



Casa abierta al tiempo

Biología Experimental

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**EFFECTO DE UN INHIBIDOR DE LA AROMATASA SOBRE LA
ESPERMATOGÉNESIS, LA CONDUCTA SEXUAL Y LA FERTILIDAD
DE LA RATA MACHO ADULTA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

P R E S E N T A

B. E. CLAUDIA FERNÁNDEZ SOTO

DIRECTOR DE TESIS

DR. ARMANDO FERREIRA NUÑO

A S E S O R E S

DRA. ADRIANA MORALES OTAL

DR. JAVIER VELÁZQUEZ MOCTEZUMA

DR. IGNACIO CAMACHO ARROYO

MÉXICO, DISTRITO FEDERAL

ENERO DEL 2012

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTOR

Dr. Armando Ferreira Nuño
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

ASESORA

Dra. Adriana Morales Otaí
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

ASESOR

Dr. Javier Velázquez Moctezuma
Rectoría
Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

ASESOR

Dr. Ignacio Camacho Arroyo
Facultad de Química
Universidad Nacional Autónoma de México

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Neurohistología y Conducta del Departamento de Biología de la Reproducción, en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa bajo la dirección y asesoría del doctor Armando Ferreira Nuño, la doctora Adriana Morales Otaí, el doctor Javier Velázquez Moctezuma y el doctor Ignacio Camacho Arroyo.

El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al programa Nacional de Posgrados de Excelencia del CONACyT (PNPC) registro 001481 y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCyT 2003IMPTNNN0020.

Para la realización de los estudios de maestría la alumna Claudia Fernández Soto contó con el apoyo de beca CONACyT mediante el número de registro de la beca 224662/CVU:7677

Miembros del Jurado

Los miembros del jurado fueron designados por la Comisión de Posgrado de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, los abajo firmantes aprobaron la tesis titulada:

EFFECTO DE UN INHIBIDOR DE LA AROMATASA SOBRE LA ESPERMATOGÉNESIS, LA CONDUCTA SEXUAL Y LA FERTILIDAD DE LA RATA MACHO ADULTA

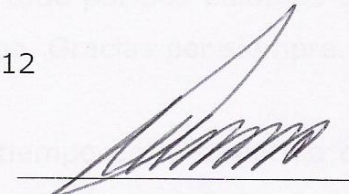
Que presentó

B. E. Claudia Fernández Soto

El día 16 de enero del 2012

Dr. Javier Velázquez Moctezuma

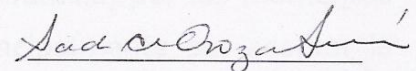
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa



(Presidente)

Dra. Sandra Adela Orozco Suárez

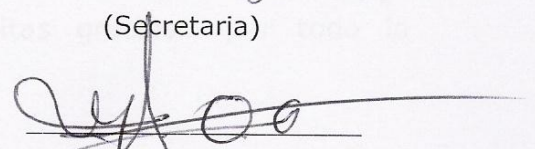
Instituto Mexicano del Seguro Social



(Secretaria)

Dra. Adriana Morales Otal

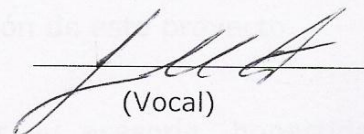
Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa



(Vocal)

Dr. Ignacio Camacho Arroyo

Universidad Nacional Autónoma de México



(Vocal)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios** por darme la vida, por las personas que me rodean, amigos, compañeros, familiares... porque puedo convivir y aprender de cada uno de ellos. Gracias por el llanto y la alegría y sobre todo por iluminar el camino que debo seguir en mi vida, agradezco principalmente la fuerza que obtengo para realizar metas, objetivos y seguir adelante.

A la **Doctora Adriana Morales Otal**, por darme la oportunidad de realizar el proyecto de investigación en el laboratorio de Neurohistología y Conducta. Por todas sus enseñanzas, sus experiencias, por su tiempo en la dirección de este trabajo. Por su amistad y sus regaños, por todos los momentos en que nos hemos reído y también nos hemos divertido. Por su tenacidad, constancia, valentía y sobre todo por sus palabras de aliento, que me ha brindado durante este tiempo. Gracias por siempre.

Al **Doctor Armando Ferreira Nuño**, por su tiempo en la dirección de este trabajo por su seguridad y confianza depositada en mi. Por todos esos momentos que hemos pasado juntos en familia, por los momentos buenos y también por los difíciles. Pero, principalmente por aceptar la dirección y asesoría de esta tesis. Infinitas gracias... por todo lo compartido y por su amistad.

Al **Doctor Javier Velázquez Moctezuma** por su sabiduría, apoyo y valiosas sugerencias otorgadas en la realización de este proyecto.

Al **Doctor Ignacio Camacho Arroyo** por su asesoría, honestidad, equilibrio y gran ayuda que me ha brindado en todo momento.

A los **Doctores Sandra Orozco Suárez y Sebastián Castillo Medina**, por su valioso tiempo y asesoría en esta tesis.

A mis compañeros y amigos del laboratorio de Neurohistología y Conducta, principalmente al **B. E. Jesús Olayo Lortia** por su apoyo incondicional, amistad y madurez que me ha demostrado en todo momento. También le agradezco los momentos que compartimos a diario en el laboratorio, nuestra "casa".

A mis **compañeros y amigos del Posgrado en Biología Experimental** por el tiempo que pasamos juntos, por su comprensión, ayuda y amistad.

A **Guadalupe y Pedro** por la guía que me han dado en mi vida, por la libertad para elegir mi camino. Sobre todo por ser mis padres y por el amor que obtengo en todo momento.

A mis hermanos **Paty, Jaime, Pil, Memo, Raúl, Rosalía y Dani** por ser un ejemplo en mi vida y compartir conmigo el amor, amistad y alegría.

A mis sobrinos, principalmente a **Ian Caleb** por estar siempre a mi lado.

A **Enrique** por estar conmigo en los momentos agradables y desagradables de mi vida.

G R A C I A S

ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN	10
2. INTRODUCCIÓN	12
3. APARATO REPRODUCTOR MASCULINO DE LA RATA	13
3.1 Anatomía de los testículos	14
3.2 Espermatogénesis de la rata	19
3.3 Papel de las hormonas en la espermatogénesis	22
3.4 Biosíntesis de los estrógenos en los testículos.....	25
3.5 Papel de los estrógenos y la enzima aromatasa en la espermatogénesis.....	27
4. PAPEL DE LOS INHIBIDORES DE LA ENZIMA AROMATASA.	30
5. DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA MACHO ADULTA	33
5.1 Etapas de la conducta sexual masculina (CSM).....	34
5.2 Registro de la Conducta Sexual Masculina en la rata macho.....	35
5.3 Componentes de la conducta sexual masculina en la rata.....	36
6. FERTILIDAD	37
6.1 Parámetros para evaluar la fertilidad	39
7. ANTECEDENTES.....	40
7.1 Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa, sobre el aparato reproductor masculino, la espermatogénesis y la producción de hormonas.	40
7.2 Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre la conducta sexual masculina	42
7.3 Efecto de diferentes inhibidores de la aromatasa sobre la fertilidad.....	44
8. JUSTIFICACIÓN.....	45
9. HIPÓTESIS	46

10. OBJETIVOS	46
9.1 Objetivo General	46
9.2 Objetivos particulares	47
11. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
11.1 Animales y condiciones generales de mantenimiento	47
11.2 Preparación, selección de animales y evaluación de la conducta sexual masculina	48
11.3 Tratamiento farmacológico	50
11.4 Evaluación de la fertilidad de las ratas macho	51
11.5 Morfometría e Histología de los Testículos	52
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	54
12.1 Morfometría e histología de los testículos.....	54
12.2 Conducta Sexual Masculina	54
12.3 Fertilidad de las ratas macho	55
13. RESULTADOS.....	56
13.1 Efecto del ATD sobre los testículos y la espermatogénesis de la rata macho adulta.	56
13.1.1 Peso de los testículos.....	56
13.1.2 Diámetros dorso-ventral y cráneo-caudal	56
13.1.3 Diámetro tubular externo y luminal	59
13.1.5 Frecuencia de espermatoцитos primarios por túbulo seminífero.	62
13.1.6 Frecuencia de espermátidas por túbulo seminífero.	63
13.1.7 Número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII.....	66
13.2 Efecto del ATD sobre la conducta sexual masculina	68
13.2.1 Porcentaje de sujetos que montaron (%SsM)	68
13.2.2 Porcentaje de sujetos que intromitieron (%Ssl)	69
13.2.3 Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE)	70
13.2.4 Latencia de monta (LM).....	74
13.2.5 Latencia de intromisión (LI)	74
13.2.6 Latencia de eyaculación (LE).....	75
13.2.7 Número de montas (NM)	77
13.2.8 Número de intromisiones (NI)	78
13.2.9 Periodo refractario posteyaculatorio (PRPE).....	80
13.2.10 Intervalo interintromisión (III)	81
13.2.11 Intervalo Inter Copulatorio (IIC)	83
13.2.12 Tasa de aciertos (TA)	84
13.2.13 Frecuencia de eyaculación (FE).....	86

13.3 Efecto del ATD sobre la Fertilidad.....	89
13.3.1 Índice de Fertilidad	89
13.3.2 Tamaño de la camada	90
14. DISCUSIÓN.....	92
15. CONCLUSIONES.....	101
16. REFERENCIAS.....	102
17. ÍNDICE DE FIGURAS.....	113
18. ÍNDICE DE TABLAS	115
19. ABREVIATURAS	116

1. RESUMEN

Los testículos de la rata, producen estrógenos a partir de andrógenos, por la acción de la enzima aromatasa. Estos estrógenos tienen un papel muy importante en la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual masculina. Se ha demostrado que la administración de inhibidores de la enzima aromatasa, reducen al 90% el espermatozoos del semen eyaculado, disminuyen la movilidad de los espermatozoides y el proceso espermiogénico, reduciendo la fertilidad y facilitan o inhiben la conducta sexual masculina dependiendo de la dosis administrada.

El objetivo de este estudio fue determinar si la administración crónica de un inhibidor de la aromatasa (el 1,4,6-androstantrieno-3,17-diona, ATD), es capaz de reducir la espermatogénesis y la fertilidad del macho sin inhibir la conducta sexual masculina de la rata. Con tal fin se formaron 6 grupos de ratas macho adultas sexualmente expertas (n=6). A 3 grupos se les administró i.p. 5 mg/kg/día de ATD, disuelto en 0.5 ml de aceite de soya (vehículo) en periodos de 15, 30 y 45 días (grupos ATD15, ATD30 y ATD45, respectivamente), mientras que a 3 grupos control se les administró sólo el vehículo en los mismos periodos (grupos CON15, CON30 y CON45). La conducta sexual masculina, se evaluó antes y después de cada tratamiento en todos los grupos antes mencionados. Al finalizar cada tratamiento se determinó su fertilidad, apareando a los machos con hembras intactas y se evaluó el número de hembras preñadas por macho y el número de crías por hembra preñada. Posteriormente los machos se sacrificaron y se disecaron los testículos, para registrar el peso y diámetros testiculares, el diámetro tubular externo y luminal, el número de espermatozoides y espermátidas por túbulo, así como el número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII.

En el grupo ATD15 hubo una disminución significativa en los diámetros testiculares y en los diámetros tubular externo y luminal en comparacion con su grupo CON, mientras que en el grupo ATD30 se obtuvo un aumento significativo en el diámetro tubular externo comparado con el grupo CON30. Además en los grupos ATD 15, ATD30 y ATD45, hubo una disminución significativa en el número de espermatozoides. También en los grupos ATD30 y ATD45, se obtuvo una disminución significativa en el número de espermátidas por túbulo seminífero, así como en el número de túbulos seminíferos en las etapas VII y VIII del ciclo del epitelio seminífero. Respecto a la fertilidad, en el tratamiento de ATD45, se obtuvo una tendencia a disminuir el índice de fertilidad, así como el tamaño de la camada, sin embargo estos parámetros no resultaron estadísticamente significativos.

Por último, en el tratamiento de ATD30, se obtuvo una disminución significativa en la latencia de intromisión, así como un aumento en el número de intromisiones. Mientras que en el grupo ATD45, se observó un aumento significativo en el intervalo intercopulatorio, también se observó una disminución significativa en el porcentaje de sujetos que montaron y eyacularon, pero sólo hasta la segunda serie eyaculatoria. Por lo tanto, se concluyó que la administración de ATD durante 45 días, fue la que tuvo un efecto mayor sobre la espermatogénesis y la fertilidad, sin impedir la completa expresión del patrón eyaculatorio en la conducta sexual masculina de la rata macho.

2. INTRODUCCIÓN

Los testículos son órganos que realizan dos funciones principales: la biosíntesis de hormonas masculinas y la producción de espermatozoides (Carreau y Hess, 2010). Por mucho tiempo, los andrógenos fueron considerados las únicas hormonas necesarias para el funcionamiento adecuado del sistema reproductor del macho. Sin embargo, fue hasta 1972 que los testículos se reconocieron como fuente de estrógenos y que tienen un papel muy importante en la fisiología reproductora del macho en los mamíferos (Kelch y cols., 1972). En los últimos años ha surgido un gran interés por el papel que tienen los estrógenos en el proceso de espermatogénesis, en la fertilidad y en la conducta sexual del macho (Carreau y cols. 2007b y 2010, Rochira y cols. 2005, Simpson y cols. 2005). Los avances que se han registrado en diversos estudios, han empezado a descifrar los mecanismos de acción de los estrógenos en el tracto reproductor del macho (Rochira y cols., 2005; Simpson y cols., 2005).

Por tal motivo, el objetivo de este estudio fue obtener más información, sobre el papel que desempeñan los estrógenos en el proceso de espermatogénesis, en la conducta sexual masculina y en la fertilidad de la rata macho adulta. De tal manera que se estudió el efecto de la administración crónica del inhibidor de la enzima aromatasa, el 1,4,6-androstantrieno-3,17-diona (ATD), en diferentes periodos de tiempo, durante la etapa adulta de la rata macho.

3. APARATO REPRODUCTOR MASCULINO DE LA RATA

En la rata, el sistema reproductor del macho está constituido por las gónadas o los testículos, tal como se puede observar en la Figura 1. Estos órganos son los responsables de la producción de espermatozoides y de la síntesis de esteroides u hormonas sexuales masculinas (Carreau y cols., 2007b). También presenta el pene, el cual es el órgano copulador, así como una serie de vías y conductos que se originan desde los testículos, cuya función principal es el almacenamiento y la maduración de los espermatozoides (Setchell y cols., 1994).

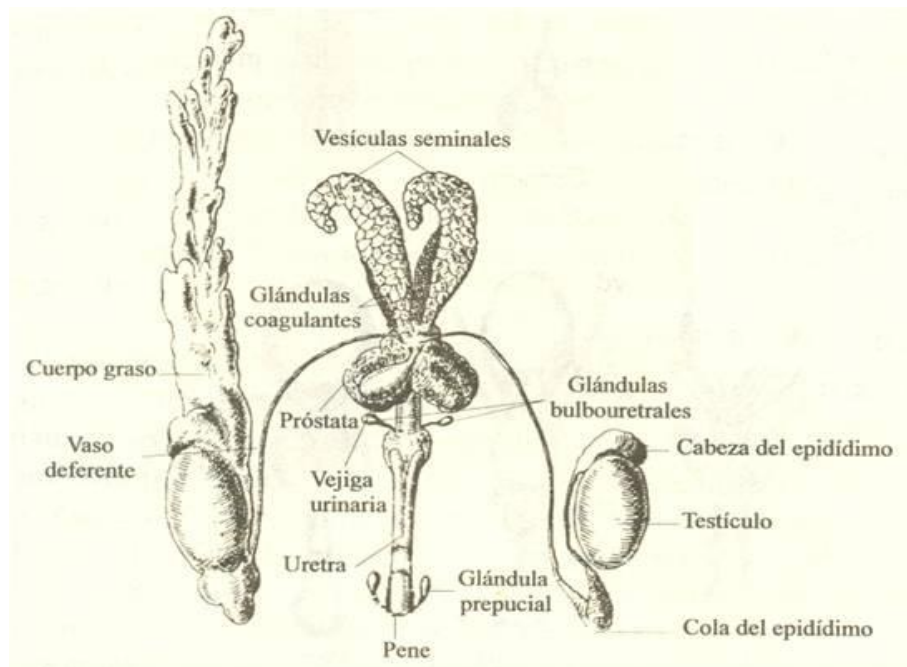


Figura 1. Aparato reproductor masculino de la rata. Modificado de Setchell y cols., 1994.

La rata macho presenta diferentes glándulas accesorias, como son la glándula ampular, las vesículas seminales, las glándulas coagulantes, bulbouretrales, prepuciales y los lóbulos prostáticos, (Setchell y cols. 1994). Cuando el macho eyacula durante la cópula, el líquido seminal producido por las glándulas accesorias, es expulsado con fuerza hacia el exterior por el meato urinario. Esto depende de las contracciones de los músculos perineales, bulboesponjoso e isquiocavernoso (Benson, 1988).

3.1 Anatomía de los testículos

Los testículos de la rata macho adulta, son órganos pares de forma ovoide, localizados dentro del escroto, fuera de la cavidad abdominal, que se caracterizan por presentar dos funciones principales, las cuales son, la biosíntesis de hormonas masculinas y la producción de espermatozoides. Estas funciones son controladas por las gonadotropinas, la testosterona (TES) y diversos factores sintetizados localmente, incluyendo a los estrógenos (Carreau y cols., 2002).

Los testículos en los roedores (Figura 2), están cubiertos por la túnica albugínea, la cual se extiende en la parte posterior del testículo, para formar el mediastino del testículo, que es un engrosamiento del tejido conjuntivo que penetra en el órgano. Los tabiques testiculares, son estructuras en forma de bloques delgados y fibrosos que se extienden radialmente a partir del mediastino hasta la túnica albugínea, y dividen al órgano en compartimentos o lóbulos testiculares (Benson, 1988).

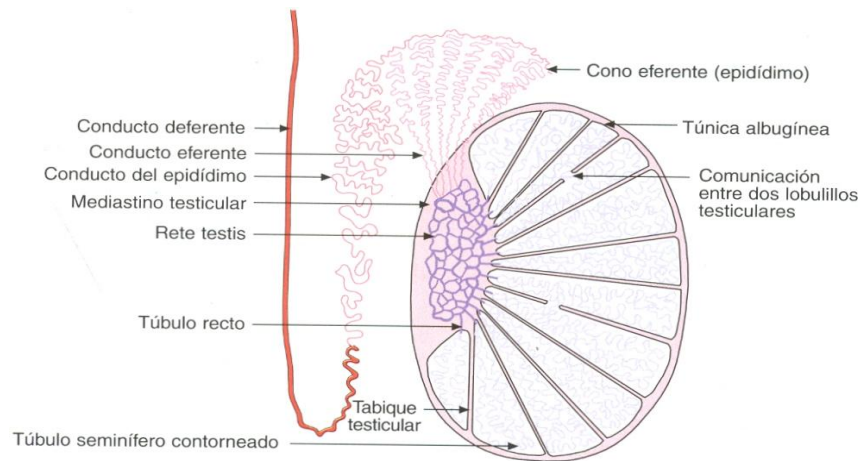


Figura 2. Estructura del testículo y los conductos excretores del semen (Fuente: Geneser, 2007).

Cada lóbulo contiene túbulos seminíferos, en los que se producen los espermatozoides y también está presente un estroma de tejido conectivo que contiene las células intersticiales o de Leydig. (Habert, 2001). Cada túbulo dentro del lóbulo, forma un bucle o arrollamiento y se repliega sobre sí mismo. En la proximidad del mediastino los extremos del bucle recorren un trayecto corto recto. Esta parte del túbulo seminífero se llama túbulo recto y se continúa con la rete testis o red de Haller, el cual es un sistema de canales anastomosados dentro del mediastino (Figura 2) (Russell y cols., 1990).

En la parte interna de la túnica albugínea, se localiza el tejido conjuntivo denso, el cual es una capa más laxa, provista de numerosos vasos sanguíneos (la túnica vascular del testículo). A partir de esta capa, el tejido conjuntivo se extiende hacia dentro, para llenar los intersticios que hay entre los túbulos seminíferos. El tejido testicular presenta fibroblastos, macrófagos, células cebadas y células mesenquimales perivasculares. Además, contiene grupos de células

intersticiales o de Leydig, que constituyen el tejido endocrino del testículo. Cada testículo está suspendido en el escroto por el extremo del cordón espermático, que está formado por el conducto excretor del testículo, el conducto deferente, los vasos sanguíneos y los nervios que llegan al testículo. El epidídimo está formado por un tubo largo contorneado, llamado conducto epididimario (Russell y cols., 1990)

Los túbulos seminíferos de la rata están rodeados por una capa de células adventicias derivadas de elementos del tejido conjuntivo intersticial primitivo, tal y como se observa en la Figura 3. La organización de esta envoltura varía de una especie a otra. En el caso de los roedores los túbulos seminíferos presentan una capa de células aplanadas y poligonales, que se unen borde con borde para formar una lámina de epitelio continua que rodea al túbulo. Estas células, llamadas mioideas o células contráctiles peritubulares, tienen los rasgos característicos del músculo liso, se cree que son las responsables de las contracciones rítmicas y poco fuertes que se observan en los túbulos seminíferos de esta especie (Russell y cols., 1990).

El epitelio seminífero de los túbulos seminíferos lo componen dos poblaciones básicas de células: las células germinales y las células de Sertoli, también conocidas como células de sostén (Figura 3). Los estudios muestran que las células de Sertoli son alargadas, de forma cilíndrica e irregular, que se extienden desde la base, hacia la luz de los túbulos seminíferos. El núcleo de las células de Sertoli es basal, grande e irregular, de forma triangular o poligonal, con uno o dos nucléolos. La posición del núcleo varía de acuerdo al estadio del ciclo espermatogénico (Kerr y cols., 1984).

Las células de Sertoli que están formando parte del epitelio seminífero, participan en la regulación de la espermatogénesis. De tal manera que forman parte del soporte estructural y la nutrición de las células germinales en desarrollo. Las funciones de las células de Sertoli incluyen la fagocitosis de las células germinales en degeneración y de cuerpos residuales. Intervienen en la liberación de las espermátidas en el proceso de espermiación, así como en la producción de proteínas que regulan y/o responden a la liberación de las hormonas hipofisiarias e influyen en la actividad mitótica de las espermatogonias (Johnson y cols., 2008).

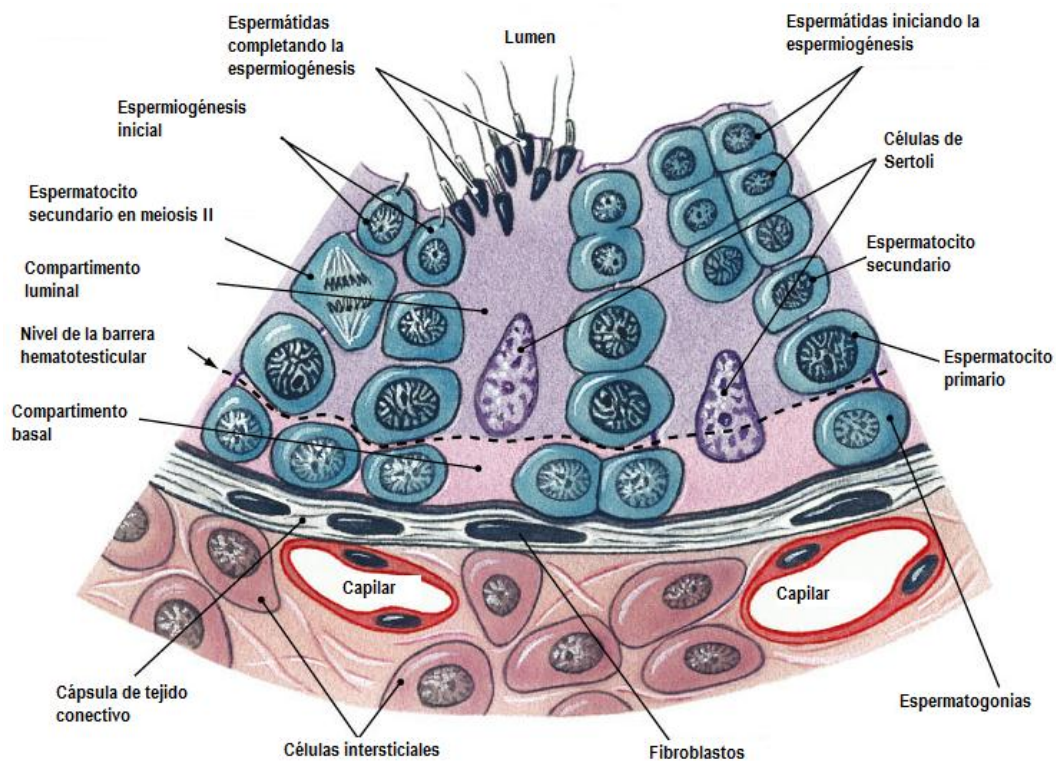


Figura 3. Células que componen los túbulos seminíferos.

En la Figura 3 también se pueden observar las células germinales, las cuales se organizan en capas de desarrollo progresivo entre las células de Sertoli adyacentes. Las células germinales más inmaduras, son las espermatogonias o células precursoras, las cuales se localizan sobre la lámina basal. Las espermatogonias son células esféricas en todas las regiones de los túbulos seminíferos, situadas junto a la membrana basal que rodea a los túbulos seminíferos. Estas células aparecen secuencialmente y conforme se van madurando adquieren más heterocromatina, mientras que va disminuyendo el tamaño nuclear y los nucléolos se observan más prominentes (Herms et al., 2010).

En una segunda capa están los espermatocitos primarios, que son células germinales en maduración con citoplasma más voluminoso. Le siguen en una tercera capa, los espermatocitos secundarios, los cuales son más pequeños que los espermatocitos primarios y se dividen para dar origen a las espermátidas. Las células más maduras o espermátidas están localizadas en las porciones apicales de la célula de Sertoli. Cada una de las espermátidas, se transforma en espermatozoides maduros (Cobb y Handel, 1998). Por otro lado, en el tejido intersticial ubicado entre los túbulos seminíferos se localizan las células de Leydig. Estas células de origen mesenquimatoso, sintetizan y secretan la hormona masculina, llamada testosterona. Las células de Leydig son células grandes poligonales, con un gran núcleo redondo. Su citoplasma es muy acidófilo y suele contener vacuolas claras, como consecuencia de los lípidos extraídos. Con microscopía electrónica se observa el retículo endoplásmico liso muy desarrollado y la membrana interna de las mitocondrias forman estructuras tubulares en lugar de crestas (Habert, 2001).

3.2 Espermatogénesis de la rata

La espermatogénesis es el proceso en el cual las células germinales (espermatogonias, espermatocitos y espermátidas) experimentan una serie de procesos de división, diferenciación, meiosis y transformación, que termina en la producción de espermatozoides. Este proceso de espermatogénesis se lleva a cabo en el epitelio seminífero, en los testículos (O'Donnell y cols., 2001).

El ciclo del epitelio seminífero, consiste en una serie de cambios que producen las asociaciones celulares, en cada sección determinada de los túbulos. Después de una serie de cambios en la composición celular de cada zona del epitelio seminífero, la composición celular original de cada área reaparece y se inicia de nuevo. El tiempo para que tenga lugar toda la sucesión de cambios, representa la duración del ciclo del epitelio seminífero (Herms y cols., 2010).

Los estudios han demostrado que el ciclo del epitelio seminífero tiene una duración constante. En la rata, se ha calculado que esta duración es de 12.5-13 días (González y cols., 2006). Una espermatogonia necesita aproximadamente cinco ciclos, o sea, 65 días, para completar su diferenciación y ser liberada en forma de espermatozoide. Al realizar varias secciones transversales en los testículos de la rata, se observan diversas imágenes. De esta forma se han identificado microscópicamente, 14 imágenes características de los túbulos seminíferos de la rata (Herms y cols., 2010).

En la Figura 4, se representa el ciclo espermatogénico de la rata, en donde se pueden ver los cambios sucesivos que experimenta una

célula germinal individual, desde la espermatogonia hasta su transformación en espermatozoide. Esta asociación de células germinales forma un ciclo de 14 estadios (Hermo y cols., 2010).

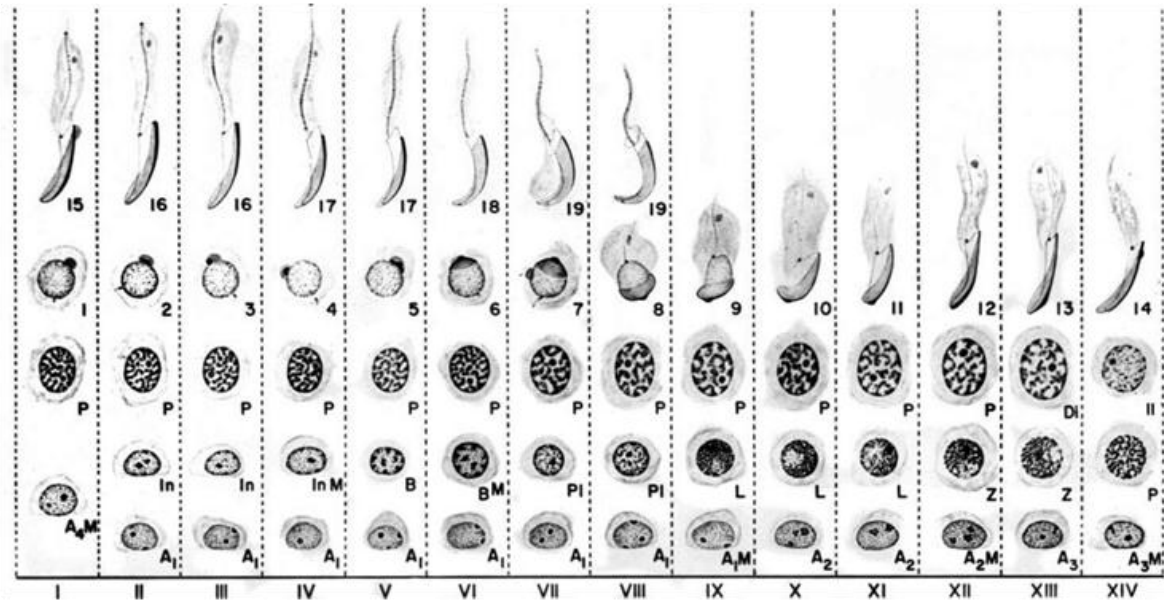


Figura 4. Esquema de los 14 estadios del ciclo del epitelio seminífero de los testículos de la rata macho adulta. Los estadios son indicados en números romanos del I-XIV. Las columnas verticales muestran los diferentes tipos de células presentes en cada estadio (Fuente: Dym and Clermont, 1970).

El ciclo empieza con espermatogonias de tipo A, localizadas en el ángulo inferior izquierdo de la Figura 4. Las investigaciones de Leblond y Clermont en los años 50's (Clermont y Leblond, 1959) demostraron que hay seis generaciones sucesivas de espermatogonias. Las espermatogonias de tipo A₁, empiezan el proceso de la diferenciación y continúan para dar origen a espermatogonias de tipo A₂, A₃ y A₄. Las espermatogonias de tipo A, se caracterizan por tener un núcleo

elongado y prominente, presentan ausencia de cromatina (A_1) y se localizan junto a la membrana basal. Las espermatogonias más diferenciadas como el tipo A_4 , van acumulando más cromatina en la membrana nuclear y el núcleo va tomando la forma ovoide. Posteriormente continúa la diferenciación, para formar las espermatogonias intermedias (In) y después dar origen a las espermatogonias de tipo B. En promedio, la mitad de la población de las células hijas de tipo A en división mitótica, se diferencia hasta transformarse en células de tipo B y con ello pierden su potencialidad para producir más células A. La otra mitad de la población de células hijas no pierde sus características de progenitoras, conservando esta población (Hermo y cols., 2010; Clermont y Leblond, 1959).

La proliferación de espermatogonias de tipo B, dan origen a los espermatocitos primarios. Los cuales experimentan la meiosis. Las dos divisiones de la meiosis se denominan primera división meiótica o meiosis I y segunda división meiótica o meiosis II. La primera división meiótica presenta la profase I, esta fase se caracteriza por presentar una duración larga y a su vez se subdivide en 5 estadios (Hermo y cols., 2010).

Los espermatocitos primarios entran a la profase I, la cual se caracteriza porque los cromosomas homólogos se aparean e intercambian segmentos y continúan con la meiosis. En la profase I, los espermatocitos pasan del estadio de preleptoteno, al estadio de leptoteno, continúan con el de cigoteno, paquiteno, diploteno y diacinesis. Posteriormente continua el proceso de diferenciación, de la profase I continúa la metafase I, la anafase I y la telofase I. De la telofase I, se originan células hijas llamadas espermatocitos secundarios, estas células presentan una vida media muy corta.

Después se diferencian a espermátidas mediante la segunda división meiótica (Hermo y cols., 2010).

La espermiación, se muestra después en números arábigos del número 1 al 19, o sea la transformación de las espermátidas en espermatozoides. Los espermatozoides formados en la última etapa (etapa 19), se localizan en los estadios VII y VIII del ciclo. En consecuencia, si se examinan las asociaciones celulares en todos los segmentos de un túbulo seminífero, se comprobará una progresión ordenada desde un estadio del ciclo hacia el siguiente (Cobb y Handel, 1998).

3.3 Papel de las hormonas en la espermatogénesis

El papel que tienen las hormonas testiculares en el control del desarrollo gonadal, depende de la liberación de gonadotropinas hipofisarias: la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), las cuales son controladas a su vez por el hipotálamo, tal y como se muestra en la Figura 5 (Vasantha Padmanabhan, 2001).

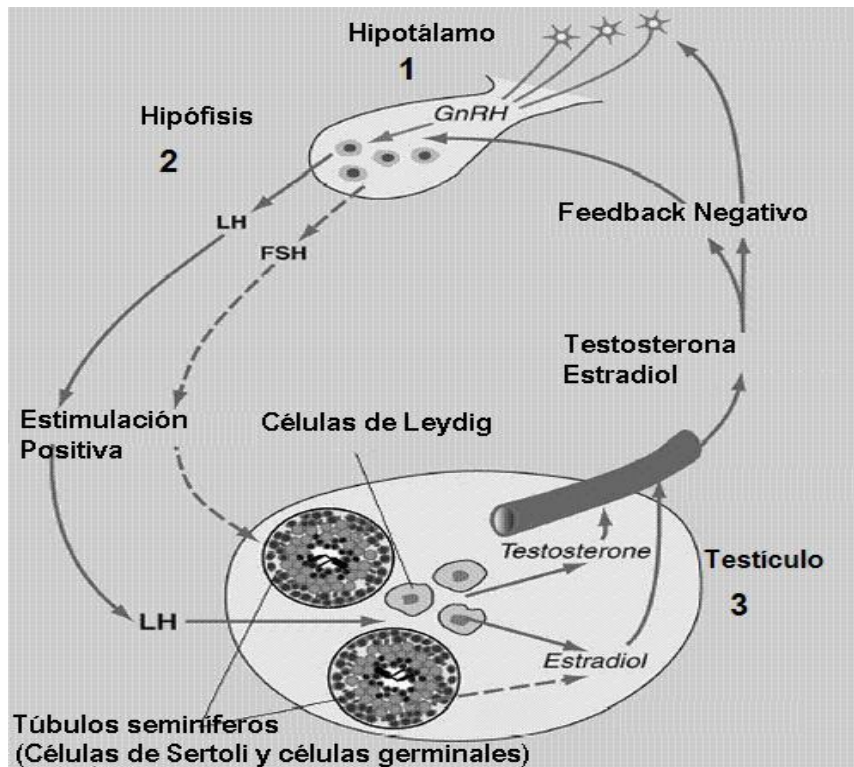


Figura 5. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo. Modificado de WHO (World Health Organization, 2002).

El control primario del eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo (HHT), es ejercido por el factor liberador de gonadotropinas (GnRH). Este factor es producido por un grupo específico de neuronas hipotalámicas localizadas principalmente a nivel del núcleo arcuato y liberado a la circulación portal hipotálamo-hipofisaria (McCann y cols., 2001).

La GnRH se libera y llega a la hipófisis anterior, en la cual estimula la síntesis y liberación de las gonadotropinas. Ambas hormonas son sintetizadas en la adenohipófisis, por las células gonadotropas. Las gonadotropinas son liberadas a la circulación y actúan sobre los testículos ejerciendo el control tanto de la esteroidogénesis, así como de la gametogénesis (Figura 5) (McCann y cols., 2001). La señal hormonal

generada a nivel hipotalámico está controlada en forma pulsátil, por las neuronas liberadoras del GnRH que presentan éste patrón intrínseco. La acción del hipotálamo sobre las células gonadotropas depende de cambios en la frecuencia de pulsatilidad. Esta secreción pulsátil de la GnRH y en consecuencia también de las gonadotropinas, es indispensable para el desarrollo y mantenimiento de la función reproductora en el macho adulto. De tal forma que los pulsos de GnRH incrementan la expresión e inducen la secreción de gonadotropinas (Brown, 1995).

Los testículos sintetizan andrógenos, desde la etapa embrionaria, hasta la etapa adulta. La testosterona, es responsable del crecimiento y diferenciación de los órganos que forman el tracto reproductor masculino. Los testículos inician y mantienen la espermatogénesis. Los andrógenos también actúan en el sistema nervioso central y ejercen el control de retroalimentación en la secreción de las gonadotropinas, por el eje HHT, y también actúan sobre el hígado, riñones, músculos, hueso, nervios y sistema cardiovascular (Brown, 1995).

La TES es la principal hormona esteroide sexual del macho, sintetizada y secretada por los testículos de los mamíferos. Los niveles de TES en circulación deben ser normales (5.96 pg/ml), para que se lleve a cabo la actividad biológica en el macho. Investigaciones recientes, han demostrado la importancia de la aromatización, proceso que se refiere a la transformación de TES a estradiol, con la presencia de la enzima aromatasa. En este proceso, se provee de una fuente de estrógenos, los cuales se unen a receptores a estrógenos, para promover acciones estrogénicas en el eje HHT (Zuloaga y cols., 2008).

3.4 Biosíntesis de los estrógenos en los testículos

La biosíntesis de los estrógenos en los testículos es catalizada por una enzima microsomal de la superfamilia citocromo P₄₅₀, llamada citocromo aromatasa P450 (P450arom), que en la rata es codificada por una copia del gene, cyp19 (Omura y Morohashi, 1995). La aromatasa es una enzima terminal, responsable de transformar irreversiblemente andrógenos en estrógenos (Shaha, 2008).

El precursor de la biosíntesis de todas las hormonas esteroides, es el colesterol. En la biosíntesis participan la aromatasa y una serie de enzimas, tal como las hidroxisteroide deshidrogenasas (3 β -OH-SDH y 17-OH-SDH). La 3 β -OH-SDH convierte la deshidroepiandrosterona en androstenediona, mientras que la 17-OH-SDH convierte la androstenediona a TES (Shaha, 2008; Kelloff y cols., 1998). La aromatasa cataliza el paso final en la biosíntesis de los estrógenos, a partir de los andrógenos. De tal forma que la TES se transforma en estradiol, la androstendiona en estrona y la 16 α -hidroxiandrostenediona en estriol (Shaha, 2008). El estradiol secretado se oxida de forma reversible hasta generar estrona mediante la 17-OH-SDH y esos dos estrógenos pueden convertirse en estriol, mediante la 16 α -Hidroxilasa (Figura 6) (Shaha, 2008).

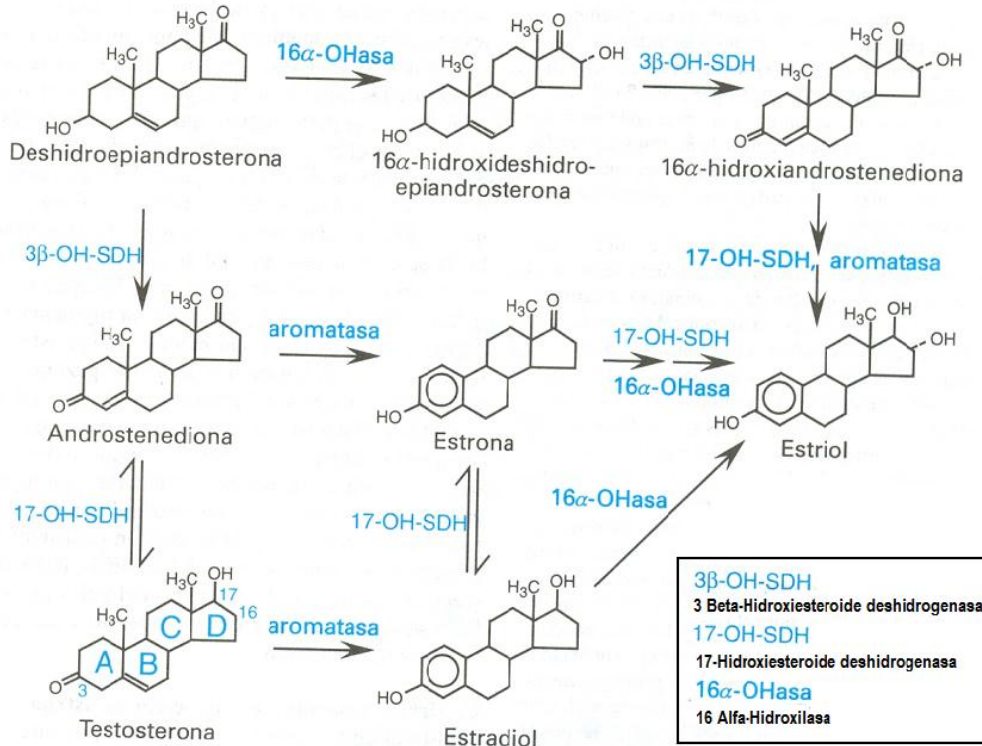


Figura 6. Ruta de la biosíntesis de los estrógenos (Modificado de: Goodman, 1996).

De esta forma, la biosíntesis de los estrógenos comprende aromatización del anillo A de los andrógenos y esta reacción es catalizada por la enzima aromatasas. Los estrógenos se caracterizan por:

- la pérdida del carbono 19,
- por un anillo aromático A,
- por la ausencia de dos cadenas de carbonos en el carbono 17 y
- por la presencia de un oxígeno funcional en los carbonos 3 y 17.

En el caso del estríol se caracteriza por la presencia de un tercer oxígeno en el carbono 16. Los esteroides con mayor actividad estrogénica son la estrona, el 17 β -estradiol y el estríol (Norman y Litwack, 1997).

La función endocrina del testículo está a cargo de las células de Leydig que sintetizan y secretan TES en los testículos. Casi toda la TES

es producida por el testículo y menos del 5% proviene de las glándulas suprarrenales. La TES junto con las gonadotropinas LH y FSH, son responsables de inducir y mantener la espermatogénesis en el macho (Levallet y cols., 1998).

3.5 Papel de los estrógenos y la enzima aromatasa en la espermatogénesis

Por mucho tiempo los estrógenos habían sido considerados como las hormonas femeninas específicas. No obstante, la presencia de estrógenos en las gónadas del macho ha sido bien documentada, desde la publicación de Zondek hace más de 80 años (Zondek, 1934). Actualmente se ha estudiado la presencia de los estrógenos en los testículos de varias especies de mamíferos y se ha demostrado que son esenciales para el desarrollo sexual normal y la reproducción del macho (Carreau y cols., 2007a; Bilinska y cols., 2003).

Los estrógenos testiculares muestran una interacción con los receptores a estrógenos (ERs), los cuales regulan la transcripción de genes específicos. Hasta 1996 los estudios solo mostraban un receptor a estrógenos, el receptor a estrógenos alfa (ER α), posteriormente con el descubrimiento del receptor a estrógenos beta (ER β), la localización de los ERs ha sido valorada y ahora se ha demostrado que los ER α y β no siempre están presentes en las mismas células o en la misma cantidad en el tracto reproductor del macho (Carreau y cols., 2007a).

En la rata, el patrón de expresión de la enzima aromatasa, es diferente entre los tipos de células somáticas testiculares según la edad. La fuente primaria de estrógenos en los testículos, se localiza en los gonocitos. La figura 8 que muestra la localización de los ERs y de la

enzima aromatasa, sugiere que la producción y acción de los estrógenos, ocurre en las células somáticas gonadales: espermatogonias, espermatocitos en preleptoteno y paquiteno, espermátidas y espermatozoides, así como en las células de Leydig y de Sertoli. Se ha demostrado que la expresión de la aromatasa es tres veces más alta en espermatocitos en paquiteno comparada con las espermatogonias o con los espermatocitos en preleptoteno. (Lambard y cols., 2005; O'Donnell y cols., 2001).

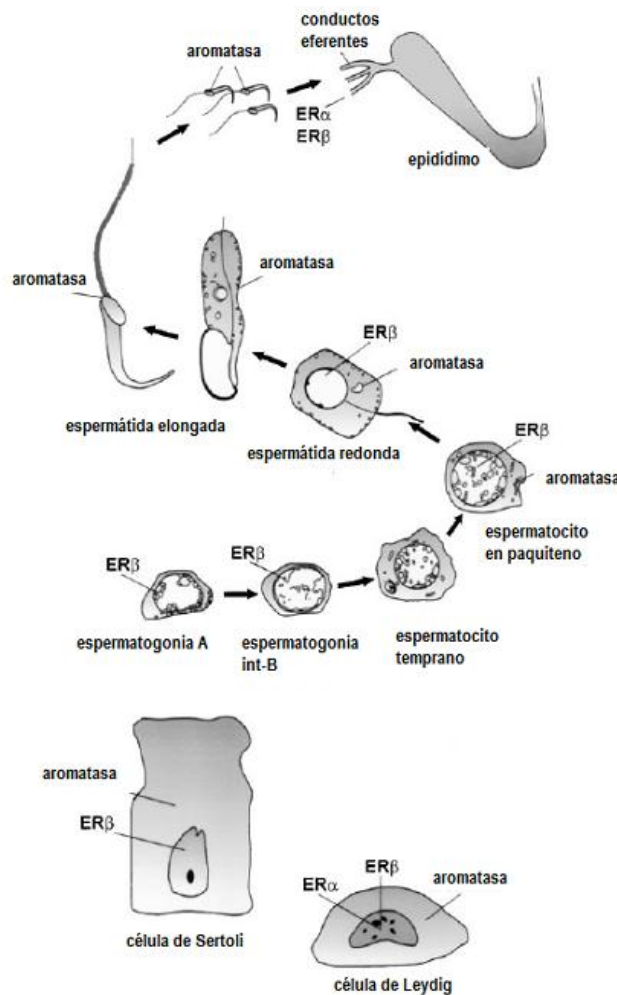


Figura 7. Localización de los receptores a estrógenos alfa y beta (ERα y ERβ) y de la enzima aromatasa, en células de los testículos de mamífero en la etapa adulta. Modificado de O'Donnell y cols., 2001.

En la rata adulta, la fuente primaria de estrógenos son las células de Leydig (Bilinska y cols., 2003). Como ya se ha mencionado, los estrógenos son primordiales en el desarrollo de las células germinales, participan directamente en las funciones de las células durante el desarrollo testicular y la espermatogénesis e intervienen en la fertilidad de la rata (Bilinska y cols., 2006).

Se ha demostrado que los estrógenos participan en la maduración de los espermatozoides, en su paso por el epidídimo, ya que se ha demostrado la presencia de la actividad de la enzima aromatasa en las células epiteliales de los conductos eferentes, así como en el epidídimo. También se ha demostrado que los estrógenos actúan a través de ERs, que están presentes en las mitocondrias localizadas en la parte media de los espermatozoides. Lo que sugieren que los estrógenos están involucrados en la motilidad de los espermatozoides y en la habilidad que presentan para fecundar al óvulo (Figura 8) (Carreau y cols., 2008).

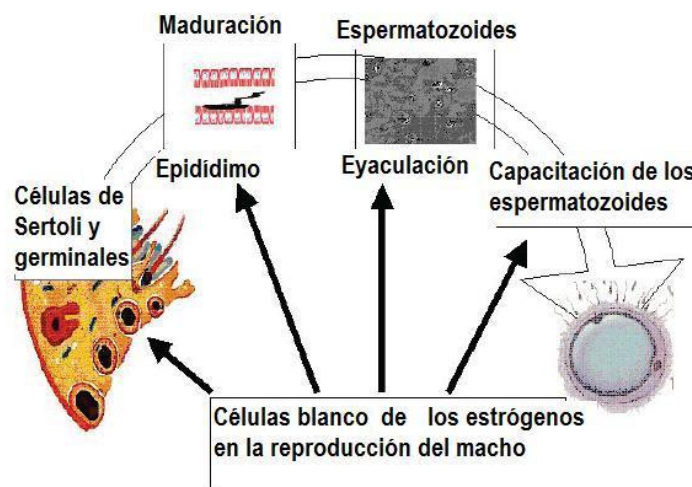


Figura 8. Papel de los estrógenos en diferentes funciones reproductivas del macho (Modificado de Carreau y cols., 2008).

Los estrógenos están involucrados en varios procesos fisiológicos, tales como: el desarrollo y mantenimiento del tracto reproductor del macho (Brueggemeier y cols., 2005; Levallet y cols., 1998), la maduración y mineralización del sistema óseo (Carani y cols., 2009), el reflejo copulatorio del macho y la función neuronal cerebral (Burke y cols., 1999).

4. PAPEL DE LOS INHIBIDORES DE LA ENZIMA AROMATASA.

Los inhibidores de la aromatasa, son compuestos que inhiben la acción de esta enzima, bloqueando la biotransformación de los andrógenos en estrógenos. Los inhibidores enzimáticos, modifican estos sistemas en el organismo de dos maneras: competitiva y no competitiva (Brueggemeier y cols., 2005).

Los inhibidores competitivos son moléculas, que se combinan en forma reversible con la enzima para formar un complejo enzima-inhibidor desplazando así al sustrato. Esto se debe a que la estructura química del inhibidor es semejante a la del sustrato y por ello el inhibidor, al competir con el sustrato por la unión no covalente del sitio activo de la enzima, impide de esta forma su acceso a dicho sustrato, o bien lo desplaza, si ya estaba unido, para disminuir el producto. En cambio, la inhibición enzimática no competitiva, se presenta cuando el inhibidor se combina en forma irreversible con la enzima, o con el complejo enzima-sustrato, de tal forma que impide la reacción enzimática. Esto sucede cuando el inhibidor se combina con diferentes grupos químicos del sustrato, lo que conduce a la inactivación de la enzima (Brueggemeier y cols., 2005).

Los inhibidores competitivos pueden clasificarse químicamente, en inhibidores de tipo 1 y 2 (Brueggemeier y cols., 2005). Los inhibidores

tipo 1 son compuestos esteroideos, que compiten con el substrato, por la unión no covalente del sitio activo de la enzima, disminuyendo la cantidad del producto formado. Los inhibidores tipo 2 son compuestos no esteroideos, que se unen al grupo hemo de la enzima aromatasa, como se puede observar en la Figura 9 (Dowsett, 1999; Brueggemeier y cols., 2005). En la Tabla 1 se observan algunos ejemplos de los inhibidores de la aromatasa esteroideos y no esteroideos (Gilles, 2001).

Tabla 1. Ejemplos de los inhibidores de la aromatasa esteroideos y no esteroideos (Modificado de Gilles, 2001).

Esteroides	No esteroideos
10-Allenyl-estr-4-ene-3,17-dione	Aminoglutethimide
4-Hydroxyandrostenedione (formestane)	4-Cyclohexylaniline
4-Acetoxyandrostenedione	Miconazol
Exemestane (FCE 24304)	Ketoconazol
19,19-Difluoro-androstenedione	Fadrozol (CGS 16949A)
10-2(Propynyl)est-4-ene-3,17-dione	Mefloquine
1-Methyl-1,4-androstene-3,17-dione	Vorozol (R 83842)
4-Androstene-3,6,17-trione	CGS 18320B
3-Hidroxi-4-androstene-6,17-diona	Pyridoglutethimide
6-Bromo-androstenedione	Letrozol (CGS 20267)
4-Androstene-3OH-6,17-dione	Anastrozol (ZD1033)
6-Methylenandrosta-1,4-diene-3,17-dione	Liarozol
14-Hydroxy-4-ene-3,6,17,triene	MPV-2213ad
1,4,6-androstatriene-3,17-dione (ATD)	MR 20492; MR 20494
16-Bromo-4-ene-6,17-trione	1-(Benzofuran-2-ylmethyl)imidazoles
3-Methoxide-4-ene-6,17-dione	R 76713
6-Fluorotestosterone	R 75251
4-(2-Propanethio)-4-androstene-3,17-dione	CGS 18320B

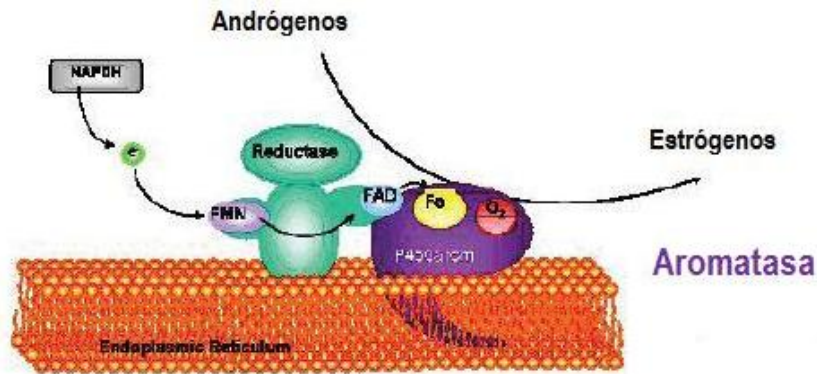


Figura 9. Mecanismo de acción de los inhibidores de la enzima aromatasa (color morado). El sitio de unión a esteroides (el sitio activo) se observa en rojo y el grupo hemo en amarillo (Modificado de Carreau y cols., 2008).

En los últimos años, se han desarrollado diferentes inhibidores de la enzima aromatasa, por ejemplo el triazol, letrozol y anastrozol. (Dowsett, 1999). Se ha demostrado que el 1,4,6-androstantrieno-3,17-diona (ATD), es un inhibidor esteroideo competitivo de la aromatasa, que actúa bloqueando la acción de la enzima aromatasa (Kaplan y cols., 1989), por lo que se ha utilizado en diferentes modelos animales, cuyo efecto se ha observado en la fisiología reproductora masculina.

5. DESCRIPCIÓN Y EVALUACIÓN DE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA DE LA RATA MACHO ADULTA

En la rata, la conducta sexual masculina (CSM) típica, se caracteriza por una serie de patrones conductuales que incluyen montas a la hembra, acompañadas de erecciones del pene, movimientos pélvicos e intromisiones en la vagina. Después de varias montas e intromisiones, el macho puede eyacular introduciendo en la hembra un tapón vaginal (Sachs y Meisel, 1994). En la mayoría de las especies estudiadas, la CSM es regulada por hormonas, por el sistema nervioso

central y por estructuras periféricas que interactúan (Hull y cols., 2006).

5.1 Etapas de la conducta sexual masculina (CSM).

La CSM en la rata, puede dividirse en tres etapas: la precopulatoria, la copulatoria y la postcopulatoria. En la etapa precopulatoria, los machos reciben información de la proceptividad de la hembra, la cual consiste en brinquitos, movimiento de orejas y desplazamiento en zig-zag. Los machos por su parte, se aproximan a la hembra con el fin de olfatear y explorar la región anogenital de la hembra. En esta etapa, los animales pueden emitir vocalizaciones ultrasónicas, que pueden servir para despertar el interés del macho en el apareamiento (Hull y cols., 2006).

La fase copulatoria se divide en tres etapas: la monta, la intromisión y la eyaculación. En la monta, el macho se acerca a la hembra receptiva, la sujeta de los flancos para subirse en ella e inicia una serie de movimientos pélvicos. Aunque el pene del macho se encuentra parcialmente erecto, durante estos movimientos, no hay penetración del pene en la vagina de la hembra. Por otro lado, la hembra presenta la lordosis, en la cual la hembra arquea la espalda levantando la cabeza, haciendo a un lado la cola y exponiendo su vagina con el fin de facilitar la cópula (Hull y cols., 2006).

En la intromisión, el macho monta a la hembra, realiza movimientos pélvicos e introduce el pene en la vagina de la hembra, para después desmontarla rápida y bruscamente y lamerse el pene. Una de las características importantes en la intromisión, es que a diferencia

de la monta se presenta la inserción del pene en la vagina de la hembra. En la rata, el ratón y otras especies de roedores, el macho intromite a la hembra varias veces antes de eyacular (Hull y cols., 2006). En la etapa de postcópula, el macho presenta un periodo refractario en el que reposa, lleva a cabo el acicalamiento de sus genitales y no muestra interés por la hembra.

5.2 Registro de la Conducta Sexual Masculina en la rata macho.

La observación de la CSM en la rata, se lleva a cabo en un redondel de plexiglás transparente (40 cm de diámetro x 50 cm de alto), con el piso cubierto de aserrín. Primero el macho se coloca solo dentro del redondel durante 5 minutos para habituarse a la arena. Posteriormente se coloca una hembra tratada previamente con hormonas (48 horas y 4 horas antes de la evaluación, son tratadas con 10 µg de estradiol y 500 µg de progesterona, respectivamente), con el fin de estimular su receptividad. La prueba dura 30 minutos y en este tiempo se registran los siguientes parámetros: Latencia de monta, de intromisión y de eyaculación; así como el Número de montas, intromisiones y Frecuencia de eyaculación; mismos que se describen a continuación:

Latencia de monta (LM): es el tiempo que pasa, desde que se introduce a la hembra con el macho hasta que el macho presenta la primera monta.

Latencia de intromisión (LI): es el tiempo que transcurre, desde que se coloca a la hembra con el macho y este realiza la primera intromisión.

Latencia de eyaculación (LE): es el tiempo que transcurre desde que el macho realiza la primera intromisión de la serie eyaculatoria (SER), hasta que eyacula por primera vez.

Periodo Refractario Post Eyaculatorio (PRPE): es el tiempo transcurrido entre una eyaculación y la primera intromisión de la siguiente SER.

Número de montas (NM): es el número de montas que preceden a la eyaculación en una SER.

Número de intromisiones (NI): es el número de intromisiones que preceden a la eyaculación en una SER.

Intervalo Interintromisión (III): es el intervalo de tiempo que hay entre cada intromisión en una serie eyaculatoria. Se calcula dividiendo la LE entre el NI.

Intervalo Intercopulatorio (IIC): es el intervalo de tiempo que hay entre cada monta o intromisión en una serie eyaculatoria. Se calcula con la fórmula siguiente: $LE / NM + NI$.

Frecuencia de eyaculación (FE): es el número de eyaculaciones que se presentan durante el tiempo de registro.

Tasa de aciertos (TA): también llamado índice de eficiencia copulatoria. Se calcula de la siguiente manera: $NI / NI + NM$ antes de cada eyaculación. (Ferreira Nuño y cols., 2002; Agmo, 1997).

5.3 Componentes de la conducta sexual masculina en la rata.

La CSM se divide en dos componentes, los cuales son el apetitivo o motivacional y el ejecutorio o consumatorio. Todos los parámetros de la CSM mencionados anteriormente sirven para evaluar cualquiera de estos dos componentes (Sachs y Meisel, 1988). El mecanismo apetitivo o motivacional, es aquel que induce a un animal a acercarse y tener contacto sexual con otro animal de su especie (Agmo, 1999). Los

parámetros que caracterizan el componente motivacional son: la LM, LI, así como el PRPE, el III y la FE (Sachs y Meisel, 1988).

El componente ejecutorio o consumatorio, determina la ejecución de la cópula en el macho. Los parámetros que permiten evaluar el componente ejecutorio son el NM, NI y LE (Sachs y Meisel, 1994; Agmo, 1999).

6. FERTILIDAD

Una de las características fundamentales de los seres vivos, es la capacidad de producir nuevos individuos. Todos los organismos presentan un periodo de vida, por lo que la supervivencia de la especie requiere de un mecanismo que permita la reproducción de nuevas generaciones de la misma especie, es decir la capacidad de reproducir. La fertilización es el proceso por el cual los gametos que se desarrollan en la hembra y en el macho, se unen para crear descendencia (Setchell y cols., 1994). Los gametos son producidos por las gónadas (ovarios y testículos). Los gametos de la hembra son los ovocitos y los del macho los espermatozoides. En la fertilización o concepción se unen un ovocito y un espermatozoide para dar origen al cigoto, esta nueva célula originará un nuevo organismo.

Para que se lleve a cabo la fertilización en los mamíferos, deben ocurrir los siguientes acontecimientos: en primer lugar el macho y la hembra deben aparearse. El macho debe eyacular el semen y este debe contener cierto número de espermatozoides normales. A su vez, estos espermatozoides deben reunir ciertas características, que son mostradas en la Tabla 2. En esta tabla aparecen los parámetros microscópicos del semen eyaculado por la rata de la cepa *Wistar* (Lucio y cols., 2009).

Posteriormente los espermatozoides eyaculados e introducidos en la vagina de la hembra, deben viajar libremente por el aparato reproductor femenino, reconocerse y unirse a la capa extracelular o zona pelúcida del ovocito ovulado. Para que el espermatozoide pueda atravesar la zona pelúcida, debe completar la reacción acrosomal. Posteriormente el espermatozoide se une al óvulo y se fusiona con la membrana plasmática para formar el cigoto (Lucio y cols., 2009; Wassarman y cols., 2005).

Tabla 2. Rangos de los parámetros del semen de la rata macho *Wistar* (Modificado de Lucio, 2008).

PARÁMETROS	RANGOS
Espermatozoides c/movilidad progresiva rápida (%)	42.16 a 51.00
Espermatozoides c/movilidad progresiva lenta (%)	28.16 a 36.33
Espermatozoides c/movilidad in situ (%)	12.16 a 16.16
Espermatozoides inmóviles (%)	6.83 a 10.50
Índice de movilidad (0-1)	0.70 a 0.80
Concentración espermática (10^6 /ml)	12.50 a 19.50
Viabilidad espermática espermatozoides vivos (%)	61.16 a 67.33
Morfología, espermatozoides normales (%)	99.00 a 100.00

6.1 Parámetros para evaluar la fertilidad

Los parámetros que permiten evaluar la fertilidad en la rata macho son el Índice de Fertilidad, que se calcula dividiendo el número de hembras preñadas entre el número de hembras apareadas X 100 y el Tamaño de la Camada que se calcula contando el número de crías por hembra preñada (Henderson y cols., 2005; Narayana y cols., 2005; Goyal y cols., 2004; Awoniyi y cols., 1993). La fertilidad en la rata macho puede evaluarse mediante la técnica descrita por Awoniyi en 1993, este autor colocó cada macho con dos hembras adultas intactas con ciclo estral normal, durante cinco días. En el día 18 después del apareamiento, las ratas hembra fueron sacrificadas para extraer y contar el número de fetos, con el fin de evitar cometer un error en el conteo de las crías, en el caso de que las hembras presentaran canibalismo durante el parto. Los machos son considerados fértiles o infértiles si fueron capaces o no de preñar a alguna de las dos hembras con las que se aparearon (Awoniyi y cols., 1993).

La investigación de la fertilidad en modelos animales, es de gran importancia, ya que gran parte de los estudios que se han realizado sobre la fertilidad en animales, son aplicados a los seres humanos (Wassarman y cols., 2005).

7. ANTECEDENTES

7.1 Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa, sobre el aparato reproductor masculino, la espermatogénesis y la producción de hormonas.

Diversos estudios han demostrado que los estrógenos juegan un papel muy importante en el control de la espermatogénesis, la conducta sexual masculina y la fertilidad, ya que el bloqueo de su biosíntesis, mediante la administración de diferentes inhibidores de la aromatasa, alteran estos procesos, tal y como se describirá a continuación.

Se han realizado estudios, donde se ha visto el efecto que han producido diferentes inhibidores de la enzima aromatasa, sobre el aparato reproductor masculino, la espermatogénesis y la producción de hormonas, tal y como se observa en la Tabla 3. En los estudios de Juniewicz y cols., en 1988 se demostró que después de administrar fradozol, obtuvieron un incremento en la concentración de testosterona testicular y no hubo efecto sobre la espermatogénesis. Walker y Nogués en 1994 administraron formestano a ratas macho, encontrando una disminución en el peso testicular, en el epidídimo, en la vesícula seminal y en la próstata, así como atrofia en las células de Leydig. Por otro lado, administraron el mismo inhibidor (formestano) a perros y encontraron un aumento en el peso testicular y próstata. Shetty y cols., en 1997 administraron fradozol, encontrando un incremento en la concentración de testosterona. Este mismo autor en 1998 administró CGP 47645 (un inhibidor de la aromatasa) y encontró una disminución en el número de espermatozoides y espermátidas. Por su parte Turner y cols., en el 2000 administraron anastrozol y demostraron que el 10% de los animales tratados presentaron pérdida de las células germinales y sólo encontraron células de Sertoli en los túbulos seminíferos.

Estos efectos observados en la Tabla 3, varían de acuerdo a la dosis, al periodo de administración y el modelo animal utilizado (2008; Turner y cols., 2000; Shetty y cols., 1998, 1997; Walker y Nogués, 1994; Juniewicz y cols., 1988).

Tabla 3. Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre el aparato reproductor masculino, la espermatogénesis y la producción de hormonas.

Autor/Año	Inhibidor de la Aromatasa	Dosis y Especie	Periodo de administración	Efectos
Juniewicz y cols., 1988	Fradozol	2.5 mg/kg/día Perros	180 días	Incremento en la concentración de testosterona testicular. No hubo efecto en la espermatogénesis
Walker y Nogués, 1994	Formestano	20, 100-500 mg/kg 2 veces a la semana Ratas macho	6 meses	En ratas disminución en el peso testicular, vesícula seminal y próstata. Hiperplasia e hipertrofia de las células de Leydig con dosis de 100 y 500
	Formestano	30mg/kg 2 veces a la semana Perros	6 meses	En perros: Incremento del peso testicular y próstata. Hiperplasia e hipertrofia de las células de Leydig.
	Letrozol	0.3 y 3 mg/kg/día Perros	3 meses	En perros: decremento del peso testicular. Atrofia de las células de Leydig.
Shetty y cols., 1997	CGP 47645	2.5 mg cada 5 días Monos	120 días	Incremento en la concentración de testosterona testicular. Deterioro en la espermatogénesis (reducción en el número y motilidad de los espermatozoides eyaculados así como en el número de espermátidas elongadas).
Shetty y cols., 1998	CGP 47645	2.5 mg cada 5 días, Monos	150 días	Se redujo el número de espermatozoides y espermátidas, (reducción de la espermiogénesis).
Turner y cols., 2000	Anastrozol	200 mg/l Ratas macho	5 meses	El 10% de las ratas tratadas, presentaron pérdida de las células germinales y solo se observaron células de Sertoli en los túbulos seminíferos.

7.2 Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre la conducta sexual masculina

La Tabla 4 muestra los efectos que han tenido la administración de los inhibidores de la aromatasa, como el ATD, el fradozol y el vorozol sobre la conducta sexual masculina de ratas macho en la etapa adulta. Estos inhibidores produjeron alteraciones en la conducta sexual masculina. Landau, en 1980 administró ATD y encontró una disminución en el número de intromisiones y en la frecuencia de eyaculación. Mientras que Kaplan y McGinnis en 1989 administraron ATD, demostrando un efecto sobre la disminución en el porcentaje de machos que montaron, que intromitieron y que eyacularon. Más tarde, Bonsall y cols., en 1992 administraron fradozol y encontraron una disminución en el número de montas, de intromisiones y de eyaculaciones. Además de un aumento en las latencias de monta y de eyaculación, así como en el intervalo posteyaculatorio. Vagell y McGinnis, en 1997 administraron fradozol cuyo efecto se observó en la disminución del porcentaje de machos que eyacularon. Posteriormente, Turner y cols., en el 2000 administraron anastrozol y encontraron una inhibición en la conducta sexual masculina de ratas macho. En los estudios de Roselli y cols., en el 2003 así como en los estudios de Huddleston y cols., en el mismo año, luego de administrar fradozol encontraron una disminución en el número de montas, de intromisiones y en la frecuencia de eyaculación. Con estos estudios se demostró que la administración de diferentes inhibidores de la aromatasa produjo una disminución en el despliegue de la conducta sexual masculina de ratas macho en la etapa adulta (Vagell y McGinnis, 1997; Bonsall y cols., 1992; Kaplan y McGinnis, 1989; Landau, 1980).

Tabla 4. Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre la conducta sexual masculina.

Autor/Año	Inhibidor de la Aromatasa	Dosis/Especie	Periodo de administración	Efectos
Landau, 1980	ATD	1 ó 10 mg/día Ratas macho	28 días	1 mg de ATD, no alteró la Conducta Sexual Masculina. 10 mg de ATD, disminuyó el número de intromisiones y la frecuencia de eyaculación.
Kaplan y McGinnis, 1989.	ATD	15 mg/día Ratas macho	7 días	Disminuyó el porcentaje de machos que montaron, intromitieron y eyacularon.
Bonsall y cols., 1992	Fradozol	2.5 mg/kg/día 0.25 mg/kg/día Ratas macho	42 días 42 días	Se redujeron el número de montas, intromisiones y eyaculaciones. Hubo aumento en las latencias de monta y eyaculación, intervalo posteyaculatorio.
Vagell y McGinnis, 1997	Fradozol	20 µg/día Ratas macho	7 y 13 días	Disminuyó el porcentaje de machos que eyacularon.
Turner y cols., 2000	Anastrozol	100 mg/l Ratas	Por 7 semanas	Se inhibió la conducta sexual masculina (no hubo presencia de tapón vaginal).
Roselli 2003	Fradozol	2.5 mg/kg/día Ratas macho	8 semanas	Reduce gradualmente la conducta sexual masculina. Disminuyó el número de montas, de intromisiones y la frecuencia de eyaculación así como se incrementó la latencia de monta.
Huddleston y cols., 2003	Fradozol	0.29 mg/kg/día Ratas macho	28 días	Disminuyó el número de montas, de intromisiones, así como la frecuencia de eyaculación.

7.3 Efecto de diferentes inhibidores de la aromatasa sobre la fertilidad

En la Tabla 5 se muestran los estudios, en los cuales se observa el efecto de la administración de los inhibidores de la aromatasa, el CGP 47645 y el anastrozol sobre la fertilidad del macho. Shetty y cols., en 1998 utilizaron como modelo animal a monos, mientras que Turner y cols., en el 2000 ocuparon a ratas macho adultas. Los resultados que se obtuvieron en monos fueron los siguientes: se redujo el volumen de esperma y la motilidad de los espermatozoides. En el trabajo de Turner se observó infertilidad en las ratas macho adultas (Shetty y cols., 1998; Turner cols., 2000).

Tabla 5. Efecto de diferentes inhibidores de la aromatasa sobre la fertilidad.

Autor/Año	Inhibidor de la Aromatasa	Dosis y Especie	Periodo de administración	Efectos
Shetty y cols., 1998	CGP 47645	2.5 mg Monos	Del día 55 al 95 de tratamiento	Se redujo el volumen de esperma y su motilidad al 90 %.
Turner y cols., 2000	Anastrozol	100 mg/l Ratas macho	Por 7 semanas	Infertilidad
		400 mg/l Ratas macho	Por 7 semanas	Infertilidad

8. JUSTIFICACIÓN

Se ha demostrado que los estrógenos testiculares que se forman a partir de los andrógenos en los mamíferos, por la presencia de la enzima aromatasa, tienen un papel muy importante en la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual masculina en el macho (Carreau y cols. 2007b y 2010, Rochira y cols. 2005, Simpson y cols. 2005). Se ha demostrado también, que la administración de diferentes inhibidores de la aromatasa, incluido el ATD, son capaces de disminuir la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual masculina, en la rata macho y otros mamíferos, dependiendo de la dosis y el periodo de administración empleados. Por ejemplo, altas dosis de ATD o de otros inhibidores de la aromatasa han provocado la inhibición de la conducta sexual masculina (Landau, 1980), pero bajas dosis no la han afectado (Landau, 1980), mientras que su efecto sobre la espermatogénesis y la fertilidad, aunque ha sido más irregular, se ha observado que bajas dosis de estos compuestos logran interrumpir estos procesos. Incluso se han observado efectos bifásicos sobre diferentes procesos reproductivos del macho, mediante la administración de los inhibidores de la aromatasa en distintos periodos, debido a que causan diferentes incrementos en los niveles de testosterona (Shetty y cols., 1998; At-Taras y cols., 2006). Por último, si bien se ha demostrado que los inhibidores de la aromatasa son capaces de inhibir la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual del macho, existen pocos estudios en los que se ha estudiado de una manera simultánea, el efecto de bajas dosis de estos compuestos, sobre estos tres procesos (Turner y cols., 2000).

9. HIPÓTESIS

Si la administración del inhibidor de la enzima aromatasa (ATD), que reduce los niveles de estrógenos testiculares, afecta de forma diferente a la morfometría testicular, la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual masculina de la rata, dependiendo del periodo de administración empleados, entonces, esperamos que en uno de los siguientes periodos (15, 30 y 45 días), la administración de bajos niveles de ATD (5 mg/kg), sea capaz de inhibir la espermatogénesis y la fertilidad, sin alterar la conducta sexual masculina en la rata macho adulta.

10. OBJETIVOS

9.1 Objetivo General

Determinar el efecto que tiene la administración crónica del inhibidor de la enzima aromatasa, el 1,4,6-androstantrieno-3,17-diona (ATD), durante tres periodos de tiempo, sobre la morfometría testicular, la espermatogénesis, la conducta sexual y la fertilidad en la rata macho adulta.

9.2 Objetivos particulares

Determinar el efecto de la administración crónica de 5 mg/kg del 1,4,6-androstantrieno-3,17-diona (ATD), por periodos de 15, 30 y 45 días, sobre:

- a) el peso testicular y diámetros testiculares.
- b) la espermatogénesis.
- c) la conducta sexual masculina.
- d) el índice de fertilidad y el tamaño de la camada en la rata macho adulta.

11. MATERIALES Y MÉTODOS

11.1 Animales y condiciones generales de mantenimiento

En la Figura 10 se muestra el diagrama de actividades del trabajo experimental del presente estudio. En el cual se obtuvieron ratas de 3 meses de edad de la cepa *Wistar* (50 machos de 300-350 g y 92 hembras adultas de 200-250 g), provenientes del Bioterio General de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I). De acuerdo con el reglamento de animales domésticos y de laboratorio, de la comisión de ética de la UAM-I. Las ratas fueron manejadas y mantenidas en condiciones estándar de bioterio, en un cuarto con temperatura y humedad controladas y con un ciclo de luz oscuridad 12-12 horas, encendiéndose la luz a las 20:00 horas. A las ratas se les proporcionó diariamente alimento para roedores (Harlan Laboratories, S.A. de C.V.) y agua *ad libitum*.

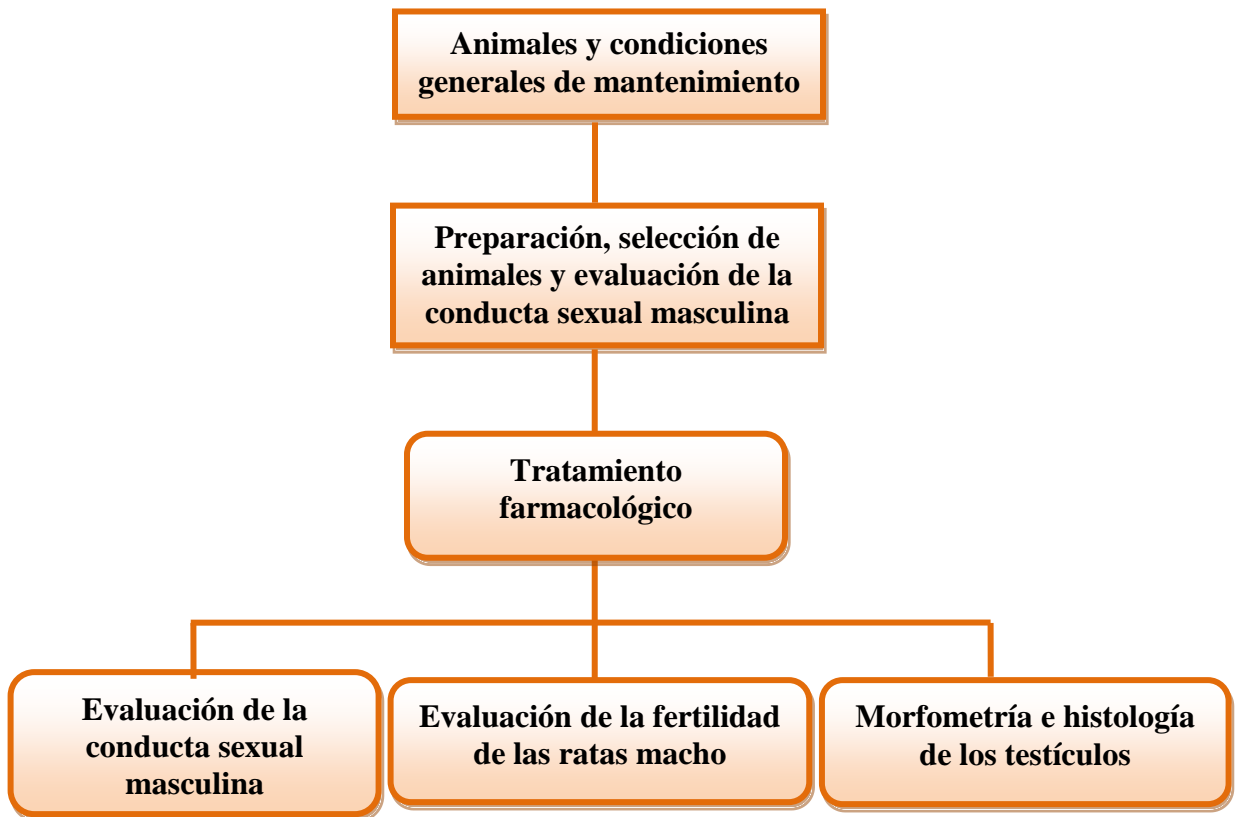


Figura 10. Diagrama de actividades del trabajo experimental.

11.2 Preparación, selección de animales y evaluación de la conducta sexual masculina

Las ratas hembras, fueron ovariectomizadas mediante un proceso quirúrgico, en donde las hembras se anestesiaron con 0.4 ml de la combinación de ketamina (7 ml) más xilacina (3 ml). Las hembras ovariectomizadas se mantuvieron en recuperación por dos semanas. Dos días (48 horas) antes de realizar las pruebas conductuales, a cada

hembra se les administró 10 µg de estradiol y 4 horas antes se le administró 500 µg de progesterona, con el fin de inducir la receptividad en las hembras.

Para la evaluación de la conducta sexual masculina de las ratas, cada macho de cada grupo se colocó en un redondel de plexiglás transparente de 50 cm de diámetro por 40 cm de alto, con el piso tapizado de aserrín. Antes de iniciar la prueba, los machos permanecieron durante 5 minutos dentro de los redondeles para su habituación. Posteriormente en cada redondel se colocó una hembra ovariectomizada, tratada previamente con hormonas para inducir su receptividad.

Para la selección de los machos sexualmente expertos, con el grupo de 50 ratas macho, se realizaron 4 pruebas de conducta sexual masculina de 30 minutos y posteriormente, se seleccionaron 36 machos que eyacularan 2 veces en 30 minutos. Además, la cuarta prueba de conducta sexual masculina, constituyó el registro basal de cada macho. En cada registro de conducta sexual masculina se evaluaron los siguientes parámetros:

Latencia de monta (LM), Latencia de intromisión (LI), Latencia de eyaculación (LE), Periodo refractario posteyaculatorio (PRPE), Número de montas (NM), Número de intromisiones (NI), Intervalo interintromisión (III), Frecuencia de eyaculación (FE) y Tasa de aciertos (TA). Posteriormente se calculó el Porcentaje de sujetos que montaron (% SsM), Porcentaje de sujetos que intromitieron (% SsI) y Porcentaje de sujetos que eyacularon (% SsE).

Después de que concluyó la administración de ATD durante los periodos de 15, 30 y 45 días; se volvió a evaluar la conducta sexual masculina en los diferentes grupos de machos, mediante una prueba de 30 minutos realizada de la misma forma en que se describió anteriormente.

11.3 Tratamiento farmacológico

El grupo de 36 ratas macho adultos sexualmente expertos, se dividió al azar en 6 grupos de 6 animales, quedando 18 ratas control y 18 ratas para los grupos experimentales. Al grupo de 18 ratas experimentales, se les administró diariamente por vía intraperitoneal (i.p.), 5 mg/kg de ATD (Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V.) disuelto en 0.5 ml de aceite de soya. Durante tres periodos diferentes: de 15 (ATD15), 30 (ATD30) y 45 días (ATD45). A los grupos control únicamente se les administró el vehículo (aceite de soya) por los mismos periodos (CON15, CON30, CON45; Tabla 6).

Tabla 6. Diseño experimental del tratamiento crónico de ATD por 15, 30 y 45 días sobre la evaluación de la conducta sexual masculina (CSM), fertilidad y espermatogénesis.

GRUPOS	EVALUACIÓN DE LA CSM	TRATAMIENTO (i.p.)	PERIODO (DÍAS)	EVALUACIÓN DE LA CSM	EVALUACIÓN DE LA ESPERMATOGÉNESIS Y FERTILIDAD
CON15 (n =6)	Antes del tratamiento	Aceite de Soya 0.5 ml / kg / día	15	Al concluir el tratamiento	Después de evaluar la CSM
ATD15 (n = 6)		ATD 5 mg / kg / 0.5 ml aceite / día	15		
CON30 (n =6)	Antes del tratamiento	Aceite de Soya 0.5 ml / kg / día	30	Al concluir el tratamiento	Después de evaluar la CSM
ATD30 (n = 6)		ATD 5 mg / kg / 0.5 ml aceite / día	30		
CON45 (n =6)	Antes del tratamiento	Aceite de Soya 0.5 ml / kg / día	45	Al concluir el tratamiento	Después de evaluar la CSM
ATD45 (n = 6)		ATD 5 mg / kg / 0.5 ml aceite / día	45		
Total 36					

11.4 Evaluación de la fertilidad de las ratas macho

La evaluación de la fertilidad de los machos, se realizó al finalizar la segunda evaluación de la conducta sexual de los machos. Esta evaluación se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Awoniyi y cols., en 1993. Cada macho se colocó con dos hembras intactas en una caja de acrílico de 53 cm de largo por 43 cm de ancho por 21 cm de

alto, cubierta de una cama de aserrín. En la cual, cada macho se apareó con las hembras, durante 5 días. Al sexto día, la rata macho se extrajo de la jaula verificando que las ratas hembra estuvieran preñadas. En el día 18 del periodo de gestación a las hembras se les realizó una cirugía con previa anestesia, la cual consistió en la administración de 0.4 ml de la combinación de 7 ml de ketamina más 3 ml de xilacina, para determinar el número de fetos, así como el número de hembras que resultaron preñadas por el apareamiento. De esta manera se evitó cometer un error en el conteo de las crías, en el caso de que las hembras presentaran canibalismo de las mismas durante el parto.

Los parámetros que se emplearon para evaluar la fertilidad fueron:

- a) Tamaño de la Camada: Número de fetos por hembra preñada.
- b) Índice de Fertilidad: $\text{Número de hembras preñadas} / \text{número de hembras apareadas} \times 100$.

11.5 Morfometría e Histología de los Testículos

El análisis morfométrico e histológico de los testículos se realizó de la siguiente forma: después de evaluar la conducta sexual masculina y la fertilidad de las ratas macho, fueron sacrificados con una sobredosis de anestesia (0.6 ml de la combinación de 7 ml de ketamina más 3 ml de xilacina). Posteriormente los machos se colocaron en una charola de disección para disecarles los testículos; los testículos obtenidos fueron pesados y medidos los diámetros cráneo-caudal y dorso-ventral con un vernier manual. El peso de los testículos se obtuvo empleando una balanza analítica Explorer Pro, modelo EP214C. Las muestras testiculares se fijaron en solución de Bouin durante 20 horas, para

mantener la estructura del tejido. Después de la fijación, los testículos se dividieron sagitalmente en dos partes iguales, para facilitar la deshidratación. Posteriormente, los tejidos se deshidrataron en una serie de soluciones de alcohol en concentraciones crecientes, empezando por el alcohol de 70% hasta llegar al alcohol absoluto para continuar con la aclaración en xileno. Inmediatamente, los tejidos fueron incluidos en paraplast y cortados longitudinalmente a 6 μm de espesor, con un micrótopo de rotación automático (Microm HM325), para obtener 10 laminillas de cada testículo por macho. Después los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina y eosina (H-E). Una vez obtenidos los cortes, se analizó la organización celular de los testículos, evaluando los siguientes parámetros:

- a) Diámetro de los túbulos seminíferos externo y luminal.
- b) Frecuencia de espermatocitos en paquitenio por túbulo seminífero.
- c) Frecuencia de espermátidas por túbulo seminífero.
- d) Número de túbulos seminíferos en las etapas VII y VIII del ciclo espermatogénico de la rata macho.

El análisis morfológico de todos estos parámetros se realizó con el microscopio óptico Zeiss Axioskop 2, adaptado a un analizador de imágenes Axiovision Release 4.8

12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

12.1 Morfometría e histología de los testículos

Se compararon los promedios del peso testicular, diámetro testicular y número de túbulos seminíferos en las etapas VII y VIII, utilizando la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney, para determinar las diferencias significativas entre los grupos CON15 y ATD15, CON30 y ATD30, así como en los grupos CON45 y ATD45.

Se compararon los promedios del diámetro tubular externo y luminal, así como de la frecuencia de espermatoцитos y de espermátidas por túbulo seminífero, con la prueba paramétrica de t-student, para determinar las diferencias significativas entre los grupos CON15 y ATD15, CON30 y ATD30, CON45 y ATD45. Ambas pruebas se realizaron a una probabilidad menor que 0.05 ($p < 0.05$).

12.2 Conducta Sexual Masculina

Se compararon los promedios de los diferentes parámetros de la conducta sexual masculina, mediante la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney, para determinar las diferencias significativas entre los grupos control con sus respectivos grupos experimentales. Así mismo, se compararon los promedios de los diferentes parámetros de la conducta sexual masculina, mediante la prueba de Wilcoxon para determinar las diferencias significativas entre los grupos CON15, CON30 y CON45 antes y después del tratamiento, de la misma manera utilizando la prueba de Wilcoxon, se determinaron las diferencias significativas con los grupos ATD15, ATD30 y ATD45 antes y después del tratamiento.

Para determinar las diferencias significativas en el % SsM, % SsI y % SsE, antes y después del tratamiento. Se utilizó la prueba de Fisher, en las pruebas se determinó la significancia a una $p < 0.05$.

12.3 Fertilidad de las ratas macho

Se compararon las diferencias significativas en los promedios del tamaño de la camada entre los grupos CON15 y ATD15, CON30 y ATD30, CON45 y ATD45; con la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney. Mientras que la comparación de las diferencias significativas de los promedios del índice de fertilidad, fueron hechas entre los grupos CON15 y ATD15, CON30 y ATD30, CON45 y ATD45, todos los grupos experimentales se compararon con el grupo experimental. Se realizaron con la prueba de Fisher y en ambas pruebas se determinó la significancia a una $p < 0.05$.

13. RESULTADOS

13.1 Efecto del ATD sobre los testículos y la espermatogénesis de la rata macho adulta.

13.1.1 Peso de los testículos

Los resultados del peso testicular se muestran en la Figura 11. En esta figura se localiza en color azul el tratamiento de 15 días, en rojo el de 30 días y en verde el de 45 días. Como se puede observar los grupos control (CON15, CON30 y CON45), presentaron un peso de entre 1650 a 1775 mg, el cual fue muy semejante a los grupos ATD (ATD 15, ATD30 y ATD45) cuyo rango de variación fue de 1650 a 1691 mg, en los tres grupos experimentales. Por lo tanto, los grupos ATD no presentaron diferencias significativas con respecto a los grupos CON. Sin embargo, conforme fue aumentando el periodo de administración del ATD, se observó una tendencia a disminuir el peso testicular.

13.1.2 Diámetros dorso-ventral y cráneo-caudal

Los diámetros dorso-ventral y cráneo-caudal de los testículos se observan en las Figuras 12 y 15. El diámetro promedio dorso-ventral del grupo CON15 midió 12.9 ± 0.3 y el diámetro promedio cráneo-caudal del mismo grupo midió 21.8 ± 0.8 en cambio en el grupo ATD15, se observó una disminución significativa en los diámetros dorso-ventral de 11.7 ± 0.5 y en los diámetros cráneo-caudal de 20.6 ± 0.9 con una $p < 0.01$ comparada con su respectivo grupo CON (prueba de U de Mann Whitney). En los grupos CON30 y ATD30, así como en los grupos CON45 y ATD45, no se observaron diferencias significativas, aunque los valores

obtenidos por los grupos ATD30 y 45 fueron ligeramente bajos comparados con sus respectivos grupos control.

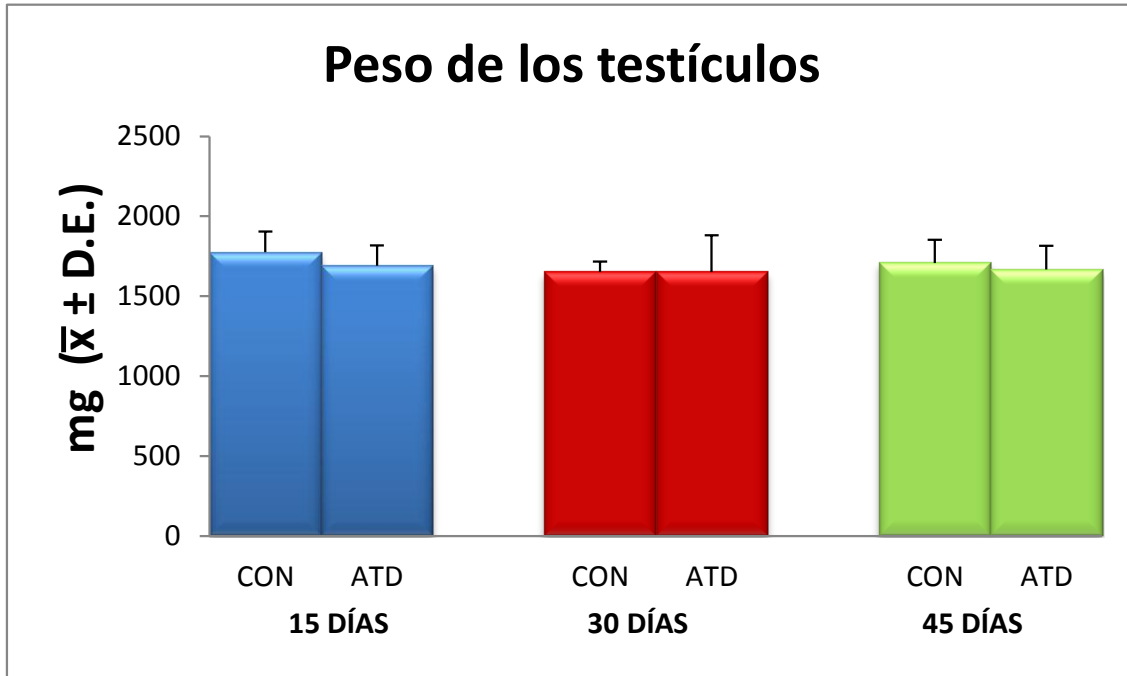


Figura 11. Promedio y desviación estándar (D.E.) del peso de los testículos, de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15 (azul), 30 (rojo) y 45 (verde) días.

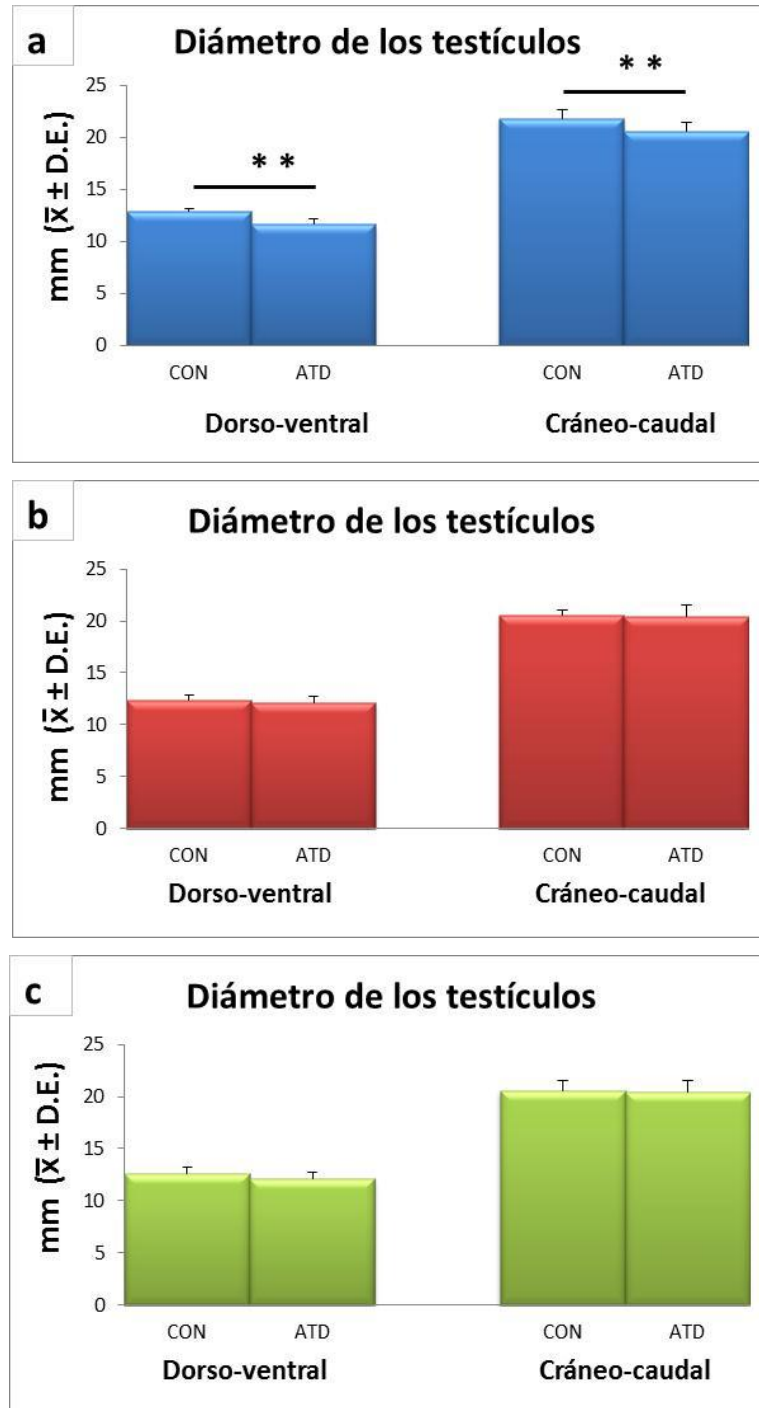


Figura 12. Promedio y desviación estándar (D.E.) de los diámetros dorso-ventral y cráneo-caudal de los testículos, de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 días (c). ** $p < 0.01$ prueba de U de Mann Whitney.

13.1.3 Diámetro tubular externo y luminal

Los diámetros de los túbulos seminíferos externo y luminal, se observan en las Figuras 13, 14 y 15. El diámetro tubular externo del grupo CON15 fue de 283 ± 29 micrómetros, en el diámetro luminal obtuvimos una medida de 104 ± 19 micrómetros en el grupo control, al cual se le administró durante 15 días aceite de soya.

En el grupo ATD15, se observó una disminución significativa ($p < 0.01$ prueba de t-student) en los diámetros: tubular externo de 239 ± 24 así como en el luminal de 87 ± 20 . En cambio en los grupos CON30 y ATD30, se obtuvo un aumento significativo del diámetro tubular externo, del grupo ATD30 de 291 ± 23 , comparado con su grupo CON30 que fue de 285 ± 26 , $p < 0.05$, prueba de t-student. Por último, en los grupos CON45 y ATD45, no se observaron diferencias significativas.

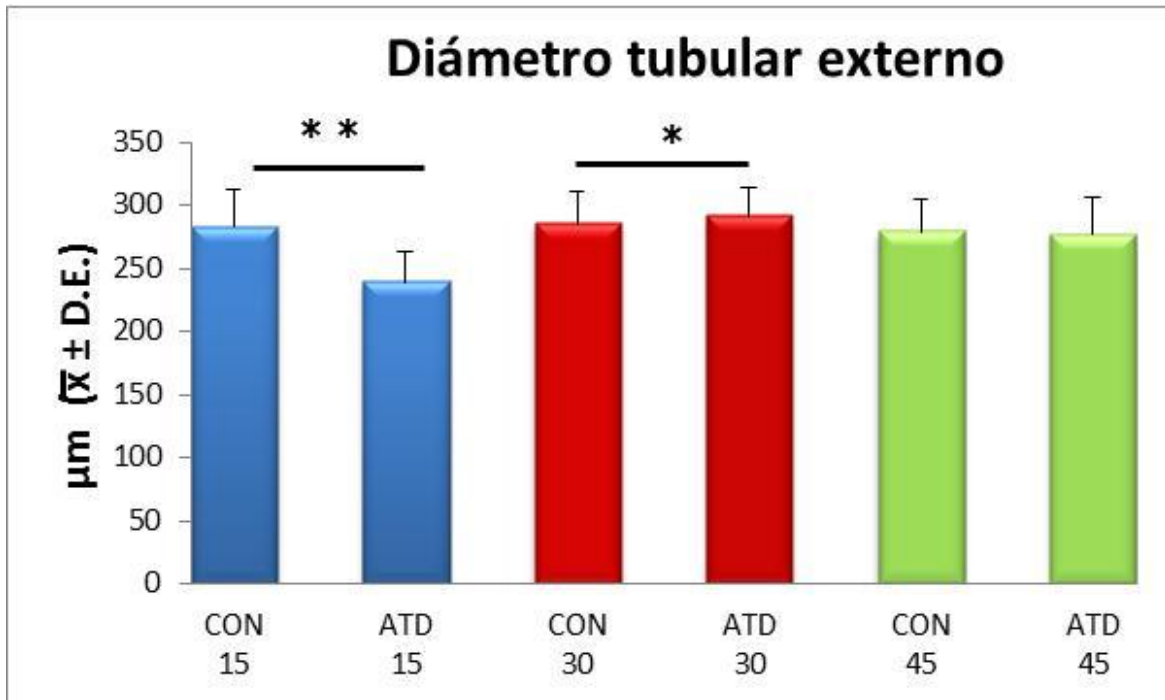


Figura 13. Promedio y desviación estándar (D.E.) del diámetro externo de los túbulos seminíferos, de testículos de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, prueba de t-student.

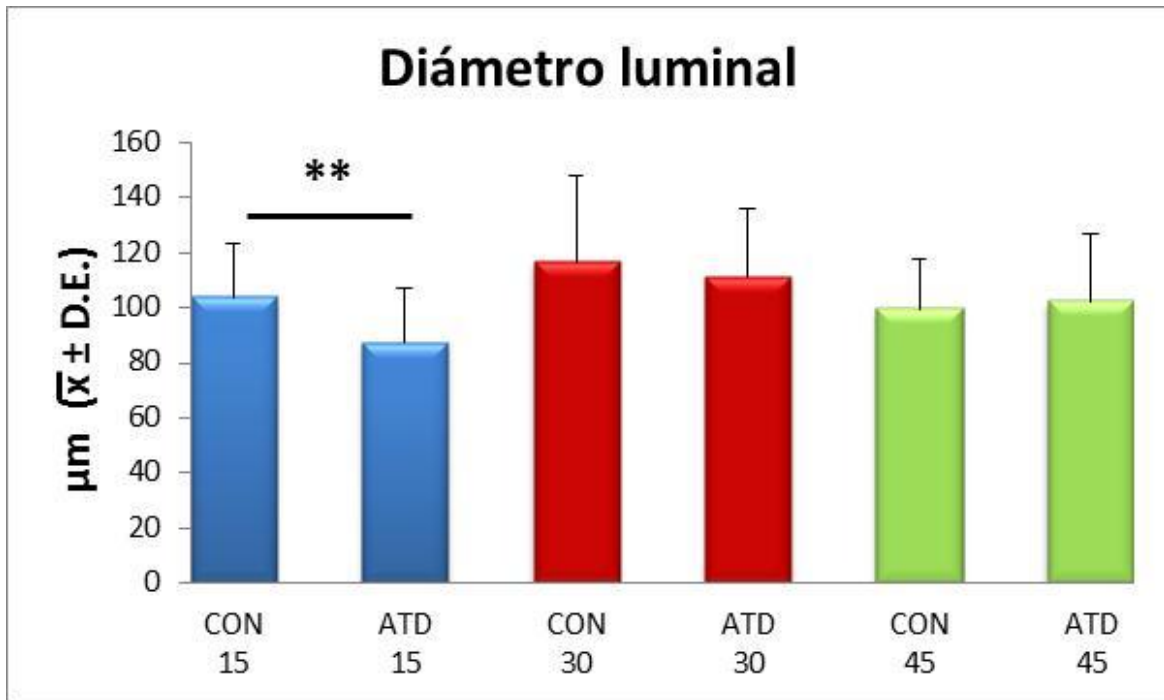


Figura 14. Promedio y desviación estándar (D.E.) del diámetro luminal, de los túbulos seminíferos, de testículos de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días. ** $p < 0.01$, prueba de t-student.

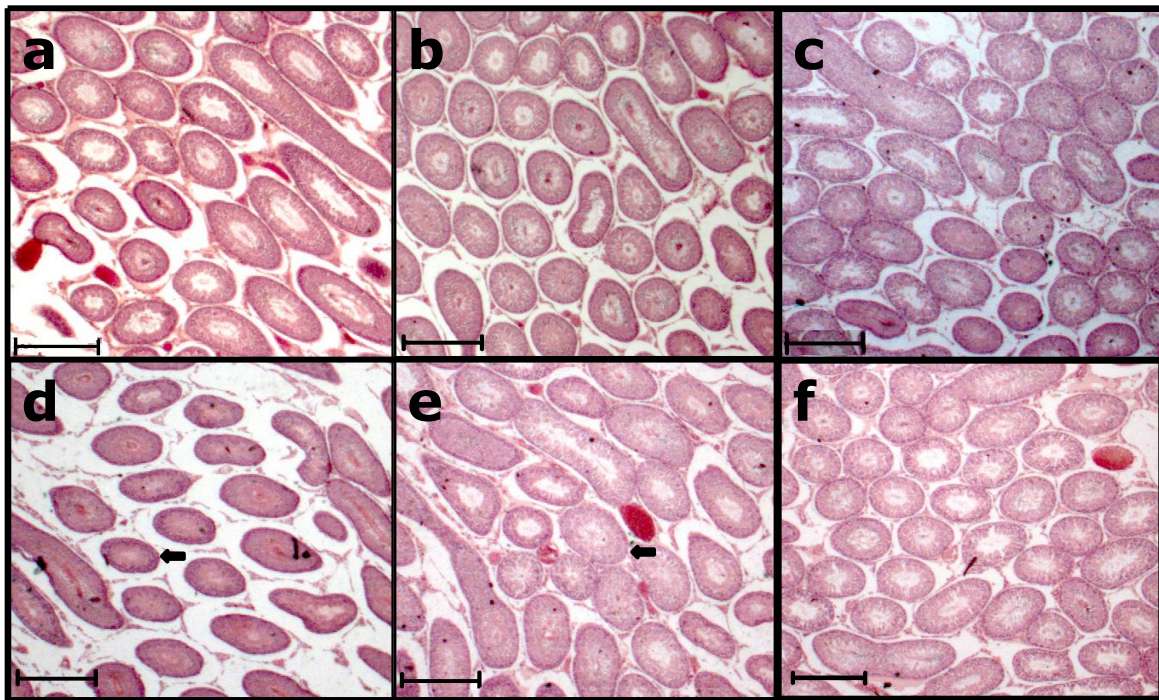


Figura 15. Efecto del tratamiento crónico con aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días o ATD (5 mg/kg), durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre los diámetros tubular externo y luminal de los túbulos seminíferos de testículos de rata adulta. Aumento de 1.25X. Barra de 500 micrómetros. Tinción de hematoxilina y eosina (H-E).

13.1.5 Frecuencia de espermatoцитos primarios por túbulo seminífero.

El número de espermatoцитos por túbulo seminífero se observa en las Figuras 16 y 18. En los grupos CON de 15, 30 y 45 días de tratamiento se observó una tendencia a disminuir el número de espermatoцитos, conforme transcurre el tiempo de administración. En el grupo ATD15 se observó una disminución significativa, con una $p < 0.05$ comparado con el grupo CON15. Como se puede observar, también en los grupos ATD30 y ATD45, se obtuvo una disminución significativa en el

número de espermátocitos por túbulo seminífero, comparados con sus respectivos grupos CON30 y CON 45, con una $p < 0.01$. Comprobado con la prueba de t-student.

13.1.6 Frecuencia de espermátidas por túbulo seminífero.

El número de espermátidas por túbulo seminífero se observa en las Figuras 17 y 18. En los grupos CON de 15, 30 y 45 días de tratamiento, se observó una ligera disminución en el número de espermátidas, conforme transcurre el periodo de administración. En los grupos ATD 30 y 45, se observó una disminución significativa en el número de espermátidas por túbulo seminífero, $p < 0.01$ prueba de t-student.

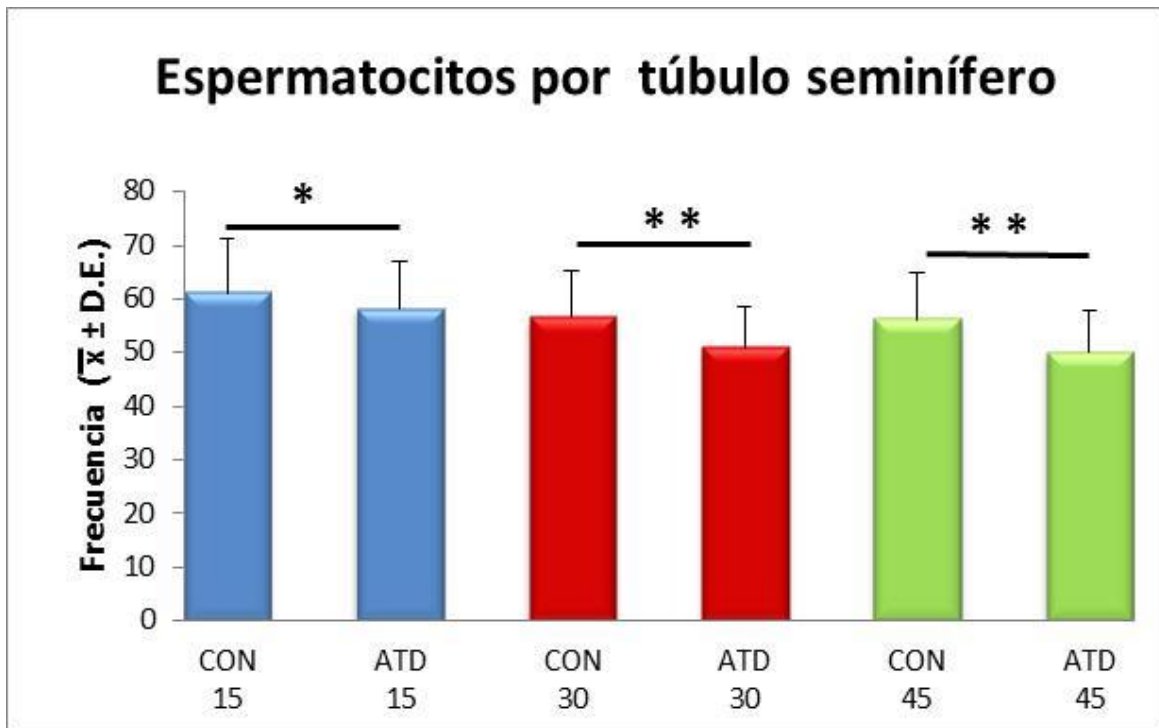


Figura 16. Número de espermatocitos primarios en la etapa de paquiteno, por túbulo seminífero, de los testículos de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con el tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ Prueba de t-student.

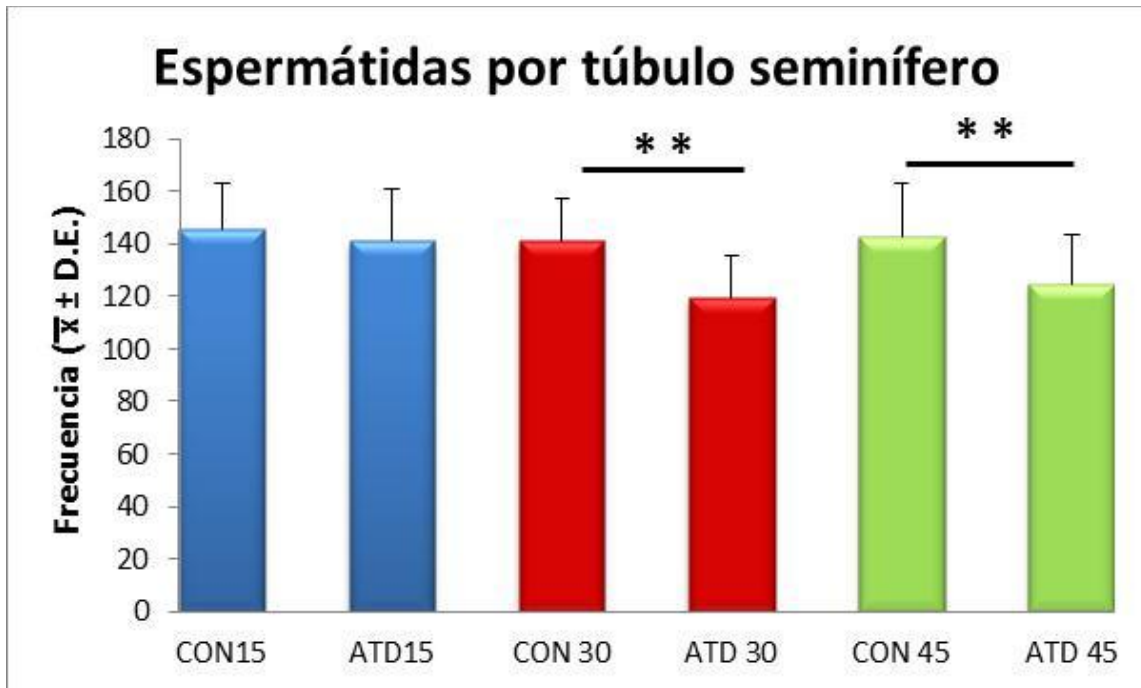


Figura 17. Número de espermátidas por túbulo seminífero, de los testículos de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con el tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. ** $p < 0.01$ prueba de t-student.

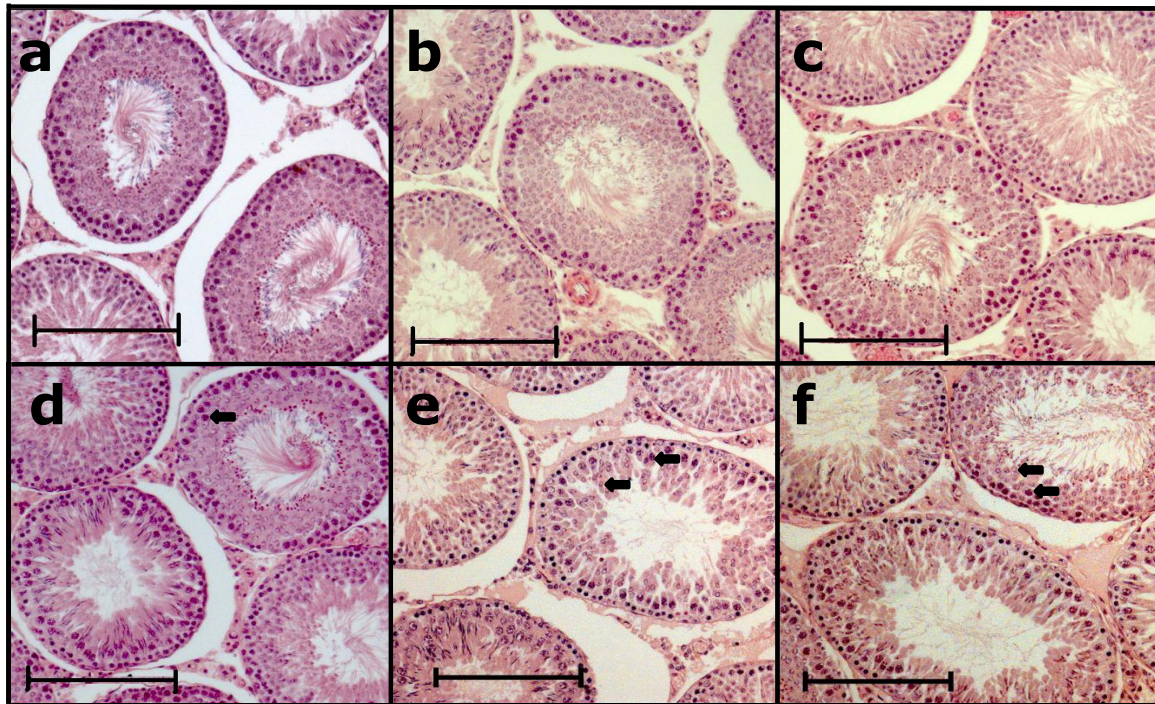


Figura 18. Efecto de la administración crónica de aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días y la administración de ATD (5 mg/kg), crónica durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre el número de espermatocitos y de espermátidas por túbulo seminífero de testículos de ratas adultas. Aumento de 10X. Barra de 200 micrómetros.

13.1.7 Número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII.

El número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII, se observa en las Figuras 19 y 20. En la figura 19 observamos que el grupo CON15, tuvo 279 túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII, después se obtuvo una ligera disminución en el grupo CON30, posteriormente este parámetro aumentó en el grupo CON45. En los grupos experimentales de ATD15 se observó una tendencia a disminuir el número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII, comparado

con el grupo CON15. En los grupos ATD30 y ATD45, se observó una disminución significativa en el número de túbulos seminíferos en los estadios VII y VIII, comparados con sus respectivos grupos CON30 y CON45, ** $p < 0.01$ prueba de U de Mann Whitney.

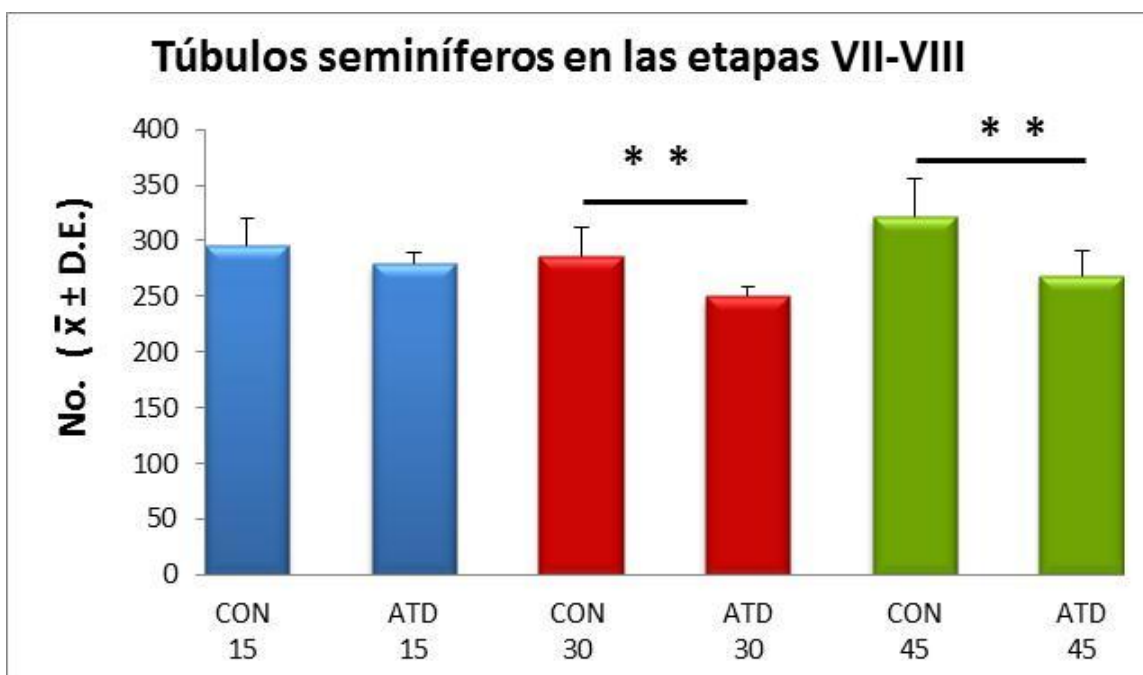


Figura 19. Número de túbulos seminíferos en las etapas VII y VIII, del epitelio seminífero de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con la administración crónica de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. ** $p < 0.01$, prueba de U de Mann Whitney.

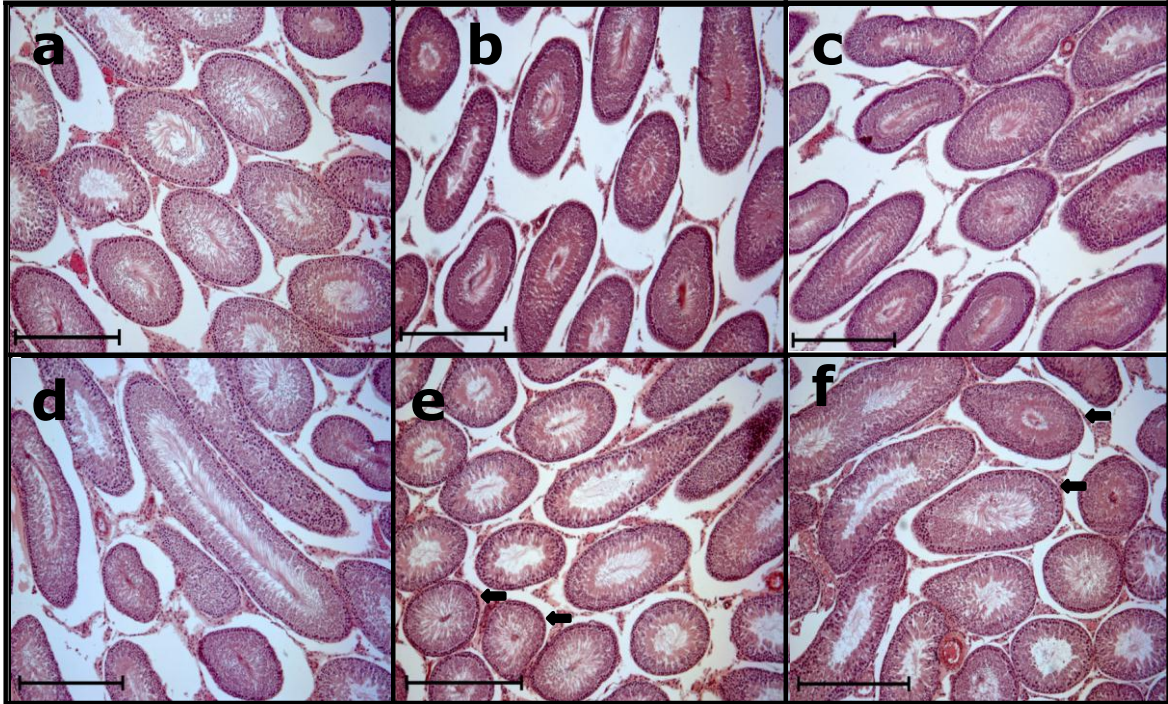


Figura 20. Efecto de la administración crónica con aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días y ATD (5 mg/kg), durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre el número de túbulos seminíferos en estadios VII y VIII de los testículos de rata adulta. Aumento de 5X. Barra de 500 micrómetros.

13.2 Efecto del ATD sobre la conducta sexual masculina

13.2.1 Porcentaje de sujetos que montaron (%SsM)

En el %SsM, se observa que en el grupo CON15, el 100% de sujetos montaron en la primera y segunda serie eyaculatoria (1ª SER y 2ª SER). Respecto al grupo ATD15 vemos que en la 1ª SER, el 100% de sujetos montaron, sin embargo hasta la segunda serie eyaculatoria, hubo una tendencia a disminuir el %SsM, Figura 21 (a).

En el %SsM durante 30 días de administración de aceite de soya, se puede observar que en el grupo CON30, el 100% de los sujetos montaron en la 1ª SER; mientras que en la 2ª SER después de la

administración hubo una ligera disminución en el %SsM. El grupo ATD30 se comportó de la misma manera que el grupo CON30, Figura 21 (b).

En la Figura 21 (c) se muestra el %SsM, de los grupos a los cuales se les administró durante 45 días aceite de soya y ATD (CON45 y ATD45). El grupo control al cual se les administró aceite de soya por 45 días, mostró que el 100% de sujetos montaron en la 1ª SER. En el caso del grupo CON45 después del tratamiento, en la 2ª SER, se observó una tendencia a disminuir el %SsM, de tal manera que sólo el 66% de animales montaron. Sin embargo estos resultados no fueron significativos con su respectivo grupo control antes del tratamiento.

En lo que se refiere al grupo ATD45, en la 1ª SER el %SsM fue del 100%, mientras que después de la administración de ATD en la 2ª SER se redujo al 50% el porcentaje de sujetos que desplegaron la monta. Esta disminución fue estadísticamente significativa.

13.2.2 Porcentaje de sujetos que intromitieron (%SsI)

En el %SsI se puede observar que los grupos CON15 y ATD15 mostraron un 100% de sujetos que intromitieron en la 1ª SER y 2ª SER, Figura 22 (a).

En el caso del grupo CON30 antes y después de la administración de 30 días de aceite de soya, podemos observar que el %SsI fue del 100% en la 1ª SER. Mientras que en la 2ª SER, se observó una ligera disminución en el %SsI del grupo al cual se le administró aceite de soya (CON30).

En el caso del grupo ATD30, vemos un comportamiento igual que el grupo CON30, antes y después de la administración de 5 mg/kg de ATD, Figura 22 (b).

En la Figura 22 (c), se puede observar que el %SsI del grupo CON45, antes y después de la administración de aceite de soya durante

45 días, el 100% de sujetos intromitieron en la 1ª SER. Mientras que en la 2ª SER, se obtuvo una disminución ligera en el %SsI, después de la administración de aceite de soya.

Finalmente en el grupo ATD45, antes y después de la administración de 5mg/kg de ATD, el porcentaje de sujetos que intromitieron fue del 100%, esto se observó en la 1ª SER. Mientras que en la 2ª SER, podemos apreciar una tendencia a disminuir el %SsI después de la administración de 5mg/kg de ATD.

13.2.3 Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE)

En lo que se refiere al %SsE, observamos que en los grupos CON15 y ATD15, a los cuales se les administró aceite de soya y ATD respectivamente durante 15 días, el 100% de sujetos eyacularon en la 1ª SER y 2ª SER, Figura 23 (a).

Para el %SsE podemos apreciar que el grupo CON30, al cual se le administró aceite de soya durante 30 días, el porcentaje de sujetos que eyacularon fue del 100%, tanto en la 1ª SER así como en la 2ª SER. Por otra parte, el grupo ATD30 después de la administración de 5 mg/kg de ATD, tuvo una tendencia a disminuir el %SsE en la 1ª SER y 2ª SER, Figura 23 (b).

En la figura 23 (c) se muestra el %SsE, en esta figura vemos que el grupo CON45 tuvo una tendencia a disminuir %SsE en la 1ª SER y 2ª SER. En el grupo ATD45 observamos que el 100% de sujetos eyacularon en la 1ª SER. Respecto a la 2ª SER, se obtuvo una disminución significativa en el %SsE después de la administración de 45 días.

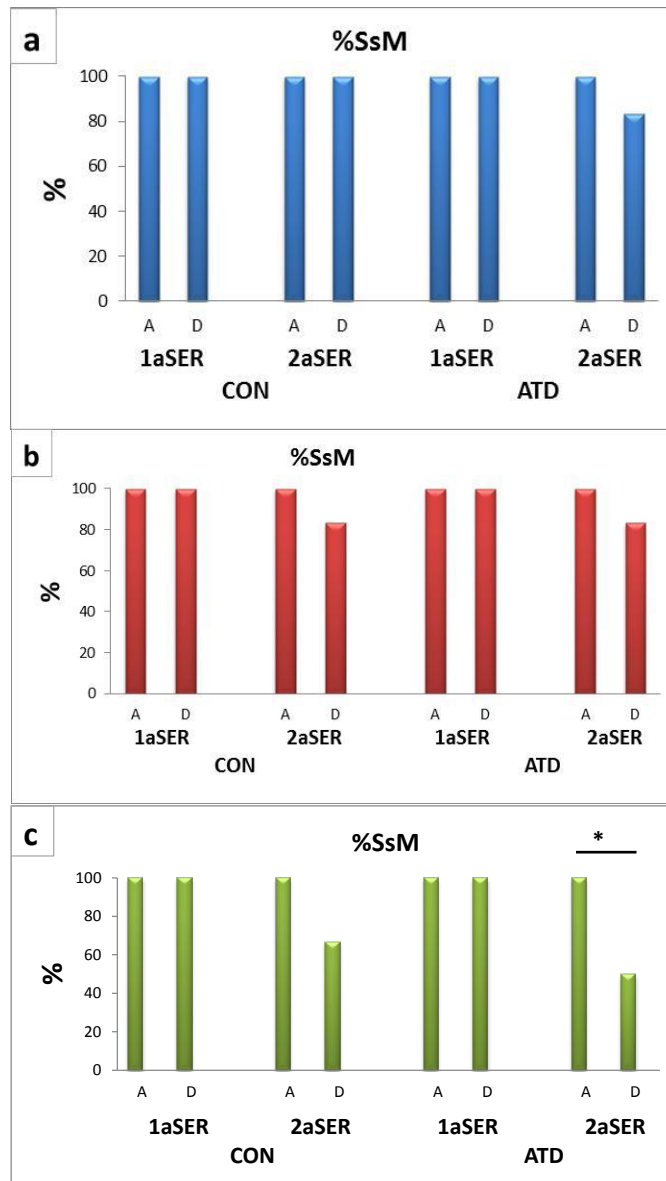


Figura 21. Porcentaje de sujetos que montaron (%SsM), antes (A) y después (D) del tratamiento diario de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y Segunda Serie Eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento. * $p < 0.05$ según prueba de Fisher.

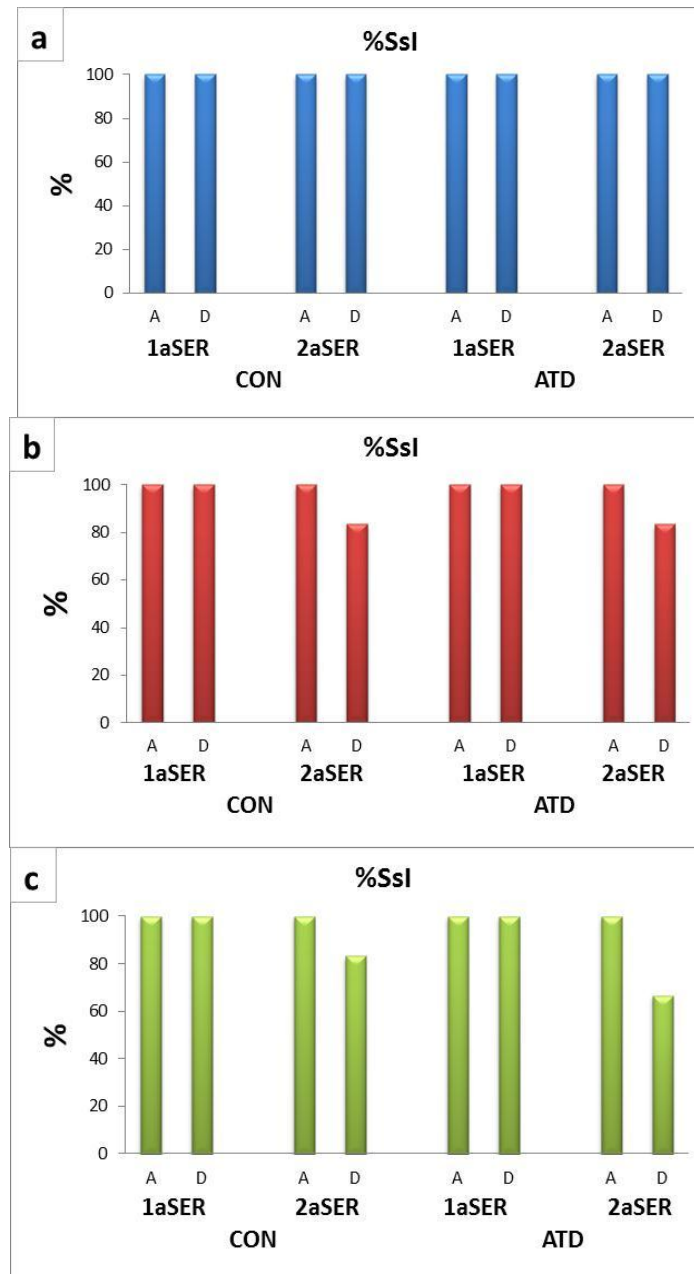


Figura 22. Porcentaje de sujetos que intromitieron (%SsI), antes (A) y después (D) del tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y segunda serie eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento.

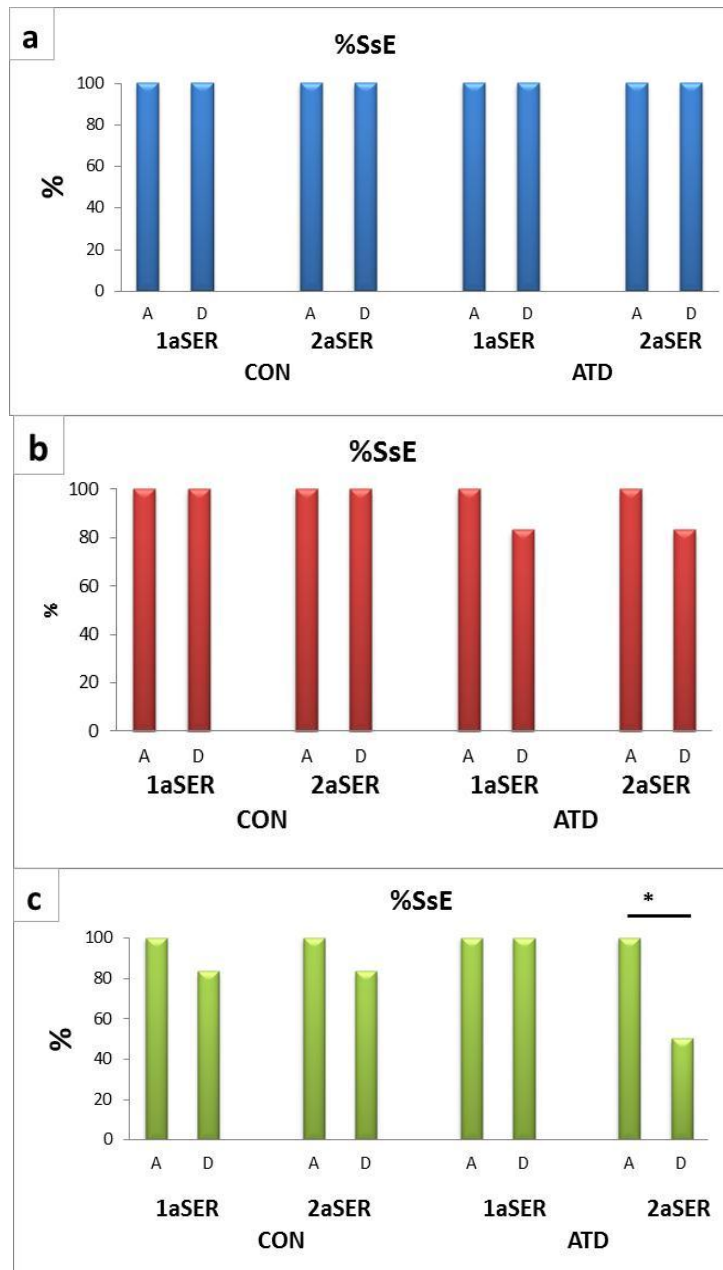


Figura 23. Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE), antes (A) y después (D) del tratamiento diario de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y segunda serie eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento. * $p < 0.05$ según prueba de Fisher.

13.2.4 Latencia de monta (LM)

Los resultados de la LM se muestran en la Tabla 7, en el grupo CON15 después de 15 días de administración con aceite de soya, se obtuvo una disminución significativa en la LM, con una $p < 0.05$, comparada con su grupo CON15 antes de la administración. Los grupos CON, después de la administración de aceite de soya durante 30 y 45 días, no tuvieron diferencias significativas, comparados con sus respectivos grupos CON.

En el grupo ATD15 antes de la administración de 5 mg/kg de ATD durante 15 días, se observó una disminución significativa en la LM, con una $p < 0.05$, comparado con el grupo CON15, antes de la administración.

En el grupo ATD30, después de la administración de ATD, se observó una tendencia a disminuir en el parámetro de LM cuando se comparó con el grupo ATD antes de la administración.

El grupo ATD, antes y después de la administración de ATD por 45 días, no tuvo diferencias significativas.

13.2.5 Latencia de intromisión (LI)

Los datos de la LI se observan en la Tabla 7. En el grupo CON15 después de la administración tuvo una tendencia a disminuir la LI comparada con el grupo CON15 antes de la administración. El grupo CON30, tuvo un ligero aumento en la LI, comparado con el grupo CON30 antes de la administración. El grupo CON45, después de la administración de 45 días, se comporta muy parecido al grupo CON15.

El grupo ATD15, después de la administración tuvo una tendencia a aumentar la LI comparado con el grupo ATD15 antes de la administración. El grupo ATD30, después de la administración de 30 días, tuvo una tendencia a disminuir la LI, comparado con el grupo ATD30, antes de la administración. El grupo ATD30, después de la administración de 30 días, tuvo una disminución significativa de la LI, comparada con el grupo CON30 después de la administración, $p < 0.05$. En el grupo ATD45, después de la administración de ATD por 45 días, se observó una tendencia a aumentar la LI, comparada con el grupo ATD45 antes de la administración.

13.2.6 Latencia de eyaculación (LE)

Los datos de la LE de todos los grupos se muestran en la Tabla 7. En la primera serie eyaculatoria vemos que el grupo CON15 después de la administración de 15 días, tuvo una tendencia a aumentar la LE, comparado con el grupo CON15 antes de la administración.

Mientras que el grupo CON30 después de la administración de 30 días, tuvo una tendencia a disminuir la LE, comparada con el grupo CON30 antes de la administración de 30 días.

El grupo CON45 después de la administración de 45 días, tuvo una tendencia a disminuir la LE, comparado con el grupo CON45 antes de la administración de 45 días.

En el grupo ATD15, observamos que el grupo después de la administración de 15 días, tuvo una disminución ligera de la LE, comparado con el grupo ATD, antes de la administración.

El grupo ATD30 después de la administración tuvo una tendencia a disminuir la LE, comparada con el grupo ATD30 antes de la administración.

Por el contrario, el grupo ATD45 después de la administración de 45 días, tuvo una tendencia a aumentar la LE, comparado con el grupo ATD45 antes de la administración de 45 días.

Segunda serie eyaculatoria

Después de que los machos eyacularon por primera vez, se registró la segunda serie eyaculatoria, donde se analizaron los parámetros: LE, NM, NI, III; IIC y TA (Tabla 8).

De tal forma que encontramos que en los grupos CON 15 antes y después del tratamiento, en el caso del grupo al que se le administró el aceite de soya la LE aumenta ligeramente cuando se compara con el grupo CON15 al cual se le administró solo aceite.

El grupo CON30 al cual se le administró aceite de soya tuvo una tendencia a disminuir la LE comparada con el grupo CON30 antes de la administración.

El grupo ATD15 después de la administración, tuvo una tendencia a disminuir la LE, comparado con el grupo ATD15 después de la administración.

Finalmente los grupos ATD30 y ATD45 tuvieron una tendencia a disminuir la LE, después de la administración del ATD por los periodos respectivos.

13.2.7 Número de montas (NM)

Primera serie eyaculatoria

Durante la evaluación de la primera serie eyaculatoria se registraron el NM (Tabla 7). Así tenemos que para el grupo CON15 después de la administración de 15 días de aceite de soya, se observó una ligera disminución del NM comparado con el grupo CON15 antes de la administración de aceite de soya.

En el grupo CON30 después de la administración de 30 días, se observó una disminución en el NM, cuando se comparó con el grupo CON30 antes de la administración de aceite de soya.

Cuando se analizó el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya, se observó una disminución en el NM, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

El grupo ATD15 después de la administración de ATD, tuvo un ligero aumento del NM, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

Respecto al grupo ATD30 después de la administración del ATD, se observó una tendencia a disminuir en el NM, comparada con el grupo ATD30, antes de la administración de ATD por 30 días.

Finalmente para el grupo ATD45, después de la administración de ATD tuvo un ligero aumento en el NM, comparado con el grupo ATD45 al que no se le administró nada.

En la segunda serie eyaculatoria.

Los mismos parámetros se analizaron durante la segunda serie eyaculatoria. Observándose que el NM del grupo CON15 después de la administración de aceite de soya, se observó un aumento, el cual no fue

significativo, comparado con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 8).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya, observamos una tendencia a disminuir el NM comparada con el grupo CON30 antes de la administración de 30 días.

Mientras que el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya, observamos un ligero aumento en el NM, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

Para el grupo experimental ATD15, después de la administración de ATD, presentó un ligero aumento en el NM, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

El grupo ATD30, después de la administración de ATD, tuvo una tendencia a disminuir en el NM, comparado con el grupo ATD30 antes de la administración.

Finalmente el grupo experimental ATD45 después de la administración de 45 días de ATD, tuvo una tendencia muy marcada a disminuir el NM, sin ser significativo, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración de ATD.

13.2.8 Número de intromisiones (NI)

Primera serie eyaculatoria

Durante la primera serie eyaculatoria se evaluó el NI, en el caso del grupo CON15 después de la administración de aceite de soya, se observó un aumento en el NI, comparado con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 7).

En el grupo CON30, después de la administración de aceite de soya se observó una disminución en el NI, comparado con el grupo CON30 antes de la administración.

Respecto al grupo CON45 después de la administración de aceite de soya durante 45 días, se observó una tendencia a disminuir en el NI, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

De acuerdo a la evaluación en el NI del grupo ATD15, después de la administración de ATD, observamos una disminución en el NI, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

En el grupo ATD30 después de la administración de ATD durante 30 días, se observó una ligera disminución en el NI, comparado con el grupo ATD30 antes de la administración.

Finalmente en el grupo ATD45, después de la administración de ATD, se observó un ligero aumento en el NI, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración.

Segunda serie eyaculatoria

En la segunda serie eyaculatoria se evaluó el NI, en la cual observamos que en el caso del grupo CON15 después de la administración, tuvo una tendencia a aumentar el NI, comparado con el grupo CON15 antes de la administración, sin ser estadísticamente significativo (Tabla 8).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya, observamos una ligera disminución en el NI, comparado con el grupo CON30 antes de la administración.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya, se observó una tendencia a aumentar el NI, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

Con respecto al grupo experimental ATD15, observamos que después de la administración de ATD disminuyó el NI, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

En el grupo ATD30 después de la administración de ATD durante 30 días, se observó una disminución en el NI, comparado con el grupo ATD30, antes de la administración.

Finalmente, en el grupo ATD45 después de la administración de ATD se observó una tendencia a disminuir el NI, sin ser significativo, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración de 45 días.

13.2.9 Periodo refractario posteyaculatorio (PRPE)

Otro de los parámetros que se analizaron durante la primera serie eyaculatoria fue el PRPE. Para el caso de los grupos controles: en el grupo CON15 después de la administración de 15 días, se observó una tendencia a aumentar la PRPE, comparado con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 7).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya durante 30 días, se observó una disminución en el PRPE, comparado con el grupo CON30 antes de la administración de 30 días.

De acuerdo al grupo CON45 después de la administración de aceite de soya durante 45 días, observamos una tendencia a disminuir el PRPE, sin ser estadísticamente significativa, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

Con respecto al grupo ATD15, después de la administración de ATD durante 15 días, observamos que disminuyó el PRPE comparado con el grupo ATD antes de la administración.

En el grupo ATD30 después de la administración de ATD, se observó una ligera disminución del PRPE, comparado con el grupo ATD30 antes de la administración.

Por el contrario, en el grupo ATD45 después de la administración de ATD durante 45 días, tuvo una tendencia a aumentar el PRPE, sin ser estadísticamente significativa, comparado con el grupo ATD45 antes de la administración de 45 días.

13.2.10 Intervalo interintromisión (III)

En la primera serie eyaculatoria

En la primera serie eyaculatoria se evaluó el III, en donde podemos apreciar que el grupo CON15 después de la administración de aceite de soya durante 15 días, tuvo una tendencia a aumentar el III, comparada con el grupo CON15 antes de la administración de 15 días (Tabla 7).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya durante 30 días, tuvo una tendencia a aumentar el III, comparada con el grupo CON30 antes de la administración.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya durante 45 días, podemos observar que el III fue muy parecido al grupo CON45 antes del tratamiento.

Respecto al grupo ATD15 después de la administración de ATD durante 15 días, se observó una tendencia a aumentar el III, comparada con el grupo ATD15 antes de la administración.

En el grupo ATD30, después de la administración de ATD durante 30 días, se observó una ligera disminución en el III, comparado con el grupo ATD30 antes de la administración de 30 días.

En el grupo ATD45, después de la administración de ATD durante 45 días, se observó una tendencia a aumentar el III, comparada con el grupo ATD45 antes de la administración de 45 días.

Segunda serie eyaculatoria

En la segunda serie eyaculatoria, se evaluó el III en el que observamos que el grupo CON15 después de la administración de aceite de soya, tuvo una tendencia a disminuir el III, comparado con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 8).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya por un periodo de 30 días, se observó una tendencia a disminuir el III, comparado con el grupo CON30 antes de la administración.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya durante 45 días, se observó un ligero aumento del III, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

Por su parte, el grupo experimental ATD15 después de la administración de ATD, tuvo una ligera disminución en el III comparada con el grupo ATD15, antes de la administración.

Respecto al grupo ATD30, después de la administración de ATD durante 30 días, tuvo una tendencia a aumentar el III, comparado con el grupo ATD30 antes de la administración.

Finalmente en el grupo ATD45 podemos observar que después de la administración de ATD por 45 días, tuvo una tendencia a disminuir el III, sin ser estadísticamente significativo, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración.

13.2.11 Intervalo Inter Copulatorio (IIC)

Primera serie eyaculatoria

En la primera serie eyaculatoria se evaluó el IIC, en este parámetro podemos observar que el grupo CON15, después de la administración de aceite de soya por 15 días, tuvo una tendencia a aumentar el IIC, comparado con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 7).

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya por 30 días, presenta una disminución muy ligera del IIC, comparado con el grupo CON30 antes de la administración.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya por 45 días, se observó una ligera disminución en el IIC, comparado con el grupo CON45 antes de la administración.

Con respecto al grupo experimental ATD15 después de la administración de ATD por 15 días, se observó una tendencia a disminuir el IIC, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

Por otra parte el grupo ATD30, después de la administración de 30 días presentó una tendencia a aumentar el IIC, comparado con el grupo ATD30, antes de la administración de 30 días.

En el grupo ATD45, después de la administración de ATD por 45 días, podemos observar un aumento significativo del IIC, con una $p < 0.05$, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración.

Segunda serie eyaculatoria

En la segunda serie eyaculatoria se evaluó el IIC, en el que observamos que el grupo CON15 después de la administración de aceite de soya por 15 días, tuvo una tendencia a disminuir el IIC, comparada con el grupo CON15 antes de la administración (Tabla 8).

De acuerdo al grupo CON30 después de la administración de aceite de soya por 30 días, observamos una ligera disminución del IIC, comparada con el grupo CON30 antes de la administración de 30 días,

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya por 45 días, se observó una tendencia a aumentar el IIC, comparada con el grupo CON45 antes de la administración.

En el grupo ATD15, se observó una disminución ligera en el IIC después de la administración de ATD por 15 días, comparado con el grupo ATD15 antes de la administración.

Respecto al grupo ATD30, se observó un ligero aumento en el IIC, después del tratamiento de ATD por 30 días, comparado con el grupo ATD30 antes del tratamiento.

En el grupo ATD45 después de la administración de ATD durante 45 días, se observó una tendencia a disminuir el IIC, comparado con el grupo ATD45, antes de la administración.

13.2.12 Tasa de aciertos (TA)

Primera serie eyaculatoria.

En la primera serie eyaculatoria se registró la TA, donde podemos apreciar que el grupo CON15 después de la administración de aceite de

soya durante 15 días, tuvo una tendencia a aumentar la TA, comparada con el grupo CON15 antes de la administración.

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya por 30 días, se observó una tendencia a disminuir la TA, comparada con el grupo CON30 después de la administración.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya por 45 días, tuvo una tendencia a disminuir la TA, comparada con el grupo CON45 antes de la administración (Tabla 7).

Por el contrario, en el grupo ATD15 de esta primera serie eyaculatoria después de la administración de ATD durante 15 días, observamos una tendencia a disminuir la TA, comparada con el grupo ATD15, antes de la administración.

Por su parte, en el grupo ATD30 después de la administración de ATD durante 30 días, observamos una tendencia a aumentar, comparada con el grupo CON30 antes de la administración.

El grupo ATD45, después de la administración de ATD por 45 días, mostró un aumento ligero en la TA, comparada con el grupo ATD45, antes de la administración.

Segunda serie eyaculatoria.

En la segunda serie eyaculatoria se registró la TA, en la cual observamos que el grupo CON15 tuvo una TA igual, antes y después de la administración de aceite de soya.

En el grupo CON30 después de la administración de aceite de soya durante 30 días, observamos un aumento en la TA, comparada con el grupo CON30 antes de la administración.

En el grupo CON45, después de la administración de aceite de soya durante 45 días, observamos un aumento en la TA, comparada con el grupo CON45, antes de la administración (Tabla 8).

Respecto al grupo ATD15, después del tratamiento de ATD por 15 días, se observó una disminución en la TA, comparada con el grupo ATD15 antes de la administración.

Por su parte, en el grupo ATD30 no se observaron diferencias en la TA antes y después de la administración de ATD durante 30 días.

En el grupo ATD45 después de la administración de ATD por 45 días, se observó una tendencia a aumentar la TA, comparada con el grupo ATD45 antes de la administración.

13.2.13 Frecuencia de eyaculación (FE)

Por último se evaluó la FE, donde observamos que el grupo CON15 después de la administración de aceite de soya por 15 días, tuvo una tendencia a disminuir la FE, comparada con el grupo CON15 antes de la administración.

En el grupo CON30 después de la administración de 30 días, la FE tuvo una tendencia a aumentar, comparada con el grupo CON30 antes de la administración de 30 días.

En el grupo CON45 después de la administración de aceite de soya, no cambió la FE, comparado con el grupo CON45 antes de la administración, de tal forma que los machos tuvieron el mismo número de eyaculaciones (Tabla 7).

Con respecto al grupo ATD15, después de la administración de ATD por 15 días, observamos una tendencia a aumentar la FE, comparada con el grupo ATD15 antes de la administración.

En el grupo ATD30, después de la administración de ATD durante 30 días, observamos una tendencia a aumentar la FE, comparada con el grupo ATD30 antes de la administración.

Finalmente en el grupo ATD45, después de la administración de ATD durante 45 días, tuvo una tendencia a disminuir la FE, comparada con el grupo ATD45 antes de la administración.

Tabla 7. Primera Serie Eyaculatoria. Resultados de los parámetros de la primera serie eyaculatoria de la CSM, de las ratas macho adultas. Antes y después del tratamiento crónico de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días. } p<0.05

Grupos	LM	LI	LE	PRPE	NM	NI	III	IIC	FE	TA
CON 15										
Antes	28.8 ± 7.9	95.0 ± 20.9	373.8 ± 62.3	359.0 ± 31.6	15.2 ± 4.0	6.8 ± 1.2	55.9 ± 6.5	19.2 ± 3.84	2.7 ± 0.33	0.3 ± 0.04
después	8.0 ± 1.6	45.3 ± 32.9	617.3 ± 150.5	426.3 ± 64.3	12.0 ± 3.9	9.0 ± 1.8	66.1 ± 8.3	29 ± 3.86	2.2 ± 0.17	0.5 ± 0.06
	P < 0.05									
ATD 15										
Antes	14.7 ± 1.6	45.5 ± 16.5	553.8 ± 65.0	382 ± 19.9	11.3 ± 1.6	8.3 ± 0.6	62.6 ± 7.1	27.9 ± 4.34	2.0 ± 0	0.5 ± 0.05
después	8.8 ± 2.8	125.5 ± 53.7	388.3 ± 95.5	373.3 ± 79.5	12.5 ± 2.8	6.2 ± 1.3	90.7 ± 38.2	18.9 ± 3.17	2.7 ± 0.21	0.4 ± 0.08
CON 30										
Antes	13.5 ± 3.2	53.3 ± 15.7	699.7 ± 58.9	432.0 ± 22.3	10.2 ± 1.3	11.8 ± 1.9	63.4 ± 6.7	33.6 ± 4.76	2.0 ± 0	0.5 ± 0.05
después	13.7 ± 2.0	55.8 ± 15.4	508.7 ± 68.4	339.7 ± 20.9	8.2 ± 0.9	7.3 ± 1.2	82.1 ± 17.7	33.1 ± 3.12	2.3 ± 0.21	0.5 ± 0.06
ATD 30										
Antes	16.8 ± 4.3	28.8 ± 10.2	617.8 ± 74.0	410.3 ± 30.1	14.3 ± 1.2	12.7 ± 2.4	56.0 ± 8.4	23.3 ± 2.21	2.0 ± 0	0.4 ± 0.05
después	10.5 ± 2.1	17.8 ± 1.0	561.4 ± 185.1	300.2 ± 26.5	10.5 ± 5.3	11.7 ± 1.1	51.9 ± 17.7	28 ± 11.38	2.2 ± 0.2	0.6 ± 0.08
		P < 0.05				P < 0.05				
CON 45										
Antes	15.8 ± 4.2	44.2 ± 15.1	598.8 ± 56.2	420.3 ± 21.7	18.0 ± 3.2	13.3 ± 3.2	59.5 ± 15.9	22.1 ± 4.50	2.0 ± 0	0.4 ± 0.07
después	12.0 ± 2.4	24.8 ± 10.0	398.8 ± 168.5	298.6 ± 22.82	13.7 ± 3.2	8.8 ± 2.0	60.1 ± 19.9	20 ± 5.1	2.0 ± 0.45	0.4 ± 0.05
ATD 45										
Antes	11.7 ± 3.66	19.5 ± 3.7	482.5 ± 68.2	325.2 ± 34.5	14.2 ± 2.2	11.3 ± 1.8	44.0 ± 3.6	19.4 ± 2.11	2.0 ± 0	0.4 ± 0.03
después	12.8 ± 1.4	25.0 ± 5.6	958.3 ± 177.5	389.3 ± 33.2	15.2 ± 3.2	12.3 ± 1.3	75.8 ± 12.4	34.1 ± 4.74	1.7 ± 0.33	0.5 ± 0.05
								P < 0.05		

Tabla 8. Segunda Serie Eyaculatoria. Resultados de los parámetros de la segunda serie eyaculatoria de la CSM, de las ratas macho adultas. Antes y después del tratamiento crónico de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días.

Grupos	LE	NM	NI	III	IIC	TA
CON 15						
Antes	178.8 ± 35.3	7.7 ± 3	2.7 ± 0.7	96.8 ± 29.2	34 ± 14.5	0.3 ± 0.06
después	341.8 ± 52.6	13.5 ± 2.7	5 ± 0.6	68.4 ± 6.4	19.9 ± 3.3	0.3 ± 0.03
ATD 15						
Antes	342.5 ± 89.9	4.5 ± 0.81	4.5 ± 1.02	92.3 ± 10.65	40.3 ± 9.3	0.5 ± 0.07
después	196.5 ± 66.1	4.7 ± 1.7	2.3 ± 0.7	91.3 ± 18.3	39.2 ± 12.23	0.4 ± 0.14
CON 30						
Antes	310.8 ± 79.7	6 ± 2.1	4.8 ± 0.8	69.7 ± 22.6	27.8 ± 5.30	0.5 ± 0.09
después	118.2 ± 54.7	2 ± 0.4	3.8 ± 0.7	46.7 ± 14.9	26.7 ± 7.40	0.7 ± 0.11
ATD 30						
Antes	267 ± 70.1	9 ± 3.3	7 ± 1.6	38.1 ± 6.2	18.9 ± 3.23	0.5 ± 0.09
después	254.8 ± 104	5.6 ± 2.4	5.2 ± 1	56.6 ± 20	20.1 ± 9.99	0.5 ± 0.12
CON 45						
Antes	229.5 ± 47	8.5 ± 2	4.5 ± 1.18	56.2 ± 7.5	20.1 ± 3.89	0.4 ± 0.05
después	393.2 ± 116	9.3 ± 3.8	6.4 ± 0.81	60.2 ± 13.8	24.5 ± 6.41	0.6 ± 0.15
ATD 45						
Antes	465 ± 151.6	11.7 ± 2	6.2 ± 1.83	79.8 ± 19.11	24.1 ± 6.09	0.3 ± 0.07
después	131 ± 45.1	3.3 ± 1.33	4.8 ± 0.75	29.2 ± 12.96	11 ± 5.98	0.7 ± 0.12

13.3 Efecto del ATD sobre la Fertilidad

13.3.1 Índice de Fertilidad

Los resultados que se obtuvieron del efecto del ATD sobre la fertilidad se muestran en la figura 24, en la que se indica en color azul los grupos a los cuales se les administró aceite de soya (grupo CON) ó 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) durante 15 días, en rojo se muestra la administración por 30 días y en verde la administración durante 45 días. En esta figura vemos que los grupos CON, que recibieron sólo aceite de soya durante 15, 30 y 45 días, tuvieron un índice de fertilidad muy parecido, o sea alrededor del 95%.

En cambio en los grupos que fueron tratados con ATD, durante 15, 30 y 45 días, observamos una disminución en el índice de fertilidad, comparada con los grupos CON, esta disminución es más marcada en el grupo ATD con tratamiento durante 45 días. De tal manera que en el grupo ATD45 se obtuvo un decremento marginal en el índice de fertilidad de casi 60%.

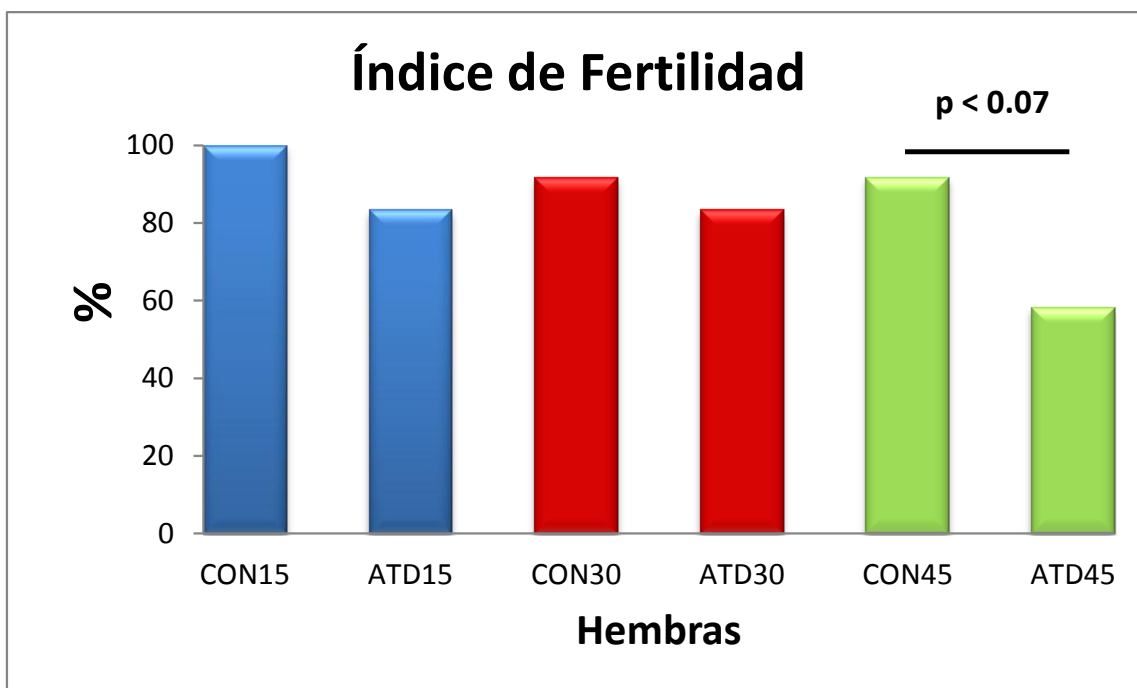


Figura 24. Índice de fertilidad de las ratas hembras adultas, preñadas con machos que recibieron el tratamiento de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días.

13.3.2 Tamaño de la camada

Los resultados del Tamaño de la camada se observan en la Figura 25, en esta figura se muestra en color azul los grupos CON15 y ATD15, en rojo se indica la administración por 30 días (CON30 y ATD30) y en verde se muestra la administración durante 45 días (CON45 y ATD45). En los grupos CON que recibieron sólo aceite de soya durante 15, 30 y 45 días, observamos que el número de crías fue muy semejante.

En cambio en los grupos que recibieron ATD, durante 15, 30 y 45 días se obtuvo una disminución en el número de crías, relacionado con

el tiempo de administración. La disminución en el número de crías fue mayor en el grupo ATD45.

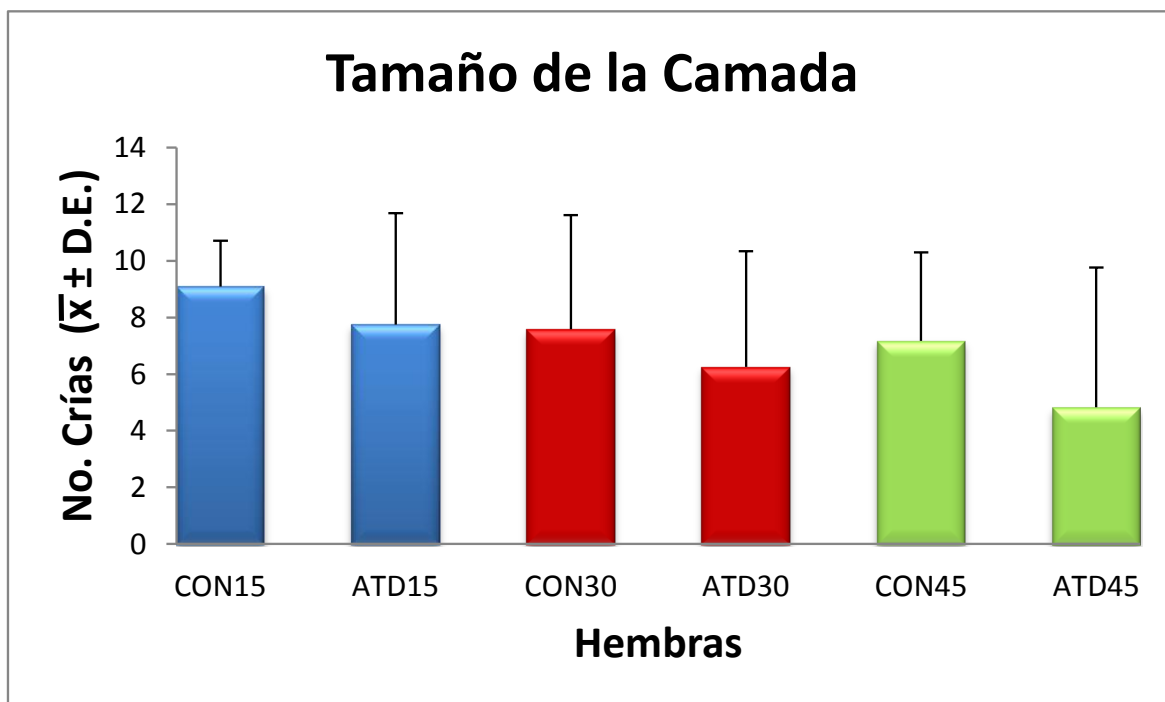


Figura 25. Tamaño de la camada. Número de crías (promedio \pm desviación estándar), de las ratas hembras adultas, preñadas con machos que recibieron el tratamiento de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de Soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días.

14. DISCUSIÓN

Como se estableció durante el desarrollo de este proyecto de investigación, el objetivo principal de este estudio, fue evaluar el efecto de la administración crónica de una dosis baja del inhibidor de la aromataasa ATD, sobre la espermatogénesis, la CSM y la fertilidad de la rata macho adulta, en 3 diferentes periodos de tiempo (15, 30 y 45 días), con el fin de determinar si alguno de estos tratamientos bloqueaba la espermatogénesis de la rata, a tal grado de afectar su fertilidad, pero sin alterar la expresión y despliegue de la conducta sexual masculina. De acuerdo con nuestros resultados, observamos que el inhibidor de la enzima aromataasa ATD, afectó a cada uno de estos procesos de manera diferente en cada uno de los tratamientos e incluso se observó un efecto bifásico en algunos de estos parámetros.

El efecto que tuvo la administración de ATD, sobre los testículos (análisis macroscópico) fueron los siguientes. Con respecto al peso testicular, no se observaron diferencias significativas en los tres periodos de administración de 15, 30 y 45 días, es decir no hubo diferencias después de la administración de ATD, comparado con sus respectivos grupos CON. Sin embargo, se observó una ligera disminución en el peso testicular después de la administración de ATD en los tres periodos de tiempo.

De acuerdo al tratamiento más corto (15 días), el ATD produjo una inhibición en la espermatogénesis, que se manifestó a nivel macroscópico, a través de un decremento significativo en los diámetros testiculares dorso-ventral y cráneo-caudal y a nivel microscópico, mediante una reducción significativa de los diámetros tubulares externo y luminal, como consecuencia de la reducción significativa en el número

de espermatoцитos primarios por túbulo. Posteriormente, al aumentar el periodo de administración del ATD por 30 días, se dejaron de observar cambios a nivel macroscópico, pero se intensificaron los cambios a nivel histológico, al aumentar el diámetro tubular externo y disminuir significativamente la frecuencia de espermatoцитos primarios y de espermátidas por túbulo, así como el número de túbulos seminíferos en etapas VII y VIII. Estos cambios estuvieron acompañados por algunas alteraciones en el desempeño sexual de los machos (reducción de la LM, de la LI, así como un incremento en el NI y en el IIC). Por último, con la administración más prolongada de ATD por 45 días, se mantuvo la reducción en la frecuencia de espermatoцитos primarios y de espermátidas por túbulo, así como en el número de túbulos en estadios VII y VIII, la cual estuvo acompañada con una alteración más notable en la conducta sexual y en la fertilidad, ya que sólo la mitad de los machos de grupo ATD45, pudo eyacular dos veces y fue capaz de preñar a sólo 7 de las 12 hembras con las que se aparearon ($p < 0.07$). Sin embargo, debido a que el 100% de los machos del grupo ATD45, pudo eyacular al menos una vez al finalizar este tratamiento, consideramos que el decremento observado en la fertilidad de estos machos, se debió principalmente al efecto que tuvo el ATD sobre la producción y calidad de los espermatozoides, más que al efecto que tuvo sobre la conducta sexual masculina. Además en este grupo de machos, fue en el que el ATD produjo un decremento más notable en el número de crías engendradas por apareamiento, lo que sugiere que este fue el tratamiento que alteró más notablemente la fertilidad de las ratas machos, aunque no llegó a ser significativa.

Como ya se mencionó anteriormente, diversos estudios han demostrado que los estrógenos que se producen en los testículos a partir de la testosterona, participan en la regulación de las etapas finales de la espermatogénesis, así como en la fertilidad y la expresión de la conducta sexual masculina. Esta información ha sido obtenida, en parte, mediante la administración, tanto de inhibidores de la enzima aromatasa, como de estrógenos y de antiestrógenos (Turner y cols., 2000; Oliveira y cols., 2001;). Sin embargo, el efecto que han producido estos compuestos en los procesos antes mencionados, ha dependido en gran medida de la etapa de la vida en que se han administrado al sujeto (prenatal, neonatal, prepuberal o postpuberal), así como de la dosis, duración del tratamiento, modelo animal y tipo de compuesto empleado. Por ejemplo, la administración crónica por 180 días de formestano, un inhibidor de aromatasa esteroideo, produjo en ratas macho adultas el decremento en el peso testicular y la atrofia de las células de Leydig (Walker y Nogués, 1994), mientras que la administración por 30 días de una proteína folicular también inhibe la enzima aromatasa, produjo una reducción significativa en el número de espermatozoides obtenidos de túbulos seminíferos. También en otras especies de mamífero, los inhibidores de la aromatasa han tenido efectos semejantes a nivel testicular. Por ejemplo, la administración durante 150 días de letrozol, un inhibidor de la enzima aromatasa no esteroideo, a crías de becerro de una semana de edad, produjo una reducción en el peso testicular y en el número de espermátidas (At-Taras y cols., 2006.), mientras que en monos adultos, la administración durante 150 días del inhibidor de aromatasa no esteroideo CGP 47645, produjo una reducción en el número de espermátidas, así como en el número y motilidad de los espermatozoides presentes en el eyaculado, (Shetty y cols., 1998).

Por otra parte, el bloqueo de los receptores de estrógenos, mediante la administración de antiestrógenos, ha provocado también alteraciones en los testículos a nivel macroscópico y microscópico. Por ejemplo, en ratas macho adultas, la administración semanal de 10 mg del potente antiestrógeno ICI 182,780 durante 150 días, produjo un decremento en el peso testicular y en el diámetro de los túbulos seminíferos (Oliveira y cols., 2001), mientras que en perros la administración del antiestrógeno tamoxifén durante 60 días, produjo una reducción en el volumen testicular y en el número de espermatozoides presentes en el eyaculado (González y cols., 2009). En nuestro estudio, con el tratamiento de ATD por 15 días también obtuvimos, a nivel macroscópico, una reducción significativa en los diámetros testiculares y a nivel microscópico, una reducción en los diámetros tubular externo y luminal, en comparación con el grupo control (CON15); sin embargo, no registramos una reducción significativa en el peso testicular, como se mencionó anteriormente en otros estudios, lo que sugiere que este parámetro no se modificó notablemente, a pesar de haberse reducido de tamaño. Es posible que la reducción de los diámetros tubular externo y luminal que obtuvimos en el grupo ATD15, esté relacionada con la disminución significativa que produjo este tratamiento en el número de espermatozoides por túbulo. Posteriormente, con el tratamiento de ATD por 30 días, observamos un incremento en el diámetro tubular, en lugar de un decremento, lo que pudo haberse debido a un aumento en el fluido intratubular o al incremento en algún tipo de células presentes en el interior de los túbulos. Si bien se ha reportado en ratas macho adultas que la administración crónica del antiestrógeno ICI 182,780 es capaz de producir en los primeros días de tratamiento (15 a 45 días), un incremento en el diámetro de los túbulos eferentes, por acumulación de fluido, este cambio se ha visto asociado a un incremento en el diámetro

luminal (Oliveira y cols., 2001). En nuestro caso, el incremento en el diámetro tubular externo observado en el grupo ATD30, estuvo asociado a una ligera reducción en el diámetro luminal, más que a un incremento, por lo que no parece probable que el incremento en el diámetro tubular externo haya sido causado por un incremento en el fluido tubular. Por otro lado, en el grupo ATD30, no sólo se mantuvo la reducción significativa del número de espermatozoides primarios por túbulo, observada en el grupo ATD15, sino que además, se presentó una reducción significativa en el número de espermátidas por túbulo y en el número de túbulos en etapas VII y VIII, por lo que el incremento en el diámetro tubular externo observado, podría explicarse más bien por un aumento en el número de células de Sertoli o a una hipertrofia de las mismas, como se ha reportado en ratas macho a las que se les ha administrado antiestrógenos (Oliveira y cols., 2001). Sin embargo en este estudio no se cuantificó el número de células de Sertoli por túbulo, para poder aseverarlo, ya que el objetivo era evaluar el efecto que tuvo el ATD sobre las últimas etapas de la espermatogénesis.

Por otro lado, algunos de nuestros datos resultan contradictorios si tomamos en cuenta que se ha demostrado en ratas macho adultas que la administración durante 63 días de anastrozol, un inhibidor de la aromatasa no esteroideo, produjo un incremento en el peso testicular, en lugar de un decremento (Turner y cols., 2000). Es posible que estas diferencias se deban a las diferencias que hubo en el tipo de inhibidor usado, la dosis y duración del tratamiento. De manera semejante, los estudios en los que se ha evaluado el efecto crónico de diferentes inhibidores de la aromatasa sobre la fertilidad de los machos, han mostrado resultados contradictorios en función de los factores ya señalados (tipo de inhibidor, dosis, duración, edad y especie). Por ejemplo, la administración crónica de fradozol durante 60 días, a ratas

macho a partir de los 21 días de edad, seguida por un periodo de recuperación de 30 días, no produjo diferencias significativas en la fertilidad de los machos (número de copulas por número de apareamientos y porcentaje de crías vivas por camada) (Nuñez y cols., 1996.), mientras que la administración durante 63 días del inhibidor de la aromatasa no esteroideo anastrozol, a ratas macho adultas de 80 días de edad, evitó la formación de los tapones vaginales que producen los machos al eyacular y redujo significativamente el porcentaje de hembras fértiles por apareamiento (Turner y cols., 2000). En relación a las diferencias observadas por la especie, la administración de letrozole durante 6 meses a ratas macho adultas, no produjo ningún efecto en los testículos, pero esta misma dosis de letrozol durante 3 meses, provocó en perros la hiperplasia e hipertrofia de las células de Leydig y la suspensión de la espermatogénesis (Walker y Nogués, 1994). Estos resultados contrastan con el hecho de que la administración durante 6 meses de fradozol a perros no afectó ni la morfología testicular gruesa o externa, ni el conteo de espermatozoides (Juniewicz y cols., 1988), o con el dato de que en monos la administración durante 55 días del análogo del letrozol (CGP 47645) redujo hasta un 90 % la producción espermática, así como una reducción en la cantidad de espermátidas redondas y elongadas (Shetty y cols., 1998)

En nuestro estudio la administración de ATD durante 45 días, logró reducir al 58% los machos que fueron capaces de preñar a las hembras (7 de 12 hembras), nivel que estuvo cerca de ser significativo ($p < 0.07$), por lo que es posible que si se aumentara ligeramente la dosis de ATD (1 a 2 mg) o se incrementara el periodo de administración de este compuesto se podría lograr disminuir significativamente la fertilidad de las ratas macho, tal y como se esperaba. Como ya se mencionó, la reducción que observamos en la capacidad fertilizante de los machos

tratados con ATD por 45 días, es posible que se haya debido principalmente al efecto que tuvo el ATD sobre la espermatogénesis y la calidad de los espermatozoides, más que al decremento observado en la conducta sexual, ya que todos los machos de este grupo pudieron eyacular al menos una vez al finalizar el tratamiento. Además de que se mantuvo durante este periodo la reducción significativa en la frecuencia de espermatoцитos primarios y de espermátidas por túbulo, así como de túbulos en los estadios VII y VIII, es posible que el tratamiento de ATD por 45 días, haya producido también cambios a nivel de los conductos eferentes que afectaran la capacidad fertilizante de los espermatozoides, tal y como ha sido demostrado en diversas especies. Por ejemplo, la administración crónica de letrozol a cerdos macho de 2 a 8 meses de edad, redujo el peso testicular, el número de espermátidas y células de Sertoli, así como la capacidad fertilizante de los espermatozoides obtenidos de la cauda del epidídimo (At-Taras y cols., 2006), mientras que en ratas macho, la administración semanal del antiestrógeno ICI 182,780 durante 150 días, produjo atrofia testicular e infertilidad (Oliveira y cols., 2001). Ahora se sabe que esta reducción en la capacidad fertilizante del esperma, se debe a que los estrógenos testiculares estimulan a las proteínas aquoporinas de los túbulos eferentes del testículo, a reabsorber el fluido de la rete testis en un 90%, acción que es necesaria para que los espermatozoides puedan ser fértiles (Oliveira y cols., 2005). De ahí que nosotros consideramos, que el decremento más notable que se observó en este estudio en la capacidad fertilizante de los machos que recibieron ATD durante 45 días, pudo haberse debido también a este factor.

Por otro lado, en relación a la participación que tienen los estrógenos que se producen a partir de la testosterona, en la regulación de la conducta sexual masculina, se ha demostrado que estos regulan

aspectos tanto del componente apetitivo/motivacional (LM, LI, PRPE, III), como del componente consumatorio/ejecutorio (NM, NI, NE, LE, TA, %SM, %SI y %SE), bloqueando su formación mediante la administración de inhibidores de la enzima aromatasa (Roselli y cols., 2003). Por ejemplo, ratas macho castradas y tratadas crónicamente con testosterona y fradozol durante 14 días, mostraron una reducción en el NI y NE, en comparación con los machos que recibieron únicamente testosterona (Bonsall y cols., 1992), mientras que en ratas macho castradas y tratadas crónicamente con testosterona, la administración de ATD impidió que la testosterona restableciera la eyaculación en el 100% de los machos (Kaplan y McGinnis, 1989.). De manera semejante, ratas macho adultas intactas, a las que se les administró testosterona y fradozol durante 8 semanas, presentaron una reducción significativa en la LM, NM, NI y NE (Roselli y cols., 2003). En nuestro estudio, después de analizar los diferentes parámetros de la conducta sexual masculina, tanto apetitivos como consumatorios, encontramos que a partir de 30 días de tratamiento de ATD, se manifestaron cambios significativos y bifásicos en la conducta sexual masculina, en ambos componentes, el apetitivo (reducción de la LI), como en el consumatorio (incremento del NI). En cambio, después del tratamiento de ATD durante 45 días, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) en el siguiente parámetro, el cual evalúa el componente ejecutorio (%SsE), ya que sólo la mitad de los machos ATD45 fueron capaces de eyacular en la segunda serie eyaculatoria. Comparados con los estudios anteriormente señalados, nuestros datos resultaron parcialmente contradictorios con otros estudios, si tomamos en cuenta que en nuestro caso el ATD incrementó el NI, en lugar de reducirlo, aunque si redujo la capacidad eyaculatoria de los machos, como ha sido reportado por otros autores. (Bonsall y cols., 1992; Kaplan y McGinnis, 1989; Clancy y cols., 2000). Es posible que estas discrepancias también se hayan debido a la dosis

baja, periodo y tipo de inhibidor de aromatasa que nosotros empleamos. Por ejemplo, en relación al efecto de la dosis, se ha demostrado que una dosis alta de ATD (10 mg/rata/día) a ratas castradas durante 30 días produce un incremento significativo en la tasa de intromisiones y de eyaculaciones (frecuencia del patrón/duración de la prueba x 100), mientras que una dosis más baja de ATD (1 mg/rata/día) reduce la tasa de eyaculaciones, pero no la tasa de intromisiones (Landau, 1980). En relación al tipo de inhibidor de aromatasa empleado, en un estudio semejante al nuestro, la administración crónica durante 28 días del inhibidor de aromatasa no esteroideo fradozol a ratas macho intactas, produjo una reducción significativa en el NM y la FE, así como un aumento en la LM y el PRPE desde las primeras semanas, hasta la conclusión del experimento (Clancy y cols., 2000), lo que demuestra que el efecto que tuvo este fármaco fue más notable y permanente en la conducta sexual, que el efecto que nosotros obtuvimos con el ATD. En otras especies como el mono, la administración crónica de inhibidores de la aromatasa como el fradozol también produjo un decremento en la eyaculación y motivación sexual (Zumpe y cols., 1993), mientras que en el hámster la administración de letrozol a los 18, 34 y 90 días de edad en machos intactos, produjo también un decremento en la LI y el %SsE, lo que demuestra que los inhibidores de la enzima aromatasa aunque suelen reducir la conducta sexual, también pueden estimularla dependiendo de la dosis, periodo de administración, edad, tipo de inhibidor y especie utilizada.

15. CONCLUSIONES

La administración diaria de 5mg/kg de ATD, afectó de forma diferente a la morfometría testicular, la espermatogénesis, la fertilidad y la conducta sexual masculina de la rata macho adulta, dependiendo del periodo de administración empleado. La administración diaria de 5mg/kg de ATD durante el periodo de 45 días a las ratas macho, logró disminuir más notablemente el proceso de espermatogénesis y la fertilidad de estos animales, aunque sólo en la espermatogénesis, esta disminución fue significativa. Sin embargo, este tratamiento alteró ligeramente la conducta sexual masculina, ya que no impidió la completa expresión del patrón de eyaculación.

16. REFERENCIAS

Agmo A. (1997). Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols*, 1: 203-209.

Agmo A. (1999). Sexual motivation-an inquiry into events determining the occurrence of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*, 105: 129-150.

At-Taras EE, Berger T, McCarthy MJ, Conley AJ, Nitta-Oda BJ, Roser JF. (2006). Reducing estrogen synthesis in developing boars increases testis size and total sperm production. *J Androl.*, 27 (4): 552-559.

Awoniyi CA, Chandrashekar V, Hurst BS, Kim WK, Schlaff WD. (1993). The Effects of Chronic Administration of Pyrimethamine on Spermatogenesis and Fertility in Male Rats. *Journal of Andrology*, 14 (3): 174-179.

Benson GS. (1988). Male sexual function: Erection, emission and ejaculation. En: Knobil E y Neill J. (eds). *The physiology of reproduction* Raven Press. New York, 1121-1139.

Bilinska B, Wiszniewska B, Kosiniak-Kamysz K, Kotula-Balak M, Gancarczyk M, Hejmej A, Sadowska J, Marchlewicz M, Kolasa A, Wenda-Rózewicka L. (2006). Hormonal status of male reproductive system: androgens and estrogens in the testis and epididymis. *In vivo and in vitro approaches*. *Reprod Biol.*, 6 (1): 43-58.

Bilinska B, Kotula-Balak M, Gancarczyk M, Sadowska J, Tabarowski Z, Wojtusiak A. (2003). Androgen aromatization in cryptorchid mouse testis. *Acta Histochem.*, 105 (1): 57-65.

Bonsall RW, Clancy AN, Michael RP. (1992). Effects of the Nonsteroidal Aromatase Inhibitor, Fadrozole, on Sexual Behavior in Male Rats. *Hormones and Behavior*, 26: 240-254.

Brown TR. (1995). Human androgen insensitivity syndrome. *J Androl.* 16 (4): 299-303.

Brueggemeier RW, Hackett JC, Díaz Cruz ES. (2005). Aromatase inhibitors in the treatment of breast cancer. *Endocrine Reviews*, 26 (3): 331-345.

Burke KA, Kuwajima M, Sengelaub DR. (1999). Aromatase inhibition reduces dendritic growth in a sexually dimorphic rat spinal nucleus. *J. Neurobiol.*, 38: 301-312.

Carani C, Qin K, Simoni M, Faustini-Fustini M, Serpente S, Boyd J, Korach K, Simpson E. (2009). Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *Brief Report*, 337 (2): 91-95.

Carreau S, Hess RA. (2010). Oestrogens and spermatogenesis. Review. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 365: 1517-1535.

Carreau S, de Vienne C, Galeraud-Denis I. (2008). Aromatase and estrogens in man reproduction: a review and latest advances. *Advances in Medical Sciences*, 53 (2): 139-144.

Carreau S, Silandre D, Bois C, Bouraima H, Galeraud-Denis I, Delalande Ch. (2007a). Estrogens: a new player in spermatogenesis. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 45 (1): 5-10.

Carreau S, Silandre D, Bourguiba S, Hamden K, Said L, Lambard S, Galeraud-Denis I, Delalande Ch. (2007b). Estrogens and male reproduction. A new concept. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Review*, 40: 761-768.

Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, Galeraud-Denis I, Genissel C, Levallet J. (2002). Reproductive system: aromatase and estrogens. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 193 (1-2):137-143.

Clancy AN, Zumpe D, Michael RP. (2000). Estrogen in the medial preoptic area of male rats facilitates copulatory behavior. *Horm Behav.*, 38: 86-93.

Clermont Y, Leblond CP, Messier B. (1959). Duration of the cycle of the seminal epithelium of the rat. *Arch Anat Microsc Morphol Exp.*, 48 (1): 37-55.

Cobb J, Handel MA. (1998). Dynamics of meiotic prophase I during spermatogenesis: From pairing to division. *Semin Cell Dev Biol.*, 9: 445-450.

Dowsett M. (1999). Drug and hormone interactions of aromatase inhibitors. *Endocrine-Related Cancer*, 6: 181-185

Dym M, Clermont Y. (1970). Role of spermatogonia in the repair of the seminiferous epithelium following x-irradiation of the rat testis. *Am J Anat.*, 128: 265-282.

Ferreira Nuño A, Overstreet D, Morales Otal A, Velázquez Moctzuma J. (2002). Masculine sexual behavior features in the Flinders sensitive and resistant line rats. *Behavioural Brain Research*, 128: 113-119.

Geneser F. (2007). *Histología. Sobre bases biomoleculares* 3a. Edición. Editorial Médica Panamericana, 613-638.

Gilles-Eric S, Moslemi S. (2001). Aromatase inhibitors: past, present and future. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 178: 117-131.

Gonzales C, Rubio J, Gasco M, Nieto J, Yucra S, Gonzales GF. (2006). Effect of short-term and long-term treatments with three ecotypes of *Lepidium meyenii* (MACA) on spermatogenesis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 103: 448-454.

Gonzalez G, Guendulain C, Maffrand C, Gobello C. (2009). Comparison of the effect of the aromatase inhibitor, anastrozole, to the antioestrogen, tamoxifen citrate, on canine prostate and semen. *Reprod Domest Anim.*, 44 (2): 316-9.

Goodman G, Hardman J, Limbird LE. (1996). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9a. ed. Vol. II, 1499.

Goyal HO, Robateau A, Braden TD, Williams CS, Srivastava KK, Ali K. (2003). Neonatal estrogen exposure of male rats alters reproductive functions at adulthood. *Biology of Reproduction*, 68: 2081-2091.

Greaves, Peter. 2000. Male Genital Tract. Capítulo X.

Habert R, Lejeune H, Saez J. (2001). Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 179: 47–74

Henderson NA, Robaire B. (2005). Effects of PNU157706, a dual 5 α -reductase inhibitor, on rat epididymal sperm maturation and fertility. *Biology of reproduction*, 72: 436-443.

Hermo L, Pelletier RM, Cyr DG, Smith CE. (2010). Surfing the wave, cycle, life history and genes/proteins expressed by testicular germ cells. Part 1: Background to spermatogenesis, spermatogonia, and spermatocytes. *Microscopy Research and Technique*, 73: 243–278.

Huddleston GG, Michael RP, Zumpe D, Clancy AN. (2003). Estradiol in the male rat amygdala facilitates mounting but not ejaculation. *Physiology and Behavior*, 79: 239– 246.

Hull EM, Wood RI, Mckenna KE. (2006). Neurobiology of male sexual behavior. In Knobil Ernst, Neill Jimmh. Editors. *Physiology of Reproduction*. Elsevier Academic Press, 1730.

Johnson L, Thompson J, Donald L, Varner, Dickson D. (2008). Role of Sertoli, cell number and function on regulation of spermatogenesis. *Animal Reproduction Science*, 105: 23-51.

Juniewicz PE, Oesterling JE, Walters JR, Steele RE, Niswender GD, Coffey DS, Ewing LL. (1988). Aromatase inhibition in the dog. I Effect on

serum LH, serum testosterone concentrations, testicular secretions and spermatogenesis. *The Journal of Urology*, 139: 827-831.

Kaplan ME, McGinnis MY. (1989). Effects of ATD on Male Sexual Behavior and Androgen Receptor Binding: A Reexamination of the Aromatization Hypothesis. *Hormones and Behavior*, 23: 10-26.

Kerr JB, Mayberry RA, Irby DC. (1984). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E y Neill J. *The physiology of reproduction*. Raven Press. New York, 1213.

Kelch RP, Jenner MR, Weinstein R. (1972). Estradiol and testosterone secretion by human, simian, and canine testes, in males with hypogonadism and in male pseudohermaphrodites with the feminizing testes syndrome. *J Clin Invest.*, 51: 824-830.

Kelloff GJ, Lubert RA, Lieberman R. (1998). Aromatase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 7: 65-78.

Lambard S, Silandre D, Delalande Ch, Galeraud-Denis I, Bourguiba S, Carreau S. (2005). Aromatase in testis: Expression and role in male reproduction. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 95: 63-69.

Landau TI. (1980). Facilitation of male sexual behavior in adult male rats by the aromatization inhibitor, 1,4,6-androstatriene-3,17-dione (ATD). *Physiology and Behavior*, 25: 173-177.

Levallet J, Bilinska B, Mitre H, Genissel Ch, Fresnel J, Carreau S. (1998). Expression and immunolocalization of functional cytochrome P450 aromatase in mature rat testicular cells. *Biology of Reproduction*, 58 (4): 919-926.

Lucio Lucio RA, Tlachi JL, López AA, Zempoalteca R, Velázquez J. (2009). Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica. *Vet. Méx.*, 40 (4): 406-407.

Lucio RA, Tlachi JL. (2008). Análisis de la Cópula y el Eyaculado en la Rata Albina (*Rattus norvegicus*). *Manual de Laboratorio*. CONACYT. Universidad Autónoma de Tlaxcala. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, 39-40.

McCann SM, Karanth S, Mastronardi CA, Dees LW, Childs G, Miller B, Sower S, Yu H. (2001). Control of gonadotropin secretion by follicle-stimulating hormone-releasing hormone and leptin. *Archives of Medical Research*, 32: 476-485.

Narayana N, Prashanthi N, Nayanatara A, Harish Chandra Kumar H, Abhilash K, Bairy KL. (2005). Effects of methylparathion (0,0-dimethyl-0-4-nitrophenyl phosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis. *Mutation Research*, 588: 28-34.

Norman A, Litwack G. (1997). *Hormones*. 2a. edición. Editorial Academic Press, 196-201.

Nunez SB, Blye RP, Thomas PM, Reel JR, Barnes KM, Malley JD, Cutler GB. (1996). Recovery of reproductive function in rats treated with the aromatase inhibitor fadrozole. *Reprod Toxicol.*, 10(5): 373-377.

O'Donnell L, Robertson K, Jones M, Simpson E. (2001). Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev.*, 22: 289-318.

Oliveira CA, Carnes K, Franca LR, Hess RA. (2001). Infertility and testicular atrophy in the antiestrogen-treated adult male rat. *Biol Reprod.*, 65: 913-920.

Oliveira CA, Carnes K, Franca LR, Hermo L, Hess RA. (2005). Aquaporin-1 and -9 are differentially regulated by oestrogen in the efferent ductule epithelium and initial segment of the epididymis. *Biol Cell.*, 97 (6): 385-395.

Omura T, Morohashi K. (1995). Gene regulation of steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, 53: 19-25.

Rochira V, Granata AR, Madeo B, Zirilli L, Rossi G, Carani C. (2005). Estrogens in males: what have we learned in the last 10 years? *Asian J Androl.*, 7: 3-2.

Roselli CE, Cross E, Poonyagariyagorn HK, Stadelman HL. (2003). Role of aromatization in anticipatory and consummatory aspects of sexual behavior in male rats. *Hormones and Behavior*, 44: 146-151.

Russell LD, Etlin RA, Sinha Hikim AP, Clegg ED. (1990). Histological and histopathological evaluation of the testis. Capítulo 27. Clearwater FL: Cache River Press, 1-286.

Sachs B, Meisel R. (1994). The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E y Neill J. The physiology of reproduction. Raven Press. New York.

Setchell B, Maddocks S, Brooks D. (1994). Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. En: Knobil E y Neill J. The physiology of reproduction. Raven Press. New York, 753-836.

Shaha Ch. (2008). Molecular Mechanisms in Spermatogenesis. Chapter 3. Landes Bioscience and Springer Science Business Media, 46-47.

Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar AS, Moudgal RN. (1997). Effect of estrogen deprivation on the reproductive physiology of male and female primates. Steroid Bioquim Molec Boil., 61 (3-6) 157-166.

Shetty G, Krishnamurthy H, Krishnamurthy HN, Bhatnagar AS, Moudgal RN. (1998). Effect of long-term treatment with aromatase inhibitor on testicular function of adult male bonnet monkeys (*M. radiata*). Steroids, 63: 414-420.

Simpson ER, Misso M, Hewitt KN, Hill RA, Boon WC, Jones ME, Kovacic A, Zhou J, Clyne CD. (2005). Estrogen-the good, the bad, and the unexpected. Endocr Rev., 26: 322-330.

Taziaux M, Keller M, Bakker J, Balthazart J. (2007). Sexual behavior activity tracks rapid changes in brain estrogen concentrations. The Journal of Neuroscience, 27(24): 6563- 6572.

Turner KJ, Morley M, Atanassova N, Swanston ID. (2000). Effect of chronic administration of an aromatase inhibitor to adult male rats on pituitary and testicular function and fertility. *Journal of Endocrinology*, 164: 225-238.

Vagell ME, McGinnis MY. (1997). The role of aromatization in the restoration of male rat reproductive behavior. *Journal of Neuroendocrinology*, 9: 415-421.

Vasanth P, Tejinder PSh. (2001). Neuroendocrine vs paracrine control of follicle-stimulating hormone. *Archives of Medical Research*, 32: 533-543.

Walker UJ, Nogués V. (1994). Changes induced by treatment with aromatase inhibitors in testicular Leydig cells of rats and dogs. *Exp Toxic Pathol.*, 46: 211-213.

Wassarman P, Jovine L, Qi H, Williams Z, Darie C, Litscher E. (2005). Recent aspects of mammalian fertilization research. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 234: 95-103.

Zondek B. (1934). Mass excretion of oestrogenic hormone in the urine of the stallion. *Nature*. 193: 209-210.

Zuloaga DG, Puts DA, Jordan CL, Breedlove SM. (2008). The role of androgen receptors in the masculinization of brain and behavior: What we've learned from the testicular feminization mutation. *Hormones and Behavior*, 53: 613-626.

Zumpe D, Bonsall RW, Michael RP. (1993). Effects of the nonsteroidal aromatase inhibitor, fadrozole, on the sexual behavior of male cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Horm Behav.*, 27 (2): 200-215.

17. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Aparato reproductor masculino de la rata. Modificado de Setchell y cols., 1994.....	13
Figura 2. Estructura del testículo y los conductos excretores del semen (Fuente: Geneser, 2007).....	15
Figura 3. Células que componen los túbulos seminíferos.	17
Figura 4. Esquema de los 14 estadios del ciclo del epitelio seminífero de los testículos de la rata macho adulta. Los estadios son indicados en números romanos del I- XIV. Las columnas verticales muestran los diferentes tipos de células presentes en cada estadio (Fuente: Dym and Clermont, 1970).	20
Figura 5. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo. Modificado de WHO (World Health Organization, 2002).	23
Figura 6. Ruta de la biosíntesis de los estrógenos (Modificado de: Goodman, 1996). ..	26
Figura 7. Localización de los receptores a estrógenos alfa y beta (ER α y ER β) y de la enzima aromatasa, en células de los testículos de mamífero en la etapa adulta. Modificado de O'Donnell y cols., 2001.....	28
Figura 8. Papel de los estrógenos en diferentes funciones reproductivas del macho (Modificado de Carreau y cols., 2008).	29
Figura 9. Mecanismo de acción de los inhibidores de la enzima aromatasa (color morado). El sitio de unión a esteroides (el sitio activo) se observa en rojo y el grupo hemo en amarillo (Modificado de Carreau y cols., 2008).	33
Figura 10. Diagrama de actividades del trabajo experimental.	48
Figura 11. Promedio y desviación estándar (D.E.) del peso de los testículos, de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15 (azul), 30 (rojo) y 45 (verde) días.....	57
Figura 12. Promedio y desviación estándar (D.E.) de los diámetros dorso-ventral y cráneo-caudal de los testículos, de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 días (c). ** p<0.01 prueba de U de Mann Whitney.	58
Figura 13. Promedio y desviación estándar (D.E.) del diámetro externo de los túbulos seminíferos, de testículos de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días. *p<0.05, **p<0.01, prueba de t-student.....	60
Figura 14. Promedio y desviación estándar (D.E.) del diámetro luminal, de los túbulos seminíferos, de testículos de ratas macho adultas, tratadas con 5 mg/kg diarios de ATD (grupos ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya/día (grupos CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días. **p<0.01, prueba de t-student.....	61
Figura 15. Efecto del tratamiento crónico con aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días o ATD (5 mg/kg), durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre los diámetros tubular externo y luminal de los túbulos seminíferos de testículos de rata adulta. Aumento de 1.25X. Barra de 500 micrómetros. Tinción de hematoxilina y eosina (H-E).	62
Figura 16. Número de espermatoцитos primarios en la etapa de paquiteno, por túbulo seminífero, de los testículos de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con el tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. * p<0.05, ** p<0.01 Prueba de t-student.	64

- Figura 17. Número de espermátidas por túbulo seminífero, de los testículos de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con el tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. ** $p < 0.01$ prueba de t-student. 65
- Figura 18. Efecto de la administración crónica de aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días y la administración de ATD (5 mg/kg), crónica durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre el número de espermátidas por túbulo seminífero de testículos de ratas adultas. Aumento de 10X. Barra de 200 micrómetros..... 66
- Figura 19. Número de túbulos seminíferos en las etapas VII y VIII, del epitelio seminífero de la rata macho adulta, promedio \pm desviación estándar (D.E.), con la administración crónica de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. ** $p < 0.01$, prueba de U de Mann Whitney. 67
- Figura 20. Efecto de la administración crónica con aceite de soya (0.5 ml/kg, grupo CON), durante 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días y ATD (5 mg/kg), durante 15 (d), 30 (e) y 45 (f) días. Sobre el número de túbulos seminíferos en estadios VII y VIII de los testículos de rata adulta. Aumento de 5X. Barra de 500 micrómetros..... 68
- Figura 21. Porcentaje de sujetos que montaron (%SsM), antes (A) y después (D) del tratamiento diario de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y Segunda Serie Eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento. * $p < 0.05$ según prueba de Fisher. 71
- Figura 22. Porcentaje de sujetos que intromitieron (%SsI), antes (A) y después (D) del tratamiento crónico de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y segunda serie eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento..... 72
- Figura 23. Porcentaje de sujetos que eyacularon (%SsE), antes (A) y después (D) del tratamiento diario de 5 mg/kg de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON). Primera y segunda serie eyaculatoria (1ª SER, 2ª SER), durante los periodos de 15 (a), 30 (b) y 45 (c) días de tratamiento. * $p < 0.05$ según prueba de Fisher..... 73
- Figura 24. Índice de fertilidad de las ratas hembras adultas, preñadas con machos que recibieron el tratamiento de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días..... 90
- Figura 25. Tamaño de la camada. Número de crías (promedio \pm desviación estándar), de las ratas hembras adultas, preñadas con machos que recibieron el tratamiento de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) ó 0.5 ml de aceite de Soya (grupo CON) durante 15, 30 y 45 días. 91

18. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplos de los inhibidores de la aromatasa esteroideos y no esteroideos (Modificado de Gilles, 2001).....	322
Tabla 2. Rangos de los valores de los parámetros del semen de la rata macho <i>Wistar</i> (Modificado de Lucio, 2008).	38
Tabla 3. Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre el aparato reproductor masculino, la espermatogénesis y la producción de hormonas.....	41
Tabla 4. Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre la conducta sexual masculina.	43
Tabla 5. Efecto de diferentes inhibidores de la enzima aromatasa sobre la fertilidad... ..	44
Tabla 6. Diseño experimental del tratamiento farmacológico (Intra peritoneal, I.P.) y evaluación de la conducta sexual masculina (CSM), fertilidad y espermatogénesis de las ratas macho tratadas crónicamente con ATD en 3 diferentes periodos.	51
Tabla 7. Primera Serie Eyaculatoria. Resultados de los parámetros de la primera serie eyaculatoria de la CSM, de las ratas macho adultas. Antes y después del tratamiento crónico de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días.	877
Tabla 8. Segunda Serie Eyaculatoria. Resultado de los parámetros de la segunda serie eyaculatoria de la CSM, de las ratas macho adultas. Antes y después del tratamiento crónico de 5 mg/kg diarios de ATD (grupo ATD) o 0.5 ml de aceite de soya (grupo CON), durante los periodos de 15, 30 y 45 días.	88

19. ABREVIATURAS

ATD	1, 4, 6-androstantrieno- 3,17-diona
ATD15	Grupo tratado con ATD durante 15 días
ATD30	Grupo tratado con ATD durante 30 días
ATD45	Grupo tratado con ATD durante 45 días
CON	Grupo Control
CON15	Grupo control al que se le administró el vehículo durante 15 días
CON30	Grupo control al que se le administró el vehículo durante 30 días
CON45	Grupo control al que se le administró el vehículo durante 45 días
CSM	Conducta Sexual Masculina
D.E.	Desviación estándar
E E	Error Estandar
ER	Receptor a estrógenos
FE	Frecuencia de Eyaculación
FSH	Hormona Folículo Estimulante
IIC	Intervalo Inter Copulatorio
III	Intervalo Inter Intromisión
LE	Latencia de Eyaculación
LH	Hormona Luteinizante
LI	Latencia de Intromisión
LM	Latencia de Monta
NI	Número de Intromisiones
NM	Número de Montas
PRPE	Periodo Refractario Post Eyaculatorio
SER	Serie Eyaculatoria
TES	Testosterona
TA	Tasa de Aciertos
%SsE	Porcentaje de Sujetos que Eyacularon
%SsI	Porcentaje de Sujetos que Intromitieron
%SsM	Porcentaje de Sujetos que Montaron