos ha sido estudiado en numerosas especies de mamíferos; la rata (CLERMONT, Y. y HUCKINS, C., 1.961), el gato (SCOTT, H.G., y SCOTT, P.P., 1.957), el mono (VAN WANGENEN, G., y cols., 1.954) y el hombre (ALBERT, A., y cols., 1.953) entre otros. En la rata se han hecho estudios muy exhaustivos, desde el dieciseisavo día de vida embrionaria hasta la edad adulta (CLERMONT, Y., y cols., 1.961). En el testículo fetal de ra

ta existen de 21 a 31 cordones sexuales que se disponen en forma circular en torno a al eje longitudinal del testículo, al crecer en longitud estos arcos se pliegan sobre sí mismos originando una serie de circunvoluciones que alcanzan en el momento del nacimiento el número de 90, a partir del nacimiento estos pliegues pequeños aumentan en longitud pero no es su número lo que trae como consecuencia la formación de unos conos con una zona estrecha orientada caudalmente y su porción más ancha orientada cranealmente (FIGURA A). En su desarrollo, no sólo aumentan en longitud los túbulos sino que también lo hacen en su diámetro existiendo una relación estrecha entre el diámetro de los túbulos ; peso testicular y edad del animal fundamentalmente hasta 60 días (FIG.B).

Los túbulos seminíferos están cubiertos de un epitelio que en la vida fetal está compuesto de dos tipos de células distintas; los gonocitos de un lado y de otro las células denominadas de soporte, ambos tipos celulares presentan una gran actividad mitótica antes del nacimiento.

Ha existido controversia sobre si los gonocitos son precursores de las células germinales definitivas del adulto o si estos degeneran y las células germinales se forman a partir de células indiferenciadas de soporte (ALLEN,E., 1.949), en trabajos más recientes de CLERMONT,Y. y PEREY,B. (1957) se aportan evidencias de que las células germinales definitivas proceden de los gonocitos mientras que las células de soporte son las precursoras de las células de Sertoli. Este concepto está posteriormente apoyado por otros investigadores (ROOSEN-RUNGEN,E.C. y LEIK,J., 1.968) (SAPSFORD,C.S., 1.963), en el hombre han sido apuntadas también parecidas conclusiones (ALBERT,A.L. y cols. —., 1.953, entre otros), siendo en el momento actual esta teoría aceptada por la mayoría de los autores. CLERMONT,Y.y cols. (1.957) concluyen que en la rata algunos gonocitos degeneran pronto después del nacimiento, pero las células que le restan al cuarto día postnatal se dividen para formar la espermatogonia tipo A, la cual sirve de base de la definitiva línea de células germinales. MANCINI,R.E., SEIGUER,A.C. y LAVIERI,J.C. (1.960) utilizando técnicas histoquímicas e histológicas ha estudiado la evolución de las células de sostén durante el desarrollo, llegando a la conclusión de que en el hombre las células de soporte no cambian durante el desarrollo temprano, mientras que en la pubertad se transforman en las células de Sertoli maduras y no dan lugar a otro tipo de células, los gonocitos forman las espermatogonias tipo A muy tem

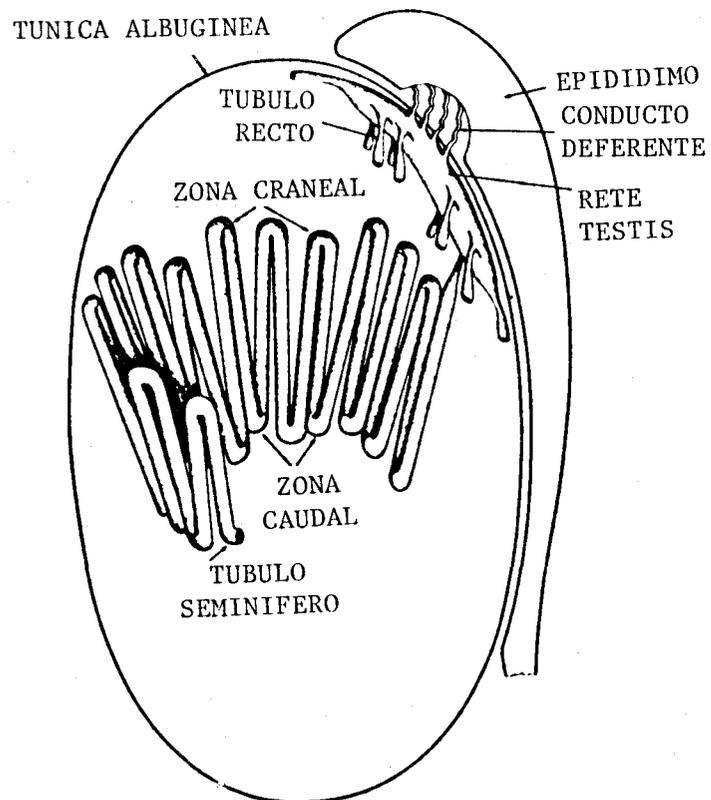


FIGURA A.

Representación de un túbulo seminífero y su conexión al rete testis. Varios túbulos rectos se muestran en los aspectos laterales e internos de la rete testis. (CLERMONT, Y. y HUCKINS, C., 1.961).

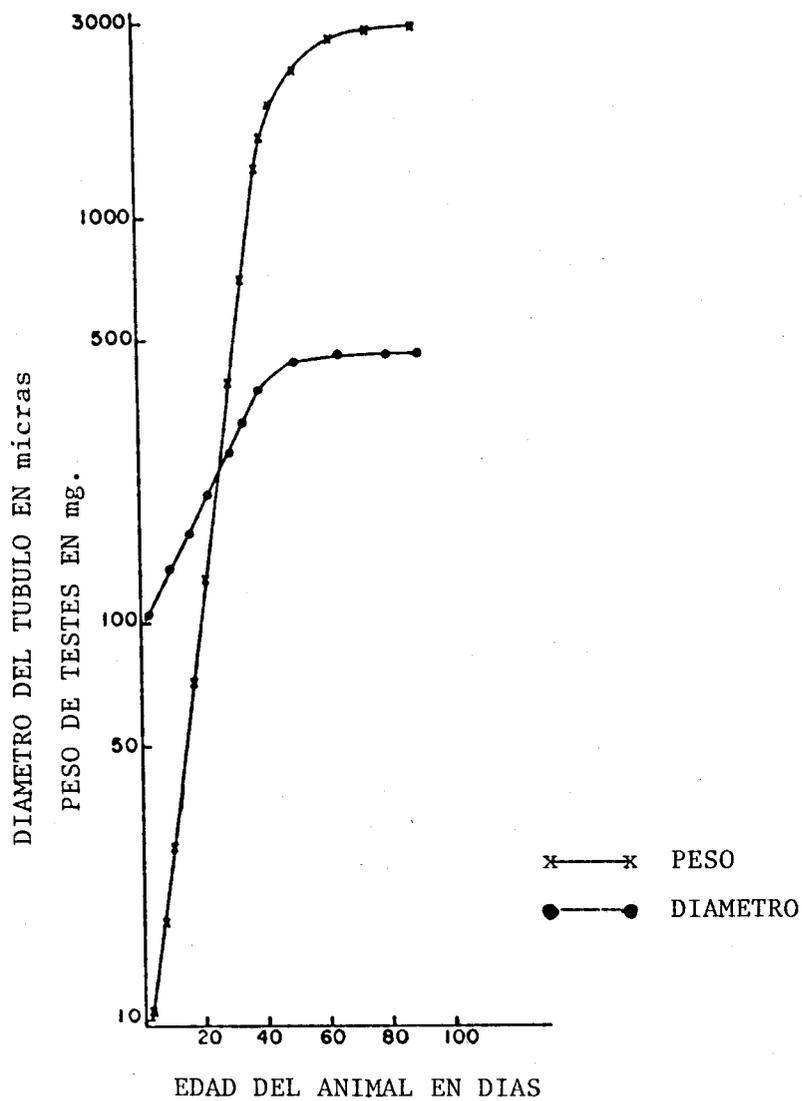


FIGURA B.

Peso testicular y diámetro de los túbulos seminíferos en el desarrollo de las ratas. (STENBERGER, referido en HANDBOOK OF PHYSIOLOGY, Endocrinology, vol. 5, 1.975: pág. 4).

pranamente despues del nacimiento, degenerando la mayor parte de estas células y quedando una mínima parte que es la que entraría en el proceso de la espermatogénesis en la pubertad.

Una vez que se descubrió que el desarrollo del espermatozoide se conseguía a partir de células que residían en el testículo (VON KOLLIKER, R.A. 1.841) se iniciaron una serie de investigaciones sobre las características - morfológicas de los túbulos seminíferos y se pasó a la descripción del proceso de desarrollo de los espermatozoides a partir de las células menos maduras que residían en los túbulos seminíferos, rápidamente los diferentes estadios de desarrollo de la célula germinal fueron clasificados y se puso en claro - que la célula más inmadura germinal, la espermatogonia, se divide para formar el espermatocito primario, los cuales mediante un proceso de división reduc- ción forman células haploides que son las espermátides. La espermatide se transforma en espermatozoide por una complicada metamorfosis que envuelve modificaciones estructurales en el nucleo, formación de nuevas organelas y ad- quisición de un mecanismo que permite su movilidad.

LEBLOND, C.P. y CLERMONT, Y. (1.952) han descrito 19 bien defini- das etapas en el desarrollo de las espermátides de la rata, y parece bastante evidente que cada sección de un tubo seminífero contiene espermátides en una de las 14 primeras etapas de desarrollo, las restantes células del epitelio seminífero forman una asociación de células germinales menos maduras unidas a dicha espermátide, esto dió origen al concepto de ciclo del epitelio seminífe ro, definiendose éste como *"una serie de cambios en una dada área del epite- telio seminífero entre dos mismos estadios de desarrollo de las asociaciones celulares descritas"*. En la rata el ciclo completo consiste en 14 estadios o asociaciones características. La formación de estas específicas asociaciones celulares y la secuencia de su aparición en una determinada área del túbulo - seminífero está muy sincronizada, por otra parte la relación numérica entre - los varios tipos celulares de una asociación celular y su número absoluto den- tro de una sección del tubo seminífero es muy fija (CLERMONT, Y., 1.962) (STEIN BERGER, E., 1.962). En el hombre se han presentado grandes dificultades al defi- nir el ciclo del epitelio seminífero, así CLERMONT, Y. (1.963) describe el ciclo del epitelio del tubo seminífero en el hombre de forma similar al de otros ma-

míferos pero constituido por seis estadios, no obstante la composición detallada de las asociaciones celulares así como las relaciones numéricas entre las distintas células de estas asociaciones permanecen definidas muy pobremente.

La duración de la espermatogénesis ha sido determinada en varias especies de mamíferos, así CLERMONT, Y., LEBLOND, C.P. y MESSIER, B. (1.959) han calculado que la espermatogénesis en la rata dura 48 días, hecho confirmado por STEINBERGER, E. (1.962). En el hombre la duración es de 74 ± 5 días (HELLER, C.G., y CLERMONT, Y., 1.964). La diferente duración de la espermatogénesis no es sólo una característica de cada especie de mamífero sino que también puede variar dentro de distintas familias de la misma especie; así en la línea de ratas SHERMAN y LONG-EVANS la duración es de 48 días mientras que en las SPRAGUE-DAWLEY es de 51 días (CLERMONT, Y. y HARVEY, S.C., 1.965) y en las WISTAR es de 53 días (HUCKINS, C., 1.965).

Se ha demostrado que la FSH administrada a maduras e inmaduras ratas hipofisectomizadas incrementa notablemente el tamaño del teste, pero no acelera la aparición de espermatozoides maduros, así mismo si se administra esta trofina sólo las células germinales no pasan del estadio de espermato-cito primario, siendo necesaria la presencia de andrógenos para el proceso de la espermatogénesis (LOSTROH, A.J., 1,963) (LOSTROH, A.J., JOHNSON, R. y JORDON, E.W., 1.963) entre otros autores. En 1.942 GREEP, R.O., VAN DYKE, H.B. y CHOW, B.F. vieron un incremento de los espermato-citos en las ratas inmaduras tratadas con FSH, hecho confirmado por MILLS, N.C. y MEANS, A.R. (1.972) este incremento de espermato-citos primarios sugiere que la FSH induce a una estimulación en la actividad mitótica en las células germinales anteriores al espermato-cito primario, produciendo un aumento de estos pero no siendo sin embargo por ella misma capaz de favorecer la formación del espermato-cito maduro. Respecto a la acción sobre el peso testicular se ha demostrado por los trabajos de ODELL, W.D., SWERDLOFF, R.S., JACOBS, H.S. y HESCOX, M.A. (1.973) que ratas hipofisectomizadas tratadas previamente con FSH en pequeñas cantidades, al suministrar FSH + LH se producía un incremento testicular en el peso superior a si se suministraba FSH sola y muy superior al obtenido con LH sola, por lo que si bien el incremento en el peso del teste va ligado fundamentalmente a la estimulación del tejido germinal por la FSH, este incremento se potencia a su

vez por la LH.

b) CELULAS DE SERTOLI:

Independientemente de las células germinales y contorneando a la membrana basal de los túbulos, existe la célula de SERTOLI, que proceden de las primitivas células de soporte del feto. Las células de SERTOLI se han estudiado en el curso del desarrollo de la rata y así CLERMONT, Y. y PEREY, B. (1.957) observaron una gran actividad mitótica de las células de SERTOLI de fetos de 15 a 21 días así como en los animales recién nacidos mientras que por el contrario a partir de los 15-18 días de vida extrauterina no existía actividad. Estos estudios sugieren que la población de las células de SERTOLI en el animal adulto es estable, siendo utilizado este concepto por muchos investigadores en el pasado como factor de corrección en el conteo de células del epitelio germinal (CLERMONT, Y. y MORGENTALER, H., 1.955). Recientemente BUSTOS-OBREGON, E., 1.970 concluye que las células de SERTOLI están distribuidas al azar y que su número es constante a lo largo de la membrana basal de los túbulos seminíferos de la rata en todos los estadios del ciclo del epitelio germinal. STEINBERGER, E. y TJIOE, D.Y. (1.968) han apuntado una falta de uniformidad en la distribución de las células de SERTOLI en el túbulo seminífero del testículo humano y una marcada variación en el número absoluto de estas células en los testículos de los diferentes individuos, no obstante hay que tener precaución al interpretar la conducta de estas células en el ser humano ya que son precisos estudios más extensos para fijar conceptos en lo que concierne a este tema. Ya el descubridor de las células de SERTOLI sugirió que estas células de alguna manera nutrían a las células germinales (SERTOLI, E., 1.865) siendo este concepto posteriormente apoyado por ROLSHOVEN, E. (1.945) entre otros al visualizar una estrecha relación entre el epitelio germinal y las células de SERTOLI. Más recientemente FAWCET, D.W., HEIDGER, P.M., y LEAK, L.V. (1.969) han aportado más detallada información sugiriendo el posible papel de la célula de SERTOLI en el transporte de solutos a través del epitelio germinal. Ha sido demostrada por otra parte la capacidad de fagocitosis de las células de SERTOLI, viéndose como pueden ingerir estas células partículas procedentes de la destrucción del epitelio germinal (GLEGG, E.J., y MacMILLAN, E.W., 1.965) entre otros. Recien-

temente se ha apuntado que las células de SERTOLI utilizan los lípidos procedentes de la fagocitosis de los residuos de las células germinales para la síntesis hormonal (LACY, D., y PETTIT, A.J., 1.970), la evidencia de ésto se ha basado primariamente en cambios en la reacción citoquímica para lípidos del colesterol libre o esterificado en dicha célula, bajo ciertas condiciones experimentales la hormona foliculoestimulante (FSH) causa una marcada reducción de esteroides no saturados, este cambio está asociado con la restauración de la espermatogénesis, la hormona luteinizante (LH) sin embargo no tiene efecto, bajo la base de esta evidencia se sugiere que la FSH estimula la síntesis de esteroides en la célula de SERTOLI y que a su vez esta síntesis es importante en el proceso de la espermatogénesis.

c) EPIDIDIMO:

Los espermatozoides una vez formados en los túbulos seminíferos — son transportados vía rete testis y a través de los conductos eferentes y epidídimo hasta el conducto deferente. El esperma permanece en este sistema de conductos durante un cierto tiempo, antes de ser eyaculado, adquiriendo su capacidad fecundante.

El epidídimo es un conducto único altamente enrollado que está adosado al testículo y en el que son fácilmente distinguibles tres segmentos; la cabeza, el cuerpo y la cola. Muchos investigadores han pensado que el epidídimo influía en la maduración del espermatozoide por sí mismo mientras que otros han apoyado que los espermatozoides maduraban sin el concurso del epidídimo y que este sólo tenía importancia en cuanto al tiempo en que dichas células tardaban en atravesarlo. Estos conceptos han sido aclarados desde los trabajos de BEDFORD, J.M. (1.966 y 67), GLOVER, T.D. (1.969), PAUFLER, S.K. y FOOTE, R.H. (1.968) entre otros, que han demostrado que los espermatozoides retenidos durante un tiempo en un segmento u otro del epidídimo maduran, pero el número de anomalías en estos espermatozoides es muy elevada y en los casos en que existen embarazos por espermatozoides de estos retenidos hay un alto porcentaje de embriones muertos sin llegar a término. Por tanto, el esperma puede madurar por sí mismo pero necesita el entorno del epidídimo a través de sus dife-

rentes porciones para que su maduración sea correcta, por otro lado el epidídimo precisa del esperma para su normal desarrollo anatómico y funcional (PRASAD, M.R.N., RAJALAKSHMI, M., GUPTA, G. y KARKUN, T., 1.973). Las células de la cabeza y cola del epidídimo se ha demostrado que presentan receptores específicos citoplasmáticos y nucleares para andrógenos, así mismo se ha observado que tras la administración de testosterona las células del epidídimo como otras células diana la transforman en Dihidrotestosterona (DHT) y otros metabolitos 5- α -reducidos (GLOYNA, R.E., y WILSON, J.D., 1.969) entre otros, por otra parte se sabe que el epidídimo precisa para su normal desarrollo y función de la presencia de niveles de andrógenos circulantes suficientes, existiendo un descenso ponderal cuando dichos niveles no se alcanzan (PRASAD, M.R.N. y cols., 1.973) (PUJOL, A., BAYARD, F., LOUVET, J.P., BOULARD, A. y BOULARD, C.L., 1.975).

d) CELULAS DE LEYDIG:

En 1.850 FRANZ LEYDIG describió las células que llevan su nombre - en el intersticio testicular de varios mamíferos (LEYDIG, F., 1.850) especulándose en posteriores trabajos sobre la función de estas células, así se pensó - que pudieran proveer de sustancias nutritivas a los túbulos seminíferos, que podían producir hormonas masculinas, almacenar las hormonas producidas por los tubulos seminiferos o que servirían para anular las sustancias tóxicas que pudieran dañar los túbulos. La evidencia más clara de un papel endocrino de las células de LEYDIG fue presentado por BOUIN, P. y ANGEL, P. (1.903) en una serie de trabajos iniciados a partir de este año. En la actualidad es un hecho - perfectamente establecido que las células de LEYDIG son las que producen los andrógenos testiculares en su mayor parte y sólo muy pequeñas cantidades de esteroides pueden ser producidos por las células de SERTOLI u otros componentes de los túbulos seminíferos, esteroides que a su vez tienen sólo acción local (BELL, J.B.G., VINSON, G.P. y LACY, D., 1.971) (LACY, D. y PETTIT, A.J., 1.969).

El teste también se sabe es capaz de producir estrógenos en muy pequeñas cantidades, siendo sin embargo la escasa tasa de estrógenos circulantes del macho procedentes principalmente de la interconversión periférica de los andrógenos (MacDONALD, P.C., GRODIN, J.M. y SITERI, P.K., 1.971).

En la mayor parte de los mamíferos estudiados las células de LEYDIG pasan por dos distintos periodos de desarrollo, el primero ocurre en el feto y el segundo en la pubertad. En el feto las células de LEYDIG se hacen abundantes segregando testosterona y probablemente otras hormonas que estimulan la diferenciación del tracto reproductor masculino y ocasionan la regresión de los conductos paranéfricos de MÜLLER. Estas células de LEYDIG del feto comienzan a regresar antes del nacimiento siendo la cuantía de esta regresión variable con las especies, en el curso de la pubertad estas células aumentan en número y dan lugar a las definitivas células del adulto. En la rata al igual que en el resto de los mamíferos estudiados después del nacimiento existe una involución de dichas células (ROOSEN-RUNGE, E.C. y ANDERSON, D., 1.959), sin embargo las células que quedan mantienen un muy bajo pero detectable nivel de testosterona en el plasma hasta el momento de la pubertad (RESKO, J.A., FEDER, H.H. y GOY, R.W., 1.968).

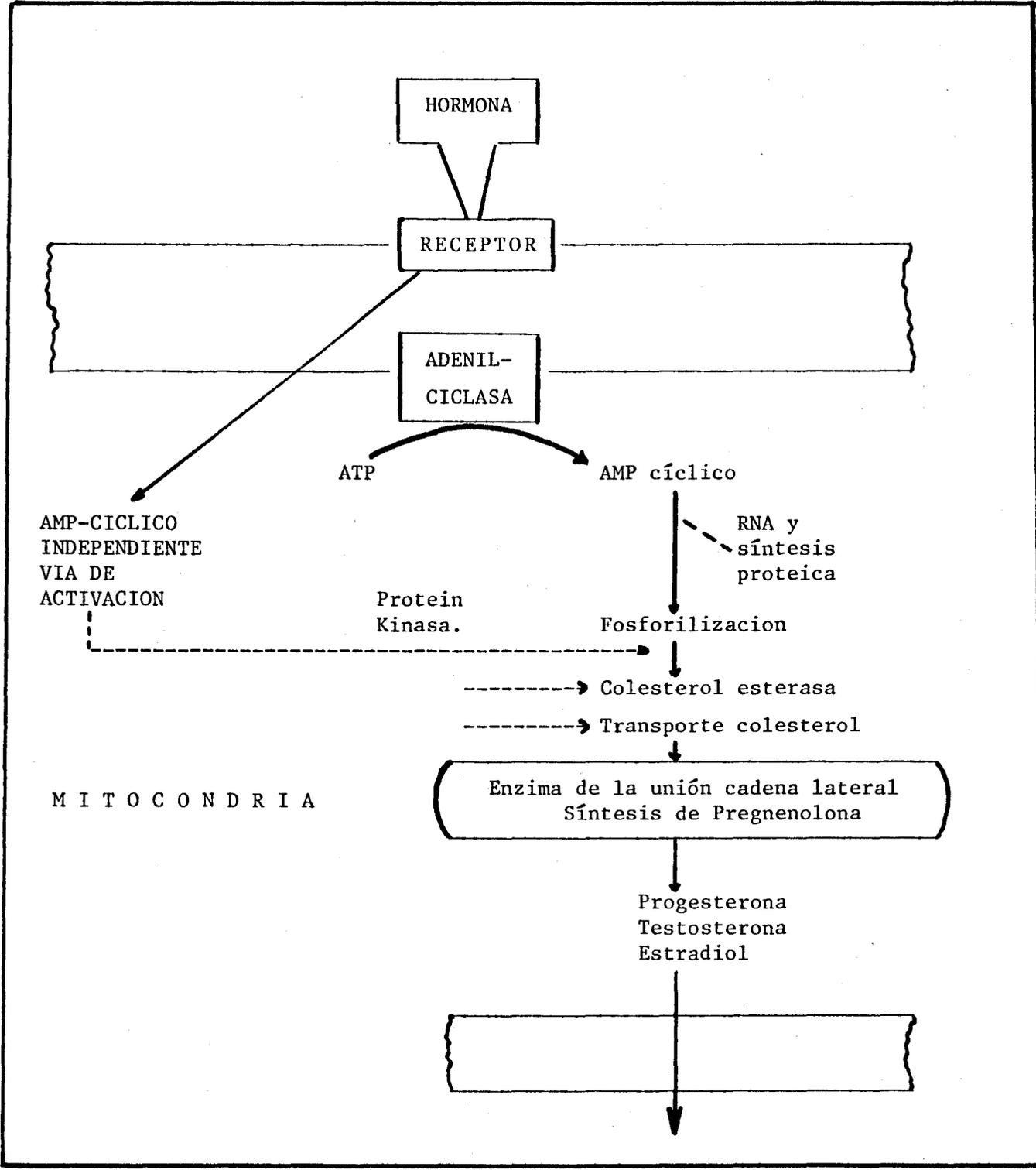
Está fuera de toda duda que la hormona luteoestimulante (LH) y la gonadotropina coriónica (HCG) producen incremento de la producción y secreción de testosterona por la célula de LEYDIG (EIK-NES, K.B. y HALL, P.F., 1.965) (CONNELL, G.M. y EIK-NES, K.B., 1.968) entre otros. El mecanismo de acción de la LH y HCG sobre las células de LEYDIG es similar el conocido para las restantes hormonas proteicas conocidas, así las hormonas peptídicas impactan en la membrana plasmática de sus células diana uniéndose a un receptor de membrana que aun cuando no se ha podido aislar purificado, utilizando hormonas marcadas con tritio (H^3) y con I^{125} se han encontrado criterios para la caracterización e identificación de los mismos, así CATT, K.J. (1.976) los define como "lugares del lado plasmático de la membrana, de alta afinidad de unión por una hormona polipeptídica en una célula diana, cuando estos sitios están ocupados por la hormona polipeptídica (se han identificado número y cuantía de recepción) tienen la habilidad de alterar la respuesta de la célula diana". Una vez que estas hormonas proteicas impactan en su receptor ponen en marcha una serie de reacciones iniciadas en una sustancia, el 3'5'-AMP, a continuación tiene lugar

la activación de una protein-kinasa y a partir de entonces se inicia la respuesta característica de la célula diana, en nuestro caso la esteroidogénesis. En la FIGURA C esquema tomado de CATT se pueden ver los pasos intracelulares desde la ocupación del receptor por la hormona hasta la liberación de testosterona.

Si bien está claramente definido que la producción de esteroides - por el intersticio testicular está metabólicamente relacionada con la actividad de LH, la FSH a su vez también podría jugar un cierto papel en dicho proceso, así en este sentido JOHNSON, B.H. y EWING, L.L. (1.971) mostraron que en testes de conejo perfundidos, la FSH unida a la LH incrementa en mayor cuantía la producción de testosterona que si se perfunde LH sola, resultados similares han sido obtenidos en los humanos (KIELD, J.M., HARSOULIS, P., KUKU, S.F., MARSHALL, P., KAUFFMAN, B. y FRASER, T.R., 1.976). En el Servicio de Endocrinología al que pertenezco se vienen realizando trabajos en este sentido, siendo confirmado este efecto descrito por JOHNSON y EWING en células intersticiales de LEYDIG aisladas de testículo de rata (HERRERA-JUSTINIANO, E., DIAZ, G.M., AZNAR, M.A. y AZNAR, R.A., 1.976) (AZNAR, M.A., 1.976), y que esta acción potenciadora de la FSH parece de alguna manera estar ligada al receptor para la hormona de LH.

El paso previo en la síntesis de todas las hormonas esteroideas es la conversión de colesterol a pregnenolona, siendo dicho paso en la esteroidogénesis testicular regulado en gran parte por la LH. La ruptura de la cadena lateral del colesterol a nivel del enlace C,20-C,22 se produce tras la hidroxilación de dichos carbonos por la C,20-C,22-hidroxilasa, el sistema enzimático de hidroxilación requiere una flavoproteína (FP) una ferroproteína no-hem (NHI) el citocromo P₄₅₀ y N.A.D.P.H. produciéndose posteriormente la separación de la cadena lateral por una 20-22-desmolasa.

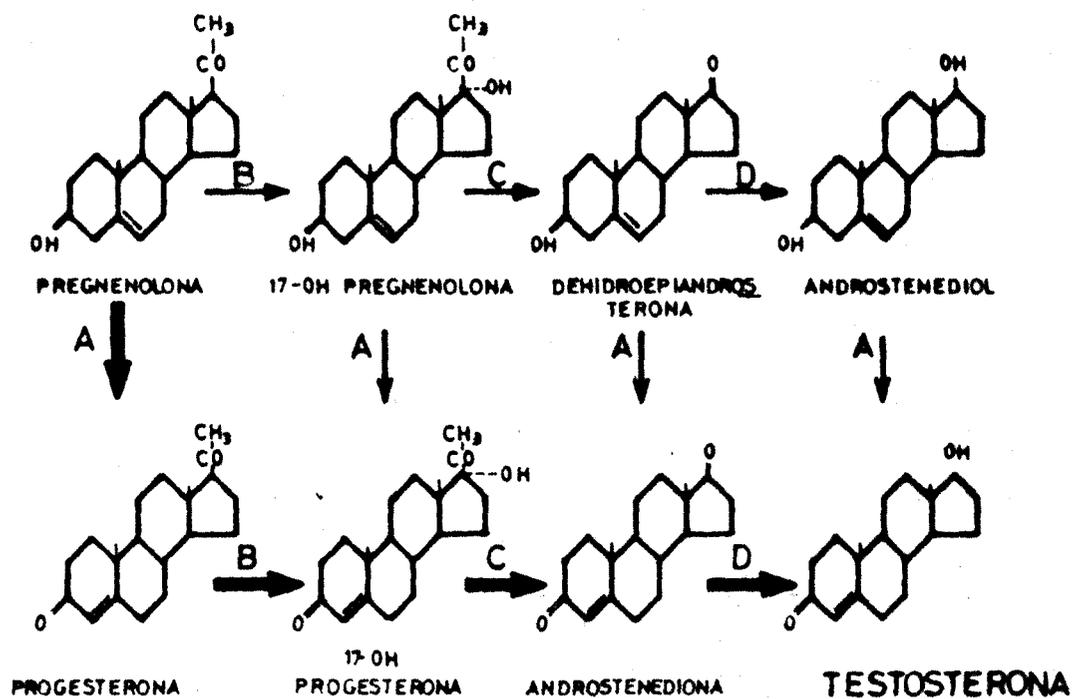
A partir de la pregnenolona se requieren las siguientes enzimas - hasta la formación de testosterona; 17-hidroxilasa, 17-20-desmolasa, 17-hidroxiesteroide deshidrogenasa y la 5-4-isomerasa pero en diferentes secuencias, - siendo descritas dos vías principales en la síntesis de testosterona que se representan en la FIGURA D. El primer camino pasa por la progesterona como primer paso y se denomina vía de la Δ^4 mientras que el segundo presenta como metabolito intermediario la dehidroepiandrosterona (DHEA) denominándose como vía



SINTESIS DE ESTEROIDES

FIGURA C.

FIGURA D



A: 3β - Hidroxisteroide dehidrogenasa + 5-4 isomerasa.

B: 17 - hidroxilasa.

C: C.17 - C.20 - desmolasa

D: 17 - hidroxisteroide dehidrogenasa.

de la Δ^5 . La mayor parte de los estudios in vitro con tejido testicular de rata han indicado que la vía de la Δ^4 es la más importante (SHIKITA, M., KAKIZAKI, H. y TAMAOKI, B., 1.965) sin embargo los resultados de SLAUNWHITE, W.R. y BURGETT, M.J. (1.965) sugieren que en los homogeneizados de testículo de rata, la androstenediona fué formada por el camino de la Δ^4 mientras que la testosterona se sintetiza por el de la Δ^5 . En el hombre y en el perro también se ha comprobado la mayor importancia de la vía de la Δ^5 (EIK-NES, K.B. y KEKRE, M., 1.963) (YANIHARA, T. y TROEN, P., 1.972).

Los enzimas para la síntesis del colesterol desde el acetato están situados en los microsomas de las células y así mismo como los implicados en la conversión de pregnenolona a testosterona, por el contrario los enzimas responsables de la ruptura de la cadena lateral del colesterol para su conversión en pregnenolona se encuentran situados en las mitocondrias (FIGURA E). De forma análoga al posible modo de acción del ACTH estimulando la síntesis de esterooides en la corteza adrenal (BOYD, G.S., BROWNIE, A., JEFCOATE, C.R. y SIMPSON, E.R., 1.971) las hormonas LH y HCG podrían actuar promoviendo la síntesis de una proteína transportadora que vehicularía el colesterol al citocromo P_{450} introduciendo la $20, \alpha$ -hidroxilación en la mitocondria. Aunque el primitivo lugar de acción de las hormonas LH y HCG se sabe es favoreciendo la ruptura de la cadena lateral del colesterol, la prolongada estimulación con dichas hormonas parece que conlleva a un incremento en la concentración de todas las enzimas en vueltas en la síntesis de testosterona.



B) RECEPTORES DE ESTEROIDES

En el plasma las hormonas esteroideas están en su mayor parte ligadas de manera no covalente a proteínas, quedando una pequeña fracción libre la cual es reconstituida a medida que se vá degradando, existiendo un equilibrio entre fracción libre y fracción ligada. La fracción libre de la hormona es la que tiene suma importancia ya que es la que va a actuar a nivel periférico provocando su acción biológica.

La acción de los esteroides hormonales en la periferia, se desarrolla sobre su célula diana en la que la hormona tras pasar a la membrana celular se une a unas proteínas de situación citoplasmática, de gran afinidad para con ella (del orden de $K = 10^{10} \times M^{-1}$ a $4^{\circ}C$, siguiendo la ley de acción de masas) lo que implica una disociación lenta del complejo hormona-receptor y por tanto una saturación fácil a las concentraciones fisiológicas hormonales.

La alta especificidad de estas proteínas se nos sugiere al no encontrar receptores en los tejidos no sensibles a la acción hormonal así como por la no respuesta a compuestos diferentes por un mismo receptor.

El número de receptores para una determinada hormona en una célula diana puede variar eventualmente, hecho que probablemente tiene gran interés fisiológico y en casos patológicos al interpretar la respuesta hormonal de

los tejidos.

En la mayor parte de los casos, estas proteínas receptoras se agrupan en medio hipotónico en el que tienden a adquirir una conformación cuyo coeficiente de sedimentación es del orden de 6-10 S.

La localización exacta de estos receptores es difícil. Si se someten a ultracentrifugación células diana, que no han estado en contacto con la hormona, nos encontramos con que la fracción sobrenadante o citosol se sitúa - el receptor, por lo que se deduce que bajo las anteriores condiciones la totalidad del receptor o al menos su mayor parte es citoplasmático; por el contrario si la experiencia la repetimos con células que previamente han estado sometidas a la hormona observamos que existe una disminución de la forma citosoluble del mismo mientras que aparece una localización nuclear del complejo hormona-receptor. In vitro se ha reproducido este fenómeno y cuando se estudian los núcleos para obtener de ellos el complejo, se extrae una molécula de 3-5 S. de coeficiente de sedimentación.

Estas experiencias nos indican que el receptor proteico citoplasmático pudiera ser un sistema de transporte de la hormona hasta el núcleo donde se encontraría el verdadero RECEPTOR hormonal o bien que el mismo complejo citoplasmático fuera el que pasara al núcleo convirtiéndose en el receptor nuclear, punto de inicio de los mecanismos de respuesta de la hormona que terminaría con la síntesis de proteínas por el D.N.A.

OBJETIVO DEL TRABAJO

El pasado año EVAIN,D., MORERA,A.M. y SAEZ,J.M. - describieron dentro de la célula intersticial la existencia de receptores para glucocorticoides, tanto citosólicos como nucleares y cuyas características de identificación —alta - afinidad de unión, saturabilidad y especificidad hormonal—, hablan en favor de una función metabólica específica, si -

bien por el momento ésta no ha podido aún ser determinada.

En forma general, el tema que nos propusimos como objeto de nuestras experiencias, está estrechamente relacionado con los hallazgos anteriormente descritos y en él intentamos asignar una significación fisiológica a los receptores de glucocorticoides antes mencionados y para lo cual es crítico la demostración de una modificación de la función específica de la célula, tras llevar a ésta a una situación de hiperimpregnación glucocorticoidea.

En el momento actual ya contamos con datos obtenidos sobre el presente tema, resultados que expondremos brevemente pues constituyeron en su día el motivo de nuestra Tesina de Licenciatura y que representan la justificación y punto de partida del tema propuesto, así ratas WISTAR adultas con 90 días de vida se distribuyeron en tres grupos de seis animales cada uno. Trás recibir una dosis diaria durante 20 días, via subcutanea, de 5, 25 y 50 $\mu\text{g.}/100 \text{ g.}/\text{día}$ de fosfato de dexametasona, las ratas fueron sacrificadas, comparandose a continuación los siguientes parámetros obtenidos en cada uno de los grupos —peso de rata, peso de teste, peso de epidídimo y niveles circulantes de testosterona plasmática—, comparando todo ello con los de

un grupo de animales de las mismas características considerados control y que recibieron suero salino fisiológico en lugar de la droga. Entre los resultados que obtuvimos merecen destacarse, para los grupos tratados con 25 y 50 $\mu\text{g.}$, - un mucho menor desarrollo corporal, un menor peso de epidídimo (órgano que necesita en gran parte de una buena actividad androgénica para su desarrollo), y menores niveles de - testosterona plasmática circulante.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto y basados en dichos resultados nos propusimos como motivo de esta nuestra TESIS DOCTORAL estudiar:

1º.- *El papel que la célula de LEYDIG podría jugar en el descenso de los niveles de testosterona circulante tras el tratamiento de la rata con glucocorticoides.*

2º.- *Si de algún modo, el proceso madurativo del teste podría influir sobre la relación GLUCOCORTICOIDES/FUNCIÓN CELULAR INTERS*
TICIAL.

Para ello inyectamos ratas WISTAR machos en los tres estadios de desarrollo gonadal (prepuberal, puberal y adulta), por vía subcutánea con 5, 25 y 50 $\mu\text{g.}/100\text{ g.}/\text{día}$ de fosfato de dexametasona durante 20 días. Trás dicho pe-

riodo se sacrificaron los animales estudiándose la capacidad de liberación de testosterona por la célula de LEYDIG - aislada de cada uno de los grupos, tanto de dosis como de edad. Paralelamente en las ratas se valoró junto a los niveles de testosterona circulante el peso de epidídimo y teste.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

M A T E R I A L

A) ANIMALES:

Ratas Wistar macho de 90, 30 y 7 días de vida con pesos que oscilaban entre 230 y 290 g. para las primeras, de 95 a 130 g. para las segundas y de 12 a 16 g. para las últimas, a una temperatura ambiental de 20 a 25 °C dieta "*ad libitum*", procedentes del animalario de la Facultad de Medicina de Sevilla

B) FARMACOS UTILIZADOS:

- 21-Fosfato de dexametasona.
MERK & CO INC (RAHWAY N.J. - EEUU)
- Solución salina ClNa 0.9 g. %.
GRIFOLS.

C) HORMONAS:

1.- Marcada

Testosterona (4-androstan-17 β -ol-3 one) 1A, 2A (N)⁻³ H
con actividad específica de 49 Ci/mmol.
Radiochemical Center Ltd. Amersham.

2.- Standards

Testosterona No. T-1.500
Sigma Chemical Company

3.- Hormonas empleadas como estímulo del sistema celular.

Hormona Coriónica Gonadotrófica humana. 1 mgr. = 6.600 U.I.
Serono Immuno Chemicals.

D) ANTICUERPOS:

- Anti-Testosterona 3-oxime BSA
Endocrine Sciences.

E) SOLUCIONES:

- Buffer Borato ph:8 0,05 M.
- Buffer Fosfato ph 7 0,5 M.
- Buffer fosfosalino (PBS) ph 7,4 y 0,15 M.

- Líquido de Centelleo PCSTM solubilizer
Amershan Searle.
- Medio de incubación Medium 199
Difco Laboratories. Detroit Michigan USA.
- Solución de Azul de Metileno 2 %
Panreac.
- Solución de Sulfato Amónico a saturación.
Schwarz/Mann.

F) APARATOS UTILIZADOS:

- Cámara fría. Irmaf.
- Contador de Centelleo, para registro de radiación.
 β -débil. L.K.B.- Wallac 1.210 ultrabeta.
- Centrífuga refrigeradas
I.E.C. P-R-6.000.
Janetzki K 23
- Baño de incubación metabólica
Eto Denmark.
- Balanza de precisión Mettler tipo H 16 cap. 80 grs.
E. Mtter, Zurich.
- Balanza Zenit modelo S-3
- Microscopio ZEISS.
- Desecador de tubos Medi-56-CEA IRE SORIN
- Agitador magnético COWELL
- Vortex Atomixer.
- Pipeta automática Biopette.
Schwarz/Mann.
- Calculadora Hewlett Packard 9815 A.

G) MATERIAL FUNGIBLE:

a) REACTIVOS:

- 1.- Gammaglobulina bovina. Fracción II . Schwarz/Mann.

- 2.- Seroalbúmina bovina. Fracción V.
Schwarz/Mann.
- 3.- Enzimas:
 - Colagenasa CLS 45 D 006
Worthington. Biochemical Corp. Freehold.
- 4.- Solventes orgánicos:
 - Ethyl eter. Pro Analyti
Merck
 - Metanol. Analytical Reagen
Mallinckrodt
- 5.- Sólidos:
 - Acido bórico. BO_3H_3 Analytical Reagen.
Mallinckrodt.
 - Azul de Metileno substancia
Merck.
 - Carbonato de sodio $\text{CO}_3\text{Na}_2 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$
Panreac.
 - Citrato Sódico. $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
Analytical Reagen. Mallinckrodt.
 - Cloruro cálcico ClCa . Pro Analyti
Merck.
 - Cloruro Potásico ClK Analytical Reagen
Mallinckrodt.
 - Cloruro Sódico ClNa Analytical Reagen
Mallinckrodt.
 - Cloruro de Magnesio $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ Pro Analyti.
Merck.
 - Fosfato Disódico $\text{PO}_4\text{HNa}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ Pro Analyti.
Merck.
 - Fosfato de Potasio $\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$ Pro Analyti.
Merck.
 - Sulfato Amónico. Ultra Pure.
Schwarz/Mann.
 - Sulfato Cúprico $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$
Riedel.

b) VARIOS:

- Tubos de polietileno. Cap. 50 ml. Fisher.
- Viales de Centelleo:
 - * Vidrio Packard.
 - * Polietileno Packard
- Tubos de vidrio 8 mm. de diámetro x 10 cm. de longitud.
- Tubos de vidrio de 12 mm. de diámetro x 10 cm. de longitud.
- Tubos desechables 10 mm. de diámetro x 5,5 cm. de longitud.

M E T O D O

El método que hemos utilizado lo dividiremos en los siguientes apartados:

- I) MANIPULACION DE ANIMALES.
- II) OBTENCION E INCUBACION DE CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG.
- III) ANALISIS RADIOINMUNOLOGICO DE TESTOSTERONA.
- IV) ANALISIS MATEMATICO DE LOS DATOS OBTENIDOS.

I) MANIPULACION DE ANIMALES:

1.- Selección y establecimiento de grupos.

Se separan ratas adultas, puberales y prepuberales de 90, 30 y 7 días de vida respectivamente, escogiendo al azar diez ratas de cada estadio de desarrollo y calculando su media y desviación standard, fueron utilizadas para el experimento todas aquellas ratas comprendidas entre la media y \pm dos desviaciones standards.

2.- Tratamiento farmacológico.

El fármaco utilizado fué 21-fosfato de dexametasona en su forma comercial de concentración de 4 mg. /c.c., diluyéndolo al preparar las soluciones en suero salino fisiológico como vehículo y administrando diariamente y en una sola dosis 5, 25, 50 μ g. /100 g. de peso/día a los grupos II, III y IV respectivamente mientras que al grupo I (control) sólo se le administró solución salina, se ajustaron las dosis a los 10 días de tratamiento corrigiendo éstas según peso. El volumen de solución a inyectar fué de 0,05 c.c. para las ratas prepuberales mientras que para las puberales y adultas fué de 0,175 c.c. y la vía utilizada fué la subcutánea.

3.- Sacrificio de los animales.

A los 20 días ininterrumpidos de tratamiento se sacrificaron los animales con Eter, pesando éstos después de muertos y extrayendo los testículos tras su abordaje por vía abdominal, se separaron los epidídimos y pesamos tanto éstos como aquellos en balanza de precisión, obtuvimos sangre de la vena cava inferior conservándose en tubos heparinizados, guardándose tras centrifugación el plasma en congelador a -20°C para posterior determinación de testosterona.

II) OBTENCION E INCUBACION DE CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG:

a) Obtención de las células intersticiales de LEYDIG.

Los testes una vez separados del epidídimo y pesados se descapsularon incubándose en una solución de Medium 199 con Seroalbúmina bovina - (BSA) conteniendo a su vez colagenasa.

Los tubos así preparados, tras gasearse con carbógeno, se cerraron, incubándose a continuación a 37 °C; con una agitación mecánica a 150 - ciclos/min., el tiempo necesario para conseguir la disgregación de los túbulos y en un paso posterior, tras centrifugación durante 10 min. a 1.000 r.p.m. y - entre 0 y 4 °C, se obtuvo un "pellet" y tras decantar el líquido sobrenadante se redisolvieron finalmente las células. Todo el proceso fué desarrollado en cámara fría entre 2-4 °C.

b) Incubación de las células intersticiales en presencia de HCG.

Viales conteniendo 2 ml. de volumen de la suspensión de células preparadas fueron incubados conteniendo 10 mU de HCG, a temperatura de 37 °C y agitación a 125 ciclos/min. en atmósferas de carbógeno constante durante - 180 min., al final de este tiempo el contenido de los viales fue decantado en tubos de polietileno y centrifugado a 1.500 G durante 15 min. siendo el sobrenadante congelado a -20 °C. hasta el momento de la dosificación de testosterona.

III) ANALISIS RADIOINMUNOLOGICO DE TESTOSTERONA:

El método seguido es similar al descrito por FURUYAMA, S., MAYES, D. M. and NUGENT, C.A., (1.970).

EXTRACCION DE MUESTRA PLASMATICA:

Alicuotas de plasma de rata y del medio de incubación dependiendo de los niveles de testosterona sospechados, se extrajeron con eter dietílico 4 ml. mediante 3 min. de agitación vertical (vortex) y 5 min. de agitación horizontal. La fase eterea se separó en tres alicuotas por cada muestra y tras su decantación estos mismos tubos recibieron la mezcla radioinmunológica.

SISTEMA RADIOINMUNOLOGICO:

Se ha utilizado:

* Anticuerpo antitestosterona 3-oxime conjugado con albúmina obtenida de conejo a dilución final 1:16.000. Dicho anticuerpo presenta una reacción cruzada de un 44 % con dihidrotestosterona, siendo despreciable la obtenida con el resto de otros compuestos esteroideos.

* Testosterona tritiada con actividad específica de 49 Ci/mmol. Se depositaron aproximadamente 4.000 D.p.m. por tubo.

Ambos componentes se adicionaron a los tubos en Buffer Borato pH:8 0,05 M., 200 µl enriquecido con seroalbúmina (1,5 %) y gammaglobulina bovina (2 %).

Las concentraciones standards desarrolladas paralelamente — fueron de 0 a 150 µg .

El tiempo de incubación fué de tres horas a temperatura ambiente, desarrollandose al final de éstas la separación de las fracciones li—

bres y ligada por precipitación de ésta última mediante sulfato amónico al 50%, midiéndose la radioactividad correspondiente a la fracción libre por centelleo líquido.

IV) ANALISIS MATEMATICO DE LOS DATOS OBTENIDOS:

Tanto las medidas físicas como las determinaciones analíticas se sometieron a estudio estadístico con la calculadora Hewlett Packard 9815 A. obteniendo media, desviación standard, error standard, t paired e impaired y significatividad de P por el test de "Student".

RESULTADOS OBTENIDOS

COMPORTAMIENTO DE LOS ANIMALES A LO LARGO DE LA EXPERIENCIA.

En las ratas tratadas con las máximas dosis del fármaco se observó un adelgazamiento progresivo y pérdida de vitalidad así como intensas amiotrofias, muriendo en el grupo IV de los estadios puberal y adulto tres de sus ratas al final del tratamiento.

En el estadio prepuberal murieron al inicio del tratamiento dos de las ratas del grupo II y todas las del grupo III por dificultad en la crianza por las madres.

RATAS PREPUBERALES

A) PESO DE RATAS PREPUBERALES AL INICIO Y FINAL DE LA EXPERIENCIA.

En el CUADRO I se muestran en forma numérica los valores individuales, medios, desviaciones y errores standards de la media del peso de los animales tanto al principio como al final de la experiencia, estando dichas medias y errores standards así como el estudio estadístico de significatividades reseñados en la FIGURA 1 con diagrama de barras.

Se observa que partiendo de un peso similar en los tres grupos al inicio de la experiencia sin significatividad estadística entre ellos (P:NS), al final se alcanzó en todos un aumento ponderal muy significativo ($P < 0,001$) - mientras que este incremento fué de igual cuantía para los grupos I y II, por el contrario en el IV fué muy inferior con una diferencia altamente significativa ($P < 0,001$) al final de la experiencia respecto a los anteriores.

CUADRO I

PESO DE LAS RATAS AL PRINCIPIO Y AL FINAL DE LA EXPERIENCIA
RATAS PREPUBERALES

GRUPO I

<u>a</u>			<u>b</u>		
13			64		
13,5			61,5		
13,5			68		
14	M:	13,58	67,5	M:	63,333
14	DS:	0,38	63	DS:	4,400
13,5	ES:	0,15	56	ES:	1,796

GRUPO II

<u>a</u>			<u>b</u>		
16			66		
14			68		
12,5			68,5		
14	M:	13,58	76	M:	69,625
12,5	DS:	1,48	--	DS:	4,385
12,5	ES:	0,61	--	ES:	2,192

GRUPO III

<u>a</u>			<u>b</u>		
15			46		
12			45		
12			35		
15	M:	13,50	30	M:	31,500
15	DS:	1,64	14	DS:	13,187
12	ES:	0,67	19	ES:	5,383

B) PESO DE TESTICULO.

En el CUADRO II y FIGURA 2 aparecen los valores individuales, me dios, desviaciones y errores standards evidenciandose los mayores valores me— dios en el grupo de menor dosis, siendo significativa la diferencia con el gru— po último ($P < 0,02$), mientras que no existen diferencias valorables estadística— mente con el grupo control. Al comparar por otra parte el grupo control con el de máxima dosis se aprecia en éste último unos valores medios inferiores si - bien no existió significatividad estadística ($P: NS$) apreciable entre ellos.

Cuando referimos el peso del teste al peso del animal entero, a— preciamos un progresivo aumento de estos valores relativos, encontrando su va— lor máximo en el grupo de mayor dosis, con diferencia estadística significati— va respecto a los otros dos.

CUADRO II

PESO DE TESTICULO. RATAS PREPUBERALES

GRUPO I

0,388
 0,256
 0,457
 0,304 M: 0,334
 0,374 DS: 0,073
 0,278 ES: 0,029

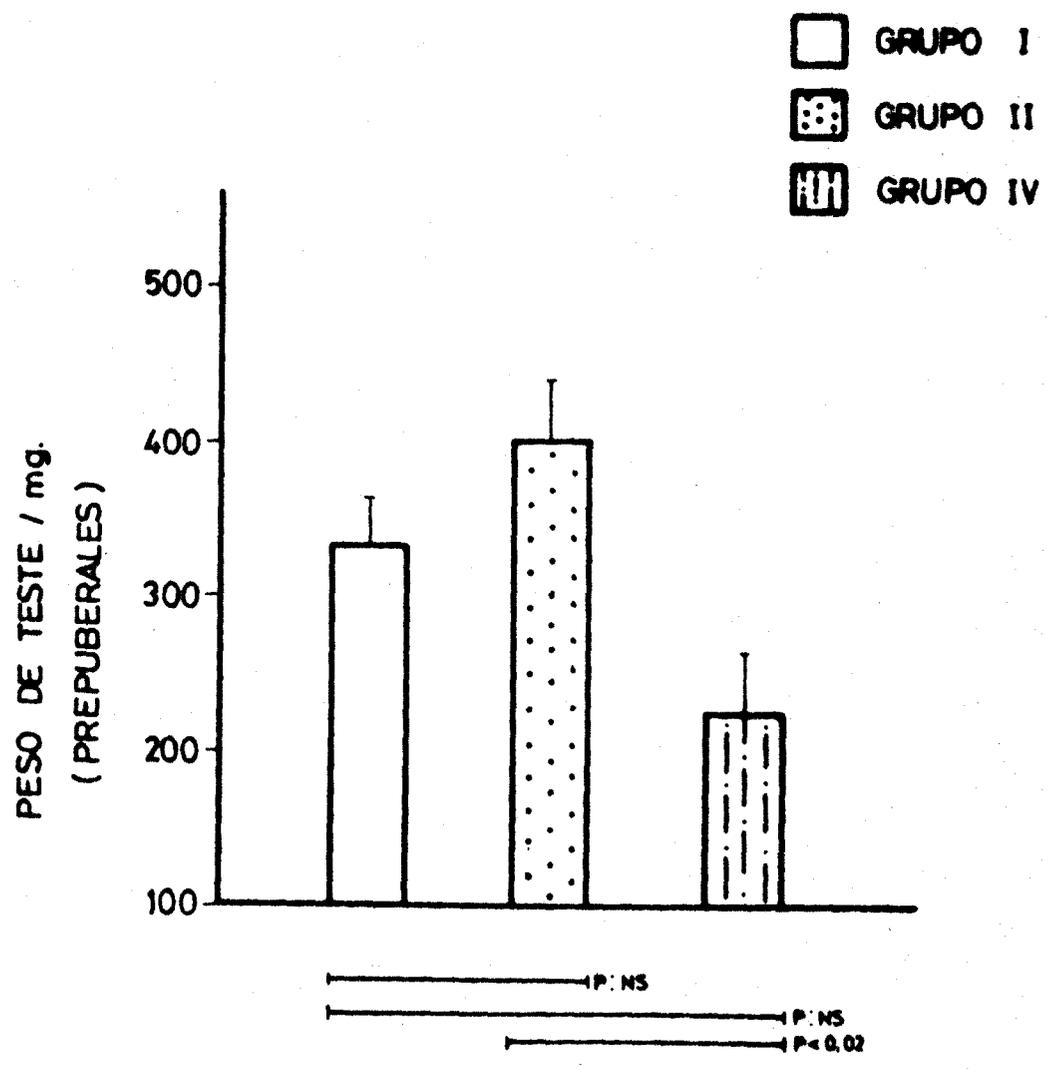
GRUPO II

0,359
 0,426
 0,394
 0,451 M: 0,4075
 - DS: 0,039
 - ES: 0,019

GRUPO IV

0,346
 0,322
 0,204
 0,243 M: 0,225
 0,104 DS: 0,097
 0,135 ES: 0,398

FIGURA 2



CUADRO III

RELACION PESO TESTE / PESO RATA
RATAS PREPUBERALESGRUPO I

5,281	
4,161	
6,720	
4,503	M: 5,260
5,936	DS: 0,944
4,964	ES: 0,385

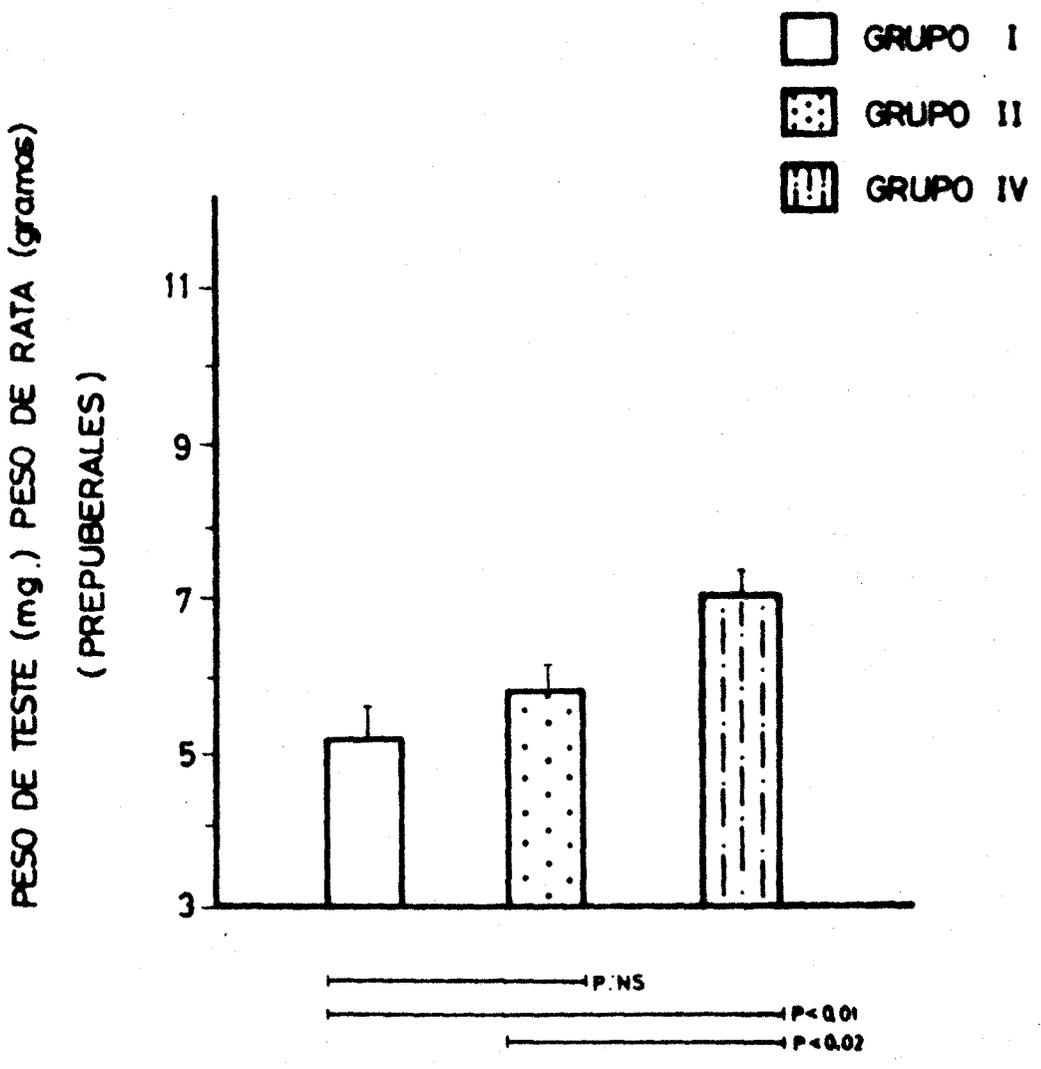
GRUPO II

5,439	
6,264	
5,751	
5,934	M: 5,847
-	DS: 0,345
-	ES: 0,172

GRUPO IV

7,521	
7,155	
5,828	
8,100	M: 7,189
7,428	DS: 7,560
7,105	ES: 0,308

FIGURA 3



C) PESO DE EPIDIDIMO.

Referente al peso de epidídimo observamos que en el grupo tratado con menor dosis de dexametasona existe un aumento de peso epididimario, con diferencia estadística significativa con el grupo control y de máxima dosis utilizada ($P < 0,01$ y $P < 0,05$). No existió diferencia significativa entre el grupo control y el último grupo ($P: NS$).

Al relacionar el peso de epidídimo con el peso de rata, observamos un incremento de igual cuantía ($P: NS$) de los valores relativos en los dos grupos tratados farmacológicamente con diferencia estadística significativa de ambos respecto al control ($P < 0,02$ y $P < 0,05$).

C U A D R O I V

PESO DE EPIDIDIMO. RATAS PREPUBERALES.

GRUPO I

0,023	
0,013	
0,030	
0,042	M: 0,028
0,036	DS: 0,010
0,028	ES: 0,004

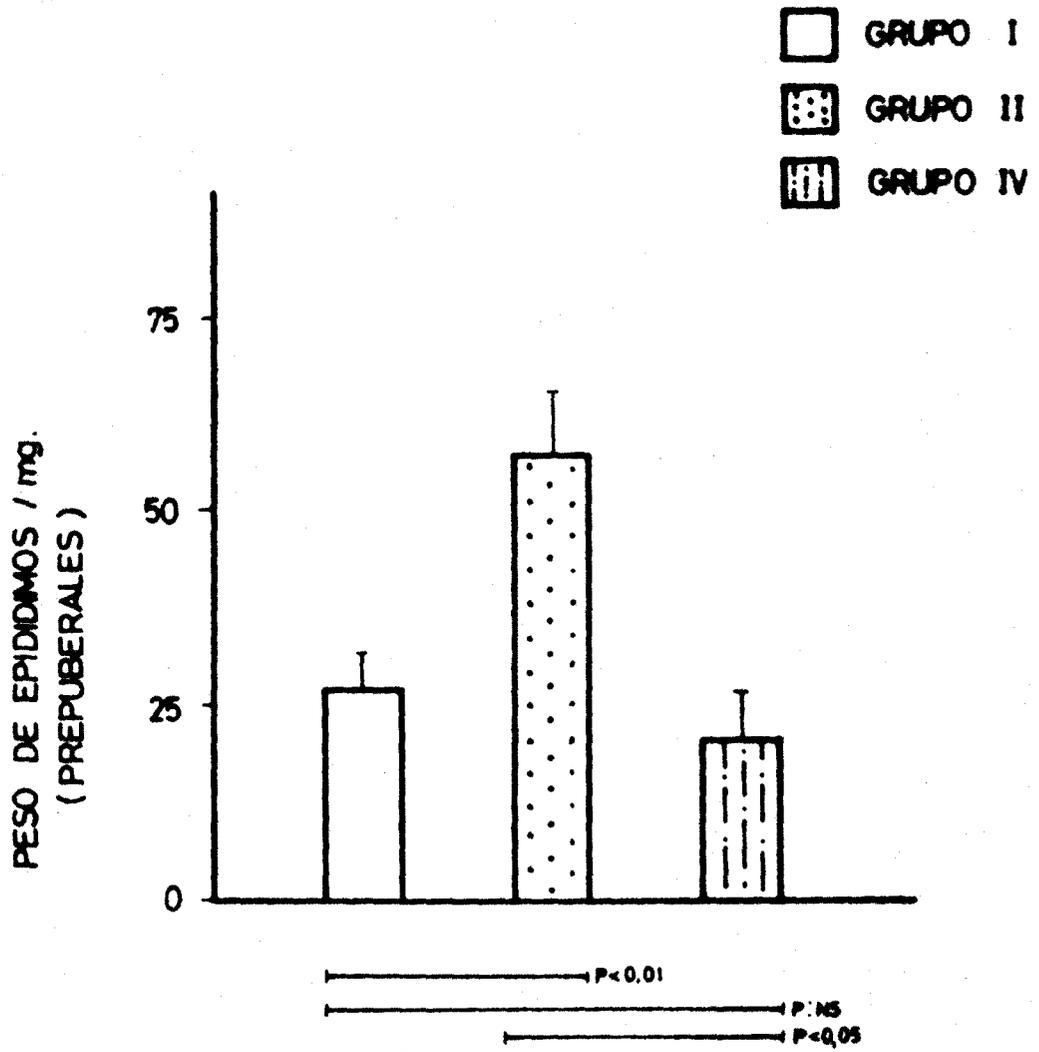
GRUPO II

0,041	
0,075	
0,072	
0,046	M: 0,058
-	DS: 0,017
-	ES: 0,008

GRUPO IV

0,030	
0,026	
0,040	
0,010	
-	M: 0,027
-	DS: 0,012
-	ES: 0,005

FIGURA 4



CUADRO V

RELACION PESO EPIDIDIMO / PESO RATA
RATAS PREPUBERALESGRUPO I

0,359	
0,211	
0,441	
0,622	M: 0,450
0,571	DS: 0,149
0,500	ES: 0,061

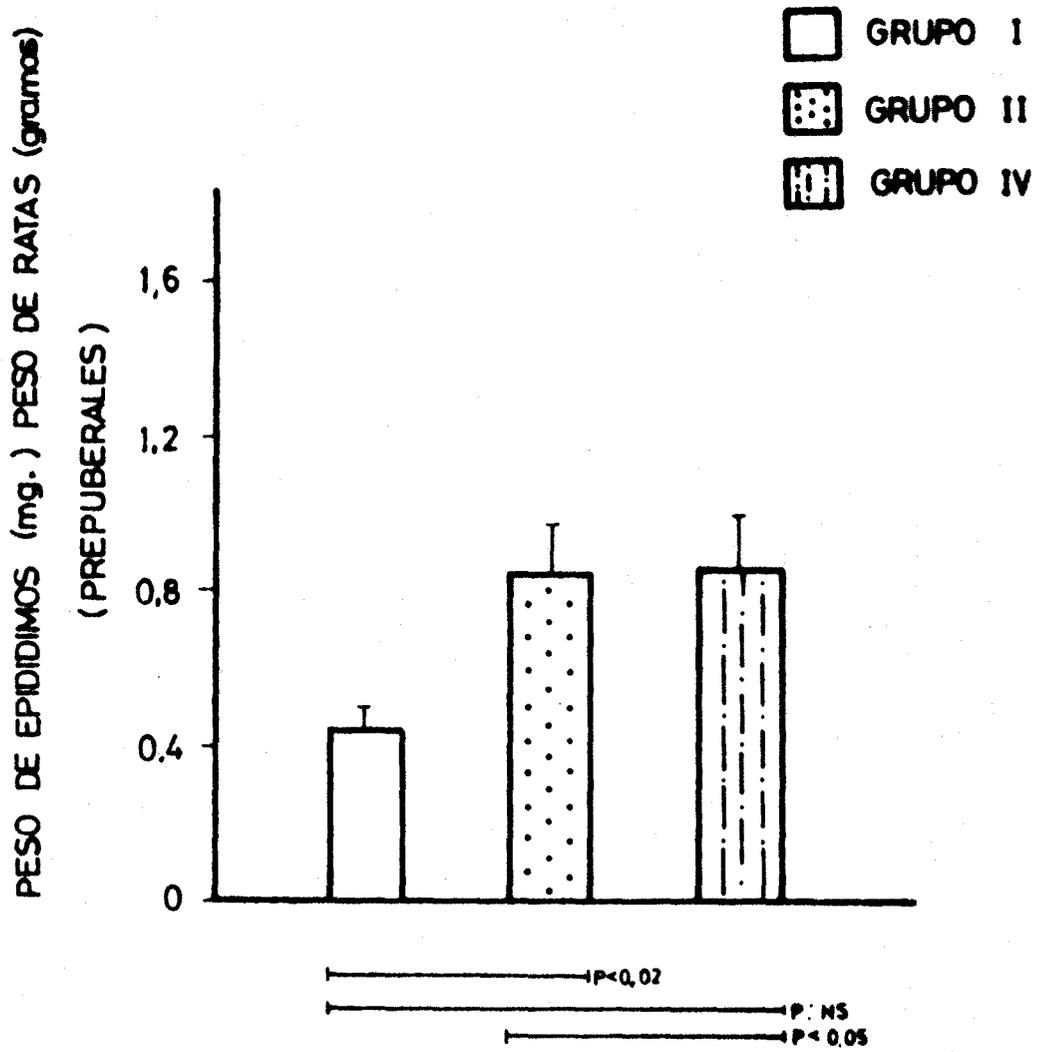
GRUPO II

0,621	
1,102	
1,051	
0,605	M: 0,844
-	DS: 0,268
-	ES: 0,134

GRUPO IV

0,666	
0,742	
1,333	
0,714	M: 0,863
-	DS: 0,314
-	ES: 0,157

FIGURA 5



D) PRODUCCION DE TESTOSTERONA POR LAS CELULAS AISLADAS DE LEYDIG EN EL MEDIO DE INCUBACION (RATAS PREPUBERALES).

La liberación de testosterona al medio de incubación, tanto tras el estímulo con HCG, como sin él se representa en el CUADRO VI y FIGURA 6.

En condiciones basales se observa como en el grupo de menor dosis (5 $\mu\text{g.} / 100 \text{ g.} / \text{día}$) la liberación de testosterona al medio es superior a la de los dos restantes grupos, con diferencia para ambos a nivel de $P < 0,01$, no existiendo diferencia significativa entre las ratas del grupo control y las tratadas con 50 $\mu\text{g.} / 100 \text{ g.} / \text{día}$.

Cuando comparamos los valores tras estímulos con HCG observamos un descenso de producción de testosterona en los dos grupos tratados, no obstante no se apreció significatividad estadística entre los distintos grupos, debido a la gran dispersión de valores existentes en torno al valor medio, evidenciado por el alto error standard obtenido.

Al comparar la producción basal con la obtenida tras estímulo — con HCG, se observa un aumento claramente significativo de esta última de los grupos I y IV ($P < 0,05$ y $P < 0,02$ respectivamente) mientras que en el grupo II no fué valorable ($P: \text{NS}$).

CUADRO VI

PRODUCCION DE TESTOSTERONA EN EL MEDIO DE INCUBACION ng /teste
RATAS PREPUBERALES.

GRUPO I

BASAL 3,937 M: 3,887
3,975 DS: 0,120
3,750 ES: 0,7

H.C.G. 5,062
9,375
6,750
12,187 M: 9,222
8,062 DS: 3,329
13,893 ES: 1,359

GRUPO II

BASAL 4,312 M: 4,562
4,687 DS: 0,217
4,687 ES: 0,125

H.C.G. 9,375
6,750
11,250
5,062 M: 7,094
3,750 DS: 2,772
6,375 ES: 1,132

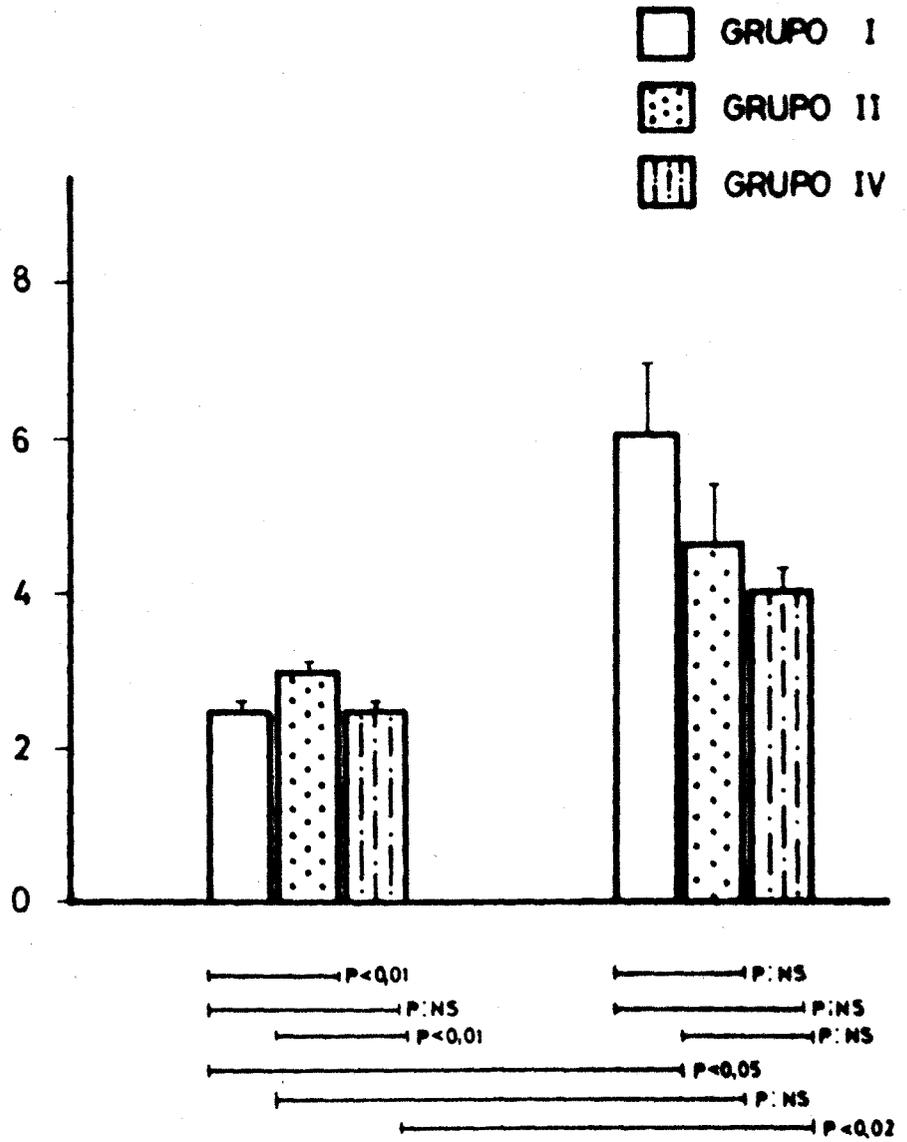
GRUPO IV

BASAL 3,937 M: 3,812
3,750 DS: 0,108
3,750 ES: 0,062

H.C.G. 8,062
7,500
6,375
5,628 M: 6,282
4,500 DS: 1,319
5,625 ES: 0,538

FIGURA 6

PRODUCCION DE TESTOSTERONA AL MEDIO DE INCUBACION ng. / TESTE / 180'
(PREPUBERALES)



RATAS PUBERALES

A) PESO DE RATAS PUBERALES AL INICIO Y FINAL DE LA EXPERIENCIA.

De igual forma a las ratas prepuberales en el CUADRO VII se exponen los valores individuales de peso de rata al inicio y final de la experiencia así como sus medias, desviaciones y errores standards de la media, - representando en la FIGURA 7 con diagrama de barras la media, error standard y estudio estadístico comparativo entre los distintos grupos.

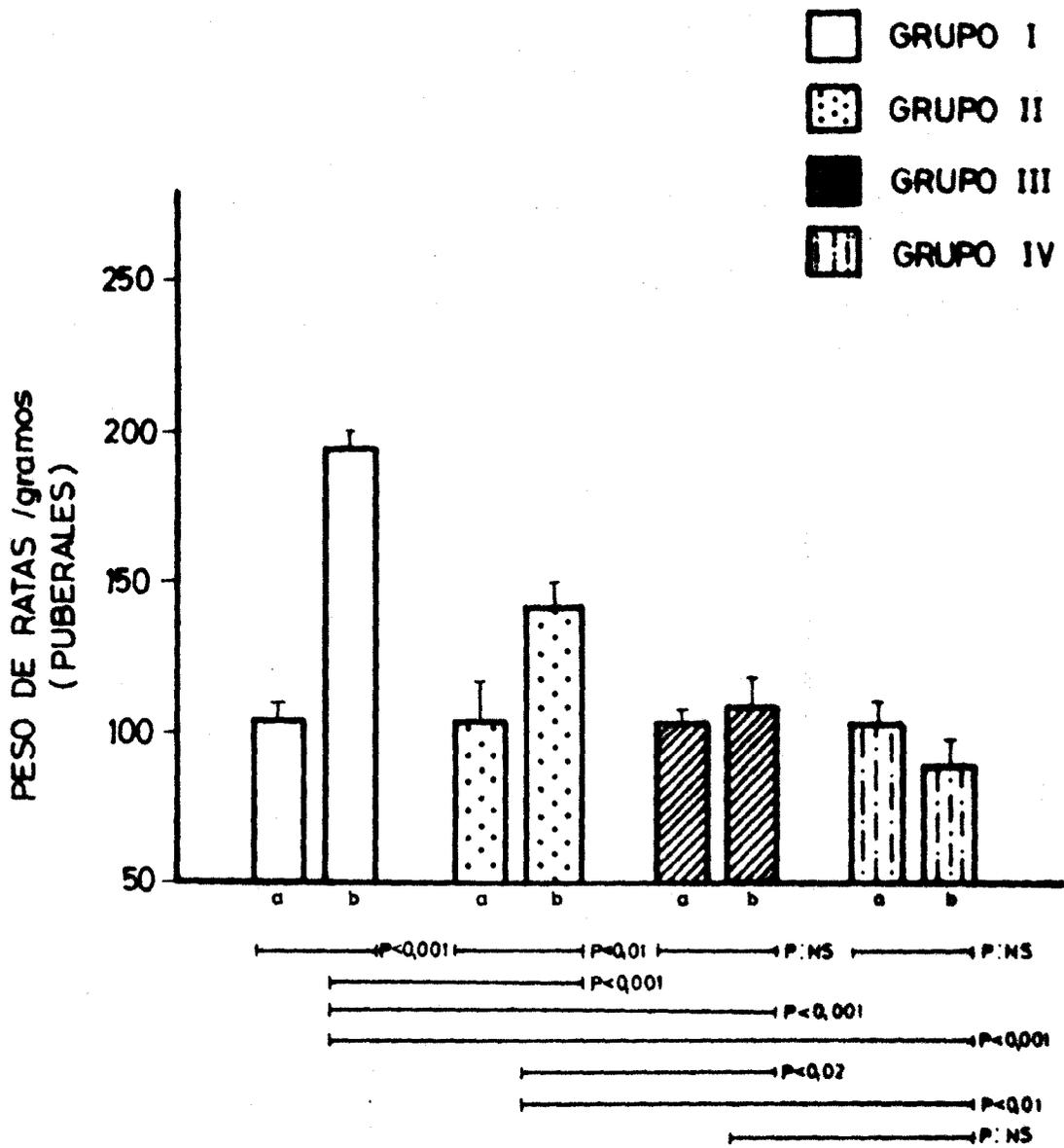
Se aprecia que partiendo de un peso similar al inicio de la experiencia, en los cuatro grupos, sin significatividad estadística entre ellos (P:NS) al final de la experiencia este incremento en el grupo II, con diferencia significativa respecto al anterior ($P < 0,001$) mientras que en los grupos - III y IV de mayor dosis utilizada, presentaron una detención total en el crecimiento ponderal, con unos valores indistinguibles estadísticamente de los del inicio (P:NS).

CUADRO VII

PESO DE LAS RATAS AL PRINCIPIO Y AL FINAL DE LA EXPERIENCIA
RATAS PUBERALES

<u>GRUPO I</u>				<u>GRUPO II</u>			
<u>a</u>		<u>b</u>		<u>a</u>		<u>b</u>	
100		193		118		145	
197		206		112		135	
115		180		114		172	
98		190		82		122	
96		206		109	M: 103,42	121	M: 142
101	M: 103,375	187	M: 195,25	89	DS: 13,587	164	DS: 19,714
105	DS: 6,022	205	DS: 9,706	100	ES: 5,135	135	ES: 7,451
105	ES: 2,129	195	ES: 3,431				
 <u>GRUPO III</u>				 <u>GRUPO IV</u>			
<u>a</u>		<u>b</u>		<u>a</u>		<u>b</u>	
104		85		96		73	
107		91		108		70	
129		108		82		104	M: 91,200
86		124		128		99	DS: 18,431
106	M: 104,571	100	M: 110	128	M: 104	110	ES: 8,246
101	DS: 12,869	145	DS: 20,655	102	DS: 18,797		
99	ES: 4,864	117	ES: 7,807	84	ES: 7,104		

FIGURA 7



B) PESO DE TESTICULO.

Respecto a los valores de peso testicular observamos que los grupos III y IV de máxima dosis utilizada son los inferiores de todos los grupos, existiendo al compararlos con el grupo control una diferencia claramente significativa ($P < 0,002$ y $P < 0,05$) no existiendo significatividad en la diferencia de ellos entre sí.

En grupo II presenta un peso indistinguible estadísticamente del grupo control (P:NS) mientras que al compararlo con el grupo III si existió una diferencia significativa a nivel de $P < 0,05$.

Al relacionar el peso testicular con el de los animales enteros se evidencia un progresivo incremento de estos valores relativos, con diferencia claramente significativa entre los grupos tratados farmacológicamente y el control a nivel de $P < 0,001$ para todos ellos, mientras que al comparar los valores de los grupos de máxima dosis III y IV no existieron diferencias apreciables (P:NS), así mismo ocurrió al comparar el II y el III (P:NS) pero por el contrario entre el grupo II y IV sí fué valorable esta diferencia ($P < 0,01$).

CUADRO VIII

PESO DE TESTICULO. RATAS PUBERALES

GRUPO I

2,424
 2,788
 2,476
 1,931
 2,451
 2,531 M: 2,476
 2,379 DS: 0,276
 2,829 ES: 0,097

GRUPO II

2,499
 2,518
 2,530
 2,464
 1,901
 2,400 M: 2,387
 2,398 DS: 0,220
 - ES: 0,083

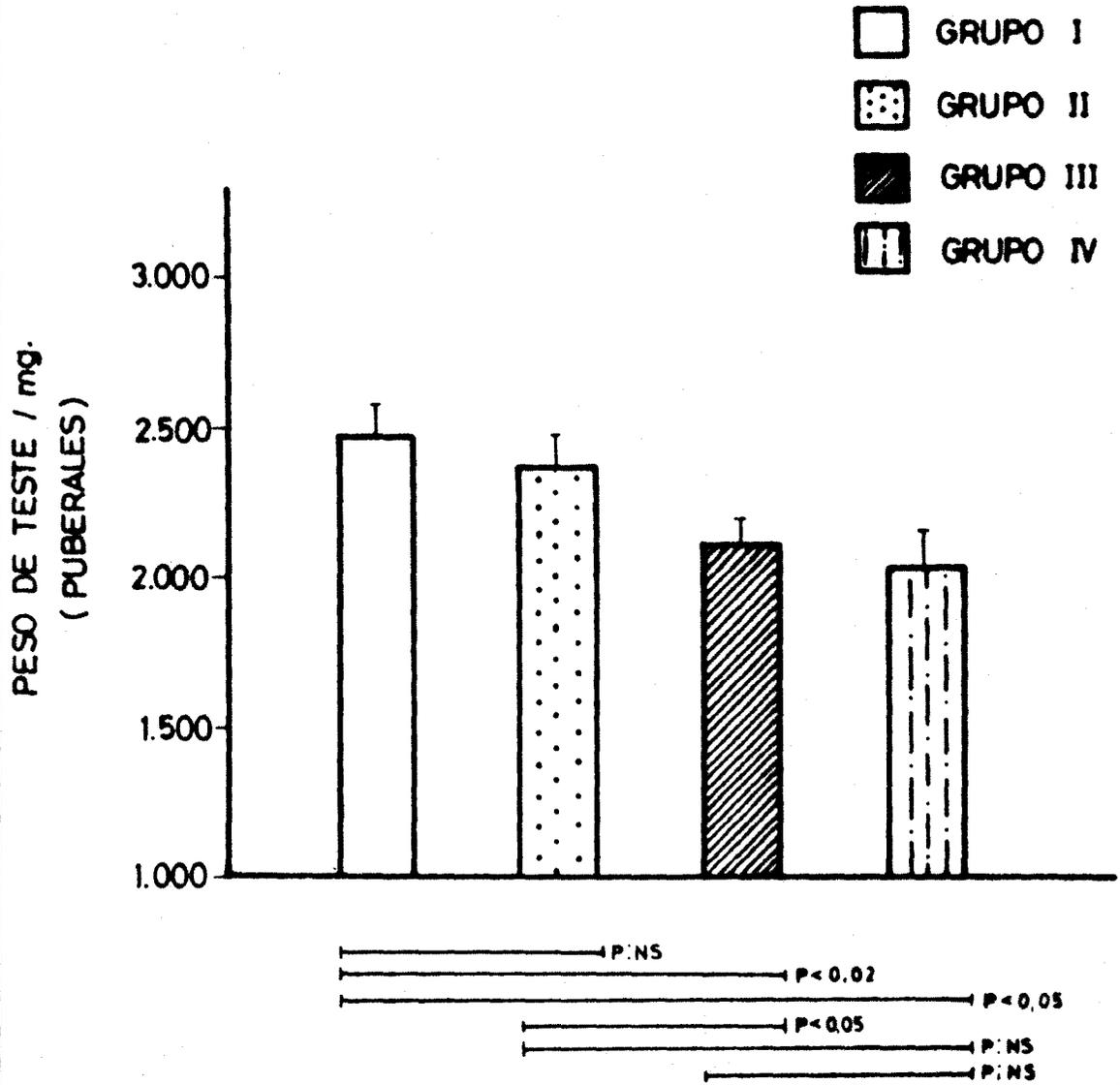
GRUPO III

2,110
 1,672
 2,341
 2,109
 2,177 M: 2,111
 2,298 DS: 0,216
 2,129 ES: 0,081

GRUPO IV

2,141
 1,534
 2,304
 2,163
 2,156 M: 2,061
 - DS: 0,297
 - ES: 0,132

FIGURA 8



CUADRO IX

RELACION PESO TESTE / PESO RATA
 RATAS PUBERALES

GRUPO I

12,559
 13,533
 13,755
 10,163
 11,808
 13,534 M: 12,694
 11,604 DS: 1,417
 14,507 ES: 0,501

GRUPO II

17,234
 18,651
 18,740
 14,325
 15,581
 19,834 M: 16,998
 14,621 DS: 2,185
 -- ES: 0,826

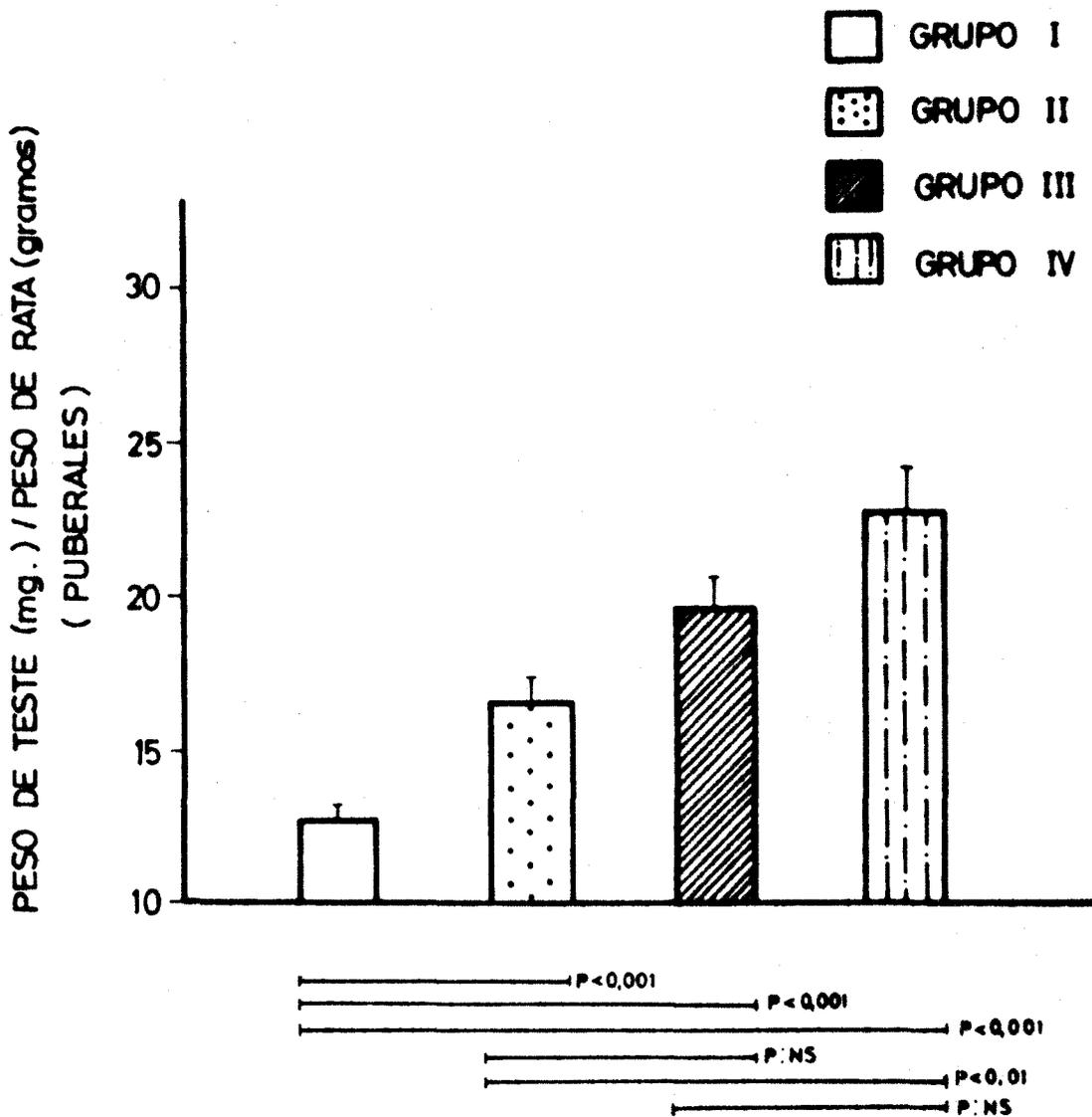
GRUPO III

24,705
 18,373
 21,675
 15,848
 17,008 M: 19,567
 21,170 DS: 3,084
 18,196 ES: 1,166

GRUPO IV

29,328
 22,042
 22,153
 21,848
 19,600 M: 22,994
 -- DS: 3,693
 -- ES: 1,651

FIGURA 9



C) PESO DE EPIDIDIMO.

El peso de epidídimo se representa en la FIGURA 10 y CUADRO X , donde se observa unos valores medios menores en los grupos III y IV respecto al control, no obstante su diferencia no resultó significativa estadísticamente (P:NS).

Al relacionar el peso de epidídimo con el peso de la rata se evidenció un progresivo incremento en los valores medios, siendo significativa la diferencia al comparar los tres grupos tratados con el control y no existiendo esta significatividad al relacionarlos entre sí.

CUADRO X
PESO DE EPIDIDIMO. RATAS PUBERALES

GRUPO I

0,418		
0,492		
0,368		
0,319		
0,358		
0,485	M:	0,444
0,579	DS:	0,092
0,534	ES:	0,032

GRUPO II

0,534		
0,488		
0,434		
0,432		
0,323		
0,333	M:	0,420
0,400	DS:	0,076
--	ES:	0,029

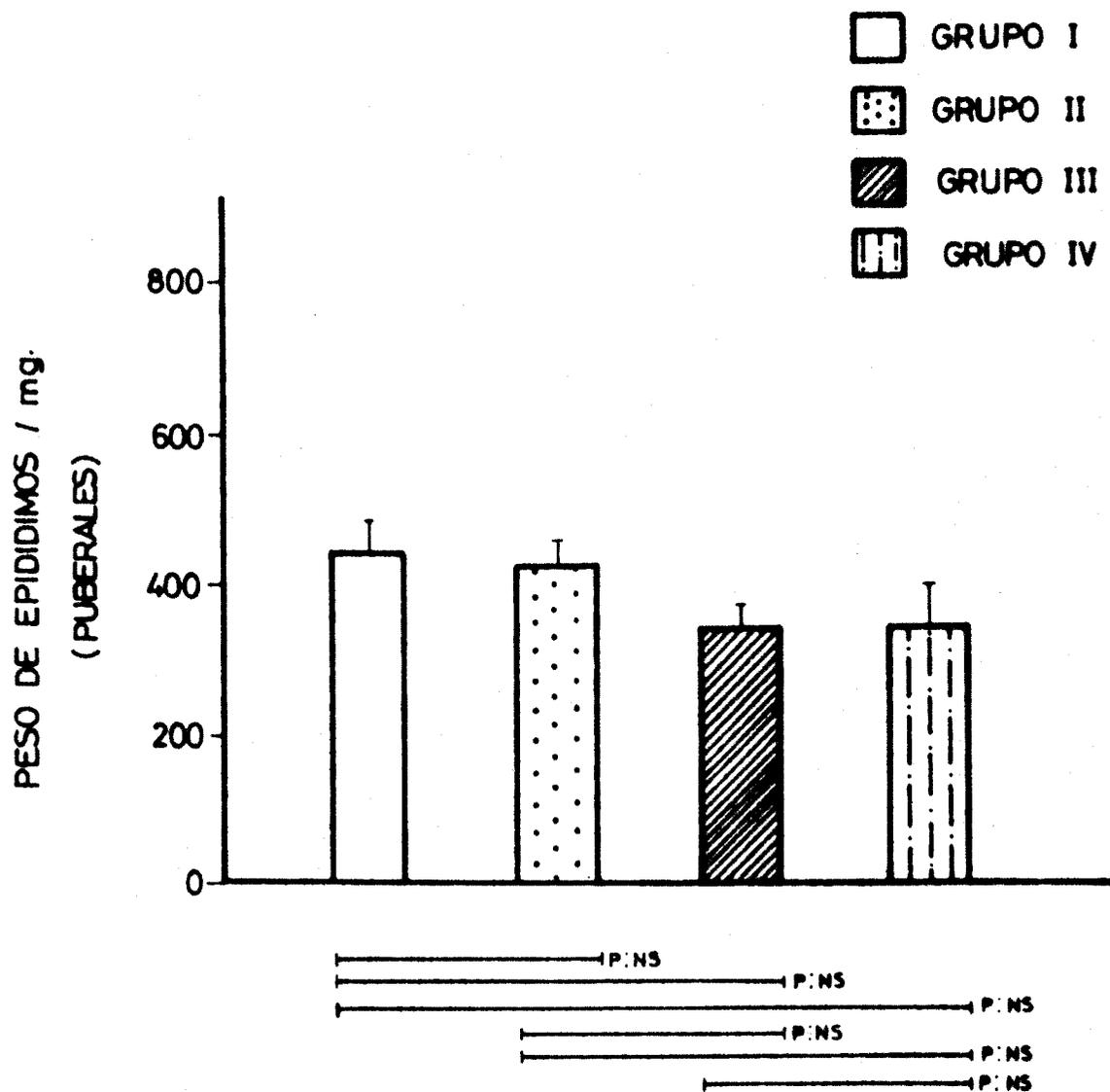
GRUPO III

0,328		
0,178		
0,360		
0,370		
0,361	M:	0,339
0,417	DS:	0,075
0,363	ES:	0,028

GRUPO IV

0,302		
0,166		
0,397		
0,462		
0,401	M:	0,345
--	DS:	0,12
--	ES:	0,05

FIGURA 10



CUADRO XI
RELACION PESO EPIDIDIMO / PESO RATA
RATAS PUBERALES

GRUPO I

2,165
2,388
2,044
1,678
1,737
2,593 M: 2,270
2,824 DS: 0,437
2,738 ES: 0,154

GRUPO II

3,682
3,614
3,214
2,511
2,647
2,752 M: 2,979
2,439 DS: 0,520
-- ES: 0,196

GRUPO III

3,858
1,956
3,333
2,983
3,610 M: 3,102
2,875 DS: 0,614
3,102 ES: 0,232

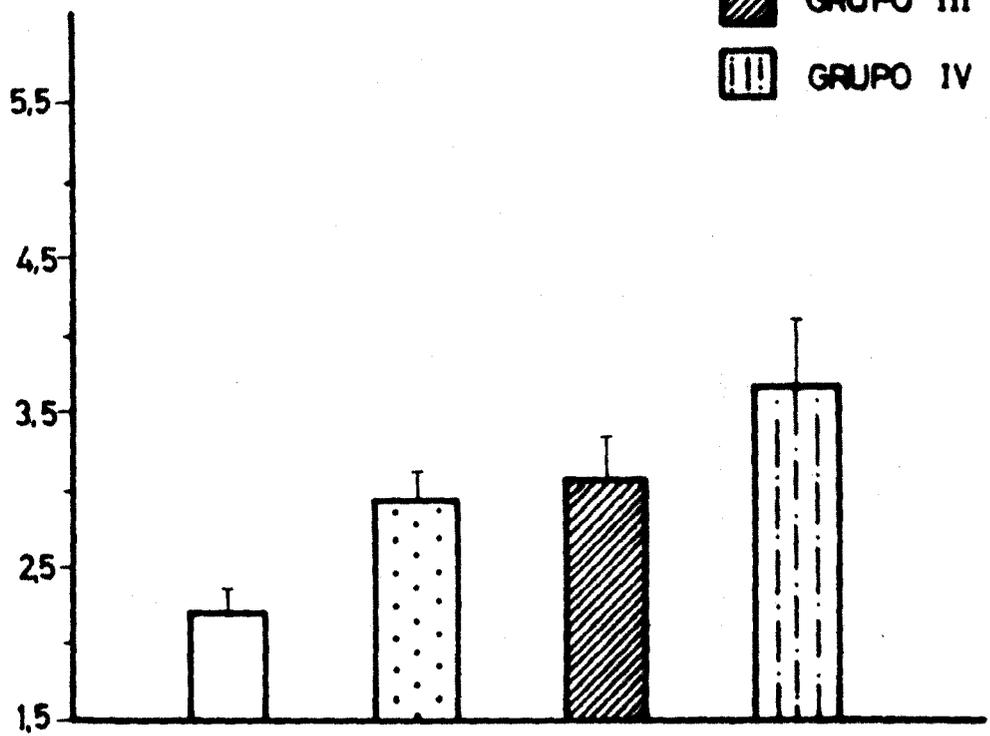
GRUPO IV

4,136
2,371
3,817
4,666
3,645

FIGURA 11

PESO DE EPIDIDIMOS (mg.) / PESO DE RATAS (gramos)
(PUBERALES)

-  GRUPO I
-  GRUPO II
-  GRUPO III
-  GRUPO IV



Statistical significance markers between groups:

- Group I vs Group II: $p < 0.02$
- Group I vs Group III: $p < 0.01$
- Group I vs Group IV: $p < 0.01$
- Group II vs Group III: P.N.S.
- Group II vs Group IV: P.N.S.
- Group III vs Group IV: P.N.S.

D) TESTOSTERONA PLASMÁTICA.

La testosterona plasmática como se vé en el CUADRO XII presenta unos valores medios en los tres primeros grupos muy similares mientras que en el grupo IV este valor medio es claramente inferior, no obstante como se aprecia en la FIGURA 12 este descenso no alcanzó significatividad estadística, dado el muy escaso número de muestras que se pudieron determinar.

CUADRO XII
 TESTOSTERONA PLASMÁTICA ng. % ml.
 RATAS PUBERALES

GRUPO I

160	
126	
293	
240	
220	
226	M: 214,75
213	DS: 51,310
240	ES: 18,141

GRUPO II

253	
320	
240	
126	
173	
-	M: 222,400
-	DS: 75,008
-	ES: 33,544

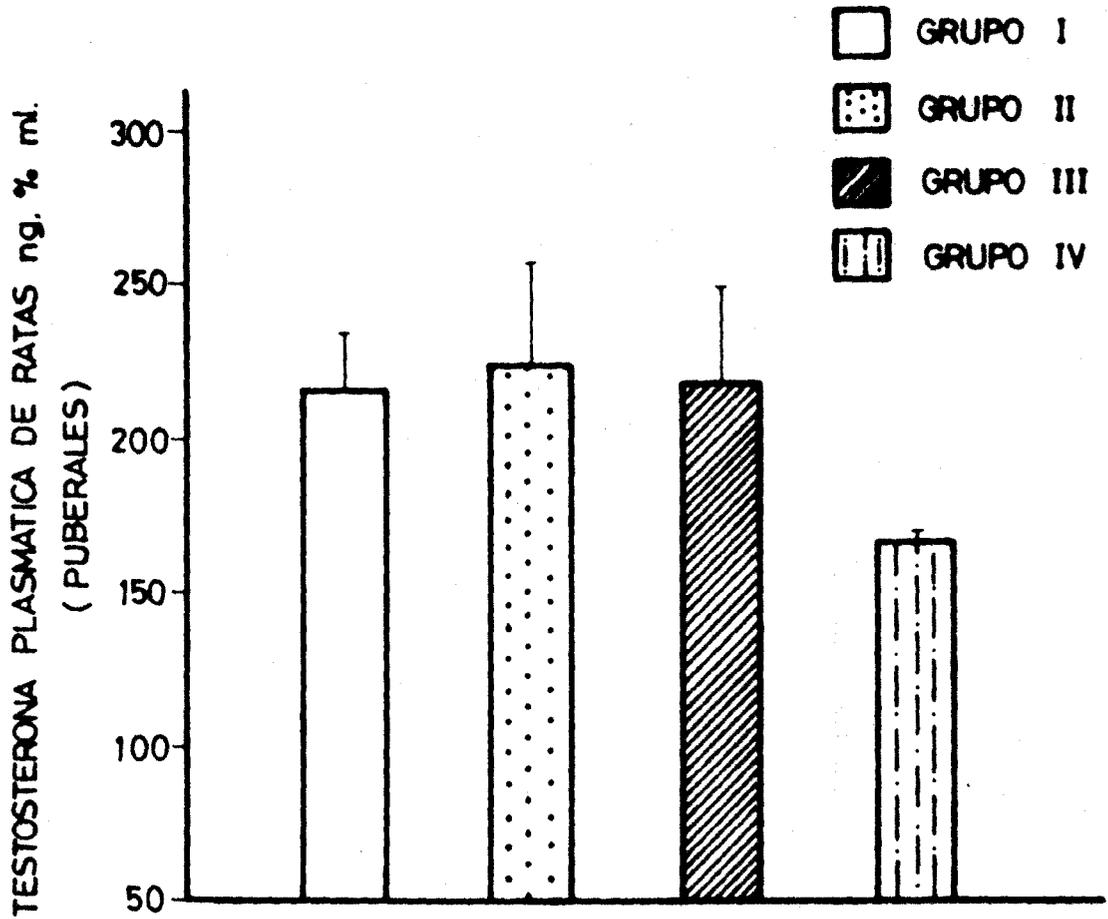
GRUPO III

266	
173	
133	
226	
106	M: 216,71
280	DS: 82,88
333	ES: 31,327

GRUPO IV

166	
173	
166	
-	
-	M: 168,333
-	DS: 4,041
-	ES: 2,333

FIGURA 12



P: NS
P: NS
P: NS
P: NS
P: NS



E) PRODUCCION DE TESTOSTERONA POR LAS CELULAS AISLADAS DE LEYDIG EN EL MEDIO DE INCUBACION.

Los resultados obtenidos tanto en situación basal como tras estímulo con HCG son representados en la FIGURA 13 y CUADRO XIII.

En situación basal se observa un muy notable descenso del grupo IV respecto al control, con una alta significatividad estadística ($P < 0,01$) — siendo también ostensible esta diferencia al comparar dicho grupo con los demás sometidos a tratamiento.

Trás estímulo con HCG observamos como existe una clara diferencia de los grupos tratados con dosis máximas (III y IV) al compararlos con el control, con un muy alto grado de significatividad en su diferencia ($P < 0,01$; $P < 0,001$) siendo a su vez significativa la diferencia de ellos entre sí.

El grupo con la mínima dosis utilizada fué en su producción tras estímulo indistinguible estadísticamente del grupo control, presentando por el contrario un alto grado de significatividad su diferencia con los grupos III y IV.

Al comparar la producción basal con la obtenida tras estímulo con HCG se aprecia en todos los grupos un claro incremento con alta significatividad estadística ($P < 0,001$).

C U A D R O X I I I

PRODUCCION DE TESTOSTERONA EN EL MEDIO DE INCUBACION ngr/teste
 RATAS PUBERALES

GRUPO I

BASAL 38,598 M: 41,998
 40,398 DS: 4,422
 46,998 ES: 2,555

H.C.G. 195,191
 107,499
 183,699
 123,300
 230,898
 178,299 M: 165,474
 146,898 DS: 40,002
 157,998 ES: 14,143

GRUPO II

BASAL: 20,700 M: 25,933
 27,600 DS: 4,630
 29,499 ES: 2,673

H.C.G. 131,100
 130,599
 132,108
 145,299
 142,200
 186,300 M: 148,237
 144,198 DS: 20,826
 174,000 ES: 7,363

GRUPO III

BASAL 41,199 M: 39,365
 34,398 DS: 4,35
 42,498 ES: 2,51

H.C.G. 86,100
 113,850
 107,298
 93,999
 115,200
 112,500 M: 102,86
 78,798 DS: 14,52
 115,200 ES: 5,135

GRUPO IV

BASAL 15,300 M: 14,00
 12,699 DS: 1,839
 - ES: 1,301

H.C.G. 67,200
 60,099
 60,900
 56,199
 63,000
 44,598 M: 59,637
 63,999 DS: 6,861
 61,098 ES: 2,426

RATAS ADULTASPRODUCCION DE TESTOSTERONA POR LAS CELULAS AISLADAS DE LEYDIG EN EL MEDIO DE INCUBACION.

La liberación de testosterona al medio de incubación, tras el periodo establecido, tanto en situación basal como tras estímulo, se representan en la FIGURA 14 y CUADRO XIV. Se puede observar como en condiciones basales, el grupo tratado con 5 $\mu\text{g}/100\text{ g}/\text{día}$, presenta mayor producción de testosterona, con una diferencia significativa con los restantes grupos, obteniéndose la de mayor grado $P < 0,01$ con el grupo III. Los grupos de más alta dosis no presentan diferencia significativa entre ambos, existiendo en el grupo de 50 $\mu\text{g}/100\text{ g}/\text{día}$ una diferencia a nivel de $P < 0,05$ con el control y no siendo significativa esta diferencia con el grupo tercero.

Trás estímulo con HCG se evidencia una mayor producción de testosterona en el grupo segundo, similarmente a lo ocurrido en condiciones basales, siendo significativa su diferencia con la del grupo control ($P < 0,01$) y de mayor grado aún la obtenida al compararse con los dos grupos restantes que a su vez también presentan un gran descenso de producción con respecto a la del grupo control con significatividad a nivel de $P < 0,001$, siendo el grupo tercero el que presenta un menor valor medio, inferior incluso al del grupo IV.

Junto a la marcada diferencia existente entre los valores medios del grupo control y I al comparar la liberación de testosterona en situación basal y tras estímulo ($P < 0,001$ y $P < 0,05$) contrasta extraordinariamente la falta de diferencia entre los valores de los grupos III y IV ($P: \text{NS}$), objetivándose por tanto la nula respuesta de las células obtenidas de las ratas de dichos grupos ante el estímulo específico.

C U A D R O X I V

PRODUCCION DE TESTOSTERONA EN EL MEDIO DE INCUBACION ng /teste
 RATAS ADULTAS

GRUPO I

BASAL 26,088 M: 30,528
 32,898 DS: 3,848
 32,598 ES: 2,222

H.C.G. 50,298
 52,098
 46,398
 53,400
 49,050
 46,398 M: 49,818
 49,500 DS: 2,531
 51,399 ES: 0,895

GRUPO II

BASAL 41,850 M: 48,716
 45,699 DS: 8,773
 58,599 ES: 5,065

H.C.G. 90,198
 108,498
 69,399
 86,85
 80,400
 39,498 M: 78,943
 70,800 DS: 20,094
 85,899 ES: 7,104

GRUPO III

BASAL 22,200 M: 21,233
 25,800 DS: 5,119
 15,699 ES: 2,956

H.C.G. 22,698
 22,698
 21,198
 19,599
 16,200
 16,500 M: 18,737
 16,899 DS: 3,262
 14,100 ES: 1,153

GRUPO IV

BASAL 22,980 M: 22,550
 24,900 DS: 2,592
 19,770 ES: 1,496

 26,919
 31,242
 28,557
 30,261
 17,422
 26,985 M: 29,900
 32,226 DS: 7,822
 45,588 ES: 2,766

EPICRITICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

En razón a su edad, las ratas utilizadas en nuestra experiencia, pueden considerarse prepuberales, puberales y adultas, según trabajos publicados por otros autores (NEGRO-VILAR, A., KRULICH, L. y Mc.CANN, S.M., - 1.973) (GUPTA, D., ZARZYCKI, J. y RAGER, K., 1.975).

Las ratas tratadas con el fármaco, tanto prepuberales como puberales, experimentaron un descenso ponderal significativo y mientras — que en las primeras éste sólo fué evidente a las dosis de 50 μg ./100 g ./ dia, en las segundas ya con 5 μg . se manifestó el déficit, si bien más — notable a las dosis máximas. Descenso en el peso de los animales, tras el tratamiento con glucocorticoides ha sido reseñada ya anteriormente por — TICE, L.W. y ENGEL, A.G. (1.967), ELLIS, J.T. (1.956) y en una experiencia de similar duración a la nuestra, con dosis altas de cortisona por TISSEL, L.E. (1.970). Nosotros observamos idéntico efecto en trabajo desarrollado con anterioridad, en el cual a ratas adultas se les administró dexametasona a dosis semejantes y con idéntica duración a la de la experiencia actual (RO MERO, Z.A., 1.977).

Parece ser que los glucocorticoides pueden provocar un des— censo en el peso, tanto en los animales de experimentación como en el hom— bre, por sus propios mecanismos de acción biológica, fundamentalmente por su ACCION CATABOLICA a nivel de los tejidos y por su acción inhibitoria so bre los FACTORES HORMONALES DE CRECIMIENTO.

A la ACCION CATABOLICA, a nivel del tejido muscular y óseo, es a la que parece corresponder la mayor cuantía de esta pérdida ponderal de los animales tratados. Pérdida de masa muscular, producida por los glu cocorticoides, ha sido observada por TICE, L.W. y cols. (1.967), ELLIS, J.T., (1.956), D'AGOSTINO, A.N. y CHIGA, M. (1.966) así como en nuestras ratas. La

miopatía glucocorticoidea se ha intentado explicar por varios mecanismos pudiendose comprobar un descenso en la incorporación de aminoácidos a las proteínas (ARIYOSHI y PLAGER, J.E., 1.970) una inhibición del transporte de aminoácidos (KOSTYO, J.L., 1.965) así como alteraciones estructurales - en las mitocondrias de las fibras musculares con pérdida de su función - (BULLOCK, J.R., CHRISTIAN, R.A., PETERS, R.F. y WHITE, A.M., 1.971). Por otra parte las acciones catabólicas sobre el tejido óseo, descritas por STOREY, E. (1.969) entre otros, vienen dadas por una disminución de la división - celular del número de osteoblastos y osteoclastos así como escasez en la formación de hueso, con la consecuente rarefacción de las trabéculas óseas (osteoporosis).

Entre los FACTORES HORMONALES que actúan, de forma fundamental y positiva, sobre el potencial de crecimiento, se encuentran la hormona somatotropa (GH), las hormonas tiroideas, la insulina y los andrógenos.

Se sabe que los glucocorticoides, administrados a altas dosis, descienden en el hombre, la respuesta de HGH a la hipoglucemia insulínica, siendo mayor esta inhibición en tratamientos crónicos (FRANZ, A.G., y RABKIN, M.T., 1.964). En un estudio WERDER, K., VON HANE, S. y FORSHAN, P.H. (1.971) demostraron que la dexametasona inhibía la respuesta de HGH a la hipoglucemia en razón directa al tiempo en que se administró el fármaco. Existen por el contrario otras referencias en niños con retraso de crecimiento, inducido por glucocorticoides en los que la respuesta de HGH al estímulo fué normal (MORRIS, H.G., JØRGENSEN, J.R. y JENKINS, S.A., 1.968), lo que sugiere que la respuesta de HGH al estímulo, no es representativa de su producción, o bien que otros mecanismos son más importantes que éste. Independientemente de esta probable acción a nivel superior, se ha — comprobado, que la administración de glucocorticoides retrasa el crecimiento lineal producido por HGH en niños con hipopituitarismo y ratas hipofisectomizadas (SOYKA, L.F. y GRAWFORD, J.D., 1.965). Esto induce a pensar que los glucocorticoides puedan ser antagonistas de la hormona somatotropa, estando dicho antagonismo quizás en relación con la formación o acción de la

somatomedina (factor sintetizado en el hígado, que se cree dependiente de la HGH y a través del cual ejerce su acción dicha hormona). En este sentido la administración de acetato de cortisona se ha demostrado descende - la actividad de somatomedina en el suero de ratas hipofisectomizadas tratadas con GH (PHILLIPS,L.S., HERINGTON,A.C. y DAUGHADAY,W.H., 1.973) (PHILLIPS,L.S., HERINGTON,A.C., MUELLER,M.C. y DAUGHADAY,W.H., 1.973) (MOSIER, H.D.Jr., JANSONS,R.A., HILL,RR. y DEARDEN,L.C., 1.976). Asimismo niveles muy altos de cortisol se ha visto que disminuyen la acción periférica de somatomedina (CLARKE,J.S. y cols., 1.974). Paralelamente se ha comprobado que la administración de glucocorticoides puede inhibir la secreción de hormonas tiroideas (BROWN-GRANT,K., 1.955) así como de TSH hipofisaria (OTSUKE, M. y BABA,S., 1.973) y antagonizan la acción periférica de la insulina (CZECH,M.P. y FAIN,J.N., 1.972), por otra parte no sabemos, a la vista de nuestros resultados, en la medida que podría haber influido el déficit androgénico en la pérdida de peso de nuestros animales.

EL PESO TESTICULAR, similar en nuestros grupos controles al reseñado por PAYNE,A.H., KELCH,R.P., MURONO,E.P. y KERLAN,J.T. (1.977) fué menor, en las ratas puberales tratadas con las máximas dosis del fármaco, mientras que en las prepuberales no se objetivó diferencia con el grupo - control. La causa de este descenso de peso testicular en las ratas puberales, pudiera estar relacionado con la afectación del tejido germinal que - como se sabe es al que corresponde en mayor cuantía el desarrollo ponderal del teste. A este respecto ha sido señalado por ALBERT,A. (1.961) que los glucocorticoides (cortisona) ejercen una acción nociva sobre el epitelio - germinal de la rata y el ratón, mostrando a su vez VERJANS,H.L. y EIK-NES, K.B. (1.975) un incremento en los niveles de FSH en ratas tratadas con dexametasona.

AL RELACIONAR EL PESO DE TESTE CON EL PESO DEL ANIMAL ENTERO, encontramos unos valores incrementados de forma progresiva, paralelamente al aumento en las dosis de glucocorticoides utilizadas, que interpretamos sea -

debido a la importante afectación sufrida por el peso de los animales.

Con respecto al PESO DE EPIDIDIMO, no se obtuvo diferencia en ninguno de los grupos de ratas tratadas al compararlas con las ratas - controles, a excepción de las ratas prepuberales con la mínima dosis del fármaco en que existió un incremento. Como se reseñó en el capítulo de INTRODUCCION, el epidídimo necesita para su trofismo, junto a la presencia de líquido seminal y espermatozoides (PRASAD,M.R.N., RAJALAKSHMI,M., GUP- TA,G. y KARKUN,T., 1.973) triple cantidad de andrógenos que el resto de - las glándulas accesorias (PRASAD,M.R.N. y cols., 1.973). Nosotros en expe- riencias antes mencionadas (ROMERO,Z.A., 1.977) pudimos observar como el peso del epidídimo disminuía tras tratar ratas adultas con altas dosis de dexametasona, resultados que contrastan con los obtenidos en la actual ex periencia. No hemos encontrado en la literatura otros datos en cuanto al efecto del tratamiento con glucocorticoides sobre el peso del epidídimo, pero sí hay referencias bibliográficas de la acción de los glucocorticoi- des contrarrestando el crecimiento testosterona-inducido en los órganos - accesorios de la reproducción (próstata y vesículas seminales), datos es- tos aportados por TISSEL,L.E. (1.972)

En lo que se refiere a LA RELACION PESO DE EPIDIDIMO/PESO RA TA, los valores encontrados, en forma similar a lo observado con el peso - de teste, parecen estar estar más en relación con la gran pérdida de peso de los animales.

LOS NIVELES CIRCULANTES DE TESTOSTERONA PLASMATICA, en el — curso de la vida de la rata, muestran un incremento brusco en corto espa— cio de tiempo y así partiendo de valores de 30 ng. % ml., alcanzan nive- les 4-5 veces superiores al cabo de sólo 2-3 días. Existe aún cierta dis— crepancia entre los distintos autores en cuanto al día exacto en que se produce la mencionada subida definitiva y así mientras que GUPTA,D., ZAR— ZICKI,J. y RAGER,K. (1.974) sitúan esta alrededor del día 25, KNORR,D.W.,

VANHA-PERTTULA, T. y LIPSETT, M.B. (1.970) lo hacen en el día 35, y MIYACHI, Y., NIESCHLAG, E. y LIPSETT, M.B. (1.973) por el contrario en el día 18.

Nuestras ratas prepuberales controles, al final de la experiencia presentaban unos valores de testosterona circulante, semejante a los referidos por dichos autores para ratas de la misma edad. En los grupos de las ratas prepuberales tratadas no hemos encontrado diferencia alguna al respecto a los controles. Dicho hallazgo contrasta con el obtenido en nuestro trabajo previo antes mencionado (ROMERO, Z.A., 1.977) y que al tratar ratas adultas con idénticas dosis a las del actual trabajo, los niveles de testosterona plasmática fueron muy inferiores en los grupos — tratados con las máximas dosis.

Existen escasos datos y una gran discrepancia en la literatura en cuanto al efecto del tratamiento con glucocorticoides sobre los niveles de testosterona circulante. Así VERJANS, H.L. y cols. (1.975) tras someter a tratamiento a 5 ratas adultas con 1 mg. de dexametasona y tras compararlas con 4 ratas controles, no encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. En el jabalí LIPTRAP, R.M. y RAESIDE, J.I. (1.974) encuentran por el contrario un significativo aumento de los niveles de testosterona con la aplicación de una sola dosis de 250 ó 500 mg. de cortisol. En la clínica humana también se han producido observaciones sobre el tema y así DOERR, P. y PIRKE, K.M. (1.975) observaron que tratando durante 3 días con 1,5 mg. de dexametasona a 15 sujetos varones, los niveles de testosterona circulante presentaron un claro descenso al tercer día. Paralelamente a estos trabajos, otros autores (BEITTINS, I.Z., BAYARD, B., KOWARSKI, A. y MIGEON, C.J., 1.973) (SMALS, A.G.H., KLOPPENBORG, P.W.C. y BENRAAD, T. J., 1.974) tras inyectar ACTH constataron un descenso en los niveles de — testosterona plasmática en los sujetos tratados, presentándose a su vez en ellos unos niveles de cortisol plasmático del mismo rango que los apreciados por DOERR, P. y PIRKE, K.M. (1.976). Por otra parte HAJJAR, R.A., HILL, C. S. y SAMAN, N.A. (1.975) estudiando un paciente con hipersecrección de ACTH por probable carcinoma medular de tiroides, observaron que los niveles de —

testosterona se encontraban bajos coincidiendo con unos niveles de cortisol plasmático enormemente elevados, normalizándose los primeros tras adrenalectomía. Se ha comprobado así mismo que tras tratamiento de ratas adultas con ACTH depot a dosis de 1 UI/100 g./día durante 6 días, los niveles de testosterona plasmática descendieron de forma clara en el grupo tratado respecto a los controles (AZNAR, M. y cols., 1.977).

El descenso de los niveles de testosterona circulante, inducido por los glucocorticoides podría estar condicionado a una afectación a cualquier nivel del eje hipotálamo-hipófisis-gonadas. Relacionado con una afectación a nivel superior existen escasos y discrepantes datos en la literatura. Así EUKER, J.S., MEITES, J. y RIEGLE, G.D. (1.975) han encontrado que tras el stress en las ratas existe un incremento en los niveles de LH en los primeros 15 minutos, que se suprime tras tratamiento previo con dexametasona. En otro estudio practicado por BALDWIN, D.M. y SAWER. (1.974) se ha comprobado también que la dexametasona desciende la síntesis y liberación de LH en ratas hembras. Por el contrario VERJANS, H.L. y cols. (1.975) en ratas tratadas con dexametasona, 1 mg./día durante 7 días, no encontraron variación en los niveles de LH respecto a los controles. En humanos también se ha comprobado (SAKAKURA, M., TAKEBE, K. y NAKAGAWA, S., 1.975) que tras un tratamiento crónico con glucocorticoides se suprime la respuesta de LH al factor liberador hipotalámico (LH-RH) en la mujer, mientras que en los hombre adultos no se presentó esta supresión o fué de forma moderada.

LOS RESULTADOS QUE HEMOS OBTENIDO TRAS INCUBAR LAS CELULAS INTERSTICIALES DE LEYDIG DE LAS RATAS, objeto de esta experiencia, creemos resultan de gran interés al enjuiciar las causas del descenso de los niveles circulantes de testosterona observados.

Nuestros resultados evidencian una gran diferencia entre la producción de testosterona al medio de incubación por las células de LEYDIG procedentes de las ratas prepuberales controles, que al final de la experiencia contaban ya con 27 días, y las puberales y adultas en que la producción

de testosterona resultó diez veces superior. La estimulación específica - con HCG de los grupos controles duplicó sus valores basales en las ratas prepuberales y adultas mientras que las puberales alcanzaron cifras cuatro veces superiores.

PAYNE, A.H. y cols. (1.976) analizan cada 5 días y a lo largo de la vida de la rata, la producción de testosterona "in vitro" por testes incubados enteros, tanto en situación basal como tras tratamiento con HCG, encontrando de forma similar a nosotros que sus valores basales sufren un incremento a partir del día 27 de vida, alcanzando veinte días más tarde cifras diez veces superiores.

En nuestra experiencia las células intersticiales procedentes de las ratas adultas tratadas con glucocorticoides a las máximas dosis, presentan respecto a aquellas de las controles un descenso muy importante en los valores de testosterona liberados al medio, tanto en situación basal como tras estímulo. Estos resultados explicarían los hallazgos previos encontrados y reseñados en nuestra TESIS DE LICENCIATURA, de una disminución en los niveles circulantes de testosterona y peso de epidídimo en ratas adultas tratadas con glucocorticoides a altas dosis. Por su parte las ratas puberales también experimentaron un descenso al utilizar las máximas dosis — del fármaco tanto en situación basal como tras estímulo, si bien esta afectación fué de menor cuantía que en las adultas. Por último en las ratas prepuberales no objetivamos descenso alguno, hecho que concuerda asimismo con la ausencia de pérdida de peso de epidídimo. No hemos encontrado en la literatura experiencias que pudieramos comparar con la nuestra y sólo posteriormente al inicio de nuestro trabajo ha aparecido una comunicación de EVAIN, D., MORERA, A.M. y SAEZ, J.M. (1.976) en que utilizando ratas prepuberales de 47 días de vida adrenalectomizadas y tratadas con muy altas dosis de dexametasona (200 µg./8 h.) durante un corto periodo de tiempo (sólo 3 días) no encuentran diferencias respecto a los controles ni en los niveles de testosterona plasmática ni en la producción de testosterona "in vitro" por las células de LEYDIG aisladas, no existiendo no obstante en dicho trabajo referencias del número de animales tratados.

La diferencia en la afectación celular obtenida en nuestras ratas en relación al grado de madurez de los distintos grupos de animales, parece estar relacionada con la capacidad potencial de dichas células para producir testosterona y de ahí el mayor déficit objetivado en las células procedentes de las ratas adultas que por su mayor maduración son portadoras de una mayor capacidad de liberación de testosterona.

Finalmente el importante grado de afectación de la capacidad esteroidogénica de las células de LEYDIG encontrado en ambos grupos de ratas adultas y puberales, plantea interesantes incógnitas como son: localización bioquímica de la lesión inducida, así como su íntimo mecanismo de producción. En relación con ello, ha sido observado que la máxima producción de testosterona "in vitro" coincide en la rata con el desarrollo de actividad de 17β -hidroxiesteroide-dehidrogenasa, producida entre los días 40 y 60 de vida del animal (PAYNE, A.H. y cols. 1.976) (INANO, H., HORI, Y. y TAMAOKI, B., 1.967). Nuestros resultados, en los que las ratas prepuberales, que contaban al final de la experiencia con menos de 40 días, no se vieron afectadas, mientras que las puberales y adultas, por encima de esta edad, presentaron un déficit en su producción, podría hacer pensar que la afectación observada pudiera estar relacionada con una disminución en la actividad de la mencionada enzima.

CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos, durante el desarrollo del estudio nos permite establecer las siguientes conclusiones:

1ª. Al considerar el peso de los animales al final de la experiencia, se evidenció una importante inhibición de crecimiento en las ratas puberales a todas las dosis utilizadas, contrariamente los animales prepuberales solo se afectaron tras el tratamiento con la máxima dosis.

2ª. No existió alteración valorable de peso testicular en las ratas prepuberales tratadas respecto a los controles, por el contrario en las puberales se apreció un evidente descenso en las tratadas tanto con 25 μ g. como con 50 μ g. siendo este similar para ambos.

3ª. Los valores de peso de teste relativos al peso del animal, fueron crecientes desde los grupos controles, a los grupos de máxima dosis y tanto en las ratas prepuberales como en las puberales, siendo ello expresión de la mayor afectación del peso del animal.

4ª. No se encontró variación alguna al considerar los pesos de los epidídimos en los diferentes grupos de animales, si exceptuamos un valorable incremento para el grupo de ratas prepuberales tratadas con la menor dosis.

5ª. Cuando estudiamos el peso de epidídimo referido al del animal entero, nos encontramos con que de forma similar a lo ocurrido con el teste, los valores medios son crecientes de forma progresiva y con clara diferencia respecto de los controles en ambos estadios de desarrollo.

6ª. Los valores de testosterona circulante de las ratas puberales tratadas no mostraron diferencias respecto a

los de las ratas controles, contrastando con lo encontrado - en experiencias anteriores en ratas adultas tratadas con la misma pauta.

7^a. El estudio de la capacidad de liberación de testosterona, por las células intersticiales de los testes - de los diferentes grupos de ratas, mostró a nivel de las dosis de 25 y 50 μg . una evidente disminución de la función esteroideogénica siendo esta más evidente en situación de estímulo con HCG y tanto para el grupo de ratas adultas como - para el puberal. No se apreció dicho efecto en las células - procedentes de las ratas prepuberales.

8^a. La afectación de la capacidad de liberar testosterona al medio de incubación por las células de LEYDIG - aisladas, se mostró en estrecha relación con el grado de madurez del animal tratado, la afectación fué mayor en las ratas adultas, menor en las puberales y nula en las prepuberales.

9^a. El grado de afectación de los parámetros estudiados se encuentra en relación también con las dosis de glucocorticoides utilizadas, siendo a las máximas dosis (25 y 50 μg . /100 g./día) donde las alteraciones fueron más notables.

10^a. Como conclusión final, resumen de nuestras experiencias, podemos establecer que el tratamiento de ratas de diferentes edades y con diversas dosis de Dexametasona produjo en las ratas adultas una disminución de la liberación de testosterona "in vitro" por la célula de LEY—DIG, descenso de los niveles plasmáticos de testosterona - circulante así como del peso de epidídimo. En las pubera—les se obtuvo sólo una menor liberación de testosterona - por las células aisladas mientras que en las ratas prepube—rales no conseguimos objetivar disminución en ninguno de - los parámetros analizados. Parece claro por tanto que la - administración crónica de dosis elevadas de glucocorticoi—des produce una afectación de la liberación de testostero—na por la célula intersticial, estando el grado de déficit en estrecha relación con el grado de madurez del animal.

B I B L I O G R A F I A

1. ALBERT, A., UNDERDAHL, L.O., GREENE, L.F. y LORENZ, N.
Male hypogonadism: normal testis.
Proc. Staff Meetings Mayo Clinic. 1.953: 28, 409-422.
2. ALBERT, A.
Sex and Internal Secretion.
In: Young W.C. Vol. 1. Williams & Wilkins Co., Baltimore (1.961) 305.
3. ALLEN, E.
Studies of degenerating sex cells in immature mammals. I. An analysis of degeneration in primordial and large germ cells in male albino rats aged 1-9 days.
J. Morphol. 1.949. 85: 405-420.
4. ARIYOSHI, Y. y PLAGER, J.E.
Relationships between the influence of cortisol on tissue aminoacid accumulation and aminoacid incorporation into protein, and the cortisol inhibition of substrate metabolism.
Endocrinology, 1.970: 86, 996-1003.
5. AZNAR, M.A.
Influencia de las gonadotrofinas luteoestimulante, foliculoestimulante y coriónica sobre la producción de testosterona por la célula de Leydig aislada de rata.
Tesis Doctoral. Fac. Med. de Sevilla. Noviembre, 1.976.
6. AZNAR, M.A., ROMERO, Z.A., DIAZ, G.M., HERRERA-JUSTINIANO, E. y AZNAR, R.A.
Efectos de la administración de ACTH sobre la liberación de testosterona de la célula de Leydig.
Revista Española de Fisiología, 1.977. En prensa.
7. BALDWIN, D.M. y SAWYER.
Effects of dexamethasone on LH release and ovulation in the cyclic rat.
Endocrinology. 1.974: 94, 1937.

8. BEDFORD, J.M.
Development of the fertilizing ability of spermatozoa in the epididymis of the rabbit.
J. Exptl. Zool. 1.966: 163, 319-330.
9. BEDFORD, J.M.
Effect of duct ligation on the fertilizing ability of spermatozoa - from different regions of the rabbit epididymis.
J. Exptl. Zool. 1.967: 166, 271-282.
10. BEITINS, I.Z., BAYARD, F., KOWARSKI, A. y MIGEON, G.J.
The effect of ACTH administration on plasma testosterone, dihydrotestosterone and serum LH concentration in normal men.
Steroids. 1.973: 21, 553.
11. BELL, J.B.G., VINSON, G.P. y LACY, D.
Studies on the structure and function of the mammalian testis. III. - In vitro steroidogenesis by the seminiferous tubules of rat testis.
Proc. Roy. Soc., London. Ser. B. 1.971: 176, 433-443.
12. BOUIN, P. y ANGEL, P.
Recherches sur les cellules interstitielles du testicule des mammifères.
Arch. Zool. Exptl. Gen. 1.903: 1, 437-523.
13. BOYD, G.S., BOWNIE, A.C., JEFCOATE, C.R. y SIMPSON, E.R.
Cholesterol hydroxylation in the adrenal cortex and liver.
Biochemical Journal. 1.971: 125. 1p-2p.
14. BROWN-GRANT, K.
Inhibition of the release of thyroidal and renal metabolism of cortisone.
Endocrinology. 1.955: 56, 607.

15. BULLOCK,G.R., CHRISTIAN,R.A., PETERS,R.F. y WHITE,A.M.
Rapid mitochondrial enlargement in muscle as a response to triamcino-
lone acetone and its relationship to the ribosomal defect.
Biochem. Pharmacol. 1.971: 20, 943-53.
16. BUSTOS-OBREGON,E.
On Sertoli cell number and distribution in rat testis.
Arch. Biol., Paris. 1.970: 81, 99.
17. CATT,K.J.
Membrane receptors for peptide hormone.
Acta Endocrinológica Suppl. 202 Marzo 1.976.
18. CLARKE,J.S. y cols.
Mechanism of growth retardation in children maintained on long term -
cancer chemotherapy.
Clin. Res. 1.974: 12, 90 A (Abstr.).
19. CLERMONT,Y. y MONGENTALER,H.
Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rat.
Endocrinology. 1.955: 57, 369-382.
20. CLERMONT,Y. y PEREY,B.
Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubu-
les in immature rats.
Am. J. Anat. 1.957: 100, 241-260.
21. CLERMONT,Y., LEBLOND,C.P. y MESSIER,B.
Durée du cycle de l'épithélium séminal du rat.
Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl. Suppl. 1.959: 48, 37-56.
22. CLERMONT,Y. y HUCKINS,C.
Microscopic anatomy of the sex cords and seminiferous tubules in gro-
wing and adult male albino rats.
Am. J. Anat. 1.961: 108, 79-97.

23. CLERMONT, Y.
Quantitative analysis of spermatogenesis in the rat: a revised model for the renewal of spermatogonia.
Am.J.Anat. 1.962: 111, 111-129.
24. CLERMONT, Y.
The cycle of the seminiferous epithelium in man.
Am.J.Anat. 1.963: 112, 35-45.
25. CLERMONT, Y. y HARVEY, S.C.
Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized-hormone treated albino rats.
Endocrinology. 1.965: 76, 80-89.
26. CONNELL, G.M. y EIK-NES, K.B.
Testosterone production by rabbit testis slices.
Steroids. 1.968: 12, 507-516.
27. CZECH, M.P. y FAIN, J.N.
Antagonism of insulin action on glucose metabolism in white fat cells by dexamethasone.
Endocrinology. 1.972: 91, 518-22.
28. D'AGOSTINO, A.N. y CHIGA, M.
Cortisone myopathy in rabbits.
Neurology. 1.966: 16, 257-263.
29. DOERR, P. y PIRKE, K.M.
Regulation of plasma oestrogens in normal adult males.
Acta Endocrinológica 1.975: 78, 531-538.
30. DOERR, P. y PIRKE, K.M.
Response of plasma testosterone and luteinizing hormone to cortisol or dexamethasone over A-26 hour period in adult males.
Acta Endocrinológica (Kbh) Suppl. 1.975: 199, 228.

31. DOERR, P. y PIRKE, K.M.
Cortisol-Induced Supression of plasma testosterone in Normal Adult Male.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1.976: 43, 622.
32. EIK-NES, K.B. y KEKRE, M.
Metabolism in vivo of steroids by the caninetestis.
Biochimica et Biophysica Acta, 1.963: 78, 449-456.
33. EIK-NES, K.B. y HALL, P.F.
The action of pregnant mare serum on the production of testosterone in vivo and in vitro.
34. ELLIS, J.T.
Necrosis and regeneration of skeletal muscles in cortisone treated rabbits.
Am.J.Pathol. 1.956: 32, 993-1013.
35. EUKER, J.S., MEITES, J. y RIEGLE, G.D.
Effect of acute stress on serum LH and prolactin in intact, castrate and dexamethasone-treated male rats.
Endocrinology. 1.975: 96, 85.
36. EVAIN, D., MORERA, A.M. y SAEZ, J.M.
Glucocorticoid receptors in interstitial cells of the rat testis.
J. of Steroid Biochemistry, 1976.: 7, 1135-1139.
37. FAWCETT, D.W., HEIDGER, P.M. y LEAK, L.V.
Lymph vascular system of the interstitial tissues of the testis as revealed by electron microscopy.
J.Reprod.Fertility. 1.969: 19, 109-119.

38. FRANTZ, A.G. y RABKIN, M.T.
Human growth hormone. Clinical measurement, response to hypoglycemia and suppression by glucocorticoids.
Eng.J.Med. 1.964: 271, 1375-81.
39. GLEGG, E.J. y MACMILLAN, E.W.
The uptake of vital dyes and particulate matter by the Sertoli cells of the rat testis.
J.Anat., London. 1.965: 99, 219-229.
40. GLOVER, T.D.
Some aspects of function in the epididymis.
Intern.J.Fertility. 1.969: 14, 216-221.
41. GLOYNA, R.E. y WILSON, J.D.
A comparative study of the conversion of testosterone to 17β -hydroxy- 5α -androstan-3-one (dihydrotestosterone) by prostate and epididymis.
J.Clin. Endocrinol. Metab. 1.969: 29, 970-977.
42. GREEP, R.O., VAN DYKE, H.B. y CHOW, B.F.
Gonadotropins of the swine pituitary. I. Various biological effects of purified Thylokentrin (FSH) and pure Metakentrin (ICSH).
Endocrinology. 1.942: 30, 635-649.
43. GUPTA, D., ZARZYCKI, J. y RAGER, K.
Plasma testosterone and dihydrotestosterone in male rats during sexual maturation and following orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism.
Steroids. 1.975: 25, 33-42.
44. HAJJAR, R.A., HILL, C.S. y SAMAN, N.A.
Adrenal mediation of the effect of excess ACTH on testosterone levels in male: A study of a patient with probable ACTH secreting medullary thyroid carcinoma.
Acta Endocrinológica (Kbh). 1.975: 80, 339.

45. HELLER,C.G. y CLERMONT,Y.
Kinetics of the germinal epithelium in man.
Rec. Progr. Hormone Res. 1.964: 20, 545.
46. HERRERA-JUSTINIANO,E., DIAZ,G.M., AZNAR,M.A. y AZNAR,R.A.
Esteroidogénesis LH inducida en células de Leydig aisladas de rata.
Comunicación al 2º Congreso Nacional de Endocrinología (Las Palmas de Gran Canaria), 1.976. (pend. public.).
47. HUCKINS,C.
Duration of spermatogenesis in pre-and post-puberal Wistar rats.
Anat. Record. 1.966: 151, 364. (Abstract).
48. JOHSON,B.H. y EWING,L.L.
Follicle-stimulating hormone and the regulation of testosterone secretion in rabbit testes.
Science. 1.971: 173, 635,
49. KIELD,J.M., HARSOULIS,P., KUKU,S.F., MARSHALL,P., KAUFMAN,B. y FRASER, T.R.
Infusions of hFSH and hLH in normal men.
Acta Endocrinológica. 1.976: 81, 225.
50. KNORR,D.W., VANHA-PERTTULA,T. y LIPSETT,M.B.
Structure and function of rat testis through pubescence.
Endocrinology. 1.970: 86, 1298-1304.
51. KOSTYO,J.L.
In vitro effects of adrenal steroids hormones on aminoacid transport in muscle.
Endocrinology. 1.965: 76, 604-13.
- 52, LACY,D. y PETTIT,A.J.
Transmission electron microscopy and the production of steroids by the Leydig and Sertoli cells of the human testis.
Microm. 1969: 1, 15-33.

53. LACY, D. y PETTIT, A. J.
Sites of hormone production in mammalian testis, and their significance in the control of male fertility.
Brit. Med. Bull. 1.970: 26, 87-91.
54. LEBLOND, C. P. y CLERMONT, Y.
Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by - periodic acid-fuchsin sulfurous acid technique.
Am. J. Anat. 1.952: 90, 167-215.
55. LEYDIG, F.
Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane und Analdrüsen der Sägethiere.
Z. Wiss. Zool. 1.850: 2, 1.
56. LIPTRAP, R. M. y REASIDE, J. I.
Increase in plasma testosterone concentration after injection of adrenocorticotrophin into the boar.
J. Endocrinol. 1.974: 66, 123-131.
57. LOSTROH, A. J., JOHNSON, R. y GORDON, C. W.
Effects of ovine gonadotrophins and antiserum to interstitial cell-stimulating hormone on the testis of the hypophysectomized rat.
Acta Endocrinol. 1.963: 44, 536-544.
58. LOSTROH, A. J.
Effect of follicle-stimulating hormone and interstitial cell-stimulating hormone on spermatogenesis in Long-Evans rats hypophysectomized for six months.
Acta Endocrinol. 1.963: 43, 592-600.
59. MacDONALD, P. C., GRODIN, J. M. y SITERI, P. K.
Dynamics of androgen and oestrogen secretion.
Control of Gonadal Steroid Secretion, edited by D. T. Baird and Strong, J. A. Baltimore: Williams and Wilkins, 1.971: 157-174.

60. MANCINI, R.E., NARBAITZ, R. y LAVIERI, J.C.

Origin and development of the germinative epithelium and Sertoli cells in the human testis: cytological, cytochemical and quantitative study. Anat. Record 1.960: 136, 477-490.

61. MILLS, N.C. y MEANS, A.R.

Sorbitol dehydrogenase of rat testis: changes of activity during development, after hypophysectomy and following gonadotrophic hormone administration.

Endocrinology, 1.972: 91, 147-156.

62. MIYACHI, Y., NIESCHLAG, E. y LIPSETT, M.B.

The secretion of Gonadotropins and testosterone by the Neonatal Male Rat.

Endocrinology, 1.973: 92, 1-5.

63. MORRIS, H.G., JØRGENSEN, J.R. y JENKINS, S.A.

Plasma growth hormone concentration in corticosteroid-treated children. J.Clin.Invest. 1.968: 47, 427-35.

64. MOSIER, H.D.Jr., JANSONS, R.A., HILL, R.R. y DEARDEN, L.C.

Cartilage sulfation and Serum Somatomedin in rats during and after cortisone-induced growth arrest.

Endocrinology. 1.976: 99, 580.

65. NEGRO-VILAR, A., KRULICH, L. y Mc CANN, S.M.

Changes in Serum Prolactin and Gonadotropins During Sexual Development of the Male Rat.

Endocrinology, 1.973: 93, 660-664.

66. ODELL, W.D., SWERDLOFF, R.S., JACOBS, H.S. y HESCOX, M.A.

FSH induction of sensitivity to LH: One cause of sexual maturation in the male rat.

Endocrinology. 1.973: 92, 160.

67. OTSUKI, M., DAKODA, M. y BABA, S.
Influence of glucocorticoids on TRF-induced TSH response in man.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1.973: 36, 95.
68. PAUFLER, S.K. y FOOTE, R.H.
Morphology, motility and fertility of spermatozoa recovered from different areas of ligated rabbit epididymides.
J.Reprod.Fertility. 1.968: 17, 125-137.
69. PAYNE, A.H., KELCH, R.P., MURONO, E.P., y KERLAN, J.T.
Hypothalamic, pituitary and testicular function during sexual maturation of the male rat.
J.Endocrin. 1.977: 72, 17-26.
70. PHILLIPS, L.S., HERINGTON, A.C. y DAUGHADAY, W.H.
Hormone effects on somatomedin generation.
Advances in Human Growth Hormone Research, Proc. Symp. Nat. Pituitary Agency. NIANMDD, 1.973. Baltimore, ed. S. Raiti, 50-75.
DHEW Pub. No. (NIH) 74-612. 961 pp.
71. PHILLIPS, L.S., HERINGTON, A.C., MUELLER, M.C. y DAUGHADAY, W.H.
Effect of cortisol on somatomedin generation in vivo and somatomedin action in vitro.
Proc. 55 th Ann. Meet. Endocrine Soc. 1.973. A-122 (Abstr.).
72. PRASAD, M.R.N., RAJALAKSHMI, M., GUPTA, G. y KARKUN, T.
Control of epididymal function.
Journal of Reproduction and Fertility Suppl. 1.973: 18, 215-225.
73. RESKO, J.A., FEDER, H.H. y GOY, R.W.
Androgen concentrations in plasma and testis of developing rats.
J.Endocrinol. 1.968: 40, 485-491.

74. ROLSHOVEN, E.
Spermatogenese und Sertoli-syncytium.
Z.Zéllforsch. Mikroskop. Anat. Abt. Histochem. 1.945: 33, 439-460.
75. ROMERO, Z.A.
Glucocorticoides, su acción sobre testículo, epidídimo y niveles circ_ulantes de testosterona plasmática en la rata adulta.
Tesis de Licenciatura. Fac. Med. de Sevilla. Abril, 1.977.
76. ROOSEN-RUNGE, E.C. y ANDERSON, D.
The development of the interstitial cells in the testis of the albino rat.
Acta Anat. 1.959: 37, 125-137.
77. ROOSEN-RUNGE, E.C. y LEIK, J.
Gonocyte degeneration in the postnatal male rat.
Am.J.Anat. 1.968: 122, 275-299.
78. SAKAKURA, M., TAKEBE, K. y NAKAGAWA, S.
Inhibition of luteinizing hormone secretion induced by synthetic LRH by long-term treatment with glucocorticoids in human subjects.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1.975: 40, 774.
79. SALMON, W.D.Jr., BOWER, P.H. y THOMPSON, E.Y.
Effect of protein anabolic steroids on sulfate incorporation by cartillage of male rats.
J.Lab.Clin.Med. 1.963: 61, 120-28.
80. SAPSFORD, C.S.
The development of the Sertoli cell of the rat and mouse; its existence as a mononucleate unit.
J.Anat. 1.963: 97, 225-238.

81. SCOTT, H.G., y SCOTT, P.P.
Postnatal development of the testis and epididymis in the cat.
J. Physiol., London. 1.957: 136, 40.
82. SERTOLI, E.
Dell'esistenza di particolari cellule ramificate nei canalicoli se
miniferi del testicolo humano.
Il Morgagni, 1.865: 7, 31-39.
83. SHIKITA, M., KAKIZAKI, H. y TAMAOKI, B.
The pathway of formation of testosterone from 3β -hydroxy-pregn-5-en-20-
one by rat testicular microsomes.
Steroids. 1.965: 4, 521-531.
84. SLAUNWHITE, W.R. y BURGETT, M.J.
In vitro testosterone synthesis by rat testicular tissue.
Steroids, 1.965: 6, 721-735.
85. SMALS, A.G.H., KLOPPENBORG, P.W.C. y BENRAAD, T.J.
Diurnal plasma testosterone rhythm and the effect of short-term ACTH
administration on plasma testosterone in man.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1.974: 36, 608.
86. SOYKA, L.F. y GRAWFORD, J.D.
Antagonism by cortisone of the linear growth induced in hypopituitary
patients and hipophysectomized rats by human growth hormone.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1.965: 25, 469-475.
87. STEINBERGER, E.
A quantitative study of the effect of an alkylating agent (Triethylene
melamine) on the seminiferous epithelium of rats.
J.Reprod.Fertility. 1.962: 3, 250-259.

88. STEINBERGER, E. y TJIOE, D.Y.

A method for quantitative analysis of human seminiferous epithelium. Fertility Sterility. 1.968: 19, 960-970.

89. STOREY, E.

The influence of adrenal cortical hormones on bone formation and resorption.

Clin.Orthop, 1.963: 30, 197-217.

90. TICE, L.W. y ENGEL, A.G.

The effects of glucocorticoids on red and white muscles in the rat.

Am.J.Pathol. 1.967: 50, 311-33.

91. TISSEL, L.E.

Effect of cortisone on the growth of the ventral prostate, the dorso-lateral prostate, the coagulating glands and the seminal vesicles in castrated adrenalectomized and castrated non-adrenalectomized rats.

Acta Endocrinol. 1.970: 64, 637-655.

92. VAN WANGENEN, G. y SIMPSON, M.E.

Testicular development in the rhesus monkey.

Anat.Record. 1.954: 118, 231-251.

93. VERJANS, H.L. y EIK-NES, K.B.

Hypothalamic-Pituitary-Testicular System and Adrenocortical function.

Acta Endocrinológica. 1.976: 81, 198-208.

94. VON KOLLIKER, R.A.

Beiträge zur Kenntnis der Geschlechtsverhältnisse und der Samenflüssigkeit wibelloser Tiere.

Berlín, 1.841.

95. WERDER, K., VON HANE, S., y FORSHAM, P.H.

Suppression of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and growth hormone release with dexamethasone.

Horm. Metab. Res. 1.971: 3, 171-74.

96. YANIHARA, T. y TROEN, P.

Studies of the human testis. I. Biosynthetic pathways for androgen formation in human testicular tissue in vitro.

Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 1.972: 34, 783-792.