

Interacciones Epitelio-Mesenquimáticas en el Desarrollo Testicular

Epithelial-Mesenchymal Transitions in the Development of Testis

Mariana Rojas¹; Daniel Conei^{1,2,3} & Eduardo Bustos-Obregón^{4,†}

ROJAS, M.; CONEI, D. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Interacciones Epitelio-Mesenquimáticas en el desarrollo testicular. *Int. J. Morphol.*, 35(4):1444-1450, 2017.

RESUMEN: La espermatogénesis es un proceso continuo que se inicia durante el desarrollo embrionario. Las relaciones auto, para yuxtacrina indican la interdependencia de las células intersticiales (de Leydig) con las células peritubulares (lamina propia) y células sustentaculares (de Sertoli). Ciertos morfógenos son fundamentales en este proceso. Las células sustentaculares son capaces de regular la diferenciación y función de las células peritubulares e intersticiales a través de la producción de IGF1, TGFA, TGFβ y DHH. Las células peritubulares son capaces de producir P-Mod-S, regulando la diferenciación de las células sustentaculares, y a través de FGF2 y FGF9 modulan las transiciones epitelio-mesenquimática entre células sustentaculares y mesonefros. También remodelan la membrana basal del condón testicular y regulan la diferenciación y función de las células intersticiales por medio de IGF1, TGFA y TGFβ. Las células intersticiales son las responsables de la producción de testosterona e INSL3, influyendo en la diferenciación sexual masculina. Se plantea que provienen de células mesenquimales del epitelio celómico y mesonefros. Sin embargo, otros autores proponen su origen a partir de células de la cresta neural. Estas influyen a través de mecanismos paracrinos en la proliferación de las células sustentaculares por medio de activina A, teniendo como resultado la expansión del cordón testicular. Las interacciones entre las distintas poblaciones celulares a través de morfógenos inducen una transición epitelio-mesenquima fundamental en la formación y diferenciación de la gónada masculina.

PALABRAS CLAVE: Testículo Fetal; Morfógeno; Célula Sustentacular; Célula Peritubular; Célula Intersticial.

INTRODUCCIÓN

La espermatogénesis es un proceso continuo que se inicia con la diferenciación de las células germinales primordiales (CGP), continúa con una etapa de proliferación celular hasta la pubertad, caracterizada por amplificación del número de células y pérdida normal por apoptosis (Bustos-Obregón *et al.*, 1975). El proceso de espermatogénesis incorpora el concepto de clones celulares que evolucionan sincrónicamente debido a la presencia de puentes entre las células espermatogénicas observables hasta la etapa de espermátida pre espermiación (estadio VIII del ciclo) (Roosen-Runge, 1962).

En la pubertad, las espermatogonias forman un sistema en renovación con segregación de un grupo de espermatogonias troncales Ap (en humano), a diferencia de

los monos antropomorfos en que la célula troncal es Ad (p:pale y d:dark) en referencia al aspecto de la cromatina (Roosen-Runge; Bustos-Obregón *et al.*). La duración del proceso de espermatogénesis fue determinada en humanos por Heller & Clermont (1964), siendo la duración de la espermatogénesis completa de 74,5 días.

Algunas relaciones auto, para yuxtacrina indican la interdependencia de las células intersticiales (de Leydig) con las peritubulares y las células sustentaculares (de Sertoli), y consecuentemente con las células germinales asociadas a estas últimas. El concepto de microambiente permite distinguir dos áreas en el epitelio seminífero (compartimento basal y compartimento adluminal) separados por las uniones estrechas inter-sustentaculares (Steinberger & Steinberger,

¹ Laboratorio de Embriología Comparada, Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

² Programa de Doctorado en Ciencias Morfológicas, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

³ Departamento de Ciencias Morfológicas, Facultad de Ciencia, Universidad San Sebastián, Sede De La Patagonia, Puerto Montt, Chile.

⁴ Laboratorio de Biología de la Reproducción, Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

1980). Estas uniones se abren transitoriamente para permitir el paso hacia adluminal de las células germinales en su tránsito hacia el lumen. Se destaca la presencia de grandes espacios linfáticos, así como de capilares ubicados a cierta distancia de la membrana basal del epitelio con el compartimento intersticial (Dym & Fawcett, 1970).

La lámina propia del túbulo seminífero humano normal es multilamelar (5-7 capas celulares), presentando células mioides cercanas a la membrana basal y células tipo fibroblastos en las capas periféricas adyacentes al endotelio de espacios linfáticos (Bustos-Obregón & Holstein, 1973). Davidoff *et al.* observaron en 1990 que las primeras tres a cuatro capas internas de miofibroblastos presentan reactividad positiva a desmina y vimentina. En cambio, las últimas capas son positivas sólo a vimentina y corresponden a fibroblastos.

En el carnero de una semana de edad, la lámina propia es multilamelar con células contráctiles diferenciadas, colágeno y microfibrillas. La lámina propia del carnero adulto tiene también apariencia multilamelar, células contráctiles con abundantes filamentos citoplasmáticos y aspecto estrellado, abundante colágeno y material microfibrilar (Bustos-Obregón & Courot, 1974).

En el roedor *Octodon degus* la lámina propia presenta dependencia del fotoperiodo (Rojas *et al.*, 1995). Esta dependencia estaría relacionada con el aporte de andrógenos, el cual disminuye durante el período de reposo sexual. Las células mioides presentan forma aplanada durante el período de actividad sexual, y a través de un mecanismo paracrina modulan la función y diferenciación de las células sustentaculares (Skinner *et al.*, 1988).

A continuación, se darán a conocer ciertos aspectos en el desarrollo testicular de los mamíferos, tales como su estructura histológica y como los componentes celulares interactúan entre sí por medio de interacciones epitelio-mesenquimáticas, inducido por la acción de morfógenos.

Testículo fetal. El testículo fetal se constituye mediante cuatro poblaciones celulares de distinto origen: células germinales primordiales, células del epitelio celómico, células provenientes de los conductos mesonéfricos y células mesenquimales del blastema gonadal (Rojas & Prieto, 2014).

La diferenciación gonadal ocurre de forma temprana, marcado por la formación de cordones testiculares, siendo al día 13 post-fecundación en ratas. Dentro de 24 h, las células sustentaculares rodean a las células germinales, desarrollándose los cordones seminíferos rodeados por células mioides peritubulares (Huhtaniemi & Pelliniemi, 1992). Las

células intersticiales fetales se comienzan a diferenciar en el día 12,5 post-fecundación en ratones, día 13,5 en ratas y entre la 7^o a 8^o semana de desarrollo en humanos, las cuales se diferencian a partir de células mesenquimales intersticiales (Kuopio *et al.*, 1989). Se han identificado dos linajes progenitores como precursores de células intersticiales fetales: desde el epitelio celómico y desde células vasculares asociadas a lo largo del borde gonado-mesonéfrico (Merchant-Larios *et al.*, 1993; DeFalco *et al.*, 2011). La actividad enzimática esteroidogénica se activa tras esta diferenciación, ocasionando la producción de testosterona al día 15,5 post-fecundación en ratas (Huhtaniemi & Pelliniemi, 1992).

Si se considera en conjunto a la lámina propia (peritúbulo), el intersticio con las células intersticiales que rodean al cordón testicular como mesénquima y a las células sustentaculares que forman la pared del cordón como tejido epitelial, se puede sugerir que el desarrollo del testículo fetal se basa en interacciones epitelio-mesenquimáticas.

Al observar un corte transversal de un testículo fetal inicial, se puede apreciar que está constituido por cordones testiculares sin lumen y un intersticio formado por células intersticiales y vasos sanguíneos. En el cordón testicular se pueden reconocer gonocitos, espermatogonias fetales y células sustentaculares. Además, se puede reconocer un compartimento peritubular (lámina propia) rodeando cada cordón y aislando a los gonocitos y espermatogonias de los efectos de la sustancia inductora de meiosis (Fig. 1).

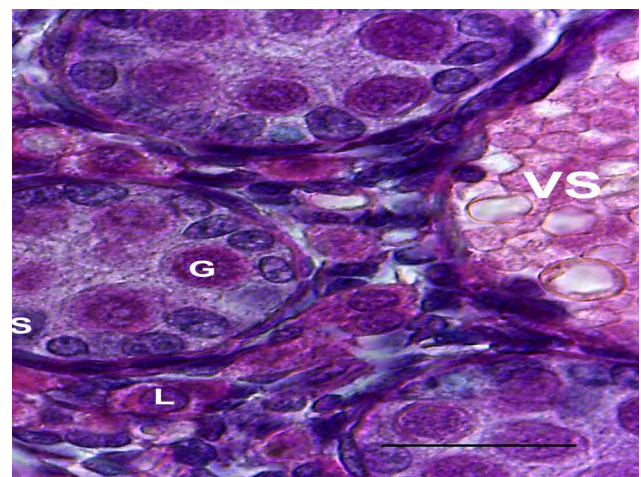


Fig. 1. Corte histológico de testículo fetal de ratón *Mus musculus* de 17 días post-fecundación teñido con Hematoxilina-Eosina. (S) Células sustentaculares (de Sertoli), (L) células intersticiales (de Leydig), (P) células peritubulares, (G) gonocitos, (VS) vaso sanguíneo. Barra 20 μ m.

La morfogénesis del túbulo seminífero depende de interacciones entre sustentocitos (células de Sertoli) y células peritubulares. Las células sustentaculares proveen so-

porte estructural y nutricional para el desarrollo de la línea germinal. Las células peritubulares son mesenquimales y forman la pared externa del túbulo seminífero. Las células sustentaculares están separadas de las peritubulares por una membrana basal que corresponde a matriz extracelular producida cooperativamente por células sustentaculares (de Sertoli) y peritubulares (El Ramy *et al.*, 2005).

Desarrollo de las Células Sustentaculares (de Sertoli).

Son capaces de regular, a través de interacciones paracrinas y yuxcrinas, la producción espermática, diferenciación y función de las células mioideas e intersticiales. Son fundamentales en la diferenciación testicular (Palmer & Burgoyne, 1991). Al secretar la hormona antimülleriana (AMH), ellas impiden el desarrollo del conducto paramesonefrico en el feto macho. Además, inducen la diferenciación de la población de células intersticiales y actúan manteniendo los gonocitos y las espermatogonias tempranas. La proliferación de las células sustentaculares ocurre solamente durante la vida fetal y prepuberal (Griswold & Behringer, 2009). Su actividad es controlada por la hormona folículoestimulante (FSH), la cual indirectamente influye en la producción de andrógenos por las células intersticiales (Nascimento *et al.*, 2016). Una respuesta a FSH es la producción de inhibina, la cual modifica la producción de testosterona en las células intersticiales. Por otro lado, la activina actúa como antagonista de la inhibina y es capaz de inhibir la producción de testosterona por las células intersticiales, cuando los niveles FSH son bajos (Barakat *et al.*, 2008).

Existen otros factores de crecimiento producidos por las células sustentaculares involucrados en interacciones paracrinas con las células intersticiales, tales como factor de crecimiento similar de insulina 1 (IGF1), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y factor de crecimiento transformante alfa (TGFA), los que aumentan, mientras que el factor de crecimiento transformante beta (TGFB) disminuye (Griffeth *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2013; Young *et al.*, 2015). IGF1 aumenta la disponibilidad de colesterol para la esteroidogénesis y la actividad de las enzimas esteroidogénicas (Griffeth *et al.*, 2014). También se ha visto una mayor expresión de STAR asociada a la producción de progesterona en respuesta a la estimulación de células intersticiales de mLTC-1 con factores paracrinas a las células sustentaculares como IGF1, FGF y TGFA (Hu *et al.*, 2010). A su vez, son capaces de sintetizar estrógenos a partir de andrógenos a través del sistema aromatasa, influyendo negativamente en la esteroidogénesis intersticial (Li *et al.*, 2015) (Fig. 2).

En la etapa post-natal, se describe que la depleción de las células sustentaculares se relaciona con una disminu-

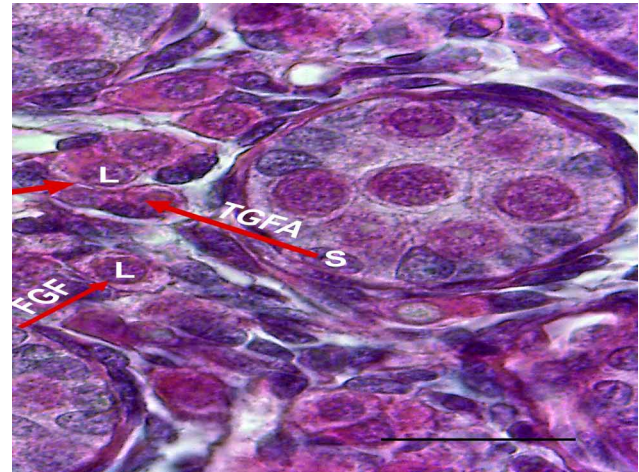


Fig. 2. Corte histológico de testículo fetal de ratón *Mus musculus* de 17 días post-fecundación teñido con Hematoxilina-Eosina. (S) Células sustentaculares (de Sertoli), (L) células intersticiales (de Leydig), (G) gonocitos. Flechas indican interacciones paracrinas entre las células sustentaculares con las células intersticiales, señalando IGF1, FGF y TGFA. Barra 20 μ m.

ción del número de células intersticiales adultas, siendo en definitiva importantes para la regulación del desarrollo y función de las células intersticiales (Smith *et al.*, 2015).

Desarrollo de las Células Peritubulares. Los túbulos seminíferos se encuentran rodeados de células mioideas, consideradas como células musculares lisas organizadas en multicapas, las que son capaces de diferenciarse en respuesta a una mayor producción de andrógenos durante el inicio de la pubertad. Su función es dar soporte estructural y contribuir a la contracción de los túbulos seminíferos (Palombi *et al.*, 1992). Se estima que estas células provienen de las células mesenquimales derivadas de la región intermedia entre mesonefros y cresta gonadal, contribuyendo a la formación de fibronectina en la lámina basal en los cordones testiculares en desarrollo, estabilizándolos (Mackay & Smith, 2007).

Se dice que estas células tienen un efecto paracrino sobre las células intersticiales, ya que pueden producir IGF1, TGFA y TGFB, siendo el segundo estimulante y el último inhibidor de la esteroidogénesis de las células intersticiales (Chen & Liu, 2016; Potter & De Falco, 2017). También se describe que P-Mod-S interviene en este tipo de regulación, ya que modula la función y diferenciación de células sustentaculares, pero también responden a los andrógenos producidos por células intersticiales (Skinner *et al.*, 1988, 1989) (Fig. 3).

Desarrollo de las Células Intersticiales. Las células intersticiales (de Leydig), son aquellas células que se ubican en el compartimiento intersticial y son capaces de pro-

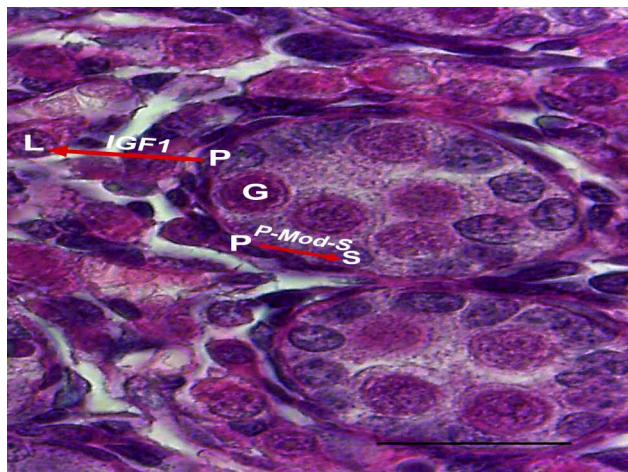


Fig. 3. Corte histológico de testículo fetal de ratón *Mus musculus* de 17 días post-fecundación teñido con Hematoxilina-Eosina. (S) Células sustentaculares (de Sertoli), (L) células intersticiales (de Leydig), (P) células peritubulares, (G) gonocitos. Flechas indican efecto paracrino sobre las células intersticiales al producir IGF1, TGFA y TGFB. También señalan interacción yuxtacrina con las células sustentaculares a través de P-Mod-S. Barra 20 μ m.

ducir testosterona y el factor similar de insulina (INSL3), los cuales se encuentran encargados de la diferenciación sexual masculina, siendo este último capaz de regular la supervivencia de las células germinales en la vida adulta (Adham *et al.*, 2000).

Se pueden encontrar tres poblaciones de células intersticiales en los mamíferos: células intersticiales fetales, neonatales y adultas. Se diferencian entre sí por su morfología, capacidad de síntesis de andrógenos, respuesta a gonadotropinas y factores de crecimiento (O'Shaughnessy *et al.*, 2005; Barsoum *et al.*, 2013; Wen *et al.*, 2014; Shima *et al.*, 2015; Tremblay, 2015; Inoue *et al.*, 2016).

En relación a su morfología, las células intersticiales fetales son redondas a ovaladas, con abundantes gotas lipídicas, agrupándose en racimos o *clusters* y rodeados por una membrana basal con matriz extracelular conformada por colágeno y laminina (Kuopio *et al.*). En cambio, las células adultas son más grandes, tienen un núcleo redondo y denso, se disponen en grupos sin estar rodeados de lámina basal y posee una gran capacidad de síntesis de testosterona (Tran *et al.*, 2006). Ambos tipos celulares poseen la capacidad de expresar hidroxisteroide deshidrogenasa (HSD3B1) y receptor de hormona luteinizante/gonadotropino coriónica (LHR/LHCGR), evidenciándose desde el día 15,5 post-fecundación en ratas (Hazra *et al.*, 2013).

Las células intersticiales se desarrollan en el compartimento intersticial a partir de las células mesenquimales

provenientes del epitelio celómico y mesonefros, aunque ciertos estudios plantean que tendrían un origen a partir de células de la cresta neural debido a similitudes que poseen con las células de la médula adrenal (O'Shaughnessy *et al.*, 2006; Huber, 2006; Griswold & Behringer). Su función es la producción de andrógenos claves en la masculinización fetal y también son capaces de inducir el descenso testicular hacia el escroto (Klonisch *et al.*, 2004; O'Shaughnessy *et al.*, 2006). Ya en la etapa post-natal, pueden interactuar con macrófagos intersticiales y células mioideas del peritúbulo, promoviendo su desarrollo y diferenciación (Hazra *et al.*).

También se puede encontrar una población transitoria de células intersticiales neonatales, las cuales alcanzan un máximo entre los 2 a 4 meses de vida (Codesal *et al.*, 1990; Haider, 2004), el cual coincide con la actividad transitoria del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Bay & Andersson, 2011). Estas células intersticiales neonatales declinan al año de vida (Faria *et al.*, 2003). La síntesis de testosterona de parte de estas células se asociaría al desarrollo del sistema nervioso central, como el hipotálamo (O'Shaughnessy *et al.*, 2000).

Las poblaciones de células intersticiales en el humano tienen un patrón de diferenciación trifásico. Las células fetales alcanzan un máximo alrededor de las 14 a 18 semanas de desarrollo. Posteriormente, cerca de los 3 meses post-natal existe otra proliferación de células neonatales, y finalmente la población adulta y definitiva durante la pubertad (Codesal *et al.*; Haider; O'Shaughnessy & Fowler, 2014).

Morfógenos en la diferenciación testicular y transición epitelio-mesenquimática. La diferenciación de las células intersticiales (de Leydig) es regulada por el morfógeno Desert Hedgehog (DHH), secretado por las células sustentaculares (Pierucci-Alves *et al.*, 2001), aunque también están involucrados el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFA) y el gen Homeobox Arx (Griswold & Behringer). A su vez, las células intersticiales fetales poseen receptores Patched1 (PTCH1) para DHH y PDGFRA para PDGFA, y responden produciendo activina A, el cual actúa como un regulador paracrino de la proliferación de los sustentocitos y de la expansión del cordón testicular (Archambeault & Yao, 2010).

En cuanto al gen Homeobox Arx, se dice que tiene una acción indirecta en la diferenciación de las células intersticiales, ya que tiene una expresión más elevada en las células mioideas. Se ha visto que en ratones knockout a Arx, las células intersticiales no se desarrollan (Miyabayashi *et al.*, 2013).

Existe evidencia que embriones que no expresan DHH en las células sustentaculares presentan una población reducida de células intersticiales fetales, con la consecuente producción insuficiente de andrógenos, ocasionando en el descenso testicular, atrofia genital y desarrollo de genitalia externa ambigua (Bitgood *et al.*, 1996; Clark *et al.*, 2000; Pierucci-Alves *et al.*). Tras la unión al receptor PTCH1 en las células intersticiales fetales, DHH induce respuestas intracelulares por medio de factores de transcripción GLI1 y GLI2 (Szczepny *et al.*, 2006; Sahin *et al.*, 2014). Posteriormente, tanto DHH y PDGFA se ven implicadas en el desarrollo de las células intersticiales adultas (Bitgood *et al.*; Chen & Liu).

Por otra parte, Colvin *et al.* (2001) sugieren que el Factor de Crecimiento Fibroblástico 9 (FGF9) estaría involucrado en las interacciones entre las células sustentaculares fetales y el mesonefros adyacente del cual provienen las células peritubulares (Buehr *et al.*, 1993). En ratas, FGF2 y FGF9 actúan como morfógenos encargados de regular las interacciones epitelio-mesenquimáticas de células sustentaculares y peritubulares durante la formación de los cordones testiculares y regulan selectivamente los patrones de expresión de proteinasas específicas e inhibidores, afectando además la remodelación de la membrana basal (El Ramy *et al.*) (Fig. 4).

La acción de estos morfógenos está también involucrada en la reestructuración de testículos prepuberales, debido a que se forman uniones estrechas entre células sustentaculares vecinas, formando la barrera hemato-

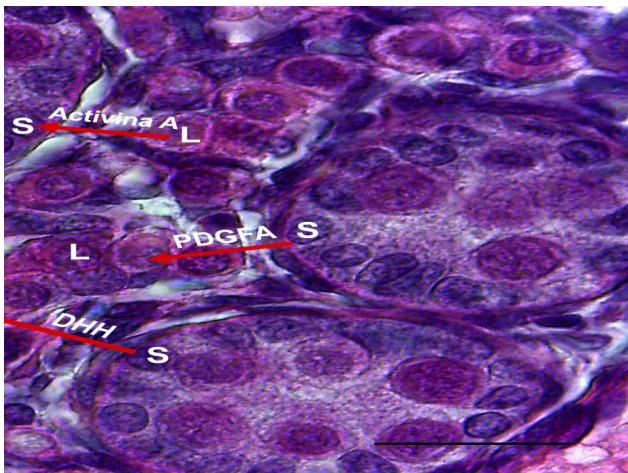


Fig. 4. Corte histológico de testículo fetal de ratón *Mus musculus* de 17 días post-fecundación teñido con Hematoxilina-Eosina. (S) Células sustentaculares (de Sertoli), (L) células intersticiales (de Leydig), (P) células peritubulares, (G) gonocitos. Flechas indican regulación morfogenética de DHH, PDGFA, activina A, FGF2 y FGF9. Barra 20 μ m.

testicular, y los cordones llegan a formar un lumen central pasando a transformarse en túbulos seminíferos. Esta barrera se encuentra ausente previo a la pubertad, pero se establece antes del inicio de la espermatogénesis como aislamiento inmunológico de las células germinales que se encuentran en meiosis y espermátidas en proceso de maduración, como también ayuda a la matención de una composición diferente en el compartimiento tubular del intersticial (Cheng & Mruck, 2012).

CONCLUSIONES

Para el desarrollo testicular normal es necesaria la interacción entre las distintas poblaciones de células. Esta interacción mediada por diversos factores de crecimiento capaces de actuar como morfógenos, es de carácter paracrino y yuxtacrino, siendo clave en la diferenciación de las distintas poblaciones celulares testiculares: células sustentaculares, peritubulares e intersticiales. Estos morfógenos son capaces de inducir transiciones epitelio-mesenquimáticas para la diferenciación y formación de la gónada masculina.

ROJAS, M. ; CONEI, D. & BUSTOS-OBREGÓN, E. Epithelial-mesenchymal transitions in the development of testis. *Int. J. Morphol.*, 35(4):1437-1443, 2017.

SUMMARY: Spermatogenesis is a continuous process which starts during the embryo-fetal development. Auto, para and juxtacrine relations indicate the interdependence of the interstitial cells (Leydig) with the peritubular cells (lamina propria) and sustentacular cells (Sertoli). Certain morphogens are fundamental in this process. Sustentacular cells are able to regulate differentiation and function and peritubular interstitial cells through production of IGF1, TGFA, TGFB and DHH. Peritubular cells are able to produce P-Mod-S regulating differentiation sustentacular cells and through FGF2 and FGF9 modulate epithelial-mesenchymal transitions between sustentacular cells and mesonephros. They also remodel the basal membrane of the testicular condom and regulate the differentiation and function of the interstitial cells by means of IGF1, TGFA and TGFB. Interstitial cells are responsible for the production of testosterone and INSL3, influencing male sexual differentiation. It is suggested that they come from mesenchymal cells of the coelomic epithelium and mesonephros. However, other authors propose their origin from cells of the neural crest. These influence through paracrine mechanisms proliferation sustentacular cells by activin A, resulting in the expansion of cord testicular. The interactions between the different cell populations through morphogens induce a fundamental epithelial-mesenchymal transition in the formation and differentiation of the male gonad.

KEY WORDS: Fetal testicle; Morphogen; Sustentacular cell; Peritubular cell; Interstitial cell.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adham, I. M.; Emmen, J. M. & Engel, W. The role of the testicular factor INSL3 in establishing the gonadal position. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 160(1-2):11-6, 2000.
- Archambeault, D. R. & Yao, H. H. Activin A, a product of fetal Leydig cells, is a unique paracrine regulator of Sertoli cell proliferation and fetal testis cord expansion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107(23):10526-31, 2010.
- Barakat, B.; O'Connor, A. E.; Gold, E.; de Kretser, D. M. & Loveland, K. L. Inhibin, activin, follistatin and FSH serum levels and testicular production are highly modulated during the first spermatogenic wave in mice. *Reproduction*, 136(3):345-59, 2008.
- Barsoum, I. B.; Kaur, J.; Ge, R. S.; Cooke, P. S. & Yao, H. H. Dynamic changes in fetal Leydig cell populations influence adult Leydig cell populations in mice. *F. A. S. E. B. J.*, 27(7):2657-66, 2013.
- Bay, K. & Andersson, A. M. Human testicular insulin-like factor 3: in relation to development, reproductive hormones and andrological disorders. *Int. J. Androl.*, 34(2):97-109, 2011.
- Bitgood, M. J.; Shen, L. & McMahon, A. P. Sertoli cell signaling by Desert hedgehog regulates the male germline. *Curr. Biol.*, 6(3):298-304, 1996.
- Buehr, M.; Gu, S. & McLaren, A. Mesonephric contribution to testis differentiation in the fetal mouse. *Development*, 117(1):273-81, 1993.
- Bustos-Obregón, E. & Courot, M. Ultrastructure of the lamina propria in the ovine seminiferous tubule. Development and some endocrine considerations. *Cell. Tissue Res.*, 150(4):481-92, 1974.
- Bustos-Obregón, E. & Holstein, A. F. On structural patterns of the lamina propria of human seminiferous tubules. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 141(3):413-25, 1973.
- Bustos-Obregon, E.; Courot, M.; Flechon, J. E.; Hochereau-de-Reviere, M. T. & Holstein, A. F. Morphological appraisal of gametogenesis. Spermatogenic process in mammals with particular reference to man. *Andrologia*, 7(2):141-63, 1975.
- Chen, S. R. & Liu, Y. X. Testis cord maintenance in mouse embryos: Genes and signaling. *Biol. Reprod.*, 94(2):42, 2016.
- Cheng, C. Y. & Mruk, D. D. The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacol. Rev.*, 64(1):16-64, 2012.
- Clark, A. M.; Garland, K. K. & Russell, L. D. Desert hedgehog (Dhh) gene is required in the mouse testis for formation of adult-type Leydig cells and normal development of peritubular cells and seminiferous tubules. *Biol. Reprod.*, 63(6):1825-38, 2000.
- Codesal, J.; Regadera, J.; Nistal, M.; Regadera-Sejas, J. & Paniagua, R. Involution of human fetal Leydig cells. An immunohistochemical, ultrastructural and quantitative study. *J. Anat.*, 172:103-14, 1990.
- Colvin, J. S.; Green, R. P.; Schmahl, J.; Capel, B. & Ornitz, D. M. Male-to-female sex reversal in mice lacking fibroblast growth factor 9. *Cell*, 104(6):875-89, 2001.
- Davidoff, M. S.; Breucker, H.; Holstein, A. F. & Seidl, K. Cellular architecture of the lamina propria of human seminiferous tubules. *Cell Tissue Res.*, 262(2):253-61, 1990.
- DeFalco, T.; Takahashi, S. & Capel, B. Two distinct origins for Leydig cell progenitors in the fetal testis. *Dev. Biol.*, 352(1):14-26, 2011.
- Dym, M. & Fawcett, D. W. The blood-testis barrier in the rat and the physiological compartmentation of the seminiferous epithelium. *Biol. Reprod.*, 3(3):308-26, 1970.
- El Ramy, R.; Verot, A.; Mazaud, S.; Odet, F.; Magre, S. & Le Magueresse-Battistoni, B. Fibroblast growth factor (FGF) 2 and FGF9 mediate mesenchymal-epithelial interactions of peritubular and Sertoli cells in the rat testis. *J. Endocrinol.*, 187(1):135-47, 2005.
- Faria, M. J.; Simões, Z. L.; Lunardi, L. O. & Hartfelder, K. Apoptosis process in mouse Leydig cells during postnatal development. *Microsc. Microanal.*, 9(1):68-73, 2003.
- Griffeth, R. J.; Bianda, V. & Nef, S. The emerging role of insulin-like growth factors in testis development and function. *Basic Clin. Androl.*, 24:12, 2014.
- Griffeth, R. J.; Carretero, J. & Burks, D. J. Insulin receptor substrate 2 is required for testicular development. *PLoS One*, 8(5):e62103, 2013.
- Griswold, S. L. & Behringer, R. R. Fetal Leydig cell origin and development. *Sex. Dev.*, 3(1):1-15, 2009.
- Haider, S. G. Cell biology of Leydig cells in the testis. *Int. Rev. Cytol.*, 233:181-241, 2004.
- Hazra, R.; Jimenez, M.; Desai, R.; Handelsman, D. J. & Allan, C. M. Sertoli cell androgen receptor expression regulates temporal fetal and adult Leydig cell differentiation, function, and population size. *Endocrinology*, 154(9):3410-22, 2013.
- Heller, C. H. & Clermont, Y. Kinetic of the germinal epithelium in man. *Recent Prog. Horm. Res.*, 20:545-75, 1964.
- Hu, G. X.; Lin, H.; Chen, G. R.; Chen, B. B.; Lian, Q. Q.; Hardy, D. O.; Zirkin, B. R. & Ge, R. S. Deletion of the Igf1 gene: suppressive effects on adult Leydig cell development. *J. Androl.*, 31(4):379-87, 2010.
- Huber, K. The sympathoadrenal cell lineage: specification, diversification, and new perspectives. *Dev. Biol.*, 298(2):335-43, 2006.
- Huhtaniemi, I. & Pelliniemi, L. J. Fetal Leydig cells: cellular origin, morphology, life span, and special functional features. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 201(2):125-40, 1992.
- Inoue, M.; Shima, Y.; Miyabayashi, K.; Tokunaga, K.; Sato, T.; Baba, T.; Ohkawa, Y.; Akiyama, H.; Suyama, M. & Morohashi, K. Isolation and characterization of Fetal Leydig progenitor cells of male mice. *Endocrinology*, 157(3):1222-33, 2016.
- Jiang, X.; Skibba, M.; Zhang, C.; Tan, Y.; Xin, Y. & Qu, Y. The roles of fibroblast growth factors in the testicular development and tumor. *J. Diabetes Res.*, 2013:489095, 2013.
- Klonisch, T.; Fowler, P. A. & Hombach-Klonisch, S. Molecular and genetic regulation of testis descent and external genitalia development. *Dev. Biol.*, 270(1):1-18, 2004.
- Kuopio, T.; Tapanainen, J.; Pelliniemi, L. J. & Huhtaniemi, I. Developmental stages of fetal-type Leydig cells in prepubertal rats. *Development*, 107(2):213-20, 1989.
- Li, X.; Li, H.; Jia, L.; Li, X. & Rahman, N. Oestrogen action and male fertility: experimental and clinical findings. *Cell. Mol. Life Sci.*, 72(20):3915-30, 2015.
- Mackay, S. & Smith, R. A. Effects of growth factors on testicular morphogenesis. *Int. Rev. Cytol.*, 260:113-73, 2007.
- Merchant-Larios, H.; Moreno-Mendoza, N. & Buehr, M. The role of the mesonephros in cell differentiation and morphogenesis of the mouse fetal testis. *Int. J. Dev. Biol.*, 37(3):407-15, 1993.
- Miyabayashi, K.; Katoh-Fukui, Y.; Ogawa, H.; Baba, T.; Shima, Y.; Sugiyama, N.; Kitamura, K. & Morohashi, K. Aristalless related homeobox gene, Arx, is implicated in mouse fetal Leydig cell differentiation possibly through expressing in the progenitor cells. *PLoS One*, 8(6):e68050, 2013.
- Nascimento, A. R.; Macheroni, C.; Lucas, T. F.; Porto, C. S. & Lazari, M. F. Crosstalk between FSH and relaxin at the end of the proliferative stage of rat Sertoli cells. *Reproduction*, 152(6):613-28, 2016.
- O'Shaughnessy, P. J. & Fowler, P. A. Development of the human fetal testis. *Ann. Endocrinol. (Paris)*, 75(2):48-53, 2014.
- O'Shaughnessy, P. J.; Baker, P. J. & Johnston, H. The foetal Leydig cell--differentiation, function and regulation. *Int. J. Androl.*, 29(1):90-5, 2006.
- O'Shaughnessy, P. J.; Baker, P. J. & Johnston, H. Neuroendocrine regulation of Leydig cell development. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1061:109-19, 2005.
- O'Shaughnessy, P. J.; Baker, P. J.; Heikkilä, M.; Vainio, S. & McMahon, A. P. Localization of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase/17-ketosteroid reductase isoform expression in the developing mouse testis--androstenedione is the major androgen secreted by fetal/neonatal leydig cells. *Endocrinology*, 141(7):2631-7, 2000.
- Palmer, S. J. & Burgoyne, P. S. In situ analysis of fetal, prepuberal and adult XX---XY chimaeric mouse testes: Sertoli cells are predominantly, but not exclusively, XY. *Development*, 112(1):265-8, 1991.
- Palombi, F.; Farini, D.; Salanova, M.; de Grossi, S. & Stefanini, M. Development and cytodifferentiation of peritubular myoid cells in the rat testis. *Anat. Rec.*, 233(1):32-40, 1992.

- Pierucci-Alves, F.; Clark, A. M. & Russell, L. D. A developmental study of the Desert hedgehog-null mouse testis. *Biol. Reprod.*, 65(5):1392-402, 2001.
- Potter, S. J. & DeFalco, T. Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. *Reproduction*, 153(4):R151-R162, 2017.
- Rojas, M. & Prieto, R. Embriología del sistema genital femenino. *Int. J. Med. Surg. Sci.*, 1(2):153-66, 2014.
- Rojas, M. A.; Morales, B. & Esponda, P. Effects of photoperiod on structure of lamina propria of the testis of *Octodon degus*. *J. Morphol.*, 226(3):331-8, 1995.
- Roosen-Runge, E. C. The process of spermatogenesis in mammals. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 37:343-77, 1962.
- Sahin, Z.; Szczepny, A.; McLaughlin, E. A.; Meistrich, M. L.; Zhou, W.; Ustunel, I. & Loveland, K. L. Dynamic Hedgehog signalling pathway activity in germline stem cells. *Andrology*, 2(2):267-74, 2014.
- Shima, Y.; Matsuzaki, S.; Miyabayashi, K.; Otake, H.; Baba, T.; Kato, S.; Huhtaniemi, I. & Morohashi, K. Fetal Leydig cells persist as an androgen-independent subpopulation in the postnatal testis. *Mol. Endocrinol.*, 29(11):1581-93, 2015.
- Skinner, M. K.; Fetterolf, P. M. & Anthony, C. T. Purification of a paracrine factor, P-Mod-S, produced by testicular peritubular cells that modulates Sertoli cell function. *J. Biol. Chem.*, 263(6):2884-90, 1988.
- Skinner, M. K.; McLachlan, R. I. & Bremner, W. J. Stimulation of Sertoli cell inhibin secretion by the testicular paracrine factor PModS. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 66(2):239-49, 1989.
- Smith, L. B.; O'Shaughnessy, P. J. & Rebourcet, D. Cell-specific ablation in the testis: what have we learned? *Andrology*, 3(6):1035-49, 2015.
- Steinberger, A. & Steinberger, E. *Testicular Development, Structure, and Function*. New York, Raven Press, 1980.
- Szczepny, A.; Hime, G. R. & Loveland, K. L. Expression of hedgehog signalling components in adult mouse testis. *Dev. Dyn.*, 235(11):3063-70, 2006.
- Tran, N.; Servos, G. & Haider, S. G. Ultrastructure of cell contacts of fetal and adult Leydig cells in the rat: a systematic study from birth to senium. *Anat. Embryol. (Berl.)*, 211(4):273-82, 2006.
- Tremblay, J. J. Molecular regulation of steroidogenesis in endocrine Leydig cells. *Steroids*, 103:3-10, 2015.
- Wen, Q.; Zheng, Q. S.; Li, X. X.; Hu, Z. Y.; Gao, F.; Cheng, C. Y. & Liu, Y. X. Wt1 dictates the fate of fetal and adult Leydig cells during development in the mouse testis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 307(12):E1131-43, 2014.
- Young, J. C.; Wakitani, S. & Loveland, K. L. TGF- β superfamily signaling in testis formation and early male germline development. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 45:94-103, 2015.

Dirección de correspondencia:
Dra. Mariana Rojas R.
Laboratorio de Embriología Comparada
Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo
Facultad de Medicina, ICBM
Universidad de Chile
Santiago
CHILE

Email: dramrojas@hotmail.com
mrojasr@u.uchile.cl

Recibido : 09-09-2017
Aceptado: 22-10-2017