



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**Facultad de Química**

**EFFECTO DE LOS ESTROGENOS EN LA CONDUCTA  
SEXUAL DE LA RATA HEMBRA ADULTA**

**Trabajo Monográfico**

Que para obtener el título de:

**QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

**P r e s e n t a :**

**Blanca Luz Jiménez López**

**México, D. F.**

**1984**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Págs.
Capítulo 1. Introducción. . . . .	1
Datos históricos. . . . .	5
Definiciones. . . . .	13
Abreviaturas. . . . .	15
Capítulo 2. Estructura química y metabolismo de los estrógenos.	
Estructura química. . . . .	16
Síntesis <u>in vivo</u> . . . . .	22
Catabolismo y excreción de los estrógenos.	32
Efectos fisiológicos de los estrógenos. . .	40
Capítulo 3. Mecanismo de acción de los estrógenos.	
Receptores a hormonas esteroideas. . . . .	50
Receptores a estrógeno en el cerebro y en otros tejidos. . . . .	64
Acciones estrogénicas sobre la síntesis de macromoléculas en las células blanco. . . .	70
Capítulo 4. Efecto de los estrógenos sobre la conducta sexual de la rata.	
Introducción. . . . .	82

	Págs.
La ontogenia de los receptores a estrógeno.	90
Diferenciación sexual del cerebro. . . . .	110
Efecto de los estrógenos sobre la conducta sexual de la rata. . . . .	121
Capítulo 5. Discusión. . . . .	134
Capítulo 6. Bibliografía. . . . .	141

## INTRODUCCION

La salud se define como un estado de completo bienestar físico, mental y social, y no solamente como la ausencia de enfermedad o dolencia. En nuestro país, la creciente explosión demográfica y los problemas de salud pública que ésta lleva consigo, hacen necesario un control más efectivo, preciso y seguro de la natalidad, el cual se podría lograr con la ayuda de anticonceptivos realmente efectivos y seguros para evitar efectos secundarios indeseables.

Esto sería posible si se supiera el mecanismo neuroendocrino exacto de la fisiología de la reproducción.

Otros problemas no menos importantes como la frigidez, la impotencia, la homosexualidad y otros trastornos en la conducta sexual, podrían también tener una explicación neuroendócrina, que al descubrirla podría facilitar su tratamiento.

Desde los tiempos antiguos, el ser humano se ha interesado por descubrir la naturaleza del comportamiento; tanto del hombre mismo, como el de los animales. Sin embargo, a pesar de los avances científicos y tecnológicos alcanzados; la conducta o comportamiento que indica el modo de ser y actuar de un individuo, aún no ha podido ser completamente entendida. Por ello, muchas ciencias se han avocado a ésta tarea, tratando de darle explicaciones fisiológicas, psicológicas, sociológicas, culturales, etc.

No obstante, la conducta es un tema difícil de estudiar, ya que tiene múltiples variantes. Existen varios tipos de conducta: alimenticia, defensiva, social, reproductiva, etc; y cada una tiene factores y mecanismos distintos que la originan.

En el caso de la conducta sexual, uno de los factores principales dentro del mecanismo fisiológico, es el efecto que ejercen las hormonas sexuales. Estas hormonas tienen a su cargo el desarrollo y control de los aparatos sexuales masculinos y femeninos: así como la aparición de las características sexuales secundarias en la pubertad (v. g. aparición de la barba, el cambio de voz, etc. en el hombre).

En la actualidad se utilizan las hormonas esteroides para el control de la natalidad y el control de diferentes disfunciones. La administración de estas hormonas en las mujeres embarazadas puede tener efectos indeseables sobre la conducta del feto, observables en la edad adulta.

Como en varias especies, en la humana, la acción hormonal que define la conducta sexual del adulto, se ejerce durante el desarrollo intrauterino, y es por eso que resulta imposible utilizar el modelo humano como objeto de estudio. Sin embargo, ya que la rata es el único animal de laboratorio cuya conducta sexual en el adulto es definida durante los primeros días de su desarrollo postnatal; es posible afectar este proceso por medio del ambiente hormonal durante este tiempo. Es por eso que se ha

tomado a la rata como modelo de estudio.

El tema de esta tesis es el estudio del efecto que tienen los estrógenos sobre la conducta sexual de la rata hembra adulta.

Este trabajo procura hacer una revisión de los aspectos más importantes que se han estudiado en los últimos tiempos, acerca del efecto de los estrógenos sobre la conducta sexual observada en las ratas. Con el propósito de dar una perspectiva que oriente el entendimiento de la fisiología de la sexualidad humana.

Primeramente se hará un recordatorio de la estructura química y del metabolismo de los estrógenos, para unificar criterios sobre su naturaleza, biosíntesis y catabolismo.

Enseguida, se revisará su acción fisiológica y el mecanismo de acción; en donde se resumirán los estudios realizados acerca de la síntesis de proteínas bajo el efecto de los estrógenos.

También se realizará una revisión de la ontogenia de los receptores a estrógeno, para saber desde que edad se observa una respuesta a la acción estrogénica.

Después se revisarán los aspectos más importantes del efecto de los estrógenos sobre la conducta sexual de la rata, donde se describe que, durante el período perinatal hay un efecto organizador producido por las hormonas sexuales, durante el cual, el cerebro queda "programado" para mostrar patrones de conducta sexual masculinos o femeninos en la edad adulta.

Esta revisión tiene como objetivo, recopilar información básica que sirva de apoyo para el diseño de experimentos que estudien más a fondo: la interacción hormona-receptor, la inducción hormonal de síntesis de proteínas o el efecto hormonal sobre la conducta sexual, por mencionar sólo algunos ejemplos. La comprensión de éstos procesos, podría posteriormente tener aplicación en la terapéutica de algunas disfunciones hormonales o de conducta sexual en el ser humano.

DATOS HISTORICOS

- 1668 N. Stensen describió el ovario como el órgano en el cual -  
se forma el huevo.
- 1672 R. de Graaf y T. Kerckring observaron la presencia del -  
folículo graafiano y el cuerpo amarillo en el ovario de la  
mujer.
- 1686 M. Malpighi acuña el término "corpus luteum" y sugiere -  
que esta estructura tiene características de una glándula.
- 1778 A. von Haller describió la conversión del folículo en -  
cuerpo luteo.
- 1827 K. E. von Baer descubrió el óvulo humano.
- 1871 R. Sigismund mostró que había destrucción de la mucosa du-  
rante la menstruación, y dedujo que la menstruación resul-  
taba cuando la fertilización no ocurría.
- 1873 H. Kundrat y G. J. Engelmann descubrieron los cambios cí-  
clicos en el endometrio.
- 1893 E. Régis usó extractos ováricos inyectados subcutáneamente  
para demostrar que el ovario producía secreciones internas.
- 1896 E. Knauer y Halban (1900) mostraron la acción endócrina -  
del ovario, en órganos genitales de animales de experimen-  
tación cuando los ovarios fueron implantados en conejos -  
previamente castrados.
- 1898 L. A. Prenant y Born (1900) sospecharon la relación entre  
el cuerpo luteo y el embarazo, ya que el cuerpo luteo in-

había la ovulación.

1902 L. Fraenkel mostró que extirpar el cuerpo luteo en las primeras etapas del embarazo producía el aborto en las conejas.

1905 F. H. A. Marshall y W. A. Jolly descubrieron que los extractos ováricos producían el estado de estro o "calor" en animales gonadectomizados.

1910-1913 L. Adler (1910) y O. Fellner (1912, 1913) tuvieron éxito en obtener extractos del ovario y placenta, que causaban estro en animales gonadectomizados.

1913-1915 L. Fellner (1913) y E. Hermann (1915) produjeron extractos del cuerpo luteo y la placenta.

R. Meyer y R. Schröder reconocieron la relación morfológica entre la función ovárica y el endometrio.

1917 C. R. Stockard y G. N. Papanicolaou describieron los cambios cíclicos en la vagina del cuyo.

1921 H. M. Evans y J. A. Long encontraron la primera indicación de un principio gonadotrófico en el lóbulo anterior de la hipófisis en ratas.

1923 E. Allen y E. A. Doisy reconocieron que los signos del estro eran dependientes de la función ovárica en ratones y ratas. Ellos obtuvieron una sustancia cristalina relativamente purificada del fluido folicular bovino y porcino, con la que fue posible inducir el estro en ratas. Realiza-

ron esta observación al desarrollar una prueba que posteriormente derivó en la primera estimación exacta de hormona.

1926-1927 R. T. Frank demostró que el estro era inducido por las hormonas circulantes en la sangre por la prueba de Allen y Doisy.

S. Aschheim y B. Zondek mostraron la presencia de la misma sustancia en la orina de animales ambarazados.

S. Aschheim, B. Zondek y P. E. Smith obtuvieron pruebas en animales experimentales que habían recibido un trasplante después de una hipofisectomía, de que la función ovárica era dependiente del lóbulo anterior de la hipófisis. La hipótesis de dos diferentes gonadotrofinas fué entonces desarrollada.

1928 B. Zondek y S. Aschheim demostraron exitosamente que había un principio foliculo-estimulante en la orina de las mujeres menopáusicas.

1929 E. A. Doisy y A. Butenandt reportaron casi al mismo tiempo el aislamiento y la sustancia estrógeno-activa en forma cristalina, de mujeres embarazadas.

N. K. Adam sugirió que esta sustancia debería ser llamada estrona a causa del grupo cetona presente en el carbono-17 (1933).

La investigación química de las hormonas estrogénicas

comenzó en esta época. G. W. Corner y W. M. Allen observaron en la coneja, el fin del embarazo en una etapa temprana debido a la destrucción del cuerpo luteo, lo cual se evitaba si se les inyectaba a las conejas extractos de cuerpo luteo porcino.

1929-1930 H. Knaus demostró que la maduración folicular era inhibida por extractos de cuerpo luteo y que la sensibilidad del músculo uterino a extractos de la hipófisis posterior también se reducía.

1930 A. Butenandt y colaboradores determinaron la estructura de la estrona.

G. F. Marrian y E. A. Doisy extrajeron estradiol en forma cristalina, de la orina de mujeres embarazadas.

C. Clauberg mostró que la progesterona no tenía acción en la proliferación del endometrio, pero sí un efecto diferencial, y que solo era efectivo en los endometrios que habían sufrido una previa proliferación debida a estrógenos.

E. Philipp mostró experimentalmente que la progesterona era producida en grandes cantidades durante el embarazo.

G. T. Popa y U. Fielding descubrieron el sistema vascular porta que conecta el hipotálamo con la hipófisis.

1931 P. E. Claus y H. E. Fevold y colaboradores produjeron extractos potentes de la porción anterior de la hipófisis.

- 1932 A. Butenandt mostró que los ésteres de la estrona tenían actividad prolongada. El tratamiento con estrógenos comenzó en esta etapa.
- C. Kaufmann resumió el conocimiento ganado de experimentos en conejos y los refirió a mujeres ovariectomizadas.
- W. Hohlweg y K. Junkmann postularon que había un gran centro sexual en el hipotálamo.
- 1934 S. L. Cohen y G. F. Marrian describieron un método químico basado en el método de Kober para la determinación de estrógenos en la orina.
- W. Slotta, W. Ruschnig y W. Fels tuvieron éxito en purificar la hormona del cuerpo luteo. A. Butenandt y U. Westphal determinaron la estructura de esta hormona. Fue oficialmente llamada progesterona a causa de su acción protectora durante el embarazo.
- 1935 Mc. Corquodale y su equipo aislaron estradiol de los ovarios de los cerdos.
- 1938 H. H. Inhoffen y W. Hohlweg produjeron el primer estrógeno oral de alta potencia (etinil estradiol) a partir de la estrona. Al mismo tiempo tuvieron éxito en sintetizar un gestágeno oral efectivo (etinil testosterona = pregnaninona).
- 1940 H. H. Inhoffen llevó a cabo la síntesis parcial del estradiol a partir del colesterol. La progesterona pura fue pro-

ducida a partir del colesterol.

- 1946 J. E. Markee y su equipo demostraron experimentalmente el control humoral de la hipófisis a través de "sustancias de acción" hipotalámicas (llamada cadena neurovascular).
- 1954 C. Djerassi y su equipo sintetizaron varios 19-noresteroides que fueron posteriormente utilizados terapéuticamente como progestinas efectivas oralmente por R. Hertz y su equipo.
- 1958 J. Zander descubrió otro gestágeno natural, el  $20\alpha,\beta$ -hidroxi-preg-4-ene-3-ona, en la placenta, el cuerpo luteo y el folículo maduro. A partir de 1955 G. F. Marrian y su equipo descubrieron una serie de metabolitos representativos de otros estrógenos naturales.
- 1955 G. W. Harris y su equipo y R. Guillemin, S. M. McCann, M. Saffran y A. V. Schally mostraron en animales de experimentación, que los extractos hipotalámicos causaban liberación de gonadotrofinas de la hipófisis anterior.
- 1959 R. F. Glascock y G. W. Hoekstra demostraron la toma selectiva y la retención de la hormona esteroide por sus órganos blanco en borregos y cabras inmaduras.
- 1962 E. V. Jensen y H. I. Jacobson sugirieron la presencia de un "receptor" a hormonas esteroideas en las células blanco.
- 1966 D. Toft y J. Gorski demostraron que había una molécula receptora citoplasmática a estrógenos en el útero de ratas.

inmaduras.

- 1968 E. V. Jensen sugirió el modelo de "dos pasos" del mecanismo involucrado en la acción de las hormonas esteroides sobre sus células blanco.
- 1971 A. V. Schally y su equipo aislaron la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y determinaron su estructura química.
- 1975 B. Katzenellenbogen y J. Gorski determinaron las características de la proteína inducida (IP) por el estrógeno, en el útero de ratas.
- 1976-1977 J. M. Reinisch y R. A. Gorski y su equipo sugieren independientemente que la diferenciación sexual del cerebro, inherentemente femenino de los mamíferos, es producida por la influencia del medio hormonal perinatal.
- 1976 C. Beyer y sus colaboradores muestran la potencia de diferentes estrógenos naturales en la inducción del comportamiento estral en ratas ovariectomizadas.
- 1978 J. L. Boling y R. J. Blandau (1939) y posteriormente S. Hansen y P. Södersten, demuestran que una característica importante de la facilitación por progesterona del comportamiento sexual femenino en ratas, es que requieren de un tratamiento previo con estrógenos.
- 1981 P. Södersten y P. Eneroth muestran que tanto en ratas intactas como en ratas ovariectomizadas, tratadas exógena-

mente con dosis adecuadas de estrógenos y progesterona, muestran valores máximos de cociente de lordosis.

Durante los siguientes años hasta el momento actual, se han hecho múltiples descubrimientos y avances técnicos que sería difícil resumirlos aquí.

DEFINICIONES

Lordosis.- Flexión cóncava del lomo de la rata con desviación lateral de la cola y extensión del cuello.

Coefficiente de lordosis.- Número de respuestas positivas de lordosis en diez intentos de monta, multiplicado por cien.

Monta.- El macho sube sobre la hembra con movimientos pélvicos pero sin intromisión.

Intromisión.- Introducción del pene en la monta.

Eyaculación.- Monta con una intromisión profunda final, desmonte lento y limpieza de genitales.

Latencia de intromisión.- El tiempo que transcurre desde la primera monta hasta la primera intromisión.

Latencia de eyaculación.- El tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación.

Intervalo post-eyaculatorio.- El tiempo que transcurre desde la eyaculación a la siguiente intromisión.

**Implante.-** Introducción de un órgano u objeto dentro de un animal.

**Hormona marcada.-** Hormona con isótopos radiactivos dentro de la molécula, que permiten distinguirla de la hormona no marcada o bien seguir la ruta de esos átomos a través de los metabolitos en los que se vaya transformando la hormona.

**Comportamiento proceptivo.-** Comportamiento de atracción hacia la pareja.

**Fotoperíodo.-** Período de luz-oscuridad al que está sujeto un individuo.

**Circadiano.-** Que ocurre alrededor de un día.

**Célula blanco.-** Célula hacia la cual se dirige una sustancia.

ABREVIATURAS

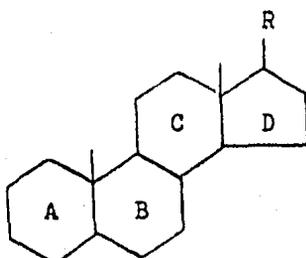
LH	Hormona luteinizante.
FSH	Hormona folículo estimulante.
GnRH	Hormona liberadora de gonadotrofinas.
IP	Proteína inducida.
DHA	Dehidroepiandrosterona.
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida-adenin-dinucleótido.
NADH	Nicotinamida-adenin-dinucleótido (reducido).
NADP <sup>+</sup>	Nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato.
NADPH	Nicotinamida-adenin-dinucleótido-fosfato (reducido).
ATP	Trifosfato de adenosina.
CoA	Coenzima A.
DNA	Acido desoxirribonucleico.
RNA	Acido ribonucleico.
RIA	Radioinmunoanálisis.

## CAPITULO 2

## ESTRUCTURA QUIMICA Y METABOLISMO DE LOS ESTROGENOS

ESTRUCTURA QUIMICA

El colesterol es un alcohol del tipo conocido como esterol. A su vez los esteroides pertenecen a la clase de compuestos denominados esteroides, sustancias cuya fórmula general es:



Los anillos son generalmente alifáticos. Los efectos conformacionales son muy marcados en un sistema cíclico rígido como éste, y son los que a menudo, controlan totalmente el curso de una reacción.

El colesterol es un sistema condensado de cuatro anillos. - Tres anillos de ciclohexano (A, B y C) y un anillo de cinco carbonos (D). La cadena en el C-17 se conoce como la cadena lateral y los grupos metilo (C-18 y C-19) unidos a los carbonos C-13 y C-10, respectivamente son conocidos como los grupos metilo angulares.

Todos los compuestos derivados son numerados como el colesterol. (fig. 2.1)

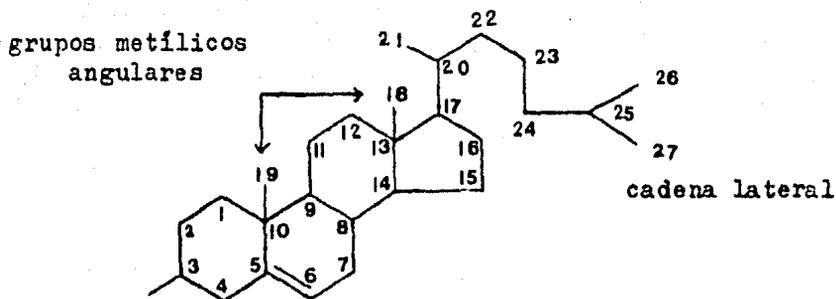


Fig. 2.1 El núcleo del ciclopentanoperhidrofenantreno  
y la secuencia numérica del colesterol.

#### FISION DEL ESQUELETO DEL COLESTANO

1) La fisión del esqueleto colestano entre C-24 y C-25 lleva a la formación de esteroides C-24 (parientes del hidrocarburo colano) a los cuales pertenecen los ácidos biliares. (fig. 2.2)

2) La fisión ocurrida entre C-20 y C-22, lleva a la formación de un numeroso e importante grupo de compuestos basados en su pariente pregnano C-21. A este grupo pertenecen los compuestos progestacionales y los mineralogluocorticoides.

3) El rompimiento del enlace entre C-17 y C-20 lleva a la formación de compuestos que pertenecen a las series de androstanos; parientes del androstano (C-19). La hormona sexual masculina, la testosterona y su metabolito activo, la dihidrotestosterona, pertenecen a estas series.

4) La fisión posterior del androstano C-19, entre el C-10 y el C-19 produce compuestos de las series del estrano (C-18), una estructura encontrada en todos los estrógenos de los mamíferos.

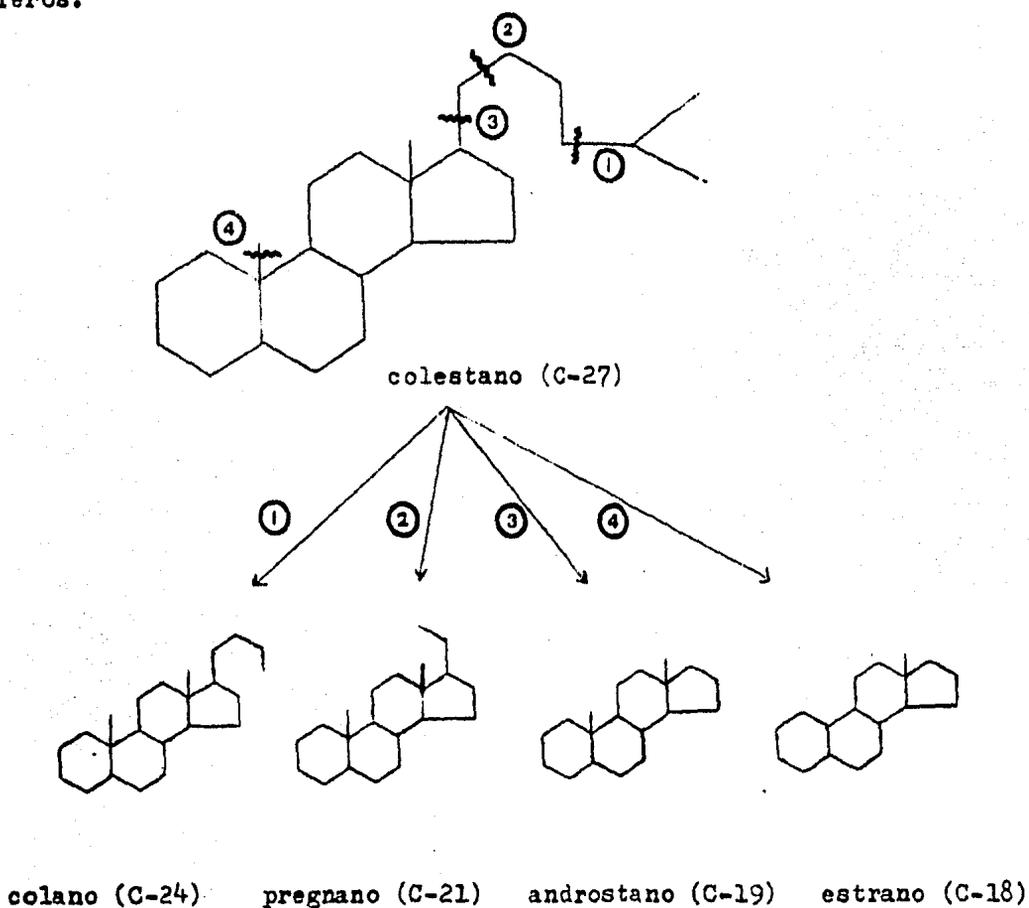
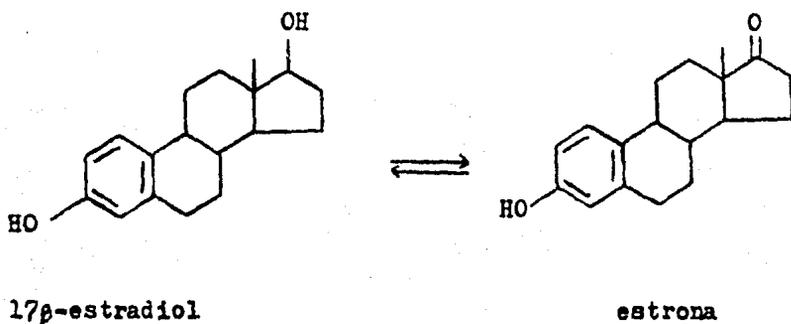


Fig. 2.2 Relación de varios hidrocarburos esteroides de la familia del colestano.

Como se ve, una serie de compuestos parientes entre sí: colestano, colano, pregnano, androstano y estrano son formados.

Virtualmente todos los esteroides pueden ser definidos por referencia a éstos compuestos precursores.

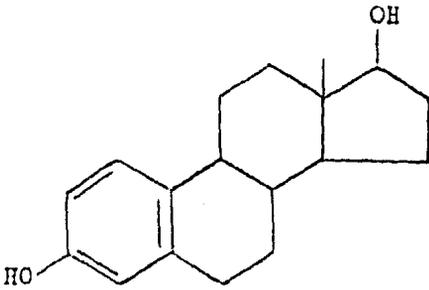
Los esteroides incluyen hormonas sexuales y adrenocorticoides, glucósidos cardíacos y ácidos biliares. Entre las hormonas sexuales se encuentran los estrógenos; la principal hormona estrogénica en la circulación - y la forma más activa de ellas - es el estradiol, el cual se encuentra en equilibrio metabólico con la estrona.



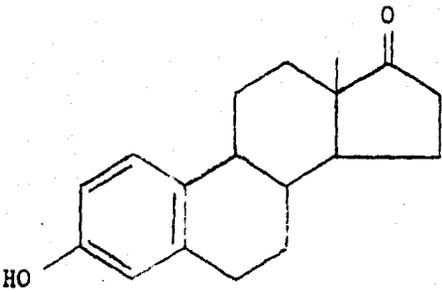
Las hormonas estrogénicas son esteroides C-18 en los cuales, en contraste con todos los otros esteroides naturales, el anillo A es aromático.

En la mujer el estrógeno más activo es el estradiol (estra-1, 3, 5-trien-3, 17β-diol). La estrona también es importante pero tiene menos actividad que el estradiol, y ésta actividad depende de su conversión metabólica a estradiol. El estriol es un

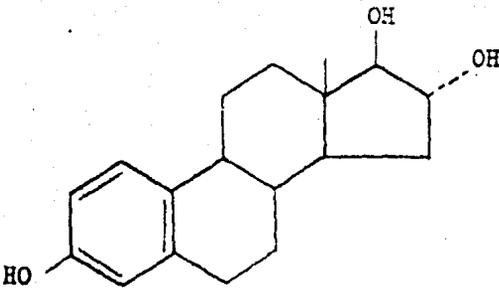
estrógeno débil, pero adquiere gran importancia durante el embarazo. (fig. 2.3)



Estradiol.  
Estra-(1,3,5)trien-3,  
17 $\beta$ -diol.



Estrona.  
3-hidroxi-estra-  
(1,3,5)trien-17-ona.

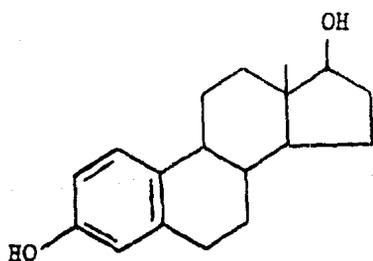
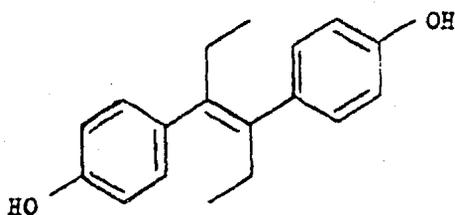


Estriol.  
Estra-(1,3,5)trien-  
3, 16 $\alpha$ , 17 $\beta$ -triol.

Fig. 2.3 Los principales estrógenos.

En la mayoría de las especies, los estrógenos naturales - contienen un anillo A fenólico, aunque en la yegua los compuestos con anillos A y B insaturados parecen ser los estrógenos - principalmente producidos.

La estrogenicidad no está restringida a la estructura esteroide; por lo que muchos compuestos sintéticos como el estilbestrol tienen actividad estrogénica.

17 $\beta$ -estradiol

estilbestrol

Obsérvese que muchos de los compuestos contienen un grupo fenólico y un grupo hidroxilo en el extremo opuesto de la molécula como en el caso del estradiol. La introducción de un grupo etinílico en la posición 17 $\beta$  del estradiol aumenta considerablemente su actividad biológica.

SINTESIS IN VIVO

En el hombre, los estrógenos pueden provenir de cinco fuentes:

- 1.- La corteza adrenal que produce estrona. Las cantidades secretadas son pequeñas, menos de 10  $\mu$ g por día, y no contribuyen significativamente a la poza de estrona corporal.
- 2.- Los testículos. Hasta hace poco, la pregunta de si la producción de estrógenos se efectuaba en los testículos humanos era controversial. Sin embargo, una secreción directa de estrógeno por los testículos ha sido demostrada (Longcope et al. - 1972), esta fuente puede alcanzar hasta el 30 % de la producción total de estrógeno en algunos machos.
- 3.- Los ovarios. En las mujeres premenopáusicas los ovarios son la fuente principal de los estrógenos. La concentración de estrona y de estradiol es mayor en el plasma venoso de un ovario activo, en el cual ocurre la ovulación. Los estrógenos son producidos en forma bifásica durante el ciclo menstrual y son sintetizados tanto en el folículo ovárico como en el cuerpo luteo.
- 4.- Otros tejidos. Está bien establecido ahora, que los tejidos periféricos son capaces de producir estrógenos a partir de precursores C-19 (Mac Donald et al. 1971). En mujeres postmenopáusicas, la mayoría de los estrógenos producidos, prin-

principalmente la estrona, es derivada de la androstenediona del plasma. Mientras que en las mujeres premenopáusicas la conversión directa de testosterona en estradiol es de menor importancia (0.15 %) debida a la baja producción de testosterona. Esta conversión en los hombres es mayor ya que forma casi la mitad de la producción del estradiol total.

5.- La unidad fetoplacentaria es responsable de las grandes cantidades de estrógenos producidos durante el embarazo.

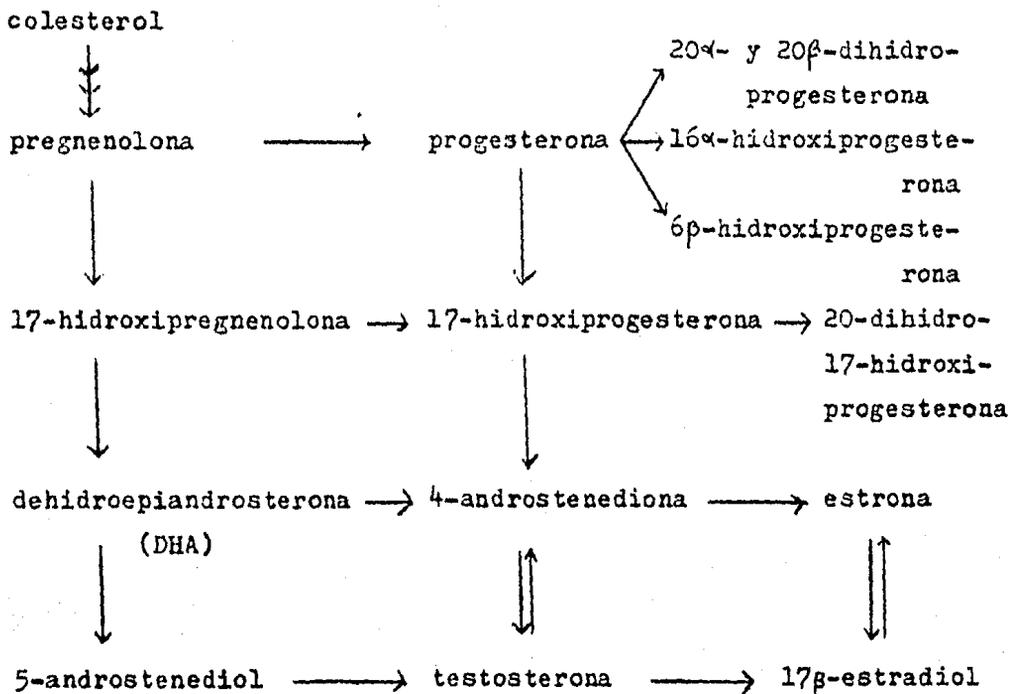
#### BIOSINTESIS EN EL OVARIO

La conversión del colesterol a androstenediona y a testosterona en los tejidos endócrinos, involucra por un lado la 17-hidroxi pregnenolona y la dehidroepiandrosterona; y por otro lado, la progesterona y la 17-hidroxiprogesterona.

En el tejido folicular hay evidencia de que existen ambas rutas metabólicas, sin embargo, la pregnenolona es un mejor precursor para los esteroides C-19 que la progesterona, en los ovarios sin cuerpo luteo.

La biosíntesis de los estrógenos en el ovario es complicada por el constante cambio de población de las células en este tejido: como el proceso de desarrollo folicular, la ovulación y la formación del cuerpo luteo, así como también la regresión recurrente en cada ciclo menstrual.

## Transformaciones en la biosíntesis de esteroides ováricos:



La producción in vivo de esteroides por el ovario también ha sido estudiada por perfusión del mismo. Bajo éstas condiciones, el estradiol fue el principal esteroide detectado en la sangre venosa ovárica.

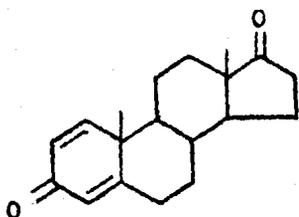
ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA CONVERSION DE ESTEROIDES C-19  
A ESTEROIDES C-18 (ESTROGENOS)

La biosíntesis de los estrógenos ocurre a partir de la 4- - androstenediona y la testosterona por la vía de sus 19-hidroxi - derivados.

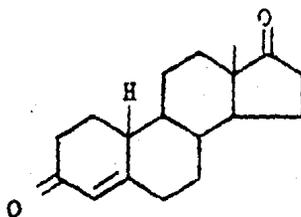
Las enzimas participantes llamadas 19-hidroxilasa, 19-oxi- - dasa y C-10, C-19 liasa se encuentran en el ovario y la placenta, y requieren NADPH y oxígeno para su actividad.

Después de la 19-hidroxilación, se piensa que la oxidación ocurre en el esteroide C-19-oxo, ya que la 19-oxo-4-androstene- - diona puede servir como un sustrato para la biosíntesis de es- - trona, lo mismo que la 19-hidroxi-4-androstenediona. Finalmen- - te el aldehído en C-10 es removido como formaldehído y se intro- - ducen un doble enlace, la liasa C-10, C-19 y el grupo metílico - angular.

La introducción de un enlace doble en el anillo A involu- - cra la remoción de un hidrógeno en C-1 y C-2. Este proceso ocurre después de la 19-hidroxilación (u oxidación), pero antes de eli- - minar al grupo metílico angular.

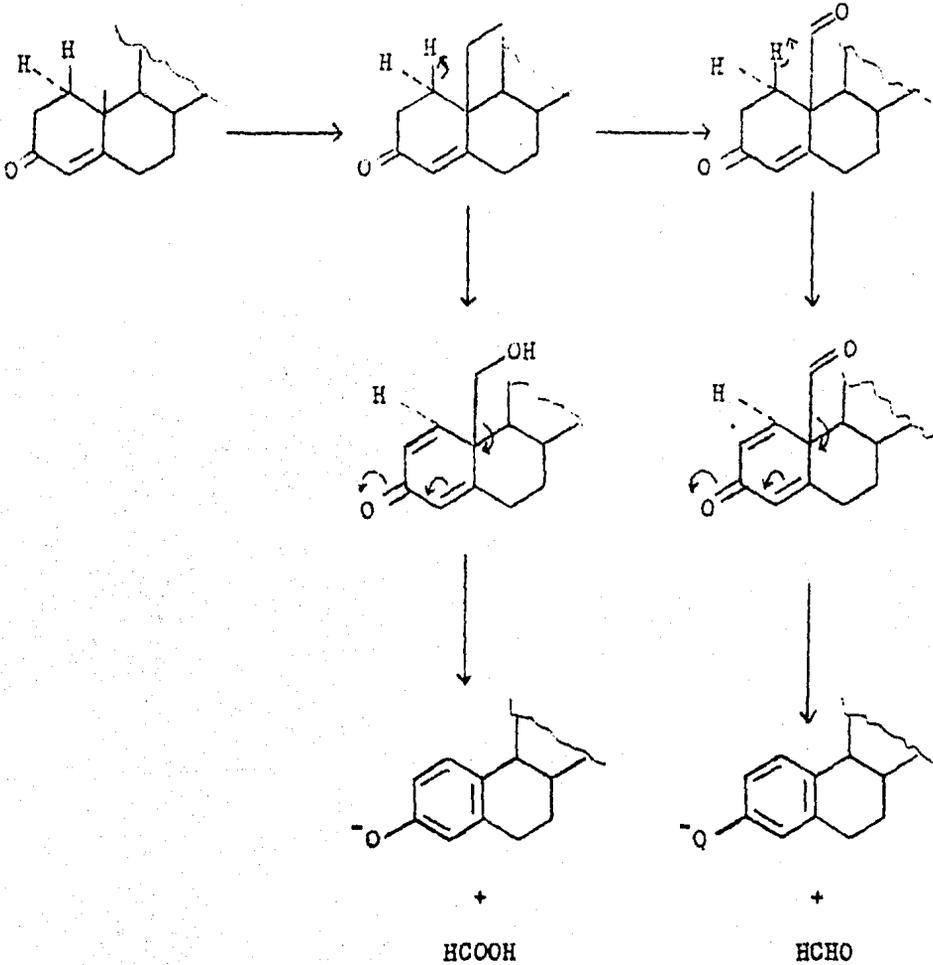


1, 4-androstadien-3, 17-diona



19-nor-4-androstenediona

Un posible mecanismo de reacción es la remoción del átomo de hidrógeno del C-2 explicando la formación del doble enlace, como resultado de la enolización del grupo carbonílico C-3.



La 16 $\alpha$ -hidroxilasa es una enzima microsomal, que requiere de NADPH y condiciones aeróbicas para su actividad, está presente en el hígado, los testículos, los ovarios y la corteza adrenal. Los sustratos típicos son pregnenolona, progesterona, testosterona y DHA.

La hidroxilación de la DHA, que ocurre en el feto pero no en la placenta, es especialmente importante en la síntesis de estriol. El 16-hidroxi derivado pasa a la placenta para su aromatización y el estriol resultante es excretado en la orina materna. El nivel de estriol es por lo tanto una indicación útil de la viabilidad del feto.

La inhibición de la 16 $\alpha$ -hidroxilación testicular de pregnenolona, progesterona y testosterona han sido demostradas en las series de drogas SU (series de esteroides sintéticos), (Gower, 1972).

## BIOSINTESIS DE LOS ESTROGENOS.

Por medio de acetato marcado se ha podido seguir la ruta de biosíntesis de los estrógenos (págs. 29-30).

Tres moléculas de ácido acético activadas, por estar químicamente unidas a la coenzima A (CoA), son condensadas para formar la  $\beta$ -hidroxi- $\beta$ -metil glutaril-CoA. Esta a su vez es reducida por reacciones que requieren NADPH, a ácido mevalónico, un compuesto de seis carbonos, el cual es fosforilado en tres pasos por el ATP y es descarboxilado para dar isopentenilpirofosfato, que existe en equilibrio con el dimetilalilpirofosfato.

Los dos compuestos C-5 son ahora condensados para formar el geranilpirofosfato (C-10). La unión de una molécula adicional de isopentenilpirofosfato forma el compuesto farnesilpirofosfato (C-15). Se condensan ahora dos moléculas de éste compuesto, cabeza con cabeza, para formar el escualeno, un compuesto originalmente encontrado en el aceite de tiburón, pero que ahora sabemos que está presente en muchos tejidos de mamíferos.

Un ataque por oxígeno molecular en uno de los extremos de la molécula, en presencia de NADPH, realiza una serie de interacciones que llevan a la formación de enlaces carbono-carbono y la producción de lanosterol (C-30). Este esteroide es la molécula más grande de la serie. En cierto sentido, todo lo que sigue es el rompimiento de lo que ya se ha edificado; la energía

de ATP requerida en los pasos iniciales, ya no es necesaria.

El lanosterol pierde tres metilos para convertirse en co- -  
lesterol (C-27). Este se convierte en pregnenolona, primero por  
medio de las  $20\alpha$  y  $22\alpha$  hidroxilasas y después por las  $20\alpha$  y  $22\alpha$   
liasas se elimina la cadena lateral. La pregnenolona por medio -  
de la C-17-hidroxilasa se transforma en 17-hidroxiprogesterona,-  
por adición de un hidroxilo en el C-17.

Las liasas C-17 y C-20 dan lugar a la dehidroepiandrosterona  
(DHA), al eliminar un hidróxido y un metilo en los carbonos -  
correspondientes. Una isomerasa deshidrogenasa cambia la doble -  
ligadura C-5, C-6 a los carbonos C-4 y C-5 y transforma el hi -  
droxilo en el grupo ceto del C-3 dando lugar a la 4-androstene-  
diona. La hidroxilasa C-19 introduce un hidroxilo en ese carbono  
para producir la 19-hidroxi-4-androstenediona. Las liasas C-10,-  
C-19 eliminan el carbono 19 y producen la aromatización del ani-  
llo A, cambiando también el grupo ceto del C-3 por un hidroxilo,  
dando lugar a la formación de estrona, uno de los principales -  
estrógenos.

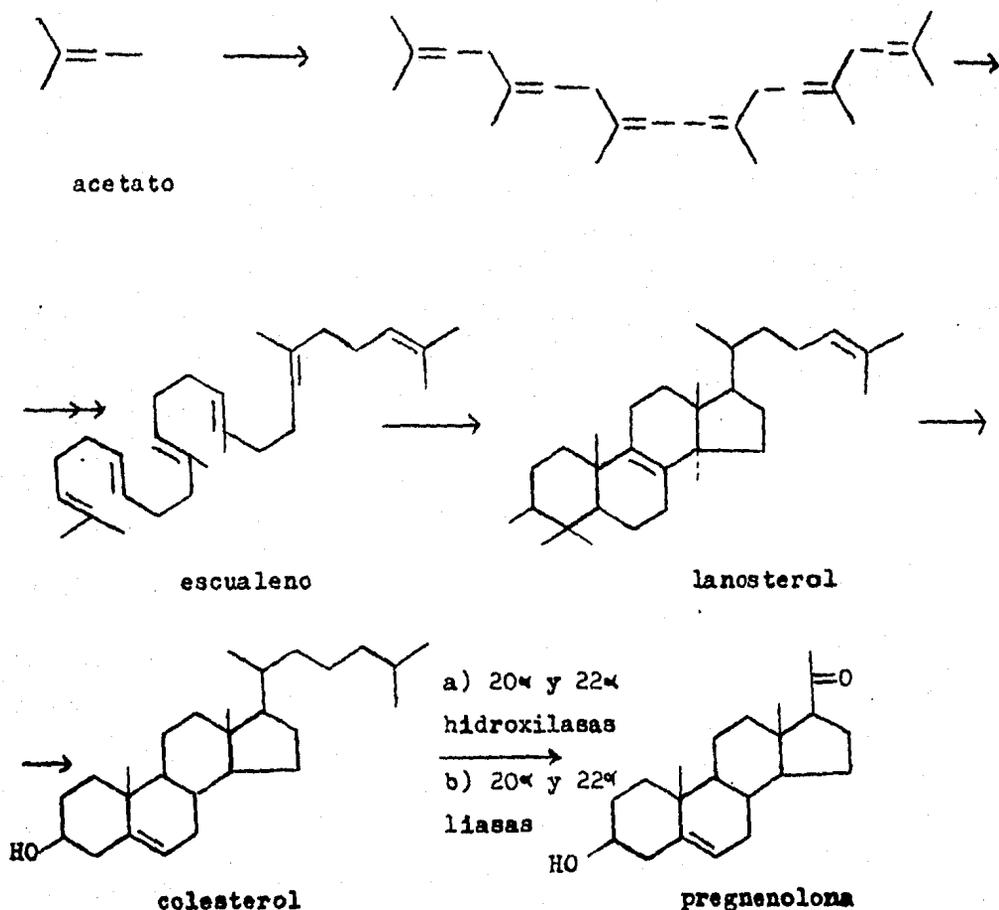
Por otro lado, siguiendo otra transformación se obtiene la  
testosterona a partir de la 4-androstenediona, con la cual se -  
encuentra en equilibrio. La testosterona por medio de la 19-hi-  
droxilasa produce la 19-hidroxitestosterona.

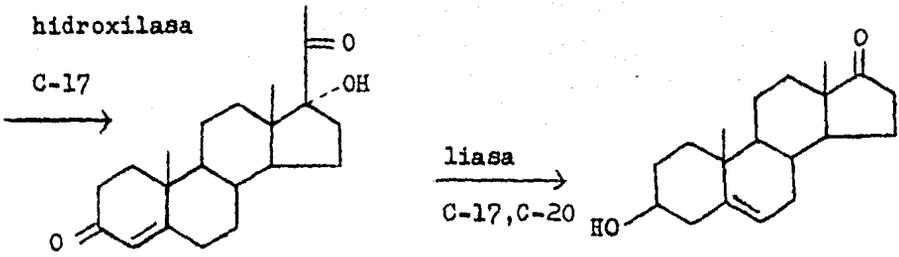
La hidroxilasa C-19 y la oxidasa C-19 transforman a este -  
carbono en aldehído, el cual se elimina posteriormente por medio

de la liasa C-10 y la C-19 aromatizando al anillo A y transformando el grupo ceto del C-3 en hidroxilo, lo que trae en consecuencia la formación del estradiol.

Las transformaciones de la estrona y del estradiol dan lugar a la formación del estriol, que adquiere gran importancia durante el embarazo.

### Biosíntesis de los principales estrógenos.

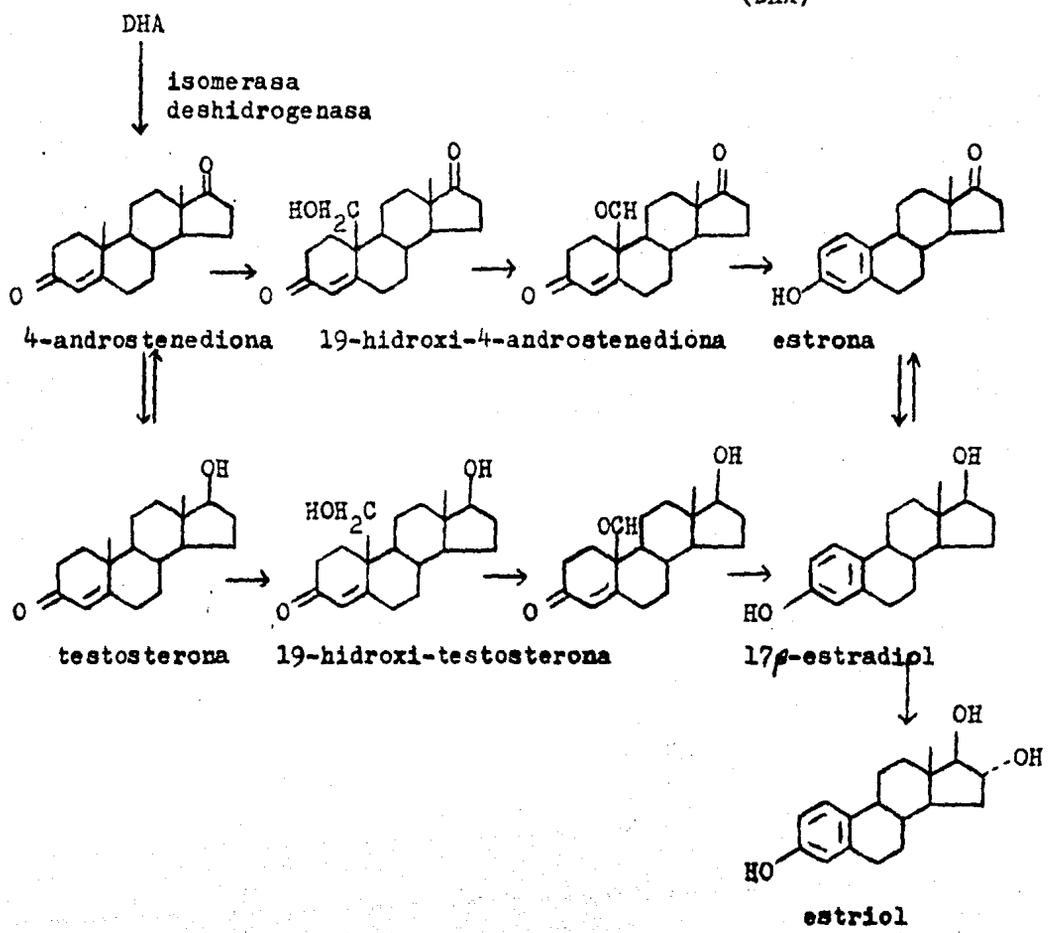




17-hidroxiprogesterona

dehidroepiandrosterona

(DHA)



## CATABOLISMO Y EXCRECION DE ESTEROIDES

Los esteroides son sustancias hidrofóbicas, y las reacciones catabólicas no solamente inactivan la función fisiológica de éstas hormonas, sino que vuelven a la molécula esteroide más hidrofílica.

Las reacciones catabólicas son en su mayoría reductivas y ocurren principalmente, aunque no exclusivamente en el hígado.

Para hacer a las moléculas esteroides aún más solubles en agua, la mayoría de los productos catabólicos de las hormonas esteroides son conjugados como glucurónidos y sulfatos, antes de ser excretados por la orina.

Una de las formas estructurales de la mayoría de las hormonas esteroides secretadas (con excepción de los estrógenos) es la configuración 4-en-3-oxo en el anillo A.

El primer paso en la reducción del anillo A utiliza dos enzimas, una 4-ene-5 $\beta$ -reductasa y una 4-ene-5 $\alpha$ -reductasa. El segundo paso utiliza las enzimas 3 $\alpha$  y 3 $\beta$ -hidroxi esteroide deshidrogenasas (3-HOSDH).

### ESTROGENOS

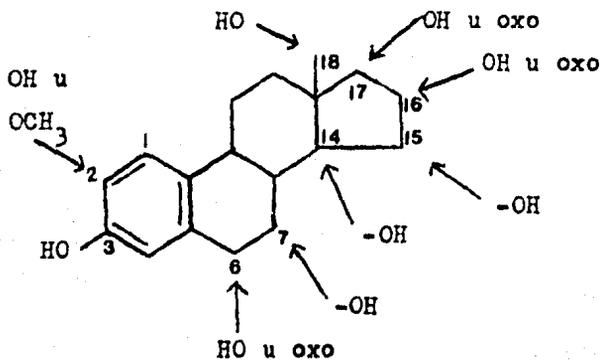
En el caso del 17 $\beta$ -estradiol, la estrona y el estriol; la inactivación no tiene lugar por medio de la reducción del anillo

A aromático. Las reacciones que ocurren son:

- la oxidorreducción del grupo  $17\beta$ -hidroxil por medio de la  $17\beta$ -hidroxi esteroide deshidrogenasa.
- hidroxilación al C-2 con subsecuente metilación.
- hidroxilación posterior o formación de cetona en otras posiciones notables como en C- $6\alpha$ , C- $6\beta$ , C- $7\alpha$ , C- $14\alpha$ , C- $15\alpha$ , C- $16\alpha$ , C- $16\beta$  y C-18.

Sin embargo, el  $17\beta$ -estradiol y la estrona son interconvertibles por la reacción a); la manera puede ser por hidroxilación y subsecuente metilación en el C-2 para dar 2-metoxi-estradiol.

Una variedad de derivados oxigenados del estradiol y la estrona han sido reportados en tejidos y en la orina, por ejemplo, los 6- y 7-hidroxi u oxo derivados de la estrona. La formación de la mayoría de los metabolitos se ilustra a continuación:



**Catabolismo estrogénico.**

Además de esta ruta principal se conocen otras dos:

- d) desmetilación de los metoxi-derivados del estradiol, la estrona y el estriol.
- e) epoxidación. Hay buena evidencia (Gower, 1972) de que el doble enlace en los carbonos C-16 y C-17 de un estrógeno débil como el 1, 3, 5 (10), 16-estra-tetra-en-3-ol, que puede ser convertido primero in vivo a 16, 17-epóxido y después a un 16, 17-glicol dando como producto final al estriol.

Los estrógenos son excretados en la orina, principalmente como glucurónidos y sulfatos, mientras que los derivados polares 6- y 7-oxigenados (como el 6-hidroxi-estriol) parecen ser suficientemente solubles en agua para ser excretados en forma no conjugada en la orina.

No obstante, la mayoría de los estrógenos son excretados en la bilis y en las heces (Adlercreutz, 1967).

## PROPIEDADES DE LAS ENZIMAS

 $17\beta$ -hidroxi esteroide deshidrogenasa ( $17\beta$ -OHSDH).

Esta enzima microsomal cataliza la oxidación reversible de los  $17\beta$ -hidroxi esteroides, de las correspondientes cetonas. Por ejemplo, de testosterona a 4-androstenediona. Se ha encontrado en el hígado, el riñón, los testículos y la corteza adrenal.

Para la  $17\beta$ -OHSDH se requiere NADH como cofactor, pero en la enzima testicular de la rata se requiere NADPH, pues el NADH no es efectivo.

Recientemente se ha mostrado un sistema similar pero separado de la  $17\beta$ -OHSDH en el citosol de preparaciones adrenales de la rata. El estradiol, la testosterona, la  $5\alpha$ -DHT y la epiandrostero-  
terona se unen firmemente a esta enzima.

 $17\beta$ -estradiol deshidrogenasa.

Esta enzima reside en la fracción soluble del tejido placentario y cataliza la interconversión del  $17\beta$ -estradiol y la estrona. Se requieren  $\text{NAD}^+$  o  $\text{NADP}^+$  como cofactores.

Se piensa que esta transhidrogenación estrógeno-dependiente puede estar asociada con la actividad de la  $17\beta$ -deshidrogenasa, el estradiol actúa como una coenzima que media la transferencia del hidrógeno desde el NADPH al  $\text{NAD}^+$ .

Existe evidencia que indica que dos enzimas están presentes

en el tejido placentario. Una de ellas, la que lleva a cabo la transhidrogenación del estradiol al  $\text{NAD}^+$  o al  $\text{NADP}^+$ , es completamente inactivada por una solución de  $\text{NaCl}$  1.6 M; en contraste, la segunda enzima es activada 2.5 veces más con  $\text{NaCl}$  1.6 M (Gower, 1975 c).

También hay una transhidrogenasa estradiol-dependiente, pero no está asociada con la actividad de la  $17\beta$ -estradiol deshidrogenasa.

#### ENZIMAS INVOLUCRADAS EN LA FORMACION DE LOS ESTEROIDES CONJUGADOS

##### Sulfoquinasas.

Estas enzimas son requeridas para la conversión de ciertos esteroides a sus correspondientes sulfatos. Estan presentes en la fracción soluble de las células de los testículos, la placenta, el hígado y la corteza adrenal, en la zona fascicular y la zona reticular; no hay actividad de sulfoquinasa en la zona glomerular.

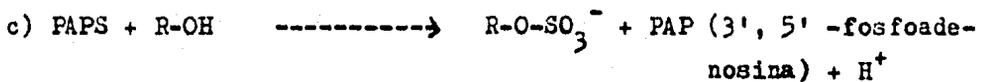
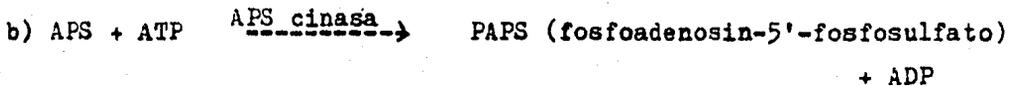
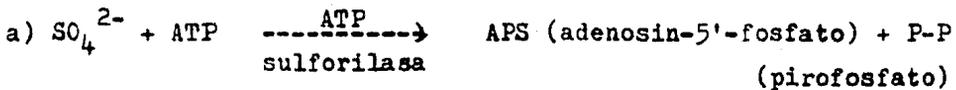
Las propiedades de estas enzimas han sido revisadas por Wang y Bulbrook en 1968. Las sulfoquinasas exhiben cierta especificidad por algunos sustratos, los principales parecen ser los 5-ene- $3\beta$ -hidroxi esteroides como el DHA y los correspondientes compuestos sulfatados con el anillo B reducido, como el  $3\beta$ -hi-

droxi-5 $\beta$ -androstan-17-ona.

Las enzimas requieren iones sulfato y magnesio para su actividad, la estructura involucrada como sulfato "activa", el fosfoadenosin fosfosulfato (PAPS) también es necesaria.

Así pues, se han descrito tres reacciones:

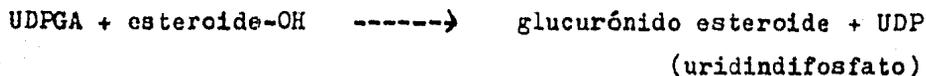
- la sulfatación del ATP por el ion sulfato y la enzima ATP - sulfurilasa.
- la fosforilación del adenosin-5'-fosfato bajo la influencia de la APS cinasa para formar el PAPS.
- la reacción del sulfato "activo" con el grupo hidroxilo del esteroide.



#### Glucuronil transferasas.

Estas enzimas microsomales del hígado son responsables de la conjugación de ciertos esteroides como glucurónidos. El proceso es conocido como la transferencia del ácido uridin difosfo-

glucurónico (UDPGA) al esteroide.



#### ENZIMAS USADAS EN LA HIDROLISIS DE CONJUGADOS ESTEROIDES

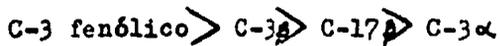
##### Sulfatasas.

Estas enzimas microsomales están presentes en algunos tejidos, incluyendo el hígado, los testículos, la corteza adrenal, los ovarios y la placenta. Llevan a cabo la hidrólisis de sulfatos de esteroide como el DHA y otros 5-ene-3 $\beta$ -hidroxi-esteroides. No ha sido posible separar totalmente las sulfatasas de muchas otras enzimas presentes en los microsomas.

##### Glucuronidasas.

Estas enzimas están presentes en las células de la mucosa intestinal, pero su posible importancia fisiológica no ha sido determinada.

Su actividad hidrolítica depende en gran parte de la estructura del sustrato y del sitio de conjugación. Se encontró que la velocidad de hidrólisis en este orden:



## EXCRECION DE LOS METABOLITOS URINARIOS

Excepto por los compuestos polihidroxilados, la mayoría de los metabolitos de los corticosteroides, los andrógenos, etc., son excretados en la orina como sulfatos solubles en agua o como conjugados glucurónidos (o en algunos casos como ambos).

En el caso de los estrógenos, éstos se excretan principalmente como glucurónidos pero también como sulfatos.

### PRESENCIA Y CONCENTRACION DE ESTROGENOS EN EL PLASMA

La estrona, el estradiol y el estriol se encuentran en forma libre y en forma de glucurónidos y sulfatos. En particular , el sulfato de estrona se considera como la forma principal de estrógeno en el plasma. Hawkins y Oakey en 1974 midieron la concentración de varios estrógenos libres en el plasma y encontraron que la concentración del sulfato de estrona fue mayor que la del estradiol y que la de estrona.

## EFFECTOS FISIOLÓGICOS DE LOS ESTROGENOS

Los estrógenos son los responsables del desarrollo de los órganos sexuales femeninos y del desarrollo de las características sexuales secundarias. La principal acción de los estrógenos es sobre el crecimiento y la función del tracto reproductor, al cual prepara para recibir al óvulo fertilizado.

En muchas de sus acciones los estrógenos actúan sinérgicamente con otra hormona ovárica: la progesterona. Durante el embarazo, los estrógenos actúan con la progesterona para mantener la gestación.

Los estrógenos son las sustancias que producen los signos de "calor" o estro en los roedores hembras. Su acción está asociada con la presencia del ácido fólico. Incrementan la fosforilación oxidativa en algunas células y también la absorción de aminoácidos y fosfatos; además se ha detectado aumento en la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, glucógeno y lípidos. Esta acción anabólica de los estrógenos se lleva a cabo en sus órganos blanco.

Varios procesos anabólicos celulares, proveen las condiciones necesarias para la hipertrofia e hiperplasia de las células. Estos procesos son: incremento en la circulación sanguínea debido a la liberación de aminas biogénicas (acetilcolina, histamina, serotonina), que aumentan la permeabilidad celular y la oxi-

dación, suministrando energía biológica utilizable en forma de - ATP.

Los estrógenos también causan retención de nitrógeno, sodio, calcio y fósforo. La retención de sodio es elevada en el espacio extracelular.

#### ACCION SOBRE LOS ORGANOS REPRODUCTIVOS

Los estrógenos causan vascularización, aumento de la circulación y la turgencia en la vulva. La vagina aumenta en extensión y se vuelve más elástica. El epitelio vaginal es más sensible a los estrógenos que el endometrio.

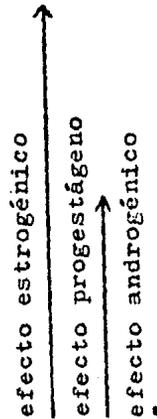
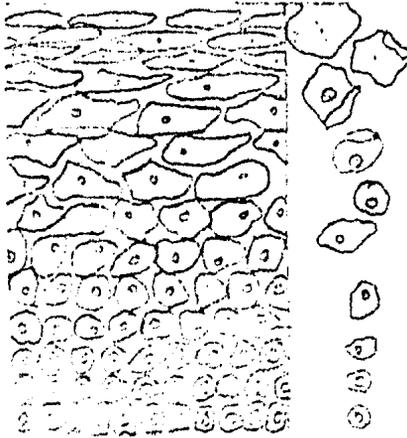
En la diferenciación celular vaginal hay un incremento en las láminas celulares con formación de prequeratina en la capa superficial. Al mismo tiempo, el glucógeno es almacenado de la zona parabasal hacia el lumen. Esta reacción también ha sido observada en el endometrio y en el miometrio. Los resultados obtenidos por estimación química de la secreción estrogénica y la citología vaginal de los frotis, son ampliamente consistentes. Hay aumento del número de células superficiales, poligonales con gran superficie que aparecen bajo la influencia de los estrógenos (Papanicolaou, 1946; De Neef, 1967).

células  
superficiales

células  
intermedias

células  
parabasales

células  
basales



Estas células tienen un núcleo no estructurado, picnótico, frecuentemente asociado con una cámara perinuclear; el citoplasma es transparente y acidófilo. Las células están separadas y forman el 40 - 80 % de las células de descamación. Más allá de estas células cornificadas se encuentran las no cornificadas y las cariopinóticas.

El frotis vaginal también revela la presencia de leucocitos, eritrocitos, fibrina y moco en cantidades variables, dependiendo de la fase del ciclo.

La proliferación epitelial, el almacenaje de glucógeno y el aumento de las células de descamación superficiales e intermedias, causado por la acción de los estrógenos y la progesterona, son procesos fisiológicos de importancia básica en la llamada autopurificación de la vagina.

Estos procesos alcanzan su máximo al tiempo de la ovulación, el cual depende de las secreciones de los esteroides sexuales.

Los estrógenos causan una acción anabólica en las células musculares del útero, junto con un aumento de ATP y de proteína contráctil (actomiosina). La intensidad y la frecuencia de la actividad miometrial también se ve aumentada. En contraste, la progesterona disminuye la frecuencia de contracción de las células miometriales y su habilidad de respuesta a la oxitocina; también disminuye la concentración intracelular de potasio.

Otros cambios característicos ocurren por la estimulación del estrógeno: aumenta la dilatación del útero, así como la cantidad de secreciones en el mismo. La transparencia, elasticidad y capacidad de penetración del moco por el esperma también son aumentadas. La viscosidad y el contenido de leucocitos y bacterias disminuyen.

Pueden ser diferenciadas tres fases funcionales e histológicas:

- 1) la fase proliferativa, de regeneración estrogénica o preovulatoria.
- 2) la fase secretora, transformativa progestágena o post-ovulatoria.
- 3) la fase de descamación.

La influencia proliferativa de los estrógenos puede ser reconocida histológicamente por aumento en el número de mitosis

en el epitelio glandular y en el estroma. La transformación secretoras ocurre en el endometrio previamente preparado por los estrógenos.

#### ACCIONES EXTRAGENITALES

Los efectos generales de los estrógenos son el desarrollo de las características sexuales secundarias, como se puede observar en el desarrollo de los senos, la figura típica del cuerpo femenino, la textura de la piel y el crecimiento de pelo en la mujer; y de otras características sexuales secundarias en otras especies.

Los esteroides sexuales influyen en el estado reactivo autónomo, probablemente a través de los centros autónomos en el hipotálamo.

Los estrógenos aceleran la fusión epifisial e incrementan el depósito de calcio en los huesos por estimulación de la actividad osteoblástica. Influyen en la composición de la sangre por aumento de los componentes proteínicos y por el agua. La concentración de yodo unido a proteínas también aumenta. Los estrógenos causan disminución en los niveles de colesterol y en la relación colesterol/fosfolípidos en la sangre.

La fosforilación oxidativa se incrementa en las células; así como la producción de ATP, la toma de aminoácidos y fosfatos

y la síntesis de RNA y proteínas (Schreiner, 1965).

Los estrógenos aumentan el fluido intersticial extracelular. Actúan directamente sobre los tejidos causando crecimiento celular y permeabilidad capilar en el útero, así como despolimerización de polisacáridos del tejido.

El efecto de retención de agua es especialmente evidente - cuando se combina con la acción de la progesterona en el período premenstrual. Esta acción secundaria sinérgica sobre la retención de agua puede ser debida a la acción natriurética primaria de la progesterona, que causa un aumento en la secreción de aldosterona y posiblemente también de la desoxicorticosterona.

El efecto hiperémico de los estrógenos en los órganos genitales, la piel, el cerebro y el miocardio, es debido probablemente a un aumento en la cantidad de acetil colina liberada localmente.

Los estrógenos ejercen un efecto hipotérmico, mientras que la progesterona ejerce un efecto termogénico. Esto probablemente es debido a una acción central. La acción de los estrógenos sobre el hipotálamo es dependiente del tipo y cantidad de estrógenos, así como de la duración y tiempo del inicio de su acción. Dosis bajas de estrógenos estimulan la secreción de gonadotrofinas; grandes dosis de estrógeno por varios días reducen ésta secreción casi por completo. El efecto inhibitor central de la progesterona es menor.

A continuación se resumen los efectos biológicos de los estrógenos:

**METABOLISMO.** Efecto anabólico. Circulación y permeabilidad aumentadas. Incremento del depósito de aminoácidos, carbohidratos, lípidos y fosfatos en la célula; aumento en la oxidación celular y la síntesis de ATP. Retención de sodio y agua; crecimiento; disminución de la temperatura.

**VAGINA.** Aumento del número de células superficiales, aumento en los índices acidófilos y picnóticos; almacenaje de glucógeno.

**CERVIX.** Dilatación del útero y canal cervical. Aumento en la cantidad de moco; el cual es claro, de baja viscosidad, con aumento de elasticidad, alcalino, penetrable por el esperma. Aumento en la cantidad de carbohidratos.

**ENDOMETRIO.** Proliferación. Abundante mitosis en el epitelio glandular y el estroma, capas múltiples en éstos tejidos y pronunciado aumento en la fosfatasa alcalina.

**MIOMETRIO.** Aumento en la intensidad y frecuencia de la actividad del miometrio, aumento de la tensión isométrica, aumento en el contenido de ATP y actomiosina; aumento de respuesta a la oxitocina; aumento de la circulación.

**OVARIO.** Crecimiento; sensibilización a las gonadotropinas.

Los estrógenos también influyen en la secreción gonadotrófica de la hipófisis. Las hormonas gonadotróficas actúan sobre las gónadas. A este grupo de hormonas, pertenecen la hormona folículo estimulante (FSH), que actúa sobre el ovario, estimulando el desarrollo y la maduración de los folículos ováricos y la síntesis de estrógenos. En el sexo masculino estimula la espermatogénesis.

Otra hormona gonadotrófica es la hormona luteinizante (LH), que origina la ovulación y el desarrollo del cuerpo luteo en el ovario, que a su vez produce la progesterona. En el hombre actúa en las células intersticiales del testículo, estimulando la secreción de andrógenos.

La más importante de las acciones de las gonadotrofinas en lo que concierne al ovario es la secreción esteroideal, ya que constituye la señal retroalimentadora. Es decir: durante el crecimiento del folículo, que ocurre como resultado de la acción combinada de FSH y una pequeña cantidad de LH, hay secreción estrogénica acompañada de pequeñas cantidades de progesterona en algunas especies. La secreción de los estrógenos estimula la liberación de LH, la cual promueve la ovulación y la secreción de progesterona. Con la conversión del folículo en cuerpo luteo, producida por una gran descarga de LH circulante, son secretadas grandes cantidades de progesterona por el ovario, acompañadas por alguna secreción de estrógeno.

Este sistema es cíclico y se regula por medio de retroalimentación negativa, esto es: la liberación a la circulación de FSH y LH provocan la secreción de estrógenos y progesterona respectivamente; las cuales al aumentar su concentración circulante inhiben la secreción de las hormonas liberadoras de FSH y LH, también llamadas hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH).

Sucede lo contrario cuando los niveles de hormona circulante disminuyen; entonces se estimula la secreción de GnRH y comienza así de nuevo el ciclo. De esta manera, la regulación del ciclo sexual está dada por la secreción de las gonadotropinas hipofisarias y por el hipotálamo a través de la GnRH.

En los mamíferos, los ciclos sexuales se dividen en estrales y menstruales. La rata tiene un ciclo estral de cuatro a cinco días, y comprende cuatro fases sucesivas: diestro, proestro, estro y metaestro; las cuales pueden ser distinguidas por medio de un examen microscópico de las células de descamación vaginal.

En el estro la pared uterina se encuentra en condiciones favorables para la implantación, a la vez que ocurre la ovulación y la hembra es receptiva a la monta del macho.

La sucesión de fases en el ciclo estral es consecuencia de la producción cíclica y alterna de estrógenos y progestágenos por el ovario, cuyo blanco principal es el útero.

De la misma manera, estas hormonas son las responsables de la diferenciación del epitelio vaginal. Se sabe que los es-

trógenos, cuya acción es de proliferación y diferenciación de los tejidos, tienen un aumento de concentración en el proestro, lo cual provoca el estro. Por otra parte, la progesterona se encarga de la proliferación glandular del estroma preparatorio para un posible embarazo, y presenta picos al final del metaestro y del proestro. La acción de los estrógenos modifica el tejido uterino promoviendo una mayor permeabilidad capilar y la diferenciación celular necesaria para la aparición de los sitios de implante.

## CAPITULO 3

## MECANISMO DE ACCION DE LOS ESTROGENOS

RECEPTORES A HORMONAS ESTEROIDES

Las hormonas secretadas por las glándulas endócrinas pueden influir en el funcionamiento de las células en tejidos aparentemente no relacionados y distantes. En el efecto de éstas moléculas reguladoras hay una gran especificidad: todas las células están expuestas a las hormonas, pero sólo algunas responden a ellas.

Los efectos de un tipo de hormonas, las hormonas esteroides, son particularmente complejos. Los esteroides son moléculas pequeñas y no resulta obvio cómo pueden incorporar suficiente información en su estructura para dar una adecuada especificidad y ejercer sus diversas influencias.

El interés en las hormonas esteroides va más allá de la endocrinología, porque se ha encontrado que las hormonas estimulan a las células a través del control de la síntesis de proteínas particulares. La síntesis proteica es un proceso central en el metabolismo de la célula, y es expresado directamente por la información de los genes.

Se han diseñado estudios para averiguar la secuencia de eventos de respuesta a los efectos de las hormonas esteroides en las células blanco endócrinas, que han llevado a muchos investigadores a considerar al núcleo como el sitio primario de

la acción hormonal.

Jensen sugirió en 1968 el modelo del mecanismo de acción de las hormonas esteroides; el modelo de "dos pasos" propuesto, involucra un mecanismo que a grandes rasgos es este: la acción de las hormonas esteroides está mediada por moléculas receptoras que se encuentran solamente en las células que responden a la hormona (células blanco). En las células no blanco, la hormona se difunde dentro de la célula y su concentración intracelular permanece baja.

En una célula blanco, la hormona es secuestrada por las moléculas receptoras. Cada molécula receptora se une a dos moléculas de hormona formando un complejo hormona-receptor, que entra en el núcleo y se une a la cromatina.

El complejo estimula la transcripción de genes particulares por medio del mRNA, cuya información es traducida a proteínas en los ribosomas.

#### EL CONCEPTO DE "RECEPTOR"

El concepto de "receptor" de hormona esteroide resultó inicialmente de estudios realizados por Jensen y Jacobson en 1962. En esos experimentos se inyectaron cantidades fisiológicas de estradiol radiactivo a ratas inmaduras. Se observó que solo el tejido blanco era capaz de retener el estradiol marcado, en con-

tra de un gradiente de concentración en la sangre. Estas observaciones fueron confirmadas tanto por métodos bioquímicos como por métodos autorradiográficos, y fueron extendidas a numerosas especies de vertebrados.

Con la homogeneización de un tejido blanco, el tejido uterino, se mostró que existía una proteína soluble en el citoplasma capaz de unir al estradiol marcado. Esta proteína enlazante fue considerada como "receptor", por su capacidad de unir estrógenos en los tejidos blanco, su gran afinidad de enlace con ellos y su atracción específica por los estrógenos biológicamente activos, ya fueran naturales o sintéticos.

En realidad no está bien empleado el término "receptor", puesto que un receptor es una estructura unida a la membrana celular. En este caso, la proteína "receptora" es una proteína acarreadora de esteroides. Sin embargo el término "receptor" es ampliamente utilizado.

La molécula de enlace de los estrógenos es termolábil, no dializable y precipitable con sulfato de amonio. Cuando los úteros de ratas homogeneizados fueron incubados con varias enzimas, el enlace molecular fue destruido por las enzimas proteolíticas pero no por las ribonucleasas o desoxirribonucleasas. Este resultado sugirió que al menos el sitio de unión molecular activo podía ser de naturaleza proteica, es decir el receptor era una proteína.

En la ultracentrifugación a través de un gradiente de sacarosa, el complejo citoplasmático hormona-receptor sedimentó como una banda discreta cercana a 8S (Toft y Gorski, 1966).

La adición de KCl 0.3 M a esos gradientes, resultó en una transformación reversible de este complejo 8S a una forma de sedimentación mas lenta, 4S (Korenman y Rao, 1968). De esta manera el receptor parecía contener una unidad 4S enlazante a estradiol, que bajo condiciones de baja concentración ionica se encuentra asociada con otras entidades enlazantes para formar el complejo de la forma 8S.

Hasta ahora no ha sido posible determinar el tamaño exacto o la configuración de un receptor en su estado natural en la célula entera.

Las generalidades de los receptores de estrógeno han sido demostradas por una variedad de estudios en los que se han utilizado tejidos de vagina, glándula mamaria, hipófisis e hipotálamo, obtenidos de humanos, ratas, ratones y otras especies.

#### TRANSFERENCIA DEL COMPLEJO HORMONA-RECEPTOR AL NUCLEO

Después de la exposición del tejido uterino al estradiol marcado, fueron identificados dos sitios intracelulares de unión a la hormona; uno en el citoplasma y otro en el núcleo. Subsecuentemente el enlace nuclear parecía predominar.

Los primeros estudios al respecto, llevaron al concepto de que ocurría un cambio conformacional, inducido por estrógenos, en la proteína receptora citoplasmática uterina, y que a esto seguía la traslocación del complejo hormona-receptor al núcleo.

La exposición del útero al estradiol ya sea in vivo o in vitro a 37°C, provoca una rápida aparición de sitios ocupados en la fracción nuclear, con una pérdida equivalente de la capacidad total de unión al citosol. Esto hizo pensar que el complejo se había movido del citoplasma hacia el núcleo.

Esta hipótesis del proceso de traslocación fué atractiva, ya que colocó al complejo hormona-receptor en el compartimiento nuclear, sitio donde la hormona puede inducir cambios en la expresión genética.

Esta translocación hacia adentro del núcleo es dependiente de la temperatura (37°C) y fue demostrada inicialmente en el útero de rata (Jensen et al. 1968). La incubación in vitro del estradiol marcado con el tejido uterino provocó la acumulación, en una preparación de núcleos, de una forma extraíble por KCl 0.3 M del complejo estrógeno-receptor.

Este complejo hormona-receptor nuclear, sedimentaba a 5S durante la centrifugación en un gradiente de sacarosa y no fue medible en los núcleos del tejido blanco que no fueran previamente expuestos al estrógeno. Mientras el receptor nuclear 5S -

aparecía, se observaba una disminución, en la cantidad total del receptor citoplasmático 8S.

La exposición de preparaciones de núcleos al estradiol marcado y al receptor citoplasmático, provocó la acumulación en los núcleos del complejo hormona-receptor 5S y que era extraíble. Pero se observó que éste complejo no era extraíble cuando se incubaba el estradiol marcado solamente con los núcleos uterinos (Jensen et al. 1968).

Fueron estas observaciones las que llevaron a Jensen en 1968 a postular la hipótesis de "dos pasos". De acuerdo con la cual, el complejo estradiol-receptor 5S extraído del núcleo, es una forma alterada del receptor citoplasmático. Evidencias posteriores sugirieron que más allá de la interacción con los estrógenos, la proteína enlazante lleva a cabo un cambio físico, permitiéndole adecuarse a una posición nuclear (Gorski et al. 1973).

Entonces es alcanzado un nuevo equilibrio, en el cual el 90 % del estrógeno se une al receptor en la posición nuclear. A causa de este equilibrio cualquier estimación de la correlación entre la respuesta del tejido y la unión del estrógeno, debe involucrar las concentraciones del complejo nuclear y del complejo citoplasmático.

Un importante avance metodológico es el radioinmunoanálisis (RIA), que ha permitido un mejor entendimiento de la transloca-

ción del complejo al compartimiento nuclear en el tejido vivo - y así ha permitido a los investigadores correlacionar el proceso de translocación con la respuesta biológica del tejido uterino a varios compuestos estrogénicos (Anderson et al. 1972).

El número de sitios receptores para los estrógenos aumenta en forma dependiente de la dosis, lo que muestra una importante correlación positiva con la respuesta temprana uterina a la administración de los estrógenos.

La baja capacidad de "aceptar" y retener al complejo hormona-receptor demostrada en los tejidos no blanco como el pulmón, el bazo y el corazón, condujo a la hipótesis del "aceptor nuclear", de acuerdo con el cual, los núcleos de las células blanco deberían contener sitios aceptores con afinidad específica por las moléculas receptoras. Experimentos similares llevados a cabo con próstata de rata, después de la administración de andrógenos, confirmaron que ésta hipótesis era en general, válida para los esteroides sexuales y sus núcleos celulares blanco.

#### UNION DEL COMPLEJO HORMONA-RECEPTOR AL DNA

Puesto que se ha reportado que la desoxirribonucleasa libera la unión del estradiol del núcleo uterino, se supone que el DNA está implicado en la unión nuclear del complejo hormona-receptor.

La unión de los complejos estrógeno-receptor al DNA ha sido demostrada in vitro. Se ha demostrado que ambos receptores, el - citosólico y el nuclear se unen al DNA. Existe solo un número - limitado de sitios de unión de gran afinidad en el DNA para el - receptor, sin embargo fue evidente la falta de especificidad del enlace. De hecho el receptor a estrógeno del útero de la rata - puede interactuar con el DNA del timo de ternera, de espermatozoos de salmón, de Escherichia coli y Bacillus subtilis.

Cuando el estradiol marcado es incubado directamente con - preparaciones de cromatina de un tejido blanco, muy poco de él - se une a la cromatina. Sin embargo la incubación del complejo - estradiol-receptor del útero con la cromatina uterina, produce - una retención significativa del complejo por la cromatina.

La remoción de las proteínas básicas histónicas antes de la incubación, expone más aún los sitios receptores de unión. Resultados similares para las interacciones de los receptores de andrógenos con tejidos blanco y no blanco de machos han sido reportados (Liao et al. 1973).

En un intento por determinar la fracción de la cromatina - responsable de la unión con los complejos hormona-receptor, las proteínas histónicas fueron disociadas selectivamente de la cromatina y ésta última fue subsecuentemente reconstituida. De esta manera, las cromatinas "híbridas" fueron preparadas con histonas de otros tejidos u otras especies. Durante la reconstitución, -

la unión de los receptores a esta cromatina reconstituida fué -  
similar a su enlace con la cromatina nativa. Más aún, la capa -  
cidad de unión de los complejos hormona-receptor fué completa -  
mente mantenida por la cromatina híbrida que contenía las his -  
tonas de un tejido no blanco de una especie diferente, por ejem -  
plo, timo de ternera.

Finalmente, ya que la cromatina nativa del oviducto del -  
pollo, en la cual todas las histonas habían sido removidas, mos -  
traba una unión más fuerte que la cromatina de bazo, que conte -  
nía las histonas. Se concluyó que las histonas por sí mismas no  
eran responsables de la especificidad de la unión del receptor -  
(Spelsberg et al. 1971).

No obstante, si eran removidas de la cromatina las proteí -  
nas ácidas no histónicas durante la reconstitución, la cromati -  
na resultante perdía su capacidad para unir los complejos hormo -  
na-receptor.

En investigaciones más detalladas para demostrar la impor -  
tancia de las proteínas no histónicas en la unión del receptor -  
a la cromatina, las proteínas fueron disociadas de la cromatina  
del oviducto y del eritrocito de pollo. La inserción de las pro -  
teínas ácidas del oviducto en la cromatina del eritrocito aumen -  
tó su capacidad de unión, tanto como la de la cromatina nativa -  
del oviducto. Estos experimentos demostraron que la capacidad -  
aceptora de la cromatina de los tejidos blanco por el recep -

tor hormonal, puede ser transferida a la cromatina de un tejido no blanco a través de la transferencia de la fracción no histónica de las proteínas que cubren el DNA (Spelsberg, 1972).

#### EFECTO DE LAS HORMONAS ESTEROIDES EN LA SINTESIS DE RNA

Una vez que se ha aceptado que el complejo esteroide-receptor entra en el núcleo y se une a la cromatina de la célula blanco, parece lógico considerar que la síntesis de RNA es importante en el mecanismo de acción de las hormonas esteroideas. Se ha demostrado que después de una administración única de estrógeno, hay un aumento de 40 % en la síntesis de RNA nuclear.

Dentro de las primeras horas después de la inyección, el estrógeno produce una estimulación tanto de precursores de RNA ribosomal, como de RNA de transferencia. Así la síntesis de todas las clases de RNA son aumentadas por la administración del estrógeno.

Gorski en 1964, fué el primero en informar de un efecto de los estrógenos sobre la actividad de la RNA polimerasa, analizada en el sedimento nuclear obtenido del útero de la rata inmadura.

Dentro de la primera hora después de una inyección única de estradiol, hubo un incremento en la actividad de la RNA polimerasa dependiente de  $Mg^{2+}$ . Posteriormente fué demostrado que la

enzima dependiente de  $Mg^{2+}$  (polimerasa I) estaba restringida al nucleolo y al RNA ribosomal sintetizado.

El estrógeno aumenta la actividad de la RNA polimerasa, así como el número de sitios de iniciación sobre el DNA.

También se reportó que entre el 40 y el 60 % de la estimulación de la actividad de polimerasa in vitro requería de una "transformación" del receptor citosólico a la forma 5S antes de la incubación del estrógeno con el citosol (Mohla et al. 1972).

Estos resultados apoyan la hipótesis de que la transformación del receptor es un paso importante en la acción estrogénica. Más aún, se sugirió que una de las funciones del estradiol puede ser la conversión de la proteína receptora a una forma "activa" que pueda entrar al núcleo, unirse a los sitios aceptores e inducir la síntesis del RNA.

Parece ser que el estrógeno actúa en el núcleo promoviendo la síntesis de mRNA que codifica para algunas proteínas específicas de la célula. Se sugiere que el estrógeno puede actuar a nivel de la transcripción para estimular la producción de numerosas copias de un solo gene, que son necesarias para las acciones de crecimiento y diferenciación del tejido uterino.

Los estrógenos pueden ejercer efectos reguladores en la síntesis, la actividad y posiblemente en la degradación de las enzimas y las proteínas estructurales de los tejidos.

## TRANSPORTE DEL RNA DEL NUCLEO AL CITOPLASMA

El paso in vivo del RNA recién sintetizado, del núcleo al citoplasma en el útero, ha sido observado como resultado de la ovariectomía y de la administración de estrógeno.

La uridina tritiada fué rápidamente incorporada al RNA nuclear, con un máximo de actividad entre los 20 y 40 minutos, pero la aparición en el citoplasma del RNA recién formado, no fué observado hasta después de 1 hora 20 min.

A este tiempo el RNA de la fracción microsomal mostró una incorporación significativa del precursor radiactivo. Cuatro horas después, la actividad específica del RNA nuclear era más baja que la del RNA microsomal, y la actividad específica de todas las fracciones citoplasmáticas de RNA fueron significativamente elevadas.

Estas observaciones en la distribución intracelular del RNA marcado in vivo, están de acuerdo con la evidencia de que hay un transporte de RNA del núcleo al citoplasma en las células de los mamíferos.

SINTESIS DE PROTEINAS IN VIVO

Investigaciones recientes han mostrado una estimulación general de la síntesis de las proteínas totales durante la acción

temprana del estrógeno.

Dos horas después de la administración de estrógeno, la estimulación de la síntesis de proteínas, tanto en la fracción nuclear como en la fracción microsomal fué notoria. Entre 2 y 4 horas se observó un aumento de la síntesis de proteína nuclear, lo cual precede a la estimulación de síntesis de la proteína citoplasmática, y particularmente la de la fracción microsomal. A las 8 horas la velocidad de síntesis de las proteínas en las fracciones citoplasmáticas fué acelerada en un 200 a 300 %. Desde 8 hasta 24 horas después de la acción hormonal, la síntesis de la proteína citoplasmática permaneció elevada, mientras que la cantidad de síntesis de la proteína nuclear disminuyó más aún que el control.

En resumen, el patrón de acción de las hormonas esteroideas incluye:

- 1) toma de la hormona por la célula y unión a una proteína receptora específica, presente en el citosol.
- 2) transporte del complejo esteroide-receptor al núcleo.
- 3) unión de este complejo "activo" a los sitios aceptores específicos en el genoma (DNA de la cromatina y proteínas ácidas).
- 4) activación del aparato transcripcional para la aparición de nuevas especies de RNA que incluyen mRNAs específicos.
- 5) transporte del RNA inducido por la hormona, del núcleo al

citoplasma para la síntesis de nuevas proteínas en los ribosomas.

- 6) respuesta funcional específica, característica de ese tejido blanco en particular.

## RECEPTORES A ESTROGENO EN EL CEREBRO Y OTROS TEJIDOS

Como se ha mencionado anteriormente, las hormonas sexuales son moléculas pequeñas que se distribuyen por el torrente sanguíneo hacia todos los tejidos, siendo retenidas solamente por los tejidos blanco, en los cuales se encuentran sus receptores específicos. Estos tejidos blanco son principalmente el útero, la vagina, el pene, etc. y algunas regiones del cerebro; ya que el sistema regulador de estas hormonas lo constituye el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas.

Por medio de la autorradiografía, se ha demostrado la presencia de células blanco a estrógeno en el cerebro de ratas y ratones en sus diferentes estados: adulto, neonato y embrión (Stumpf y Sar, 1975).

Al inyectársele estrógeno marcado en el cerebro de ratas y ratones hembra en el día 16 de embarazo, el tejido de los fetos mostró la radiactividad concentrada en ciertas regiones cerebrales: hipotalámica, extrahipotalámica y en la hipófisis anterior; también se encontró concentrada en el mesénquima de la laringe, el sinus urogenital, el recto y las glándulas mamarias, así como en el gubernáculo de los testículos y en la piel. Esto sugiere la presencia de receptores a estrógeno en estas estructuras y las acciones estrogénicas en estos sitios.

## RECEPTORES EN CEREBRO

La concentración de las hormonas esteroideas o sus metabolitos en el núcleo, se observa en las neuronas de áreas selectas del cerebro de los mamíferos. La distribución de las células blanco de los estrógenos en diferentes especies de mamíferos parecen seguir un patrón similar que involucra grupos nucleares selectivos del cerebro anterior, cerebro medio y base cerebral.

La distribución de las células blanco a andrógenos en el cerebro de rata corresponde ampliamente a la distribución de las células blanco a estrógeno, con algunas diferencias en ciertas estructuras como el septum lateral, el hipotálamo ventromedial, el hipocampo, la corteza, la base cerebral y la médula espinal.

La localización de diferentes hormonas en neuronas de la misma región, sugiere que la misma neurona puede ser afectada por más de una de las hormonas presentes (Heritage et al. 1977); de otro modo, la distribución diferencial de varios tipos de hormonas, reflejaría la diferencia de sus acciones.

De entre las hormonas esteroideas estudiadas, la información disponible mas detallada es la obtenida con el estradiol radiactivo. Debido a la capacidad de unión temprana del estrógeno y la alta afinidad del enlace de las células blanco, junto con los niveles relativamente bajos de los metabolitos producidos.

La radiactividad se concentra en el núcleo de las células con intensidad variable, y las diferencias en la unión nuclear son notorias entre regiones neuronales diferentes.

Las células blanco son reconocidas por la mayor concentración de la hormona radiactiva en el núcleo, superior a la radiactividad citoplasmática y extracelular.

Las neuronas que concentran estrógenos se localizaron en las regiones preóptica septal, central del hipotálamo y amígdala, tercero y cuarto ventrículo, ventrículo lateral, cerebro medio y bulbo raquídeo.

Por los resultados se postuló que las neuronas blanco de las hormonas esteroideas, eran neuronas productoras de oligopéptidos mensajeros (Stumpf y Sar, 1976). Las relaciones entre las neuronas blanco de los estrógenos y la producción de aminas biológicas ha sido demostrada (Grant y Stumpf, 1975; Heritage et al. 1976).

En el cerebro del ratón fetal, la radiactividad se concentra en el núcleo de ciertas células, probablemente sean las neuronas, a juzgar por su tamaño y localización, que aparecen en grupos en el núcleo preóptico, el núcleo ventromedial del hipotálamo, el núcleo premamilar, el núcleo de la amígdala cortical, el núcleo de la amígdala media y en la corteza piriforme.

Además del cerebro anterior, se ven grupos de células unidas en las regiones medias del cerebro en el bulbo raquídeo,

ésta última probablemente corresponde al grupo del núcleo del tracto reticular parvocelular en el animal completamente diferenciado.

Cuando la concentración de radiactividad se compara entre los tejidos fetales y los de la madre, los resultados son muy similares.

En la parte distal de la hipófisis, la unión nuclear es observada en ciertas células, mientras que las células del lóbulo intermedio y del proceso infundibular parecen no unirse al estrógeno.

Se sabe que en el cerebro, los estrógenos ejercen no sólo efectos activadores, sino también efectos organizadores, si éstos actúan durante un tiempo crítico específico para cada especie, ya sea durante el desarrollo fetal o en la vida neonatal temprana.

#### RECEPTORES EN OTROS TEJIDOS

Algunas de las regiones con radiactividad nuclear más fuerte, fueron los ductos müllerianos y wolffianos en los sinus urogenitales; en el mesénquima del gubernáculo de los testículos, el de las glándulas mamarias, en la dermis y la epidermis. También se encontraron receptores a estrógeno en el hígado, el riñón y el pulmón.

La sensibilidad a los estrógenos en el mesénquima de la región laríngea, probablemente influye en el aparato laríngeo para la vocalización específica en cada sexo.

En la piel la unión nuclear es observada en la epidermis, predominantemente en su estrato basal, pero también en las células mesenquimales de la dermis. Sin embargo, la unión nuclear en la dermis es menos evidente que en la epidermis, debido a la presencia generalizada de radiactividad.

En los testículos se observa una unión débil en las células intersticiales, mientras que en las células de los ovarios no puede reconocerse ninguna concentración nuclear de radiactividad; en ambas gónadas, el nivel de radiactividad es alto (Josso et al. 1977).

Varias porciones del tracto genital muestran una fuerte concentración nuclear en las células que rodean al epitelio del primordio, en contraste con las células mesenquimales que aparecen sin unión a la hormona marcada.

En el embrión hembra de la rata, la unión nuclear es observada en las células del tejido mesenquimal que forma los pliegues genitales en los cuales están contenidos los ductos müllerianos. Las células mesenquimales unen más fuertemente a la hormona; la porción que rodea a los ductos müllerianos y el sinus urogenital también se unen a la hormona, disminuyendo la intensidad de hormona enlazada hacia el gubernáculo genital. Las cé -

lulas mesenquimales que rodean el botón epitelial que constituyen las glándulas mamarias, enlazan gran cantidad de estrógeno - marcado, tanto en los embriones macho como en los embriones hembra (Stumpf et al. 1980).

En el feto, las células blanco para los estrógenos, son comparables con las del adulto; en el feto algunas regiones van a diferenciarse formando diversos órganos en el recién nacido, - los cuales, generalmente también son órganos blanco para los estrógenos en la edad adulta.

Por ejemplo, bajo la influencia de los estrógenos, los ductos müllerianos se convierten en el útero, el oviducto y parte de la vagina, y los sinus urogenitales evolucionan hacia estructuras femeninas.

Los andrógenos y la "hormona antimülleriana" son agentes que causan la transformación y la diferenciación del primordio genital en los órganos sexuales masculinos. Por el contrario, - la diferenciación inicial de los órganos sexuales femeninos parece no requerir del estímulo de las secreciones ováricas, puesto que ésta diferenciación femenina ocurre en forma normal en los fetos macho castrados, sin necesidad de administrarles exógenamente hormonas sexuales femeninas (Jost, 1947; Raynaud, 1969).

ACCIONES ESTROGENICAS SOBRE LA SINTESIS DE MACROMOLECULAS  
EN LAS CELULAS BLANCO

SECUENCIA DE LOS EVENTOS DE LA ESTIMULACION POR LOS ESTROGENOS  
DE LA BIOSINTESIS EN EL UTERO

Una aproximación para entender el proceso de la regulación del crecimiento de los tejidos, ha sido el análisis de la secuencia de eventos fisiológicos y biosintéticos que ocurren en el crecimiento mediado por las hormonas en sus tejidos blanco.

En los últimos años se ha puesto gran atención en determinar la relación entre la toma y la unión de la hormona en sus células blanco, los efectos primarios de la hormona en el metabolismo, la biosíntesis celular y la serie de cambios bioquímicos que culminan en las características morfológicas y las respuestas fisiológicas de los tejidos blanco.

El sistema de respuesta a la hormona, que se describirá en detalle es en el que se emplea el útero de ratas inmaduras, un órgano blanco considerado como sistema modelo para el estudio del control hormonal de la expresión genética.

Aunque los efectos de los estrógenos aparecen en casi todos los tejidos de los mamíferos en algún grado, su efecto principal recae en la estimulación del crecimiento y la maduración del sistema reproductor femenino, y posteriormente la conservación -

de su capacidad reproductora.

En la rata, el útero sufre un marcado incremento de tamaño en respuesta al estrógeno. Durante el desarrollo normal del animal, este crecimiento uterino tiene lugar en un período de varias semanas; pero uno puede inducir el crecimiento en algunos días, dependiendo de la dosis de hormona, inyectándola a las ratas inmaduras. Este crecimiento uterino involucra un aumento en todas las actividades metabólicas e incrementa la toma de agua, la vascularización y la división celular.

Los primeros eventos que se pueden observar después de la exposición a la hormona son: la unión de la hormona en el citoplasma de la célula uterina, siguiendo la rápida aparición de la hormona en el núcleo. Después de 10 minutos, se puede medir la síntesis de un RNA particular para una proteína específica inducida por el estrógeno (IP), y además entre 15 y 30 minutos hay un aumento en la RNA polimerasa. La síntesis real de la proteína inducida por el estrógeno es medible en un período de 40 a 60 minutos. Una hora después del tratamiento estrogénico, varios parámetros metabólicos han aumentado: el metabolismo de la glucosa, la síntesis de los fosfolípidos, la actividad de la RNA polimerasa y la capacidad de la cromatina uterina para la síntesis de RNA.

A pesar de que la actividad de la RNA polimerasa se eleva significativamente después de una hora del tratamiento, un aumen-

to importante en la concentración del RNA en el útero es alcanzado hasta las 8 ó 12 horas después. Este nuevo RNA parece representar a todos los tipos de RNA, pero es principalmente RNA ribosomal, y puede diferir en composición de los RNA producidos en ausencia del estrógeno.

Entre 2 y 4 horas después del tratamiento, hay un aumento en la velocidad de síntesis de proteínas; este efecto puede ser atribuido a un aumento en la velocidad de alargamiento de la cadena proteica en los ribosomas uterinos debido al estrógeno (Whelley y Barker, 1974).

La evidencia histológica del aumento en el tamaño del núcleo, la presencia de un retículo endoplásmico más abundante y un incremento en el carácter basófilo del citoplasma de las células uterinas 4 y 24 horas después del tratamiento con estrógeno, se correlaciona con el aumento de la producción y acumulación del RNA y el incremento de la actividad de síntesis de proteínas que se presente en ese tiempo.

Simultáneamente, la actividad de una variedad de enzimas uterinas aumenta después de la administración de estrógeno: la ornitina descarboxilasa (Cohen et al. 1970); la tRNA metil transferasa (Baliga y Borek, 1974); el ATP dependiente de  $Mg^{2+}$ , que aunque no es enzima, también se ve aumentado (Tam y Spaziani, 1970); la serina aldolasa, las enzimas activadoras de los aminoácidos (Mueller et al. 1958); la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (Moulton y Barker, 1971, 1973), por nombrar solamente algunas.

Un incremento del peso uterino puede ser determinado desde 6 horas después del tratamiento con estrógeno, y continúa hasta alcanzar su máximo nivel a las 31 horas, esto se debe en parte, al aumento en la velocidad de síntesis del DNA y de las histonas, ambos, preludio de la división celular que comienza en el útero aproximadamente 24 horas después de la exposición al estrógeno - (Kaye et al. 1972).

#### INDUCCION ESTROGENICA DE SINTESIS DE PROTEINAS ESPECIFICAS

In vivo.- Las observaciones que involucra la síntesis de proteínas como parte esencial de los efectos metabólicos tempranos de la estimulación de los estrógenos, llevaron a Notides y Gorski en 1966 a investigar la síntesis de una proteína específica en el útero de la rata. Demostraron que el tratamiento in vivo de 15 minutos a 2 horas con estrógenos, seguido de una hora de incubación del útero in vitro con aminoácidos marcados producía una proteína soluble específica del útero, referida como IP (induced-protein).

La progesterona no mostró efecto en la síntesis de IP, el 17 $\alpha$ -estradiol un estrógeno natural, produjo una respuesta leve, mientras que el dietilestilbestrol, un estrógeno sintético potente produjo mayor estimulación.

La evidencia de esta síntesis de proteínas es como sigue:

- 1) la banda aparecida en el gel de electroforesis es precipitable en ácido.
- 2) varios aminoácidos marcados fueron incorporados a la banda.
- 3) la incorporación de éstos a la banda es completamente bloqueada por la presencia de cicloheximida (un inhibidor de la síntesis de proteínas) in vitro.
- 4) esta especie migra hacia un peso molecular de 42 000 daltons en electroforesis sobre gel de poliacrilamida (Katzenellenbogen y Gorski, 1975).

El curso temporal de los cambios en la velocidad de síntesis de la IP in vivo también ha sido determinado. Esta síntesis comienza a aumentar a los 40 minutos, pero no es significativa sino hasta 60 minutos después de la inyección de estrógeno. El aumento en la velocidad de síntesis continúa al menos por dos horas y declina a las 4 horas después de la inyección del estrógeno.

In vitro.- La inducción tanto in vivo como in vitro mostró una especificidad hormonal estricta. Solo los compuestos estrogénicos indujeron la síntesis de proteínas, mientras que la progesterona, la testosterona y la insulina no lo hicieron.

La potencia de inducción de los estrógenos es como sigue:

17 $\beta$ -estradiol > dietilestilbestrol > estriol > 17 $\alpha$ -estradiol.

Esto sugiere una estrecha correlación entre la inducción de la IP, la afinidad de los receptores uterinos y la potencia estrogénica de estos compuestos. Parece ser también, que la inducción in vitro de esta respuesta al estrógeno puede estimular directamente al útero sin requerir de las terminales nerviosas intactas de los sistemas vasculares.

No obstante que la IP se describió por primera vez en 1966, la función de esta proteína sigue siendo un enigma. Determinar la función de una proteína no es una tarea directa; esta empresa ha sido llevada a cabo indirectamente desde varios puntos de vista.

La IP ha sido bastante bien caracterizada. Es una proteína de una sola unidad, de 42 000 daltons de peso molecular (Katzenellenbogen y Williams, 1974), con un punto isoeléctrico ácido. Se han reportado múltiples componentes de la IP con puntos isoeléctricos desde 3.5 hasta 5.1 por diferentes investigadores.

La IP es sintetizada tanto en el endometrio como en el miometrio de úteros maduros e inmaduros de rata que han sido tratados con estradiol (Katzenellenbogen y Leake, 1974). La proteína se sintetiza normalmente durante la fase del proestro del ciclo estral normal de la rata; cuando la secreción del estrógeno es máxima, y no es sintetizada significativamente en las otras etapas del ciclo. El aumento de esta proteína no es solamente un proceso asociado con la maduración de los úteros inmaduros, sino

que también es sintetizada en el estado maduro de éstos.

La localización subcelular de esta proteína todavía no está firmemente establecida. Baulieu y sus colaboradores en 1972 reportaron que la IP esta presente tanto en el sobrenadante crudo como en las fracciones del sedimento de los úteros homogeneizados.

También se ha reportado que la rehomogeneización de las fracciones del sedimento liberan IP al sobrenadante, lo cual sugiere que la IP es de origen nuclear (Katzenellenbogen y Gorski, 1975).

Recientemente, las preparaciones purificadas de la IP han mostrado un aumento significativo de la actividad de la fosfoproteína fosfatasa sobre los sustratos fosforilados como la protamina y las histonas F1; sin embargo, la naturaleza del sustrato real para la IP en el útero y su acción fisiológica in vivo permanecen sin descubrirse.

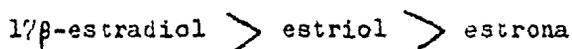
#### ASPECTOS CUANTITATIVOS DE LA RESPUESTA DE LA IP Y EL ENLACE HORMONA-RECEPTOR

Es de particular interés la relación entre la magnitud de la inducción de la IP y la cantidad de la unión nuclear del estradiol a varias concentraciones.

Utilizando un sistema de inducción in vitro, la producción máxima de IP y la máxima unión del estradiol al receptor nuclear fueron obtenidas con 2 a 3 X 10<sup>-8</sup> M. Si se utiliza de 2 a 3 X 10<sup>-9</sup> M

de estradiol se obtiene el 50 % de la respuesta. De esta manera la inducción de IP in vitro ocurre claramente dentro de los parámetros fisiológicos y aparece como una función dosis-respuesta - en el útero.

Se encontró una estrecha relación con la afinidad relativa de los estrógenos por el receptor citoplasmático:



Se requiere una concentración tres veces mayor de estrona - y dos veces mas de estriol para lograr un efecto igual al del -  $17\beta$ -estradiol.

Puesto que se requieren diferentes concentraciones de los estrógenos para alcanzar los niveles de unión y respuesta equivalentes, la cantidad de receptores nucleares ocupados, parece determinar la magnitud de la respuesta de la IP. Sin embargo, hay una relación constante entre los sitios nucleares ocupados y los sitios citoplásmicos que quedan de la saturación de los receptores totales.

La relación entre la respuesta y la unión a los receptores sugiere que un factor limitante en la respuesta a los estrógenos es la cantidad de receptores disponibles. Un segundo factor limitante es que la acción hormonal se lleve a cabo por medio de - receptores nucleares "aceptores" específicos, los cuales actúan con el complejo estrógeno-receptor.

LA IMPORTANCIA DE LA SINTESIS DE RNA EN LA INDUCCION  
DE LA SINTESIS DE IP

En los estudios iniciales se encontró que la actinomicina D podía bloquear completamente la inducción de la síntesis de IP. Sin embargo, el bloqueo de dicha síntesis con cicloheximida o puromicina, bloqueaba las respuestas estrogénicas tempranas, incluyendo el aumento en la actividad de la RNA polimerasa y en la síntesis uterina de IP ya iniciada por el estrógeno.

Estos estudios indican que la síntesis del producto sensible a la actinomicina (capacidad de síntesis de IP), es uno de los eventos de síntesis macromolecular iniciales, que ocurren después de la administración de estrógeno.

El período de síntesis de IP ha sido determinado tanto in vivo como in vitro. En ambos casos, el aumento en la síntesis de IP es sensible a la actinomicina D.

EFECTOS ESTROGENICOS SOBRE EL RNA

Como se indicó anteriormente, hay un aumento en la síntesis de proteínas precedido de un aumento en la síntesis de RNA, el -

cual se relaciona con el aumento de la actividad de la RNA polimerasa. Finalmente hay datos que indican que el complejo estrógeno-receptor induce directamente dicha actividad.

Mientras se hacían contribuciones a este modelo y se pensaba que el estrógeno influía en la expresión genética, se hicieron varias observaciones acerca de los detalles del mismo y en algunas ocasiones no correlacionaban bien algunos resultados con el modelo propuesto.

Primeramente, no está claro si la síntesis temprana de RNA es en verdad estimulada después del tratamiento con estrógeno. Los estudios más cuidadosos indican que el aumento en la síntesis de RNA no es muy notable en ese tiempo.

Los experimentos en los que se adiciona actinomicina D sugieren la síntesis de RNA dependiente de DNA, pero no prueban esta hipótesis en forma concluyente.

La actividad de la RNA polimerasa, usualmente no está involucrada en la iniciación de la cadena proteica, sino en su alargamiento.

Esto nos lleva a la observación de que el complejo estrógeno-receptor estimula la actividad de la polimerasa I. La enzima estimulada en estos experimentos es supuestamente una enzima nucleolar involucrada en la síntesis de RNA ribosomal. El efecto estrogénico in vivo sobre esta polimerasa, parece estar mediado por varios pasos que intervienen probablemente en la

síntesis de proteínas.

Un aumento en la actividad de la polimerasa I (síntesis de rRna) no ayuda a explicar los grandes efectos de la actinomicina D sobre la síntesis de IP o el metabolismo temprano de la glucosa. Es difícil imaginar que el RNA ribosomal sea un factor limitante en estos cambios metabólicos específicos. Todo lo anterior requiere de mas datos experimentales (Katzenellenbogen y Gorski, 1975).

LA RELACION ENTRE EL RECEPTOR Y LAS RESPUESTAS BIOLÓGICAS DEL UTERO. EL MODELO DE ACCION ESTROGENICA DE "CASCADA DE FICHAS DE DOMINO" Y EL MODELO DE "PRODUCCION CONSTANTE".

La relación entre el receptor y las respuestas biológicas del útero, se basa en la secuencia de eventos de la acción de los estrógenos sobre éste último, el cual comienza con la formación del complejo estrógeno-receptor y termina con el crecimiento y la división celular uterina.

Esto también indica que un número limitado de nuevos RNA mensajeros son sintetizados como resultado de la acción del complejo estrógeno-receptor en el núcleo. Estos RNA son luego utilizados como moldes para la síntesis de ciertas proteínas y posiblemente sea un factor limitante y esencial para el crecimiento

del útero.

Este modelo implica que el complejo estrógeno-receptor provoca una secuencia de eventos donde un cambio lleva al siguiente, cada uno dependiendo del anterior, como una cascada o sucesión - de fichas de dominó.

Modelo de producción constante.- La unión estrógeno-receptor inicia la síntesis de un número limitados de RNA y proteínas, incluyendo la IP; estos efectos tempranos son seguidos después - por una estimulación total de múltiples actividades metabólicas, que culminan en la división celular y el crecimiento de todo el tejido.

Las primeras respuestas son necesarias para cambiar el medio ambiente uterino para luego llevar a cabo las respuestas - tardías. No obstante, las respuestas tempranas solas no son suficientes para producir el complemento total de los procesos involucrados con el crecimiento y desarrollo del tejido a largo plazo, necesitan la influencia directa de un complejo nuclear es- - trogênio-receptor de permanencia larga.

## CAPITULO 5

## EFECTO DE LOS ESTROGENOS SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL DE LA

## RATA HEMBRA ADULTA

INTRODUCCION

El término conducta o comportamiento indica el modo de ser y obrar, las manifestaciones objetivas de la actividad global de los seres animados. Esto incluye volar, caminar, sentarse, dormir, aparearse, criar a su prole, etc.

La conducta es un tema muy difícil de estudiar porque hay una enorme variedad de tipos de comportamiento, y sus mecanismos son los más complejos que se encuentran entre los procesos biológicos. Esto se aplica tanto al modo de actuar de un solo individuo, como al de todos los individuos de una sola especie.

Desde la más remota antigüedad el hombre ha observado su propio comportamiento y el de los animales; sin embargo, aún nos encontramos en la etapa inicial de la organización de las observaciones, de la formulación de hipótesis y de experimentos para probarlas.

Los métodos para estudiar el comportamiento, incluyen la observación directa de los individuos, el registro de sus actividades con dispositivos de medición muy sensibles y el cambio de condiciones de vida de un animal, logrado gracias a jaulas diseñadas especialmente, mediante la extirpación de ciertos órganos, la administración de drogas o por otras técnicas.

Por ejemplo, la psicología científica utiliza las reacciones fisiológicas (musculares o endócrinas) que pueden ser registradas con aparatos y técnicas apropiadas, o que pueden ser apreciadas directamente por los observadores.

Los procesos psíquicos se agrupan en un esquema estímulo-respuesta; dado cierto estímulo se produce una respuesta y viceversa. En este esquema, tanto el estímulo como la respuesta se consideran fenómenos medibles objetivamente.

Se han podido establecer ya algunas generalizaciones acerca del comportamiento animal. Ciertos tipos de conducta ocurren con gran uniformidad en todos los individuos de una especie sujetos a condiciones similares.

Hay ciertas pautas o modos de conducta que pueden reconocerse en todos los animales, aunque varíen en sus detalles en las diferentes especies. Algunos de estos patrones se refieren a los actos alimenticios, defensivos, exploratorios, sociales y reproductivos.

Los principales problemas en el estudio de la conducta son de manera general: problemas de observación y problemas de interpretación. Entre los problemas de observación podemos mencionar la dificultad de realizar "suficientes" observaciones, para estar seguros de que los datos obtenidos son representativos del comportamiento en estudio. Otro gran problema es la capacidad de percepción individual de los observadores, pues no todos ob-

Por ejemplo, la psicología científica utiliza las reacciones fisiológicas (musculares o endócrinas) que pueden ser registradas con aparatos y técnicas apropiadas, o que pueden ser apreciadas directamente por los observadores.

Los procesos psíquicos se agrupan en un esquema estímulo-respuesta; dado cierto estímulo se produce una respuesta y viceversa. En este esquema, tanto el estímulo como la respuesta se consideran fenómenos medibles objetivamente.

Se han podido establecer ya algunas generalizaciones acerca del comportamiento animal. Ciertos tipos de conducta ocurren con gran uniformidad en todos los individuos de una especie sujetos a condiciones similares.

Hay ciertas pautas o modos de conducta que pueden reconocerse en todos los animales, aunque varíen en sus detalles en las diferentes especies. Algunos de estos patrones se refieren a los actos alimenticios, defensivos, exploratorios, sociales y reproductivos.

Los principales problemas en el estudio de la conducta son de manera general: problemas de observación y problemas de interpretación. Entre los problemas de observación podemos mencionar la dificultad de realizar "suficientes" observaciones, para estar seguros de que los datos obtenidos son representativos del comportamiento en estudio. Otro gran problema es la capacidad de percepción individual de los observadores, pues no todos ob-

servamos exactamente lo que observa otra persona. Una limitante mas es la interpretación que cada investigador hace de las observaciones; es por esto que la ciencia debe construirse con observaciones, análisis de datos e interpretaciones cuidadosas y lo más fieles posible a la realidad.

Como se mencionó anteriormente, la conducta de reproducción está generalizada en todos los animales; hay dos formas de reproducción: la sexual y la asexual. En este trabajo se estudiará la conducta sexual, que es la forma de reproducción de la mayoría de los animales, en particular de los mamíferos a los que pertenece la rata.

La reproducción sexual es cualquier forma de producir nuevos individuos que involucre la unión de núcleos de diferentes orígenes, ya sea de individuos diversos o de distintos órganos del mismo individuo. La característica fundamental de la reproducción sexual es el intercambio de material genético procedente de sujetos diferentes de la misma especie.

Los animales en su gran mayoría son gonogóricos; es decir, en ellos se diferencian dos tipos de individuos que producen células sexuales o gametos. Los machos producen espermatozoides, las hembras óvulos. La reproducción depende de la unión de un espermatozoide y un óvulo para formar un huevo o cigoto, del cual se desarrolla un nuevo individuo.

Estos animales tienen órganos especializados: las gónadas,

para la producción de los gametos. Las gónadas son de dos tipos: ovarios que forman óvulos y testículos que forman espermatozoides.

Los animales nacen diferenciados genéticamente en machos y hembras, pero es en la edad adulta cuando tienen la capacidad de reproducirse. Es entonces cuando se aparean. Los factores hormonales que intervienen en los patrones de conducta reproductora son el motivo de esta tesis.

#### LOS CICLOS REPRODUCTIVOS

A la unión de un óvulo y un espermatozoide se le llama fecundación, que es el principio de la reproducción; luego siguen la gestación y el nacimiento de un nuevo ser. Este proceso se repite según el ciclo reproductivo del animal en cuestión.

En los mamíferos, los ciclos sexuales se dividen en estrales y menstruales. El de la rata es un ciclo estral de cuatro a cinco días. Consiste en cuatro fases sucesivas, de duración variable, que pueden distinguirse por exámen microscópico de las células de descamación vaginal.

Estas fases son en orden cronológico: diestro, proestro, estró y metaestro; cada una se caracteriza por una citología diferente, producto de la diferenciación celular, así como por una respuesta precisa a la monta del macho.

Es en el estro cuando la pared uterina está en mejores condiciones para la implantación, a la vez que ocurre la ovulación y la hembra se comporta receptiva a la monta e intromisión del macho. De esta manera la especie asegura la presencia de ambos gametos para que la fecundación se lleve a cabo.

**DIESTRO.** Se caracteriza por un gran contenido de leucocitos en el frotis vaginal, regresión del cuerpo luteo y regresión uterina. El diestro dura aproximadamente de 48 a 70 horas.

**PROESTRO.** Se caracteriza por la involución funcional del cuerpo luteo. El frotis vaginal muestra enteramente células epiteliales nucleadas y la formación preovulatoria de los folículos ováricos. Su duración es aproximadamente de 12 horas.

**ESTRO.** Es el período de "calor". La copulación es facilitada sólo en este tiempo. Está caracterizado por la maduración rápida de múltiples folículos ováricos, la rápida proliferación y cornificación de la mucosa vaginal, resultando en la exfoliación de células escamosas cornificadas y la ausencia de leucocitos en el frotis vaginal. El estro dura de 10 a 24 horas y la ovulación ocurre durante este período.

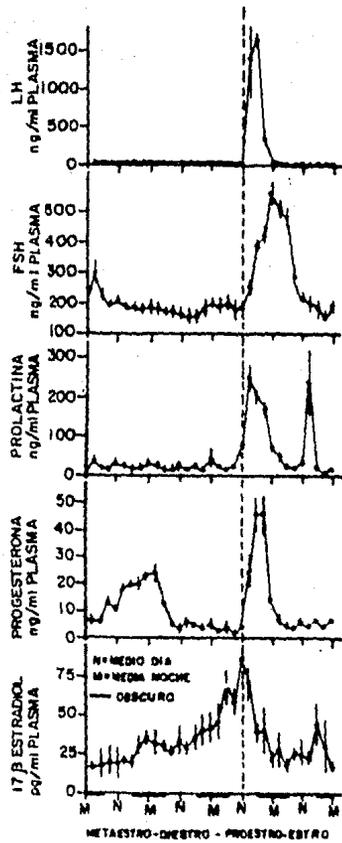
**METAESTRO.** Es el intermediario entre el estro y el diestro, ocurre poco después de la ovulación. Normalmente dura de 10 a 14 horas. Los ovarios contienen cuerpos luteos y pequeños folículos, el útero ha disminuido de tamaño y de vascularidad. Aparecen muchos leucocitos en el frotis vaginal, junto con algunas células cornificadas (Terán, 1978).

La sucesión de las fases en el ciclo estral es consecuencia de la producción cíclica y alterna de estrógenos y progesterona por los ovarios, cuyo blanco principal es el útero.

De la misma manera estas hormonas ováricas son las responsables de la diferenciación del epitelio vaginal, como se ha mencionado anteriormente, que se utilizan como indicio para identificar dichas fases.

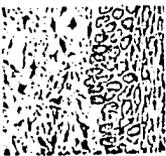
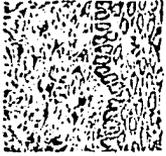
El evento crítico estral de la rata y animales similares como el hamster, es la ovulación. El desarrollo del folículo y la producción de estrógeno son promovidos por la LH y la FSH. Cuando la concentración de estrógeno es alta, la secreción de FSH disminuye y la secreción de LH aumenta.

El mecanismo controlador de la secreción de LH que origina la ovulación, se sabe ahora, que está relacionado con los sistemas neuronales hipotalámicos, los cuales son controlados por mecanismos endógenos generadores de un ritmo circadiano, presumiblemente dentro del núcleo supraquiasmático del hipotálamo.



Variación de las concentraciones de hormonas ováricas y gonadotropinas hipofisiarias a lo largo del ciclo sexual de la rata.

CARACTERISTICAS CITOLOGICAS Y CONDUCTUALES DURANTE EL CICLO  
ESTRAL DE LA RATA

FASE DEL CICLO	PARED VAGINAL	CITOLOGIA VAGINAL	DURACION	CONDUCTA SEXUAL
ESTRO			12 HR.	ACEPTACION DEL MACHO, LORDOSIS
METAESTRO			21 HR.	NO ACEPTACION DEL MACHO
DIESTRO			57 HR.	NO ACEPTACION DEL MACHO
PROESTRO			12 HR	SEÑALES DE ACEPTACION DEL MACHO AL FINAL DE ESTA FASE.

Citología vaginal del ciclo sexual de la rata y respuesta a la monta del macho.

## LA ONTOGENIA DE LOS RECEPTORES A ESTROGENO

La caracterización de las proteínas enlazantes (receptores) citoplasmáticas y nucleares a estrógeno, han revelado un patrón general de interacciones, que parecen ser comunes a todas las hormonas esteroides: involucran la translocación al núcleo de un complejo esteroide-receptor que se une a la cromatina en los sitios aceptores e inicia la síntesis de mRNA que codifica para la síntesis de proteínas.

Los efectos de las hormonas esteroides en la diferenciación y en la respuesta a las hormonas dependiente de la edad, llevó a un gran número de investigadores a preguntarse si el cambio de respuesta de un tipo de célula, a la hormona esteroide, es debida al cambio en la concentración de las moléculas aceptoras disponibles para la interacción con el esteroide. En un caso extremo, se quiere encontrar el momento de la aparición más temprana de un receptor, que consiguientemente pone un límite más bajo en la edad a la cual puede ocurrir una respuesta. Se pregunta si la concentración del receptor pone un límite a la acción de la hormona esteroide.

La presencia de proteínas receptoras específicas para una hormona esteroide en una célula blanco, es una condición necesaria pero no suficiente para que se dé la respuesta. El estudio de la ontogenia de los receptores a estrógeno ha revelado -

situaciones en las cuales ambos receptores, tanto citoplásmicos como nucleares eran normales, estaban disponibles y la respuesta a la hormona esteroide falló en ser mostrada.

Una limitación más general para ser tomada en cuenta es la hipótesis de que hay un pequeño número de sitios no específicos de la cromatina a los cuales se une el estrógeno (sitios efectores) con más afinidad, que a otros miles de sitios aceptores nucleares (Rosen y O'Malley, 1975). De esta manera la cuantificación de los sitios de unión nuclear puede estar lejos de la cantidad de sitios "efectores" verdaderos en la cromatina. Por otro lado, también puede ser un modelo razonable el aceptar que esos sitios efectores son una proporción constante del total de sitios de unión, por lo que la concentración de sitios aceptores que sean determinados ahora, pueden todavía convertirse en indicadores útiles para determinar el número de sitios efectores, cuando se comparan los valores relativos.

#### RECEPTORES A ESTROGENO EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LOS MAMIFEROS

La primera demostración de la toma selectiva y la retención de una hormona esteroide por sus órganos blanco, fue en las borregas y en las cabras inmaduras (Glascock y Hoekstra, 1959).

Se encontraron grandes cantidades de hexestrol radiactivo

en el útero y la vagina, más que en cualquier otro órgano probado. Subsecuentemente las investigaciones pioneras de Jensen y sus colaboradores, utilizaron el útero de la rata inmadura - (de 22 a 24 días de edad) para el estudio de la toma de estradiol marcado (Jensen y Jacobson, 1960).

La demostración crucial hecha por Toft y Gorski en 1966, - de una molécula receptora a estrógeno citoplasmática, también utilizó el útero de ratas inmaduras, por lo que este material de estudio se convirtió en una fuente clásica para el estudio de los receptores a hormonas esteroides.

#### DESARROLLO DE LOS RECEPTORES DEL UTERO DE LA RATA.

##### RECEPTORES NUCLEARES Y CITOPLASMATICOS

Clark y Gorski en 1970 compararon las propiedades del receptor a estrógeno citoplásmico en ratas de edades entre 2 y 24 días después del nacimiento.

La concentración de receptores citosólicos encontrada a los dos días fué de 1.4 fmoles ( $10^{-15}$  moles) por  $\mu\text{g}$  de DNA que provee de aproximadamente 5 000 sitios por célula, cuando se toma el valor de 6.6 pg de DNA por núcleo.

La concentración de los sitios receptores citosólicos tiene un pico a los 10 días y luego declina a una meseta entre los días 15 y 22, que representa aproximadamente tres veces el

valor del día 2.

La concentración de los receptores nucleares durante el desarrollo postnatal del útero de la rata, mostraron cambios en la concentración del receptor nuclear paralelamente a los del citoplasma (Sömjen et al. 1973). Se mostró sobre todo el rango de saturación fraccionada, los sitios de unión a estrógeno, y el 85 % de este enlace se encontró en el núcleo.

Los valores encontrados para el receptor citoplasmático en el pico de concentración, en ratas de 10 días de edad, no fueron significativamente diferentes entre las ratas normales y las ovariectomizadas a los 2 días de edad. El útero de estos dos grupos tampoco mostró diferencias en el peso húmedo o en el contenido de proteínas o el contenido de DNA.

Estos datos llevan a la conclusión de que los estrógenos ováricos no son necesarios para el aumento cuatro veces mayor de los receptores en el día 10, comparado con los receptores del día 2; las propiedades de los receptores son indistinguibles de las de los receptores correspondientes encontrados en el útero de ratas maduras (Jensen y De Sombre, 1972 a).

Stumpf y Sar en 1975, demostraron concentraciones nucleares de estradiol marcado en el útero de ratas de 2 días de edad, en las células del epitelio, estroma y miometrio. El 68 % del estradiol se encontró en el núcleo, esta concentración nuclear fué de 7.5 a 16 veces mayor a la encontrada fuera del área nuclear.

Los sitios receptores citoplasmáticos disponibles durante la pubertad fueron estudiados y se encontró que había una disminución en la concentración de los receptores en el útero durante el período de 21 a 45 días de edad.

A los 33 días de edad, una cuarta parte de la población de ratas mostraba las vaginas abiertas, un promedio del peso uterino de 179 mg y una concentración de receptores de 13 fmoles/mg de peso húmedo del útero. Al comparar con la concentración encontrada en ratas que mostraron la vagina cerrada, peso uterino promedio de 67 mg de peso húmedo y tenían una concentración de receptores de 26 fmoles/mg de útero.

Otros datos obtenidos mostraron que la concentración más alta de estradiol medida a cualquier edad en el suero de ratas fué al primer día de edad 300 pg/ml en las hembras. Para el segundo día, la concentración de estradiol en el suero bajó a cerca de 200 pg/ml, comparable al pico de concentración observado a los 9 y 11 días de edad.

En contraste con la alta concentración de estrógeno circulante; la concentración de los receptores a estrógeno se encuentra en su punto más bajo a los días 1 y 2 de edad. Por lo tanto, la correlación anterior y la falta de influencia de la ovariectomía en la concentración de los receptores a los 10 días, lleva a la conclusión de que no hay una correlación directa entre la concentración del estrógeno circulante y la concentración de los

receptores a estrógeno en el desarrollo del útero de la rata.

#### RECEPTORES CELULARES Y UNION A ESTROGENO EN EL PLASMA

Los análisis cuantitativos de los receptores a estrógeno en roedores fetales, neonatales e inmaduros se complica por la presencia de proteínas plasmáticas, con una gran afinidad y capacidad de unión para los estrógenos, que son encontradas en las proteínas solubles del citosol.

Durante la gestación y la vida postnatal temprana hay cambios drásticos en las concentraciones de los receptores a estradiol. Se encontró que siguiendo a la inyección de estradiol marcado, la concentración de éstas proteínas en el plasma de las ratas de 4 días de edad, fué dos veces mayor que en el plasma de las ratas adultas.

En el plasma de las ratas embarazadas, Soloff y sus colaboradores en 1971, encontraron una proteína capaz de unir al estradiol y a la estrona con igual afinidad. Núñez y sus colaboradores (1971 a, b, c) encontraron en el suero de ratas de 5 a 28 días de edad de ambos sexos, una globulina similar con gran afinidad de enlace y sugirieron que se trataba de la alfa-fetoproteína, que mostró unión al estradiol y a la estrona.

El grupo de Núñez purificó la alfa-fetoproteína del suero de embriones de rata y encontró que unía 88 pmoles de estradiol

por mg de peso. La concentración de la alfa-fetoproteína fué de 80 y 60  $\mu$ M en fetos de 20 días de edad, con una vida media de 3.9 días; posteriormente los niveles bajaron a valores no detectables a la edad de 29 días (Raynaud, 1973; Núñez et al. 1974).

Ambos grupos concluyeron que la unión de la alfa-fetoproteína al estradiol disminuía con el avance de la edad, debida a la disminución en la concentración de la alfa-fetoproteína en el plasma.

Anulando la acción de la alfa-fetoproteína del plasma con anticuerpos específicos contra ella, se confirmó que la concentración de los receptores 8S citosólicos a estradiol, aumentaba rápidamente entre los 6 y 8 días de edad, alcanzando un pico a los 10 días de edad, que coincide con el pico en la concentración del estrógeno circulante.

#### RECEPTORES A ESTROGENO EN EL FETO Y LA PLACENTA

Los receptores en la placenta declinan rápidamente con el desarrollo, desapareciendo completamente en la placenta fetal a los 13 días de embarazo.

Ya que se piensa que los receptores a estrógeno en el citoplasma son precursores de los receptores en el núcleo, ha sido tácitamente aceptado que los valores absolutos obtenidos para los receptores a estrógeno totales, muestran un mayor número de

sitios de unión en el núcleo, que los encontrados en el citoplasma.

Sin embargo, revisando otros sistemas, como el hígado de otros mamíferos, por ejemplo, los reportes de unión nuclear sin la necesidad primaria del enlace citoplasmático, no concuerda con el modelo de acción estrogénica propuesto anteriormente.

Se dice que sólo una fracción de la unión nuclear observada puede estar directamente relacionada a una respuesta al estrógeno. Por lo tanto es necesario considerar el rango de respuesta al estradiol, antes de que uno pueda relacionar la ocupación estrogénica de los receptores nucleares.

#### SECUENCIA DE LA ADQUISICION DE LA RESPUESTA A LOS ESTROGENOS DURANTE EL DESARROLLO POST-NATAL DEL UTERO DE RATA

Mientras que los receptores para los estrógenos, tanto nucleares como citoplasmáticos están presentes desde el nacimiento, no todas las respuestas biosintéticas a la acción estrogénica que han sido observadas en las ratas de 20 días de edad o en las adultas ovariectomizadas, se muestran en los animales durante las primeras cinco semanas de vida, ni todas son expresadas a su capacidad.

La respuesta biosintética más temprana a los estrógenos es la inducción en el útero de ratas de 2 días de edad, de la pri-

mera enzima de la ruta de biosíntesis de las poliaminas, la ornitina-descarboxilasa, hasta alcanzar una actividad específica - por mg de proteína, similar al nivel alcanzado en el útero de ratas de 21 días de edad.

Dos o tres días después del nacimiento, no se observa incremento alguno en la concentración de DNA en el útero como consecuencia de la inyección de estradiol 24 horas antes.

Stack y Gorski en 1983 revisaron los resultados obtenidos - por diferentes grupos de investigadores, que indican que el estradiol no estimula la síntesis de DNA en el útero de la rata neonatal y demostraron que las células uterinas del neonato son capaces de sintetizar DNA en respuesta al estrógeno, y que el secuestro del estradiol por la alfa-fetoproteína es lo que impide la respuesta de éstas células.

Se demostró sin embargo, que en el útero de la rata de 5 y 6 días de edad, la estimulación en la síntesis de la proteína inducida por el estrógeno (IP), ya se llevaba a cabo (Walker et al. - 1976; Katzenellenbogen y Greger, 1974).

Se compararon también los efectos de la inyección de estrógenos sobre el peso húmedo del útero y la síntesis y el contenido de RNA, proteínas y DNA en ratas de 7, 13 y 20 días de edad. Se observaron aumentos en estos parámetros en ratas de 7 días, - pero no se encontró aumento en el contenido de DNA a los 20 días. Tampoco se encontró aumento en el contenido de ácido nucleico, -

ni en la síntesis de proteínas totales en las ratas de 10 días de edad, contrastando con la estimulación de la síntesis de proteínas específicas como la ornitina descarboxilasa o la IP.

En el útero de las ratas no se obtuvo un aumento significativo del peso húmedo uterino, después de una sola inyección de estradiol, sino hasta el 13<sup>o</sup> día de edad.

Otros autores encontraron que el estradiol produce solo una estimulación mínima de la fosforilación de la 2-desoxi-glucosa al noveno día; estos parámetros muestran una estimulación máxima el día 19.

En esta serie de experimentos se observó, a los 17 días de edad, un aumento significativo en el peso húmedo del útero, 24 horas después de la inyección de estrógeno. La magnitud del aumento del peso uterino a esta edad es la misma que la lograda después de 3 inyecciones diarias de estradiol comenzando el día 12 de edad. Si el tratamiento se inicia el día 13, la respuesta a las tres inyecciones fué mayor (230 %) que la obtenida por una sola inyección en el día 13 (80 %). Esta diferencia en la capacidad para estimular el aumento del peso uterino, de una sola o de múltiples inyecciones de estrógeno, basadó en la división celular, está de acuerdo con la falta de habilidad del estrógeno para incorporar timidina marcada en el DNA de ratas a los 15 días de edad, comparada con el aumento dos veces mayor de la velocidad de síntesis de DNA encontrado en las ratas de 20 días de edad.

Estos cambios durante la ontogenia postnatal del útero, han llevado a la sugerencia de que hay una adquisición secuencial de respuesta postnatal; la comparación con las respuestas tempranas o tardías del útero, con las respuestas uterotrópicas tempranas y a largo plazo de un útero completamente competente (de ratas - de más de 20 días de edad), hacia el estradiol y el estriol; la capacidad de una dosis única de estradiol para estimular el crecimiento y la división celular a largo plazo en el útero, puede ser superada por la administración de estriol a intervalos de 4 horas.

Varios investigadores han mostrado entre otras cosas, que el estriol es aproximadamente la mitad de efectivo que el estradiol, para inducir un efecto temprano en la síntesis de proteínas. Mientras que una concentración de 2 nM de estradiol pueden saturar el 50 % de los sitios de unión nuclear a los estrógenos, se requiere casi el doble de la concentración de estriol para lograr lo mismo.

La retención nuclear de los estrógenos por corto tiempo se requiere para los efectos tempranos, y la retención por largo tiempo para el incremento del peso uterino (efecto tardío).

Clark y Peck en 1976 compararon la acumulación y la retención de estrógenos naturales y sintéticos de "acción corta", y sugirieron que la forma sal-resistente del enlace estrogénico que es característica de los estrógenos de "acción larga" es

esencial para el aumento del peso uterino, mientras que la forma extraíble con sal, del enlace, pone en evidencia que los estrógenos de acción corta y larga pueden unirse a diferentes sitios en la cromatina.

Hasta este punto del análisis de la ontogenia de la respuesta a los estrógenos, parece que hay múltiples clases de sitios-aceptores en la cromatina, y que algunas de éstas pueden volverse disponibles a diferentes velocidades durante el desarrollo.

A la edad de 20 días en las ratas, todas las clases de sitios aceptores parecen estar disponibles, pero el número máximo de sitios en ciertas variedades de ratas, pueden continuar aumentando después de los 20 días. Una vez más, la hipótesis está basada en la creencia de que solo una fracción de varios miles de sitios aceptores por célula son "sitios efectores".

El desarrollo de las diferentes clases de sitios aceptores que tiene lugar durante el primer mes de vida, puede depender de cambios ocurridos en la cromatina, la cual puede ser más fácilmente medida por el recambio de proteínas no histónicas, que son parte del programa de desarrollo del útero.

Un cambio particular que permite la resíntesis rápida de los receptores citoplasmáticos a los estrógenos, tiene lugar durante la segunda semana de vida; esto puede explicar la similitud en la respuesta a una sola dosis y a dosis repetidas de estrógeno durante la tercera semana de vida, como ya se ha des-

crito antes.

Ya se había propuesto que la gran concentración de la alfa-fetoproteína en la circulación de las ratas neonatas, prevenía la acción del estradiol sobre la diferenciación sexual del cerebro.

En ratas de 5 días de edad, la alfa-fetoproteína se unió al estradiol lo suficiente para que la disponibilidad de éste por el receptor citoplasmático fuera reducido por debajo del punto en que causa un incremento del peso uterino. Sin embargo, el estrógeno sintético R2858 causó un aumento del 31 % en el peso húmedo del útero a los 5 días de edad, comparado con el 160 % obtenido en el día 21.

La alfa-fetoproteína no puede bloquear completamente la acción del estradiol secretado endógenamente por el útero. En ratas de 5 días de edad, la concentración del estrógeno circulante junto a la concentración de alfa-fetoproteína no es suficiente para causar la translocación de los receptores a estrógenos del citoplasma al núcleo.

Aún con el uso de grandes dosis de estrógeno que conducen a una concentración medible de receptores a estrógeno en el núcleo y a una respuesta subsecuente como es la estimulación de la síntesis de la IP, que se requiere para un desarrollo posterior de competencia en el útero de la rata.

Así como la concentración fisiológica tanto del estrógeno - como de la alfa-fetoproteína, cambia durante el desarrollo post-natal, la concentración de estrógeno, que puede ser neutralizada <sup>en</sup> por cada sistema, debe ser determinada en cada caso.

#### LA RESPUESTA EN LA GLANDULA HIPOFISIARIA

La sensibilidad de la respuesta hipofisiaria a las hormonas liberadoras de gonadotrofinas es parcialmente controlada por el estrógeno. Más aún, una enzima dependiente de estrógeno ha sido descrita por Baram et al. en 1977; esta enzima hipofisiaria fragmenta a las hormonas liberadoras de gonadotrofinas (GnRH), entre las uniones de glicina y leucina.

Hay una inducción del estrógeno en la estimulación de la - síntesis de la prolactina en células hipofisarias en cultivo y la síntesis de ciertas enzimas hepáticas como la histidasa, así como ciertos receptores a hormonas como los sitios de unión lactógeno específicos, son mediados a través de efectos del estrógeno a nivel hipofisario (Posner, 1976).

La glándula pituitaria es capaz de unir el estradiol casi - tan bien como el útero. Si se inyecta estradiol marcado en la - rata durante el desarrollo, la concentración del estradiol es - mayor en la hipófisis que en otras regiones del cerebro, estu- - diadas a los 3 y 5 días de edad.

Es claro que la aparente falta de habilidad de la hipófisis neonatal para concentrar estradiol, comparada con el plasma, es un artificio causado por las grandes concentraciones de alfa-feto-proteína en el plasma neonatal.

Se encontró que junto con la desaparición de componentes de unión de baja afinidad a los 20 días de edad, un receptor citoplasmático de gran afinidad por el estrógeno fué demostrable a los 19 días de edad, se incrementó a los 31 días y más aún a los 51, sin diferencia importante entre los sexos.

Se midió el enlace a estrógeno en el núcleo de la hipófisis de la rata y se encontró un máximo de concentración a la edad de 10 y 11 días de 2.8 fmoles/ $\mu$ g de DNA; el patrón de unión durante el desarrollo fué muy similar al encontrado en el útero.

La unión en la hipófisis fué mayor que en el hipotálamo, lo cual proviene del hecho de que mientras una gran proporción de células en la hipófisis puede acumular estrógeno, sólo un pequeño número de neuronas hipotalámicas muestran la concentración de estrógeno en el núcleo.

No se revelaron diferencias en la acumulación de estradiol marcado en el hipotálamo de las ratas inmaduras, comparadas con las ratas maduras. Algunos autores encontraron mayor toma de estrógenos en las regiones del cerebro de las ratas de 3 a 12 días que en los cerebros de ratas mayores, lo cual es consistente con la alta concentración de alfa-fetoproteína en la circulación a

esas edades.

Kato y sus colaboradores en 1974 detectaron un máximo rudimentario de unión a estradiol marcado, en el citosol del hipotálamo de las ratas de 7 días de edad, que aumentaba rápidamente cuando se analizaba el citosol del hipotálamo de las ratas de 14 a 28 días de edad.

Por medio de la competencia de  $1 \mu\text{M}$  de etinil estradiol con la toma in vivo de estradiol marcado, por el hipotálamo, se mostró que los receptores a estrógeno saturables están presentes desde los 5 días de edad en las ratas hembra.

La concentración de estradiol marcado unido al hipotálamo, al área preóptica, a la amígdala y al cerebro medio, aumentó de 18 fmoles/mg de peso húmedo a los 6 días de edad, hasta el valor de 58 fmoles/mg de peso húmedo en las ratas adultas de 77 y 80 días de edad (Kaye, 1978).

La afinidad de la alfa-fetoproteína por el estradiol es mayor que por el dietilestilbestrol. Cuando la alfa-fetoproteína desaparece a los 26 días de edad, la unión del estradiol y del dietilestilbestrol en el cerebro es igual.

La unión de los estrógenos en el cerebro es dos veces menor que en el útero y en la hipófisis, cuando se expresa en forma de estrógeno unido/mg de DNA en todo el tejido estudiado.

## RECEPTORES A ESTROGENO EN ORGANOS VISCERALES DE MAMIFEROS

**HIGADO.** La concentración del receptor citoplasmático alcanza un valor de 58 fmoles/mg de proteína en el hígado de las ratas adultas, pero es menos de la sexta parte de este valor en las ratas de 27 días de edad. Este aumento en la concentración de receptores con la madurez, es consistente con la baja concentración de los receptores a estrógeno reportada para el hígado de ratas inmaduras.

Por medio de la autorradiografía se mostró la localización nuclear, donde se encontró una gran afinidad al estradiol; se sugirió que la elevación de la concentración de varias proteínas - en el plasma es resultado de la acción estrogénica de incremento en la síntesis de proteínas en el hígado.

**RIÑON.** En el riñón de fetos de cobayo se observaron receptores citosólicos y nucleares específicos al estradiol, pero no a la progesterona.

**CEREBRO.** Se encontraron receptores a estrógenos en el hipotálamo, el área preóptica, la amígdala y el cerebro medio.

**PULMON.** También se encontraron receptores al estradiol.

Los estudios de la ontogenia de los receptores a estrógeno provienen del interés e importancia de los esteroides en la diferenciación sexual.

En el caso de la diferenciación sexual del hipotálamo de roedores, bajo la influencia de los esteroides gonadales, que tiene lugar en los primeros días de la vida postnatal, demostraron la presencia de receptores de gran afinidad por los estrógenos en las áreas preóptica e hipotalámica del cerebro, esto combinado con la aromatización de los andrógenos en éstas mismas células, y la acción protectora de la alfa-fetoproteína circulante, da una explicación consistente de la función normal en la diferenciación sexual y de la androgenización neonatal, por grandes dosis de esteroides gonadales.

En la diferenciación concerniente al útero, parece ser que el mecanismo completo de receptores nucleares y citoplasmáticos están presentes desde el nacimiento; pero hay un desarrollo postnatal para dar una respuesta completa al estrógeno, la cual culmina en el crecimiento y diferenciación celular.

Un análisis adecuado de la ontogenia del sistema de respuesta a esteroides, debe tomar en cuenta las variaciones siguientes:

- a) La provisión de estrógeno. Generalmente esto puede ser por secreciones endócrinas que varían en función de la edad, o puede resultar de la síntesis de las células blanco estrógeno por aromatización de los andrógenos apropiados. La velocidad de remoción de estrógeno del sistema también debe tomarse en cuenta.

- b) interacción del estrógeno circulante con las proteínas enlazantes del plasma. Por ejemplo, en el caso de los roedores - en los estados embrionario y perinatal, es crítico.
- c) la concentración del receptor citoplasmático. La disponibilidad de este receptor depende de su concentración y distribución a la exposición previa a los estrógenos, y de la velocidad de reemplazo de los receptores, que puede estar controlada a su vez, por la acción de otras hormonas esteroides y de hormonas proteicas.
- d) la concentración del receptor nuclear. El transporte del complejo citoplasmático estrógeno-receptor al núcleo, depende de la integridad del complejo y su concentración; mientras que su retención en el núcleo depende de su unión a la cromatina.
- e) interacción con la cromatina. El número de sitios de unión - cromosómicos "aceptores", que en realidad funcionan como sitios de estimulación de la síntesis de mRNA o "sitios efectores", se desconoce. El estado de la cromatina en una célula, puede ser afectado simultáneamente por los estrógenos y por otras hormonas esteroides, ya sea temporal o permanentemente en el curso de la diferenciación.
- f) efectos post-transcripcionales en la síntesis inducida. Han sido ampliamente explorados los controles en éste área, y la utilización de las proteínas inducidas por los estrógenos, -

dentro de las que pueden ser incluidas por ejemplo, enzimas catabólicas capaces de destruir otros productos inducidos - por estrógenos (Kaye, 1978).

La breve lista anterior puede servir como una muestra de hasta dónde se ha llegado en los últimos años, y qué tan lejos se está de entender la ontogenia de las interacciones de los - receptores a estrógeno.

## DIFERENCIACION SEXUAL DEL CEREBRO

En los últimos años se han hecho grandes progresos al identificar las regiones blanco de las hormonas sexuales en el cerebro. Se ha establecido que las hormonas sexuales influyen directamente en su diferenciación sexual; esto es, el patrón de conexiones nerviosas y el incremento de la organización de los circuitos nerviosos en partes específicas del cerebro durante el desarrollo embrionario y el desarrollo postnatal temprano.

Los investigadores interesados en la conducta de la reproducción han demostrado que una de las funciones de las hormonas gonadales en los mamíferos macho y hembra adultos, es la de llevar a la expresión los patrones de conducta previamente organizados o determinados por factores genéticos y de experiencia.

La hipótesis de que estas hormonas tienen una acción organizadora fué rechazada durante un tiempo. Sin embargo, en lo que concierne al adulto esta hipótesis parece estar bien fundada. Las hormonas femeninas en vez de feminizar a ratas macho castradas cuando adultas, incrementaron su actividad como machos. Cuyos macho y hembra gonadectomizados al día de su nacimiento y una rata hembra con ausencia congénita de ovarios mostraron patrones normales de conducta femenina cuando se les inyectó con las hormonas apropiadas cuando adultos.

La posibilidad de que las hormonas gonadales de los animales estudiados en el período perinatal, tengan una acción organizadora que pueda ser reflejada por el comportamiento sexual del adulto, puede:

- 1) extender nuestro conocimiento sobre la importancia de las hormonas gonadales en la regulación del comportamiento sexual, por proveernos de información acerca de la acción de estas hormonas durante el período perinatal.
- 2) ser una evidencia sugerente de la relación entre los tejidos neurales que median el comportamiento de la cópula y las hormonas fetales morfogénicas; y por otro lado, entre los tejidos genitales y las mismas hormonas.
- 3) dar una atención directa al posible origen de las diferencias conductuales entre los sexos, que son importantes para la teoría psicológica y psiquiátrica (Phoenix et al. 1959).

Recuérdese que durante el período de desarrollo embrionario, el macho y la hembra son morfológicamente indistinguibles. Después de la subsecuente diferenciación de las gónadas en testículos y ovarios, la actividad secretora de las gónadas masculinas parece ser crítica para la diferenciación masculina de los órganos reproductivos internos y de los genitales externos.

Este concepto es aplicado también a la función del cerebro. Está bien establecido que el cerebro de la rata macho y de la -

hembra difieren funcionalmente, por lo tanto estas diferencias en la función no son determinadas directamente por el genoma neuronal; más bien estas diferencias de sexo en la función del cerebro, son establecidas por el medio hormonal durante el período perinatal temprano, al parecer por la modificación de un cerebro inherentemente femenino (Reinisch, 1976).

En oposición a la acción temporal de las hormonas esteroideas sobre las células blanco en el adulto, la exposición neonatal de las células del cerebro a los andrógenos o estrógenos, causa una diferenciación permanente del cerebro en dirección a la masculinización o androgenización; con la subsecuente pérdida en el adulto de las respuestas características femeninas a la estimulación estrogénica, como la liberación cíclica de la GnRH por el hipotálamo.

Prescindiendo del sexo genético del animal, el cerebro es fundamentalmente femenino. En contraste, si la diferenciación ocurre en presencia de andrógenos, el animal exhibe una función masculina cuando adulto.

Esta diferenciación sexual, organizadora del cerebro, se ha propuesto que la lleva a cabo la testosterona, cuya producción es mucho mayor en los machos que en las hembras.

Paradójicamente la hormona que lleva a cabo la diferenciación de los patrones masculinos del cerebro en la rata macho neonata parece ser el estradiol, una hormona femenina.

A pesar de que la hormona que llega al cerebro del macho neonato es la testosterona secretada por los testículos, esta hormona es convertida a estradiol, mediante enzimas de las células nerviosas, que son el blanco de la diferenciación sexual.

La testosterona entra en la célula y es transformada, ya sea en dihidrotestosterona o en estradiol, el cual ejerce un fuerte efecto sobre la célula, "imprimiéndole" un patrón de respuesta sexual masculina al animal, observable en la edad adulta.

En las hembras, se piensa que el acceso del estradiol a las células del cerebro, es bloqueado por el secuestro de éste por la alfa-fetoproteína, una sustancia presente en gran concentración en la sangre de los animales recién nacidos y en el líquido céfalo raquídeo, por lo que el efecto de masculinización no se lleva a cabo, y el cerebro, que es potencialmente femenino, se organiza con patrones de conducta sexual femeninos observables en la edad adulta (Mc. Ewen, 1976).

En el animal adulto, la rata hembra tiene la facultad de liberar gonadotrofinas cíclicamente en forma de descarga, lo cual es esencial para la ovulación; también muestra conducta de lordosis. En oposición, el macho adulto, aún en presencia de hormonas ováricas (estrógenos) exógenas, no presenta una descarga disparada de LH y su cociente de lordosis es bajo o ausente (Gorski, 1974).

Si se administran estrógenos exógenos a ratas durante el período perinatal, en los machos no hay efectos aparentes, siempre y cuando la dosis de la hormona no sea excesiva. El macho puede todavía mostrar la típica escasez de liberación de gonadotrofinas, y sólo en raras ocasiones exhibe comportamiento de lordosis.

Por otro lado, si las hembras son expuestas a andrógenos en la vida temprana, hay un cambio marcado: ya no muestran el comportamiento de lordosis, ni la liberación cíclica de LH, y por este hecho, el animal se vuelve anovulatorio y en consecuencia estéril (Harlan y Gorski, 1977).

El síndrome completo de la esterilización neonatal en hembras está caracterizado por una postpubertad, un patrón (tónico) masculino de liberación de LH, un estado de estro vaginal constante acompañado de infertilidad permanente, crecimiento de las glándulas endometriales, folículos ováricos sin cuerpo luteo, una tendencia hacia el patrón masculino de conducta y de metabolismo esteroide hepático.

Si la hembra perinatal es gonadectomizada, cuando es adulta tiene la capacidad de manifestar un alto porcentaje de conducta de lordosis. Esta hembra puede compararse esencialmente con la hembra intacta, por lo que se piensa que los ovarios tienen poca importancia en el proceso de diferenciación sexual.

Por el contrario, si los testículos son removidos, se ve una marcada alteración en el macho. Cuando adulto, el macho genético es capaz de liberar gonadotrofinas ciclicamente y también muestra niveles femeninos de lordosis (Gorski y Wagner, 1965; Gerall et al. 1973).

Estos datos apoyan la opinión de que hay dos caminos fundamentales de acción de las hormonas esteroides en el sistema nervioso central (SCN): de activación y de organización.

Los efectos activadores de los esteroides se refieren a la activación o inhibición de los circuitos neuronales existentes. El efecto organizador se refiere al efecto de los esteroides cuando determinan de una forma permanente los patrones neuronales que funcionarán en el adulto (Gorski, 1979).

El estradiol parece ser más potente al masculinizar al cerebro que la testosterona, ya que ésta puede ser aromatizada en el cerebro para convertirla en estradiol. Finalmente el andrógeno no aromatizable, la dihidrotestosterona, fracasa en masculinizar al cerebro (Naftolin et al. 1975).

Con una sola inyección de 10  $\mu$ g de propionato de testosterona se provocó un 71 % de esterilidad en ratas hembra de 5 días de edad; mientras que 1  $\mu$ g de benzoato de estradiol causó un 42 % de esterilidad en ratas de la misma edad. Paradójicamente el estradiol fue un masculinizador más potente que el andrógeno mismo.

Para saber en qué región del cerebro ocurre este proceso de diferenciación sexual, se pueden utilizar varios métodos: uno, es la identificación de los sitios de control neuroendocrino específicos en el adulto y luego evaluarlos por las diferencias sexuales, ya que probablemente esas diferencias residen dentro de la neurona, en un sustrato preciso para el control de una función adulta.

Otro método es identificar el sitio de acción de la hormona en el animal perinatal a través de la utilización de las técnicas de implantación directa. Esta proposición supone que los mecanismos receptores a esteroides están involucrados en la diferenciación sexual (Hansen y Södersten, 1978).

Es posible que el sexo del cerebro de la rata esté dado en una sección histológica a través de lo que se llama el núcleo dimórfico sexual (SDN) del área preóptica; sin embargo los datos obtenidos sugieren que no es así. Está claro que este dimorfismo sexual no depende de la acción activadora de los esteroides. Este dato, sin embargo es consistente todavía con la posibilidad de que hay simplemente una diferencia morfológica genética entre el macho y la hembra.

El medio ambiente hormonal no parece revertir completamente este dimorfismo sexual. En cualquier caso, es claro que el volumen del núcleo dimórfico sexual sufre cambios hormona-dependientes. A pesar de esto, la correlación no es consistente entre

los volúmenes nucleares y la habilidad de los animales para mostrar la lordosis o el suministro cíclico de gonadotrofinas (Gorski et al. 1978; Olsen et al. 1980).

Hasta ahora la diferenciación sexual del cerebro, que ciertamente involucra la función neuroendócrina, parece también alterar la conectividad de las neuronas y aún el número de ellas.

El esteroide entra al citoplasma y se une al receptor específico; este complejo esteroide-receptor es translocado en el núcleo donde eventualmente se forma nuevo mRNA que sintetiza algún producto.

Es posible que los esteroides actúen directamente en la membrana del soma neuronal, o como es más probable, la hormona esteroide en el cerebro pueda actuar como un modulador local de la comunicación dendrítica (Mc Ewen et al. 1978).

Puesto que las células nerviosas son postmitóticas, la energía química no está dirigida hacia la división celular. Por lo tanto, el producto inducido por el esteroide, puede ser transportado hacia los axones terminales y de hecho funcionar como un neurotransmisor en la sinápsis dendrítica.

El esteroide puede alterar directamente las características de superficie neuronales, las cuales pueden ser críticas en la concentración final. También puede actuar por medio de sus receptores (Mc Ewen, 1977).

El esteroide actúa en el núcleo y produce la síntesis de

algún producto que puede por sí mismo alterar la superficie neuronal o funcionar como una sustancia neurotransmisora, y causar un cambio permanente en el cerebro.

La acción del esteroide o del complejo esteroide-receptor dentro del núcleo, puede alterar permanentemente la actividad genotóxica. Por lo tanto, es posible que la acción de los esteroides en el desarrollo del SNC del perinato, resulte en una alteración permanente en el número de células, la conectividad celular, la producción y/o liberación de neurotransmisores permanentemente alterados, en la alteración de la sensibilidad hacia los esteroides, a los neurotransmisores y/o a otros factores químicos.

Sin embargo, hay que enfatizar que la acción de los esteroides en el desarrollo del SNC, a pesar de que puede producir una única alteración en la actividad genotóxica, o que produce un compuesto que no se obtiene en ninguna otra etapa, es quizás debido al mecanismo de acción organizador que ejercen las hormonas sobre el sistema nervioso. Esto quiere decir que en la etapa perinatal, cuando se está desarrollando el sistema nervioso, el medio ambiente hormonal "imprime" en el cerebro de cada individuo una cierta organización que define sus patrones de conducta para actuar como machos o hembras en la edad adulta. Pero es solamente en la etapa crítica del desarrollo del sistema nervioso cuando esto ocurre; una vez que el cerebro

ha quedado "impreso", la organización de sus patrones de conducta será permanente.

#### MODELO DE ACCION POR LA VIA DE LOS RECEPTORES A ESTROGENO

- a) El estado indiferenciado de los mamíferos durante el desarrollo es femenino. La hembra se caracteriza en la edad adulta por un patrón cíclico de liberación de LH.
- b) Ambos receptores, nucleares y citoplasmáticos para estrógenos y andrógenos están presentes en el cerebro durante la crítica primera semana de vida.
- c) La testosterona y otros andrógenos en los cuales el anillo A no está reducido, pueden ser aromatizados en el cerebro y convertidos en estradiol (Naftolin et al. 1975), que es el esteroide responsable de la masculinización del cerebro.
- d) La testosterona que es normalmente secretada por los testículos del roedor macho recién nacido se convierte en estradiol en la región hipotalámica en la cual los esteroides regulan la liberación de gonadotrofinas en el adulto.
- e) El estradiol circulante en la hembra es prevenido de alcanzar la región cerebral que controla la liberación de gonadotrofinas por la alta concentración de la alfa-fetoproteína en la sangre y el líquido céfalo raquídeo, la cual secuestra al estrógeno.

f) La testosterona, que no es enlazada por la alfa-fetoproteína puede causar masculinización si se administra a hembras neonatas.

Naftolin en su revisión de la formación de estradiol en el cerebro, pone a consideración la idea de que las acciones centrales de los andrógenos, puedan requerir al estrógeno como una "llave metabólica" (Kaye, 1978). Ya que los andrógenos requieren la conversión a metabolitos con el anillo A reducido, como la dihidrotestosterona, o el anillo A aromátizado como el estradiol, antes de actuar en los órganos sexuales secundarios.

EFFECTO DE LOS ESTROGENOS SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL

DE LA RATA

COMPORTAMIENTO SEXUAL FEMENINO

Los estrógenos estimulan el comportamiento de lordosis en los roedores hembra. Algunas especies requieren sólo de estrógenos para mostrar el comportamiento sexual, mientras que otras especies necesitan la acción secuencial del estrógeno y la progesterona; especies como la rata y el cuyo, requieren de ambas. Tienen períodos cortos de estro o "calor" y no son receptivas sexualmente en los otros estados del ciclo.

Otras especies como el gato y el conejo sólo requieren de estrógenos y muestran períodos prolongados de estro, durante el cual aceptan al macho.

Beyer y sus colaboradores, en 1976 muestran la potencia de cuatro estrógenos naturales, en la inducción del comportamiento estral en ratas ovariectomizadas. El estradiol fué el estrógeno más potente para inducir el estro, seguido por la estrona, el estriol y el sulfato de estrona. Un resultado similar se obtuvo en cuyos ovariectomizados.

En las ratas macho castradas, el estradiol solo, puede incrementar la actividad de monta y de eyaculación. El estradiol en presencia de testosterona, disminuyó los tiempos de la latencia de intromisión, la latencia de eyaculación y el intervalo -

posteyaculatorio (Södersten y Hansen, 1978).

Södersten y Eneroth en 1981 muestran que tanto ratas intactas, como ratas ovariectomizadas tratadas exógenamente con estrógeno y progesterona, muestran valores máximos de lordosis cuando los niveles séricos de ambas hormonas se encuentran más altos. Esto sucede en las ratas intactas alrededor del cuarto día, es decir en el estro.

#### CORRELACION ENTRE LA OVULACION Y LA RECEPTIVIDAD

Durante el ciclo estral normal de la rata, el aumento en el título de estrógenos como respuesta a la descarga de LH, es seguido por una descarga de progesterona. Hasta ahora parece ser que el comportamiento de lordosis es consecuencia de la exposición secuencial del cerebro a los estrógenos, seguida por la acción de la progesterona.

El comportamiento de lordosis en la rata, aunque no es el único componente del comportamiento sexual femenino, es una medida conveniente de la receptividad sexual.

Está claramente establecido que el comportamiento de lordosis depende de las hormonas ováricas. Pero éstas hormonas no son las únicas que lo afectan. La progesterona por sí misma parece ser una consecuencia de la descarga de LH que va a conducir a la ruptura de los folículos ováricos, así como la LH causa la

ovulación, puede también indirectamente facilitar el comportamiento de lordosis (Moss et al. 1977; Wilson et al. 1978).

También ocurre que la cópula provoca la ovulación, sobre todo en animales como la rata que ovulan espontáneamente. En estos animales, la cópula también facilita la liberación de LH, por lo que si la ovulación es bloqueada o si la receptividad sexual es inducida antes de tiempo, es decir antes de la descarga de LH, la cópula puede inducir la ovulación en estos roedores.

#### ACCION SINERGICA DEL ESTROGENO Y LA PROGESTERONA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL DE LORDOSIS

La conducta de cópula en las ratas hembra puede ser abolida por la ovariectomía, y puede ser restaurada en forma dosis-dependiente, por la acción sinérgica del estrógeno y la progesterona administrados exógenamente.

Una característica importante de la acción facilitadora de la progesterona sobre el comportamiento sexual femenino, es el requerimiento de un primer tratamiento con estrógeno. Si la progesterona es administrada a ratas ovariectomizadas a las que no se les ha "impreso" con estrógeno 24 a 48 horas antes, es incapaz de estimular su receptividad conductual (Hansen y Södersten, 1978 a; Etgen, 1981).

Algunos investigadores han demostrado que la "impresión" estrogénica aumenta de manera significativa y selectiva, el número de sitios de unión a progestinas en el hipotálamo y la hipófisis, pero no la amígdala, la corteza, el hipocampo o el cerebro medio de las ratas hembra (Mc. Ewen et al. 1975; Kato, 1977).

Las observaciones anteriores han llevado a la proposición de que la inducción estrogénica de los receptores a progesterona en el hipotálamo, es un paso necesario para la facilitación del comportamiento sexual femenino. Esta hipótesis es apoyada por estudios que muestran que el inicio y la declinación de la receptividad sexual que sigue a los tratamientos con estrógeno en las ratas hembra, tiene amplia correlación con la aparición y la desaparición de receptores a progesterona en el hipotálamo, inducidas por los estrógenos. Los tratamientos antiestrogénicos inhiben la inducción de la lordosis y también reducen la inducción estrogénica de receptores a progesterona.

El estrógeno y la progesterona también facilitan sinérgicamente la liberación cíclica de gonadotrofinas por el hipotálamo (Mogulsky y Raynaud, 1979; Mac Lusk y Mc. Ewen, 1980).

Sin embargo, para determinar la importancia de la inducción estrogénica de los receptores hipotalámicos a progesterona, del control por la misma, del comportamiento de cópula, la regulación de la secreción de gonadotrofinas debe ser dissociada de la regulación de las respuestas conductuales.

Es bien conocido que las ratas macho y hembra adultas son diferentes en su sensibilidad a la inducción de la lordosis y a las propiedades de liberación de gonadotrofinas por el efecto sinérgico del estrógeno y la progesterona. Más aún, estos patrones pueden ser revertidos por la castración neonatal en los machos o con la administración de altas dosis de andrógenos en las hembras neonatales.

Bajas dosis de andrógenos administradas al nacimiento, pueden desensibilizar a ratas hembra para la liberación cíclica de gonadotrofinas, producida por la acción del estrógeno, y sin la reducción de la habilidad de los animales para mostrar lordosis. En consecuencia, se ve que hay una disociación de la regulación del comportamiento sexual y la liberación de gonadotrofinas (Brown-Grant, 1974; Etgen, 1981).

Se pensó que la inducción estrogénica de los receptores neuronales a progesterona era importante para la activación del comportamiento de la lordosis, a pesar del genotipo del animal (machos vs hembras), o del patrón de secreción gonadotrófica.

Se ha reportado que los cuyos y las ratas macho, sintetizan menos receptores a progesterona hipotalámicos en respuesta al tratamiento estrogénico, cuando se compara con las ratas hembra (Moguilewski y Raynaud, 1979; Blaustein et al. 1980).

Sin embargo, en el estudio hecho por Etgen en 1981, no se observa un aumento significativamente mayor en las hembras que-

en los machos. Estos resultados no indican que los receptores a progesterona no sean importantes en la mediación del comportamiento de la lordosis o de la liberación cíclica de gonadotropinas; sino que demuestra que la presencia de altas concentraciones de los receptores, no por sí mismas vuelven a un animal más sensible a los efectos activadores del estrógeno y la progesterona.

Es posible que si los receptores median la activación del comportamiento reproductivo, las diferencias críticas entre los animales que den respuesta y los que no, estará en un paso posterior en la acción hormonal. Es decir, en la translocación nuclear, la retención del enlace en la cromatina, la estimulación de la transcripción o de la traducción.

Las ratas macho y hembra parecen tener igual concentración de sitios de unión hipotalámicos a estrógeno; sin embargo, las hembras retienen el estradiol marcado más tiempo que los machos, y las dinámicas de unión del estrógeno a la cromatina difieren entre los sexos (Korach y Muldoon, 1974; Olsen y Whalen, 1980).

Utilizando una escala de respuesta sexual se mostró que el nivel de comportamiento sexual de la rata hembra, aumenta conforme aumenta la dosis de estradiol, seguida de la administración de progesterona. Al mismo tiempo, el cociente de lordosis manifiesta un efecto máximo cuando las concentraciones de las hormonas son altas.

Con el estradiol solo, no se alcanzaron los más altos niveles de lordosis; con la prolongación del tratamiento hormonal, - al cabo del tiempo, la efectividad del estradiol disminuyó (Hlíňák y Madlafousek, 1983).

El efecto sinérgico de la progesterona con un previo tratamiento de estrógeno, en la activación del comportamiento sexual ha sido ampliamente demostrado.

El tratamiento sinérgico con éstas hormonas alcanzó su máxima efectividad con una dosis de "impresión" de 30  $\mu$ g de estradiol, y con 0.3 a 0.9 mg de progesterona. Las hembras que recibieron dosis más altas de progesterona, mostraron un nivel menor de comportamiento sexual (Hlíňák y Madlafousek, 1983).

Estos autores, en 1981 concluyeron que con una aplicación repetida de estradiol a las ratas, aparece un efecto acumulativo. La progesterona sin embargo, no parece participar en el aumento gradual del nivel de comportamiento sexual con un tratamiento repetido, esto es, que la repetición de la dosis de progesterona no incrementa el comportamiento sexual.

La remoción de progesterona o de ambas hormonas: estradiol y progesterona, lleva a una rápida disminución del nivel de comportamiento sexual (en una o dos semanas). Por otro lado, siguiendo la aplicación de estradiol solo, por largo tiempo, los animales todavía pueden mostrar un nivel casi sin cambio del comportamiento sexual hasta cuatro semanas después (Hlíňák y -

Madlafousek, 1969).

Es posible que la combinación de una dosis alta de estradiol con una pequeña dosis de progesterona induzca con la misma intensidad la respuesta sexual, que la combinación de una dosis pequeña de estradiol con una dosis grande de progesterona.

Aunque esto puede ser contradictorio, puede ser explicado por el hallazgo de que el efecto sinérgico de la progesterona depende de los niveles de la dosis de "impresión" del estradiol. - Bajas dosis de estradiol determinan un límite para las dosis de progesterona, arriba del cual pueden tener un efecto sinérgico, - mientras que no tienen este efecto por debajo de ese límite.

Por ejemplo, no se encontró diferencia en la respuesta a 0.1 y 0.2 mg de progesterona. Este efecto sinérgico fué llevado a cabo en los límites de dosis desde 0.0 hasta 2.4 mg de progesterona, con 15  $\mu$ g de dosis "impresora" de estradiol. Cuando se utilizó una dosis doble de progesterona, se obtuvo una efectividad menor sobre el comportamiento de lordosis que con las bajas dosis de progesterona.

El fenómeno observado se asemeja a las condiciones hormonales de las ratas intactas, cuando debido a una gran secreción de progesterona aparece la fase lutea del ciclo estral y decae la respuesta sexual (Barfield y Lisk, 1974).

## OTRAS MEDIDAS DEL COMPORTAMIENTO SEXUAL

El criterio básico de la efectividad de las hormonas ováricas y la medida más generalmente utilizada del comportamiento sexual de las ratas hembra, es el cociente de lordosis, que expresa la manera de reacción copulatoria de éstos roedores.

No obstante, se ha mostrado que el cociente de lordosis tiene posibilidades evaluativas limitadas (Hardy y De Bold, 1971; Hlíňák y Madlafousek, 1981), ya que con la aplicación de dosis adecuadas de estrógeno y progesterona, se pueden obtener niveles de 100 % de cociente de lordosis.

En términos de conducta sexual, las ratas hembra tienen patrones específicos de la especie, de comportamiento de atracción o proceptivo. Para caracterizar el nivel de conducta sexual de la rata hembra adulta, Madlafousek y Hlíňák sugieren una escala de intensidad de la respuesta sexual en 1983, la cual está basada en los patrones observados del comportamiento precopulatorio, agrupándolos en tres patrones básicos: postura de presentación, comportamiento de espera y comportamiento de movimientos rápidos. También se señala como patrón de comportamiento proceptivo, el comportamiento de postura con movimiento de orejas y olfateo; sin embargo, la diferencia en la capacidad de percepción de los investigadores, hace que los datos muchas veces no resulten reproducibles y se lleguen a conclusiones erróneas, por

lo tanto, el cociente de lordosis sigue siendo una buena medida del comportamiento sexual en las ratas, ya que es fácilmente observable y reproducible.

#### REGULACION EXTRINSECA DE LA REPRODUCCION

El sistema de la regulación extrínseca involucra factores sensitivos especiales como son los estímulos táctiles, de la cópula o del lamido, y la importancia de las señales olfativas o del fotoperíodo.

Acerca de los estímulos táctiles, se ha visto que las conductas proceptivas pueden estimular el comportamiento sexual de los roedores. La simple cohabitación de los animales puede influir para la estimulación de las conductas sexuales. De esta manera se ha observado que una hembra que no esté en el período de estro, puede mostrar comportamiento de lordosis en respuesta a estímulos táctiles del macho después de un período de cohabitación con él.

Con respecto a los efectos visuales es necesario considerar la importancia del fotoperíodo. Los efectos conductuales del estradiol en ratas ovariectomizadas y en las intactas, dependen del ciclo luz-oscuridad. Como se sabe, los roedores son animales de hábitos nocturnos, por lo que es de esperarse que la mayor actividad sexual se presente en la fase de oscuridad del ciclo.

Y así es como ocurre, los más altos cocientes de lordosis se presentan a la mitad de la fase de oscuridad, disminuyendo a medida que transcurre el ciclo hacia la fase de luz, en donde se presentan los niveles más bajos de lordosis.

El ciclo hormonal de las ratas hembra depende del ciclo luz-oscuridad, mientras que en el macho no ocurre. Sin embargo, si a los machos se les castra en el nacimiento, también se vuelven dependientes del fotoperíodo y su secreción de gonadotropinas se vuelve cíclica.

Las lesiones en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, que es el sustrato central neuronal de los ritmos circadianos, también interrumpen el ritmo cíclico hormonal en las ratas hembra. Algunos ritmos neuroendócrinos y de conducta, son similarmente afectados por las lesiones en este sitio (Moore, 1978).

Las similitudes entre los efectos de la estimulación perinatal con testosterona, y las lesiones en el hipotálamo, sobre el comportamiento de lordosis, llevan a la especulación de que el tratamiento temprano con testosterona modifica la función del núcleo supraquiasmático del hipotálamo o que afecta las conexiones entre éste y las áreas del cerebro que controlan el comportamiento de lordosis. Así, los efectos organizadores del tratamiento temprano con testosterona pueden involucrar una modificación en algún mecanismo de ritmo circadiano; resultando en una alteración de la dependencia del ciclo luz-oscuridad en el com-

portamiento de los animales adultos (Södersten et al. 1980).

Además del fotoperíodo, el estímulo visual por sí mismo puede tener una importancia crítica en la reproducción. Particularmente en ciertas especies, el estímulo visual representa un componente integral del sistema reproductivo.

Datos recientes nos transportan a una nueva dimensión de interacción entre las especies de mamíferos. Está ampliamente demostrado que muchas especies de mamíferos producen vocalizaciones ultrasónicas que los humanos no podemos escuchar, pero las cuales parecen tener importancia en la fisiología de los animales.

Se ha mostrado que estas vocalizaciones aparentemente emitidas por las ratas macho, pueden significativamente facilitar el comportamiento sexual femenino (Mc Intosh et al. 1978).

Otro ejemplo dramático de la regulación extrínseca de la reproducción, es el hecho de que la cópula induce la ovulación en especies como conejos, gatos y ratas.

En la rata hembra intacta, la cohabitación facilita la liberación de LH, y si la ovulación espontánea es bloqueada o bien, la receptividad sexual es inducida antes de la ovulación normal, la descarga de gonadotrofinas o la cópula pueden inducir la ovulación. Es decir que el bloqueo puede ser completamente vencido por la cohabitación de las hembras con los machos.

Un elevado porcentaje de los animales que han recibido un - alto número de intromisiones, muestran un patrón nocturno de - suministro de prolactina que presumiblemente tiene acción sobre la secreción de progesterona. La rata hembra puede aparentemente, seguir la cuenta del número de intromisiones que recibe; Edmonds y sus colaboradores en 1972 encontraron que eran necesarias 10 - intromisiones para que las hembras se convirtieran en "progestacionales".

El éxito de la reproducción requiere de una compleja, integrada y recíproca interacción secuencial entre los estímulos del medio ambiente; como la presencia del nido, el comportamiento - proceptivo de cada uno de los sexos, la actividad endócrina, etc. La importancia de estos estímulos es un ejemplo clásico de la regulación extrínseca de la reproducción.

## DISCUSION

El tamaño tan pequeño de las moléculas de las hormonas esteroides, les permite una libre difusión dentro y fuera de las células. La concentración tan baja a la que se encuentran en el organismo, llevó a pensar a los investigadores que existía un mecanismo especial de transporte que las llevara y retuviera en sus células blanco.

Se pensó que estas moléculas eran "secuestradas" dentro de las células para prevenir que escaparan, y se sugirió que un "receptor" estaba involucrado en la respuesta celular a las hormonas esteroides.

Por medio de estos receptores, se ha revelado que hay un patrón general del mecanismo de acción de las hormonas esteroides: la unión del esteroide y el receptor en el citoplasma, la translocación del complejo formado esteroide-receptor al núcleo, en donde se une a la cromatina e inicia la síntesis de las proteínas.

La presencia de estos receptores en la célula blanco, sin embargo, no es condición suficiente para que se dé una respuesta celular a la hormona, pues no todos los receptores se unen a ésta última, es decir, no todos son "sitios efectores".

Se estudió a qué edad se encontraban ya los receptores a estrógeno en el útero de ratas. La concentración de los recep-

tores citosólicos a estrógeno alcanzan rápidamente un pico de concentración a los 10 días y luego declinan a una meseta entre los días 15 y 22.

Aunque los estrógenos están presentes desde el nacimiento, la síntesis de proteínas inducida por la hormona, fué demostrada en ratas de 5 y 6 días de edad, pero no en ratas más jóvenes (Katzenellenbogen y Greger, 1974; Walker et al. 1976).

Existe retención nuclear de estrógenos de corto y largo tiempo; la de corto tiempo es requerida para efectos tempranos (síntesis de la proteína inducida) y la de largo tiempo para el efecto tardío (incremento del peso uterino). Lo cual sugiere que los estrógenos de acción larga y corta se pueden unir a sitios diferentes en la cromatina.

Esto hace pensar que hay múltiples clases de sitios aceptores en la cromatina, y que solamente una fracción de éstos son sitios "efectores". Sin embargo, la cromatina puede ser afectada simultáneamente por estrógenos y por otras hormonas esteroideas, temporal o permanentemente, por lo que hay que tomar en cuenta éste y otros factores que influyen en la respuesta de las células blanco a la acción estrogénica (Kaye, 1978).

El cerebro continúa siendo un enigma para el hombre. Muchas investigaciones han revelado que el cerebro, en su etapa embrionaria, es potencialmente femenino. Es el ambiente hormonal perinatal el que realiza el proceso de diferenciación sexual organi-

zadora.

Se ha demostrado que una de las funciones de las hormonas gonadales en los mamíferos, es llevar a la expresión patrones de conducta sexual masculinos y femeninos previamente diferenciados en el cerebro en su etapa perinatal.

Sobre esta cuestión, se ha propuesto que la diferenciación la realiza la testosterona, la cual, al entrar a las células del cerebro y transformarse anzimáticamente a estradiol, paradójicamente masculiniza al cerebro de los machos.

En las hembras se ha sugerido que la entrada del estradiol a las neuronas, es bloqueada por el secuestro del estrógeno por la alfa-fetoproteína, presente en los animales recién nacidos; impidiendo así la masculinización, ya que la producción de testosterona en las hembras es mínima (Mc Ewen, 1976).

No obstante, se han publicado experimentos acerca de la conversión de testosterona en estradiol en el cerebro, y además se ha probado, que el estradiol administrado a ratas macho castradas al nacimiento, masculinizó al cerebro de manera más efectiva que la testosterona. Aún no se conoce cómo opera este mecanismo "impresor" de los patrones sexuales en el cerebro.

Sin embargo, una vez que este efecto organizador que se ha llevado a cabo durante el período perinatal, los estrógenos en los adultos no feminizan la conducta sexual, sino que incrementan los patrones de conducta como machos.

De la misma manera, una vez diferenciado sexualmente el cerebro en las hembras, los estrógenos facilitan en el animal adulto, la expresión de los patrones de conducta sexual femeninos.

Pareciera como si una vez "programado" el cerebro en una etapa sensible de su desarrollo, se volviera después refractario a otro cambio organizador, y las hormonas sexuales actuaran ahora como potenciadores de la respuesta sexual ya diferenciada (efecto activador).

Se ha tratado de demostrar si existen diferencias en el cerebro de machos y hembras, en cuanto a la cantidad y distribución de los receptores a estrógeno. A pesar de numerosos estudios, no se ha podido establecer una diferencia significativa. Al parecer son muy similares las regiones en las que actúan los estrógenos, así como la cantidad de receptores encontrados tanto en machos como en hembras.

En muchos de estos estudios se han utilizado antiestrógenos; en los últimos años se han hecho estudios más sofisticados de las propiedades de los receptores, y de esta manera se han detectado receptores específicos a antiestrógeno, distintos de los receptores a estrógeno (Sudo et al. 1983).

Esto hace que se reconsideren los estudios hechos con antiestrógenos, para verificar si los receptores a éstos últimos existen y si en realidad interfieren en el mecanismo estrogénico.

También se ha aislado la proteína inducida (IP) que produce el estrógeno y se han determinado sus características; pero no se ha descubierto su función, se continúa trabajando en ello.

Para explicar el dimorfismo sexual, no solamente del cerebro, sino de otros órganos como el hígado, se ha sugerido la presencia de una variedad de proteínas estrógeno-enlazantes que son de baja afinidad y que se han encontrados en mayor cantidad en el hígado de las ratas macho, comparado con el de las hembras (Thompson y Lucier, 1983). Esto podría explicar que en las hembras sea mayor la respuesta a los estrógenos. Se ha hecho la correlación de que la disminución de esta proteína en las hembras y en los machos castrados neonatalmente, aumenta la respuesta y la toma de estrógenos por el núcleo. Sin embargo, esta correlación solo se ha hecho in vitro.

Para tratar de explicar la acción sinérgica del estrógeno y la progesterona, se han realizado varios experimentos: se trató de determinar si el aumento de receptores a la progesterona, inducido por los estrógenos, era el paso determinante para la activación de la respuesta sexual de lordosis. Se encontró que los machos sintetizan menos receptores hipotalámicos a progesterona que las hembras, pero la diferencia no fue significativa (Etgen, 1981). Lo cual no quiere decir que la inducción estrogénica de receptores a progesterona no sea importante, sino que sugiere que la diferencia entre ambos sexos a mostrar lor-

dosis se encuentra además, en un proceso posterior: en la translocación al núcleo del complejo estrógeno-receptor y/o a la retención del enlace nuclear al estradiol, el cual se ha observado que se mantiene un tiempo mayor en las hembras, quizás estimulando la transcripción.

No hay duda de que el estrógeno y la progesterona ejercen un efecto sinérgico. Se requiere del estímulo previo del estrógeno para inducir el aumento de receptores a progesterona y/o para la síntesis de algún producto requerido por ésta última para ejercer su función facilitadora de la conducta sexual en las hembras.

Se continúan buscando diferencias sexuales: en la naturaleza de los receptores y en su distribución, diferencias en el contenido de enzimas que metabolizan a los esteroides o a sus productos, el producto mismo resultante de la acción estrogénica (IP), etc.

Estos estudios representan verdaderos retos para los investigadores, ya que su tecnología debe ser cada vez más sofisticada.

También se requiere que la forma de medir la conducta sexual en la rata sea más adecuada, pues algunos investigadores piensan que el comportamiento de lordosis no es la manifestación más sensible del patrón de respuesta sexual femenina.

Como se puede observar, faltan muchas incógnitas por resolver; se continúa investigando otras variables y utilizando nuevas técnicas de estudio.

No obstante, se han logrado aportaciones importantes que van dando luz al complejo mecanismo neuroendócrino de la sexualidad, para lograr comprender este proceso biológico tan importante.

## BIBLIOGRAFIA

- Adlercreutz H. y Luukkainen T. (1967) Acta Endocr. (Kbh.) suppl. -  
101. Citado en Gower, 1974.
- Anderson J., Clark J. H., Peck E. U. (1972) Oestrogen and nu- -  
clear binding sites. Biochem J. 126, 561-567.
- Baliga B. S. y Borek K. E. (1974) An early effect of estrogen -  
on the tRNA-methyltransferases of the rat uterus. Endocrino- -  
logy 94, 815-821.
- Baram T., Hazum E., Fridkin M. y Koch Y. (1977) Proc. Int. Congr.  
Hum. Reprod. p. 164. Citado en Kaye 1978.
- Barfield M. A. y Lisk R. D. (1974) Relative contributions of -  
ovarian and adrenal progesterone to the timing of heat in the  
four days cycle rat. Endocrinology 94, 571-575.
- Baulieu E. E., Wira C. R., Milgrom E. y Raynaud-Jammet C. (1972)-  
Gene transcription in reproductive tissue. En: 5th. Karolins-  
ka Symposium on Research Methods in Reproductive Endocrinolo-  
gy (E. Diczfalusy editor). pp. 396-415 Bogtr and Kkeriet Fo- -  
rum Press, Copenhagen.
- Bayer C., Morali G., Larsson K. y Södersten P. (1976) Steroid -  
regulation of sexual behavior. J. Steroid Biochem. 7, 1171- -  
1176.
- Blaustein J. D., Ryer H. I. y Feder H. H. (1980) A sex differen-  
ce in the progestin receptor system of guinea pig brain. Neu-

- roendocrinology 31, 403-409.
- Brown-Grant K. (1974) Steroid hormone administration and gonadotropin secretion in the gonadectomized rat. *J. Endocrinol.* 62, 319-332.
- Brown-Grant K. (1976) Control of gonadotropin secretion. En: *Subcellular mechanisms in reproductive neuroendocrinology.* (F. Naftolin, K. J. Ryan y J. Davies editores) pp 485-501 Elsevier, Amsterdam.
- Clark C. R., Mac Lusky N. J., Parsons B. y Naftolin F. (1981) Effects of estrogen deprivation on brain estrogen and progesterin receptor levels and the activation of female sexual behavior. *Horm. Behav.* 15, 289-298.
- Clark J. H. y Gorski J. (1970) Ontogeny of the estrogen receptor during early uterine development. *Science* 169, 76-78.
- Clark J. H., Anderson J. y Peck E. (1972) Receptor-estrogen complex in the nuclear fraction of rat uterine cells during the estrous-cycle. *Science* 176, 528-530.
- Clark J. y Peck E. (1976) Nuclear retention of receptor-estrogen complex and nuclear acceptor sites. *Nature (London)* 260, 635-637.
- Cohen S., O'Malley B. W. y Stastny M. (1970) estrogenic induction on ornithine decarboxylase in vivo and in vitro. *Science* 170, 336-337.

- Davidson E. H. (1965) Hormones and genes. *Scien. Amer.* 212, 36-45.
- De Angelo A. B. y Gorski J. (1970) Role of RNA synthesis in the estrogen induction of specific uterine protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 66, 693-700.
- De Neef J. C. (1967) *Clinical endocrine cytology*, Hoeber. New York.
- Edmonds S., Zoloth S. R. y Adler N. T. (1972) Storage of copulatory stimulation in the female rat. *Physiol. Behav.* 8, 161-164.
- Edwards D. A. y Pfeifle J. K. (1983) Hormonal control of receptivity, proceptivity and sexual motivation. *Physiol. Behav.* 30, 437-443.
- Etgen A. M. (1981) Estrogen induction of progesterin receptors in the hypothalamus of male and female rats which differ in their ability to exhibit cyclic gonadotropin secretion and female sexual behavior. *Biol. Reprod.* 25, 307-313.
- Everett J. W. (1972) Brain, pituitary gland and the ovarian cycle. *Biol. Reprod.* 6, 3-12.
- Gerall A. A., Dunlap J. L. y Hendricks S. E. (1973) Effect of ovarian secretions on female behavioral potentiality in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 82, 449-565.
- Glascock R. F. y Hoekstra G. W. (1959) *Biochem. J.* 72, 673. Citado en Kaye, 1978.

- Gold J. J. (1975) Gynecologic endocrinology. Medical department. pp 91-95 Harper & Row. New York.
- Gorski J., Williams D., Giannopoulos G. y Stancel G. (1973) The continuing evolution of an estrogen-receptor model. En: Receptors for reproductive hormones. (B. W. O'Malley y A. R. Means editores) pp 1-14 Plenum Press. New York-London.
- Gorski J. (1964) J. Biol. Chem. 239, 389. Citado en O'Malley y Means, 1974.
- Gorski R. A. y Wagner J. W. (1965) Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. Endocrinology 76, 226-239.
- Gorski R. A. (1974) The neuroendocrinol regulation of sexual behavior. En: Advances in psychobiology. Vol. 2 (G. Newton y A. H. Riesen editores) pp 1-58 John Wiley and Sons. New York. Citado en O'Malley y Means, 1974; Gorski, 1979.
- Gorski R. A., Gordon J. H., Shryne J. E. y Southam A. M. (1978) Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. Brain Res. 148, 333-346.
- Gorski R. A. (1979) The neuroendocrinology of reproduction: an overview. Biol. Reprod. 20, 111-127 .
- Gower D. B. (1972) 16-unsaturated C-19 steroids. A review of their chemistry, biochemistry and possible physiological role. J. Steroid Biochem. 3, 45-103.

- Gower D. B. y Fotherby K. (1975 a) Biosynthesis of the androgens and oestrogens. En: Biochemistry of steroid hormones. (H. Makin editor) pp 90-104 Blakwell Scientific Publications. Oxford, London.
- Gower D. B. (1975 b) Properties and subcellular location of enzymes involved in steroidogenesis. En: Biochemistry of steroid hormones. (H. Makin editor) pp 114-116 Blakwell Scientific Publications. Oxford, London.
- Gower D. B. (1975 c) Catabolism and excretion of steroids. En: Biochemistry of steroid hormones. (H. Makin editor) pp 149-167 Blakwell Scientific Publications. Oxford, London.
- Grant L. D. y Stumpf W. E. (1975) En: Anatomical Neuroendocrinology. (W. E. Stumpf y L. D. Grant editores) pp 445-464 Karger Basel. Citado en Stupf y Sar, 1976.
- Guillemin R. y Burgs R. (1972) The hormones of the hypothalamus. Scien. Amer. 227, 24-33.
- Hamilton T. H. (1968) Control by estrogen of genetic transcription and translation. Science 161, 649-661.
- Hansen S. y Södersten P. (1978) Effects of subcutaneous implants of progesterone on the induction and duration of sexual receptivity in ovariectomized rats. J. Endocr. 77, 373-379.
- Hansen S. y Södersten P. (1979) Reversal of progesterone inhibition of sexual behavior in ovariectomized rats by high doses of progesterone. J. Endocr. 80, 381-388.

- Hansen S., Södersen P. y Srebro B. A. (1978) A daily rhythm in the behavioral sensitivity of female rat to estradiol. *J. Endocr.* 77, 381-388.
- Hardy D. F. y De Bold J. F. (1971) The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. *Horm. Behav.* 2, 287-297.
- Harlan R. E. y Gorski R. A. (1977) Steroid regulation of luteinizing hormone secretion in normal and androgenized rats at different ages. *Endocrinology* 101, 741-749.
- Hawkins R. A. y Oakey R. E. (1974) Estimation of oestrone sulphate, oestradiol-17 $\beta$  and oestrone in peripheral plasma: concentrations during the menstrual cycle and in men. *J. Endocr.* 60, 3-17.
- Henderson S. R., Baker C. y Fink G. (1977) Oestradiol-17 $\beta$  and pituitary responsiveness to LH releasing hormone in the rat: a study using rectangular pulses of estradiol-17 $\beta$  monitored by nonchromatographic radioimmunoassay. *J. Endocr.* 73, 455-462.
- Heritage A., Grant L. D. y Stumpf W. E. (1976) Neuroendocrine Abstracts. Vol. 2; 2, 672. Citado en Stumpf y Sar, 1976.
- Heritage A. S., Grant L. D. y Stumpf W. E. (1977)  $^3\text{H}$ -estradiol in catecholamine neurons of rat brain stem: combined localization by autoradiography and formaldehyde-induced fluorescence. *J. Comp. Neurol.* 176, 607-630.

- Hlíňák Z. y Madlafousek J. (1969) A quantitative study of the synergistic action of oestradiol and progesterone in inducing the oestrous behavior of the ovariectomized rat. *Physiol. Bohemoslov.* 18, 485-486. Citado en Hlíňák y Madlafousek.
- Hlíňák Z. y Madlafousek J. (1981) Estradiol treatment and precopulatory behavior in ovariectomized female rats. *Physiol. Behav.* 26, 171-176.
- Hlíňák Z. y Madlafousek J. (1983) Estradiol plus progesterone treatment and precopulatory behavior in ovariectomized female rats. *Physiol. Behav.* 30, 221-227.
- Jensen E. V. y Jacobson H. I. (1960) En: biological activities of steroids in relation to cancer. (G. Pincus y E. P. Vollmer editores) p. 161 Academic Press. New York. Citado en Kaye, 1978.
- Jensen E. V. y Jacobson H. I. (1962) *Recent Progr. Horm. Res.* 18, 387. Citado en O'Malley y Means, 1974.
- Jensen E. V., Suzuki T., Kawashima T., Stumpf W. E., Jungblut P. W. y De Sombre E. R. (1968) A two-step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 59, 632-639.
- Jensen E. V. y De Sombre E. R. (1972 a) En: Biochemical action of hormones. (G. Litwack editor) Vol. 2. p. 215 Academic Press. New York.

- Jensen E. V. y De Sombre E. R. (1972 b) Mechanism of action of the female sex hormones. *Ann. Rev. Biochem.* 41, 203-230.
- Josso N., Ficard J. I. y Tran D. (1977) The antimüllerian hormone. *Res. Progr. Horm. Res.* 33, 117-160.
- Jost A. (1947) *Arch. Anat. Micr. Morph. Exper.* 36, 271-315. Citado en Stumpf et al, 1980.
- Jungblut P. W., Gaues J., Hughes A., Kallwet E., Sierralta W., Szendro P. y Wagner R. K. (1976) Activation of transcription-regulating proteins by steroids. *J. Biochem.* 7, 1109-1116.
- Kato J., Atsumi Y. e Inaba M. (1974) Estradiol receptors in female rat hypothalamus in the development stages and during pubescence. *Endocrinology* 94, 309-316.
- Kato J. (1977) Steroid hormone receptors in brain, hypothalamus and hypophys. En: *Receptors and mechanism of action of steroid hormones. Parte 2.* (J. R. Pasqualini editor) pp 603-671 Marcel Dekker, New York. Citado en Etgen, 1981.
- Katzenellenbogen B. y Leake R. E. (1974) Distribution of the oestrogen-induced protein and of total protein between endometrial and myometrial fractions of the immature and mature rat uterus. *J. Endocr.* 63, 439-449.
- Katzenellenbogen B. y Greger N. G. (1974) Ontogeny of uterine responsiveness to estrogen during early development in the rat. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2, 31-42.

- Katzenellenbogen B. y Williams L. B. (1974) Uterine estrogen-induced protein: physical and immunological comparison with ovalbumin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 1281-1285.
- Katzenellenbogen B. y Gorski J. (1975) En: Biochemical actions of hormones. (G. Litwack editor) Vol. 3. pp 188-238 Academic Press. New York.
- Kaye A. M., Sheratzky D. y Lindner H. R. (1972) Kinetics of DNA synthesis in immature rat uterus: age dependance and estradiol stimulation. Biochem. Biophys. Acta 261, 475-486.
- Kaye A. M. (1978) The ontogeny of estrogen receptors. En: Biochemical action of hormones. (G. Litwack editor) Vol. 5. pp 149-194 Academic Press, New York.
- Korach K. S. y Muldoon T. G. (1974) Studies on the nature of the hypothalamic estradiol-concentrating mechanism in the male and female rat. Endocrinology 94, 785-793.
- Korenman S. G. y Roa B. R. (1968) Reversible disaggregation of the cytosol-estrogen binding protein of uterine cytosol. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 61, 1028-1033.
- Labhart A. (1974) Clinical endocrinology. pp 511-512; 532-544 - Springer-Verlag. New York-Berlin.
- Legan S. J., Coon A. y Karsch F. J. (1975) Role of estrogen initiator of daily LH surges in the ovariectomized rat. Endocrinology 96, 50-56.

- Leibl H. y Spona J. (1982) Differential stimulation by  $17\beta$ -estradiol and synthetic estrogen of progesterone-receptor and of translocation of estrogen-receptor in rat pituitary and uterus. *Endocrinology* 110, 265-271.
- Liao S., Liang T., Shao T. C. y Timoczko J. L. (1973) Androgen-receptor cycling in prostate cells. En: *Receptors for reproductive hormones*. (B. W. O'Malley y A. R. Means editores) pp 232-240 Plenum Press. New York-London.
- Longcope C., Widrich W. y Sawin C. T. (1972) The secretion of estrone and estradiol- $17\beta$  by human testis. *Steroids* 20, 439-446.
- Mac Donald P. C., Grodin J. M. y Siiteri P. K. (1971) Control of gonadal steroid secretion. (D. Braid y J. A. Tang Strong editores) Edinburg University Press. Citado en Gower, 1974.
- Mac Lusky N. J. y Mc. Ewen B. S. (1978) Oestrogen modulates progesterone receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. *Nature* 274, 276-278.
- Mac Lusky N. J. y Mc. Ewen B. S. (1980) Progesterin receptors in rat brain: distribution and properties of cytoplasmic progesterin-binding sites. *Endocrinology* 106, 192-202.
- Mc. Ewen B. S., Luine V. N., Flapinger L. y Kloet E. R. (1975) Putative estrogens and glucocorticoid receptors in the limbic brain. *J. Steroid Biochem.* 6, 971-977.

- Mc. Ewen B. S. (1976) Interactions between hormones and nerve tissue. *Sci. Amer.* 235, 48-58.
- Mc. Ewen B. S., Krey L. C. y Luine V. N. (1978) Steroid hormone action in the neuroendocrine system: when is the genome involved? En: *The hypothalamus.* (J. Reichlin, R. J. Baldessarini y J. B. editores) pp 255-268 Raven Press, New York.
- Mc. Ewen B. S., Lieberburg I., Mac Lusky N. y Plapinger L. (1977) Do estrogen receptors play a role in the sexual differentiation of the rat brain? *J. Steroid Biochem.* 8, 593-598.
- Mc. Intosh T. K., Barfield R. J. y Geyer L. A. (1978) Ultrasonic vocalizations facilitate sexual behavior of female rats. *Nature* 272, 163-164.
- Moguilewsky M. y Raynaud J. P. (1979 a) Estrogen-sensitive progestin-binding sites in the female rat brain and pituitary. *Brain Res.* 164, 165-175.
- Moguilewsky M. y Raynaud J. P. (1979 b) The relevance of hypothalamic and hypophyseal progestin receptor regulation in the induction and inhibition of sexual behavior in the female rat. *Endocrinology* 105, 516-522.
- Mohla S., De Sombre E. R. y Jensen E. V. (1972) Tissue-specific stimulation of RNA synthesis by transformed estradiol-receptor complex. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 46, 661-676.
- Moore R. Y. (1978) Central neural control of circadian rhythms. En: *Frontiers in neuroendocrinology.* (W. F. Ganong y L. Mar-

- tini editores) pp 185-206 Raven Press.
- Moss R. L. y Foreman M. M. (1976) Potentiation of lordosis behavior by intrahypothalamic infusion of synthetic LH releasing hormone. *Neuroendocrinology* 20, 176-181.
- Moss R. L., Dudley C. A. y Schwartz N. B. (1977) Coitus-induced release of LH in the proestrous rat: Fantasy or fact? *Endocrinology* 100, 394-397.
- Moulton B. C. y Barker K. L. (1971) Synthesis and degradation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the rat uterus. *Endocrinology* 89, 1131-1136.
- Moulton B. C. y Barker K. L. (1973) A delayed antagonistic effect of progesterone on estradiol-induced increases in uterine glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Endocrinology* 92, 636-641.
- Mueller G. C., Herranen A. y Jervell K. (1958) *Rec. Progr. Horm. Res.* 14, 95. Citado en Katzenellenbogen y Gorski, 1975).
- Naftolin F., Ryan K. J., Davies I. J., Reddy V. V., Flores F., Petro Z. y Kuhun M. (1975) The formation of estrogens by central neuroendocrine tissue. *Rec. Progr. Horm. Res.* 31, 295-319.
- Notides A. y Gorski J. (1966) *Proc. Natl. Acad. Sci. US* 56, 230. Citado en Katzenellenbogen y Gorski, 1975.
- Núñez E., Engelman F., Benassayag C., Savu L., Crepy O. y Jayle M. (1971 a) *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 272, 2396. Citado en Mc. Ewen, 1976; Kaye, 1978.

- Núñez E., Engelman F., Benassayag C. y Jayle M. (1971 b) C. R. -  
Hebd. Seances Acad. Sci. 273, 242. Citado en Mc. Ewen, 1976;-  
Kaye, 1978.
- Núñez E., Engelman F., Benassayag C. y Jayle M. (1971 c) C. R. -  
Hebd. Seances Acad, Sci. 273, 831. Citado en Mc. Ewen, 1976;-  
Kaye, 1978.
- Núñez E., Vallette G., Benassayag C. y Jayle M. (1974) Compara-  
tive study on the binding of estrogens by human and rat se-  
rum proteins in development. Biochem. Biophys. Res. Comm. 57,  
126-133.
- Olsen K. L. y Whalen R. E. (1980) Sexual differentiation of the  
brain: effects on mating behavior and (<sup>3</sup>H)-estradiol uinding  
by hypothalamic chromatin in rats. Biol. Reprod. 22, 1068- -  
1072.
- O'Malley B. W., Schrader W. T. y Spelsberg T. C. (1973) Hormone-  
receptor interactions with the genome of eucariotic target -  
cell. En: Receptors for reproductive hormones. (B. W. O'Ma- -  
lley y A. R. Means editores) pp 1-14 Plenum Press, New York-  
London.
- O'Malley B. W. y Means A. R. (197.) Female steroid hormones and  
target cell nuclei. Science 183, 610-620.
- O'Malley B. W. y Schrader W. T. (1976) The receptor of steroid -  
hormones. Sci, Amer. 240, 32-43.

- O'Malley B. W., Schwartz R. J. y Schrader W. T. (1976) A review -  
of regulation of gene expression by steroid hormone receptors.  
J. Steroid Biochem. 7, 1151-1159.
- Papanicolaou G. N. (1946) General survey of a vaginal smear and -  
its use in research and diagnosis. Amer. J. Obstet. Gynecol. -  
51, 316. Citado en Labhart, 1974.
- Pfeifle J. K. ; Edwards D. A. (1983) Midbrain lesions eliminate -  
sexual receptivity but spare sexual motivation in female rats.  
Physiol. Behav. 31, 385-389.
- Phoenix C. H., Goy R. W., Gerall A. A. y Young W. C. (1959) Or- -  
ganizing action of prenatally administered testosterone pro- -  
pionate on the tissues mediating mating behavior in the fe- -  
male guinea pig. Endocrinology 65, 369-382.
- Posner B. I. (1976) Regulation of lactogen specific binding si- -  
tes in rat liver: studies on the role of lactogens and estro- -  
gen. Endocrinology 99, 1168-1177.
- Raynaud A. (1969) En: Traite de zoologie. (Grasse editor) Vol. 16  
pp 1-147 Masson et Cie. Paris. Citado en Stumpf et al. 1980.
- Raynaud J. P. (1973) Influence of rat estradiol binding plasma -  
protein (EBP) on uterotrophic activity. Steroids 21, 249-258.
- Reinish J. M. (1976) Effects of prenatal hormone exposure on phy-  
sical and psychologic development in humans and animals: with  
a note on the state of the field. En: Hormones, behavior and -  
psychopathology. (E. J. Sachar editor) pp 69-94 Raven Press -

- New York. Citado en Gorski, 1979.
- Reiter R. J. (1973) Comparative physiology: the pineal gland. -  
Ann. Rev. Physiol. 35, 305-325.
- Rosen J. M. y O'Malley B. W. (1975) En: Biochemical actions of -  
hormones. (G. Litwack editor) Vol. 3 p. 27 Academic Press. -  
New York.
- Schoenberg D. R. y Clark J. J. (1981) Nuclear association atates  
of rat uterine oestrogen receptors as probed by nucleases di-  
gestion. Biochem J. 196, 423-432.
- Schreiner W. y Vिलее C. (1965) Oxidative phosphorylation in -  
mitochondria from human placentas. Amer. J. Obstet. Gynecol.-  
91, 961-966.
- Smanik E. J., Young H. K., Muldoon T. G. y Mehesh V. B. (1983) -  
analysis of the effect of progesterone in vivo on estrogen -  
receptor distribution in the rat anterior pituitary and hy- -  
pothalamus. Endocrinology 113, 15-22.
- Södersten P. (1978) Effects of anti-oestrogen treatment of neo-  
natal male rats on lordosis behavior and mounting behavior in  
the adult. J. Endocr. 76, 241-249.
- Södersten P. y Hansen S. (1978) Effects of castration and tes- -  
tosterone, dihydrotestosterone or oestradiol replacement treat-  
ment in neonatal rats on mounting behavior in the adult. J. -  
Endocr. 76, 251-260.

- Södersten P. y Hansen S. (1979) Induction of sexual receptivity by oestradiol benzoate in cyclic female rats: influence of ovarian secretions before injection of oestradiol benzoate. J. Endocr. 80, 389-395.
- Södersten P., Hansen S., Eneroth P., Wilson C. A. y Gustafsson J. A. (1980) Testosterone in the control of rat sexual behavior. J. Steroid Biochem. 12, 337-246.
- Södersten P. y Eneroth P. (1981) Serum levels of estradiol-17 $\beta$  and progesterone in relation to sexual receptivity in intact and ovariectomized rats. J. Endocr. 89, 45-54.
- Soloff M. S., Creange J. E. y Potts G. O. (1971) Unique estrogen binding properties of rat pregnancy plasma. Endocrinology 88, 427-432.
- Sömjen D., Sömjen G., King R. J. B., Kaye A. M. y Lindner H. R. (1973) Nuclear binding of oestradiol-17 $\beta$  and induction of protein synthesis in the rat uterus during post-natal development. Biochem. J. 136, 25-33.
- Spelsberg T. C., Steggles A. W. y O'Malley B. W. (1971) Progesterone-binding components of chick oviduct. Chromatin acceptor sites. J. Biol. Chem. 246, 4188-4197.
- Spelsberg T. C., Steggles A. W., Chytil F. y O'Malley B. W. (1972) Progesterone-binding components of chick oviduct. Exchange of progesterone-binding capacity from target to non-target tissue chromatins. J. Biol. Chem. 247, 1368-1374.

- Stack G. y Gorski J. (1983) The ontogeny of estrogen responsiveness reexamined: the differential effectiveness of diethylstilbestrol and estradiol on uterine deoxyribonucleic acid synthesis in neonatal rats. *Endocrinology* 112, 2142-2146.
- Stumpf W. E. y Sar M. (1975) Autoradiographic techniques for localizing steroids hormones. En: *Methods in enzymology*. Vol. 36 (B. W. O'Malley y J. C. Hardman editores) Hormone action. Parte A pp 135-156 Academic Press, New York.
- Stumpf W. E. y Sar M. (1976) Steroid hormone target sites in the brain: the differential distribution of estrogen, progestin, androgen and glucocorticosteroid. *J. Steroid Biochem.* 7, 1163-1170.
- Stumpf W. E., Narbaitz R. y Sar M. (1980) Estrogen receptor in the fetal mouse. *J. Steroid Biochem.* 12, 55-64.
- Sudo K., Monsma F. J. y Katzenellenbogen B. (1983) Antiestrogen-binding sites distinct from the estrogen receptor: subcellular localization ligand specificity and distribution in tissues of the rat. *Endocrinology* 112, 425-434.
- Tam A. y Spaziani E. (1970) *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.* 29, 249. Citado en Katzenellenbogen y Gorski, 1975.
- Tata J. R. (1982) Do steroid receptors recognize DNA sequences? *Nature* 298, 707-708.
- Terán Benites J. C. (1978) Actividad de tirosina aminotransferasa y triptofano dioxigenasa en el útero de rata. Tesis Universidad Iberoamericana, D. F. México.

- Thompson C. y Lucier G. W. (1983) Hepatic estrogen responsive-  
ness possible mechanisms for sexual dimorphism. *Mol. Pharma-  
col.* 24, 69-76.
- Thrower S. y Lim L. (1981) The nuclear oestrogen receptor in the  
female rat. *Biochem. J.* 198, 385-389.
- Toft D. y Gorski J. (1974) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 55, 1574.  
Citado en O'Malley y Means, 1974; Kaye, 1978.
- Walker M. D., Gozes I., Kaye A. M., Reiss N. y Littaver U. Z.  
(1976) The estrogen-induced protein: quantitation by autora-  
diography of polyacrylamide gels. *J. Steroid Biochem.* 7, 1083-  
1085.
- Wang D. Y. y Bulbrook R. D. (1968) *Adv. Reprod. Physiol.* 3, 113.  
Citado en Gower, 1975 c.
- Whalen R. E. y Olsen K. L. (1978) Chromatin binding of estradiol  
in the hypothalamus and cortex of male and female rats. *Brain  
Res.* 152, 121-131.
- Whelly S. M. y Barker K. L. (1974) Early effect of estradiol on-  
the peptide elongation rate by uterine ribosomes. *Biochemis-  
try* 12, 341-346.
- Wilson C., Hadley J. C., Gilbert D. y Mc. Neilly A. S. (1978) -  
Steroidal control of the release of the preovulatory surge -  
of luteinizing hormone in the rat. *J. Endocr.* 79 223-234.
- Winnecker R. C. y Clark J. H. (1983) Estrogenic stimulation of -  
the antiestrogen specific binding site in rat uterus and li-

ver. Endocrinology 112, 1910-1915.

Zucker I., Rusak B. y King R. G. (1976) Neural basis for circadian rhythms in rodents. En: Advances in psychobiology. (A.-H. Riessen y R. F. Thompson editores) Vol. 3 pp 35-74 Wiley, New York. Citado en Södersten et al. 1980.

Zuckerman S. (1957) Hormones. Sci. Amer. 196, 76-87.

PRESIDENTE: PROF. MA. DOLORES LASTRA AZPILICUETA  
VOCAL: PROF. SALVADOR MARTIN SOSA  
SECRETARIO: MA. CRISTINA BELTRAN AGUERREBERE  
1er. SUPLENTE SATURNINO DE LEON CHAPA  
2do. SUPLENTE PATRICIA CALDERON GOMEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:  
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION  
DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGIA Y  
REUMATOLOGIA.

ASESOR DEL TEMA  
M.enC. MA. DOLORES LASTRA AZPILICUETA

Ma. Dolores Lastra

SUPERVISOR TECNICO  
DR. DONATO ALARCON-SEGOVIA

Donato Alarcon

SUSTENTANTE  
GENARO JIMENEZ REYES

Genaro Jimenez Reyes



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

A MIS PADRES:

A QUIENES DEBO MI FORMACION Y SON EL AMOR EN SU  
MAXIMA PUREZA.

A MI HERMANA:

DE QUIEN SIENTO UN PROFUNDO CARIÑO Y APOYO.

A MIS ABUELOS:

QUIENES REPRESENTAN NUESTRO ORGULLO Y RESPETO.

A MARICELA:

QUIEN ESTA A MI LADO CON SU INMENSA CALIDAD HUMANA.

AGRADEZCO AL DR. DONATO ALARCON-SEGOVIA POR AYUDARME  
A REALIZAR EL PRESENTE TRABAJO.