

# HISTOMORFOLOGIA DEL TESTICULO DEL RATON NMRI DURANTE EL DESARROLLO EMBRIONARIO

(HISTOMORPHOLOGY OF NMRI MOUSE TESTIS DURING  
THE EMBRYONIC DEVELOPMENT)

*Por J.M. Martínez Rodríguez  
C.B. Gutiérrez Martín  
M.C. Ferreras Estrada  
A. Escudero Díez \**

Key words: Testis, embryonic development, mouse.  
Palabras clave: Testículo, desarrollo embrionario, ratón.

## SUMMARY

We have carried out a study about the histomorphologic changes of the testis, from 43 NMRI mouse fetuses, from the 12<sup>th</sup> to the 18<sup>th</sup> day of pregnancy.

We confirmed that the testis can already be identified from the 13<sup>th</sup> day of pregnancy and that it begins to descend in the 15<sup>th</sup> day of pregnancy.

As the same time, the different cells types are described and the testicular position with regard to another organs, is observed.

## RESUMEN

Hemos realizado un estudio sobre los cambios histomorfológicos del testículo, en 43 fetos de ratón NMRI, entre los días 12 y 18 de gestación.

Hemos comprobado que el testículo ya se identifica a partir del día 13 y que inicia su descenso el día 15 de gestación.

Igualmente, describimos los distintos tipos celulares y observamos la posición testicular, en relación con otros órganos.

---

\* Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

## INTRODUCCION

El desarrollo embrionario del testículo en las distintas especies animales ha sido objeto de atención, habiendo dado lugar a diferentes trabajos de investigación<sup>2, 6, 10, 12, 15, 17, 18, 19, 21, 24, 26</sup>.

Algunos autores<sup>8, 11, 13, 23, 28</sup> han utilizado el ratón. En esta especie, en concreto, se han valorado distintos aspectos, unos relacionados con las células germinales primordiales (CGP)<sup>4, 9, 22, 29</sup> y otros, con la fisiología testicular<sup>5, 16, 20</sup>, siendo más escasos los trabajos que se refieren solamente a la evolución de la gónada y su relación con otros órganos<sup>8, 13, 23</sup>.

Por otra parte, es conocido que la diferenciación testicular se extiende desde el día doce<sup>14</sup> o doce y medio<sup>8</sup> de gestación hasta el nacimiento, aún cuando la secuencia completa no se describe.

El propósito de nuestro trabajo es contribuir al conocimiento de las modificaciones histomorfológicas del testículo del ratón NMRI, en el periodo comprendido desde el inicio de su diferenciación, hasta el día anterior al nacimiento, datos que podrían ser útiles para posteriores estudios morfopatológicos.

## MATERIAL Y METODOS

Para nuestro estudio, hemos empleado 43 fetos de ratones de la estirpe NMRI, obtenidos a partir de 20 hembras sacrificadas entre los días 12 y 18 de gestación, considerando como día cero de la misma, el de aparición del tapón vaginal.

Después de efectuar el estudio macroscópico de los fetos, que incluyó la medida de la longitud máxima de la cabeza, se fijaron en Bouin alcohólico. Tras su procesado e inclusión en parafina, se realizaron cortes seriados de 4  $\mu\text{m}$  de grosor, que fueron teñidos con H.-E., y con los tricrómicos de Masson-Goldner y de Van Gieson. Igualmente, se determinó, con ayuda de un micrómetro ocular, el diámetro de los túbulos seminíferos, así como el número de células de sostén y gonocitos, a partir del día catorce de gestación. Para estos últimos, los valores hallados fueron corregidos según la fórmula:  $C = nE/E + D$ , donde  $n$  es el número de núcleos observados,  $D$  su diámetro medio ( $\mu\text{m}$ ) y  $E$  el grosor del corte ( $\mu\text{m}$ )<sup>1</sup>. Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante la  $t$  de Student.

## RESULTADOS

A los doce días de gestación se observó, en la porción superior de la cavidad celómica, una formación alargada, constituida por células mesenquimatosas indiferenciadas, de aspecto estrellado, en cuyo seno se encontraban estructuras tubulares, los túbulos mesonéfricos, tapizados por un epitelio cilíndrico simple. Este engrosamiento, o cuerpo de Wolff, se encontraba revestido externamente por un epitelio cúbico. En su porción ventral aparecían ya gran cantidad de CGP voluminosas, con núcleo redondeado, central y nucleolo evidente, las cuales se dividían activamente. Estas células estaban rodeadas por otras, con núcleo ovalado, provisto de nucleolo, donde eran constantes las figuras de mitosis. Los capilares, muy abundantes, contenían células precursoras de la serie roja. Las CGP aparecían además en la porción superior del esbozo gonadal o cresta genital (foto 1); sus características morfológicas no nos permiten aún distinguir el tipo de gónada que se va a diferenciar.

A los trece días, la cresta genital, todavía unida al cuerpo de Wolff, se alargaba en sentido caudal, situándose por debajo del riñón. Dentro de la misma, ya diferenciábamos unas estructuras redondeadas o cordones, que contenían células de sostén indiferenciadas y células de la línea germinal o gonocitos, dispuestas sin orden preciso y donde eran frecuentes las mitosis. El tejido intersticial era escaso y en él se diferenciaban algunas células ovoides. Externamente a los cordones, este tejido intersticial se condensaba para formar la albugínea, revestida por un epitelio cúbico, el epitelio celómico (foto 2).

En el día catorce de gestación, el testículo diferenciado y adosado a la porción ventral del riñón (foto 3), mostraba diferentes secciones de túbulos seminíferos, muy próximos entre sí y rodeados por un tejido intersticial escaso, en el que ya se observaban claramente células provistas de núcleo ovalado, ligeramente excéntrico y nucleolo, con un citoplasma muy acidófilo, las denominadas células de Leydig. En los túbulos seminíferos, con abundantes mitosis, se apreciaban algunos gonocitos degenerados (foto 4).

Hemos comprobado que el descenso del testículo se iniciaba el día quince de gestación, situándose en posición caudolateral al riñón, a la altura del estómago. Al mismo tiempo, tendía a acortarse adquiriendo su forma ovalada característica.

El epitelio que rodeaba externamente a la albugínea se aplanaba y, en los túbulos, apoyados en una lámina propia, el número de mitosis había disminuido considerablemente. Hay que destacar la presencia de abundante tejido intersticial, sobre todo en la porción central de la gónada, conteniendo células de Leydig en las proximidades de capilares (foto 5).

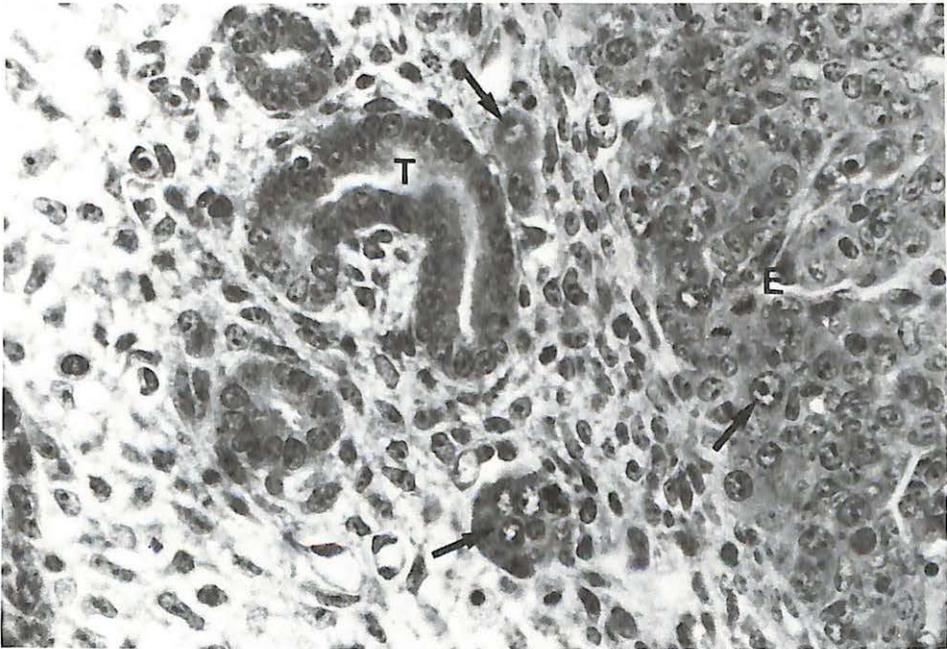


Foto 1.- Feto de 12 días: esbozo gonadal (E), túbulos mesonéfricos (T), CGP (flechas). Van Gieson 500x.

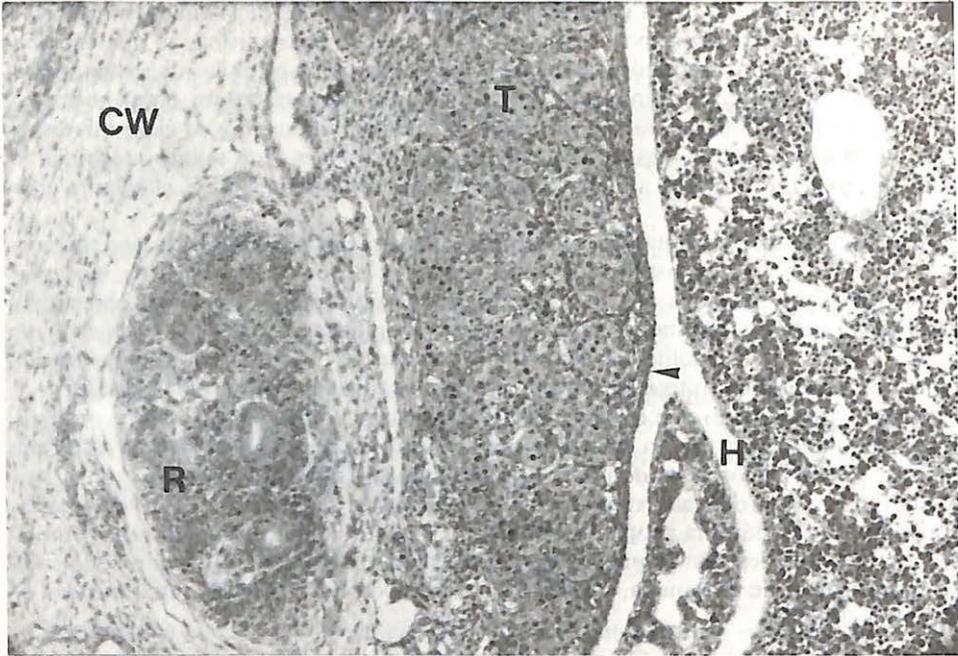


Foto 2.- Feto de 13 días: testículo (T), epitelio celómico (flecha), esbozo renal (R), cuerpo de Wolff (CW), hígado (H). H.-E. 125x.

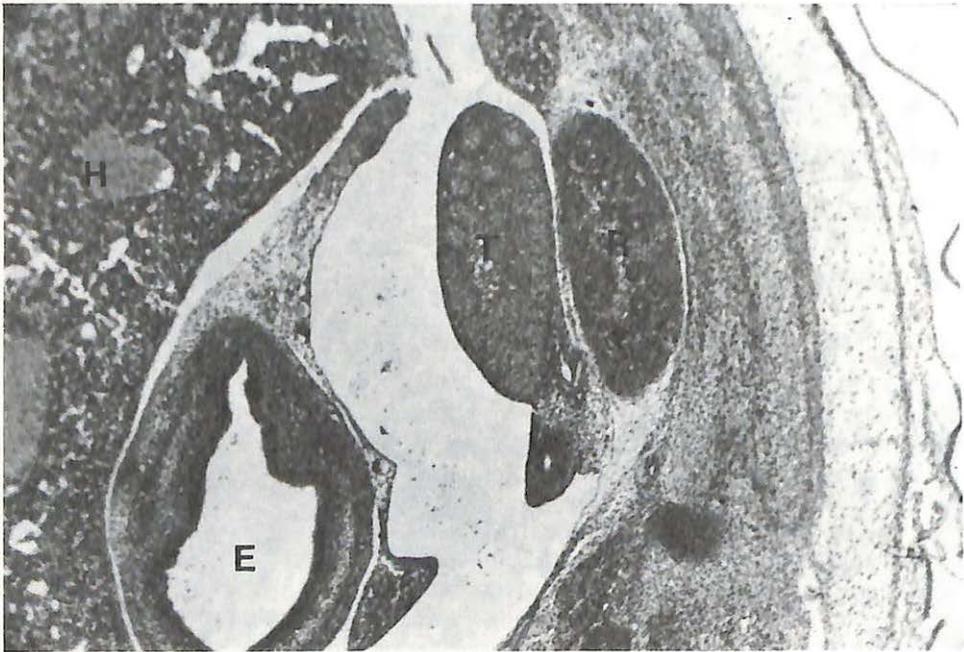


Foto 3.- Feto de 14 días: testículo (T), riñón (R), estómago (E), hígado (H). H.-E. 50x.

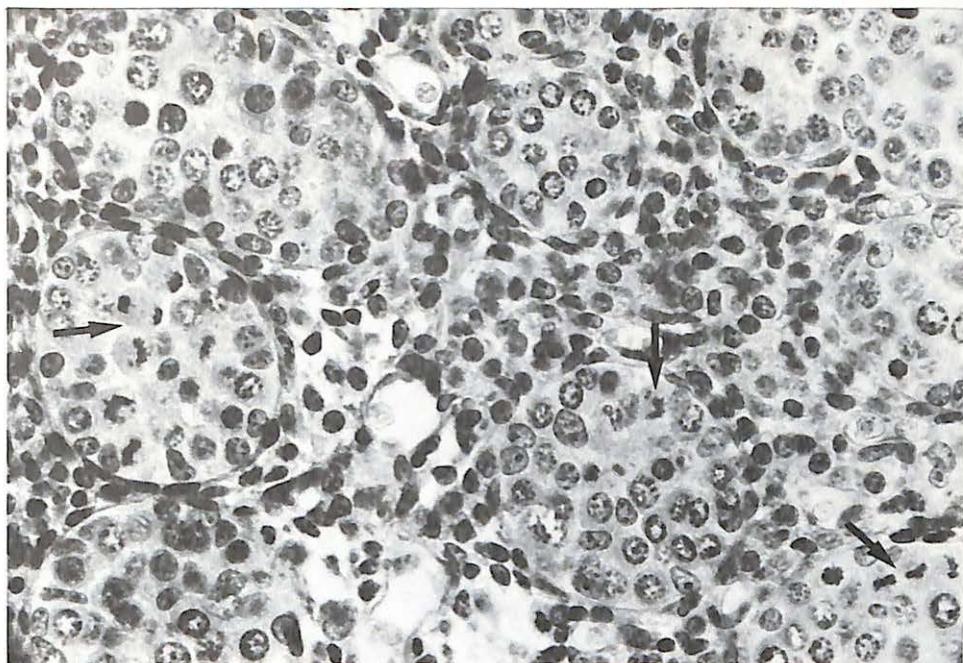


Foto 4.- Testículo de 14 días: mitosis (flechas). H.-E. 500x.

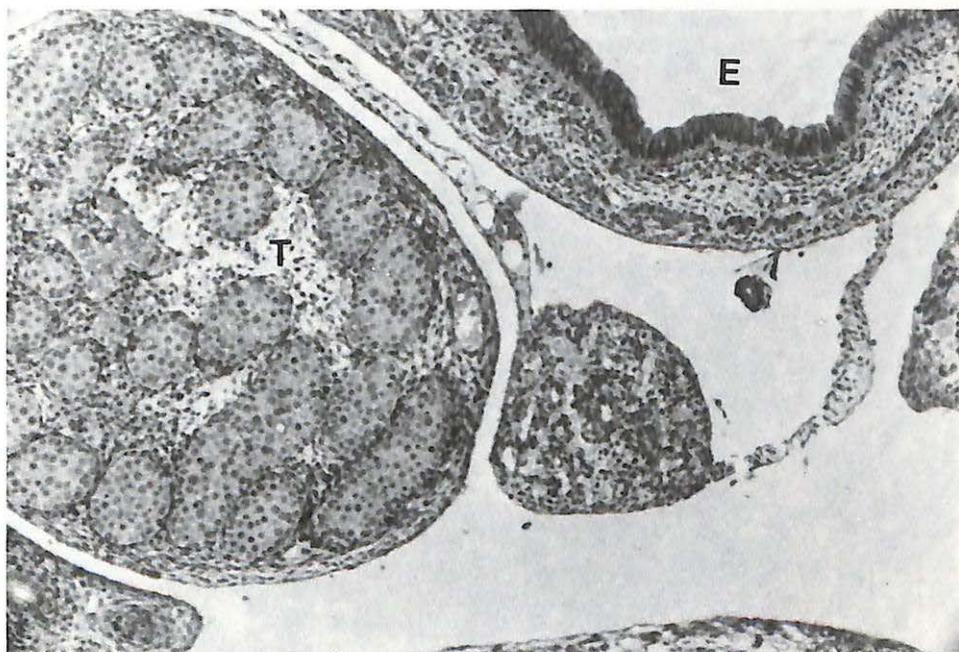


Foto 5.- Sección longitudinal del testículo (T) a los 15 días. En sus proximidades, el estómago (E). H.-E. 125x.

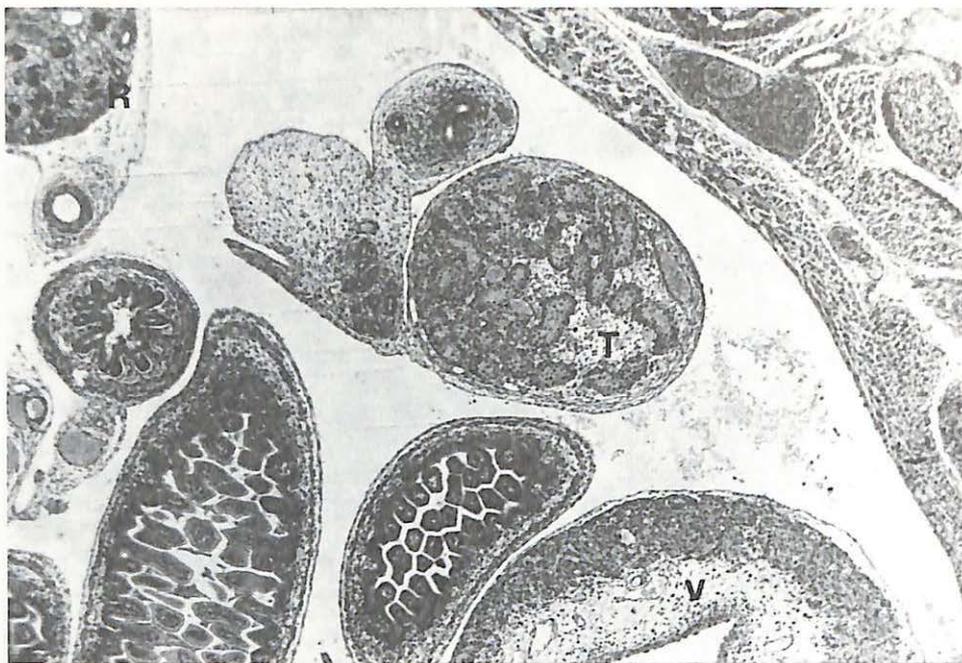


Foto 6.- Corte transversal de un feto de 16 días: testículo (T), vejiga (V) y riñón (R). H.-E. 50x.

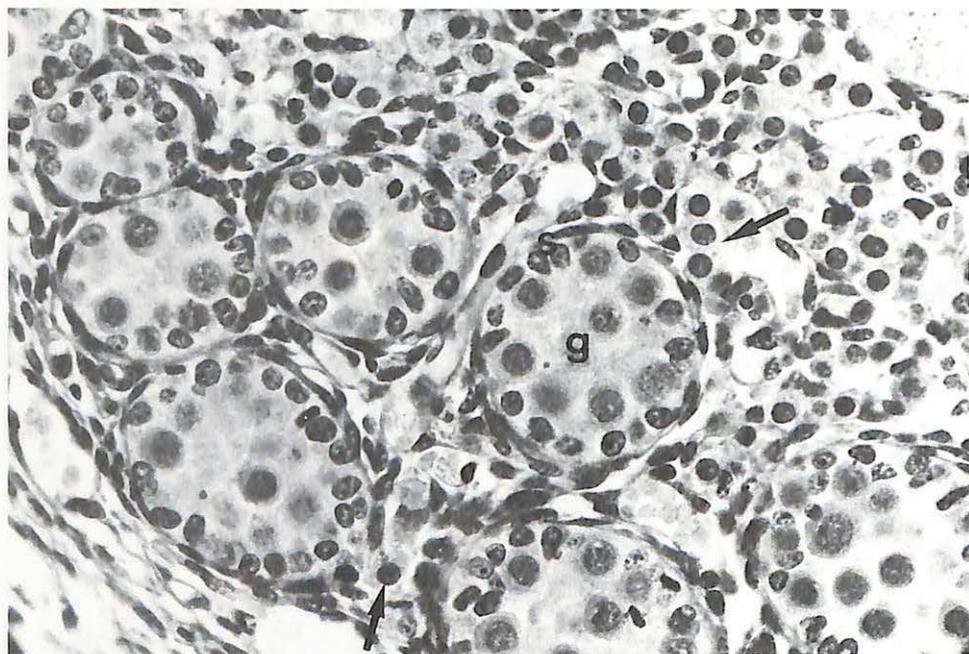


Foto 7.- Testículo de 17 días: gonocitos (g), células de sostén (s) y células de Leydig (flecha). H.-E. 500 x.

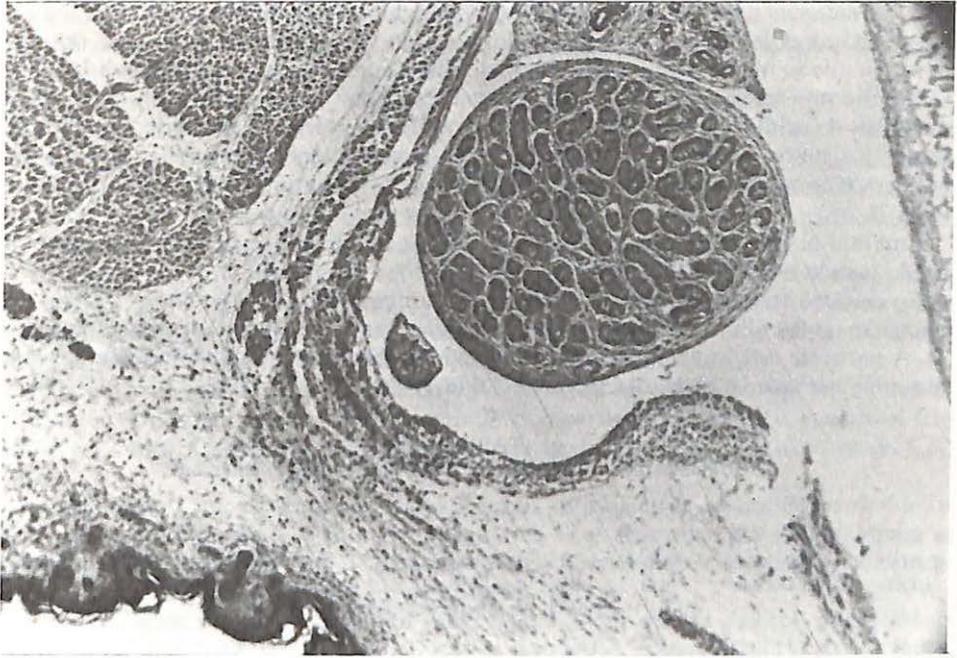


Foto 8.- Testículo en el fondo de la cavidad abdominal a los 18 días. H.-E. 50 x.

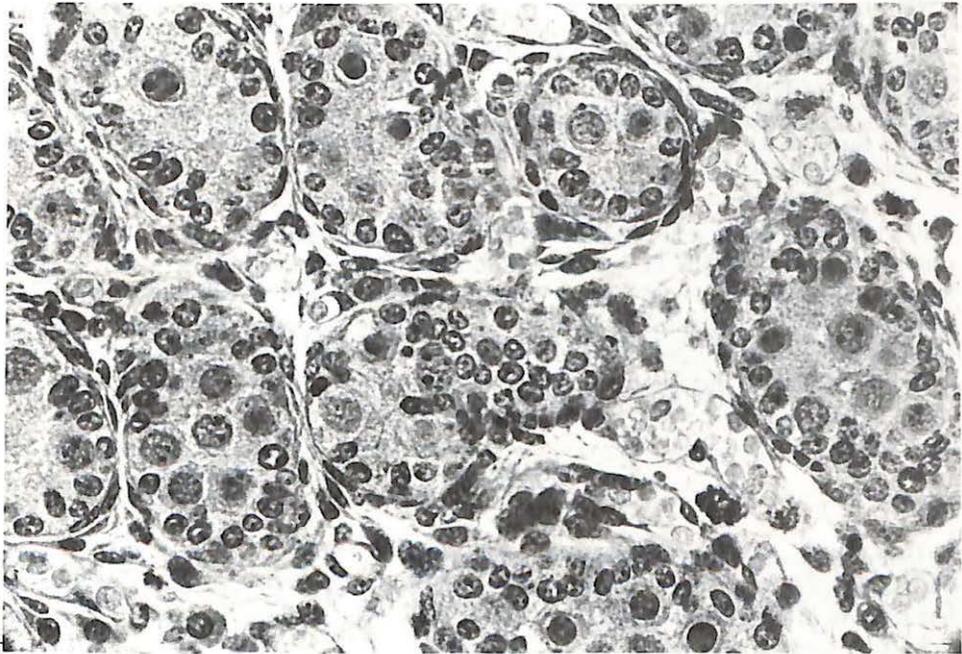


Foto 9.- Testículo a los 18 días: detalle de los túbulos seminíferos. Masson-Goldner. 500x.

A los dieciséis días de gestación, el testículo seguía descendiendo y se localizaba entre el riñón y el fondo de la cavidad abdominal, dorsolateralmente a la vejiga (foto 6), posición que se mantenía en el día diecisiete. En este momento, seguíamos observando el epitelio que reviste a la albugínea, perteneciente a la túnica vaginal. En los túbulos, provistos de células de sostén en su porción periférica y de gonocitos situados centralmente y algunos degenerados, las mitosis eran prácticamente inexistentes. Sin embargo, hemos comprobado un incremento considerable en el número de células de Leydig (foto 7).

Próximo al nacimiento, en el día dieciocho de gestación el testículo se situaba en el fondo y en la porción posterior de la cavidad abdominal (foto 8).

En nuestro trabajo, hemos constatado un aumento significativo ( $P \leq 0,01$ ) en el diámetro de los túbulos seminíferos entre los días catorce y quince de gestación (tabla 1). A partir de este momento, observamos, por el contrario, una disminución del mismo, muy acusada en el día dieciocho ( $P \leq 0,001$ ) (foto 9).

**TABLA I**  
Distintos parámetros de fetos NMRI según el día de gestación

DIA GEST.	LG. CABEZA FETAL (mm)*	N.ºGO- NADAS EST.	N.ºTUB. SEM.		Ø TUBULOS SEMINIFEROS (µm)*	N.º GONOCITOS POR TUBULO	N.º CEL. SOSTEN POR TUBULO*
			EST.	SEM.			
12	4,38 ± 0,03	8	-	-	-	-	-
13	5,07 ± 0,02	6	-	-	-	-	-
14	6,12 ± 0,05	7	70	63,17 ± 4,05	63,17 ± 4,05	3,18 ± 0,82	19,47 ± 1,59
15	7,43 ± 0,03	6	60	76,50 ± 8,56 <sup>a</sup>	76,50 ± 8,56 <sup>a</sup>	4,14 ± 0,84 <sup>b</sup>	17,67 ± 4,13
16	9,13 ± 0,03	7	70	68,07 ± 5,81	68,07 ± 5,81	2,81 ± 0,81 <sup>a</sup>	19,51 ± 3,02
17	10,25 ± 0,04	5	50	71,50 ± 5,30	71,50 ± 5,30	2,49 ± 0,34	20,24 ± 1,51
18	10,53 ± 0,04	4	40	57,50 ± 1,37 <sup>c</sup>	57,50 ± 1,37 <sup>c</sup>	1,52 ± 0,49 <sup>a</sup>	20,30 ± 3,87

\* Media ± desviación estándar

a) Diferencia significativa con respecto al día anterior. T de Student ( $P \leq 0,01$ )

b) Idem. para ( $P \leq 0,05$ ).

c) Idem. para ( $P \leq 0,001$ ).

Por lo que se refiere a la población celular presente en dichos túbulos, hemos comprobado diferencias (tabla 1). Así mientras que el número de células de sostén se mantenía relativamente constante, no existiendo cambios significativos en los diferentes días de gestación estudiados, los gonocitos experimentaban un aumento del día catorce al quince ( $P \leq 0,05$ ). Sin embargo, su número disminuía claramente entre los días quince y dieciséis y diecisiete y dieciocho de gestación ( $P \leq 0,01$  en ambos casos).

## DISCUSION

Hemos indicado ya que, al inicio de la diferenciación, la gónada se encontraba constituida por dos tipos de células: las CGP y las células de sostén, comprobando, de acuerdo con otros autores<sup>6, 8</sup>, que las CGP se formaban fuera del embrión, en las paredes de la vesícula vitelina.

Asimismo, coincidimos con otros autores<sup>14</sup> en señalar que estas células germinales, tras una migración activa hacia la región lumbar, colonizan la cresta genital el día

doce de gestación. No estamos de acuerdo con los que observan este hecho el día doce y medio de gestación<sup>8</sup>, aunque se ha comprobado para otras especies, como la rata, el día doce y medio<sup>19</sup> o trece<sup>10</sup> y, para el cerdo, en el día veintiséis<sup>18</sup>.

Por lo que se refiere a la diferenciación de la gónada, nuestros resultados no coinciden plenamente con los de otros autores, ya que identificamos la misma a partir del día trece, mientras que otros lo hacen el día doce<sup>14</sup> o doce y medio<sup>8</sup>. Estas diferencias pueden ser debidas a que nosotros consideramos que la diferenciación comienza con la aparición de los cordones testiculares<sup>19, 26</sup>, mientras que algunos<sup>15</sup> mantienen que se relaciona con la presencia de las células de sostén indiferenciadas.

Los gonocitos que constituyen los túbulos seminíferos se dividían activamente hasta los catorce días de gestación, disminuyendo su actividad mitótica a partir del día quince, hecho señalado anteriormente<sup>13</sup>. Además, hemos comprobado la existencia de células germinativas degeneradas, sobre todo a partir del día catorce.

Las células de sostén indiferenciadas, precursoras de las células de Sertoli<sup>21, 28</sup>, se situaban en la periferia de los túbulos seminíferos a partir del día catorce, cuando el feto mide 6,12 mm. Otros autores<sup>13</sup> observan este hecho cuando la longitud es de 6,50 mm.

Únicamente hemos encontrado datos sobre la morfometría del testículo referidos a fetos de dieciocho días<sup>18</sup>, siendo muy similares a los aportados por nosotros para el diámetro tubular y el número de células de sostén. En cambio, estos autores comprueban un mayor porcentaje de células germinativas.

Las células de Leydig, que hemos observado a partir del día catorce, aumentaban hasta el día diecisiete de gestación. Nuestros resultados, en este aspecto, no coinciden con aquéllos que advierten estas células a los doce días y medio<sup>28</sup>. En otras especies, como el cerdo, aparecen a los treinta y cinco días de gestación<sup>18</sup>.

En relación con el descenso testicular, nuestras observaciones coinciden parcialmente con las aportadas en otros trabajos<sup>23</sup>. Las causas del mismo no están suficientemente aclaradas. Así, para algunos<sup>5</sup>, depende de la hormona anitmülleriana, secretada por las células de sostén; para otros<sup>27</sup>, se relaciona con los andrógenos elaborados por las células de Leydig e, incluso, no se descarta la existencia de otros factores determinantes, además de estas hormonas esteroides<sup>25</sup>.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) ABERCROMBIE, M. (1946). Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94: 238-248.
- 2) AMANN, R.P. y SCHANBACHER, B.D. (1983). Physiology of male reproduction. *J. Anim. Sci.*, 57(2): 380-403.
- 3) CLERMONT, Y. y PEREY, B. (1957). Quantitative study of the cell population of the seminiferous tubules in immature rats. Citado por NOGUCHI, T. y STEVENS, L.C. (1982). Primordial germ cell proliferation in fetal testes in mouse strains with high and low incidences of congenital testicular teratomas. *J.N.C.I.*, 69(4): 907-913.
- 4) CHIQUOINE, A.D. (1954). The identification, origin, and migration of the promordial germ cells in the mouse embryo. *Anat. Rec.*, 118: 135-146.
- 5) DONAHOE, P.K.; HUTSON, J.M.; FALLAT, M.E.; KAMAGATA, S. y BUDZIK, G.P. (1984). Mechanism of action of Müllerian inhibiting substance. Citado por WAITES, G.M.H.; SPEIGHT, A.C. y JENKINS, N. (1985). The functional maturation of the Sertoli cell and Leydig cell in the mammalian testis. *J. Reprod. Fert.*, 75: 317-326.
- 6) GENIS GALVEZ, J.M. (1969). *Biología del Desarrollo*. Ed. Espaxs. Barcelona: 275-285.
- 7) GONDOS, B. (1977). Testicular Development. En JONHSON, A.D.; GOMES, W.R. y VAN-DEMARK, N.L.: *The testis*. Ed. Academic Press, New York: 1-37.

- 8) GRASSE, P.P. (1982). *Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie*. Ed. Masson, Paris, 1.031-1.090.
- 9) JEON, K.W. y KENNEDY, J.R. (1973). The primordial germ cells in early mouse embryos: light and electron microscopic studies. *Develop. Biol.*, 31: 275-284.
- 10) JOST, A.; MAGRE, S. y AGELOUPOULOU, R. (1981). Early stages of testicular differentiation, in the rat. *Hum. Genet.*, 58: 59-63.
- 11) KOBAYASHI, S. (1984). Induction of Müllerian duct derivatives in testicular feminized (Tfm) mice by prenatal exposure to diethylstilbestrol. *Anat. Embryol.*, 169: 35-39.
- 12) MAGRE, S. y JOST, A. (1984). Dissociation between testicular organogenesis and endocrine cytodifferentiation of Sertoli cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81: 7.831-7.834.
- 13) NOGUCHI, T. y STEVENS, L.C. (1982). Primordial germ cell proliferation in fetal testes in mouse strains with high and low incidences of congenital testicular teratomas. *J.N.C.I.*, 69. (4): 907-913.
- 14) ODOR, D.L. y BLANDAU, R.J. (1969). Ultrastructural studies of fetal and early postnatal mouse ovary. I. Histogenesis and organogenesis. Citado por GRASSE, P.P. (1982). *Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie*. Ed. Masson, Paris: 1.031-1.090.
- 15) PATSAVOUDI, E.; MAGRE, S.; CASTANIER, M.; SCHOLLER, R. y JOST, A. (1985). Dissociation between testicular morphogenesis and functional differentiation of Leydig cells. *J. Endocr.* 105: 235-238.
- 16) PEHLEMANN, F.W. y LOMBARD, M.N. (1978). Di, M. (1985). The histogenesis of the gonad in rat embryos. *J. Anat.*, 143: 17-37.
- 20) SCHEIB, D. (1972). Ultrastructure et fonction des cellules interstitielles du testicule de Souris: évolution foetale. *Ann. Embryol. Morphogènese*, 5: 121-133.
- 21) SOLERE, M. y HAEGEL, P. (1969). *Embriología. Cuadernos Prácticos*. Ed. Toray-Masson, Barcelona: 72-87.
- 22) SPIEGELMAN, M. y BENNETT, D. (1973). A light and electronmicroscopic study of primordial germ cells in the early mouse embryo. *J. Embryo. exp. Morph.*, 30: 97-118.
- 23) SUZUKI, Y. y ARAI, Y. (1986). Possible linkage between developmental disorder of the gubernaculum testis and cryptorchidism in male mice exposed prenatally to diethylstilbestrol. *Proc. Japan Acad.*, 62: Ser. B: 412-415.
- 24) TRAN, D. y JOSSO, N. (1982). Localization of anti-Müllerian hormone in the rough endoplasmic reticulum of the developing bovine Sertoli cell using immunocytochemistry with a monoclonal antibody. *Endocrinology*, 111: 1.562-1.567.
- 25) VILANOVA, J. (1978). Modificaciones producidas en la situación de los ovarios en embriones de rata por la acción de la testosterona. *An. Desarr.*, 22-52: 13-16.
- 26) WAITES, G.M.H.; SPEIGHT, A.C. y JENKINS, N. (1985). The functional maturation of the Sertoli cell and Leydig cell in the mammalian testis. *J. Reprod. Fert.*, 75: 317-326.
- 27) WARKANY, J. (1971). *Congenital Malformation*. Medical Publishers, Inc. Chicago: 1.098-1.101.
- 28) YASUDA, Y.; KIHARA, T. y TANIMURA, T. (1985). Effect of ethinyl estradiol on the differentiation of mouse fetal testis. *Teratology*, 32: 113-118.
- 29) ZAMBONI, L. y MERCHANT, H. (1973). The fine morphology of mouse primordial germ cells in extragonadal localizations. *Am. J. Anat.*, 137: 229-336.