

116
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ONTOGENIA Y ESTRUCTURA DE LA GLANDULA
HIPOFISIS DE Ambystoma tigrinum A LO LARGO
DE UN CICLO ANUAL.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A :
CAROLINA MILLER PEREZ



MEXICO, D. F.



FACULTAD DE CIENCIAS
REGION ESCOLAR

NOVIEMBRE DE 1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. VIRGINIA ABRIN BATULE

Jefe de la División de Estudios Profesionales

Facultad de Ciencias

Presente

Los abajo firmantes, comunicamos a Usted, que habiendo revisado el trabajo de Tesis que realiz(ó)ron la pasante(s) CAROLINA MILLER PEREZ.

con número de cuenta 8425414-6 con el Título:

ONTOGENIA Y ESTRUCTURA DE LA GLANDULA HIPOFISIS DE *Ambystoma tigrinum*.

A LO LARGO DE UN CICLO ANUAL.

Otorgamos nuestro **Voto Aprobatorio** y consideramos que a la brevedad deberá presentar su Examen Profesional para obtener el título de BIOLOGA.

GRADO	NOMBRE(S)	APELLIDOS COMPLETOS	FIRMA
M. EN C. Director de Tesis	PATRICIA	RIVAS MANZANO.	<i>Patricia Rivas</i>
BIOL.	LETICIA	PARBA GAMEZ.	<i>Leticia Parba</i>
BIOL.	ROSARIO	ORTIZ HERNANDEZ.	<i>Rosario Ortiz</i>
DRA Suplente	MARICELA	VILLACRAN SANTA CRUZ.	<i>Maricela Villacran</i>
BIOL. Suplente	ROSA MARIA	VIGUERAS VILLASENOR	<i>Rosa Maria</i>

A MIS PADRES, HERMANOS Y FAMILIARES.

INDICE

RESUMEN

I. INTRODUCCION

A. GLANDULAS ENDOCRINAS.....	1
B. EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-GONADA.....	4
C. EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-TIROIDES.....	6
D. GLANDULA PITUITARIA O HIPOFISIS	
D.1. LOCALIZACION.....	8
D.2. ORIGEN EMBRIONARIO.....	10
D.3. ESTRUCTURA Y FUNCION.....	10
D.3.1. NEUROHIPOFISIS.....	11
D.3.2. ADENOHIPOFISIS	
a) PARS DISTALIS.....	14
b) PARS INTERMEDIA.....	18
c) PARS TUBERALIS.....	19
D.4. SISTEMA PORTAL-HIPOTALAMO-HIPOFISIARIO.....	20
D.5. REGULACION DE LA ADENOHIPOFISIS.....	21
E. GENERALIDADES DE <i>Ambystoma tigrinum</i>	21
F. METAMORFOSIS EN URODELOS.....	23
F.1. PRINCIPALES CAMBIOS MORFOFISIOLOGICOS EN URODELOS DURANTE LA METAMORFOSIS.....	25
G. NEOTENIA EN <i>AMBYSTOMA</i>	26

II. OBJETIVOS.....	29
III. HIPOFISIS.....	29
IV. MATERIAL Y METODO.....	30
V. RESULTADOS	
RESULTADOS HISTOLOGICOS DE LA GLANDULA HIPOFISIS.....	33
RESULTADOS MORFOMETRICOS DE LOS ORGANISMOS.....	35
RESULTADOS MORFOMETRICOS DE LA GLANDULA HIPOFISIS.....	36
VI. DISCUSION.....	37
VII. CONCLUSIONES.....	41
LAMINAS	
CUADROS Y GRAFICAS	
BIBLIOGRAFIA.....	42

RESUMEN

Las evidencias morfológicas y fisiológicas indican que en anfibios la función gonadal y tiroidea es dependiente en gran parte de la actividad secretora de las células gonadotropas y tirotropas de la *pars* distalis de la adenohipófisis, y siendo Ambystome tigrinum un anfibio que presenta neotenia facultativa nos pareció interesante estudiar morfológica y morfométricamente las células gonadotropas y tirotropas de la glándula hipófisis y correlacionarlas con el tamaño de las gónadas y de la glándula tiroides respectivamente; tomando en cuenta las etapas de desarrollo de los organismos y las estaciones del año.

Se colectaron 25 organismos de cada estación del año en la Laguna de Totolzingo Tlaxcala, los cuales se clasificaron según su estadio de desarrollo (en larvas tempranas, larvas tardías, adultos neoténicos y salamandras) mediante datos merísticos externos, el Índice de Condición Física (ICF) y las características histológicas de las gónadas. Para obtener salamandras a lo largo de todo el año se indujo la metamorfosis en el laboratorio.

Se aplicaron las técnicas de Hematoxilina-Eosina, PAS y PAS-ORANGE-G-Azul de Metilo, para describir histológicamente la glándula hipófisis y analizar morfológica y morfométricamente las características de las células gonadotropas y tirotropas, estos resultados se correlacionaron con el tamaño de las gónadas y de la glándula tiroides. Para el análisis estadístico se utilizaron las pruebas de ANOVA de dos vías y Tuckey.

Los resultados morfológicos y morfométricos obtenidos muestran que en los adultos neoténicos las células tirotropas y gonadotropas tuvieron un mayor desarrollo en las estaciones de otoño e invierno, encontrándose también en estas estaciones y en estos organismos la mayor talla corporal y el mayor desarrollo gonadal.

No se encontraron diferencias significativas en el número de células gonadotropas y tirotropas entre los diferentes estadios y entre las diferentes estaciones del año. Las células tirotropas presentaron en organismos neoténicos una mayor actividad en las estaciones de otoño e invierno, esto puede estar asociado con el gran desarrollo corporal de estos organismos y en su preparación para la metamorfosis. El mayor desarrollo de las células gonadotropas coincidió con el mayor desarrollo gonadal, en los adultos neoténicos de otoño e invierno, sugiriendo en general los resultados que existe una relación directa entre la actividad gonadotrópica y gonadal.

I. INTRODUCCION

A. GLANDULAS ENDOCRINAS

La célula nerviosa fué la gran solución evolutiva al problema de la rápida comunicación intercelular, su filogenia fue fundamental para el desarrollo de la vida activa. La necesidad de hacer ajustes a largo plazo pronto adquirió una gran importancia para garantizar el éxito biológico al sacar provecho de las estaciones favorables para la reproducción, desarrollo y crecimiento y poseer la capacidad de ajustarse adaptativamente a los cambios estacionales de humedad y temperatura. En un primer paso la regulación cíclica estacional de los procesos fisiológicos dependió de las secreciones nerviosas (neurosecreciones) que persistían por mas tiempo que los neurotransmisores y actuaban sobre regiones mas amplias. Solo en invertebrados superiores y en vertebrados aparecieron glándulas endócrinas; las pruebas indican que las primeras hormonas fueron neurosecreciones y que estas regularon procesos fuertemente influenciados por los cambios estacionales: migración, reproducción, metamorfosis y restauración tisular (Hoar, 1978).

Las hormonas son sustancias químicas que se elaboran en áreas restringidas del organismo y se difunden o son transportadas a distancias variables para ajustar el metabolismo, controlar efectores distantes o regular la morfogénesis. Actualmente se sabe que además de los órganos endocrinos típicos, muchos otros órganos, células y tejidos muy vascularizados no solo realizan sus actividades funcionales propias sino que también producen mensajeros químicos (hormonas) (Hoar, 1978).

Casi un siglo de investigación ha venido a demostrar que a todos los niveles de la filogenia, las hormonas animales están implicadas en una gran cantidad de procesos reguladores tanto metabólicos como metamórficos. Estudios a nivel celular y bioquímico han indicado que la mayoría de estos procesos se

controlan solamente en dos o tres centros moleculares con los siguientes efectos generales: 1) regular la entrada a la célula de materiales esenciales, 2) modificar los sistemas enzimáticos intracelulares y 3) afectar la síntesis de RNAm (Hoar, 1978).

La regulación hormonal que depende de una cadena de varias secreciones diferentes, necesita de un sistema apropiado de controles internos. Tenemos por ejemplo que el sistema de control endocrino mejor conocido es el de las hormonas hipofisarias de los vertebrados, el cual está representado por tres esquemas diferentes representativos de los sistemas neuroendocrinos de comunicación animal: 1). El control más directo se realiza por estímulos periféricos los cuales actúan sobre las células endocrinas. Las hormonas de la neurohipófisis pertenecen a este grupo. La oxitocina, la vasotocina y la vasopresina se sintetizan en las células neurosecretoras hipotálamicas y son liberadas por las terminales de estas a un órgano neurohemático (la neurohipófisis), en respuesta a niveles cambiantes de electrolitos, temperatura, estímulos táctiles (lactación, coito) y otros estímulos periféricos. 2). El control es menos directo en los casos en que existen estaciones y la actividad secretora de sus células se regula directamente sobre los procesos blanco tales como el crecimiento, la actividad de los melanosomas y los efectos proláctínicos. 3). O bien mediante eslabones hormonales adicionales situados entre la hipófisis y los procesos blancos; así la tiroides, la corteza adrenal y las gónadas son el final de una cadena de tres eslabones, en la que los eslabones anteriores son los centros neurosecretores del hipotálamo y de la hipófisis anterior. Cuando la cadena tiene tres eslabones el final proporciona una información retroactiva al hipotálamo; de este modo niveles crecientes de hormonas tiroideas inhiben la producción de un factor liberador del hipotálamo que a su vez controla la secreción de la hormona estimulante de la tiroides TSH. También se produce una regulación comparable en la producción de las hormonas adrenocorticales y gonadales. En los vertebrados las gonadas también alcanzan un estado glandular y segregan sustancias que actúan directamente sobre los efectores; las interrelaciones entre disparador, centro neurosecretor, glándulas

endocrinas intermediarias y efectores pueden ser complejas y deben estar muy equilibradas mediante una retroinformación, así mientras las gonadotropinas pituitarias estimulan los tejidos gonadales, los esteroides de las gónadas sirven, a través de un mecanismo de retroalimentación, para controlar la actividad de las células gonadotrópicas de la hipófisis (Hoar, 1978).

Es importante considerar que el eje Neuro-Endocrino-Gonadal tiene periodos críticos en relación a la ontogenia. Se sabe que la mayoría de los órganos (gonádas, glándulas, etc.) pueden ser afectados de manera profunda solamente durante el periodo de mayor diferenciación celular, limitándose por lo tanto a los periodos críticos del desarrollo embrionario, larval o neonatal y que las acciones de diferentes sustancias, por ejemplo hormonas, en estos periodos actúan como organizadores y determinan la forma fundamental y definitiva de algunos órganos (ovario o testículo). Por otro lado, las hormonas tienen también efectos activacionales, no permanentes (terminan con el descenso en los niveles hormonales), y no están limitados a un periodo crítico, pero sí causan cambios cuantitativos en órganos y sistemas que han sido organizados previamente y ocurren típicamente después de la pubertad o madurez sexual y que en la mayoría de los organismos tienen una ciclicidad estacional (Norris y Jones, 1987).

Considerando su función activa de síntesis, las células endócrinas secretoras están generalmente caracterizadas por poseer un núcleo prominente y un citoplasma con organelos bien desarrollados, principalmente mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato de Golgi y vesículas secretoras (Guyton, 1972; Hilderbrand, 1982; Wheeler, 1987).

La organización histológica de las glándulas endocrinas es simple. En general son órganos encapsulados, muy vascularizados y poseen células de diversas configuraciones que pueden estar aisladas, o arreglarse en cordones o folículos. Cualquiera que sea su arreglo, estas células están íntimamente relacionadas con un riego sanguíneo extenso (capilares o sinusoides) en el que vierten sus productos de secreción (Banks, 1986).

Las secreciones a las que se dá el nombre de hormonas, son productos químicos capaces de realizar modificaciones en otras partes del organismo, a las estructuras donde actúan se les denomina órgano o tejido blanco (Guyton, 1972; Weichert, 1975; Banks, 1986).

B. EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-GONADA.

Las neurosecreciones hipotalámicas que son transportadas a la glándula hipófisis a través de la eminencia media y de los vasos portales controlan las funciones de la adenohipófisis (Lofts, 1974).

La función gonadal en vertebrados está controlada por las hormonas gonadotropinas secretadas por la *pars distalis* de la hipófisis, en el caso del macho la FSH estimula en los testículos la espermatogénesis, mientras que la LH regula la síntesis de andrógenos. La secreción de gonadotropinas es regulada por factores liberadores (GnRH) de los núcleos del hipotálamo, los cuales pueden responder a factores externos (Esquema 1) (Fox, 1983; Moore y Miller, 1984).

En los últimos años se ha producido una gran cantidad de información sobre la fisiología del factor liberador de las gonadotropinas en anfibios. Actualmente se sabe que en algunos de ellos existen dos gonadotropinas semejantes a la foliculo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) de mamíferos, mientras que en otros existe solo una, cuya homología con la FSH y LH es todavía incierta. La síntesis y secreción de estas gonadotropinas hipofisarias son reguladas por un factor liberador de gonadotropinas (GnRH) del encéfalo parecido al de los mamíferos, su liberación es por terminaciones nerviosas hacia la circulación portal en la eminencia media como en otros tetrápodos. Los estudios en anuros y urodolos muestran la existencia e importancia de dos diferentes áreas del encéfalo implicadas en la regulación de la producción de gonadotropinas hipofisarias: una incluida en la eminencia media y adyacente al núcleo infundibular ventral (NIV) en la base del hipotálamo anterior (detrás del quiasma óptico) y una segunda, incluida en el área preóptica (POA) y quizás alguna otra

región del telencéfalo anterior (Norris et al 1973; Hoar, 1978; Ball, 1981; Peter y Nistal, 1983).

Estudios histométricos en donde se utilizaron gonadotropinas de anfibios altamente purificadas mostraron que mientras la FSH estimula la espermatogénesis, la LH estimula selectivamente la producción de andrógenos en ranas y en los anfibios urodelos *Necturus maculosus*, *Ambystoma tigrinum* y *Bolitoglossa sp.*, (Muller, 1976; Muller y Licht, 1980).

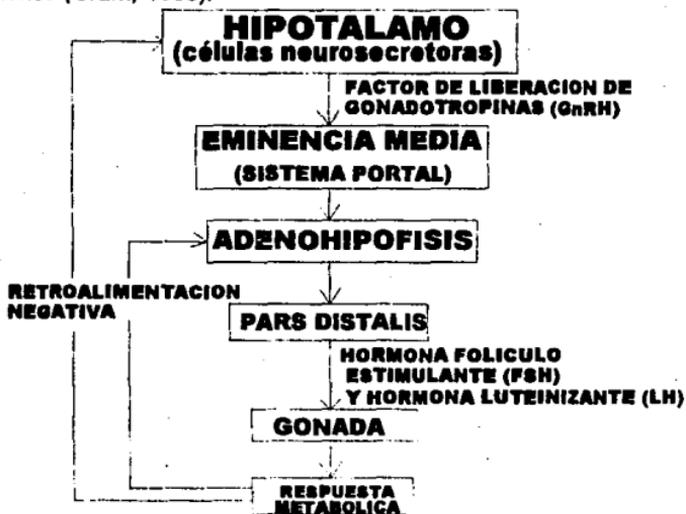
Respecto a la función testicular se ha observado en *N. maculosus*, que los niveles de estrógenos y testosterona plasmáticos se elevan significativamente dentro de las 24 horas posteriores a la inyección de gonadotropinas, asimismo aumenta la cantidad de aromatasa de las células de Leydig (Callard, et al. 1978, 1980).

En todos los vertebrados la retroalimentación negativa de los andrógenos sexuales inhiben la producción de gonadotropinas. En anfibios también hay evidencias de una relación de retroalimentación entre la secreción de andrógenos y la secreción de gonadotropinas. Numerosos estudios citológicos describen la hipertrofia y degranulación de los gonadótropos hipofisarios después de la castración y su recuperación por la administración exógena de andrógenos. En el urodelo *Ambystoma tigrinum*, los andrógenos (testosterona y la 5- α -dihidrotestosterona), se encuentran en niveles altos en el plasma al término de la espermatogénesis. En el caso de las hembras la FSH prepara el crecimiento ovárico y la actividad ovulatoria, la LH induce la ovulación; la regulación de estas gonadotropinas es igualmente controlada por neurosecreciones hipotálamicas (O'Connor, 1969; Muller y Licht, 1980; Wilson et al, 1984; Duellman, 1985; Armstrong y Malacinski, 1989).

Se ha observado que con tratamientos de 17- β -estradiol, se inhibe la secreción de gonadotropinas en anfibios. En el sapo vivíparo *N. occidentalis*, la hipofisectomía en la gestación temprana provoca regresión prematura del cuerpo luteo y atresia de oocitos jóvenes. Esto sugiere un papel del útero preñado o del embrión sobre la actividad lutea, presumiblemente debido a su acción sobre los

niveles hipotalámico e hipofisiario (Hoar, 1978; Armstrong y Malacinski, 1989).

En relación al papel de la hormona hipofisiaria prolactina (LTH) sobre la reproducción de peces, anfibios y reptiles, parece confirmado que esta no tiene mayor influencia sobre la actividad sexual. Sin embargo algunos datos sugieren la participación de la LTH sobre el comportamiento sexual de algunas salamandras y tritones (Grant, 1966).



ESQUEMA 1. EL péptido hipotálamico GnRH, controla la síntesis y secreción de las gonadotropinas FSH y LH producidas por los gonadotropos de la *pars distalis*, estas hormonas actúan en la gónada provocando una respuesta metabólica en la producción de andrógenos o estrógenos (Malacara, 1978).

C. EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-TIROIDES

La regulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides está bien entendida en mamíferos y parece ser muy semejante en los demás vertebrados, aunque difiere en detalles. Se ha demostrado que la tirotrópina (TSH), triyodotironina (T3) y la tiroxina (T4), tienen efecto en la inducción de la metamorfosis en muchas especies

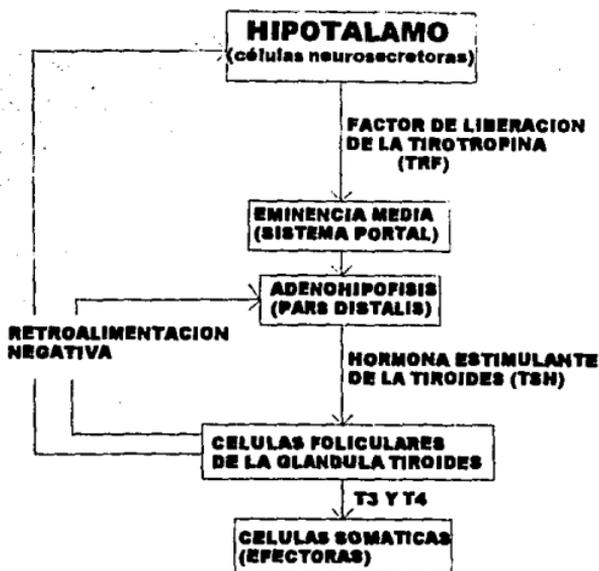
de anuros y urodelos; tratamientos con estas hormonas tiroideas estimulan cambios bioquímicos y morfológicos asociados con la metamorfosis (Ducibella; 1974; Norris, 1985; Norris et al, 1985; Jacobs y Kuhn, 1988; Galton, 1991).

Durante el desarrollo larval de anfibios la eminencia media no se encuentra bien desarrollada, en esta etapa la secreción de prolactina es alta, influyendo principalmente en el aumento de peso del organismo, en tanto que la secreción de TSH es baja. Durante la metamorfosis la TSH aumenta activando a la glándula tiroidea y esta empieza a producir las hormonas T3 y T4 aumentando los niveles de estas en el plasma, este incremento refleja el desarrollo gradual de la eminencia media, la cual aumenta de tamaño, incrementando también el número de fibras nerviosas de esta región, estableciéndose al mismo tiempo el sistema portal vascular (Barrington, 1977; Norris y Duvall, 1981; Norris y et al 1981; Duellman, 1985; Armstrong y Malacinski, 1989).

El incremento de la TSH promueve la producción del factor liberador de la tirotrópina (TRF) en los núcleos preópticos magnocelulares del hipotálamo, las neuronas relacionadas con la TRF forman terminales en la eminencia media regulando así a la TSH durante la metamorfosis (Esquema 2) (Lofts, 1974; Fox 1983; Armstrong y Malacinski, 1989).

Se ha reportado para Bufo bufo, Bufo viridis y Ambystoma tigrinum, cambios estacionales en la histología de la tiroidea y los niveles plasmáticos de T3 y T4 (Barrington, 1977).

En Ambystoma tigrinum, un mínimo de niveles plasmáticos de T4 está correlacionado con un pico en el índice Gonado-somático (GSI) en machos y hembras encontrándose también altas concentraciones en los niveles de esteroides gonadales, lo que indica una posible correlación inversa entre la secreción de TSH y los niveles sexuales de esteroides. Además la glándula tiroidea es menos sensible a la TSH exógena en septiembre, cuando las gónadas presentan su tamaño máximo y presumiblemente los niveles de esteroides sexuales son también altos (Norris y Platt, 1973; Norris et al, 1977; Norman, 1985; Norman y Norris, 1987).

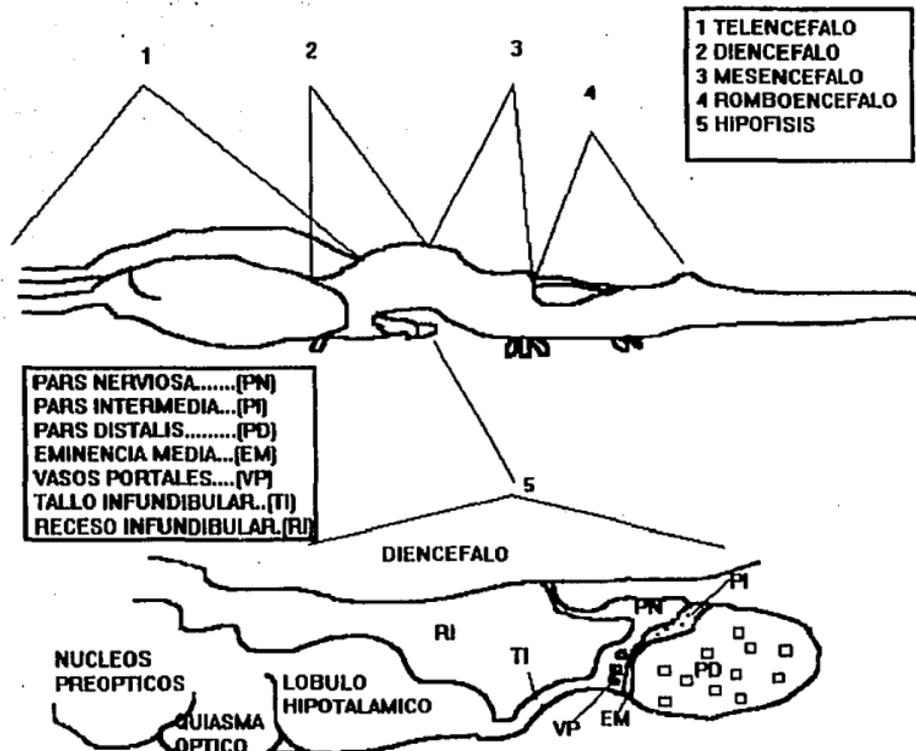


ESQUEMA 2. El péptido hipotálamico TRF, controla la síntesis y secreción de TSH, glucoproteína con actividad hormonal producida por los tirotrópos de la *pars distalis* de la adenohipófisis, esta hormona controla la producción y liberación de las hormonas (tiroxina T4 y triyodotironina T3) de las células foliculares de la glándula tiroides teniendo como principal respuesta metabólica la metamorfosis (Norris y Jones, 1987; Cano et al, 1993).

D. GLANDULA PITUITARIA O HIPOFISIS

D.1. LOCALIZACION

La glándula hipófisis o pituitaria, se localiza en la base del encéfalo, a nivel del diencefalo y se conecta con este por medio del tallo infundibular a nivel del infundíbulo cerebral; el cual contiene axones de las células nerviosas que se encuentran en el hipotálamo (Esquema 3).



ESQUEMA 3. La glándula hipófisis se localiza a nivel del diencéfalo, conectándose a este por medio del tallo infundibular (Fox, 1983; Cano y Asai, 1993).

La hipófisis se encuentra colocada dentro de una depresión de la cara superior del hueso esfenoides denominada silla turca (basiesfenoides) y esta cubierta por el diafragma sellae el cual presenta una abertura por la que pasa el tallo infundibular; una porción de la pía-aracnoides pasa a través de éste orificio y ocupa el espacio entre el diafragma y la cápsula de tejido conjuntivo, que está separada del perostio del hueso esfenoides por una capa laxa de tejido conjuntivo muy vascularizada, esta capa parece ser distinta a la pía-aracnoides (Leake, 1975; Weichert, 1975; Fawcett, 1989).

D.2. ORIGEN EMBRIONARIO

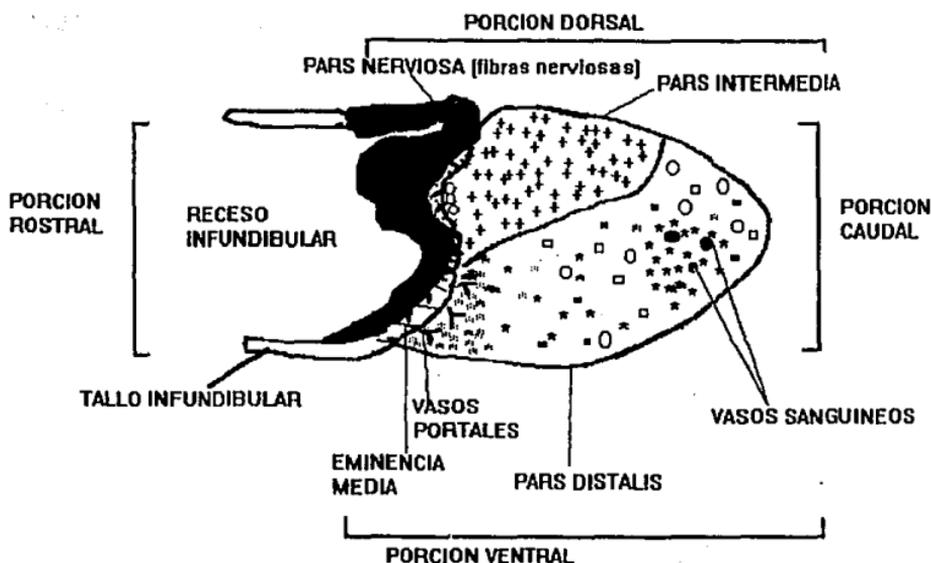
La glándula hipófisis tiene un origen dual, la porción adulta llamada neurohipófisis se forma a partir del piso del diencéfalo (neuroectodermo) embrionario conocido como infundíbulo. Esta estructura puede invaginarse en la mayoría de los tetrápodos o permanecer sin doblarse como en anfibios (Pirlot, 1976; Hildebrand, 1982; Banks, 1986).

Del epitelio ectodérmico de la boca primitiva o estomodeo surge una evaginación dorsal denominada adenohipófisis o bolsa de Rathke, que por lo regular se constriñe separándose del estomodeo y se convierte en una vesícula cerrada en contacto con la neurohipófisis. La bolsa de Rathke se desarrolla rápidamente en lóbulo oral que origina a la región denominada *pars* distalis, y lóbulo aboral que entra en contacto con la neurohipófisis en desarrollo, lo cual favorece la diferenciación de la región llamada *pars* intermedia, éstos dos lóbulos están separados por una constricción que forma un par de lóbulos laterales que originan a la *pars* tuberalis (Andrew y Hickman, 1974; Weichert, 1975).

El tallo infundibular es un crecimiento externo de la eminencia media que es el límite ventral del tercer ventrículo el cual continuándose dentro del tallo forma el receso infundibular. Se puede distinguir generalmente a la *pars* distalis de la *pars* intermedia y nerviosa por una cavidad, resto de la luz inicial de la Bolsa de Rathke, la cual es denominada hendidura hipofisaria (Barrington, 1977).

D.3. ESTRUCTURA Y FUNCION

La glándula hipófisis está compuesta por dos regiones que son: 1) la neurohipófisis constituida por la parte nerviosa o lóbulo posterior, el tallo infundibular y la eminencia media y 2) la adenohipófisis que consta de tres partes, la *pars* distalis o lóbulo anterior, la *pars* intermedia y la *pars* tuberalis, ésta última es variable en cada especie y su función es desconocida (Esquema 4) (Alvarez del Villar, 1979; Welsch, 1980; Hildebrand, 1982; Genesser, 1988).



NEUROHIPOFISIS	PARS NERVIOSA	
	EMINENCIA MEDIA	
	TALLO INFUNDIBULAR	
ADENOHIPOFISIS	PARS INTERMEDIA	MELANOTROPOS
	PARS DISTALIS	<ul style="list-style-type: none"> ○ CORTICOTROPOS * TIROTROPOS * GONADOTROPOS □ LACTOTROPOS ■ SOMATOTROPOS

ESQUEMA 4. La glándula hipófisis de anfibios está constituida por dos regiones principales, la neurohipófisis (formada por la *pars nerviosa*, la *eminencia media* y el *tallo infundibular*) y la adenohipófisis (constituida por la *pars intermedia*, la *pars distalis* y la *pars tuberalis*) (Cardell, 1970; Norris, 1985).

D.3.1. NEUROHIPOFISIS

En *Ambystoma tigrinum* la neurohipófisis es una delgada lámina epitelial plegada la cual forma la pared dorsal del infundíbulo. Desde el núcleo del hipotálamo, los tractos de fibra se extienden hasta la neurohipófisis llevando sus

secreciones (Andrew y Hickman, 1974; Dellman et al; 1974; Paniagua y Nistal, 1983).

De manera semejante a los mamíferos, en los anfibios la neurohipófisis está formada por la eminencia media del *tuber cinereum*, el tallo infundibular y la *pars nerviosa*. las tres porciones contienen las mismas células características, la misma inervación y riego sanguíneo y tienen el mismo principio hormonal activo (Hoar, 1978).

La *pars nerviosa* permanece unida al cerebro mediante el tallo infundibular, que contiene axones amielínicos de las células nerviosas. Por la neurohipófisis pasan cerca de 100.000 fibras nerviosas amielínicas, que integran el haz hipotálamo-hipofisiario, sus cuerpos celulares se encuentran en los núcleos supraópticos y paraventricular del hipotálamo y sus secreciones se transportan a lo largo de los axones y se acumulan en las fibras nerviosas como cuerpos de Herring, en la *pars nerviosa* de la hipófisis. Algunos autores consideran a los cuerpos de Herring como lisosomas secundarios que degradan el producto de secreción, frenando así la producción hormonal. Los axones amielínicos de la neurohipófisis transportan, almacenan y liberan a la circulación sanguínea la secreción producida en las células secretoras del hipotálamo. Las porciones terminales de estos axones son dilatadas y se encuentran junto a los capilares sanguíneos fenestrados. Entre las fibras nerviosas hay muchos pituicitos y elementos neurogliales diversos (Ham, 1975; Weichert, 1975; Malacara, 1978; Junqueira y Carneiro, 1981; Lesson y Lesson, 1981; Paniagua y Nistal, 1983; Banks, 1986; West, 1986).

Los pituicitos son derivados de células endodermales o gliales. Su función no es bien conocida, puede estar relacionada con la secreción y almacenamiento de algunos tipos de neurohormonas de la neurohipófisis (Norris et al, 1985; Wheeler, 1987).

Sin embargo, se cree que actúan principalmente como estructuras de sostén para gran número de fibras nerviosas terminales y terminaciones nerviosas de haces nerviosos que nacen en los núcleos supraóptico y paraventricular del

hipotálamo (Guyton, 1972).

A los pituicitos se les ha clasificado de acuerdo a su morfología y características de su estructura citoplasmática en cuatro tipos: 1) Los pituicitos ovales, que contienen gránulos intracitoplasmáticos, 2) Los pituicitos astrocíticos, que aparentemente son células de la astroglia modificadas, 3) Los pituicitos triangulares y 4) los reticulopituicitos glomerulares, caracterizados por presentar una estructura complicada de tipo glomerular (Malacara, 1978).

Los productos de secreción que elaboran las neuronas de los núcleos supraóptico y paraventricular incluyen la oxitocina, vasopresina y neurofisinas. Estas últimas son ricas en cistina, funcionan como transportadores intracelulares para cada hormona, están dentro de cada gránulo secretor con la prohormona y la enzima de conversión. Los gránulos de secreción se mueven por un flujo axoplásmico rápido hacia las terminaciones nerviosas de los órganos neurohemales. Un potencial de acción disparado por el cuerpo celular en respuesta a algunos eventos excitatorios, cambia la permeabilidad de la membrana provocando un aumento del calcio intracelular y la liberación por exocitosis de las hormonas y neurofisinas (Malacara, 1978; Banks, 1986).

En el caso de los mamíferos, la hormona oxitocina, tiene poderoso efecto estimulante sobre el útero grávido, especialmente al final de la gestación y también tiene efecto sobre la evacuación de la leche (Guyton, 1972).

Los principales estímulos para la secreción de la hormona antidiurética ADH o vasopresina son la osmolaridad sérica (concentración de solutos) y el volumen circulante. Esta hormona estimula la contracción del músculo liso de los vasos sanguíneos y produce aumento en la presión sanguínea (en arterias y arteriolas), además controla la conservación del agua en el organismo ya que disminuye la excreción de esta por el riñón, mediante la reabsorción del agua por los túbulos contorneados distales y túbulos colectores del riñón, de ésta manera la orina se vuelve hipertónica, por lo tanto la ADH contribuye a regular el equilibrio osmótico del medio interno (Guyton, 1972; Malacara, 1978; Junqueira y Carneiro, 1981; West, 1986; Dores et al, 1987, 1989; Fawcett, 1989).

En el caso de los anfibios las hormonas vasopresina, oxitocina y vasotocina están relacionadas con el balance de las sales y agua. En anuros y urodelos estas hormonas reducen el flujo urinario y cambian la permeabilidad de la piel para el agua y iones (Lofts, 1974).

La *pars* nerviosa tiene un papel fisiológico específico en la economía de agua y sales en anfibios terrestre. Además se ha observado que los péptidos neurohipofisarios tienen un efecto estimulante en la contracción de los oviductos de varias especies de urodelos y anuros. La sensibilidad de los oviductos varía en cada especie y puede depender de la etapa del ciclo reproductor (Lofts, 1974; Schmidt-Nielsen, 1990).

D.3.2.ADENOHIPOFISIS

a) PARS DISTALIS

En los anfibios al igual que en los mamíferos la adenohipófisis se subdivide en tres porciones a) *pars* distalis (lóbulo anterior), b) *pars* intermedia y c) *pars* tuberalis (*pars* infundibularis) siendo esta última muy reducida en anfibios o ausente (Esquema 4) (Welsch, 1980).

La porción distal comprende la mayor parte de la adenohipófisis. Está cubierta por una cápsula fibrosa de tejido conjuntivo denso, que se continúa con las fibras reticulares que constituyen el estroma del órgano (Ham, 1975; Banks, 1986; Fawcett, 1989).

El parénquima consta de células secretoras que han sido tradicionalmente clasificadas en dos grupos: cromófilas y cromófobas, de acuerdo con sus afinidades tintoriales. Las células cromófilas son subdivididas en dos grupos basófilas y acidófilas las primeras presentan reacción PAS+. Todas estas células se arreglan en cordones de células secretoras, los cuales son rodeadas por numerosos capilares sinusoides. La tinción de Hematoxilina-Eosina permite distinguir a células basófilas de acidófilas por su afinidad respectiva a estos

colorantes. Las células cromóforas son pequeñas y contienen pocos gránulos citoplasmáticos, tienen poca afinidad a colorantes tanto ácidos como básicos (Alvarez del Villar, 1979; Lesson y Lesson, 1981; Norris et al, 1985; Banks, 1986; Wheeler, 1987; Genesser, 1988).

Las células basófilas producen tres glucoproteínas, la hormona estimulante de la tiroides (TSH), las gonadotropinas (FSH y LH) y un polipéptido, la adrenocorticotropina (ACTH) (Weichert, 1975; Welsch, 1980).

Las células que producen TSH son denominadas basófilas de **tipo 1 o células beta**, son redondas o ligeramente alargadas, ocasionalmente se ven conectadas con vasos sanguíneos por un escaso citoplasma con gránulos cianofílicos PAS+. El núcleo es globular a veces de forma irregular y usualmente contiene nucleolo acidofílico. Estas células basófilas se encuentran en la *pars distalis* de *Rana temporaria* y se ha observado que en machos adultos son abundantes durante la metamorfosis. El tamaño de los gránulos van de 150 a 200 nm. Estas células presentan procesos citoplasmáticos, abundantes mitocondrias, retículo endoplásmico pequeño y el aparato de Golgi consta de pequeñas vesículas que no contienen gránulos. La hormona estimulante de la tiroides, es producida por células basófilas del tipo 1 (TSH), conserva y estimula la actividad secretora de la tiroides, está constituida por 209 aminoácidos, esta hormona produce la liberación de la hormona tiroidea hacia la sangre, además produce la hipertrofia de las células de la tiroides. En anfibios controla la metamorfosis, influenciando el crecimiento y desarrollo de la glándula tiroides, influye también en el crecimiento larval y diferenciación del sexo en adultos. (Noble, 1954; Cardell, 1964, 1970; Lofts, 1974; Norris et al, 1985; Fawcett, 1989).

Las células que producen FSH y LH son denominadas **basófilas tipo 2 o células delta**, son grandes o columnares se encuentran en gran cantidad a través del lóbulo distal. Un polo de las basófilas está adherido a la pared de los vasos sanguíneos y el núcleo se ubica en el polo opuesto. Los núcleos son ovoides y vesiculares, tienen uno o dos nucleolos conspicuos. El citoplasma es PAS+ con gránulos de 200 nm, presentan retículo endoplásmico y abundantes mitocondrias.

En los anfibios estas células en los estados larvales y salamandras son pequeñas. La hormona folículo estimulante es producida por células basófilas del tipo 2, estimula el crecimiento de los folículos ováricos y la espermatogénesis; en unión con la hormona luteinizante produce la secreción de estrógenos y la ovulación. Está formada por 236 aminoácidos, también estimula el crecimiento de epitelio seminífero y células de Sertoli. La hormona luteinizante y la hormona estimulante de células intersticiales, influyen en la maduración de las gónadas y en la producción de hormonas sexuales, ayuda a la formación del cuerpo amarillo y secreción de progesterona por el ovario; en el macho estimula a las células intersticiales del testículo, facilitando la producción de hormonas sexuales y la maduración de los espermatozoides (Cardell, 1964, 1970; Rastogi y Chieffi, 1970; Lofts, 1974; Malacara, 1978; Norris et al, 1985; Pearson y Licht, 1987; Romer, 1987).

Las **basófilas tipo 3** o productoras de ACTH, son células alargadas o columnares y son mas pequeñas que las basófilas tipo 2 y exclusivamente contienen gránulos PAS+, el núcleo está en posición basal, es de forma ovoide y contiene varios nucleolos, contienen abundantes mitocondrias, el retículo endoplásmico aparece como pequeñas vesículas distribuidas en el citoplasma. Estas células se encuentran en la porción rostral y rostroventral del lóbulo distal asociadas con vasos portales. También tienen actividad secretoria durante la metamorfosis. La hormona adrenocorticotropa que es producida por estas células, contiene 39 aminoácidos, tiene efectos primarios sobre la glándula adrenal para que produzca glucocorticoides, en tanto que para la secreción de mineralcorticoides, tiene efectos menores ya que se regula por otros mecanismos. La liberación regulada de ACTH es mediada por la concentración circulante de glucocorticoides, manifestando una retroalimentación negativa, también está sujeta al ritmo circádico de secreción hipotalámica y adenohipofisiaria (Cardell, 1964; Kirschner et al, 1971; Lofts, 1974; Norris et al, 1985; De Ruyter y Stiffler, 1986; Banks, 1986; Garey et al, 1987; Romer, 1987; Takada y Hara, 1988).

La secreciones de las células acidófilas son de naturaleza proteica y dichas

secreciones son la prolactina (LTH) y la somatotropina (GH).

Las células productoras de LTH también llamadas **acidófilas tipo 1** o **células epsilon**, son alargadas o columnares y algunas esféricas, tienen poco citoplasma. El núcleo es lobulado, están distribuidas a través del lóbulo distal pero son más abundantes en la región rostro central y lateral. Se han reportado en abundancia durante la premetamorfosis, en la parte caudal de la adenohipófisis, sus gránulos miden de 600 a 900 nm. La prolactina producida por estas células contiene 105 aminoácidos; en mamíferos se incrementa durante la lactancia, estimula la formación del cuerpo amarillo del ovario para secretar progesterona. En anfibios estimula el crecimiento de músculos e inhibe la acción de la tirotropina, por lo tanto no ocurre la metamorfosis. En algunas especies de urodelos esta hormona provoca que el animal entre al agua para la reproducción, o bien puede ayudar a controlar la pigmentación (Lofts, 1974; Norris et al, 1985; West, 1986; Romer, 1987).

Las células **GH** o **acidófilas tipo 2** son células alargadas, estas son más pequeñas que las acidófilas tipo 1, están localizadas en la parte dorso caudal de la *pars distalis*, en un polo de los vasos sanguíneos. El núcleo es globular u oval. Estas células son llamadas también **alfa** y sus gránulos miden 350 nm. El retículo endoplásmico rugoso es tubular con partículas ribonucleoproteínicas sobre la superficie de los túbulos, las mitocondrias miden 2 nm de largo y 20 nm de ancho. El aparato de Golgi se encuentra en la porción apical de las células y está compuesto por vacuolas y pequeñas vesículas. La hormona somatotropina que es producida por estas células acidófilas (GH), causa el aumento de tamaño de los tejidos del cuerpo. Esta hormona contiene 120 aminoácidos, funcionalmente aumenta la síntesis de proteínas y estimula la mitosis celular, influye en el metabolismo de las grasas y carbohidratos y además multiplica el efecto de otras hormonas sobre la actividad de la tiroides, corteza suprarrenal y órganos de la reproducción (Cardell, 1964; Lofts, 1974; Banks, 1986; Wheeler, 1987; Romer, 1987).

Las células cromóforas, son células con un núcleo angular y considerablemente pequeño en relación al cuerpo de la célula, presentan poco citoplasma sin gránulos, no tiene afinidad a colorantes, son consideradas como células en reposo o indiferenciadas (Lofts, 1974; Banks, 1986).

b) PARS INTERMEDIA

La *pars intermedia* no está bien desarrollada en el hombre, entre los vertebrados superiores falta en algunos cetáceos y en sireníidos, también en algunas aves, pero es notable en animales domésticos y en anfibios. Esta porción de la hipófisis es adyacente a la neurohipófisis, pero está separada de ella por una vaina discontinua de tejido conjuntivo. Es común la migración de células de la parte intermedia a la nerviosa (Banks, 1986).

El parénquima de la *pars intermedia* está constituido por los tipos celulares secretorios que producen la hormona estimulante de los melanocitos (**MSH**) denominadas **células melanotropas**, y por el tipo celular no secretorio, llamadas células estrelladas. Las principales células de esta porción son las células melanotropas; se trata de elementos basófilos con reacción PAS+, en algunos vertebrados entre ellos en los anfibios y en ciertos mamíferos se han identificado varios tipos de terminaciones nerviosas, que contienen neurosecreción PAS+ (Ham, 1975; Welsch, 1980; Norris et al, 1985; Fawcett, 1989).

Esta región de la adenohipófisis está poco vascularizada y sus vasos sanguíneos presentan endotelio de tipo fenestrado, sus células reciben inervación secretomotora directa, las fibras nerviosas contienen vesículas de núcleo electrodensito (Barrington, 1977; Lesson y Lesson, 1981; Fawcett, 1989).

En los anfibios la melanina está dentro de los melanocitos en forma de gránulos pequeños llamados melanosomas. En ausencia de la hormona estimulante de los melanocitos los melanosomas se concentran cerca de los núcleos de las células, de manera que los melanocitos son transparentes a la luz. Cuando se secreta MSH, los melanosomas se dispersan por todo el citoplasma

de los melanocitos y las células se vuelven casi negras, en segundos o minutos. De esta manera, el color de la piel puede cambiar de un tinte muy claro cuando falta la hormona a uno muy oscuro en presencia de ella, también controla la contracción de los lipoforos y guanoforos. La hormona MSH es un péptido, del cual se han descrito dos tipos, la alfa-MSH, la cual contiene secuencia de trece aminoácidos y la beta-MSH, la cual dependiendo de la especie, contiene de 16 a 22 aminoácidos (Noble, 1954; Guyton, 1972; Lofts, 1974; Bentley, 1982; Norris et al, 1985).

Las células melanotropas de la *pars intermedia* son esféricas, algunas de forma cuboidal irregular con un núcleo central, las células que bordean capilares tienden a ser más alargadas y tienen su núcleo en la parte apical. Los gránulos secretorios son finos y distribuidos regularmente por el citoplasma, son débilmente PAS+, y miden de 200 a 300 nm (Lofts, 1974).

La producción de MSH en la *pars intermedia* de anfibios está controlada por una variedad de factores externos incluyendo, luz, color del medio, temperatura, humedad y aire. Como la glándula pineal es un órgano fotorreceptor puede influenciar la actividad de la *pars intermedia* (Lofts, 1974).

c) PARS TUBERALIS

Se trata de una región pequeña, pero muy vascularizada de la adenohipófisis, cuyos elementos endócrinos se disponen en hileras longitudinales que incluyen pequeñas células cromófilas (acidófilas y basófilas) y otras cromóforas. La *pars tuberalis* es punto de penetración del sistema portal-hipofisario, por donde llegan a la adenohipófisis las hormonas de liberación y también las de inhibición, procedentes todas ellas del diencefalo (Banks, 1986; Romer, 1987).

Recientemente se han encontrado algunas evidencias de que la *pars tuberalis* es solo una prolongación de la *pars distalis*. Estructuralmente la *pars tuberalis* está conectada al tercer ventrículo del cerebro por medio de un camino

neural formado por células ependimales modificadas conocidas como tanicitos. Se ha sugerido que los tanicitos pueden remover selectivamente materiales (neurohormonas) del fluido cerebroespinal y transferirlos a las células de la *pars tuberalis* (Norris et al, 1985).

Esta región de la hipófisis está separada de la eminencia media y de la parte anterior ventral de la *pars distalis* por tejido conjuntivo vascularizado que se continúa con la piamadre y con los vasos sanguíneos del sistema portal hipotalámico-hipofisiario (Norris et al, 1985).

D.4.SISTEMA PORTAL HIPOTALAMO-HIPOFISIARIO

El riego singular de la adenohipófisis es un componente indispensable de su regulación funcional. El origen y curso específico de sus vasos varían en las diferentes especies, la característica común es que se forma un sistema portal hipotalámico-hipofisiario (Banks, 1986).

La glándula hipófisis es irrigada por el polígono de Willis, constituido por ramificaciones de las arterias carótida interna y absilar; existe un pequeño sistema porta hipofisiario de venas asociadas con capilares para el drenaje de la sangre en esta área (Guyton, 1972; Weichert, 1975).

La sangre arterial de los plexos capilares primarios que dan origen a dicho sistema porta derivan de las arterias hipofisiarias superiores o infundibulares, y de las hipofisiarias inferiores. Las primeras derivan de la carótida interna y forman su plexo capilar en la eminencia media. Las dos últimas también derivan de la carótida interna a nivel del seno cavernoso; estableciendo numerosas anastomosis entre sí, y formando un plexo capilar primario en la porción inferior del tallo infundibular (Barrington, 1977; Malacara, 1978; Banks, 1986).

Dadas las características de este sistema de irrigación sanguínea, es evidente que toda la sangre que llega a la adenohipófisis ha pasado previamente por uno u otro plexo capilar (Andrew and Hickman, 1974; Ham, 1975; Malacara, 1978; Juqueira y Carneiro, 1981; Fawcett, 1989).

D.5. REGULACION DE LA ADENOHIPOFISIS

La función principal del hipotálamo es el control de las funciones endócrinas ya sea directamente o indirectamente, a través de neuronas peptidérgicas: magnocelulares y parvocelulares, que producen y vierten su secreción al plexo capilar primario del sistema porta-hipofisiario, sus productos de neurosecreción son los llamados genéricamente factores u hormonas hipotálamo-hipofisotrópicas (HHH). Estas hormonas hipotalámicas son transportadas y distribuidas entre la población celular adenohipofisiaria por el plexo secundario del sistema porta; se ha visto que existe un factor u hormona hipofisotrópica específica, que estimula o inhibe la secreción de cada una de las hormonas producidas por la adenohipófisis. Las neuronas magnocelulares, que controlan por vía directa al sistema endócrino, se localizan en los núcleos hipotalámicos supraópticos y paraventriculares, donde liberan las hormonas oxitocina y vasopresina a la circulación en general, por medio de la vascularización de la *pars nerviosa*. Por vía indirecta, la secreción de las neuronas neurosecretorias parvocelulares de los núcleos hipotalámicos supraóptico y paraventricular, anterior, supraquiasmático, arqueado, ventromedial, y ventroanterior, son liberadas en el plexo portal de la eminencia media para llegar a la adenohipófisis (Malacara, 1978; Kandel y Schuwartz, 1985; Norris et al, 1985; Banks, 1986; Eckert, 1988; Schmidt-Nielsen, 1990).

E. GENERALIDADES DE Ambystoma tigrinum.

Clasificación

Reino Animal

Phylum Cordata

Subphylum Vertebrata

Clase Anfibia

Orden Caudata (Urodela)

Suborden Salamandroidea

Familia Ambystomatidae

Subfamilia Ambystomatinae

Género *Ambystoma*

Especie *tigrinum*

(Colleman, 1978).

El tamaño de este organismo va de 200 mm a 346 mm aproximadamente, presenta un cuerpo robusto y extremidades musculosas, las larvas presentan una cola y cuatro branquias pareadas con filamentos largos, (Duellman, 1985).

Ambystoma tigrinum está distribuido en parte de Canadá, los Estados Unidos y regiones del noreste de los estados de Chihuahua y Durango y en la planicie Mexicana, principalmente en los Estados de Tlaxcala e Hidalgo (Pope, 1947; Shaffer, 1983).

En estos organismos el ciclo reproductivo es anual, tanto en hembras como en machos, la puesta va de 50 a 100 o hasta 5000 huevos, desovan cerca del agua, y se reproducen a mitad del invierno favorecidos por las temperaturas bajas. El periodo de incubación es de aproximadamente 20 a 28 días. La metamorfosis puede presentarse alrededor de los 73 o 75 días después de la puesta, (Pope, 1947; Duellman, 1985; Macfarland, 1989; Macdonald, 1990).

Son organismos que viven en agregaciones que van de 10 a 50 larvas, la temperatura a la que se adaptan mejor va de los 17.8 °C a los 25 °C. Se ha observado que se acimatan a altitudes donde se encuentran desiertos o en climas donde las temperaturas son de 10 °C. Se ha propuesto que la temperatura determina el tamaño del organismo y el momento de la metamorfosis en estos organismos (Duellman, 1985).

Su habitat es principalmente en planicies áridas, praderas lluviosas y montañas boscosas, (Macdonald, 1990).

La larva utiliza el 59% de oxígeno total del agua y el resto del oxígeno lo obtiene por vía pulmonar del aire que aspira por el hocico. Otras especies de *Ambystoma* que viven en regiones montañosas reducen su admisión de oxígeno

al 26%, excepto en formas neoténicas en las que la piel es un órgano respiratorio importante para estos organismos (Jamerson, 1981; Duellman, 1985).

Su alimentación consta de moluscos, insectos, peces, gusanos, ranas, crustáceos y otras salamandras. Se puede presentar el canibalismo en estos organismos (Pope, 1947).

Las salamandras presentan un cuerpo corpulento con una cabeza ancha y ojos pequeños. El dorso presenta manchas de color amarillo, de forma y arreglo variado, concentradas a los lados del cuerpo (Pope, 1947; Macdonald, 1990).

Las salamandras pasan la mayor parte del día en plantas y detritus o en madrigueras abandonadas por mamíferos. Durante la noche, salen de sus madrigueras o cobertizos para alimentarse teniendo como presas a lombrices y caracoles principalmente (Pope, 1947; Macdonald, 1990).

El estadio larvario es variable en tiempo y según las condiciones ambientales se produce o no la metamorfosis en estos organismos (Macdonald, 1990).

F. METAMORFOSIS EN URODELOS

La metamorfosis es una profunda reorganización postembrionaria de tejidos, funciones y comportamiento que, normalmente, prepara al animal para la vida en un habitat diferente. La metamorfosis de los anfibios les permite el escape de un habitat que es esencial para la reproducción y para su desarrollo inicial pero, al mismo tiempo, es inadecuado para el adulto y susceptible de cambios radicales en determinadas estaciones (Hoar, 1978).

Las etapas larvarias y los consiguientes problemas de la metamorfosis constituyen la base de la distribución de muchas especies y son tan importantes para su supervivencia y éxito como son las formas adultas. En algunos casos, las formas larvarias pueden haber proporcionado el material evolutivo para líneas filogenéticamente nuevas. La madurez sexual se produce a veces en las formas larvarias (NEOTENIA) y parece razonable suponer que ciertos grupos de animales

han evolucionado a través de la omisión de etapas adultas altamente especializadas y la adaptación de características más juveniles y generalizadas, a formas de vida nuevas y diferentes. Los anfibios constituyen los ejemplos mejor conocidos de metamorfosis entre los vertebrados. Los jóvenes nacen en la forma de renacuajos pisciformes de agua dulce y después de un periodo de vida acuática sufren una metamorfosis en adultos terrestres y muestran varios cambios morfofisiológicos y bioquímicos profundos relacionados con el cambio de dieta y las restricciones en la disponibilidad del agua (Hoar, 1978).

La tiroxina es la más conocida de las hormonas metabólicas activadoras de estos procesos; los cambios en la tiroides pueden estar asociados con la metamorfosis más que ser su causa. En cualquier caso, la hipófisis, que regula a la tiroides, constituye el primer eslabón entre los disparadores ambientales, el crecimiento y los procesos metamórficos (Hoar, 1978).

La metamorfosis de muchos de los anfibios caudados al igual que los anuros puede ser acelerada mediante la hormona tiroidea; sin embargo algunas salamandras tienen una metamorfosis facultativa, los ajolotes *A. tigrinum* en muchas localidades sufren metamorfosis de forma regular, para una existencia terrestre. Sin embargo, en determinadas regiones las características larvianas se retienen toda la vida y los animales se hacen sexualmente maduros como adultos neoténicos. En la naturaleza *A. tigrinum* puede quedarse como adulto neoténico o como salamandra (Kirschner et al, 1971; Lofts, 1974; Duellman, 1985; Norris et al, 1985; De Ruyter y Stiffler, 1986; Garey, 1987).

Los tres cambios principales que ocurren durante la metamorfosis son: 1) regresión de estructuras y funciones que solo son importantes en larvas, 2) transformación de estructuras larvales hacia formas adultas y 3) desarrollo de estructuras y funciones esenciales para los adultos (Duellman, 1985).

La metamorfosis es controlada por la actividad de la tiroides y por el sistema portal-hipotálamo-hipofisial, que van a influir en los niveles de hormona tiroidea. La eminencia media se ve muy reducida y con pocos capilares antes de la metamorfosis, durante ella ésta parte se alarga y se organizan los capilares en

la metamorfosis, durante ella ésta parte se alarga y se organizan los capilares en el sistema porta, el incremento eficiente del sistema porta puede promover el transporte de productos neurosecretorios del hipotálamo a la hipófisis. La maduración de la eminencia media se produce por la estimulación de la hormona tiroidea durante la metamorfosis (Noble, 1954; Norris et al, 1985; Macfarland, 1989).

El incremento de las hormonas tiroideas T3 y T4 provocan un decremento en los niveles de prolactina y se inicia la metamorfosis, sin embargo; si ocurre lo contrario es decir si se incrementan los niveles de prolactina, esta puede inhibir la acción de la hormona estimulante de la tiroides y no se realiza la metamorfosis. La metamorfosis puede ser influenciada por diversos factores endócrinos, se ha observado que la concentración de corticosterona aumenta durante la metamorfosis, siendo posible que los corticosteroides tengan una acción sobre la hormona tiroidea durante la metamorfosis. A la glándula pineal por su función fotorreceptora, también se le ha atribuido relación con la metamorfosis, ya que la luz puede promoverla (Blatt et al, 1969; Gona y Etkin, 1970; Gona y Gona, 1973; Gilbert y Earl, 1981; Norris y Duvall, 1981; Norris et al, 1985; Duellman, 1985; Scott, 1988).

Los factores ambientales que influyen en la metamorfosis de neoténicos facultativos son: contenido de iodo en el agua, PH, contenido de oxígeno en el agua, altitud, temperatura, fotoperiodo, dieta y estado nutricional del organismo (Norris et al, 1985).

F.1. PRINCIPALES CAMBIOS MORFOFISIOLOGICOS EN URODELOS DURANTE LA METAMORFOSIS

- Reducción del aparato branquial y cierre de hendiduras branquiales.
- Degeneración del opérculo.
- Reducción del esqueleto visceral y cambio morfológico de la cabeza.
- Calcificación del esqueleto axial y apendicular.

-Las patas experimentan ligeros cambios aumentando un poco su musculatura.

-Cambio de posición de los ojos mas hacia la superficie dorsal y formación de párpados.

-Fusión de córneas internas y externas.

-Incremento de rodopsina en la retina.

-La piel se cornifica y se diferencian glándulas cutáneas pluricelulares.

-La pigmentación de la piel se modifica.

-Crecimiento de los núcleos preópticos en el hipotálamo.

-Aumentan de tamaño las células de Mauthner.

-Desarrollo del sistema porta-hipofisial y eminencia media.

-Inducción de receptores de prolactina.

-Desarrollo de pulmones.

-Cambio de hemoglobina larval a adulta.

-En el hígado hay incremento en la síntesis de RNA; inducción de enzimas en el ciclo de la urea.

-Aumento de albumina.

-Aumento de glucógeno.

-Reducción y restructuración del páncreas.

-Producción de pepsinas en el estómago.

(Delson y Whitford, 1973; Model, 1978; Gilbert y Earl, 1981; Balinski y Fabian, 1983; Duellman, 1985; Norris et al, 1985).

G. NEOTENIA EN *Ambystoma*

La neotenia es un fenómeno biológico que consiste en la maduración reproductiva de algunos organismos con la retención de caracteres morfológicos larvales; esto se ha conocido en las salamandras desde la mitad del último siglo (Noble, 1954; Lofts, 1974).

Esta heterocronia está relacionada a una tasa de desarrollo mas rápida.

Algunas especies de anfibios del género *Ambystoma* son neoténicos facultativos, es decir; el organismo puede o no sufrir metamorfosis dependiendo de las condiciones de su medio natural, alcanzando su madurez con un fenotipo larval. Ciertas poblaciones presentan metamorfosis esporádicas y otras frecuentes. Las especies neoténicas facultativas más conocidas del género *Ambystoma* son: *A. gracilis* y *A. tigrinum* (Colleman, 1978; Duellman, 1985).

Experimentos con organismos neoténicos facultativos del género *Ambystoma* han demostrado que la hormona tiroidea (T4) induce la metamorfosis y que la tiroides de las salamandras es sensible a la hormona estimulante de la tiroides. La señal inicial de la metamorfosis la da el lóbulo anterior de la hipófisis, cuando alcanza un cierto grado de diferenciación y puede producir la hormona estimulante de la tiroides; esta hormona activa la glándula tiroides, la cual forma y segrega la hormona tiroidea, (cuyo componente más eficaz es la hormona tiroxina) que influye directamente sobre los tejidos, determinando la proliferación y muerte de algunas células y estimulando el crecimiento y la diferenciación de otras. Se ha postulado que en *A. tigrinum* el bloqueo de la metamorfosis se encuentra a nivel hipotalámico ya que a bajas temperaturas, no se produce el factor liberador de la tirotrópina (TRF). Como el eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides está íntegro, al elevarse la temperatura del agua, el hipotálamo puede producir el factor liberador de la tirotrópina y el ajolote puede sufrir metamorfosis (Lofts, 1974; Balinski y Fabian, 1983; Duellman, 1985; Scott, 1988).

En neoténicos obligatorios como *Necturus*, *Proteus* y *Amphiu* la metamorfosis no ocurre porque el tejido de la tiroides, tiene poca sensibilidad a la hormona tiroxina, el tratamiento con la hormona tiroidea puede resultar en algunos casos en cambios iniciales como la reducción de branquias, pero en tratamientos prolongados puede ser letal. En el caso del ajolote *A. mexicanum* no actúa la hormona TSH sobre la glándula tiroides, esto se traduce en que la glándula tiroides no sintetiza tiroxina y por lo tanto no se presentan cambios metamórficos (Noble, 1954; Gilbert y Earl, 1981; Duellman, 1985; Scott, 1988).

Existen pocos estudios que hagan una descripción histológica detallada de la glándula hipófisis en anfibios silvestres y menos aún que tomen en cuenta las etapas de desarrollo de los organismos y la estacionalidad anual, por lo que este trabajo aporta una descripción y comparación morfológica de la hipófisis en larvas y adultos de A. tigrinum durante un ciclo anual. Además, siendo A. tigrinum una especie neoténica facultativa resultará importante estudiar la glándula hipófisis en relación con la reproducción y la metamorfosis, eventos biológicos en los que dicha glándula está especialmente involucrada. Como se sabe en los anfibios, como en otros vertebrados; la función gonadal es dependiente en gran parte de la actividad secretora de las células gonadotropas de la *pars* distalis de la hipófisis, así mismo experimentos con neoténicos facultativos de *Ambystoma* han demostrado que la hormona tiroidea induce la metamorfosis y que la tiroidea de estos animales es sensible a la hormona estimulante de la tiroidea producida por las células tirotropas de la adenohipófisis.

II. OBJETIVOS

1) OBJETIVO GENERAL

Describir morfológica y morfométricamente las características de la glándula hipófisis en larvas y adultos de Ambystoma tigrinum durante un ciclo anual.

2) OBJETIVOS ESPECIFICOS

Comparar morfométrica y numéricamente las células basófilas (tirotropas y gonadotropas) de la adenohipófisis en cuatro etapas de desarrollo larvas tempranas [LTE], larvas tardías [LTA], adultos neoténicos [NEO], y salamandras [SAL] y en las cuatro estaciones del año.

Correlacionar el número y el tamaño de las células tirotropas con el tamaño de la tiroides y las células gonadotropas con el tamaño de las gónadas en larvas y adultos de Ambystoma tigrinum de las cuatro estaciones del año.

III. HIPOTESIS

Si la ciclicidad estacional y el estado de desarrollo de los organismos afecta el sistema hipofisario, entonces probablemente se encontrarán diferencias morfológicas al describir y correlacionar sus componentes.

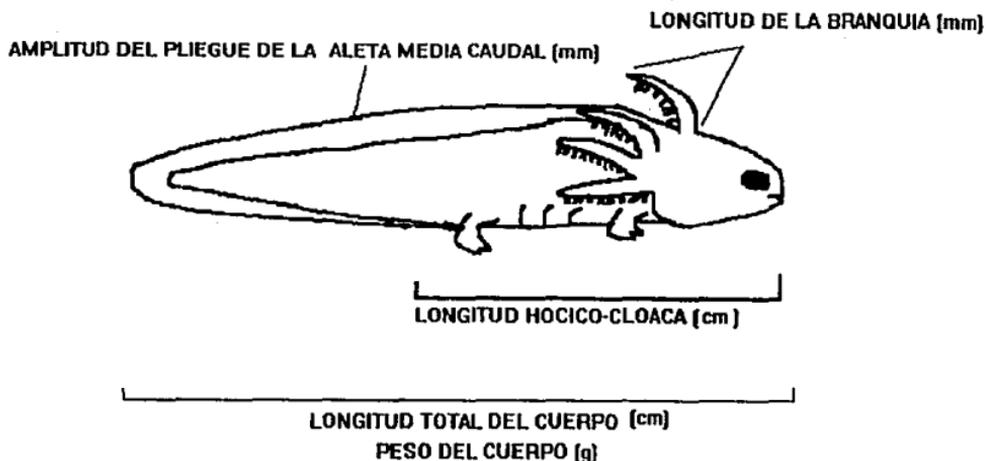
IV. MATERIAL Y METODO

Se realizaron cuatro colectas, cada una a la mitad de cada estación del año, utilizando métodos de captura rústicos en el ambiente natural (Laguna de Totolzingo, Tlaxcala), capturando 25 individuos de *Ambystoma tigrinum* de diferentes tallas.

Con los organismos capturados se hizo una caracterización preliminar de la población mediante datos merísticos corporales externos: peso corporal, longitud total, longitud hocico-cloaca, longitud de la branquia y amplitud del pliegue de la aleta media caudal (media caudal), con el objeto de determinar los diferentes estados de desarrollo, en cada colecta y estación (Esquema 5) (Hassinger et al, 1970; Wilbur y Collins, 1973; Brandon, 1976; Norman, 1985; Ashley et al, 1991).

De las colectas en las cuatro estaciones del año se obtuvieron de manera constante organismos categorizados como larvas tempranas, larvas tardías y adultos neoténicos por lo que no fue posible analizar la estructura de la hipófisis en etapas más tempranas de desarrollo. Se colectaron salamandras solo en verano e invierno por lo que fue necesario inducir la metamorfosis en el laboratorio, para contar con estos ejemplares en estas estaciones y en las mismas condiciones.

Una vez preclasificada la población se sacrificaron por decapitación cinco larvas tempranas, cinco larvas tardías, y cinco adultos neoténicos, y se fijaron en formol al 10% el encéfalo junto con la hipófisis. Además el hígado se extrajo y se pesó. La mandíbula inferior con la tiroides se extrajo y se fijó para determinar su diámetro mediante cortes histológicos ya que no se pudo identificar macroscópicamente. Se midió la longitud de las gónadas macroscópicamente y se agruparon en cuatro categorías; de acuerdo a sus características macroscópicas se extrajeron y se fijaron para su posterior análisis histológico. Se calcularon el Índice de Condición Física (ICF) y el Índice Hepatosomático (IHS) con las siguientes relaciones: $IHS = \text{Peso hígado (g)} / \text{Peso corporal (g)} \times 100$. $ICF = \text{Peso corporal (g)} / \text{Longitud hocico-cloaca (cm)} \times 100$.



ESQUEMA 5. La larva de *Ambystoma tigrinum* se caracteriza por presentar una aleta media caudal, branquias, una longitud total, una longitud hocico-cloaca y un peso que lo diferencia de salamandras (Cano y Asai, 1993).

En cada estación cinco organismos se mantuvieron en una pecera a una temperatura de aproximadamente de 23 a 25 °C y oxigenación constante, hasta que ocurriera la metamorfosis. Siete días después se tomaron los datos merísticos corporales externos y se sacrificaron por decapitación, se fijó el encéfalo junto con la hipófisis en formol al 10%, y se procedió con las gónadas, el hígado y la tiroides de la misma manera que con los organismos de los otros estadios.

El encéfalo y la hipófisis se procesaron para su inclusión en parafina de la siguiente manera:

1) Se lavó el encéfalo con la glándula en agua corriente durante 60 min. aproximadamente.

2) Se deshidrató en alcoholes graduales de 50; 70; 80; 96; 100; y 100-xilol, durante 15 min. en cada uno.

3) Se transparentaron en aceite de cedro durante 15 min. y en xilol durante 5 min.

4) Se embebió en paraplast-xilol; dos cambios de paraplast durante 15 min en cada uno y se incluyó en paraplast.

5) Se realizaron cortes sagitales seriados del encéfalo junto con la hipófisis, con un grosor de 5 micras, en un microtomo American Optical (AO) y se adhirió el corte en portaobjetos en un baño de flotación para tejidos con gelatina Q.P. a una temperatura de 43 °C.

La rutina anterior se siguió para la aplicación de las siguientes técnicas histológicas:

- Hematoxilina-Eosina, (Estrada et al, 1982).
- Técnica de PAS, (Estrada et al, 1982).
- PAS-Orange-G-Azul de metilo, (Luna, 1968).

Estos métodos se aplicaron a los doce organismos elegidos de cada colecta y de cada estación (en total 48 organismos).

A nivel de microscopía óptica se realizó la descripción histológica de la glándula hipófisis, (*pars distalis*, *pars intermedia* y *pars nerviosa*) para cada uno de los estadios de desarrollo en las distintas épocas del año.

Con una reglilla ocular a 10X en 3 cortes mediales de cada estadio y estación se hizo el estudio morfométrico (eje menor y mayor) de la hipófisis y de cada una de sus partes, Asimismo en un área de 62500 μm^2 a 40X se contó y se midió el largo y ancho de las células gonadotropas y tirotropas de la *pars distalis*; en la parte rostro ventral y medio ventral para las células tirotropas y en la parte medio dorsal y caudal para las células gonadotropas, por ser las áreas donde estas células están más densamente distribuidas. Todos los datos morfométricos obtenidos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS y se aplicaron las pruebas estadísticas ANOVA de dos vías y Tuckey a una $p < 0.05$. Se realizaron comparaciones para cada estación del año y en cada estadio de desarrollo.

V. RESULTADOS

RESULTADOS HISTOLOGICOS DE LA GLANDULA HIPOFISIS

La glándula hipófisis de *Ambystoma tigrinum* se localizó en la base del encéfalo a nivel del diencéfalo conectada a este por medio del tallo infundibular, se encontró formada por dos regiones, la neurohipófisis constituida por el tallo infundibular, la eminencia media y la *pars nerviosa*, y la adenohipófisis constituida por la *pars distalis* y la *pars intermedia*. (Lámina I Fig.1 y 2).

Con excepción del tamaño y la morfología celular no se observaron diferencias histológicas en la hipófisis de *A. tigrinum* en los distintos estadios de desarrollo y estaciones del año por lo que la descripción se basa en la glándula hipófisis de organismos neoténicos de la estación de primavera.

NEUROHIPOFISIS

Histológicamente la *pars nerviosa*, la eminencia media y el tallo infundibular tienen los mismos componentes: se encontraron formados por axones amielínicos sin cuerpos de Herring, pituicitos fusiformes pequeños escasos y células endodiales de forma triangular que limitan el piso del tercer ventrículo y el receso infundibular. Presentaron una vascularización abundante con vasos sanguíneos que tienen epitelio fenestrado y terminaciones nerviosas (Lámina I Fig.4).

ADENOHIPOFISIS

PARS INTERMEDIA

Esta región se encontró separada de la neurohipófisis por una capa discontinua de tejido conjuntivo, se pudieron observar algunas fibras nerviosas y

vascularización escasa. Los melanotropos fueron las células características de esta región, se trató de elementos basófilos con débil reacción PAS+, que se encontraron formando hileras a lo largo de esta región (Lámina I Fig.3), su forma fue irregular aunque, en general fueron células más altas que anchas, con núcleo central y gránulos secretorios distribuidos uniformemente por el citoplasma.

PARS DISTALIS

El parénquima de esta región se encontró organizado en cordones y en grupos celulares surcados por sinusoides y sostenidos por fibras reticulares. Está constituido por células con gránulos de secreción (cromofilas) y células sin gránulos (cromofobas). De las primeras se reconocieron fácilmente los dos subtipos: basófilas y acidófilas (Lámina II Fig.1 y 2). Las basófilas presentaron reacción PAS+ (Lámina II Fig.3), y características morfológicas que permitieron su identificación en células tirotropas y gonadotropas (Lámina XI. Fig.1, 2, 3 y 4). Las células tirotropas presentaron una forma redonda y ocasionalmente alargada teniendo un citoplasma con gránulos PAS+, y núcleo globular (Láminas III, IV, V y VI). Estas células se encontraron en la región rostro ventral de la *pars* distalis (Lámina XI. Fig.1 y 2). Las células tirotropas se observaron mas grandes en organismos neoténicos durante el otoño y el invierno (Lámina V Fig.3 y 4).

Las células gonadotropas se localizaron por lo regular en torno a los vasos sanguíneos y mostraron forma triangular con un núcleo apical o central, (Láminas VII, VIII, IX, X y IX). Durante el otoño también en organismos neoténicos, estas células presentaron un gran tamaño y morfología diferente, ovaladas o redondas y con intensa reacción PAS+ por todo el citoplasma (Lámina IX fig. 3).

Las células acidófilas presentaron una distribución homogénea en la adenohipófisis, localizándose en mayor abundancia en la parte caudal de la *pars* distalis, la mayoría de estas células se observaron columnares, con un núcleo apical de forma oval (Lámina II. Fig.1 y 2); otras células presentaron una forma ovalada con un núcleo central o excéntrico y de forma oval; estas células se

observaron en mayor abundancia durante la estación de invierno.

RESULTADOS MORFOMETRICOS DE LOS ORGANISMOS

De acuerdo a los datos merísticos corporales que se tomaron de los organismos y con base en la clasificación que hacen Hassinger et al (1970); Wilbur y Collins (1973) Brandon (1976) y con las observaciones de Rivas (datos no publicados), se pudieron determinar cuatro etapas de desarrollo de la población de *A. tigrinum* colectada: larvas tempranas (LTE), larvas tardías (LTA), adultos neoténicos (NEO) y salamandras (SAL). Las características consideradas fueron las siguientes: peso corporal, longitud total, longitud de la branquia y amplitud del pliegue de la aleta media caudal (media caudal), encontrándose que en la primera los neoténicos tuvieron los valores más altos significativos en comparación a los otros estadios de las 4 estaciones del año (Cuadros 1), en la longitud total los neoténicos tuvieron los valores significativos en las estaciones de verano, otoño e invierno (cuadro 2), en la longitud de la branquia solo se tuvieron diferencias en verano teniendo el valor mas alto significativamente los neoténicos (Cuadro 3); en la media caudal no hubo diferencias significativas entre los tres estadios larvales. Para tener una mayor seguridad sobre la categorización sobre las etapas larvales, se consideraron otros parámetros como a) la longitud de la gónada, b) Índice de Condición Física (ICF) e c) Índice Hepatosomático (IHS). En la longitud de la gónada se observaron diferencias significativas entre los estadios en las estaciones de verano, otoño e invierno, observándose la mayor longitud de la gónada en los adultos neoténicos, (gráficas 1a, 1b y 1c). El Índice de Condición Física (ICF) durante la estación de otoño mostró diferencias significativas en cuanto al desarrollo corporal de los organismos de los diferentes estadios, encontrándose el ICF para los adultos neoténicos 48%, 43% y 57% mayor respecto a larvas tempranas, larvas tardías y salamandras (Gráfica 2a).

Durante el invierno también hubo diferencias en los cuatro estadios teniendo el ICF en los adultos neoténicos aumentos del 50%, 34% y 48% con

respecto a larvas tempranas, larvas tardías y salamandras (Gráfica 2b).

Se encontraron además disminuciones significativas entre los adultos neoténicos de primavera en comparación con invierno (Cuadro 4) y en las larvas tempranas de esta estación al compararla con otoño.

El IHS mostró diferencias significativas en distintos estadios de las estaciones de invierno y verano. En invierno se tuvo un IHS para larvas tempranas 50% menor que para salamandras (Gráfica 3a). Durante el verano se tuvo un IHS 34% mayor para adultos neoténicos y 32% mayor para salamandras en relación con larvas tempranas (Gráfica 3b).

En cuanto a los mismos estadios de las diferentes estaciones se encontró que en el IHS hubo diferencia significativa en larvas tardías de primavera en comparación a las de otoño e invierno y en salamandras de verano en relación a las de primavera y otoño (Cuadro 5).

RESULTADOS MORFOMETRICOS DE LA GLANDULA HIPOFISIS

El análisis morfométrico de los ejes mayor y menor de la *pars* distalis, *pars* intermedia y *pars* nerviosa no mostraron diferencias ni entre las etapas de desarrollo ni entre las estaciones.

No se encontraron diferencias numéricas en las células gonadotropas ni en las tirotropas en los diferentes estadios de desarrollo ni en las distintas estaciones. Pero en cuanto al tamaño celular si se encontraron diferencias. Las células tirotropas de organismos neoténicos, en el invierno mostraron diferencias significativas entre los distintos estadios; al presentar las células aumentos significativos del 20% en el eje mayor y 9% en el eje menor en relación con salamandras; y del 21% en eje menor con respecto a larvas tempranas (Gráficas 4a y 4b). Morfológicamente también se pudo observar que una vez realizada la metamorfosis, las células tirotropas disminuyen su tamaño (Lámina VI).

En estos mismos organismos durante el otoño se observaron también aumentos significativos en el eje mayor de las células tirotropas del 10%, 20% y

25% en comparación con larvas tempranas, larvas tardías y salamandras respectivamente (Gráfica 4c).

En las células gonadotropas hubo un aumento significativo del 33% en el eje mayor en adultos neoténicos de la estación de invierno, en comparación con las larvas tardías (Gráfica 5a). Durante el otoño se obtuvieron aumentos significativos en el eje menor de los gonadotropos en adultos neoténicos en comparación con larvas tempranas y salamandras, siendo estos del 54% y 51% respectivamente (Gráfica 5b).

Las observaciones de campo mostraron en el otoño la presencia de una alta proporción de organismos neoténicos de gran talla y durante el invierno la presencia de gran cantidad de puestas de huevos, las cuales aún se encontraron en la estación de primavera, aunque más escasas.

VI. DISCUSION

La parte del sistema endocrino formado por el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides se encarga de regular la metamorfosis de Ambystoma tigrinum (Darras y Kuhn, 1984); en diversos estudios se ha observado que diversos factores extrínsecos e intrínsecos activan la metamorfosis (Wilbur y Collins, 1973) estimulando al sistema nervioso y este al eje hipotálamo-hipófisis-tiroides. Especies que tienen habitats acuáticos con medios hostiles pueden permanecer morfológicamente como larvas o realizar la metamorfosis de manera facultativa como A. tigrinum (Shaffer, 1983). Durante la etapa larvaria encontramos que las características externas que diferencian principalmente a larvas tempranas y tardías de adultos neoténicos, son peso, longitud total y longitud de las branquias, concordando estos parámetros con los utilizados por Hassinger et al (1970), Wilbur y Collins (1973) y Brandon (1976). Los cambios macroscópicos más sobresalientes que observamos en estos organismos una vez inducida la metamorfosis fueron, la disminución del peso corporal y de la media caudal, y la reducción y desaparición de la longitud de las

branquias, concordando estos resultados con los cambios metamórficos en anfibios reportados por Norman (1985) y por Really y Lauder (1990) quienes indican que los cambios más evidentes son los ocurridos en el aparato hiobranquial.

Con estos datos, y además el ICF y la longitud y anatomía de las gónadas, de los organismos colectados en su habitat natural fueron categorizados como larvas tempranas, larvas tardías y adultos neoténico, sin embargo para diferenciar con mayor certeza estos estadios, los resultados obtenidos se contrastaron con los de Rivas 1993 (datos no publicados), quien histológicamente encontró, en esta misma población, para larvas tempranas una gónada indefinida, para larvas tardías una gónada diferenciada pero inmadura y para neoténicos una gónada madura.

El patrón histológico de la glándula hipófisis de A. tigrinum se encuentra ya establecido desde larvas tempranas, por lo que asumimos que las transformaciones ontogénicas se dan previas a esta etapa de desarrollo (Mathews, 1986; Armstrong y Malacinski, 1989)

Los cambios sufridos durante la metamorfosis son básicamente provocados por las hormonas T3 Y T4 (Sawin et al, 1978; Larras et al, 1981; Norman et al, 1987; Jacobs et al, 1988) secretadas por la tiroides, la cual es estimulada por la TSH proveniente de la hipófisis que a su vez es estimulada por las neurosecreciones del hipotálamo, estas neurosecreciones no se producen en A. tigrinum a bajas temperaturas (Scott, 1988). En condiciones de captura, confinamiento o disminución del cuerpo de agua se incrementan significativamente estas hormonas; asimismo en organismos neoténicos en los meses de septiembre a noviembre se ha visto un incremento de T3 y T4 que se ha relacionado con el estrés (Norman y Norris, 1987). En el presente trabajo la metamorfosis se produjo en el laboratorio aproximadamente de 5 a 7 días después de la captura, en peceras con poca agua a una temperatura de 25 °C, lo que apoya lo citado anteriormente. También encontramos un aumento significativo en el tamaño de las células tirotrópicas en organismos neoténicos de otoño, lo que sugiere que en esta

época y estadio la metamorfosis puede estar favorecida .

En la glándula hipófisis de A. tigrinum el número de células tirotropas y gonadotropas no cambia significativamente durante todo el año en los diferentes estadios de desarrollo, sin embargo las diferencias significativas en el tamaño celular pueden ser consideradas como un índice para valorar su actividad.

El mayor desarrollo de las células tirotropas se observó en organismos neoténicos y el más bajo en salamandras, lo que sugiere que una vez verificada la metamorfosis la actividad tirotrópica disminuye, y por lo tanto también la actividad tiroidea, lo cual coincide con lo reportado por Larras et al (1981), quienes indican que una vez completada la metamorfosis disminuye la circulación de la hormona tiroidea a niveles muy bajos.

En este trabajo se pudo encontrar que existe un desfaseamiento por estadio entre el desarrollo de las células tirotropas y el desarrollo de la glándula tiroidea, habiendo mayor tamaño de las células tirotropas en neoténicos de otoño, mientras que el mayor tamaño de la glándula tiroidea se presentó en las salamandras de la misma estación lo cual sugiere una congruencia con los trabajos de Norris y Platt (1973), quienes han observado que durante la metamorfosis de A. tigrinum el aumento de TSH trae consigo un aumento progresivo en el tamaño y/o número de folículos tiroideos.

Parece existir una relación inversa entre el desarrollo tirotrópico y tiroideo en organismos neoténicos de la misma estación y en salamandras de la misma estación, lo que sugiere que además de ser asincrónico, el máximo desarrollo de las células tirotropas se corresponde con un mínimo en el desarrollo tiroideo.

A diferencia del desarrollo tirotrópico y tiroideo, en el desarrollo gonadotrópico y gonadal parece haber sincronía, los resultados morfológicos y morfométricos de las células gonadotropas de organismos neoténicos sugieren que durante las estaciones de otoño e invierno existe una mayor actividad de estas células; por otra parte en los organismos neoténicos se observa una relación entre el mayor desarrollo de estas células y el tamaño gonadal en las mismas estaciones lo cual apoya lo dicho por O'Connor (1969), Rastogi y Chiefl (1970),

Muller y Licht (1980) y Romer (1987) en que en A.tigrinum la ovulación es estimulada por gonadotropinas y progesterona y por Duellman (1985) en que la reproducción se realiza a mitad del invierno.

Un mínimo en los niveles de tiroxina se asocia con un pico en la actividad gonadal según Armstrong (1989), esto coincide con lo encontrado en este trabajo, ya que en organismos neoténicos cuando hay un mayor tamaño de las células gonadotropas y mayor desarrollo gonadal durante las estaciones de otoño e invierno hay una disminución en el desarrollo tiroideo.

Los organismos para su reproducción necesitan de un desarrollo corporal adecuado, el cual se puede valorar mediante el índice de condición física (Méndez de la Cruz et al, 1991,1992), en el caso de Ambystoma tigrinum los adultos neoténicos son los que presentaron el mayor índice de condición física en las estaciones de otoño e invierno, esto coincide con el desarrollo gonadal y con la actividad gonadotrópica, ya que durante estas estaciones las gónadas y las células gonadotropas presentan el mayor tamaño, sobre todo en otoño.

En general las diferencias tanto en las características corporales como en la morfometría celular de tirotropos y gonadotropos mostraron aumentos significativos en los organismos neoténicos, lo cual indica por un lado que estos organismos se pueden diferenciar fácilmente de los otros estadios larvales por sus características corporales externas sin necesidad de sacrificarlos, y por otro lado sugiere que en su condición adulta tiene todos los requisitos endócrinos para reproducirse y si lo requiere, experimentar la metamorfosis.

En general durante la metamorfosis el hígado pasa por una serie de cambios bioquímicos y morfológicos. Atkinson et al (1972) y Cohen et al (1978) encontraron que en el paso de hígado larval a adulto trae consigo los siguientes cambios: aumentos en la síntesis de DNA, rRNA, lípidos, elaboración de proteínas como la albúmina, ceroloplasmina, enzimas del ciclo de la urea y acumulación de glucógeno, dando como resultado una proliferación celular en este órgano. Nuestros resultados apoyan en estas investigaciones ya que se encontró que una vez finalizada la metamorfosis de A.tigrinum, en las estaciones de invierno y

verano, el tamaño del hígado aumentó significativamente, este incremento se pudo deber a los cambios que tiene el hígado tanto bioquímicos como morfológicos como consecuencia de la metamorfosis.

VII. CONCLUSIONES

1) Las transformaciones ontogenéticas de la glándula hipófisis de A. tigrinum se realizan en etapas previas a los organismos categorizados como larvas tempranas.

2) No hubo diferencias significativas en cuanto al tamaño de la glándula hipófisis de Ambystoma tigrinum al valorar por separado cada una de sus partes (nerviosa, intermedia y distal) en cada estación y estadio.

3) La ciclicidad estacional y el estado de desarrollo de los organismos afecta el desarrollo de las células tirotropas y gonadotropas hipofisarias.

4) En las poblaciones de células basófilas (gonadotropas y tirotropas), no existen diferencias significativas en cuanto a número pero si en cuanto a tamaño de las células, lo cual sugiere que los cambios significativos en tamaño representan la expresión morfológica de su actividad.

5) El mayor tamaño de las células gonadotropas y tirotropas se encontró en organismos neoténicos en las estaciones de otoño e invierno.

6) El la población de A. tigrinum analizada encontramos una correlación positiva entre el tamaño de la gónada y el tamaño celular de gonadotropos.

7) Encontramos también una correlación inversa entre el tamaño de la glándula tiroidea y el tamaño de las células tirotropas tanto en neoténicos como en salamandras.

LAMINAS

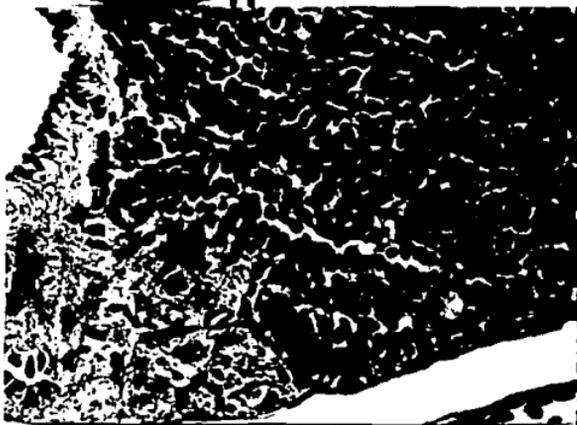
LAMINA I HIPOFISIS DE *Ambystoma tigrinum*.

Fig.1 LOCALIZACION EN LA BASE DEL ENCEFALO, A NIVEL DEL DIENCEFALO (D), CONECTADO A ESTE POR MEDIO DEL TALLO INFUNDIBULAR (TI). 31X. H-E.

Fig.2 NEUROHIPOFISIS FORMADA POR LA PARS NERVIOSA (PN) EMINENCIA MEDIA (EM) Y TALLO INFUNDIBULAR (TI). ADENOHIPOFISIS FORMADA POR LA PARS INTERMEDIA (PI) Y LA PARS DISTALIS (PD). 78X. H-E.

Fig.3 PARS INTERMEDIA FORMADA POR CELULAS MELANOTROPAS (M). 200X. H-E.

Fig.4 PARS NERVIOSA FORMADA POR FIBRA NERVIOSAS (FN) PRESENTANDO TAMBIEN VASOS SANGUINEOS ABUNDANTES (VS). 200X. H-E.

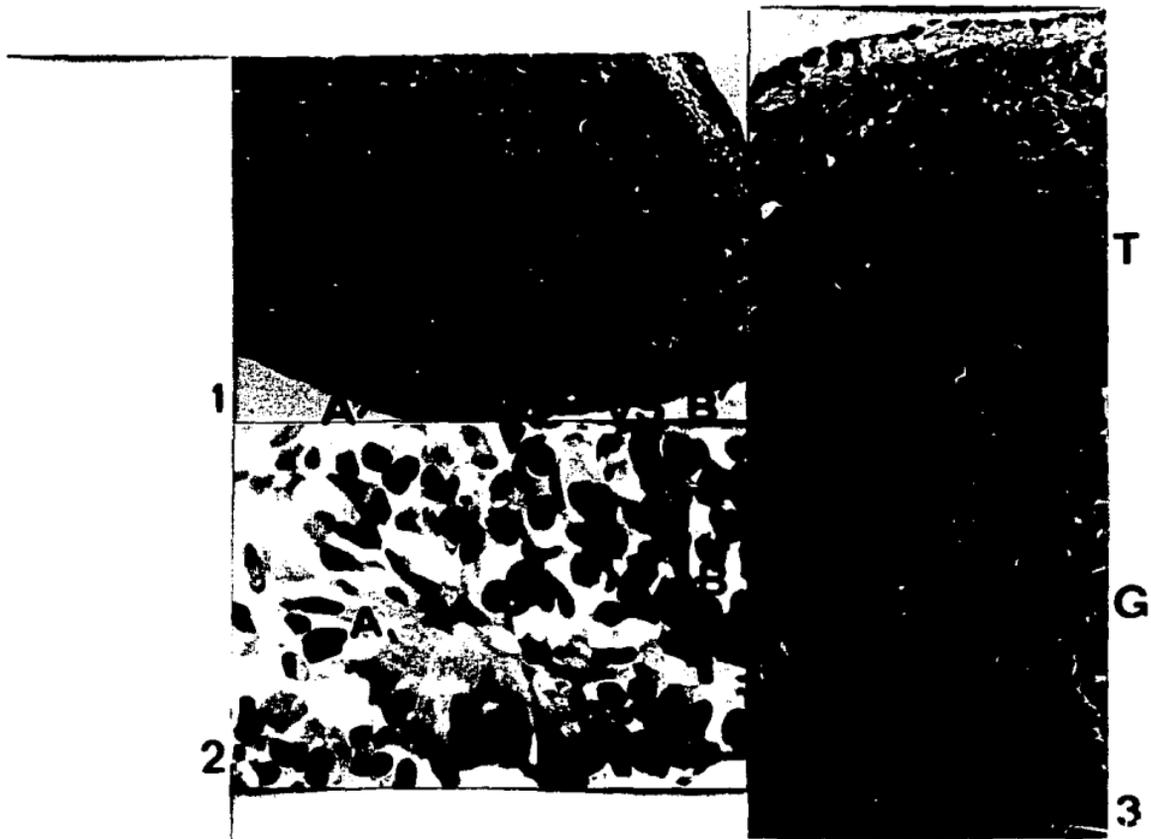


LAMINA II PARS DISTALIS.

Fig.1 CELULAS ACIDOFILAS (A) Y BASOFILAS (B) ALGUNAS DE ELLAS ALREDEDOR DE VASOS SANGUINEOS (VS). 200X. H-E.

Fig.2 CELULAS ACIDOFILAS (A) Y BASOFILAS (B). 500X. H-E.

Fig.3 CELULAS TIROTROPAS (T) DE FORMA REDONDA LOCALIZADAS EN LA REGION ROSTRO VENTRAL Y CELULAS GONADOTROPOS (G) DE FORMA ALARGADA LOCALIZADAS EN LA REGION POSTERIOR. 200X. PAS.



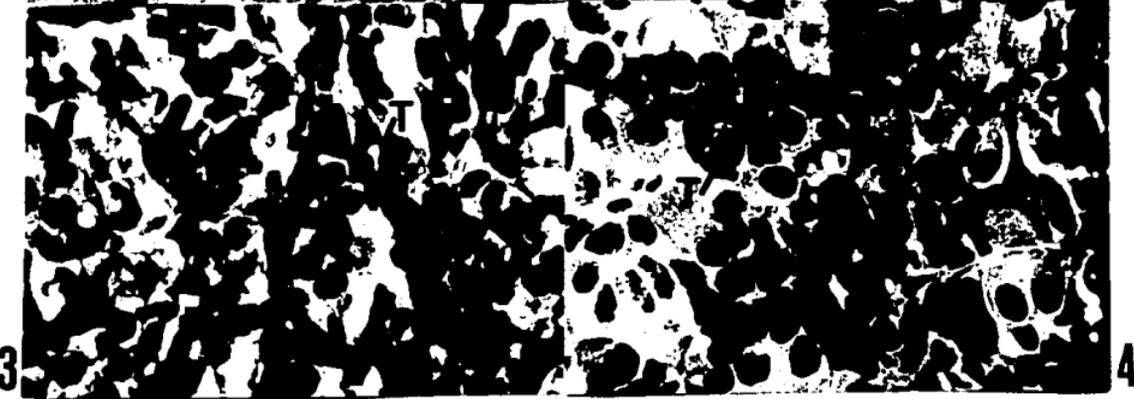
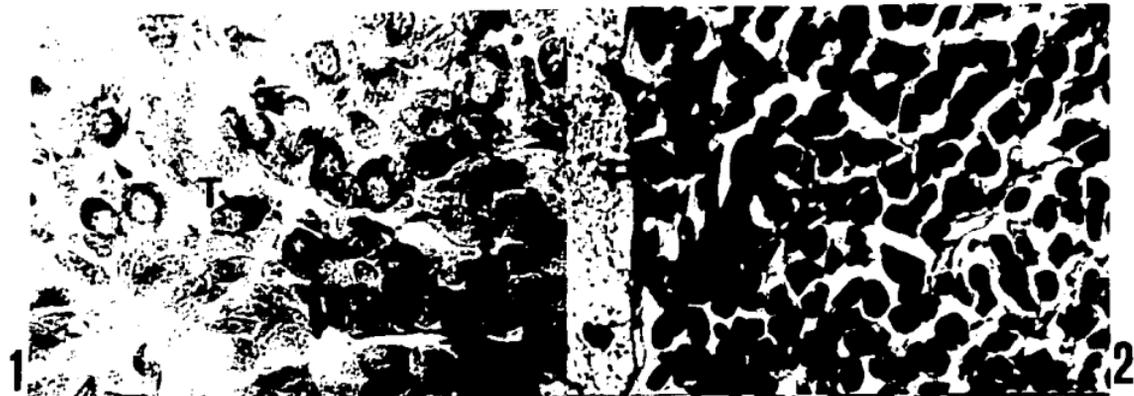
LAMINA IV. TIROTROPUS (T). 500X LARVA TARDIA.

Fig.1 PRIMAVERA PAS-ORANGE-G-AZUL DE METILO.

Fig.2 VERANO. PAS.

Fig.3 OTOÑO. PAS.

Fig.4 INVIERNO. PAS.



12

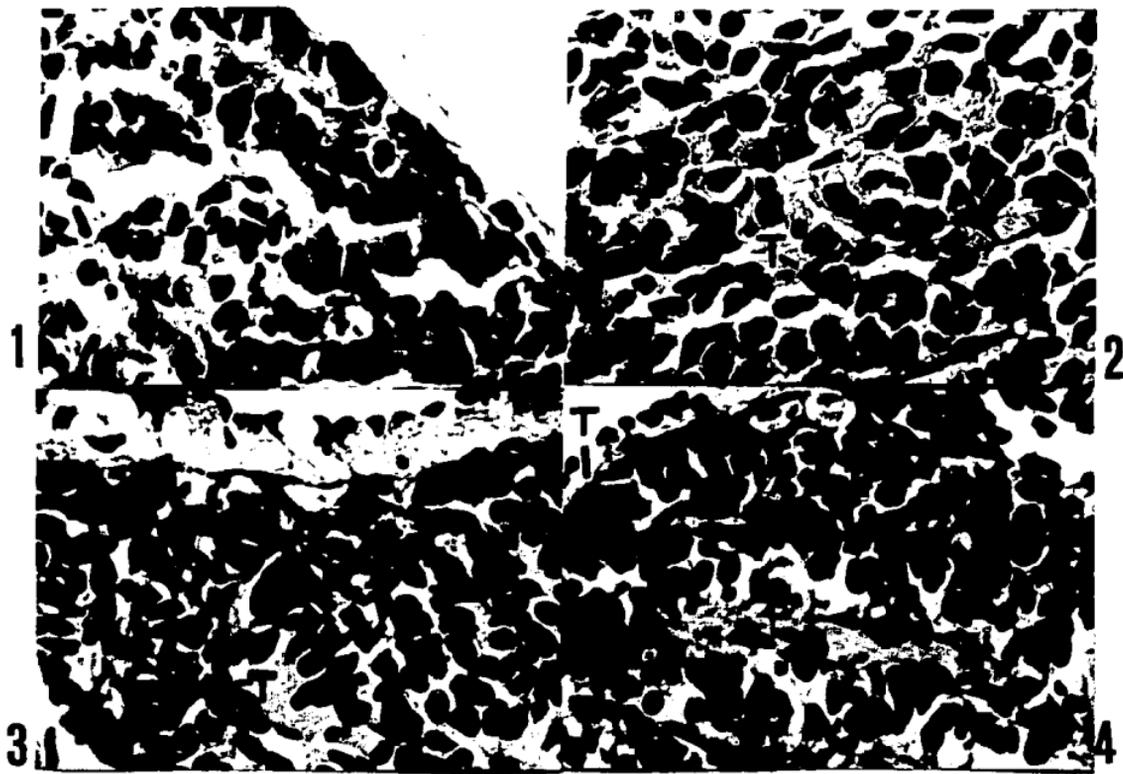
LAMINA VI TIROTROPIS (T). 500X SALAMANDRA.

Fig.1 PRIMAVERA. PÁS.

Fig.2 VERANO. PAS.

Fig.3 OTOÑO. PAS.

Fig.4 INVIERNO. PAS.



**LAMINA VII GONADOTROPOS. 500X. LARVA
TEMPRANA.**

**Fig.1 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE FORMA
ALARGADA. ESTACION PRIMAVERA. PAS.**

Fig.2 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE VERANO. PAS.

Fig.3 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE OTOÑO. PAS.

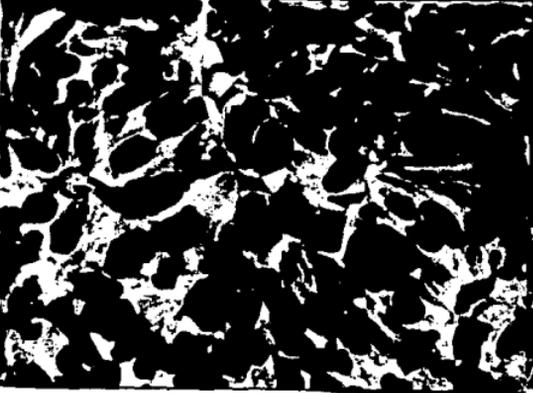
Fig.4 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE INVIERNO. PAS.



1



2



3



4

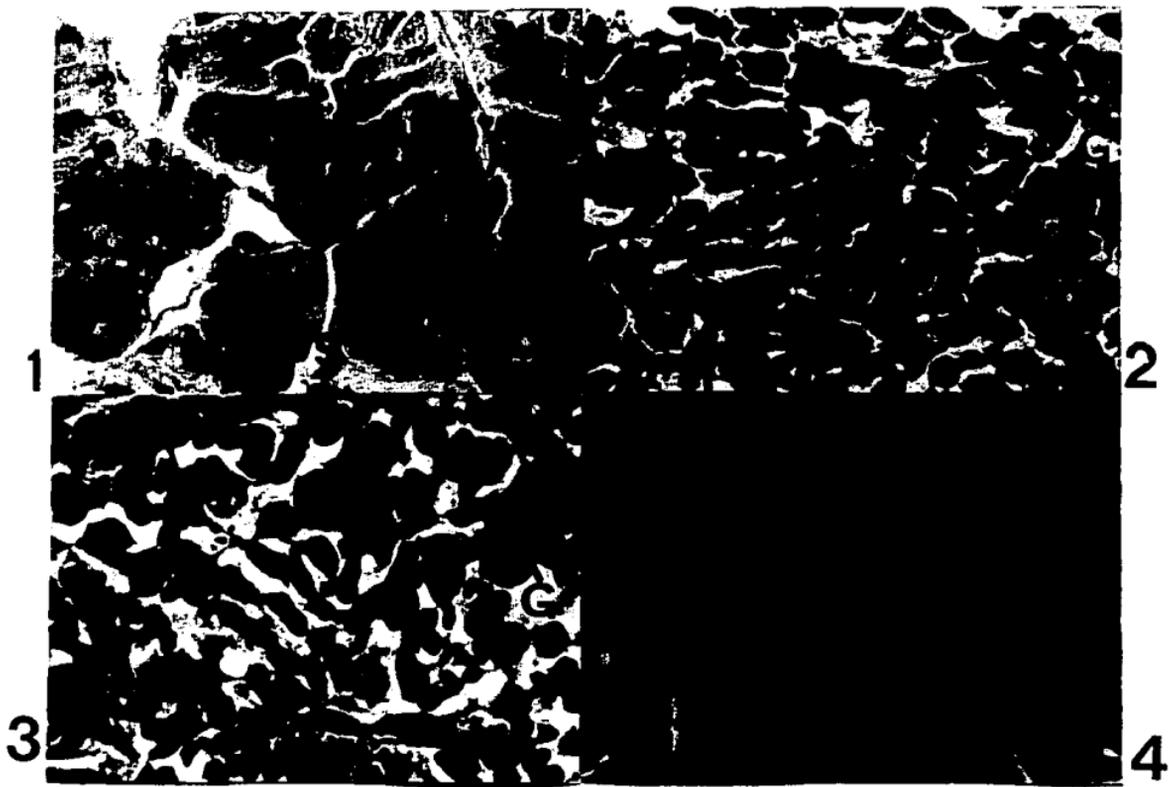
LAMINA VIII GONADOTROPOS. 500X LARVA TARDIA.

Fig.1 CELULAS GONADOTROPAS (G) ALREDEDOR DE VASOS SANGUINEOS (VS) DE PRIMAVERA. PAS-ORANGE-G-AZUL DE METILO.

Fig.2 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE VERANO. PAS.

Fig.3 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE OTOÑO. PAS.

Fig.4 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE INVIERNO. PAS.



LAMINA IX GONADOTROPOS. 500X. NEOTENICO.

Fig.1 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE PRIMAVERA. PAS.

**Fig.2 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE FORMA
ALARGADA. ESTACION VERANO. PAS.**

**Fig.3 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE FORMA REDONDA
CON REACCION PAS INTENSA. ESTACION OTOÑO. PAS.**

**Fig.4 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE FORMA
ALARGADA CON REACCION PAS INTENSA. ESTACION
INVIERNO. PAS.**

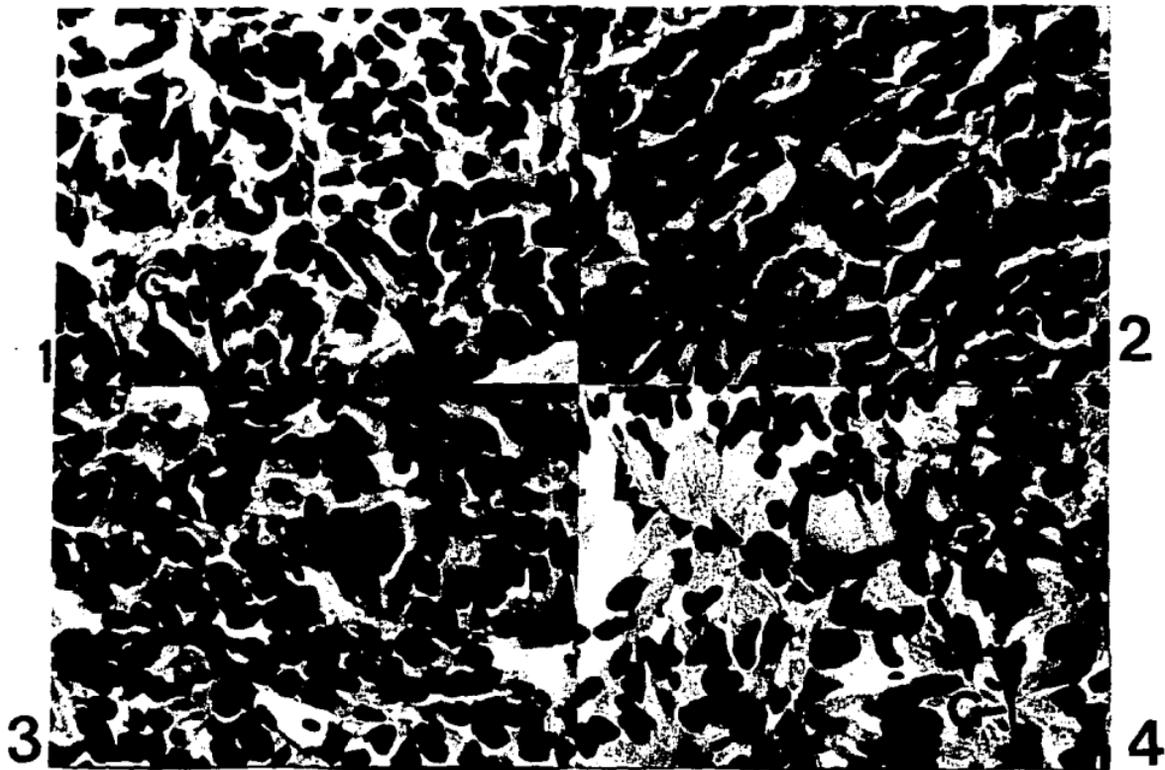
LAMINA X GONADOTROPOS. 500X SALAMANDRA.

Fig.1 CELULAS GONADOTROPAS (G) PEQUEÑAS Y DE FORMA MUY ALARGADA. ESTACION PRIMAVERA. PAS.

Fig.2 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE VERANO. PAS.

Fig.3 CELULAS GONADOTROPAS (G) ALARGADAS. ESTACION OTOÑO. PAS.

Fig.4 CELULAS GONADOTROPAS (G) DE FORMA ALARGADA CON REACCION PAS+ INTENSA. ESTACION INVIERNO. PAS.



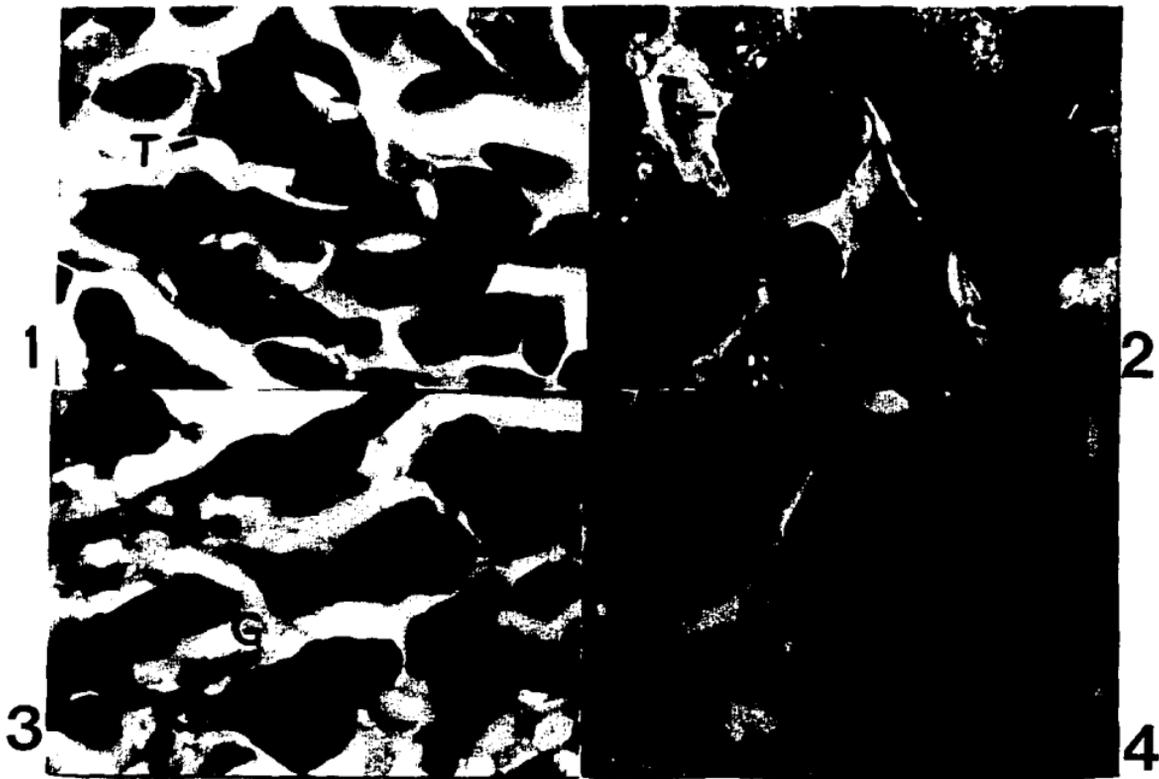
LAMINA XI TIROTROPAS Y GONADOTROPAS 1250X

Fig.1 CELULAS TIROTROPAS (T) DE LARVA TARDIA DE VERANO.

Fig.2 CELULAS TIROTROPAS (T) RODEANDO UN VASO SANGUINEO (VS). NEOTENICO DE OTOÑO.

Fig.3 CELULAS GONADOTROPAS (G). LARVA TARDIA DE VERANO.

Fig.4 CELULAS GONADOTROPAS (G). NEOTENICO DE INVIERNO.



**CUADROS
Y
GRAFICAS**

CUADRO.1 PESO CORPORAL (g)

ESTADIOS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
L.TE	29.3+/-3.3	40+/-6	50.3+/-3.8	51+/-10.6
L.TA	44.9+/-4.7	78+/-2.7	61.4+/-8.6	69.6+/-2.6
NEO	166+/-3.43*	153+/-14.7*	125.4+/-5.6*	125.4+/-5.6*
SAL	40.6+/-5.9	48+/-11.8	39.7+/-7.7	60.7+/-10.2

CUADRO.2 LONGITUD TOTAL (cm)

ESTADIOS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
L.TE	15.9+/-0.5	16+/-0.6	18.4+/-0.6	19.2+/-1.4
L.TA	18.8+/-0.7	20.8+/-1.7	18.9+/-1.7	20.9+/-0.3
NEO	21.3+/-2.3	24.7+/-1.3*	25.6+/-1.3*	25.7+/-0.4*
SAL	19+/-0.7	19.3+/-1.2	18+/-0.96	22.2+/-1.2

CUADRO.3 LONGITUD DE LA BRANQUIA (mm)

ESTADIOS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
L.TE	16.1+/-1.3	22.8+/-1.6	23.7+/-1.2	21+/-3.3
L.TA	17.3+/-1.8	17.1+/-5.8	26.8+/-6	24.6+/-0.97
NEO	18.4+/-6.7	48.8+/-11.6*	30.4+/-2.7	31.2+/-1.8
SAL	0.00+/-0.00	1.5+/-0.8	0.00+/-0.00	3.6+/-3.8

*Organismos neoténicos que tuvieron un aumento significativo en comparación con los otros estadios en las estaciones indicadas ($gl=18$, $p < 0.05$).

CUADRO.4 INDICE DE CONDICION FISICA (ICF) (g/cm)

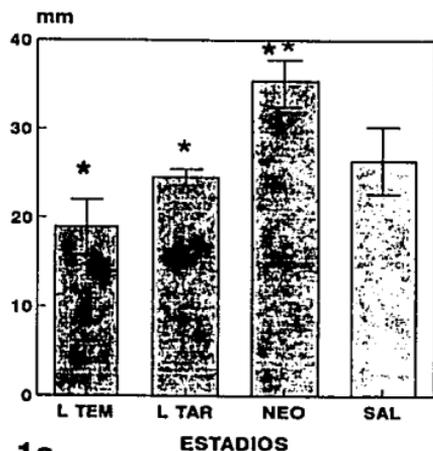
ESTADIOS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
L.TE	331.3+/-24 *	497.6+/-66	523.8+/-26**	494.7+/-76
L.TA	614.7+/-0.80	718.6+/-23	679.4+/-38.6	646+/-19
NEO	613.7+/-22 *	1171+/-63	1004.6+/-111	983.8+/-38**
SAL	347+/-8.3	464+/-64	441.7+/-66.8	521+/-63.8

CUADRO.5 INDICE HEPATOSOMATICO (IHS) (g)

ESTADIOS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
L.TE	2.9+/-0.3	4.8+/-0.4	4.4+/-0.3	3.6+/-0.7
L.TA	1.6+/-0.7 **	7.8+/-1.9	7.9+/-1.9 *	6.4+/-0.3 *
NEO	8.9+/-1.7	6.3+/-0.2	5.5+/-1	4.9+/-0.2
SAL	5.4+/-0.5 *	10.7+/-1**	6.4+/-0.3 *	7.1+/-1.2 *

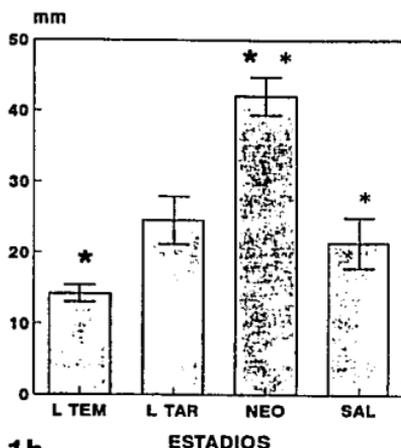
**Organismos que fueron significativos en comparación a los de las otras estaciones indicadas (gl=18, p<0.05).

LONGITUD DE LA GONADA EN INVIERNO



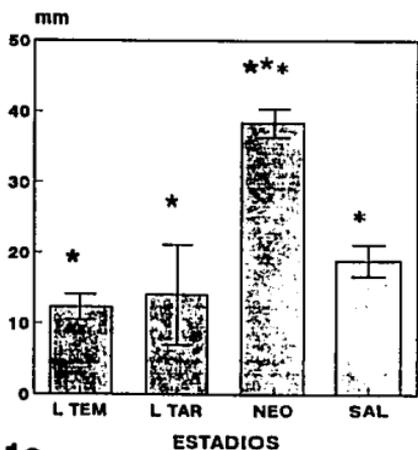
1a

LONGITUD DE LA GONADA EN VERANO



1b

LONGITUD DE LA GONADA EN OTOÑO



1c

LONGITUD DE LA GONADA DE INVIERNO, VERANO Y OTOÑO.

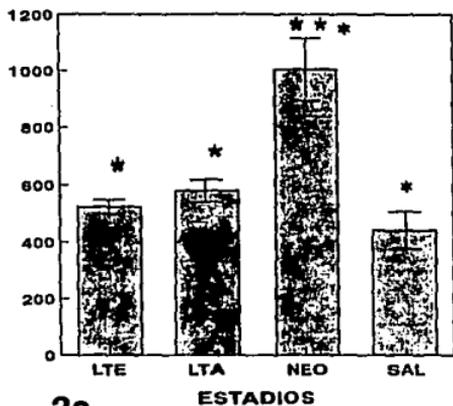
* LARVAS TEMPRANAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

* LARVAS TARDIAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

* SALAMANDRAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

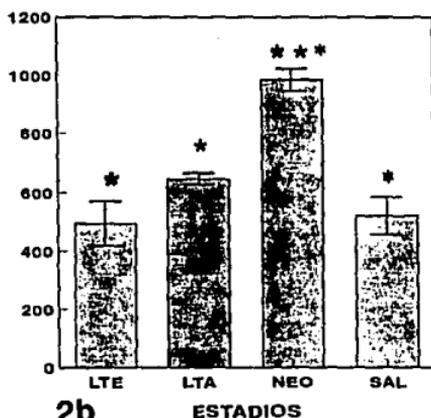
($gI=18$, $p=0.05$).

ICF OTOÑO



2a

ICF INVIERNO

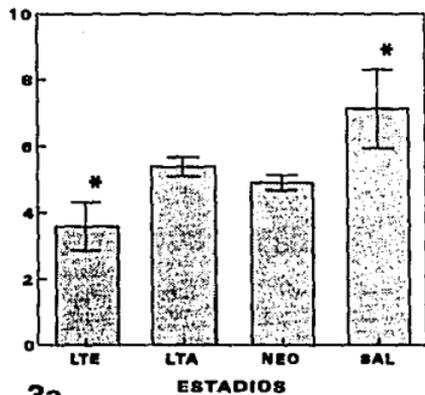


2b

ICF (INDICE DE CONDICION FISICA) DE OTOÑO E INVIERNO.

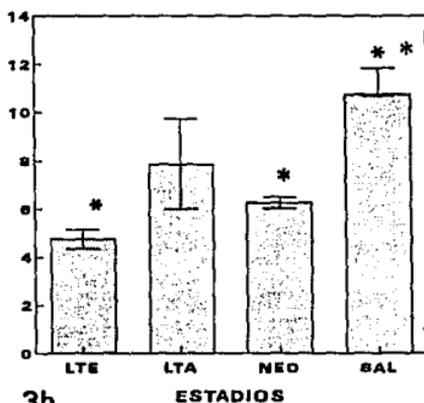
- *LARVAS TEMPRANAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.
 - *LARVAS TARDIAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.
 - *SALAMANDRAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.
- ($g=18$, $p<0.05$).

IHS
INVIERNO



3a

IHS
VERANO



3b

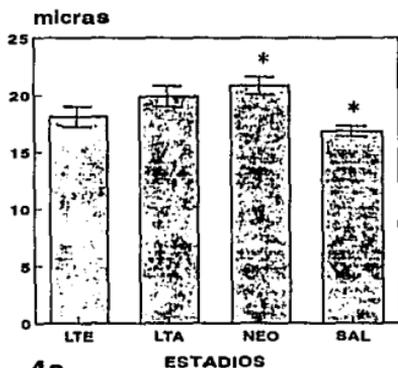
IHS (INDICE HEPATOSOMATICO) DE INVIERNO Y VERANO.

* LARVAS TEMPRANAS CON RESPECTO A SALAMANDRAS.

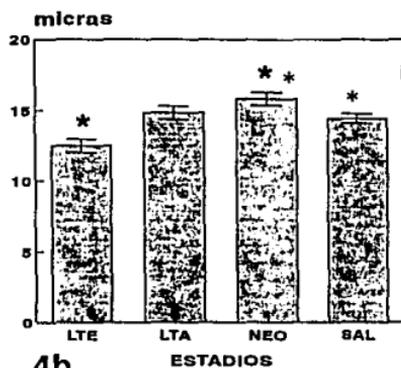
* NEOTENICOS CON RESPECTO A SALAMANDRAS.

(gl=18; $P < 0.05$).

**EJE MAYOR TIROTROPOS
INVIERNO**



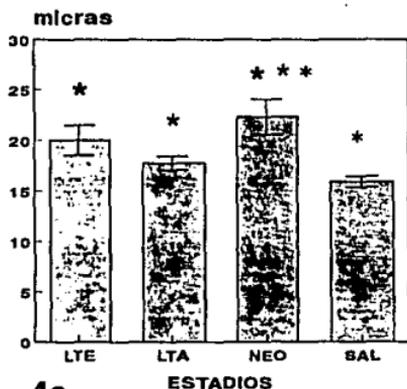
**EJE MENOR TIROTROPOS
INVIERNO**



4a

4b

**EJE MAYOR TIROTROPOS
OTOÑO**



4c

**EJE MAYOR Y MENOR DE
TIROTROPOS DE INVIERNO Y
OTOÑO.**

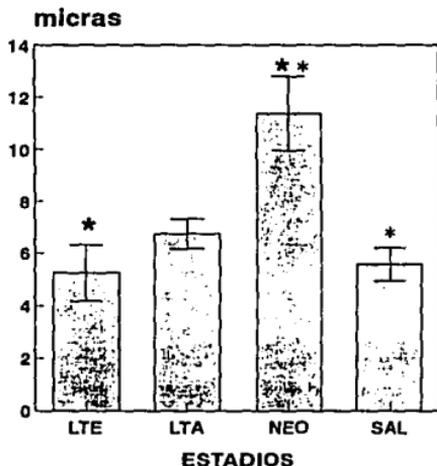
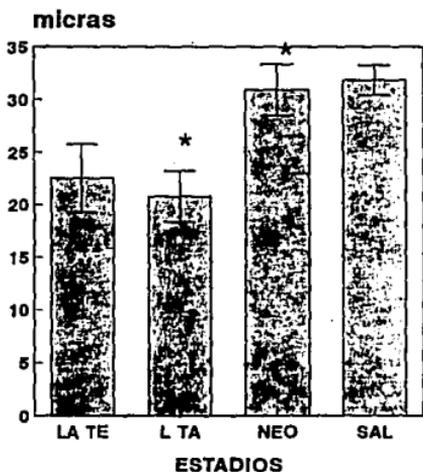
*LARVAS TEMPRANAS CON
RESPECTO A NEOTENICOS.

*LARVAS TARDIAS CON
RESPECTO A NEOTENICOS.

*SALAMANDRAS CON
RESPECTO A NEOTENICOS.

($g1=15$, $p<0.05$).

EJE MAYOR DE GONADOTROPOS EJE MENOR GONADOTROPOS
INVIERNO OTOÑO



EJE MAYOR Y MENOR DE GONADOTROPOS DE INVIERNO Y OTOÑO.

*LARVAS TEMPRANAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

*LARVAS TARDIAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

*SALAMANDRAS CON RESPECTO A NEOTENICOS.

(gl=15. $p < 0.05$).

BIBLIOGRAFIA

- Alvarez del Villar, J. 1979. Anatomía Comparada Básica. Edit. Trillas. México. pp. 548-549.
- Andrew, W. and Hickman, P. C. 1974. Histology of the Vertebrate. Edit the C.V. Mosby Company. U.S.A. pp. 316-323
- Armstrong, B. J. and Malacinski, M. G. 1989. Developmental Biology of the Axolotl. Edit. Oxford University Press. Nueva York. pp 37-39, 187-197, 203-214.
- Ashley, A. M., Reilly, M. S., and Lauder, V. G. 1991. Ontogenetic Scaling of Hindlimb Muscles across Metamorphosis in the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. 3:767-776.
- Atkinson, B. G., Atkinson, K. H., Just, J. J., and Friend, E., 1972. *Dev. Biol.* 29:162
- Balinski, B. I. and Fabian, B. C. 1983. Introducción a la Embriología. Edit. Omega. España. pp. 535-545.
- Ball, j. 1981. Hypothalamic control of the pars distalis in fishes, amphibians and reptiles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 44:135-170.
- Banks, J. W. 1986. Histología Veterinaria Aplicada. Edit. El Manual Moderno. México. pp. 573-583.
- Barrington, E. J. W. 1977. Introducción a la Endocrinología General y Comparada. Edit. H. Blume. Madrid. pp. 65-165.
- Bentley, P. J. 1982. Comparative Vertebrate Endocrinology. Edit. Cambridge University Press. pp. 15-24 115-128.
- Blatt, L. M., Slickers, K. A., and Kim, K. M. 1969. Effect of Prolactin on thiroxine-Induced Metamorphosis. *Endocrinology.* 85:1213-1215.
- Brandon, A. R. 1976. Spontaneous and Induced Metamorphosis of *Ambystoma dumerilli* (Duges). A Paedogenetic Mexican Salamander Under Laboratory Condition. *Herpetologica.* Vol.32(4):429-434.
- Callard, I. P., Callard, G. V., Lance, V., Bollaffi, J. L., and Rosset, J. S. 1978. Testicular regulation in no mammalian vertebrates. *Biol. Reprod.* 18:16-43

Callard, G. V., Canick, J. A., and Padney, J. 1980. Estrogen synthesis in Leyding cells: Structural-funtional correlations in Necturus testis. Biol. Reprod. 23:461-479.

Cano, M. A., y Asai, C. M. 1993. La unidad hipotálamo-hipófisis de *Ambystoma mexicanum* y los cambios en la concentración de encefalinas a lo largo de las diferentes etapas de la metamorfosis inducida con tiroxina (T4). Anales del Instituto Mexicano de Psiquiatría. pp. 23-30.

Cano, M. A., Vargas, G. a., y Matamoros, T.G. 1993. Diferencias regionales en la concentración de IR-Metionina-E IR-Leucina-Encefalina en el cerebro y en la hipófisis del anfibio Urodelo *Ambystoma tigrinum* antes y después de la metamorfosis. Anales del Instituto Mexicano de Psiquiatría. pp. 101-110.

Cardell, R. R. 1964. Observation on the Cell Types of the Salamander pituitary Gland; an Electron Microscopy Study. J. Ultrastructure Research. 10:317-333.

Cardell, R. R. 1970. The Ultrastructure of Stellate Cells in the Pars Distalis of the Salamander Pituitary Gland. Am. J. Anat. 126: 429-456.

Cohen, P. P., Brucker, R. F., and Morris, S. M. 1978. Hormonal Protein and Peptides. Academic Press. New York. pp.273-381.

Colleman, J. G. 1978. Introduction to Herpetology. W. H. Freeman and Company. N.Y. pp. 378, 206-208.

Darras, V. M., and Kuhn, E. R. 1984. Difference of the in Vivo Responsiveness to Thyrotropin Stimulation between the Neotenic and Metamorphosed Axolotl, *Ambystoma mexicanum*: Failure of Prolactin to Block the Thyrotropin- Induced Thyroxine Release. Gen. Comp. Endocrinol. 56: 321-325.

Dellman, H. D., Stoeckel, M., Hindelang-Gertner, C. Porte, A., and Statinsky, F. 1974. A comparative ultraestructural study of the pars tuberalis of various mammals, the chicken and the newt. Cell Tiss Res. 148:313-329.

Delson, J. and Whitford, W. G. 1973. Adaptation of the tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*, to Arid Habits. Comp. Biochem. Physiol. 46A:631-638.

De Ruyter, M. and Stiffler, F. 1986. Interrenal Function in Larval *Ambystoma tigrinum*. II. Control of Aldosterone Secretion and Electrolyte Balance by ACTH. Gen. Comp. Endocrinol. 62:298-305.

Dores, R. M., Meza, J. C., Schenk, L. M., Carr, J. A., and Norris, D. O. 1989. Detection of the Adrenocorticotropin-Related and α -Melanocyte-Stimulating-Hormone-Related Substances in the Anterior Pituitary of the Larval and Adult *Ambystoma tigrinum* (Class Amphibia). Endocrinology. 124(2):1007-1016.

Dores, R. M., Schenk, L. M., and Rothenberg, M. E. 1987. Insolation of α -Melanotropin from the Pars Intermedia of the Larval Amphibian, *Ambystoma tigrinum*. Gen. Comp. Enocrinol. 68:322-330.

Ducibella, T. 1974. The Occurrence of Biochemical Methamorphic Events with out Anatomical Metamorphosis in the Axolotl. Devel. Biol. 38:175-186.

Duellman, E. W. 1985. Biology of the amphibian. Edit. MacGraww-Hill. México. pp. 173-194.

Estrada, F. E., Peralta, Z. Y., Rivas, M. P. 1982. Manual de Técnicas Histológicas. Edit. AGT. México. pp. 140.

Eckert, R. 1988. Animal Physioly. Mechanisms and adaptations. Edit. W. H. Freeman and Company, Nueva. York. pp. 298-299.

Fawcett, D.W. 1989. Tratado de Histología. Edit. Interamericana. McGraw-Hill. México. pp. 500-502.

Fox, H. 1983. Amphibian Morphogenesis. Edit. Humana Press. New Yersey. U.S.A. pp 61-73.

Galton, V. A. 1991. Thyroid Hormone Receptors and Iodothyronine Deiodinases in the Developing Mexican Axolotl, *Ambystoma mexicanum*. Gen. Comp. Endocrinol. 85:62-70.

Garey, W. R., Wood, S.C., and Mancha, V. M. 1987. Effects of Metamorphosis on Water Permeability of Skin in the Salamander, *Ambystoma tigrinum*. Comp. Biochem. Physiol. 86A(3):429-432.

Genesser, F. 1988. Histología. Edit. Médica Panamericana. S.A. México. pp.513.

Gilbert, I. R., and Earl, F. 1981. Metamorphosis. Plenum. Press. Nueva York and London. pp. 361-395.

Gona, A. G., and Elkin, W. 1970. Inhibition of Metamorphosis in *Ambystoma tigrinum* by Prolactin. Gen. Comp. Endocrinol. 14:589-603.

Gona, O., and Gona, A. G. 1973. Action of Human Placental Lactogen on second Metamorphosis in the Newt *Notophthalmus viridescens*. Gen. Comp. Endocrinol. 21:377-380.

Grant, Jr., W. C. 1966. Endocrine induced courtship in tree species on European newts. Am Zool. 6:585.

Guyton,, C. A. 1972. Fisiología y Fisiopatología básica, Edit. Interamericana. México. pp.497-504.

Ham, W. A. 1975. Tratado de Histología. Edit. Interamericana. México. pp. 729-748.

Hassinger, D. D., Anderson, D. J. and Dalrymple, H. G. 1970. The Early Life History and Ecology of *Ambystoma tigrinum* and *Ambystoma opacum* in New Jersey. The American Midland Naturalist. 2:474-495.

Hildenbrand, M. 1982. Anatomía y Embriología de los Vertebrados. Edit. Limusa. México. pp. 508-510.

Hoar, S. W. 1978. Fisiología General y Comparada. Ed. Barcelona España. 885 pp.

Jacobs, M. G. F., and Kuhn, R. E. 1988. Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Induces Thyroxine Release Together with Testosterone in the Neotenic Axolotl *Ambystoma mexicanum*. Gen. Comp. Endocrinol. 71:502-505.

Jacobs, G. F. M., Michielsen, R. P.A., and Kuhn, E. R. 1988. Thyroxine and Triiodothyronine in Plasma and Thyroids of the Neotenic and Metamorphosed Axolotl *Ambystoma mexicanum* Influence of TRH injections. Gen. Comp. Endocrinol. 68:322-330.

Jamerson, Jr. E. W. 1981. Patterns of Vertebrate Biology. Edit. Springer-Verlag. Nueva York. Heidelberg. Berlin. pp. 111, 361,593,477.

Junqueira, L. C., y Carneiro, J. 1981. Histología básica. Edit. Salvat. España. pp. 391-400.

Kandel, E. R., and Schuwartz, J. H. 1985. Principles of Neurol Science. Edit. Elsevier. U.S.A. pp. 612-625.

Kirschner, L. B., T. Kerstetter; D. Porter; and Alvarado, P. H. 1971. Adaptation of larval *Ambystoma tigrinum* to concentrated environmet. Am. Journal. of Physiology. 220(6):1814-1819.

Larras, R. E., Schimtt, M., and M, Dorris. 1981. Plasma T4 and T3 Levels in *Ambystoma tigrinum*. at Various Stages of Metamorphosis. Gen. Comp. Endocrinol. 43:443-450.

Leake, D. L. 1975. Comparative Histology. Edit. Academic Press. London. pp. 575.

Lesson, R. C., y Leeson. S. T. 1981. Histología. Edit. Interamericana. México. pp. 459-470.

Lofts, B. 1974. Physiology of the amphibian. Vol.II Academic. press. pp. 30-42, 52-101,464-473.

Luna, L. G. 1968. Manual of Histologic Staining. Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Edit. McGraw- Hill. U.S.A. pp. 258.

Macdonald, 1990. The macdonald encyclopedia of amphibians and Reptiles. A Macdonald Orbis Book. pp 256.

Macfarland. N. W. 1989. Vertebrate life. Macmillan Publishing Company. pp. 404-406.

Malacara, J. M. 1978. Fundamentos de Endocrinología clínica. Edit. Prensa Médica Mexicana. pp. 8-31.

Mathews, W.W. 1986. Atlas of Descriptive Embriology. Edit. Macmillan Publishing Company. New. York. pp 271.

Méndez de la Cruz, R. F., Gutiérrez-Mayén, G. 1991. Variación de la robustez física de *Sceloporus torquatus* (Sauria: Iguanidae) y sus implicaciones sobre la temporada de reproducción. Acta Zoologica Mexicana. 46:1-12.

Méndez de la Cruz, R. F., Casas-Andrew. G., Villagran-Santa Cruz. M. 1992. Variación anual en la alimentación y condición física de *Sceloporus mucronatus*. (Sauria: Iguanidae) en la Sierra del Ajusco, Distrito Federal, México. The Southwestern Naturalist. 37(4):349-355.

Model, P. G. 1978. Aspects of Mauthner Cell Differentiation in the Axolotl, *Ambystoma mexicanum*. Amer. Zool. 18:253-265

Moore, F. L., and Miller, L. J. 1984. Stress induced inhibition of sexual behavior: Corticosterone inhibits courtship behaviors of male amphibian. Horm. Behav. 18:400-410.

Muller, C. H. 1976. Steroidogenesis in male Bullfrog, *Rana catesbeiana*. Regulation by purified bullfrog gonadotropins. Ph. D. Dissertation University of California, Berkeley.

Muller, C. H. and Licht, P. 1980. Gonadotropin Specificity of Androgen secretion by Amphibian Testes. Gen. Comp. Endocrinol. 42:365-377. A Practical Method for Staging

Noble, G. K. 1954. The biology of the Amphibian. Dover Publication. New York. pp. 290-331.

Norman, F. M. 1985. A practical Method for Staging Metamorphosis in the Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. The Anatomical Record. 211:102-109.

Norman, F. M., and Norris, D. O. 1987. Effects of Metamorphosis and Captivity on the in vitro Sensitivity of Thyroid Gland from the Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum* to Bovine Thyrotropin. Gen Comp. Endocrinol. 67:77-84.

Norman, F. M., Carr, J. A., and Norris, D. O. 1987. Adenohypophysial-Thyroid Activity of the tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*, as a Function of Metamorphosis and Captivity. Gen. Comp. Endocrinol. 242:55-56.

Norris, D. O., Jones, R. E., and Crisley, B. B. 1973. Pituitary Prolactin Levels in Larval, Neotenic and Metamorphosed Salamander (*Ambystoma tigrinum*). Gen. Comp. Endocrinol. 20:437-442.

Norris, D. O., Jones, R. E., and Corben D. C. 1973. Effects of Mamalian Gonadotropins (LH y FSH) and Gonadal Steroid on *Ambystoma tigrinum*.

(Amphibia:Caudata). Gen. Comp. Endocrinol. 20:467-473.

Norris, D. O., and Platt, J. E. 1973. Effects of Pituitary Hormones, Melatonin, and Thyroidal Inhibitors on Radiodide Uptake by the Thyroid Gland of Larval and Adult Tiger Salamander *Ambystoma tigrinum*. (Amphibia:Caudata). Gen. Comp. Endocrinol. 21:368-376.

Norris, D. O., Duvall; K. Greendale., and W. A. Gern. 1977. Thyroid Function in Pre and Postpawning Neotenic Tiger Salamander (*Ambystoma tigrinum*.) Gen. Comp. Endocrinol. 33:512-517.

Norris, D. O., and Duvall, D. 1981. Hormone-induced ovulation in *Ambystoma tigrinum*: Influence of prolactin and thyroxine. J. Exp. Zool. 216:175-180.

Norris, D. O., W. A. Gern., and K. Greendale. 1981. Diurnal and Seasonal Variations in Thyroid Functions of Neotenic Salamanders (*Ambystoma tigrinum*). Gen. Comp. Endocrinol. 45:134-137.

Norris, D. O. 1985. Vertebrate Endocrinology. Lea Febiger. USA.

Norris, D. O., Norman, M. F., Pancak, M. K., and D. Duvall. 1985. Seasonal variations in Spermatogenesis, Testicular Weights, Vasa Diferentia, and Androgen levels in Neotenic Male Tiger Salamander, *Ambystoma tigrinum*. Gen. Comp. Endocrinol. 60:51-57.

Norris, D. O. and Jones, R. 1987. Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians and Reptiles. Plenum Press, New York.

O'Connor, J. M. 1969. Effect of melatonin on in vitro ovulation of frog oocyte. Am. Zool. 9:577.

Paniagua, R., Nistal, M. 1983. Introducción a la Histología animal comparada. Edit. Labor Universitaria. Barcelona. España. pp. 264-268.

Pearson, K. A, and Licht, P. 1987. Seasonal Changes in a Lizard Pituitary: Immunocytochemistry and Ultrastructural Morphometry of Lactotropes, Corticotropes, and Gonadotropes. Journal of Morphology. 193:225-239.

Peter, R., and Nistal, M. 1983. Evolution of neurohormonal regulation of reproduction in lower vertebrates. Amer. Zool. 23:685-695.

Pirlot, P. 1976. Morfología evolutiva de los cordados. Edit. Omega. Barcelona. pp.853-854.

Pope, Clifford. H. 1947. Amphibians and Reptiles of the Chicago Area. Edit. Chicago Natural History Museum. U.S.A. pp 46-52.

Rastogi R. K. and Chieffi G. 1970. Citological Changes in the pars distalis of Pituitary of the Green Frog, *Rana esculenta* L., during the Reproductive Cycle. Z. Zellforsch. 111:505-518.

Really, S. M., and Lauder, G. V.1990. Metamorphosis of Cranial Design in Tiger Salamanders (*Ambystoma tigrinum*): A Morphometric Analysis of Ontogenetic Changes. Journal of Morph. 204.121-137.

Romer, S.A. 1987. Anatomía comparada. Edit. Interamericana. México. pp 497-504.

Sawin, C. T., Bolaffi, J. L., Gallard, I. P, Bacharach, and Jackson, I. M. 1978. Induced Metamorphosis in *Ambystoma Mexicanum*: Lack of Effects of Triiodothyronine on Tissue or Blood Levels of Thyrotropin. Releasing Hormone. (TRH). Gen. Comp. Endocrinol. 36:427-432.

Schmidt-Nielsen, Kunt. 1990. Animal Physiology. (adaptation and environment). Edit. Cambridge University Press. Cambridge. Nueva York. pp 486-517.

Scott, F. G. 1988. Biología del desarrollo. Ed. Omega, S. A. Barcelona. pp. 664-675.

Shaffer, B. H. 1983. Biosystematics of *Ambystoma rosaceum*. and *Ambystoma tigrinum*. in Northwestern México. Copeia. 1:67-78.

Takada, M., and Hara, K. 1988. T3-Induced Differentiation of the Electromotive Force Related to Active Na Transport Across. The Skin of the Neotenus Urodele *Ambystoma mexicanum*. Comp. Biochem. Physiol. 89A(2):157-161.

Weichert, K. Ch. 1975. Elementos de la anatomía de los cordados. Edit. McGraw-Hill. México. pp. 424-430.

Welsch, U. 1980. Estudio comparativo de la citología e histología animal. Edit. Urmo, S. A. de Ediciones. Bilbao España. pp. 222-227.

West, B. J. 1986. Bases Fisiológicas de la Práctica Médica. Edit. Interamericana. México. pp. 1083-1204.

Wheater, P. R. 1987. Functional Histology. Edit. Churchill Livingstone. pp. 258-273.

Wilbur, H. M., and Collins, J. P. 1973. Ecological Aspects of Amphibian Metamorphosis. Science. 182:1305-1314.

Wilson, J. X., Van Ullet, B. N. and West, N. H. 1984. Gonadotropin releasing hormone increases plasma Catecholoamines and blood pressure in loads. Neuroendocrinology. 39:437-441.

AGRADECIMIENTOS.

MI gratitud a mi directora de tesis la M. en C. Patricia Rivas Manzano por su apoyo para la realización de este trabajo. Igualmente a las sinodales Biol. Leticia Parra, Biol. Rosario Ortíz, Dra. Maricela Villagran y Biol. Rosa María Viguera por sus valiosas aportaciones y sugerencias.

De igual manera agradezco el apoyo del Dr. Fausto Méndez de la Cruz y al Biol. Julio Rojas C .

Al personal del laboratorio de Biología de la Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias por haberme facilitado las instalaciones.