



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DISTRIBUCIÓN DE LA HORMONA DEL  
CRECIMIENTO (GH) EN HIPÓFISIS DE *Chirostoma  
humboldtianum* (Valenciennes, 1835).  
TELEÓSTEOS: ATHERINOPSIDOS**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

PRESENTA



**JUÁREZ ROBLES MARIA VIOLETA**

Director de tesis: Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas

Los Reyes Iztacala, Edo. De México, 2014



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.

## Contenido

Resumen.....	1
1.-Introducción.....	2
Aspectos generales.....	2
2.- Antecedentes.....	3
Funciones de la GH.....	7
Sustancias estimuladoras.....	8
Estructura del gen de GH.....	9
Síntesis y liberación de la GH.....	10
Receptor a GH.....	11
Mecanismo de señalización de GH.....	12
Células somatotropas.....	13
Sistema hipotálamo hipófisis.....	14
Hipófisis.....	16
Modelo de estudio.....	19
3.-Justificación.....	22
4.-Objetivo.....	13
5.-Materiales y métodos.....	24
Actividades de campo.....	24
Actividades de laboratorio.....	24
6.-Resultados.....	26

7.-Discusión.....	34
8.-Conclusiones.....	37
9.-Consideraciones a futuro.....	38
10.- Referencias.....	39

## **Agradecimientos**

Dr. Rodolfo Cárdenas Reygadas, por su apoyo y confianza, por sus consejos y su ayuda, por creer en mí y por sus palabras de aliento, gracias por ayudarme a cumplir este sueño.

M. en C. Mónica Chávez Maldonado, gracias por las revisiones y por los comentarios sobre mi trabajo y mi forma de ser, me sirvieron para superarme y desear ser más.

M. en C. Beatriz Macedo, por tu ayuda, observaciones y comentarios, por tus consejos y por las charlas.

A mis amigos, Esmeralda y Jonathan, gracias por estar conmigo en momentos tristes, felices, de confusión por esta carrera, por su apoyo en el maravilloso nacimiento de mi hija y por todos sus consejos, Gracias por estar a mi lado.

## *Dedicatorias*

*A mis padres:*

*Gracias dios por permitirme terminar esta faceta de mi vida, dándome la fortaleza basada en el desvelo y cansancio de mi padre y el temperamento infundado por el amor y esfuerzo de mi madre, porque en sus rodillas está mi triunfo y en su presencia mi recompensa, a quienes nunca podré pagar sus desvelos, porque gracias a su apoyo y consejo he llegado a realizar la más grande de mis metas.*

*Gracias papi por esa mano firme que siempre me llevaba a ser mejor, a querer ser mejor, por las esperanzas que depositó en mí, por despertarse temprano con tal de que mi hermana y yo fuéramos a la escuela, por hacer lo posible y lo imposible para que nos superáramos, mi admiración y cariño acompañan esta dedicatoria para usted.*

*Mami no sé como agradecerle todo lo que ha hecho por mí, los desvelos junto a mí, las charlas, las risas, los juegos, esa fuerza de voluntad que nos trajo del pueblo hasta aquí para que lográramos nuestros estudios universitarios, gracias por no rendirse y por siempre buscar un forma de darnos lo que necesitábamos. Deseo algún día ser tan buena madre como lo ha sido usted con migo, y que algún día mi hija se sienta tan orgullosa de llamarme madre como me siento yo de llamarla a usted mamá.*

*Deseo de todo corazón que mi triunfo lo sientan como suyo, los amo.*

*A mi hermana*

*Por tus palabras, a veces duras pero acertadas, que cambiaron mi perspectiva tantas veces, por tu apoyo y tu amor, eres mi mejor amiga. Deseo que la siguiente sea la tuya, y que no tardes mucho. Te quiero.*

*A mi esposo*

*Oscar, mi amor, no se por donde comenzar, gracias por todo el amor, por la seguridad y el respeto. Te agradezco que seas una razón más para seguir, gracias por la confianza y por todo lo que me has dado. Me alegra no necesitar ser tan fuerte para seguir adelante, tú eres mi fuerza. Gracias por creer en mí, por creer en nosotros y en nuestro futuro. Lamento que algunas veces en medio de mis frustraciones haya liberado mi enojo contra ti, sé que no te lo merecías, gracias porque en esos momentos solo me sonreías y tratabas de hacerme olvidar. Gracias amor por apoyarme hasta aquí, ahora me toca a mí ayudarte a ti a lograr lo que deseas, te amo.*

*Layla*

*Que puedo decirte hija mía, eres la razón principal de que yo haya llegado hasta aquí, gracias por darme un motivo para seguir. Para ti Layla que desde antes de nacer has sido mi mayor ilusión, valentía, mi fuerza y alegría, tu sola presencia, tu sonrisa, tus manitas tendidas hacia mí diciendo "mami" han sido todo lo que necesito para luchar, perdóname por no darte todo el tiempo que quisiera, pero quiero forjar un futuro mejor para ti, que estés orgullosa de mí. Este logro es para ti, te amo y te amaré siempre.*

## Resumen

La hormona del crecimiento (GH) pertenece a la familia de hormonas peptídicas de la hipófisis, en los teleósteos incluye a la prolactina (PRL) y la somatolactina (SL). Es una hormona monomérica, formada por alrededor de 190 aminoácidos y su masa oscila entre 21 y 23 KDa, lo que la hace la más variable entre los vertebrados. Es una hormona fundamental para el crecimiento somático, su liberación está influenciada endógenamente por diversos mensajeros y a nivel exógeno por el régimen alimenticio, la temperatura y el fotoperíodo. El género *Chirostoma* es endémico de México, ha sido muy apreciado para su consumo desde la época prehispánica, su distribución abarcaba toda la meseta central mexicana. En este trabajo se determinó la presencia y distribución de las células somatotropas productoras de la hormona del crecimiento en la hipófisis de *Chirostoma humboldtianum*. Los ejemplares fueron colectados en la laguna de Zacapu, Michoacán, México, las hipófisis fueron removidas, se fijaron y procesaron por la técnica histológica de rutina y se les realizó la técnica inmunohistoquímica para la detección de la hormona. Las células somatotropas en la hipófisis se encuentran en las áreas de la *pars distalis proximalis* y la zona que rodea la *pars nervosa* y se puso de manifiesto un patrón de distribución similar a lo reportado en otros grupos de teleósteos por medio de inmunohistoquímica y por hibridación *in situ*. Las células inmunoreactivas a GH (ir-GH) forman una capa celular a modo de collar alrededor de la PN, lo que coincide con lo descrito para *Oreochromis niloticus* y *Alosa sapidissima*. La distribución de las células somatotropas en la hipófisis de *C. humboldtianum* es la PDP y la zona de la PDP que rodea la PN.



## 1.- Introducción

### Aspectos generales

La hormona del crecimiento (GH) pertenece a la familia de hormonas peptídicas de la hipófisis, en los teleósteos esta familia de hormonas incluye a la prolactina (PRL) y la somatolactina (SL). Es una hormona monomérica, formada por alrededor de 190 aminoácidos y en ella se presentan dos puentes disulfuro que parecen ser extremadamente importantes para su unión al receptor. La masa oscila entre 21 y 23 KDa lo que la hace la más variable entre los vertebrados (Canosa *et al.*, 2007; Waters *et al.*, 1999).

Es fundamental para el crecimiento somático y el desarrollo ontogénico, su liberación está influenciada por el régimen alimenticio, la temperatura y el fotoperiodo (Canosa *et al.*, 2007). El control de la secreción de GH es muy complejo, y en él participan varias neurohormonas y neurotransmisores producidos por el hipotálamo, algunas monoaminas, esteroides sexuales, así como otras hormonas que median sus efectos somáticos (Canosa *et al.*, 2007).

El principal órgano blanco de la hormona del crecimiento es el hígado, en donde, como respuesta se induce la síntesis de factores de crecimiento similares a la insulina (IGFs), de los cuales se han descrito tres moléculas, IGF-1, IGF-2 e IGF-3, esta última parece ser exclusiva de peces. Los IGFs se transportan por el torrente sanguíneo y ejercen sus efectos en los diferentes órganos blanco, como el cartílago, en donde inducen la incorporación de aminoácidos, o el incremento de peso y la conversión de alimentos. Además de la síntesis hepática de IGFs, sabemos que existe expresión de RNAs mensajeros de estos factores de crecimiento en diferentes órganos, siendo posible que la GH active dicha expresión y los factores de crecimiento realicen una función parácrina (Wong *et al.*, 2006).

Entre los sitios de expresión reportados para el receptor de la hormona del crecimiento (GH-R) en los peces encontramos: el hígado, músculo, tejido adiposo, cerebro, branquias, riñón, intestino y gónadas (Canosa *et al.*, 2007).

En los vertebrados, se ha descrito en la sangre un grupo de moléculas que se unen a la hormona del crecimiento llamadas proteínas de unión de la GH (GHBP). Estas proteínas acarreadoras poseen alta semejanza con el dominio extracelular del receptor. Algunos datos experimentales sugieren que se originan de receptores truncados y se postula que su función sea la de aumentar la vida media de la hormona en sangre, así como regular la concentración de GH en suero (Waters *et al.*, 1999; Zhang y Marchant, 1999; Butler y Le Roith, 2001).

## 2.-Antecedentes

García-Hernández *et al*, en 1996, realizaron un estudio inmunohistoquímico en *Seriola dumerilii* y localizaron siete tipos de células endócrinas en la hipófisis de dicho pez. Las células de prolactina fueron localizadas en la *pars rostralis proximalis* (PRP) de la hipófisis, las células somatotropas se encontraron en la *pars distalis proximalis* (PDP) y la *pars intermedia* (PI), estas células estaban localizadas en la parte central de la PDP y en la zona más caudal de esta región, otro grupo de células estaban en la periferia de la PDP y presentaban extensiones citoplasmáticas que alcanzaban la NH.

Vissio *et al.*, en 1999, localizaron células somatotropas en la hipófisis de *Odontesthes bonariensis*. Utilizando una doble inmunohistoquímica primero para detectar la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y luego para GH, PRL y SL, dando como resultado que las células inmunoreactivas a GH fueron características de la PDP, también reveló un grupo de células rodeando la neurohipófisis; la PRL fue localizada en la PRD; y en la PI se encontraron células inmunoreactivas a GnRH algunas de las fibras de estas células estaban muy cercanas a células Ir-GH igual a lo encontrado en estudios de otros teleósteos lo que demuestra una acción estimuladora de GnRH sobre GH así como en PRL y posiblemente otras hormonas hipofisarias (Figura 7).

Herrero-Turrión *et al.*, en 2002, diseñaron oligosondas marcadas con digoxigenina o biotina para la localización de células productoras de hormonas proteicas en *Sparus aurata* mediante Hibridación *in situ*. Entre sus resultados para SL\GH\PRL comprobaron que no hubo reacción cruzada entre las oligosondas. Para la oligosonda de GH se observaron señales de hibridación en gran número de células de la PDP donde las células inmunoreactivas forman una capa celular a modo de collar alrededor de la NH lo que sugiere que las células están reguladas por sustancias hipotalámicas.

Villaplana *et al.*, en 2003, establecieron la localización de células mamosomatotropas en hipófisis de *Sparus aurata* durante diferentes estadios de

desarrollo por el método de inmunomarcaje con oro, utilizaron anti salmón-PRL y anti tilapia-GH. En hipófisis de peces adultos las células somatotropas rodeaban la NH y en algunos casos se pudieron observar uniones parecidas a las uniones sinápticas entre las células somatotropas y axones de la NH las cuales estaban presentes también en etapas juveniles. La comunicación es muy importante para hacer funcionar el sistema hipotálamo-hipófisis por lo cual no es extraño que haya conexiones estrechas entre la NH y células secretoras.

Kasper *et al.*, en 2006, establecieron mediante diversas técnicas, en hipófisis de *Oreochromis niloticus*, la localización de los miembros de las familias de hormonas GH/PRL, POMC y hormonas glicoproteicas. La familia GH/PRL fue localizada mediante inmunohistoquímica en las tres partes de la adenohipófisis. Las células inmunoreactivas a PRL se encontraron en la mayor parte de la PRD mientras que las células inmunoreactivas a GH fueron localizadas dispuestas en cadenas regulares a lo largo de las ramas de la PN dentro de la PDP. Las células inmunoreactivas a GH también se encontraron rodeando las fibras nerviosas de la PN. La importancia de la GH durante el desarrollo ontogénico de los peces se destaca por la observación de que la GH en la hipófisis se expresa incluso antes de la separación de la adenohipófisis en PI y PD, y que precede a la aparición de las células germinales primordiales y gonadotropinas.

Sciara *et al.*, en 2006, realizaron extractos de RNA total de hipófisis de pejerrey, *Odontesthes bonariensis*, para obtener el RNA de pjGH, lo alinearon por comparación con secuencias establecidas de otros teleósteos, lo secuenciaron y subieron a la base de datos de Genbank sus resultados. El pjGH maduro fue utilizado para inducir la producción de el anticuerpo en conejo, los anticuerpos fueron utilizados para la técnica inmunohistoquímica por la cual establecieron la localización de células somatotropas en la región de la *pars distalis proximalis* de la hipófisis de dicho pez, el suero anti-pjGH produjo una tinción fuerte y específica en la misma región que ya se ha reportado para células somatotropas de otros teleósteos por el uso de otro antisuero.

Chen & Ge, en 2012, estudiaron mediante una doble hibridación *in situ* la localización de células productoras de LH, FSH y GH durante el desarrollo ontogénico de hembras de zebra fish (*Danio reiro*). GH fue localizada en la PDP de adultos, siendo más abundante durante la diferenciación sexual, sin embargo, aunque fuera poco abundante, la GH fue encontrada en todas las etapas estudiadas.

## Funciones de la GH

La hormona del crecimiento es multifuncional, pues se ha descubierto que además de su participación en el crecimiento corporal, se encuentra estrechamente relacionada con la nutrición, la condición reproductiva de los organismos, la osmolaridad y con los procesos de inmunidad (Canosa *et al.*, 2007).

En la reproducción, se ha descrito que estimula la esteroidogénesis en las gónadas (Shing *et al.*, 1988) potenciando la actividad de la hormona luteinizante (LH) en folículos vitelogénicos (Van der Kraak *et al.*, 1990). Participa también en la gametogénesis, habiéndose localizado receptores en ovocitos en etapa perinucleolar, en las células de la granulosa, en células de la teca y células somáticas que rodean los folículos en fase vitelogénica y se encuentra involucrada también en la vitelogenésis (Bursawa-Gerard & Delevallé-Fortier, 1992; Mosconi *et al.*, 2002), mientras que en testículo, estimula la incorporación de timidina a las espermatogonias (Le Gac *et al.*, 1992; Loir, 1999; Kajimura *et al.*, 2004).

Los efectos metabólicos de la GH incluyen la formación de ácidos grasos y glicerol a partir de triacilglicéridos, promoviendo la lipólisis por medio de la enzima triacilglicerol lipasa. La consecuencia de ello, es una disponibilidad de energéticos para el crecimiento y otras funciones metabólicas, también participa en el apetito y el comportamiento social (Björnsson, 1997).

Por último podemos mencionar que existen reportes de que la GH participa en la inmunidad, estimula la actividad citotóxica no específica en leucocitos, la activación de la actividad fagocítica (Calduch-Guiner *et al.*, 1997), induce un aumento de la producción del anión superóxido como mecanismo para aniquilar patógenos seguido por la fagocitosis (Yada *et al.*, 2001, 2002) así como un incremento en la expresión de la superóxido dismutasa (Yada *et al.*, 2006).

## Sustancias estimuladoras de la liberación de GH

Hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) y el polipéptido activador de la adenilato ciclasa de la hipófisis (PACAP) son los principales estimuladores de la GH en peces, la estimulación es mediada por receptores de membrana que pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR) y utilizan el adenosín mono fosfato cíclico (cAMP) como segundo mensajero dando como resultado un aumento en la síntesis de mRNA de GH, acción mediada a través de un elemento de respuesta al AMPc (CRE) y un factor de transcripción positivo 1 específico de la hipófisis (PIT-1) (Wong *et al.*, 1996).

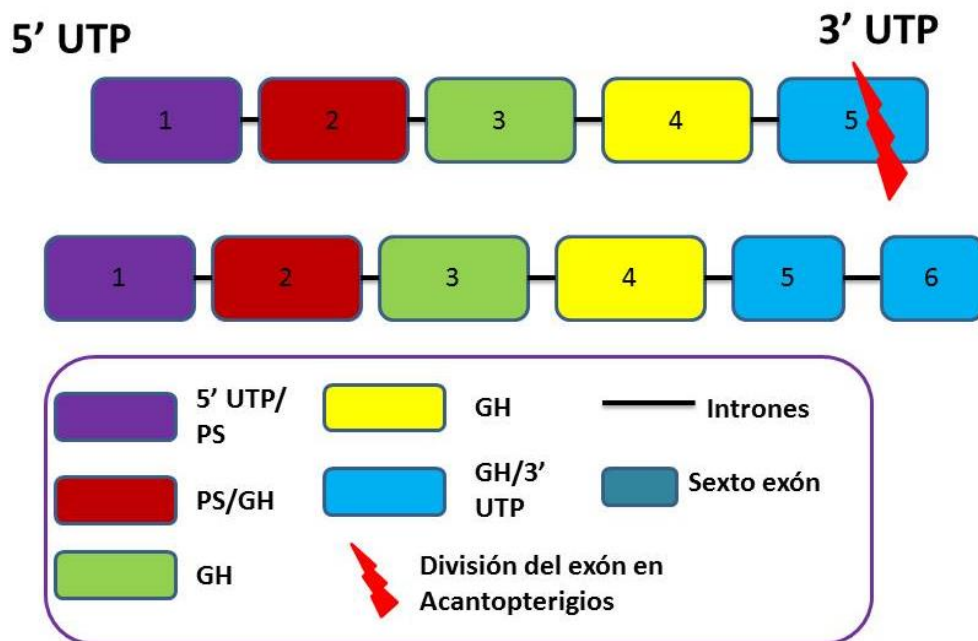
El receptor a la Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH-R) que media los efectos estimuladores de dicha hormona, es un miembro de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (GPCR). En algunos casos la respuesta obtenida de la célula somatotropa es un incremento en la síntesis del mRNA y la liberación de la GH como en *Carassius auratus* (Klausen *et al.*, 2001).

Se ha encontrado que en la Tilapia, (*Oreochromis niloticus*), la Dopamina es estimuladora de la liberación de GH (Melamed *et al.*, 1996). El subtipo de receptor utilizado es el D<sub>1</sub>, promoviendo una elevación en el cAMP (Chang *et al.*, 1990; Wong *et al.*, 1994).

El estradiol, tiene funciones estimuladoras en la liberación de GH en suero en las hembras de *Carassius auratus* durante las últimas fases de la recrudescencia y la madurez sexual (Trudeau *et al.*, 1992; Lin *et al.*, 2000, Cárdenas *et al.*, 2003).

## Estructura del gen

El gen de GH está formado por cinco o seis exones dividido por cuatro o cinco intrones (Figura 1) dependiendo de la especie, por ejemplo en *Fugu rubripes* el gen cuenta con seis exones y cinco intrones (Venkatesh y Brenner, 1997; Almury *et al.*, 2000). El número de bases que forman el gen de GH varía entre 1.6 y 4 Kb (Almury *et al.*, 2000). Se sabe que entre los elementos reguladores de la expresión del gen se encuentran cajas TATA (Aramburo *et al.*, 1997), al menos un elemento de respuesta a hormonas tiroideas, un elemento de respuesta al ácido retinoico (Farchi-Pisanty *et al.*, 1997; Sternberg y Moav, 1999), un elemento de respuesta a glucocorticoides (Bernardini *et al.*, 1999) y también un elemento de respuesta a cAMP (Argenton *et al.*, 1996). El factor de transcripción más conocido para la expresión del gen GH es PIT-1 (Argenton *et al.*, 1993,1996, 2002; Farchi-Pisanty *et al.*, 1997;Bernardini *et al.*, 1999).

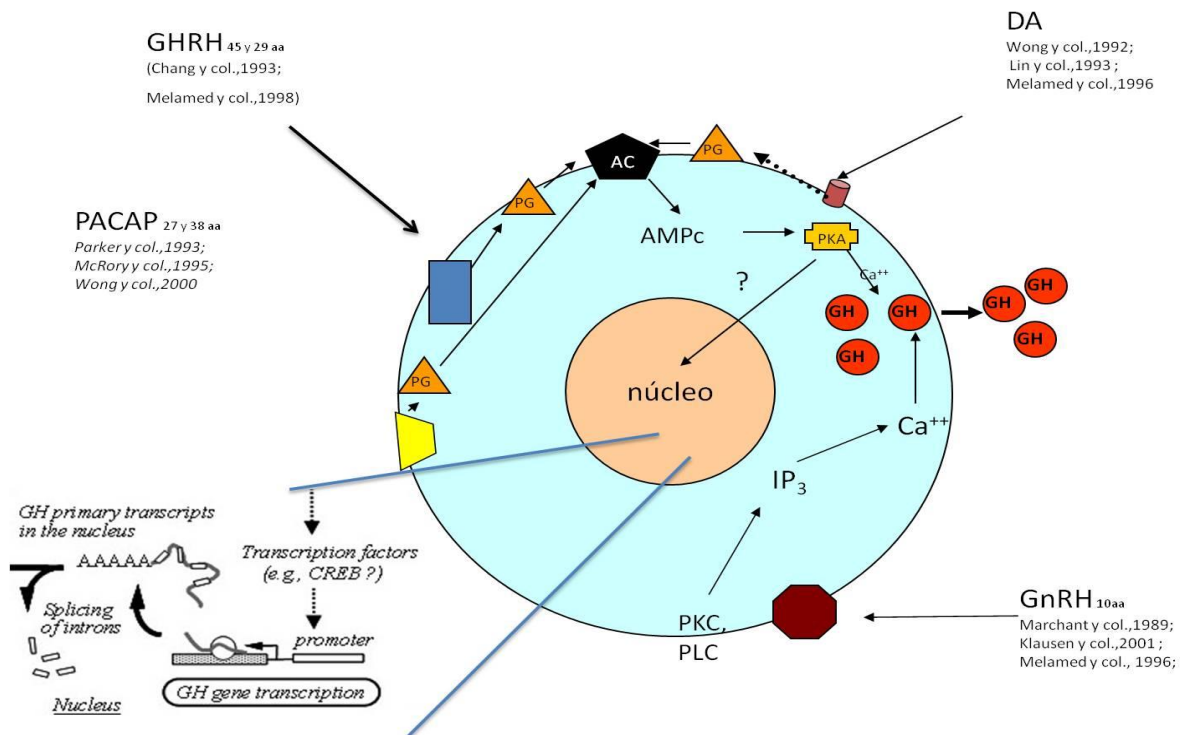


**Figura 1.**-Estructura del gen de GH, en la parte anterior de la imagen se observa el gen de 5 exones presente en Ostariophrys que por división del exón 5 origina el gen de seis exones en acantopterigios que se observa en la parte posterior de la imagen (Tomado de Cárdenas, 2012).



## Síntesis y liberación de GH

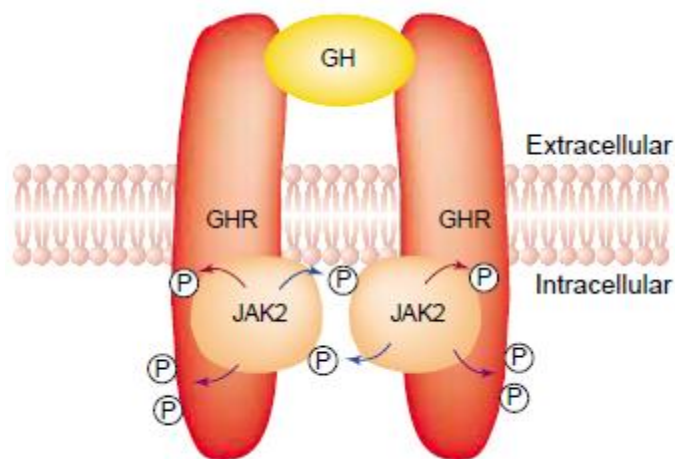
La liberación de la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) desde la hipófisis está modulada por diversos factores endógenos y exógenos. La GHRH es transportada a través de los axones de las neuronas GHRH que inervan directamente las células somatotropas, donde son reconocida por los receptores a la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH-R) que son receptores transmembranales, internaliza la señal hasta el núcleo de la célula, donde se sintetiza la GH, ésta es enviada hasta la membrana externa de la célula en vesículas y allí espera hasta su liberación gracias entre otras cosas a los canales de calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) y sodio ( $\text{Na}$ ) (Figura 2).



**Figura 2.-** Vía de síntesis y liberación de GH en pez dorado *Carassius auratus*. Siglas: PACAP, polipéptido activador de la adenilato ciclasa; DA, dopamina; GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas; GHRH, hormona liberadora de hormona de crecimiento; PKC, protein quinasa C; PLC, fosfolipasa C; IP<sub>3</sub>, fosfatidil inositol trifosfato; AC, adenilato ciclasa; PKA, protein quinasa A; PG, proteína G (Tomado de Cárdenas, 2012).

## Receptor a GH (GH-R)

El receptor a la hormona del crecimiento (GH-R) es una molécula transmembranal que pertenece a la superfamilia de receptores a citocinas, posee un dominio amino terminal extracelular en donde se une la hormona, un solo dominio transmembranal y otra parte intracelular en el carboxilo terminal (Figura 3). Ésta última es la que participa en la transducción de señales y tiene dos dominios o cajas, la primera de ellas (Box 1) es rica en prolinas y se une a la Januscinasa2 (JAK 2) y utiliza también factores de transcripción de la familia de activadores de la transcripción y transductores de señales (STAT), específicamente STAT-5 y SHC mientras que el segundo dominio (Box 2) parece ser importante para la internalización del receptor. Box 1 también posee ocho residuos del aminoácido tiroxina que son susceptibles a ser fosforilados y por ende, importantes para la activación de las vías intracelulares (Waters *et al.*, 1999; Herrington y Cater-Su, 2001; Björnsson *et al.*, 2002).



**Figura 3.-** Esquema del receptor a la hormona del crecimiento. Siglas GH hormona del crecimiento, GHR Receptor a la hormona del crecimiento, JAK2 januscinasa 2 y P fósforo (Tomado de Herrington y Carter-Su, 2001.)

## Mecanismo de señalización de GH

La hormona del crecimiento (GH) se une a su receptor (GHR), cuando éste se dimeriza, las JAK 2 fosforilan a 2 proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción (STAT5), estas proteínas se dimerizan y se translocan al núcleo donde activan los genes de IGFs, supresores de señalización de citocinas (SOCS), entre otras. Una vez activado hay retroalimentación negativa y positiva (Pelekanos y Waters, 2006) (Figura 4).

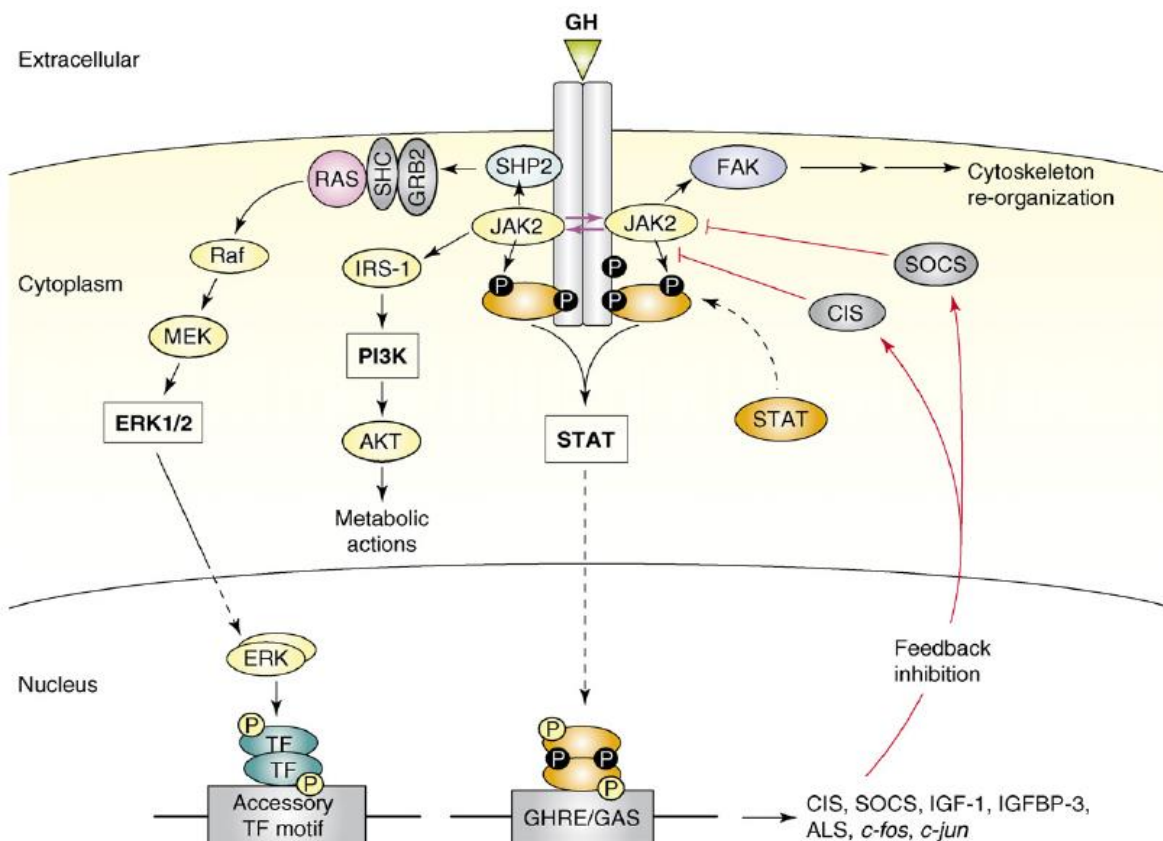
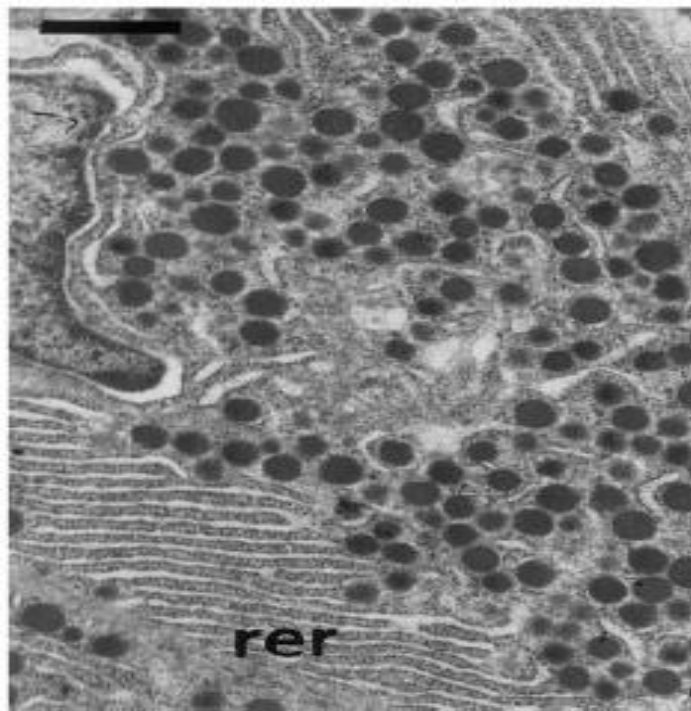


Figura 4.- Vía de señalización de GH. Siglas GH hormona del crecimiento, proteínas transductoras de señales y activadoras de la transcripción STAT proteína transductora de señales y activadoras de la transcripción, SOCS supresores de señalización de citocinas, JAK2 januscinasa, PI3K fosfatidil inositol 3 cinasa, (Tomado de Rossenfeld *et al.*, 2007).

## Células somatotropas

Las células de la hipófisis que sintetizan la hormona del crecimiento son conocidas como células somatotropas, son redondas de tamaño variable (120 a 247 nm), acidófilas, algunas presentan una membrana ondulada. Los gránulos de secreción son irregulares, alargados y numerosos, pueden estar en contacto con el tejido neural, o junto a vasos sanguíneos. Las células somatotropas cerca de la neurohipófisis (NH) o *pars nervosa* (PN) están separadas del tejido neuronal por una lámina basal o pueden estar en contacto directo con fibras nerviosas procedentes de la PN. Ocasionalmente los axones de la PN establecen estructuras sinápticas con las células somatotropas. Poseen un gran núcleo excéntrico con una o más hendiduras y un complejo de Golgi bien desarrollado (Villaplana *et al.*, 2003) (Figura 5).



**Figura 4.-** Fotografía electrónica del retículo endoplásmico de una célula somatotropa, podemos observar gránulos secretorios cercanos al complejo de Golgi. (Tomado de Villaplana *et al.*, 2003).

## **Sistema hipotálamo hipófisis**

El eje hipotálamo-hipófisis es uno de los principales sistemas de control y regulación hormonal (Alcaráz y Gumá, 2001).

Consiste en la región neurosecretora (NS), las neuronas que forman el núcleo de la región hipotalámica que inerva desde esta zona del cerebro y sus terminales axónicas llegan a la neurohipófisis. Las hormonas así liberadas, son llevadas a sus objetivos que controlan directamente. Representa la unión neuroendócrina entre el sistema nervioso y el sistema endócrino tradicional. Es un sistema integrativo, comunica las neuronas normales con las neuronas de la NS del hipotálamo. Estas neuronas y las neuronas de la NS son sensibles a los efectos directos y de retroalimentación de las hormonas presentes en la sangre y el fluido cerebro espinal (Norris, 1980).

En peces, el sistema hipotálamo-hipófisis se puede separar en las mismas divisiones que en mamíferos: hipotálamo, neurohipófisis y adenohipófisis (Norris, 1980).

El hipotálamo regula la actividad de la hipófisis. Coordina la mayoría de las funciones endócrinas del cuerpo y sirve como uno de los principales centros de control del sistema nervioso autónomo. Algunas de las funciones que regula incluyen la presión arterial, la temperatura corporal, el líquido y balance de electrolitos, el peso corporal y el apetito (Ross, 2011).

El hipotálamo origina numerosos productos neurosecretores. En los tetrápodos además de la oxitocina y la hormona anti diurética (ADH) liberadas en la neurohipófisis, las neuronas hipotalámicas secretan polipéptidos que promueven e inhiben la secreción y la liberación de hormonas del lóbulo anterior de la hipófisis y se liberan en la cama capilar del sistema porta hipotálamo-hipofisario para el transporte a la *pars distalis* de la hipófisis. El nivel circulante de un producto de secreción específico de un órgano blanco, una hormona o su metabolito puede actuar directamente sobre las células del lóbulo anterior de la hipófisis o el

hipotálamo para regular la secreción de hormonas liberadoras hipotalámicas (Ross,2011).

Los dos niveles de retroalimentación, hipotálamo-hipófisis, permiten refinada sensibilidad en el control de la función secretora. Además, la información fisiológica y estímulos psicológicos que llegan al cerebro también llegan al hipotálamo. La retroalimentación hipotálamo-hipofisario proporciona un camino regulador por el cual la información generada desde el SNC contribuye a la regulación del lóbulo anterior de la hipófisis y, por consiguiente, a la regulación de todo el sistema endócrino (Ross, 2011).

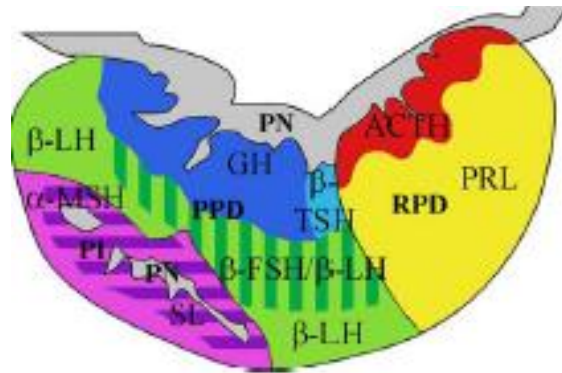
## Hipófisis

La hipófisis es una glándula situada en la base del cerebro. En ella se da la conexión más importante entre los dos más grandes sistemas de regulación, el nervioso y el endócrino. De este modo, se distinguen dos partes: el lóbulo anterior o adenohipófisis como glándula endócrina y el lóbulo posterior o neurohipófisis que procede del *infundibulum* del diencéfalo, siendo por ello un tejido nervioso que segrega una serie de sustancias (neurohormonas) mediante las que ejerce una acción reguladora sobre el funcionamiento de otras glándulas endócrinas. (Caravaca-Rodríguez, 2003).

Presenta un doble origen embrionario, el lóbulo anterior deriva de una evaginación del ectodermo de la orofaringe, hacia el cerebro. El lóbulo posterior deriva del neuroectodermo del piso del tercer ventrículo del cerebro en desarrollo. El lóbulo anterior de la glándula pituitaria presenta tres derivados de la bolsa de Rathke (Ross, 2011).

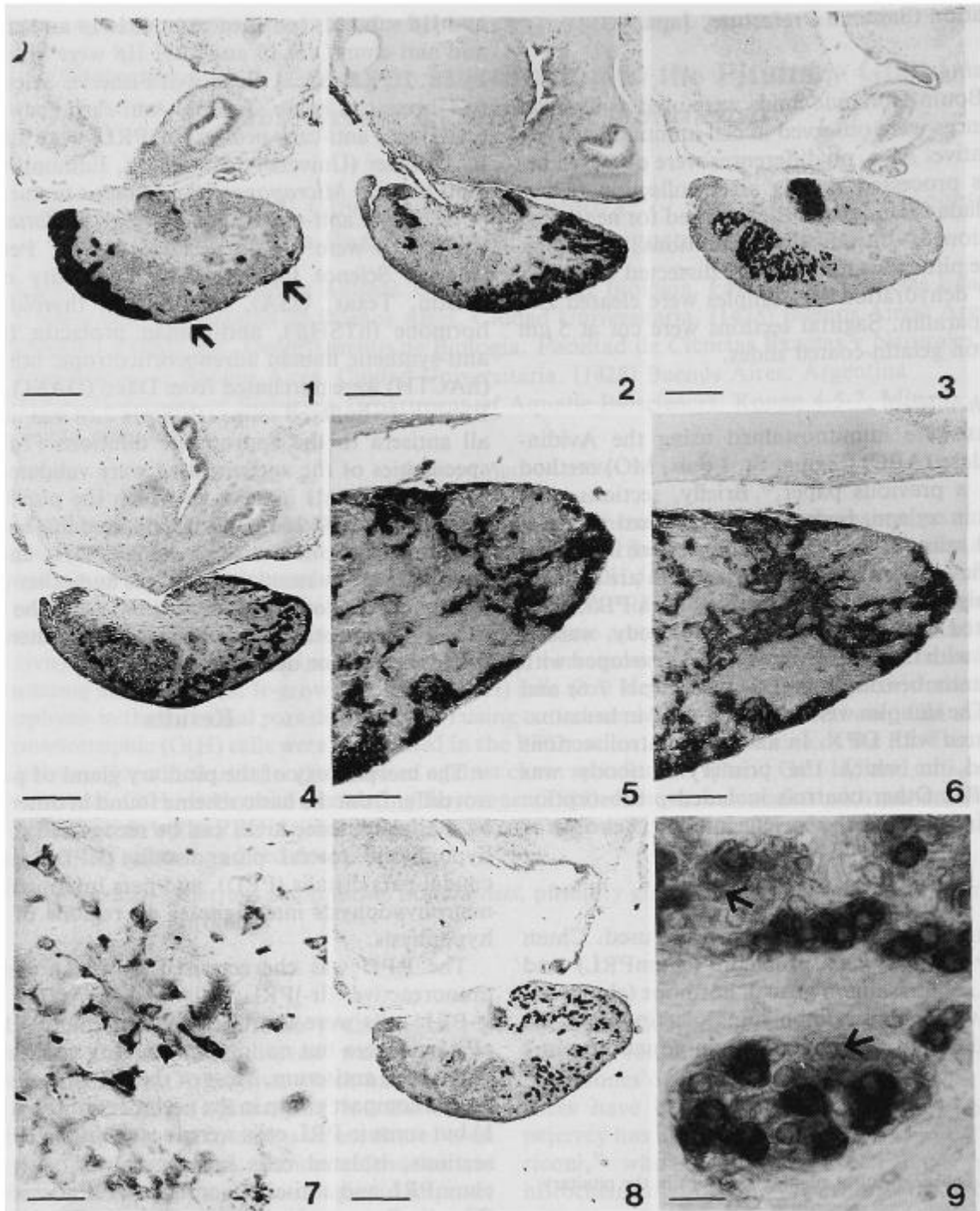
En peces la hipófisis está caracterizada por tener interdigitaciones muy cercanas entre la neurohipófisis (pars nervosa PN) y la adenohipófisis. Esta última consiste en tres partes principales: la *pars distalis rostralis* (PDR), la *pars distalis proximalis* (PDP) y la *pars intermedia* (PI). Existe un transporte axonal directo entre las neuronas hipotalámicas y las células endócrinas de la hipófisis. La hipófisis juega un papel central en el control del crecimiento, desarrollo, reproducción y adaptación al ambiente (Kasper *et al*, 2006) (Figura 3). Cada región de la adenohipófisis puede distinguirse citológicamente puesto que cada una contiene diferentes tipos celulares que producen diferentes hormonas (Norris, 1980).

En peces más relacionados filogenéticamente con *Chirostoma* podemos encontrar una distribución un poco diferente a la mencionada anteriormente, por ejemplo lo descrito por Vissio *et al.*, en *Odontesthes bonariensis*, donde podemos apreciar una distribución más parecida a lo esperado para *Chirostoma*, a pesar de que en ambos estudios encontramos que GH se localiza en la PDP y que rodea la NH, la localización en *Odontesthes* también incluye la parte dorsal de la PDP (Figura 7).



**Fig. 6.-** Mapa de la localización de las hormonas hipofisiarias. La *pars distalis rostralis* (RPD) se presenta en rojo (ACTH) y amarillo (PRL). La *pars distalis proximalis* (PPD) está coloreada en azul oscuro (GH) y en azul claro ( $\beta$ -TSH) en verde con bandas simboliza las áreas  $\beta$ -LH (verde claro) and  $\beta$ -FSH (verde oscuro). La *pars intermedia* es coloreada con violeta con bandas representando las células  $\alpha$ -MSH (rosa) y SL (violeta oscuro). La pars nervosa (PN) presenta ramas (gris) que entran en la PI. (Tomado de Kasper *et al*, 2006).





**Figura 7.-** Distribución de hormonas encontradas por Vissio *et al.*,1999, en la hipófisis de *Odontesthes bonariensis*, se puede observar la inmunoreacción de las células ante diferentes anticuerpos, en orden de las imágenes tenemos: 1) células ir-PRL, 2) células ir-ACTH, 3) células ir-GH, 4, 5, 6) GtH, 7) TSH, 8) SL.

## Modelo de estudio

El género *Chirostoma* pertenece a la familia de los Aterinópsidos, es endémico de México y está representado por 18 especies y 6 subespecies distribuidas en la Meseta Central de México (Barbour, 1973). La distribución natural del género abarca los estados de Michoacán, Jalisco, Nayarit, Aguascalientes, Estado de México y Guanajuato (Rojas, 2005).

*Chirostoma humboldtianum* es una de las especies más importante dentro del grupo de los charales ya que es nativo de México (Figura 8), tenía una amplia distribución pues se le encontraba al oriente, desde los lagos interiores del Valle de México como Xochimilco, Chimalhuacán, Texcoco y Tláhuac, la Cuenca del Río Lerma y hacia el oeste, en las lagunas de Juanacatlán (Jalisco), Santa María y San Pedro Lagunillas (Nayarit) (Ezcurra 1996). En la actualidad se encuentra en la laguna de Zacapu (Michoacán) y en pequeños embalses del Estado de México. (Elías *et al.*, 2008).

Los charales gozan de gran aceptación en la dieta del pueblo mexicano, debido a su carne blanca y suave con pocas espinas y a su exquisito sabor (Rosas, 1976). Fueron consumidos durante la época prehispánica en la Cuenca de México, ya que junto con otras especies conformaban la fauna acuática representativa del Lago del Anáhuac, *C. humboldtianum* era conocido en la época prehispánica como amilotl, y era muy codiciado por su sabor (Blancas *et al.*, 2008). Desde la época prehispánica la especie ha sido cultivada y engordada para el consumo humano (Ezcurra 1996; Paulo-Maya *et al.*, 2000). Después de la conquista, se aceleró la modificación de las condiciones ambientales de esta zona lacustre y se alteró consecuentemente el hábitat natural, lo que resultó en la desaparición y extinción de algunas especies, en particular ésta especie, la cual, según los registros desapareció a principios de 1950 del Lago de Xochimilco (Blancas *et al.*, 2008).

De acuerdo a sus características ecológicas podría sostener fuertes pesquerías y tener un gran potencial piscícola en México, por lo cual su cultivo es de gran interés comercial (Moncayo *et al.*, 1983).

### **Reproducción**

La época reproductiva en poblaciones silvestres es de cuatro o cinco meses, con algunos meses de intensa actividad. Los datos encontrados con estos peces en cautiverio mostraron que la temporada reproductiva está representada sólo por una época de desoves durante el año, la cual da inicio en los primeros meses del propio año (con incremento gradual de temperatura y fotoperiodo) y se extiende hasta julio y agosto; en ella, la hembra tiene varios desoves y gran desgaste metabólico. Las hembras inician su reproducción al alcanzar, en promedio,  $133.9 \pm 2.3$  mm de talla, que corresponde a un año de edad (Blancas *et al.*, 2008).

### **Crecimiento**

Tienen un crecimiento relativamente lento, y no presentan dimorfismo sexual. La proporción sexual para reproducción es de tres a cuatro machos por cada hembra (Rojas, 2006).

No hay cuidado parental. Sus huevos son esféricos, con diámetro entre 1 y 1.1 mm, de color ámbar, translúcidos, con gran cantidad de vitelo y con un espacio perivitelino angosto. Son telolecitos, presentan una gota de aceite fraccionada en dos y colocada en la parte inferior del espacio vitelino, y un grupo de filamentos externos para adherirse a la vegetación acuática sumergida (Rojas *et al.*, 2000). Las larvas al momento de la eclosión tienen una talla promedio de 4.1 mm de longitud estándar (LS), cuerpo alargado muy transparente, ojos fuertemente pigmentados de negro, con membrana en forma de pliegue rodeando el cuerpo, con saco vitelino de forma elipsoidal, la que absorben en 5-8 días a  $21^{\circ} \text{C} \pm 1$  (Rojas *et al.*, 2000). Presentan pigmentos en la parte cefálica, desde el segundo día después de la eclosión, en la parte ventral de la región abdominal, en la región dorsal y en la línea lateral. La flexión del urostilo o cola se presenta a partir de los

5.2 mm de longitud estándar (LS). La diferenciación de la primera aleta dorsal se presenta a partir de los 10.02 mm LS (Rojas et al., 2000).



**Figura 8.-** Se muestra una fotografía de *Chirostoma humboldtianum*, capturado en la laguna de Zacapu, Michoacán.

### 3.- Justificación

El pescado blanco es un recurso de importancia por su valor económico, ecológico y cultural; sin embargo, en las últimas décadas hemos visto disminuir su producción dada la compleja crisis que se han dado en los lagos de Pátzcuaro y Chapala (Martínez et al., 2006) (Figura 9). Existe una problemática debido a la modificación del entorno: por desforestación, sobreexplotación de mantos acuíferos para drenes agropecuarios y alta densidad poblacional circundante. Existen problemas serios de eutrofización, las especies introducidas de carpa común *Cyprinus carpio*, lobina negra *Micropterus salmoides*, trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* y tilapia negra *Oreochromis mossambicus* tienen mejor tasa de crecimiento y reproducción (CONABIO, 2012). Por lo tanto es importante el conocimiento de las hormonas que participan en la reproducción y crecimiento de *Chirostoma*, para ayudar a sentar las bases de estudios posteriores que traten de reproducir y mejorar el crecimiento de dicho pez.



**Figura 9.-**Fotografía tomada en el sitio de colecta de *C. humboldtianum*, el tamaño de los peces que pueden verse es de más de 13 cm.

#### **4.- Objetivo**

Establecer la distribución de las células somatotropas en la hipófisis de *Chirostoma humboldtianum*.

## 5.- Materiales y métodos

### Actividades de campo

Los ejemplares de *Chirostoma humboldtianum*, fueron colectados en la laguna de Zacapu, Michoacán, México, localizada entre los 19°40'40" y 19°49'26" latitud Norte y 101°46'25" y 101°47'25" longitud Oeste de los meses de Agosto a Noviembre (etapa de recrudescencia sexual) y de Enero a Mayo (etapa de madurez sexual). Los peces fueron anestesiados con triclaínmetanosulfonato (MS 222) de Sigma® Co., a una concentración de 0.05%, antes de proceder a la toma de muestras.

Después de anestesiados los peces fueron sacrificados por decapitación. Los organismos fueron sexados con base a las características externas de las gónadas, solo se utilizaron hembras en este estudio, la hipófisis fue removida y fijada en una solución amortiguadora de fosfatos (PBS) y paraformaldehído al 2% y ácido pícrico, a pH de 7.2 (Stefanini *et al.*, 1967).

Todas las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Endocrinología de peces de la FES-Iztacala, donde posteriormente fueron procesadas y estudiadas.

### Actividades de laboratorio

Las muestras fueron procesadas de acuerdo con la técnica de Martoja (1970) de la siguiente manera:

Se deshidrataron los tejidos mediante concentraciones crecientes de alcohol (70%, 80%, 90%, 96% y 100%), dejando las muestras 30 minutos en cada concentración, excepto en la última, en la cual se dejó 45 minutos. Ya deshidratados, se colocaron en alcohol amílico durante 24 horas posteriormente se pasaron por 2 cambios de parafina durante 2 horas cada una. Finalmente, se

incluyeron en Paraplast y se realizaron cortes sagitales en serie con grosor de entre 5 y 7  $\mu\text{m}$  en un micrótomo de rotación LEICA RM 2125.

Los cortes fueron montados en portaobjetos tratados con 3-Aminopropil Trietoxisilano (TESPA) para la realización de la técnica inmunohistoquímica (Elson *et al.*, 1995; Taylor & Burns, 1974). Antes de realizar la técnica inmunohistoquímica, los cortes se desparafinaron durante 30 minutos a 60° C, posteriormente fueron colocados en xilol e hidratados mediante concentraciones descendientes de alcohol (100%, 96%, 90%, 80% y 70%), a continuación fueron inmersos en una solución de 5%  $\text{H}_2\text{O}_2$  - 100 volúmenes de PBS 1X durante 30 minutos para desactivar la peroxidasa endógena. Para eliminar la unión inespecífica se utilizó una solución al 5% de leche descremada con 300  $\mu\text{l}$  Triton a temperatura ambiente (23°C) durante 30 minutos. Los cortes fueron incubados con el anticuerpo recombinante anti-pjGH de conejo en dilución 1:500 durante toda la noche a 4 °C, el anticuerpo anti-pjGH fue generosamente donado por el Dr. Gustavo Somoza (Instituto de Investigaciones Biotecnológicas-Instituto Tecnológicas de Chascomús, Argentina). Subsecuentemente, los cortes fueron lavados con PBS 1X e incubados a temperatura ambiente con un anticuerpo anti-IgG de chivo anticonejo acoplado a peroxidasa durante dos horas y lavados nuevamente con PBS 1X. Algunos cortes fueron utilizados para ver si había reacción en el cerebro. Los cortes fueron sometidos a una solución de 3,3-diaminobenzidina con 0.3% de peróxido de hidrógeno por 30 minutos, los cortes fueron deshidratados, aclarados en xilol y montados con Entellan Merck®.

La especificidad de la inmunorreacción fue confirmada utilizando los siguientes controles: (1) sin anticuerpo primario, (2) sin anticuerpo secundario y con DAB, (3) sin desactivar peroxidasa y con DAB, (4) sin bloqueo de inespecíficos.

Los cortes fueron observados en un microscopio Nikon® Eclipse 400 y las imágenes obtenidas con el programa NIS Elements de Nikon®



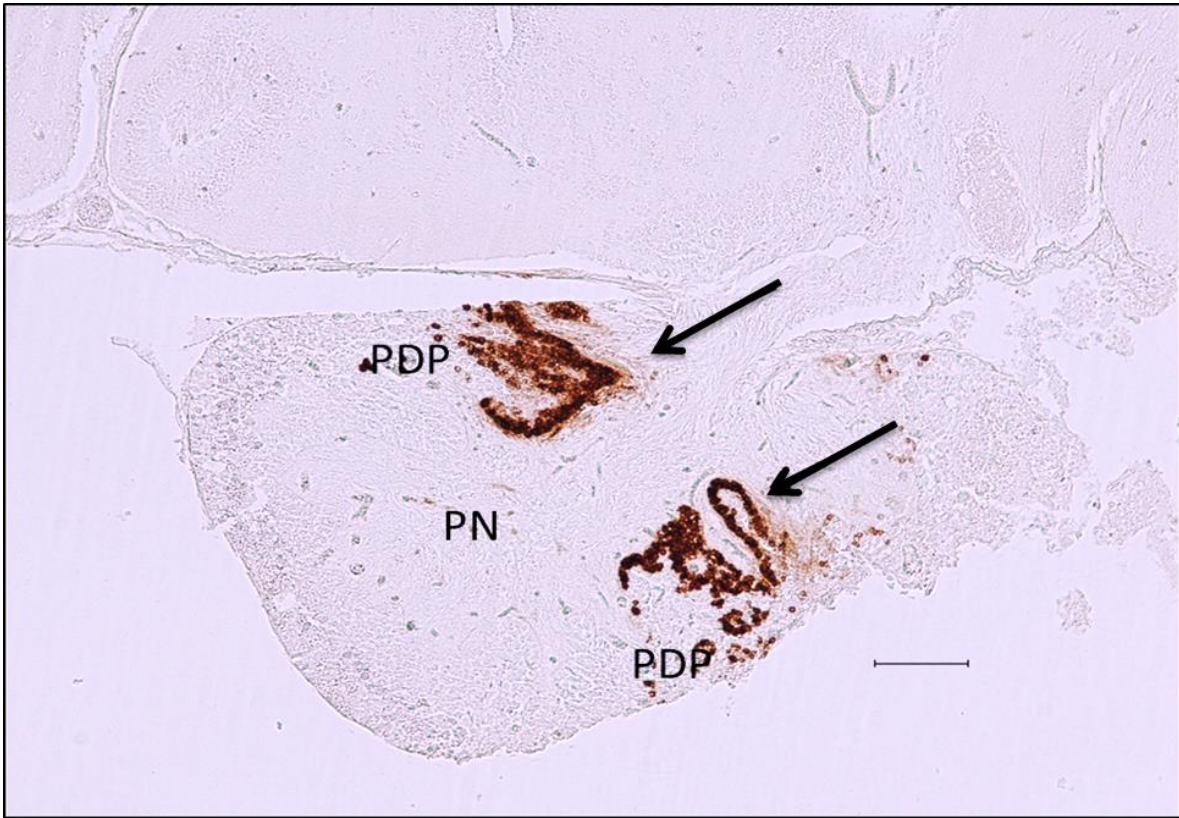
## 6.-Resultados

En el presente estudio, a través de la técnica inmunohistoquímica, se encontraron en el *Chirostoma humboldtianum* células inmunoreactivas a la hormona del crecimiento (GH) en la hipófisis en el área de la *pars distalis proximalis* (PDP) (Figura 10) y rodeando la *pars nervosa* (PN) (Figura 11). Las células se restringieron a la parte dorsal y ventral de la PDP.

La cantidad de células reactivas al anticuerpo anti-pjGH no fueron las mismas a lo largo de todo el año, mientras que en enero y febrero (Figuras 10-14) el número de células que reaccionaron parece ser abundante, en abril (Figura 15) se observó un número muy abundante de células y de fibras nerviosas inmunoreactivas, y en mayo y agosto (Figura 16) el número de éstas células parece haber desaparecido, siendo solo posible ver la reacción a 40 aumentos en el microscopio. Para noviembre (Figura 17) la reacción vuelve a ser visible.



**Figura 10.-** Corte sagital de la hipófisis de una hembra de *Chirostoma humboldtianum*, donde pueden observarse células inmunoreactivas en la PDP. Corte a 5  $\mu\text{m}$  de la colecta de enero. Barra de 100  $\mu\text{m}$ . La flecha señala la reacción.



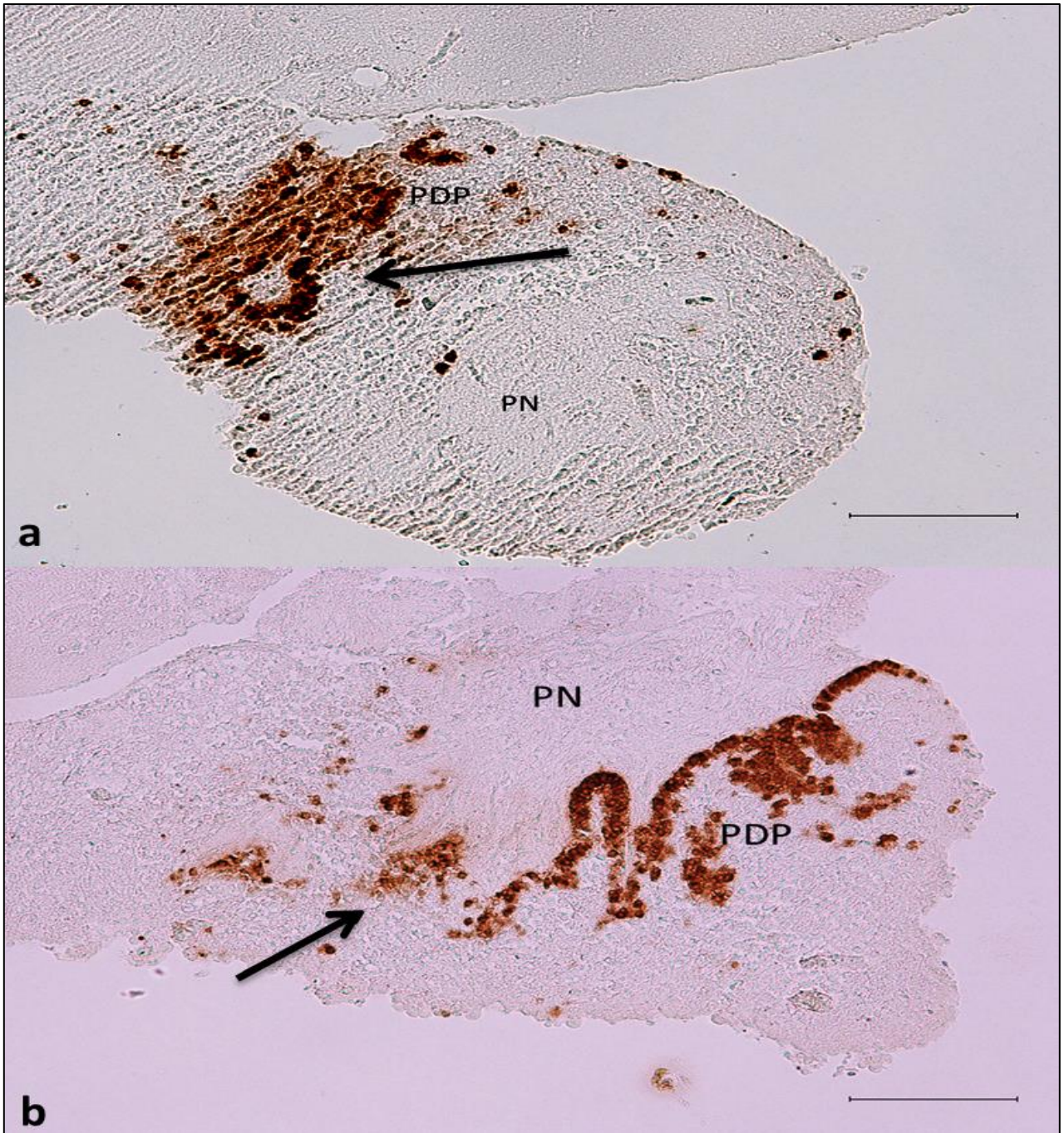
**Figura 11.-** Corte sagital de hipófisis de *C. humboldtianum*, donde pueden verse células inmunoreactivas a manera de collar en la PDP rodeando la PN y células inmunoreactivas dispersas a lo largo de la PDP, por la distribución de las células puede observarse una especificidad de la reacción. Colecta de enero. Barra de 100 $\mu$ m. La flecha señala el sitio de reacción.





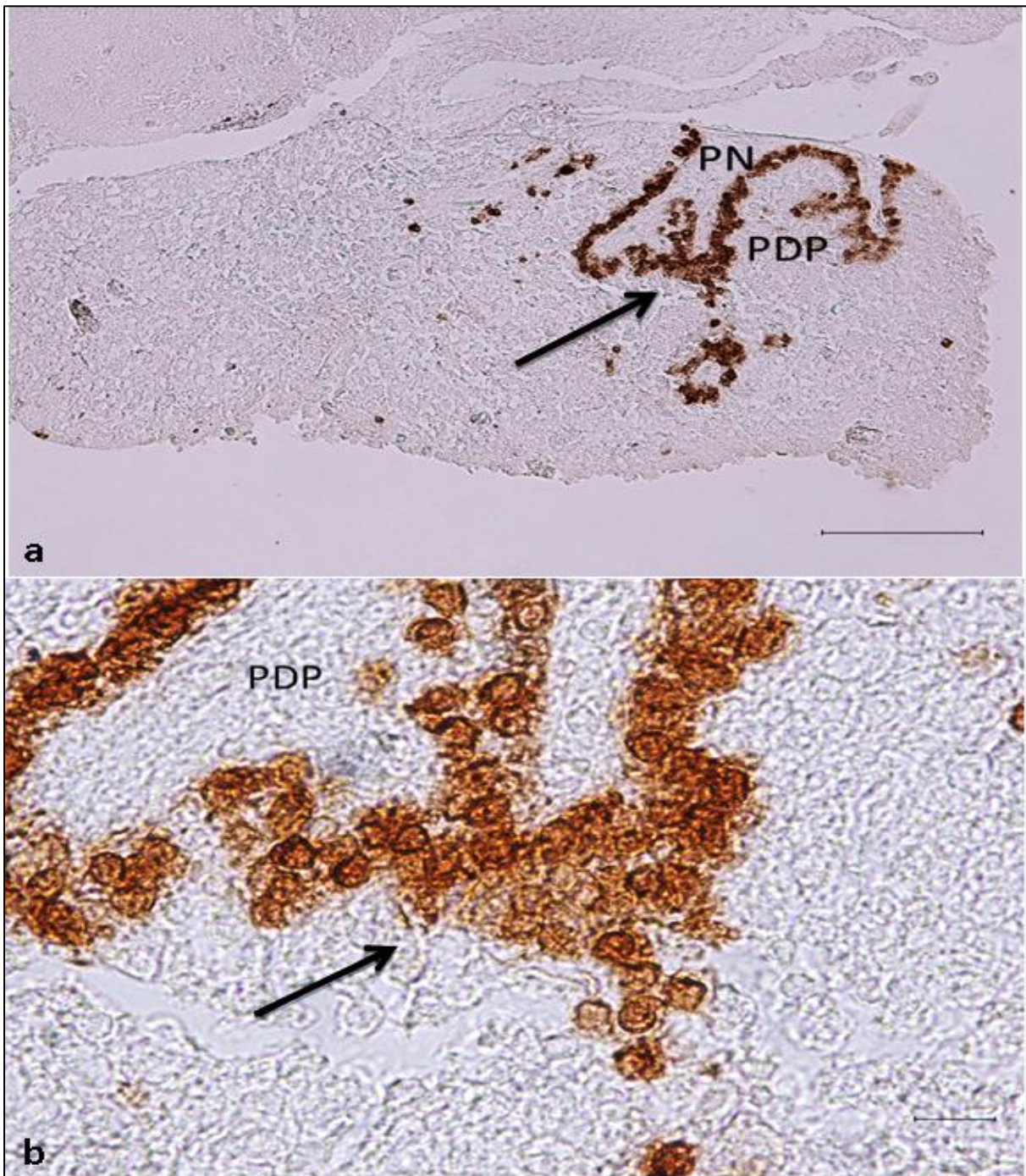
**Figura 12.-**En este corte se muestran algunas células somatotropas, se pueden ver claramente las células, muy grandes y definidas que presentan reacción al anticuerpo anti-pjGH. Barra de 10  $\mu$ m. La flecha indica la reacción.





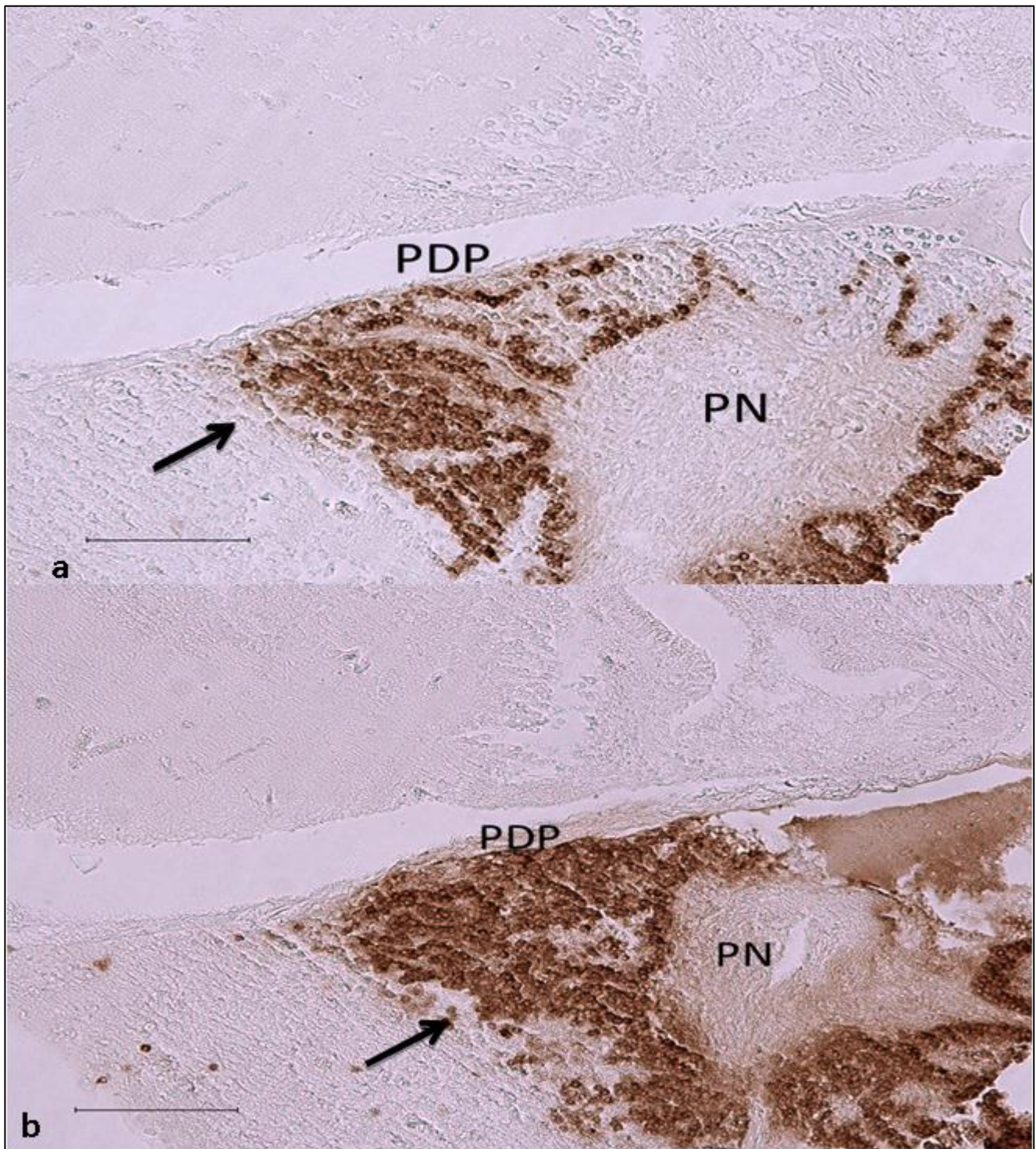
**Figura 13.-** Se muestran cortes sagitales de hipófisis de *C. humboldtianum*, en la figura a) pueden verse las células reactivas en la parte superior de la hipófisis, cercanas a la PN, b) las células reactivas forman un collar alrededor de la PN como se describe para otros peces. Colecta febrero, 5  $\mu$ m. Barra de 100  $\mu$ m. la flecha indica la reacción.





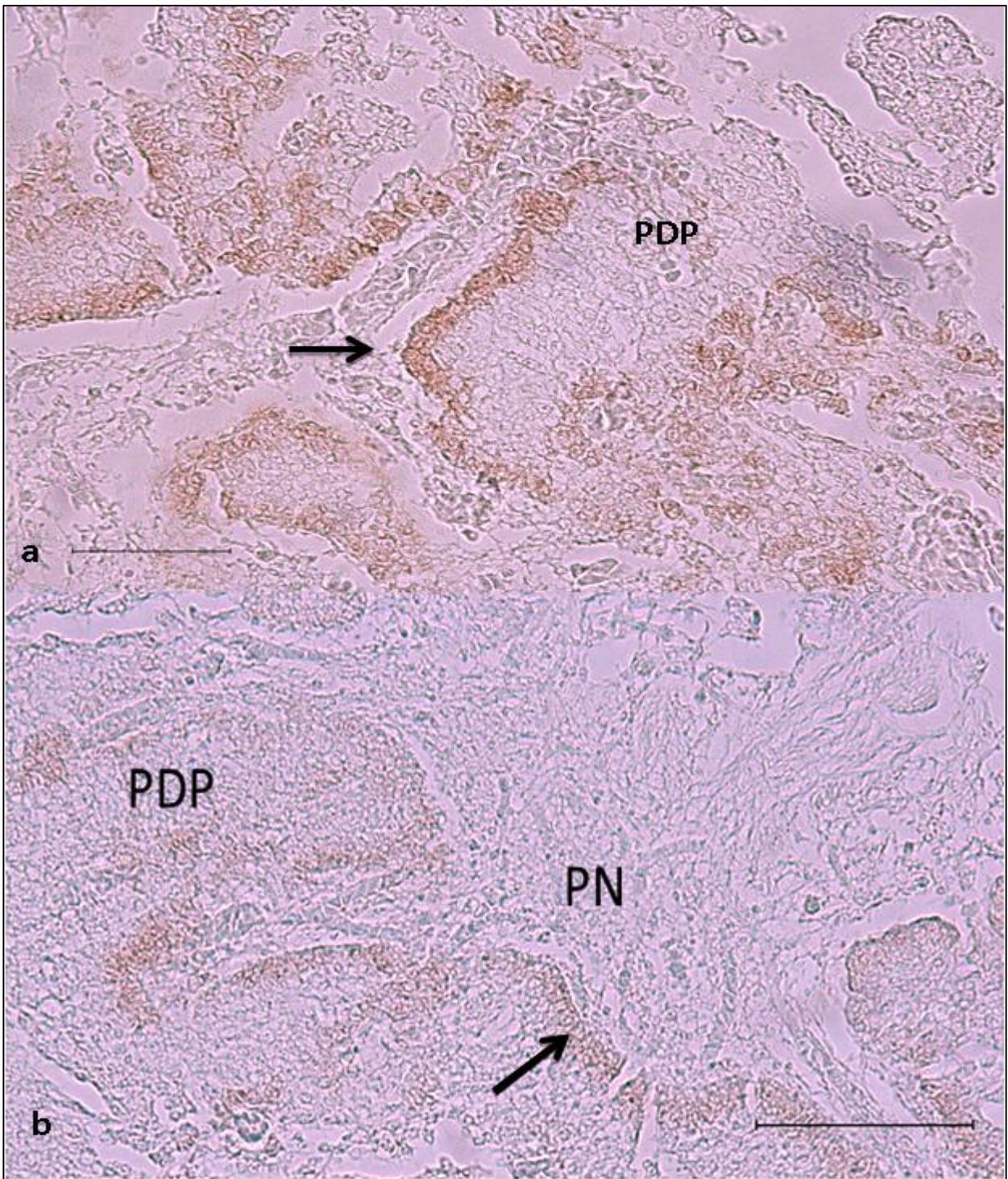
**Figura 14.-** Se muestran cortes sagitales de hipófisis de *C. humboldtianum*, a) la reacción que se observa queda restringida a la zona dorsal de la hipófisis en la PDP. Barra 100  $\mu\text{m}$ , b) células inmunoreactivas en la PDP. Colecta febrero. Barra 10  $\mu\text{m}$ . La flecha señala la reacción.





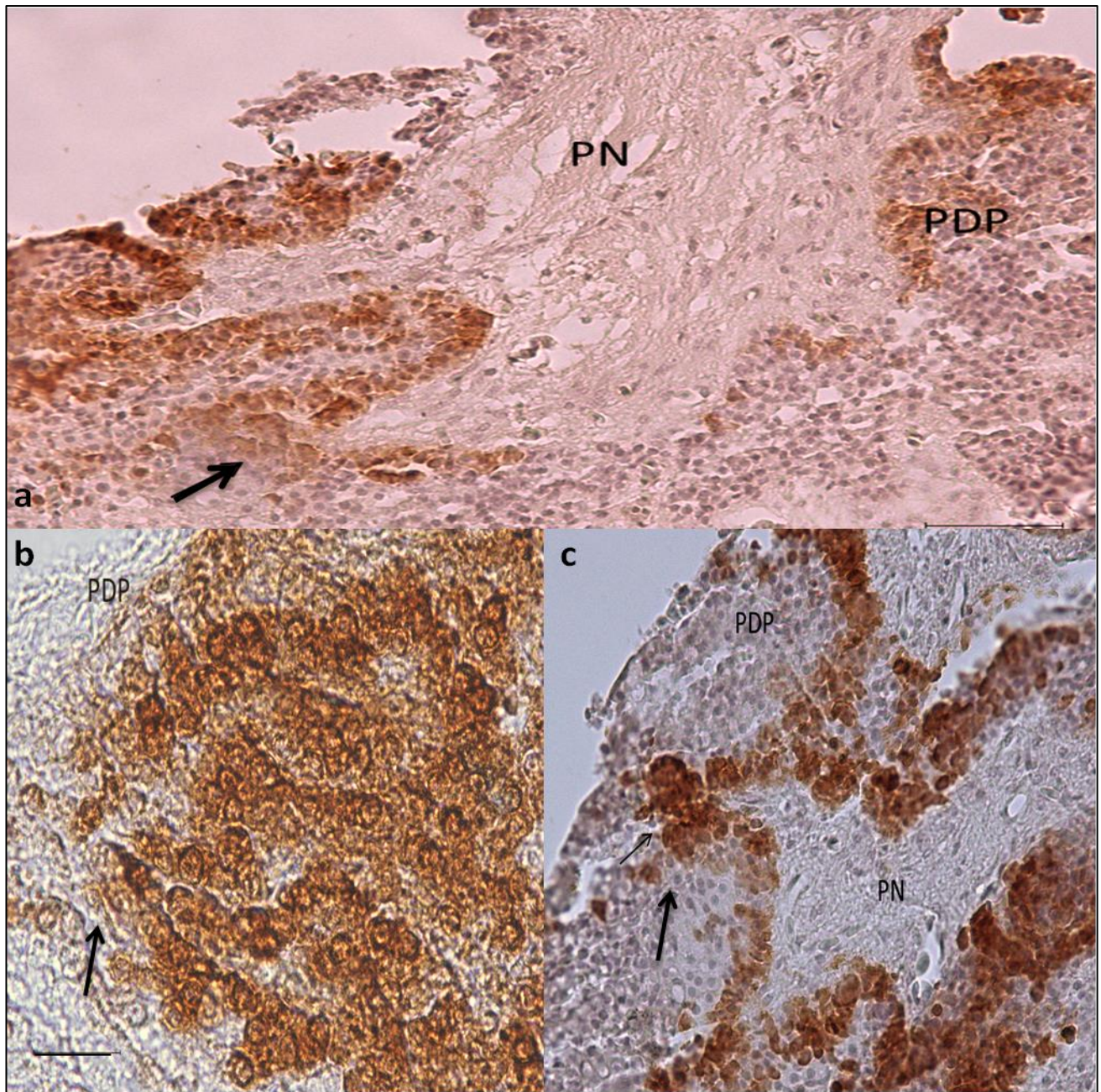
**Figura 15.-** Se muestran cortes sagitales de hipófisis de *C. humboldtianum*, a) la reacción queda establecida en la PDP, rodea la PN y parece ser mayor que en otros meses, b) pueden verse fibras nerviosas teñidas además de la fuerte tinción que parecen presentar las células de la PDP. Colecta de abril. Barra 100  $\mu$ m. La flecha señala la reacción.





**Figura 16.-** Se muestran cortes sagitales de hipófisis de *C. humboldtianum*, a) colecta mayo, la tinción en este mes es muy escasa puede verse solo en la PDP, barra de 10 $\mu$ m. De las misma manera en la colecta de agosto b) pueden observarse muy pocas células reactivas y la mayoría la encontramos en la PDP. Barra 100  $\mu$ m. la flecha señala la reacción.





**Figura 17.-** Corte sagital de hipófisis de *C. humboldtianum*, vuelve a observarse una reacción mayor, más células parecen responder al anticuerpo y regresa el arreglo a manera de collar rodeando la PN, el número de células no se compara con las encontradas para abril, sin embargo la reacción vuelve a ser clara en la PDP y la zona que rodea la PN. Colecta noviembre. Barra 100  $\mu$ m en a y b, barra de 10  $\mu$ m en c. La flecha señala la reacción.



## 7.- Discusión

En el presente estudio se determinó, a través de la técnica inmunohistoquímica, que la distribución de las células somatotropas en la hipófisis de *Chirostoma humboldtianum* es la PDP y en particular, que en esta parte de la hipófisis rodean la PN teniendo un arreglo a manera de collar, lo que coincide con el patrón de distribución reportado en otras especies de teleósteos como *Odontesthes bonariensis*, pertenecientes a la misma familia de *C. humboldtianum* (Orden Atheriniformes), *Sparus aurata*, de la familia Sparidae, y *Oreochromis niloticus*, de la familia Cichlidae, ambas del Orden de los Perciformes. En la primera especie la organización que se encontró fue por medio de la misma técnica utilizada en el presente trabajo así como por la técnica de hibridación *in situ* (Vissio *et al.*, 1999; Miranda *et al.*, 2002; Sciara *et al.*, 2006). En estos estudios se encontró también, que las células somatotropas en *Odontesthes bonariensis* además de estar en la PDP, era posible detectarlas en la PI, lo que no se observó en la hipófisis de *C. humboldtianum*. Para *Sparus aurata*, la determinación se realizó mediante una doble hibridación y se distinguió la reacción en un alto número de células de la PDP de la hipófisis, fundamentalmente, en su zona media-dorsal, las células inmunoreactivas a GH mostraban un arreglo a manera de collar alrededor de la PN (Villaplana *et al.*, 2003; Herreo-Turrión *et al.*, 2002). Caso similar se presentó en *Oreochromis niloticus*, en la cual se estableció que la zona de expresión de la GH está en la PDP y teniendo el mismo patrón de distribución (Kasper *et al.*, 2006).

En un estudio ontogénico de *Alosa sapidissima*, se encontró por medio de inmunohistoquímica, la presencia de células somatotropas desde el día 6 post eclosión, también se encontró que las células somatotropas se restringen a la parte dorsal y ventral de la PDP en la porción central de la hipófisis en todos los organismos adultos, y las células que se localizaron más dorsalmente estaban en contacto directo con el tejido neurohipofisiario que penetra en la PD. Además en la zona dorsal y en la ventral de la PDP se encontraron células GTH I y II, mientras en la zona posterior de la PDP se encontraron células TSH (Laiz-Carrion, 2000).

Se tienen reportes en la literatura científica sobre la coparticipación de la GH en la reproducción. Estudios pioneros de Trudeau *et al.*, (1993) demostraron que cuando existen altas concentraciones de estradiol circulante se presenta también un incremento en la concentración de GH sérico. Dichos hallazgos fueron corroborados por Zou *et al.*, (1997), sin embargo, en ese trabajo no se encontró una correlación directa entre el aumento de estradiol y la expresión del mensajero de la GH, aunque sí en la cantidad de péptido de la hormona, razón por la cual, se especuló sobre mecanismos alternos para ese hecho, mencionándose entre otros, la posibilidad de que de alguna manera se obtuvieran mRNAs de GH más estables.

Se ha postulado y reportado una relación directa entre las neurohormonas que participan en la regulación de la secreción de GH, además del Polipeptido Activador de la Adenilato Ciclasa de la pituitaria (PACAP) pues en algunas especies de teleósteos como en los ciprínidos, se han detectado terminaciones nerviosas que contienen a la GnRH en la región donde se localizan las células somatotropas, teniendo como ejemplo del caso a *Carassius auratus*, (Mahmoud *et al.*, 1996). En el pejerrey, *Odontesthes bonariensis*, se estudió esta relación y se encontró que existen fibras nerviosas inmunoreactivas a GnRH que se encuentran en oposición con células inmunoreactivas a GH que rodean la PN (Visio *et al.*, 1999). Se sabe que las concentraciones de GH en suero son mayores en peces que están en maduración sexual como en el caso del salmón del atlántico (Björnsson, 1994).

Interrelacionado todos estos hechos y las observaciones realizadas en este trabajo, donde, para *C. humboldtianum* localizamos una mayor inmunoreacción a GH en los meses donde se tiene el inicio de la fase reproductiva y en particular, en el mes de Abril, en el que se presentó una mayor cantidad de organismos sexualmente maduros, disminuyendo la inmunodetección sensiblemente en etapas de regresión sexual, es factible el plantear que al igual que en otras especies se tenga una estrecha correlación de una mayor cantidad de GH en el pez durante la temporada reproductiva con una participación de la hormona GnRH

en la estimulación de su síntesis y liberación, hecho que deberá de corroborarse con estudios posteriores en donde se registren las concentraciones de GH y estudios de correlación estructural a nivel de microscopía y de índole fisiológica.

Por otro lado, en peces adultos de *Seriola dumerilii*, por la técnica inmunohistoquímica, se reportó una distribución diferente en la cual, las células somatotropas están presentes en dos partes de la hipófisis PDP y PI. En la PDP, se encontraron rodeando el tejido neural. También encontraron unas pocas células aisladas en la PI, mientras que las células somatotropas eran el principal componente de la zona central de la PDP, en la periferia, las células inmunoteñidas eran menos numerosas, y casi desaparecieron en la región más caudal, sin embargo las células aisladas, que tenían extensiones citoplasmáticas que alcanzaban la NH y que alcanzaban la PI fueron las que se tiñeron más intensamente (García Hernández *et al.*, 1996).

Si bien, esta distribución también se ha reportado para *Cichlasoma dimerus*, en la cual, mediante doble inmunohistoquímica, se encontraron células inmunoreactivas a GH presentes en la PDP que rodean la NH, una novedad es que se localizaron axones con la hormona concentradora de melanina (MCH) en las proximidades a las células somatotropas. Además de esta evidencia física entre la MCH y las células somatotropas, la MCH estimulo la síntesis y liberación de la GH, agregando una nueva molécula reguladora de la secreción de la hormona de crecimiento, al menos, en este grupo de teleosteos (Pérez-Sirkin *et al.*, 2012). Estos hechos deberán de ser investigados en otras especies de esta clase de vertebrados a fin de constatar si es solo un hallazgo para la especie, para la familia de cíclidos o más general, para perciformes e incluso, el resto de los teleosteos.

## 8.- Conclusiones

- La distribución de las células somatotropas en la hipófisis de *C. humboldtianum* se estableció en la PDP y en particular la zona de la PDP que rodea la PN a manera de collar.
- No se encontraron células inmunoreactivas en el cerebro, éstas solo se restringen a la hipófisis.
- Los meses reproductivos fueron los que mostraron mayor número de células reactivas.

## **9.- Consideraciones a futuro**

- Se necesita ampliar el estudio a machos durante el mismo periodo de tiempo.

## 10.-Referencias

Alcaráz, R.V.M. & Gumá D.E. 2001. Texto de neurociencias cognitivas. UNAM. Pp. 442.

Almury, R., B. Cavari, H. Ferstman, O. Kolodny & B. Funkenstein. 2000. Genomic structure and sequence of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth hormone-encoding gene: Identification of minisatellite polymorphism in control I. *Genome* 43:836-845.

Aramburo, C., M. Carranza, H. Martínez & M. Luna. 1997. A comparative overview of growth hormone: Proteins and genes. In: Kawashima S. & S. Kikuyama (Eds.). *Advances in Comparative Endocrinology* Pp 893-898.

Argenton, F.S., Vianello, F.S. Bernardini, S., Jacquemin, P., Martial, J., Belayew, A., Colombo, L. & Bortolussi, M. 1993. The transcriptional regulation of the growth hormone gene is conserved in vertebrate evolution. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 192: 1360-1366.

Argenton, F., Bernardini, S., Puttin, S., Colombo, L. & Bortolussi, M. 1996. A TGACG motif mediates growth hormone factor 1/ pituitary-transcription-activator-1-dependent cAMP regulation of the rainbow trout growth hormone promoter. *European Journal of Biochemistry* 238:591-598.

Argenton, F., Vianello, S., Bernardini, S., Lopreiato, R., Colombo, L. & Bortolussi, M. 2002. Trout GH promoter analysis reveals a modular pattern of regulation consistent with the diversification of GH gene control and function in vertebrates. *Molecular and Cellular Endocrinology* 189: 11-23.

Barbour, C.D. 1973. A biogeographical history of *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae): A species flock from the Mexican Plateau. *Copeia* (3): 533-556.

Bernardini, S., Argenton, F., Vianello, S., Colombo, L. & Bortolussi, M. 1999. Regulatory regions in the promoter and third intron of the growth hormone gene in

rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* Walbaum. General and Comparative Endocrinology 116: 261-271.

Björnsson, B. Th. 1997. The biology of the salmon Growth hormone: from daylight to dominance. Fish Physiology and Biochemistry 17: 9-27.

Björnsson, B. Th., V. Johansson, S. Benedet, I.E. Einarsdottir, J. Hildahl, T. Agustsson & E. Jönsson. 2002. Growth hormone endocrinology of salmonids: regulatory mechanism and mode of action. Fish Physiology and Biochemistry 27: 227-242.

Björnsson, B.T., Taranger, G.L., Hansen, T., Stefansson, S.O., Haux, C.1994. The interrelation between photoperiod, growth-hormone, and sexual-maturation of adult atlantic salmon (*Salmo salar*). General and Comparative Endocrinology 93, 70–81.

Blancas, A.A.G., S.I.A. Barriga, T.M., Cartagena, R.C.M. Romero y F. J. L. Arredondo. 2008. Desarrollo ovárico y su relación con las concentraciones séricas de  $17\beta$ -estradiol y  $17\alpha$ -hidroxi-4-pregnen-3-ona en hembras de primera maduración de pez blanco, *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). Vet. Méx., 39 (1).

Bursawa-Gerard, E. & B. Delevallee-Fortier.1992.Growth hormone implication during experimental induction of vitellogenesis by 17-beta-estradiol in the female silver eel (*Anguilla Anguilla L.*). C.R. Acad. Sci. 314: 411-416.

Butler, A.A. & Le Roith, D. 2001. Control of growth by the somatotropic axis Growth Hormone and the insuline-like growth factors have related and independent roles. Annual Review of physiology; 63: 141-64.

Calduch-Giner, J.A., Sitja-Bobadilla A., Alvarez-Pellitero, P. & Pérez-Sánchez, J. 1997. Growth hormone as an in vitro phagocyte-activating factor in the gilthead sea bream (*Sparus aurata*).Cell and tissue research. 287: 535-540.

Canosa, L.F., J. P Chang & R.E. Peter. 2007. Neuroendocrine control of growth hormone in fish. General and Comparative Endocrinology 151: 1-26.

Caravaca-Rodríguez F.P. 2003. Bases de la producción animal. Serie de manuales universitarios. Universidad de Sevilla. Vol. 61.PP. 82.

Cárdenas, R., Lin, X., Canosa, L.F., Luna, M., Aramburo, C. & Peter, R.E. 2003.Estradiol reduce pituitary responsiveness to somatostatin (SRIF-14) and down-regulates the expresión of somatostatin sst2 receptors in female goldfish pituitary. *General and Comparative Endocrinology* 132: 119-124.

Cárdenas, R.R. 2012. La hormona del crecimiento en los teleósteos. Estructura, funciones y la regulación de su secreción. En: Investigación ictiológica en México. Temas selectos en honor al Dr. José Luis Castro Aguirre. FES-Iztacala UNAM.

Chang, J.P., Yu, K.L., Wong, A.O.L. & Peter, R.E. 1999. Differential actions of dopamine receptors subtypes on gonadotropin and growth hormone release in vitro in goldfish. *Neuroendocrinology* 51: 661-674.

Chen W. &Ge W. 2012.Ontogenic expression profiles of Gonadotropins and Growth hormone during sexual differentiation and puberty onset in female Zebrafish. *Biology of Reproduction* 86(3):73, 1-11.

CONABIO 2012 Zacapu en línea en:  
[Http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp\\_060.html](Http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rhp_060.html)

Elías, F.G., Navarrete S.N.A. y Rodríguez R.J.L. 2008. Alimentación de *Chirostoma humboldtianum* (valenciennes); (Pisces: atherinopsidae) en el estanque en soyaniquilpan, estado de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(2): 129-134.

Elson, C.O., Sartor, R.B., Tennyson, G.S.& Riddell, R.H.1995. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 109: 1344-1367.

Ezcurra E.1996. De las chinampas a la megápolis. El medio ambiente en la cuenca de México. Fondo de cultura económica. México D.F

Farchi-Pisanty, O., Sternberg, O.H. &Moav, B. 1997.Transcriptional regulation of fish growth hormone gene. *Fish Physiology and Biochemistry* 17:237-246.



García-Hernández MP, García A.A., Elbal M.T., Agulleiro B. 1996. The adenohipophysis of Mediterranean yellowtail, *Seriola dumerilii* (Risso, 1810): an immunocytochemical study. *TissueCell* 28:577–585

Herrero-Turrión M.J., Velasco A., Concepción M., Durán R., Rodríguez R., Aijón J. y Lara J. 2002. Localización de los ARNm de los tipo de somatolactina, de la hormona de crecimiento y de la prolactina en hipófisis de dorada *Sparus auratus* L., 1758. Instituto español de oceanografía. 18 (1-4) pp 229-238.

Herrington, J. & C. Carter-Su. 2001. Signal pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends in endocrinology and metabolism* 12: 252-257.

Kajimura, S., N. Kawauchi, T. Kaneko, I. Kawazoe, T. Hirano, N. Visitación, E.G. Grau & K. Aida. 2004. Identification of the growth hormone receptor in an advanced teleost, the tilapia, (*Oreochromis mossambicus*) With special references to its distinct expression pattern in the ovary. *Journal of endocrinology* 181: 65-76.

Kasper, S.R., Shved, N., Takahashi, A., Reinecke, M., Eppler, E. 2006. A systematic immunohistochemical survey of the distribution patterns of GH, prolactin, somatolactin,  $\beta$ -TSH,  $\beta$ -FSH,  $\beta$ -LH, ACTH, and  $\alpha$ -MSH in the adenohipophysis of *Oreochromis niloticus*, the Nile tilapia. *Cell Tissue Res* 325: 303–313.

Klausen, C., Chang, J.P. & Habibi, H.R. 2001. The effect of gonadotropin releasing hormone on growth hormone and gonadotropin subunit gene expression in the pituitary of goldfish. *Comparative Biochemistry and Fisiology* 129: 511-516

Laiz-Carrion, R., Segura-Noguera, M.M., Martín, R.M.P. & Mancera, J.M. 2003. Ontogeny of adenohipophyseal cells in the pituitary of the American shad (*Alosasapidissima*). *General and Comparative Endocrinology* 132:454-464.

Le Gac, F., M. Ollitrault, M. Loir & P.Y. Le Bail. 1992. Evidence for binding and action of growth hormone in trout testis. *Biology of Reproduction* 46: 949-957.

Lin, X.W., Janovick, J.A., Cárdenas, R., Conn, P.M. & Peter, R.E. 2000. Molecular cloning and expression of a type-two somatostatin receptor in goldfish brain and pituitary. *Molecular and Cellular Endocrinology* 166:75-87

Loir, M. 1999. Spermatogonia in rainbow trout: II. In vitro study of the influence of pituitary hormones, Growth factors and steroids on mitotic activity. *Molecular Reproduction & Development* 53: 434-442.

Mahmoud, s.s., Moloney, M.M. & Habibi, H. 1996. Cloning and sequencing of the goldfish growth hormone cDNA. *General and Comparative Endocrinology*. 101 139-144.

Marchant, T.A. & B.M. Moroz. 1993. Hormonal influence on in vitro S-sulfate uptake by gill arches from goldfish (*Carassius auratus*) L. *Fish Physiology and Biochemistry* 11: 393-399.

Martínez, P.C.A., Racotta, I.S., Ríos-Duran, M.G., Palacios, E., Toledo-Cuevas, M. & Ross, L.G. 2006. Advances in applied research for the cultura of Mexican silverside (*Chirostoma*, Atherinopsidae). *Biocell* 30: 137-148.

Martoja, R. 1970. Técnicas de histología animal. Ed. Toray-Mason. Barcelona España. pp 1-5, 7-9

Melamed, P., Gur, G., Elizur, A., Rosenfel, H, Sivan, B., Rentier-DelRue, F. & Yaron, Z. 1996. Differential effects of gonadotropin-releasin hormone, dopamine and somatostatin and their second messenger on the mRNA levels of gonadotropin II $\beta$  subunit and growth hormone in teleost fish, tilapia. *Neuroendocrinology* 64: 320-328.

Miranda, A.L., Strobl-Mazzulla, P.H. & Somoza, G.M. 2002. Ontogenic development and neuroanatomical localization of growth hormone-releasing hormone (GHRH) in the brain and pituitary gland of pejerrey fish *Odontesthes bonariensis*. *International journal of developmental neuroscience* 20: 503-510.

Moncayo, M. E., L. Flores R. Y A. Téllez P. 1983. Contribución al conocimiento de la biología del charal *Chirostoma humboldtianum* en el embalse Cointzio, Mich. Méx. Resúmenes de IV congreso nacional de ictiología. Morelia. Mich.

Mosconi, G., O. Carnevali, H.R. Habibi, R. Sanayal, A.M. Polzoneti-Mangi. 2002 Hormonal mechanisms regulating hepatic vitellogenin synthesis in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. American Journal Physiology and cell Physiology 283: 673-678.

Norris, O.D.1980 a. Vertebrate endocrinology. Cap 4.- Organization of the MamalianHipotalamo-Hipophysial axis. Academic Press. California. Pp 106-119.

Norris, O.D.1980 b. Vertebrate endocrinology. Cap 5.- Comparative aspects of the Hipotalamo-Hipophysial system in non-mammalian vertebrates. Academic Press. California. Pp 167-178.

Paulo-Maya, J.G., Figueroa, L. & Soria-Barreto, M. 2000. Peces dulceacuícolas mexicanos XIX *Chirostoma humboldtianum* (Atheriniformes: Atherinopsidae). ENCB-IPN, Zoología informa 43: 59-74.

Pelekanos, A.R. & Waters J.M. 2006. Activation of the growth hormone receptor.Expert. Rev. Endocrino. Metab. (1) 2: 189-198.

Pérez Sirkin, D.I., Cánepa, M.M., Fossati, M., Fernandino, J.I., Delgadin, T., Canosa, L.F., Somoza, G.M. & Vissio, P.G. 2012. Melanin concentrating hormone (MCH) is involved in the regulation of growth hormone in *Cichlasoma dimerus* (Cichlidae, Teleostei). General and Comparative Endocrinology 176 102–111.

Rojas, C. P. M., L. G. Mares B., J. J. Morles, P., S. Sabanero, M., N. Hernández, Z., G. León M. & F. León J. 2000. Desarrollo y crecimiento de larvas de pescado blanco *Chirostoma estor* Jordan, Informe Final de investigación, Proyecto CONACYT-Instituto Nacional de la Pesca, No. Ref. 1185P-B9507.

Rojas, C. P.M. 2005.El pescado blanco. Revista digital universitaria. Volumen 6 Número 8 • ISSN: 1067-6079

Rojas, C.M.P. 2006. Reproductive aspects of “Charal prieto” *Chirostoma attenuatum* (meek, 1902) of lake Patzcuaro, Michoacán. New topics on Atherinopsids of Mexico. *Hidrobiológica* 16.1: 1-9.

Rosas, M, 1976. Peces dulceacuícolas que se explotan en México y datos sobre su cultivo. Ediciones Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, San Jerónimo-Lidice. México. 51515241358413646

Ross, M.H. & P. Wojciech. 2011. Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. Cap 21 Endocrine organs.—6th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Pp 742-745.

Rossenfeld R.G., Belgorosky, A., Camacho-Hubner, C., Savage, M.O., Wit, J.M. & Hwa V. 2007. Defects in growth hormone receptor signaling. *Trends in endocrinology and metabolism* 18.4: 134-141.

Shing, H., Griffith, R.W., Takahasi, A. Kawauchi, H. Thomas, P. & Stegaman, J.J. 1988. Regulation of steroidogenesis in *Fundulus heteroclitus* by recombinant salmon growth hormone and purified salmon prolactin. *General and Comparative Endocrinology*. 72:144-153.

Sciara, A.A., Rubiolo J.A., Somoza G.M. & Arranz S.E. Molecular cloning, expression and immunological characterization of pejerrey (*Odontesthes bonarensis*) growth hormone.. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 142 (2006) 284–292.

Stefanini, M., C. De Martino, L. Zamboni. 1967. Buffer formaldehyde with picarte. 29-30. In *Histological and Histochemical methods*. Ed. By Kiernan, J. A. Pergamon press. New York.

Sternberg, H. & Moav, B. 1999. Regulation of the growth hormone gene by fish thyroid/retinol receptors. *Fish Physiology and Biochemistry* 20: 331-339.

Taylor y Burns, 1974. Localization of immunoglobulins in paraffin sections of formaldehyde fixed tissues. In Techniques in clinical immunology. Ed. By Thompson R.A. Blackwell Scientific publication Oxford. 1981.

Trudeau, V.L., Somoza, G.M. Nahorniak, C.S. & Peter R.E. 1992. Interactions of estradiol with gonadotropins-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone in the control of growth hormone secretion in the goldfish. *Neuroendocrinology* 56: 483-490.

Van der Kraak, G., P.M. Rosenblum & R.E. Peter. 1990 Growth hormone-dependent potentiation of gonadotropin-stimulated steroid-production by ovarian follicles of the goldfish. *General and Comparative Endocrinology* 79: 233-239.

Venkatesh B. & Brenner, S. 1997. Genomic structure and sequence of the Pufferfish (*Fugurubrepis*) growth hormone-encoding gene: a comparative analysis of teleost growth hormone genes. *Gene* 187: 211-215.

Villaplana, M., García, A.A., García, H. M.P. y Agulleiro, B. 2003. Immunocytochemical and ultrastructural characterization of mammosomatotrope-, Growth Hormone-, and Prolactine-Cells from the Gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., Teleostei): And Ontogenic Study. *Journal of morphology* 255:347–357 (2003).

Vissio, P.G., A.V. Stefano, G.M. Somoza, M.C. Maggese & D.A. Paz. 1999. Close association of gonadotropin-releasing hormone fibers and prolactin expressing cells in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *Fish Physiology and Biochemistry* 21: 121-127.

Waters, M.J., C.A. Shang, S.N. Behncken, S.P. Tam, H. Li, B. Shen & P.E. Lobie. 1999. Growth hormone as cytokine. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 26:760-764.

Wong, A.O.L., Van der Kraak & Chang, J.P. 1994. Cyclic 3',5'- adenosine monophosphate mediates dopamine D1-stimulate growth hormone release from goldfish pituitary cells. *Neuroendocrinology* 60: 410-417.

Wong A.O.L., Le Drean, Y., Lui, D., Hu, Z.Z., Du, S.J. & Hew, C.L. 1996. Induction of chinook salmon growth hormone promoter activity by the adenosine 3', 5'-monophosphate (cAMP)-dependent pathway involves two Camp-response elements with the CGTAmotif and the pituitary-specific transcription factor Pit-1. *Endocrinology* 137: 1775-1784.

Wong, A.O.L., H. Zhou, Y. Jiang & K.W. Ko. 2006. Feedback regulation of growth hormone synthesis and secretion in fish and the emergent concept of intrapituitary feedback loop. *Comparative Biochemistry and Physiology* 144: 284-305.

Yada, T., Azuma, T. & Takagi, Y. 2001. Stimulation of non-specific immune functions in seawater-acclimated rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, with reference to the role of growth hormone. *Comparative Biochemistry and Physiology* 129: 695-701.

Yada, T. & Azuma, T. 2002. Hypophysectomy depresses immune functions in rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 131: 93-100.

Yada T., Kaiya, H., Mutoh, K, Azuma, t., Hyodo, S. & Kangawa, K. 2006. Ghrelin stimulates phagocytosis and superoxide production in fish leukocytes. *Journal of Endocrinology* 189: 57-65.

Zang, Y. & Marchant, T.A. 1999. Identification of serum GH-binding proteins in the goldfish (*Carassius auratus*) and comparison with mammalian GH-binding proteins. *Journal of endocrinology*. 161:255-262.

Zou, J.J., Trudeau, V.L., Cui, Z., Brechin, J., Mackenzie, K., Zhu, Z., Houlihan, D.F. & Peter, R.E. 1996. Estradiol stimulates growth hormone production in female goldfish. *General and Comparative Endocrinology* 106: 102-112.