



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**Efecto de la administración de andrógenos, estrógenos o  
progesterona, en la fase neonatal sobre la concentración de  
monoaminas en el hipotálamo y de las gonadotropinas en sangre  
en la rata adulta**

**INFORME DE SERVICIO SOCIAL  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:  
S O N I A R U Í Z V A L L E J O**

**DIRECTORA: DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR**



México, D.F.

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

Enero

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

---

## *Dedicatoria*

*Dedico esta tesis a Alan mi hijo porque él es el mayor motivo para continuar superándome gracias mi cielo porque he aprendido mucho por ti y de ti y sé que tienes muchas más lecciones que darme.*

*También a María Teresa y Guillermo mis padres por su amor y apoyo en todo momento.*

*A Tere y Memo porque han sido para mí además de mis hermanos mis amigos y maestros gracias por su apoyo y amor incondicional.*

*A Julia mi esposa porque ha inspirado en mí la superación gracias amor.*

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

# Agradecimientos

A Dios, porque sin él nada es posible.

A M<sup>o</sup> Dr. Roberto Domínguez Casilla porque su tenacidad es un buen ejemplo a seguir.

A la Dra. Ma. Elena Ayala Escobar por su contribución y apoyo en la realización de este trabajo.

A los miembros el jurado:

M. C. Fútil Turvel Gilavero

Dra. Ma. Elena Ayala Escobar

Dra. María Esther Cruz Beltrán

M. en B. E. Enrique Mendoza Márquez

M. en I. B. S. H. Angélica Flores Ramírez

Por sus valiosas aportaciones durante la realización y revisión de este trabajo.

A María de Jesús Juanita Lore G. Lore H. Ana Urballe Josefina Borenicia Peciá Martha, porque su compañía hace los momentos difíciles más ligeros, gracias por su apoyo.

A Ma. Luisa Páez por su amistad y apoyo en la realización de ciertas histológicas.

A mis amigos maestros y compañeros de la carrera y a aquellos que me conocen desde la infancia que siempre creyeron en mí por esas palabras de apoyo y cariño.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

## ÍNDICE

Resumen.....	i
Introducción.....	1
Diferenciación.....	4
Diferenciación sexual y monoaminas.....	16
Justificación del estudio.....	19
Hipótesis.....	20
Objetivo General.....	20
Objetivos particulares.....	20
Material y Métodos.....	21
Efecto de la administración de propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal.....	21
Efecto de la administración de dipropionato de estradiol (DE) en la fase neonatal.....	21
Efecto de la administración de progesterona (P <sub>4</sub> ) más PT.....	22
Procedimiento de la autopsia.....	22
Cuantificación de catecolaminas y serotonina.....	23
Cuantificación de hormonas esteroides y gonadotropinas.....	24
Estudio histológico.....	25
Análisis Estadístico.....	25
Resultados.....	27
Ciclicidad y ovulación.....	27
Sistema catecolaminérgico y serotoninérgico.....	31
Sistema noradrenérgico.....	31
Sistema dopaminérgico.....	35
Sistema serotoninérgico.....	41
Concentración de gonadotropinas y hormonas ováricas.....	48
Peso de órganos.....	52
Análisis histológico.....	53
Discusión.....	56
Conclusiones.....	69
Bibliografía.....	62

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

## RESUMEN

Existen evidencias de que los sistemas monoaminérgicos participan en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y que la actividad de estos es modificada por los esteroides ováricos. Con el fin de estudiar si las hormonas esteroides están asociados a cambios en el sistema catecolaminérgico y serotoninérgico en la diferenciación sexual, en el presente trabajo se analizaron los efectos de la administración en el día 5 de vida, de 500 µg de propionato de testosterona (PT), 100 µg de dipropionato de estradiol (DE) o aceite en el día 5 de vida sobre la concentración de noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT) en el hipotálamo anterior, medio y posterior, sobre la concentración de gonadotropinas y esteroides ováricos en el suero en la fase adulta (60 días). También se analizó si la administración de progesterona previo a la androgenización protege al hipotálamo de los efectos masculinizantes de los andrógenos.

La concentración de NA aumentó en el hipotálamo anterior y medio de los animales tratados con PT ( $4.9 \pm 0.8$  vs.  $2.7 \pm 0.2$ ;  $5.0 \pm 1.1$  vs.  $2.4 \pm 0.3$  ng/mg de tejido,  $p < 0.05$ ), mientras que la concentración de DA disminuyó únicamente en el hipotálamo anterior ( $0.14 \pm 0.03$  vs.  $0.27 \pm 0.03$  ng/mg de tejido,  $p < 0.05$ ). La concentración de 5-HT no se modificó en estos animales. Los cambios en la concentración de catecolaminas en el hipotálamo de los animales androgenizados se acompañaron de anovulación, estro vaginal persistente y disminución en la concentración de FSH ( $9.6 \pm 2.4$  vs.  $32.9 \pm 3.6$  ng/ml,  $p < 0.05$ ) y 17 β-estradiol ( $9.5 \pm 1$  vs.  $17.9 \pm 2.9$ , pg/ml,  $p < 0.05$ ).

La falta de ovulación y disminución en la concentración sérica de FSH ( $13.5 \pm 0.9$  vs.  $32.9 \pm 3.6$ , ng/ml,  $p < 0.05$ ) y 17β-estradiol ( $9.5 \pm 1.3$  vs.  $17.9$

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

$\pm 2.9$ , pg/ml,  $p < 0.05$ ) se observaron en los animales que recibieron DE. En este grupo la concentración de NA únicamente se incrementó en el hipotálamo anterior ( $3.4 \pm 0.2$  vs.  $2.7 \pm 0.2$ , ng/mg de tejido,  $p < 0.05$ ) y la concentración de DA disminuyó en esta misma estructura ( $0.12 \pm 0.01$  vs.  $0.27$  vs.  $0.27 \pm 0.03$ , ng/mg de tejido). A diferencia de lo observado en los animales tratados con PT ó DE, en el grupo que previo a la administración de PT recibieron progesterona, la concentración de DA se incrementó de manera significativa en el hipotálamo anterior ( $0.36 \pm 0.02$  vs.  $0.27 \pm 0.03$ , ng/mg de tejido) y los animales no respondieron con ovulación.

Los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que el proceso de diferenciación sexual de los centros que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas está asociado a las acciones que las hormonas esteroides sexuales ejercen sobre el sistema noradrenérgico, en particular en el hipotálamo anterior y medio, donde se localizan los centros que regulan este tipo de secreción hormonal en la rata hembra.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## INTRODUCCIÓN

Las gónadas en los mamíferos cumplen dos funciones, una citogénica que involucra la producción de células germinales viables con el complemento cromosómico característico de la especie, así como la endócrina que comprende la secreción de hormonas que actúan en el aparato reproductor para regular su funcionamiento (25, 78). Ambas funciones están relacionadas principalmente con el mantenimiento de la especie. La regulación de la función de las gónadas involucra un conjunto de mecanismos neuroendócrinos que se suceden en el eje hipotálamo-hipófisis (26, 30). De este modo se asegura el desarrollo y mantenimiento de los gametos maduros (óvulo y espermatozoide), su posterior unión (fecundación) y finalmente el desarrollo del producto de la concepción.

Desde el punto de vista anatómico y funcional, la gónada, ya sea el ovario o el testículo, consta de dos partes. En una parte se localiza la línea de las células germinales en desarrollo conformada de barreras citoplásmicas y de membranas especializadas que impiden su exposición a agentes extraños del plasma y del líquido intersticial. En el ovario la envoltura de la célula germinal son las células foliculares que constituyen un folículo y en los testículos es el túbulo seminífero. La otra parte está compuesta por células endócrinas que forman el medio y secretan hormonas esteroideas sexuales (andrógenos, progesterona y estrógenos), hormonas protéicas (inhibina, activina y el factor inhibidor de la meiosis del ovocito) y otros productos necesarios para el desarrollo de las células germinales, por lo que tanto el ovario como el testículo son definidos como órganos sexuales primarios, ya que mediante sus secreciones hormonales regulan el funcionamiento de los órganos sexuales secundarios que constituyen el aparato reproductor (78, 90).

Los testículos producen las hormonas sexuales características del macho llamadas andrógenos, de las cuales la que tiene mayor actividad biológica, es la testosterona. Los ovarios producen las hormonas sexuales femeninas, llamadas estrógenos y progesterona (2, 25, 28, 30, 75). Sin embargo, las hembras como los machos contienen tanto hormonas sexuales femeninas como masculinas.

Las hormonas esteroides sexuales cumplen varias funciones al actuar localmente de forma parácrina y autócrina donde estimulan el desarrollo de las respectivas células germinales. Mientras que, periféricamente actúan de forma endócrina. Estas hormonas regulan diversos procesos tales como (25, 26, 29, 81):

1. Estimular el desarrollo y función de los órganos sexuales secundarios esenciales para la liberación del óvulo y del espermatozoide al lugar de la fecundación.
2. Regular la secreción de las hormonas hipotalámico-hipofisiarias esenciales para que se lleve a cabo la función gonadal.
3. Modificar la estructura del cuerpo en general y diversas funciones fisiológicas de los individuos.

Las funciones de las gónadas son controladas por las gonadotropinas [la hormona estimulante del folículo (FSH), la hormona luteinizante (LH) y la prolactina (PRL)], las cuales son producidas por la adenohipófisis. Estas hormonas son nombradas por su acción en la hembra, sin embargo se encuentran presentes en el macho, y en éste la LH se denomina, hormona estimulante de las células intersticiales (28, 30, 36).

La secreción de la FSH y la LH es modulada por el hipotálamo al secretar la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (2, 30, 36), la cual es producida por diferentes núcleos hipotalámicos, vertida a un sistema de vasos que conforman el sistema portal-hipofisiario. El péptido es transportado hasta la adenohipófisis donde estimula en los gonadotropos la síntesis y liberación de ambas hormonas; las que viajan hacia la gónada vía el sistema circulatorio. La producción de las gonadotropinas es regulada por un sistema de control de retroalimentación que ejercen las hormonas esteroideas gonadales en centros hipotalámicos o de estructuras extrahipotalámicas. Cuando las hormonas esteroideas alcanzan determinada concentración en el suero, lo que ocurre en la tarde del proestro, el hipotálamo deja de producir la GnRH y como consecuencia disminuye la secreción de las gonadotropinas (18, 25, 30, 36). Éste proceso de secreción es diferente en la hembra y en el macho. Tales diferencias parecen no estar vinculadas a la información genética, mas bien está modulada por las hormonas sexuales, en particular la testosterona, que es producida por el testículo del recién nacido y actúa en el hipotálamo modificando la secreción de la LH y FSH (27, 28).

En la rata hembra existen dos centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas. Uno está localizado en el área preóptica hipotalámica anterior que modula la secreción cíclica o "fásica" de las gonadotropinas en la tarde del proestro. El otro centro hipotalámico se localiza en la región del núcleo arcuato-ventromedial y comanda la secreción tónica de estas hormonas (30). En la rata hembra la actividad cíclica de estos centros hipotalámicos regula los cambios periódicos observados en la concentración sérica de las gonadotropinas durante el ciclo estral (9). Este patrón de secreción de la FSH y LH característico de la hembra se determina durante el proceso de diferenciación sexual (7, 40, 27, 46).

El establecimiento de estos mecanismos de regulación del eje hipotálamo-hipófisis se inicia con el proceso de diferenciación sexual, que comprende el establecimiento del sexo genético, gonadal y fenotípico (46). Este proceso se inicia a diferentes tiempos dependiendo de la especie de que se trate, para el caso de la rata se inicia en los últimos días de la gestación y culmina en los primeros días posteriores al nacimiento (alrededor del día cinco a siete) (6, 8).

## DIFERENCIACIÓN SEXUAL

La diferenciación sexual es un proceso biológico fundamental para las especies con reproducción sexual. Durante esta etapa se llevan a cabo una serie de eventos genéticos, moleculares, morfológicos, bioquímicos y fisiológicos que se inician en la vida embrionaria y continúan en la vida adulta. Los cuales influyen en la fisiología y la conducta reproductiva de los individuos (44, 46, 48). La diferencia fundamental entre la hembra y el macho radica en la anatomía y en la fisiología de su aparato reproductor entre otros aspectos.

El sexo cromosómico se determina en el momento de la fertilización. Cuando el óvulo fecundado lleva la información del cromosoma Y, se inicia el desarrollo del testículo, debido a que en dicho cromosoma existen genes específicos que dirigen el desarrollo de este órgano. Mientras que, los genes del cromosoma X en ausencia del Y, dan lugar al desarrollo de los ovarios. Establecido el sexo genético, se inicia el desarrollo del sexo gonadal. En el humano, durante las cinco primeras semanas de gestación la gónada masculina y femenina son indistinguibles y sus genitales no están formados. Esta etapa de la diferenciación sexual comprende la fase de la "gónada indiferente" (40, 55, 73, 79).

En el embrión de los mamíferos, las gónadas se desarrollan del epitelio celómico del mesénquima que constituye el cordón mesonéfrico, y de las células germinales primordiales que migran desde el saco vitelino. El desarrollo de las gónadas se caracteriza porque se originan ambos a partir de una gónada indiferenciada. Esta estructura es reconocida inicialmente como una prolongación del mesodermo mesonéfrico revestido de epitelio celómico y situada al lado del cordón mesonéfrico. A medida que esta estructura se desarrolla, se constituye la cresta genital. En el humano la diferenciación de la cresta genital se lleva a cabo alrededor de los 31-35 días del desarrollo embrionario y a los 9 días en el ratón.

Inicialmente las células germinales no están presentes en la cresta gonadal. Estas células que se ubican en el saco vitelino, migran por medio de movimientos ameboides y se sitúan en la gónada en desarrollo. Cuando culmina la migración de las células germinales y se sitúan en la gónada en desarrollo, ésta se ha diferenciado en una estructura constituida por una corteza y médula (Gónada indiferenciada) (67, 73, 90).

La diferenciación del testículo se inicia cuando se separa un conjunto de cordones sexuales, denominadas "cordones testiculares". Estos cordones se desarrollan y emigran a la médula de la gónada en desarrollo (55, 71). Las células que rodean a los cordones testiculares se aplanan y dan origen a las células mioideas, y las células del epitelio interno se diferencian en células de Sertoli, que cumplen dos funciones: soporte de las células germinales (espermatogonios) y la síntesis de la hormona inhibidora de los conductos de Müller (MIS) (71).

En etapas tempranas de diferenciación, el ovario cambia muy poco en relación a la estructura de la gónada indiferenciada. Los cordones sexuales

inicialmente se desarrollan muy poco, para degenerar posteriormente y dar origen a una segunda generación de cordones corticales. Conforme prosigue el desarrollo de estas estructuras, las células germinales se sitúan en su interior y se agrupan haciendo contacto entre sí. Posteriormente estos cordones se separan en grupos celulares que rodean a las células germinales y se constituyen los folículos primordiales (55, 71). Culminada la diferenciación de la gónada, ya sea en testículo u ovario, prosigue el desarrollo de los fenotipos del macho y de la hembra (71).

En los mamíferos, los primeros cambios morfogenéticos que involucran la diferenciación sexual de la gónada ocurren en los individuos genéticamente machos. Los eventos iniciales se observan a diferentes edades según la especie considerada. En el ratón la diferenciación estructural de la gónada se inicia a los 11.5 días, en la rata a los 12. 5 y en el hombre a los 45 días aproximadamente. Las hormonas producidas por las gónadas en desarrollo, estimulan la maduración de los órganos sexuales y en una etapa posterior la aparición de las características sexuales secundarias (28, 71). La testosterona secretada por las células de Leydig del testículo en desarrollo, induce activamente la diferenciación de los conductos de Wolff hacia las estructuras accesorias internas, tales como el conducto deferente y parte del epidídimo (55,79). Mientras que la MIS, producido por las células de Sertoli, promueve la regresión de los conductos de Müller (71).

En la hembra, la diferenciación del ovario se considera un proceso autónomo porque, poco tiempo después de que los testículos debían desarrollarse, en ausencia de la testosterona y del MIS, la gónada bipotencial se desarrolla a ovario. El desarrollo de este órgano se acompaña de la diferenciación de los conductos de Müller en otras estructuras femeninas, como los oviductos y porción superior de la vagina (55, 71, 79).

Además de los cambios antes mencionados. en el encéfalo también se lleva a cabo un proceso de diferenciación sexual funcional y estructural, el cual también es dependiente de las hormonas esteroides. Se menciona que este evento de diferenciación implica la activación o una organización del cerebro, que posiblemente es permanente e irreversible (46). Diversas evidencias experimentales han permitido sugerir que las hormonas esteroides sexuales son importantes en el proceso de diferenciación sexual, porque además de participar en el desarrollo del sexo gonadal y fenotípico, también intervienen en el desarrollo del sistema nervioso central (5, 6, 45, 69). Estas hormonas actúan en la diferenciación de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas y la conducta sexual, típica de cada sexo y que se expresan en la etapa adulta (29, 34, 45, 46, 86).

Se ha señalado que en la rata macho recién nacida el hipotálamo es indiferenciado y que durante el periodo perinatal temprano, la testosterona provoca la masculinización y desfeminización permanente de las estructuras hipotalámicas que regulan la funcionalidad del centro tónico de secreción de las gonadotropinas. Mientras que, la ausencia de esta hormona permite que se manifieste el fenotipo de la hembra y se desarrolle la secreción cíclica de las gonadotropinas (3, 4, 5, 8). Las hormonas testiculares en la vida prenatal pueden también influir en el desarrollo de áreas cerebrales, tal como la corteza y el hipocampo, las cuales no están directamente relacionadas con la regulación de las funciones reproductivas (86). Al parecer estas hormonas modulan la expresión de los receptores a diferentes neurotransmisores como la acetil-colina y de las enzimas de aromatización de la testosterona en la corteza, lo que apoya la idea de que las hormonas esteroides intervienen en el proceso de diferenciación de estructuras extrahipotalámicas (57)

Gorsky (46), sugiere que en el cerebro de la rata, indiferenciado o inherentemente femenino, son los andrógenos que pueden ser aromatizados, como la testosterona, los que inducen la diferenciación de los mecanismos neuroendócrinos funcionales características del macho. Al parecer, los andrógenos aromatizables participan en la expresión de tales eventos. Por lo que es probable que los andrógenos testiculares al actuar en las estructuras cerebrales después de ser aromatizados a estradiol, sean los responsable de la organización del sistema nervioso central en el macho. Esta idea es avalada en parte por las evidencias que muestran que en el sistema nervioso central está presente la actividad de la enzima aromatasa, cuya función es la de transformar los andrógenos a estrógenos (46, 72). La administración de inhibidores de la aromatasa, durante la etapa perinatal temprana, bloquea la diferenciación sexual. La administración de antiandrógenos también inhibe la diferenciación sexual del macho (12, 46).

La rata hembra recién nacida, se caracteriza por la presencia de estrógenos en plasma (72); por lo tanto esta hormona no sería la especie molecular responsable de la masculinización de los centros hipotalámicos. Se ha propuesto que los estrógenos no son funcionales en la rata hembra al nacimiento, debido a que son captados por una proteína denominada  $\alpha$ -fetoproteína (AFP) en el plasma, cuya concentración es elevada (46, 72). Esta molécula se caracteriza porque tiene gran afinidad por los estrógenos, lo que resulta en una disminución de estrógenos libres en plasma, que evitan que el sistema nervioso de la hembra sea expuesto a altas concentraciones de esta hormona, y por lo tanto esté libre para que se desarrollen las características de la hembra (46, 72). Estos resultados permitieron a Gorsky (46), plantear el modelo de que la AFP protege el cerebro de la hembra de los efectos masculinizantes de los andrógenos aromatizables (Figura 1).

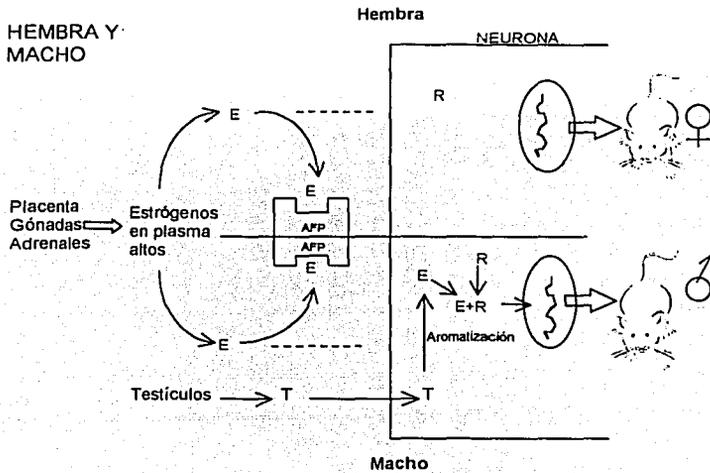


Figura 1. Modelo de Gorsky (46), en el que se plantea que en la hembra durante la fase neonatal, los estrógenos (E) se unen a la alfa-feto-proteína (AFP) y no actúan en el sistema nervioso central. En el macho durante la misma etapa, la testosterona (T) producida en el testículo es aromatizada a E, el cual al unirse a su receptor (R), se inicia el proceso de diferenciación del macho.

DEBIDO  
FALLA DE ORIGEN

Con base en el modelo de diferenciación sexual que explica Gorski (46), se señala que el proceso de diferenciación sexual puede ser modificado cuando existen alteraciones en la producción de hormonas esteroides sexuales, tales como los andrógenos (29, 46). Asimismo, se han propuesto diversos modelos experimentales que implican la administración de andrógenos (androgenización) o estrógenos (estrogenización) en ratas recién nacidas o dentro de los primeros días de vida posteriores al nacimiento, para modificar el proceso de diferenciación de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas (3, 13, 27, 31, 35, 51, 56, 64). Estas manipulaciones se traducen en el desarrollo del síndrome de androgenización que se caracteriza por la presencia de estro vaginal persistente, bajo peso del ovario, presencia de quistes en los ovarios e infertilidad (3, 5, 13).

Existen diversas evidencias que señalan la importancia de las hormonas testiculares en los procesos de diferenciación sexual del hipotálamo. La castración de la rata macho o la administración de compuestos con actividad antiandrogénica provoca que se manifieste la regulación cíclica de las gonadotropinas característico de la hembra, e impide la diferenciación masculina del cerebro. Además, si a estos animales en la edad adulta se les administran estrógenos, estos presentan el comportamiento de lordosis característico de la hembra (12, 29, 31). En las ratas macho que se les extirpa ambos testículos (castración) en el día del nacimiento, se presenta un comportamiento de lordosis parecido al de la hembra adulta, lo que indicaría que se llevó a cabo la feminización de estos animales, debido a la falta de las hormonas testiculares durante el proceso de diferenciación sexual. Así mismo, si estos animales se mantienen en iluminación constante o se realiza la lesión electrolítica del área preóptica medial se presenta un tipo de secreción de LH característico de la hembra adulta (29, 46).

Si a los machos que se castraron durante la etapa neonatal se les aplica propionato de testosterona (PT) en el día 1, en la fase adulta manifiesta la conducta copulatoria normal. En cambio, cuando a las ratas macho se les administra estradiol en las primeras semanas de vida no se presenta el comportamiento sexual característico del macho (27, 60).

En la rata hembra recién nacida con injerto de testículo de un animal recién nacido, en la etapa adulta presenta estro vaginal persistente, se desarrolla un ovario de tipo poliquístico y los animales son estériles. En conjunto todas estas alteraciones se conocen con el nombre de síndrome de androgenización (8, 13, 44, 48). Los ovarios de las hembras con síndrome de androgenización presentan un menor peso posiblemente debido a la ausencia de cuerpos lúteos, aumento del tejido intersticial y el poco desarrollo folicular que se observa en ellos. En cambio, el peso de las adrenales y la hipófisis es mayor. Se sugiere que todos estos cambios a nivel ovárico son el resultado de la modificación del patrón de secreción de las gonadotropinas durante la diferenciación sexual en la hembra (44, 48, 89).

El cuadro de esterilidad inducido por la administración de los andrógenos, también se puede inducir por la lesión del área preóptica anterior en ratas recién nacidas (4, 8, 45, 47). Estas evidencias permitieron a los autores sugerir que la integridad del área preóptica es necesaria para el mantenimiento del funcionamiento de la gónada.

Diversos grupos de investigación se han abocado al estudio de la acción de diferentes hormonas esteroides sobre el proceso de diferenciación sexual de la rata recién nacida (13, 15, 22, 33, 44, 48, 59, 64, 66, 96). El síndrome inducido por la administración postnatal de estrógenos es diferente al observado cuando se administran los andrógenos, debido a que en las

hembras estrogenizadas sí se presenta un ciclo estral, pero no se presenta ovulación normal ni existe receptividad sexual (44).

Se ha mostrado que la administración de benzoato de estradiol (BE) a los cinco días de vida provoca esterilidad permanente en la fase adulta, ciclos estrales anovulatorios y estro vaginal persistente. Cuando a estas hembras se les administra progesterona no se induce el apareamiento (44). Estos resultados llevaron al autor a sugerir que los estrógenos administrados en la fase neonatal provocaron modificaciones en la secreción de las gonadotropinas que se reflejaron en la fertilidad de las hembras. Sin embargo, cuando la progesterona se aplica de forma secuencial, se induce la ovulación de forma espontánea en las ratas que presentaban síndrome de anovulación (17), lo que no ocurre cuando las ratas son tratadas con estrona (17, 44). Estos resultados llevaron a sugerir que los efectos producidos por la administración de hormonas esteroides están en función del tipo de esteroide de que se trate.

Asimismo, en los animales que fueron tratados con estrógenos en la fase neonatal, cuando se realiza la estimulación eléctrica de algunas regiones del hipotálamo relacionadas con la regulación de la secreción de las gonadotropinas, la mayoría de los animales no responde con ovulación. En cambio, en los animales androgenizados, esta misma manipulación induce la ovulación fácilmente (27, 44, 66).

La administración de BE, también modifica el patrón de secreción de las gonadotropinas de la hembra normal, siempre que la hormona se administre entre la primera semana de vida, o en los machos castrados en el día uno de vida postnatal (28, 29, 31). Al parecer los estrógenos al actuar en el sistema nervioso central inducen una serie de cambios morfológicos y funcionales durante el período de diferenciación sexual. Se ha mostrado que estas

hormonas *in vitro* inducen la diferenciación dendrítica en el encéfalo (92, 93). En estudios *in vivo* se ha reportado que incrementan el número de sinapsis y en particular del tipo axo-dendríticas en el cerebro medio, septum lateral y núcleo arcuato, entre otras estructuras (68). Además, en el núcleo ventromedial incrementa el tamaño del soma y nucleolo de las células nerviosas de esta región (19, 54)

Al parecer existe una etapa o periodo crítico en el que se puede modificar la diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas. Esta etapa comprende los primeros cinco días de vida del animal (5, 6), sin embargo otros autores plantean que este periodo se extiende durante toda la primera semana de vida (48).

Al parecer el mecanismo por el que se induce la esterilidad en los animales que son tratados con andrógenos o estrógenos neonatalmente se deben a diversas causas: Se altera la función normal de los centros hipotalámicos que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas (principalmente de la LH) debido a que se modifica la respuesta de la hipófisis a los estímulos que provienen del hipotálamo (3, 8, 27, 28, 66, 86): otra posible explicación es que se altera la funcionalidad de la gónada directamente. Sin embargo, hasta el momento no se pudo descartar ninguna posibilidad.

Bradbury (13), mostró que cuando el tejido ovárico de ratas androgenizadas en la fase neonatal se injerta en la cámara anterior del ojo de animales normales adultos se forman cuerpos lúteos, en cambio cuando se transplantan ovarios de ratas normales a animales androgenizados no se forman cuerpos lúteos. Estos resultados llevaron al autor a sugerir que el daño en la estructura y fisiología del ovario es el resultado de las modificaciones en la función de la hipófisis y no de la gónada.

Así mismo, cuando la hipófisis de una rata adulta androgenizada durante la etapa neonatal, es transplantada a ratas normales, esta glándula funciona normalmente (89). Además, cuando los animales androgenizados son estimulados hormonalmente con GnRH, los animales responden con ovulación (66). Estos resultados permitieron a los autores sugerir que la administración de andrógenos alrededor de los primeros cinco días de vida, no modifican la estructura o funcionamiento de la hipófisis. Sin embargo, es posible que estas hormonas modifiquen los centros hipotalámicos que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas.

La estimulación eléctrica de la región preóptica anterior induce la ovulación en ratas androgenizadas y esto se acompaña del incremento en la secreción de LH (8). Estos hechos de forma conjunta apoyan la hipótesis de que la acción de los esteroides gonadales durante la diferenciación sexual es el sistema nervioso central. En la rata durante el periodo postnatal temprano, las hormonas esteroides testiculares también participan en el desarrollo y diferenciación de las áreas cerebrales que no están vinculados con la regulación de la función reproductora, como son la corteza y el hipocampo (85). La presencia de los receptores a estas hormonas y la identificación de la enzima aromatasa en la corteza apoyan esta idea (57).

La regulación funcional de la gónada es la integración de una serie de mecanismos neuroendócrinos que se suceden en el eje hipotálamo-hipófisis. Existen diversas evidencias experimentales que muestran que en la modulación de la secreción de las gonadotropinas, vía la GnRH participan las hormonas ováricas o testiculares (30, 36) y diversos sistemas de neurotransmisión como el catecolaminérgico y serotoninérgico entre otros, cuyos somas neuronales se localizan a nivel intra y extra hipotalámico (30, 32, 36, 69, 70, 72, 87). Sin embargo, hasta el momento no se tienen resultados

claros sobre la participación de estos sistemas de neurotransmisión en los mecanismos neuroendócrinos involucrados en la diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas y en la actividad cíclica de los ovarios y como consecuencia la ovulación en la rata hembra.

Se sugiere que, la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión durante el desarrollo prepuberal, en el ciclo estral y durante la preñez son modulados por las hormonas esteroides. Estas hormonas regulan la expresión génica, la síntesis de proteína o modificando las propiedades eléctricas de la neurona, sin alterar la estructura de la célula nerviosa (32, 35, 39, 69, 86). Sin embargo, actualmente también se ha planteado que las hormonas esteroides modulan el tamaño, la morfología de las neuronas productoras de los diferentes sistemas de neurotransmisión y la densidad de las sinapsis que se establecen entre estos sistemas en las diferentes regiones del sistema nervioso central (35, 37, 38).

## **DIFERENCIACIÓN SEXUAL Y MONOAMINAS**

Existen diferentes evidencias experimentales que señalan que las hormonas esteroides ováricas (estrógenos y progesterona) actúan sobre el hipotálamo y la adenohipófisis donde regulan sus respuestas a las acciones de otras hormonas y neurotransmisores (23, 30, 36). Al parecer las hormonas ováricas influyen en la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión (30, 94). Se ha mostrado que estas hormonas modulan la tasa de recambio de la noradrenalina, dopamina y serotonina. Además, los receptores a las monoaminas son proteínas, por lo que es posible pensar que las hormonas ováricas actúan sobre el genoma e inducen la síntesis y degradación de los

receptores, entre otras funciones vinculadas con la actividad de estos sistemas (11, 70).

La implicación funcional de la relación entre las hormonas esteroides ováricas y los diferentes sistemas de neurotransmisión, en el proceso de diferenciación sexual, no se conocen con exactitud. Sin embargo, es posible que los neurotransmisores estén involucrados en este proceso. Esta idea es apoyada por el hecho de que en el cerebro anterior, el estradiol induce la expresión de la síntesis de la acetilcolino-transferasa, enzima limitante de la biosíntesis de acetilcolina (84), y aumenta el número de los receptores a serotonina y al aminoácido gama-amino-butírico (GABA) en el hipotálamo (65).

Además, se han encontrado diferencias sexuales en el contenido de neurotransmisores, en la actividad del sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico en alguna etapa del desarrollo de la rata (38, 39, 42, 85, 95). Los estudios de Giulian y col. (39), mostraron que en el cerebro de la rata hembra y macho no existen diferencias en las concentraciones de serotonina a los 2, 4 y 8 días de vida postnatal; a los 10 y 12 días, la concentración de esta amina es mayor en el macho y a los 16 y 25 días nuevamente no se presentan diferencias relacionadas con el sexo. Cuando se administra propionato de testosterona a ratas hembras recién nacidas no se observó el incremento en la concentración de serotonina a los 12 días de edad. Estas evidencias permiten a los autores sugerir que existe una interacción entre las hormonas esteroides sexuales y este sistema de neurotransmisión.

En relación a los sistemas dopaminérgico y serotoninérgico, se sugiere que los esteroides no modifican la actividad de estos sistemas en el hipotálamo y la amígdala (51, 76, 82, 86). Sin embargo, Fink y col. (32), mostraron que esta hormona, incrementa el número de receptores a dopamina del tipo  $D_2$  en

el estriatum y de la serotonina (5-HT<sub>2A</sub>) en la corteza y núcleo acumbes, regiones del sistema nervioso central que están relacionadas con el comportamiento.

Previamente se ha descrito que en la rata, la concentración de serotonina en el área preóptica hipotalámica anterior o en el cerebro completo, presenta diferencias relacionadas con el sexo (39, 69, 95). La administración del 5-hidroxitriptofano (5-HTP), precursor de la síntesis de serotonina a ratas hembras normales y machos castrados a las 48 horas de vida, incrementa la concentración de LH en plasma a los 16 ó 20 días de edad. En cambio, la administración de este precursor a ratas androgenizadas alrededor de las 48 horas de vida, inhibe la secreción de LH (69). Estos resultados permitieron a los autores sugerir que en la diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la regulación cíclica de las gonadotropinas, es un proceso en el que está implicada la serotonina.

Hasta el momento existe poca información sobre la relación de los diferentes sistemas de neurotransmisión en el hipotálamo y los efectos de la androgenización y estrogenización. Loyo y col., (62) mostraron que la androgenización o estrogenización al nacimiento produce el síndrome de anovulación y esto se acompaña del incremento en la concentración de noradrenalina en el hipotálamo en la fase adulta (60 días). Estos resultados los llevaron a sugerir que la elevación aguda de las concentraciones plasmáticas de estas hormonas en el nacimiento modifican la actividad del sistema noradrenérgico.

En el humano cada día se hacen más evidentes las alteraciones en la estructura y funcionamiento del aparato reproductor, y en particular del ovario, las cuales representan un verdadero problema fisiológico. Entre estos

padecimientos se encuentra el síndrome del ovario poliquístico, entre otros, el cual se caracteriza por alteraciones en los mecanismos neuroendócrinos que involucran al eje hipotálamo-hipófisis-gónada, lo que se refleja en la producción anormal de gonadotropinas y hormonas esteroides ováricas. Este síndrome es la causa más común de la anovulación crónica en la mujer (20, 21, 40, 41).

Con base en los resultados antes mencionados, parecería que existe una relación entre la hormonas esteroides sexuales y la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión. Sin embargo, hasta el momento existe poca información sobre las modificaciones en la actividad de estos sistemas y su vinculación con los efectos producidos por la androgenización o estrogenización durante el proceso de diferenciación. Por lo que en el presente trabajo se decidió analizar los efectos de la administración de un andrógeno o estrógeno en la rata hembra durante la fase neonatal sobre la secreción de las gonadotropinas y hormonas esteroides sexuales, en la actividad del sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico así como en la ciclicidad y ovulación en la rata adulta. Los resultados obtenidos en esta investigación, permitirán comprender algunos de los mecanismos implicados en la participación de las hormonas esteroides sexuales (andrógenos, estrógenos y progesterona) en la diferenciación sexual, así como la vinculación de este proceso y la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión.

## JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Se ha mostrado que el patrón de secreción de las gonadotropinas es diferente en la hembra y en el macho y que estas diferencias no parecen estar vinculadas a la información genética, sino que está modulada por las hormonas sexuales, en particular la testosterona; la que es producida por el testículo del recién nacido y actúa en el hipotálamo indiferenciado modificando la secreción de la LH y FSH. Además se ha mostrado que en la regulación de la secreción de las gonadotropinas participan los diferentes sistemas de neurotransmisión. Sin embargo, hasta el momento existe poca información sobre las modificaciones en la actividad de estos sistemas y su vinculación con los efectos producidos por la androgenización o estrogenización durante el proceso de diferenciación. Por lo que en el presente trabajo se decidió analizar los efectos de la administración de un andrógeno o estrógeno en la rata hembra durante la fase neonatal (cuatro o cinco días de vida) sobre la secreción de las gonadotropinas, en la actividad del sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico así como los cambios en el desarrollo del ovario en la etapa adulta.

## **HIPÓTESIS**

En la rata hembra la innervación monoaminérgica del hipotálamo modula la secreción de las gonadotropinas y la actividad de ésta es regulada por las hormonas esteroides sexuales, por lo que los efectos de la administración de tales hormonas en la expresión del síndrome de anovulación dependerán del tipo de esteroide administrado y de las modificaciones que se sucedan en la innervación monoaminérgica.

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar los efectos de la administración de esteroides en la fase neonatal sobre la ciclicidad vaginal, la actividad de los sistemas monoaminérgicos del hipotálamo y la concentración sérica de las gonadotropinas en la etapa adulta.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Caracterizar la citología vaginal en animales adultos tratados con propionato de testosterona, dipropionato de estradiol o progesterona en la fase neonatal (5 días de edad).
- Analizar los cambios en la concentración de monoaminas en el hipotálamo de la rata adulta, tratada con propionato de testosterona, dipropionato de estradiol o progesterona en la fase neonatal (5 días de edad).
- Analizar la actividad de la neurona monoaminérgica en el hipotálamo de la rata adulta tratada con propionato de testosterona, dipropionato de estradiol o progesterona en la fase neonatal (5 días de edad).
- Estudiar las modificaciones en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas y esteroides ováricos en la rata adulta, tratada con propionato de testosterona, dipropionato de estradiol, o progesterona en la fase neonatal (5 días de edad).

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (14 h luz - 10 h oscuridad). Se colocaron 3 hembras con un macho durante 10 días y se registró el día de la parición, momento en el cual se sexaron las crías y se colocaron 6 hembras y un macho por madre. El día del nacimiento se consideró como día uno de vida. El horario para registro de nacimientos fue de 9:00 a 11:00 a.m. Las crías se mantuvieron con libre acceso a la madre hasta el destete (día 21 de vida) y posteriormente al agua y al alimento. Animales de cuatro ó cinco días de edad se asignaron a los diferentes grupos experimentales.

### **Efecto de la administración de propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal**

Ratas hembras de cinco días de vida fueron tratadas con 500 µg de PT (Sigma Chemical, St. Louis, U.S.A.) en 0.1 ml de aceite de maíz, por vía subcutánea (s.c.). Otro grupo de animales se trató con 0.1 ml de aceite de maíz (grupo con vehículo).

### **Efecto de la administración de dipropionato de estradiol (DE) en la fase neonatal**

Ratas hembras de cinco días de vida se trataron con 100 µg de DE (Sigma Chemical, St. Louis, U.S.A.) en 0.1 ml de aceite de maíz por vía s.c.

### Efecto de la administración de progesterona (P<sub>4</sub>) más PT

Grupo de hembras de cuatro días de edad se trataron con 50 µg de P<sub>4</sub> (Sigma Chemical, St. Louis, U.S.A.) en 0.1 ml de aceite de maíz por vía s.c., a las 18:00 horas y 12 horas después (día cinco), a las 6:00 horas, recibieron 1250 µg de PT por vía s.c. Otro grupo de animales se les inyectó exclusivamente 50 µg de P<sub>4</sub> en el día cuatro.

Como grupo de comparación se utilizaron ratas hembras sin tratamiento, de 60 días de edad y sacrificadas en el día del diestro o en el estro, las cuales se denominaron como grupo testigo absoluto.

Las hormonas utilizadas en los diferentes experimentos, con excepción de la P<sub>4</sub> se administraron entre las 09:00 y 11:00 h. A partir del día 49 de vida se tomaron frotis vaginales diarios y los animales se sacrificaron en el día 60. Los frotis vaginales se tiñeron con la técnica de Hematoxilina-Eosina. Después de identificar el frotis vaginal de los animales de los diferentes grupos experimentales durante 10 días, se procedió a calcular el índice de ciclicidad con la siguiente relación:

$$\text{Índice de ciclicidad} = \frac{\text{Número de estros}}{\text{Número total de días evaluados}}$$

### Procedimiento de autopsia

Los animales se sacrificaron por decapitación entre las 14:00 y 15:00 h., y se colectó sangre del tronco. A la autopsia se extrajo el cerebro, se colocó en solución salina fría (0°C) y se realizó la disección del hipotálamo siguiendo las

coordinadas del atlas de Paxinos y Watson (74), para posteriormente separar el hipotálamo anterior, medio y posterior, con la ayuda de un hipotalamómetro. Las muestras se almacenaron a -70°C hasta la cuantificación de noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT) y sus principales metabolitos [4-hidroxi-3-metoxifenilglicol (MHPG), 3,4-dihidroxiifenilacético (DOPAC), y ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA), respectivamente], por cromatografía de líquidos de alta precisión, siguiendo la metodología previamente descrita (1, 50). La concentración de los neurotransmisores se expresó en ng/mg de tejido y la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión se calculó siguiendo la relación de Kerdelhué y col., (56) y Shannon y col., (83).

$$\text{Actividad Neuronal} = \frac{[\text{Metabolito}]}{[\text{Neurotransmisor}]}$$

### **Cuantificación de catecolaminas y serotonina**

Las muestras de hipotálamo se pesaron y homogenizaron en 300 µl de ácido perclórico al 0.1 N, se centrifugaron a 12 000 rpm, a -4° C durante 30 minutos, el sobrenadante se filtró usando filtros de celulosa regenerada de tamaño de poro de 0.2 µm, y se inyectaron 20 µl del filtrado al sistema de cromatografía.

El equipo de cromatografía de líquido de alta precisión consiste de una bomba (Perkin Elmer, modelo 250), y una válvula de inyección de Rheodine modelo 7125 (Perkin Elmer, México), y una precolumna de sílica ODS (5 cm × 4.6 mm) y una columna analítica C-18 ODS (25 cm × 4.6 mm, tamaño de partícula de 5 µm; Bioanalytical System, Inc., West Lafayette, IN, USA). Las monoaminas y sus respectivos metabolitos fueron detectados electrolíticamente

usando un detector amperométrico LC-4A (Bioanalytical System, Inc., West Lafayette, IN, USA) con un potencial de 850 mV.

La fase móvil consistió de un buffer de citratos al 0.1 M (pH 3.0), con 100 mg de detergente octano-sulfonato monohidratado (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). La solución se filtró en papel millipor (poro de 0.45  $\mu$ m) y se degasó al vacío. Inmediatamente fueron adicionados 20 ml de acetonitrilo y 15 ml de tetrahidrofurano (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA); el volumen final de la fase fue de 500 ml. La fase fue bombeada por el sistema a un flujo de 1.2 ml/min. En el día del experimento se prepararon soluciones de referencia de NA, MHPG, DA, DOPAC, 5-HT y 5-HIAA en ácido perclórico 0.1 M., y se preparó una curva de calibración con las siguientes concentraciones 0.1, 0.5 y 1 ng. La sensibilidad del ensayo para la detección de cada uno de los neurotransmisores y sus metabolitos fue de 0.01 ng.

La monoaminas y sus metabolitos fueron identificados y cuantificados por un integrador Nelson 1020 (Perkin Elmer, México). El equipo identifica a los neurotransmisores por sus tiempos de retención y realiza el cálculo, al comparar el área bajo la curva de los picos de la muestra problema, con el área bajo la curva de sus respectivos estándares.

### **Cuantificación de esteroides ováricos y gonadotropinas**

En el momento de la autopsia, la sangre de cada uno de los animales fue colectada del tronco, dejándola reposar durante 30 minutos, para después centrifugarla a 3 500 r.p.m., se extrajo el sobrenadante y se congelaron a  $-20^{\circ}$  C, para la posterior cuantificación de hormonas esteroides ( $17\beta$ - estradiol y progesterona) y gonadotropinas (LH y FSH). La cuantificación de la concentración de FSH y LH en suero se realizó por medio de la técnica de radioinmunoanálisis de doble anticuerpo (RIA) (52, 80). La concentración

de ambas gonadotropinas se expresó en ng/ml. La concentración e hormonas esteroides en suero se cuantificó por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida, para lo cual se utilizó un estuche (Coat-A-Count, USA), para cada hormona. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml y la de  $17\beta$ -estradiol en pg/ml. Los coeficientes interensayo e intraensayo para FSH y LH fueron de 7.91% y 9.32%; 5.74 % y 6.82% respectivamente. Los coeficientes interensayo para  $P_4$  y  $17\beta$ -estradiol fueron de 7.48% y 6.50%, y los coeficientes intraensayo fueron 5.80% y 6.0%, respectivamente.

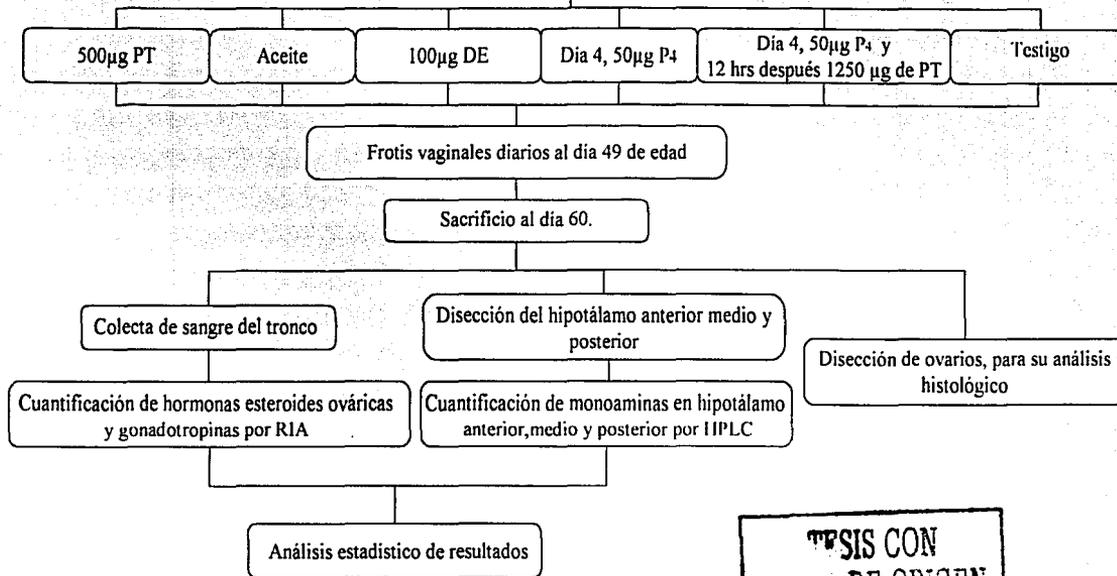
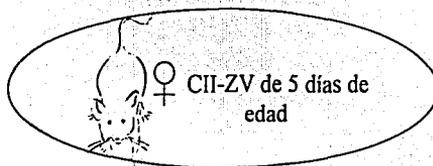
### **Estudio histológico**

En el día de la autopsia, los ovarios de los animales de los diferentes grupos experimentales fueron fijados en líquido de Bouin, posteriormente se deshidrataron, se incluyeron en parafina y se realizaron cortes seriados de 10  $\mu$ m de grosor y se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina. En los cortes histológicos se analizó la presencia o ausencia de cuerpos lúteos de ciclos anteriores o recién formados.

### **Análisis estadístico**

Los resultados de pesos de órganos, concentración de monoaminas, metabolitos y actividad neuronal, fueron analizados por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey, y cuando se compararon dos grupos se utilizó la prueba t de Student. El número de ovocitos se analizó por la prueba de "U" de Mann-Whitney. En todos los casos sólo se consideraron como significativas aquellas diferencias en los que la probabilidad fue igual o menor a 0.05.

## MATERIALES Y MÉTODOS



TESIS CON  
CALLA DE ORIGEN

---

## RESULTADOS

### Ciclicidad y ovulación

La rata hembra adulta presenta un ciclo estral característico de 4 días de duración; con dos días de diestro, un proestro y un estro. En este último día es cuando se produce la ovulación. En los animales que recibieron aceite (Vh) no se modificó el patrón de ciclicidad antes mencionado. Sin embargo, los animales que fueron inyectados con propionato de testosterona (PT) presentaron estro vaginal persistente durante los 10 días previos al sacrificio. En los animales que recibieron dipropionato de estradiol (DE) se observó un incremento en la incidencia de estro vaginal persistente y algunos días en diestro o proestro (Fig. 2).

En los animales que recibieron progesterona ( $P_4$ ) se observó cierta ciclicidad, que se caracterizó en algunas ocasiones por la prolongación de alguna de las fases del ciclo estral. En los animales que posterior al tratamiento con  $P_4$  fueron inyectados con PT, nuevamente la citología vaginal presentó características de estro con algunos días intercalados de diestro o proestro (Fig. 2).

En la figura 3 se muestra el índice de ciclicidad de los animales de los diferentes grupos experimentales. Este índice representa el número de días de estro que se observan en un tiempo determinado de registro de la citología vaginal. En los animales cíclicos este índice es igual a 0.25, y no se modifica cuando los animales son tratados con Vh o con  $P_4$  en la fase neonatal (5 o 4 días de vida respectivamente). En cambio en los animales tratados con

DE, PT o  $P_4+PT$ , este índice se incrementó y alcanzó a ser estadísticamente significativo únicamente en los dos últimos grupos (Fig. 3).

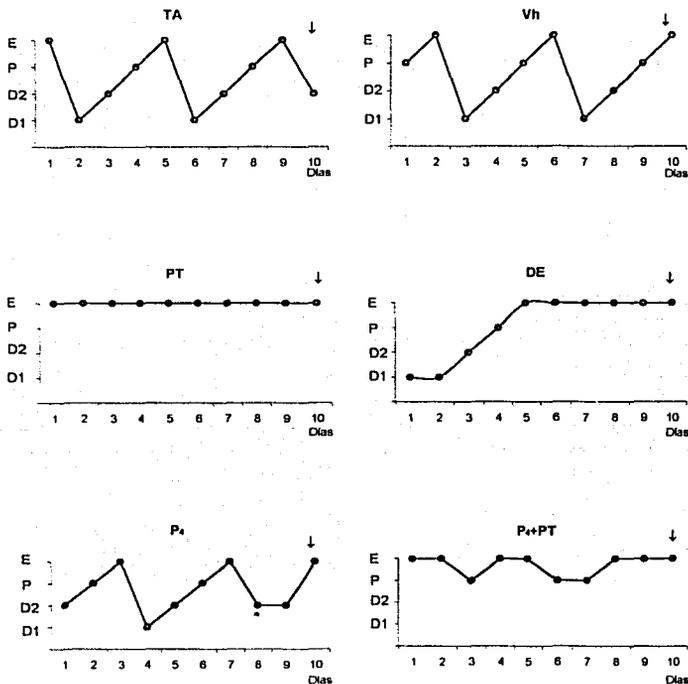
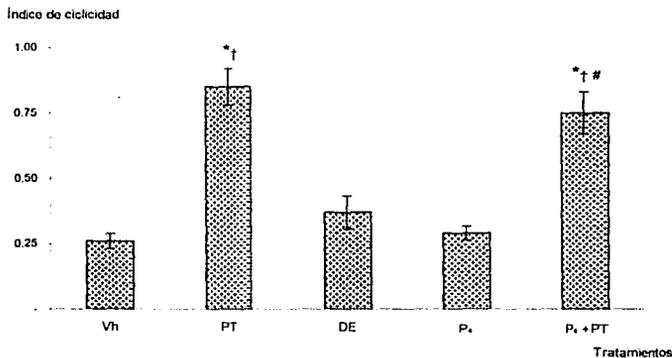


Fig. 2. Representación del ciclo estral de ratas hembras testigo absoluto (TA), tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona ( $P_4$ ), o progesterona más PT ( $P_4+PT$ ) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad. (↓) día de sacrificio.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



\*  $p < 0.02$  vs. grupo con Vh  
 †  $p < 0.001$  vs. grupo con DE  
 #  $p < 0.001$  vs. grupo con P<sub>4</sub>

**Fig. 3.** Índice de ciclicidad de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

En la tabla 1 se muestra la tasa de animales ovulantes, así como el número de ovocitos liberados por los animales de los distintos grupos experimentales. En todos los animales testigo absoluto y sacrificados en estro, se presentó la ovulación y solo un animal de los tratados con aceite no ovuló en el día del estro vaginal. Mientras que, en los animales que recibieron PT, DE o P<sub>4</sub>, aunque fueron sacrificados durante el estro vaginal, en ninguno de ellos se observó la ovulación.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

El número de ovocitos liberados por los animales tratados con aceite fue similar al grupo de animales testigo absoluto (Tabla 1).

**Tabla1.** Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados (media  $\pm$  e.e.m.), de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más propionato de testosterona (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad, en la etapa de estro.

Grupo	n	Tasa de animales ovulantes	Número de Ovocitos
Testigo (E)	4	4/4	8.8 $\pm$ 0.48
Vehículo (E)	6	5/6	10.6 $\pm$ 0.62
PT	8	0/8	0
DE	7	0/7	0
P <sub>4</sub>	3	0/3	0
P <sub>4</sub> +PT	12	0/12	0

Debido a que no se observaron diferencias significativas en el índice de ciclicidad y ovulación entre los animales testigo absoluto y los tratados con aceite, los resultados de ambos grupos fueron agrupados. Así mismo, debido a que algunos animales en el día del sacrificio mostraron en su citología vaginal, células anucleadas y otros leucocitos, que son células que caracterizan la etapa de estro y diestro respectivamente, se utilizaron dos grupos de comparación: Animales testigo absoluto y tratados con aceite sacrificados en estro [grupo Vh(E)], y animales testigo absoluto y aquellos que fueron inyectados con aceite y sacrificados en diestro [grupo Vh (D)].

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Sistema Catecolaminérgico y Serotoninérgico

### Sistema noradrenérgico

En el hipotálamo anterior, medio y posterior de los animales tratados con PT, la concentración de NA se incrementó en relación a los animales tratados con vehículo y sacrificados en estro. Sin embargo, este incremento únicamente fue significativo en el hipotálamo anterior y medio (Figuras 4, 5 y 6). En este grupo se detectó el MHPG sólo en el hipotálamo anterior en 2 de 9 animales, posiblemente debido a que la concentración de este metabolito era menor a la sensibilidad del método (0.01 ng/mg de tejido).

En el grupo de animales que recibieron DE, la concentración de NA se incrementó únicamente en el hipotálamo anterior, y en las otras regiones del hipotálamo no se observaron cambios.

En las tres regiones del hipotálamo de los animales que fueron inyectados con P<sub>4</sub> en el día 5 de vida, se observó la tendencia al incremento en la concentración de NA, que llegó a ser estadísticamente significativa solo en el hipotálamo anterior, en comparación con los animales testigo sacrificados en diestro (Fig. 4, 5 y 6). La concentración de MHPG en hipotálamo anterior, estuvo por debajo de la sensibilidad del método en todos los grupos experimentales, y sólo se detectó en el hipotálamo medio y posterior. Sin embargo, en la primera región, el MHPG se cuantificó únicamente en uno de dos animales de cada grupo experimental, con excepción del grupo que recibió P<sub>4</sub>, el cual el MHPG se detectó en la mayoría de los animales (1.54 ± 0.22 ng/mg de tejido).

La concentración de NA en el hipotálamo anterior, medio y posterior, en los animales que previo a la administración de PT fueron tratados con  $P_4$ , también mostró un incremento similar a lo observado en los animales que únicamente fueron tratados con  $P_4$ , pero sólo llegó a ser significativo en el hipotálamo medio al compararlo con el grupo testigo sacrificado en estro, y en el hipotálamo anterior al compararlo con el grupo tratado con  $P_4$ . En este mismo grupo, la concentración del MHPG en el hipotálamo posterior, se incrementó en comparación con el grupo testigo sacrificado en estro (Figuras 4, 5 y 6).

Debido a que no se detectó la concentración del MHPG en el hipotálamo anterior y medio de los diferentes grupos experimentales, la actividad de la neurona noradrenérgica únicamente se evaluó en el hipotálamo posterior. En la figura 7 se observa la tendencia a la disminución en la actividad del sistema noradrenérgico, en los animales tratados con DE y  $P_4$  en relación a su respectivo grupo con vehículo, sin embargo esta diferencia no fue significativa. En el grupo de animales que previo a la administración de PT recibieron  $P_4$ , la actividad de la neurona noradrenérgica no se evaluó, debido a que la cuantificación de NA y MHPG no coincidió en los animales.

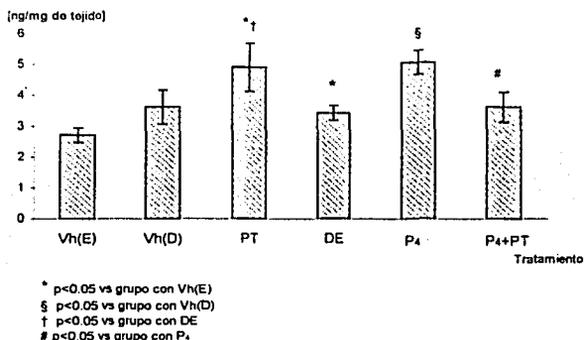


Fig. 4. Concentración de noradrenalina (NA) en el hipotálamo anterior de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

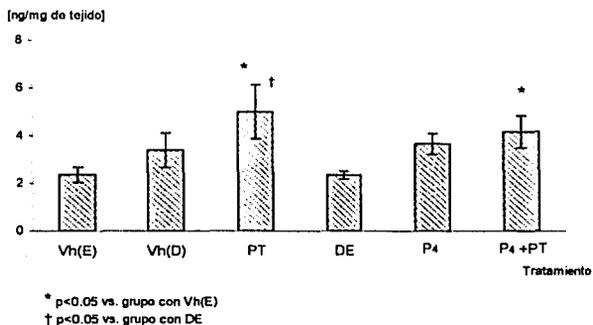
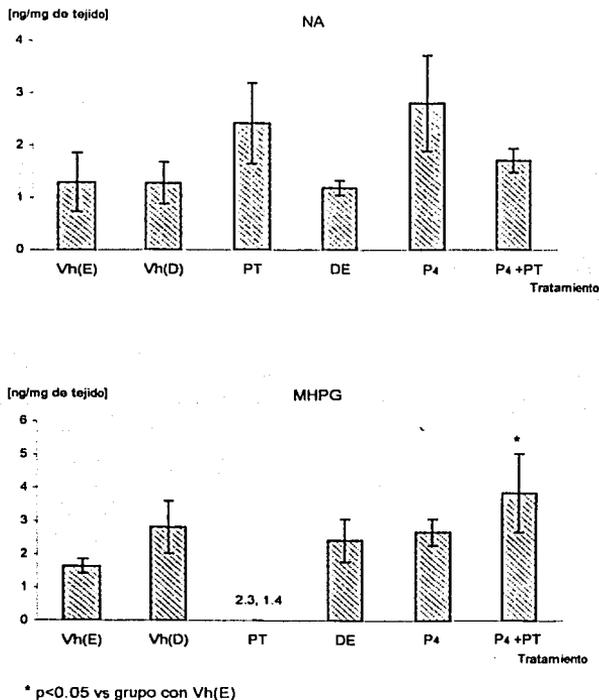


Fig. 5. Concentración de noradrenalina (NA) en el hipotálamo medio de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.



**Fig. 6.** Concentración de noradrenalina (NA) y 4-hidroxi-3-metoxifenilglicol (MHPG) en el hipotálamo posterior de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

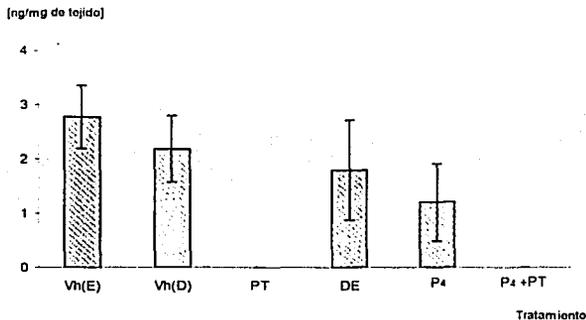


Fig. 7. Actividad de la neurona noradrenérgica [MHPG]/[NA] en el hipotálamo posterior de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

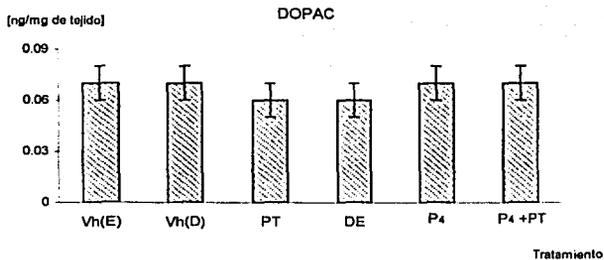
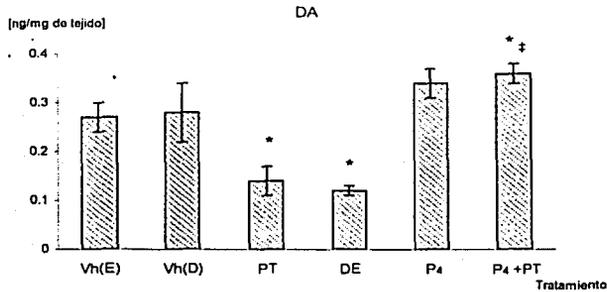
### Sistema dopaminérgico

En la figura 8 se muestra la concentración de DA y de su metabolito el DOPAC en el hipotálamo anterior de los animales sometidos a los distintos tratamientos hormonales, en la que se muestra que la concentración de DA disminuyó significativamente en los grupos de animales que fueron inyectados con PT o DE. En cambio, en los grupos de animales tratados con P<sub>4</sub> o P<sub>4</sub> + PT se observó un comportamiento inverso. Además, no se observaron cambios significativos en la concentración de DOPAC de esta región en alguno de los grupos experimentales.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

La actividad de la neurona dopaminérgica en el hipotálamo anterior de los animales tratados con PT o DE no se modificó, sin embargo en el grupo de animales tratados con  $P_4$  + PT, la actividad de este sistema de neurotransmisión fue menor en comparación con el grupo que recibió PT (Fig. 9).

En el hipotálamo medio se observó la tendencia al incremento en la concentración de DA en los animales tratados con aceite y sacrificados en diestro en comparación con los sacrificados en estro, sin embargo esta diferencia no llegó a ser estadísticamente significativa. Este mismo comportamiento se observó en los animales que recibieron  $P_4$ . En los animales que posterior a la administración de  $P_4$  fueron tratados con PT, se observó una disminución significativa en la concentración de este neurotransmisor con respecto al grupo tratado sólo con  $P_4$  (figura 10). En esta región del hipotálamo, en los animales inyectados con PT, la concentración de DOPAC no se modificó, y en los que recibieron DE, este metabolito se identificó únicamente en dos de los animales (0.14 y 0.4 ng/mg de tejido). Mientras que, en los grupos de animales que recibieron  $P_4$  o  $P_4$  + PT se observó un incremento en la concentración de DOPAC, sin llegar a ser significativa esta diferencia.



\*  $p < 0.05$  vs grupo con Vh(E)

‡  $p < 0.05$  vs grupo con PT

Fig. 8. Concentración de dopamina (DA) y del ácido 3,4-dihidroxiifenilacético (DOPAC) en el hipotálamo anterior de ratas hembra, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

TESIS OC.  
FALLA DE ORIGEN

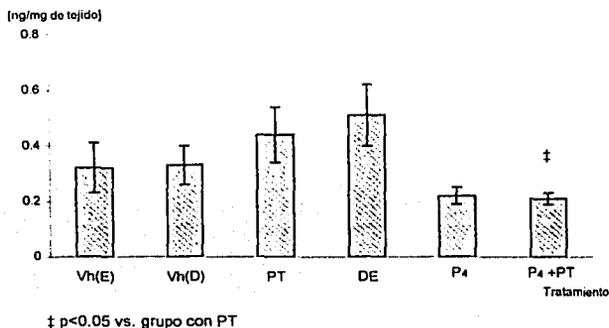


Fig. 9. Actividad de la neurona dopaminérgica [DOPAC]/[DA] en el hipotálamo anterior de las ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

En la figura 11, se observan los valores de la actividad de la neurona dopaminérgica en el hipotálamo medio. No se presentan resultados en los grupos de animales tratados con PT o DE, debido a que la cuantificación de DA y DOPAC no coincidieron en los mismos animales. Sin embargo, el grupo que recibió P<sub>4</sub>+PT, la actividad de este sistema de neurotransmisión fue mayor.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

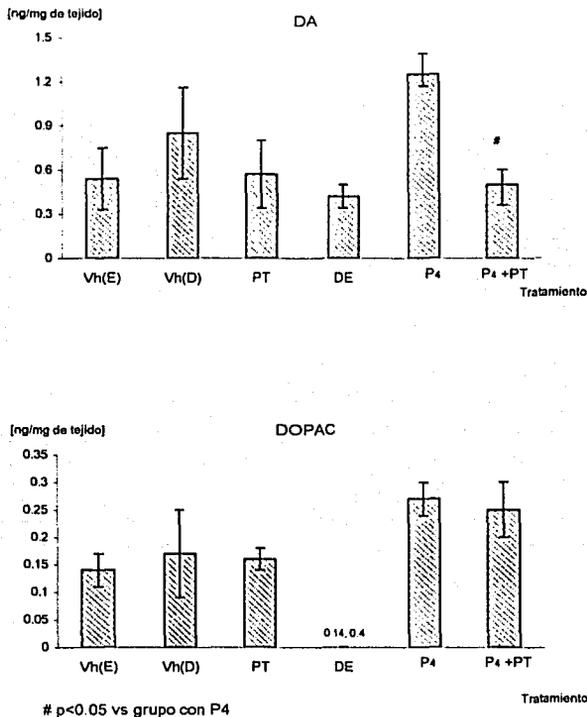


Fig. 10. Concentración de dopamina (DA) y del ácido 3,4-dihidroxi-fenilacético (DOPAC) en el hipotálamo medio de ratas hembra, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

FALLA DE ORIGEN

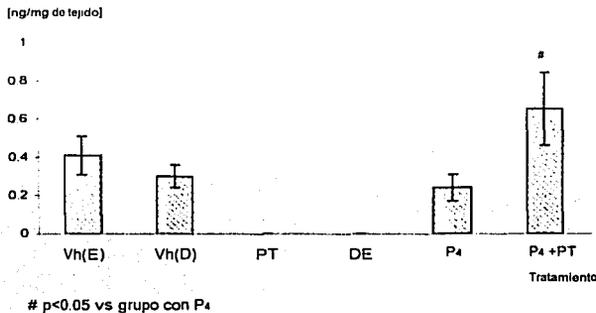


Fig. 11. Actividad de la neurona dopaminérgica [DOPAC]/[DA] en el hipotálamo medio de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

La concentración de DA en el hipotálamo posterior de la mayoría de los grupos experimentales estuvo por debajo de la sensibilidad del método, con excepción del grupo de animales tratados con aceite y sacrificados en estro ( $0.19 \pm 0.09$ ), y el grupo P<sub>4</sub> + PT ( $0.16 \pm 0.02$ ). En cambio, el DOPAC únicamente se detectó en los animales que recibieron vehículo y sacrificados en estro o diestro ( $0.26 \pm 0.08$  y  $0.21 \pm 0.03$  respectivamente).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

---

### Sistema serotoninérgico

Los cambios en la concentración de 5-HT presentaron un comportamiento muy similar en las tres regiones cerebrales de los diferentes grupos experimentales (Fig. 12, 14 y 16), salvo que en el hipotálamo anterior de los animales que recibieron PT o  $P_4$  + PT la concentración de este neurotransmisor disminuyó de manera significativa en comparación con los grupos tratados con DE y  $P_4$  respectivamente (Fig. 12). Asimismo, la concentración del 5-HIAA, también presentó muy pocas variaciones en los diferentes grupos experimentales. En el hipotálamo anterior y posterior de los animales inyectados con DE se observó la disminución en la concentración de este metabolito (Figuras 12 y 16).

La actividad neuronal de este sistema de neurotransmisión para el hipotálamo anterior, sólo muestra una disminución significativa en el grupo tratado con DE y comparado con el grupo testigo sacrificado en estro o con el grupo tratado con PT (Fig. 13). Para el hipotálamo medio, la actividad de dicha neurona se ve incrementada en todos los grupos con tratamiento hormonal, pero sólo es significativo en el grupo tratado con PT y con  $P_4$  + PT, al compararse con el grupo testigo sacrificado en estro (Fig. 15). En el hipotálamo posterior, la actividad neuronal no muestra variación en los distintos grupos experimentales, además en el grupo tratado con DE sólo hay dos animales en los que se calculó la actividad, por lo que no se calculó la media para ser graficada (Fig. 17).

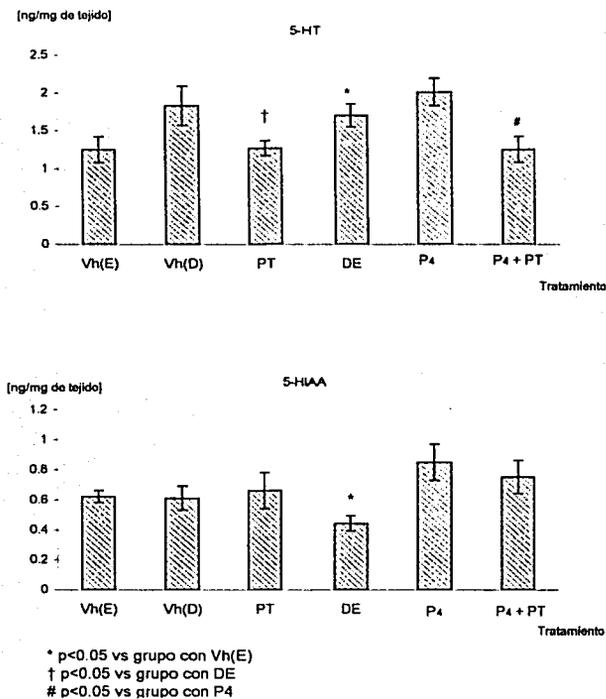


Fig. 12. Concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) en el hipotálamo anterior de ratas hembra, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

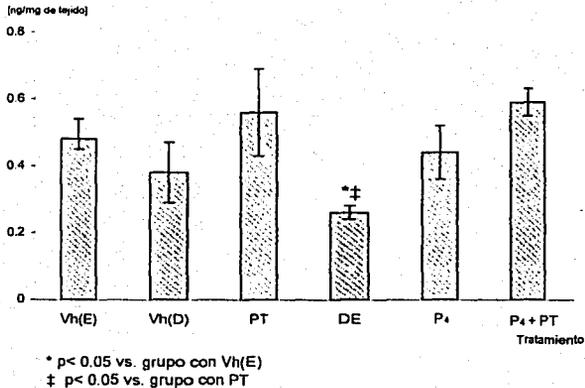


Fig. 13. Actividad de la neurona serotoninérgica [5-HIAA]/[5-HT] en el hipotálamo anterior de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

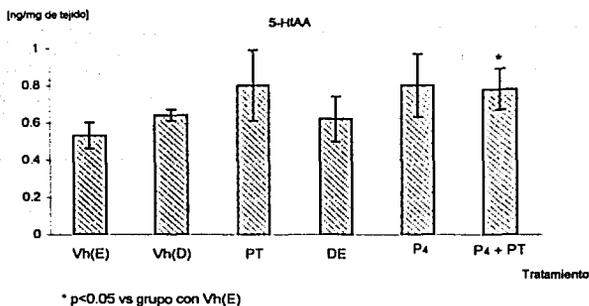
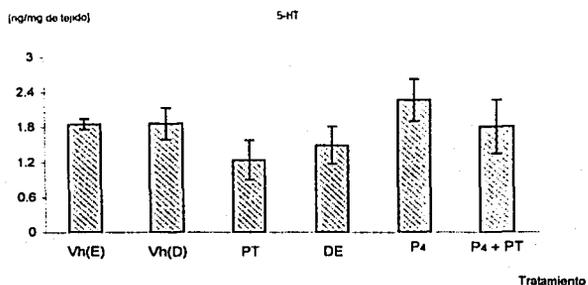
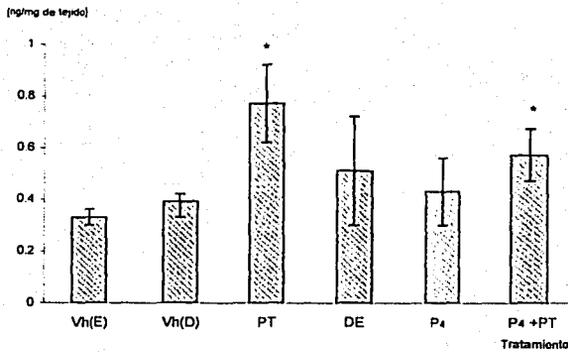


Fig. 14. Concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) en el hipotálamo medio de ratas hembra, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh(E)

Fig. 15. Actividad de la neurona serotoninérgica [5-HIAA]/[5-HT] en el hipotálamo medio de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

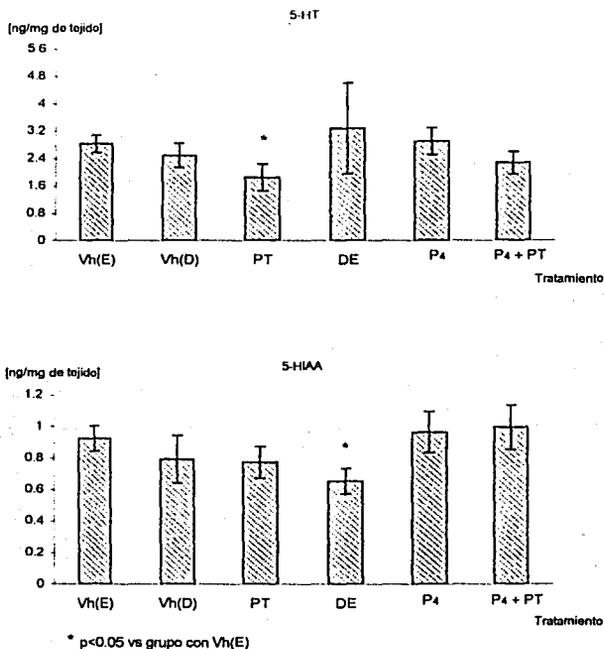


Fig. 16. Concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) en el hipotálamo posterior de ratas hembra, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

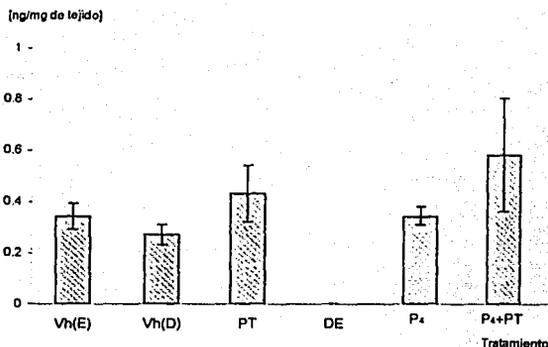


Fig. 17. Actividad de la neurona serotoninérgica [5-HIAA]/[5-HT] en el hipotálamo posterior de ratas hembras, tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

---

### Concentración de gonadotropinas y hormonas ováricas

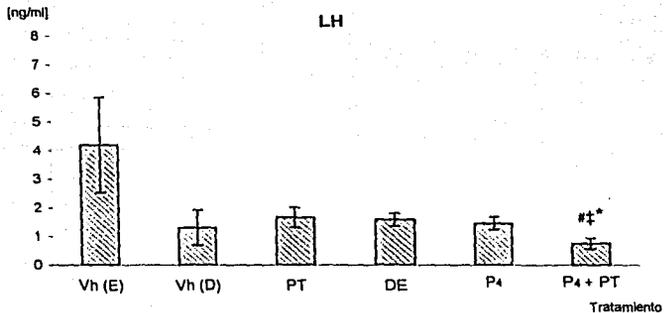
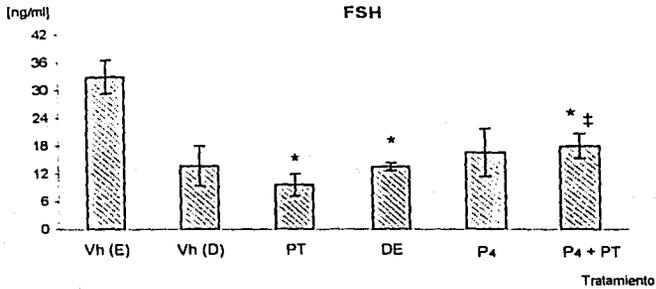
La concentración de FSH en suero disminuyó en todos los grupos de animales tratados con los diferentes esteroides, sin embargo esta diferencia fue estadísticamente significativa únicamente en los animales que fueron inyectados con PT, DE o P<sub>4</sub> + PT en comparación con el grupo testigo sacrificado en estro [Vh(E)] (Fig.18). La disminución en la concentración de esta hormona fue más evidente en los animales que recibieron PT en comparación con los que previo a la administración de PT fueron tratados con P<sub>4</sub>.

En todos los grupos de animales sometidos a los diferentes tratamientos hormonales la concentración de LH en suero disminuyó, pero esta diferencia fue únicamente significativa en el grupo P<sub>4</sub> + PT, en comparación con los animales testigo sacrificados en estro, los tratados con PT o con P<sub>4</sub> (Fig. 18).

En la parte superior de la figura 19, se muestra la concentración de la P<sub>4</sub> en el suero de los grupos de animales sometidos a los diferentes tratamientos, en la que se observó una disminución significativa en el grupo de animales inyectados con PT, y un comportamiento inverso en los animales que previo a la administración de PT se trataron con P<sub>4</sub>. En el grupo de animales tratados únicamente con P<sub>4</sub> también se observó un incremento significativo en la concentración de esta hormona en relación con el grupo testigo sacrificado en diestro.

En la parte inferior de la misma figura 19 se muestra la concentración de 17- $\beta$  estradiol en suero de los grupos de animales sometidos a los diferentes tratamientos. La concentración de esta hormona disminuyó de manera significativa en los grupos de animales tratados con PT o DE, en comparación

con el resto de los grupos experimentales. En cambio, en el grupo en que previo a la administración de PT se trató con  $P_4$  se observó un aumento en esta hormona en relación a los animales tratados con PT exclusivamente; el aumento en la concentración de 17- $\beta$  estradiol observado en este último grupo fue similar al del grupo que únicamente recibió  $P_4$ .



\*  $p < 0.05$  vs grupo con Vh(E)

#  $p < 0.05$  vs grupo con P<sub>4</sub>

‡  $p < 0.05$  vs grupo con PT

Fig. 18. Concentración de la hormona estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH) (media  $\pm$  e.e.m.) en suero de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

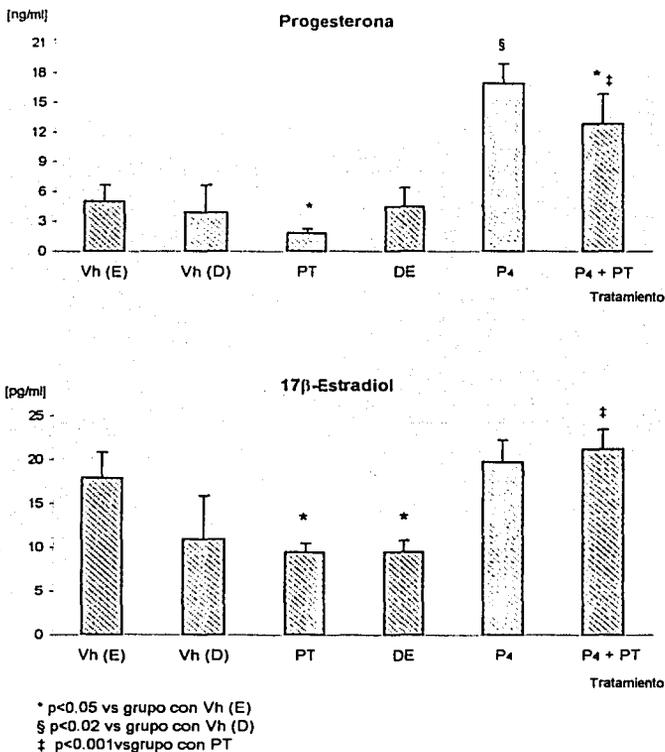


Fig. 19. Concentración de progesterona y 17β-estradiol en suero de ratas hembras tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más PT (P<sub>4</sub>+PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

### Peso de órganos

En la tabla 2, se muestran los resultados del peso corporal, de los ovarios y del útero de los animales sometidos a los diferentes tratamientos hormonales. En los animales tratados con PT, DE ó P<sub>4</sub>+PT se observa la tendencia al incremento en el peso corporal, sin embargo este incremento alcanzó a ser estadísticamente significativo únicamente en los animales que recibieron DE, en comparación con el grupo de animales testigo y sacrificados en estro. En cambio, el peso de los ovarios disminuyó significativamente en estos tres grupos. En los animales que recibieron únicamente P<sub>4</sub> en la fase neonatal el peso del ovario fue mayor en comparación al grupo de animales que posterior al tratamiento con P<sub>4</sub> recibieron PT. El mismo comportamiento se observó en el peso del útero.

Tabla 2. Peso corporal, de los ovarios y del útero (media  $\pm$  e.e.m.), de ratas hembra tratadas con vehículo (Vh), propionato de testosterona (PT), dipropionato de estradiol (DE), progesterona (P<sub>4</sub>), o progesterona más propionato de testosterona (P<sub>4</sub> + PT) en la fase neonatal y sacrificadas a los 60 días de edad.

Grupo	n	Peso corporal (gr)	Masa Ovárica (mg)	Útero (mg)
Vh (E)	10	165.8 $\pm$ 4.9	62.3 $\pm$ 3.3	306 $\pm$ 17.9
Vh (D)	8	157.2 $\pm$ 5.4	54.5 $\pm$ 6.8	235 $\pm$ 12.2
PT	9	174.5 $\pm$ 6.8	33.8 $\pm$ 1.4*	260 $\pm$ 7.4*†
DE	11	179.8 $\pm$ 4.3*	31.3 $\pm$ 2.3*	238 $\pm$ 6.8*
P <sub>4</sub>	10	164.9 $\pm$ 6.7	53.9 $\pm$ 2.1	296.5 $\pm$ 33.8
P <sub>4</sub> +PT	12	174.2 $\pm$ 5.9	32.4 $\pm$ 1.2*#	209.3 $\pm$ 8.1*‡#

\* p<0.05 vs. grupo con Vh (E)

‡ p<0.001 vs. grupo con PT

† p<0.05 vs. grupo con DE

# p<0.02 vs. grupo con P<sub>4</sub>

### Análisis histológico

En los ovarios de los animales tratados con vehículo y sacrificados en estro se observaron cuerpos lúteos recién formados (indicador de ovulación) (Fig. 20). En cambio, en los animales tratados con PT, no se observaron cuerpos lúteos de ciclos anteriores, ni recién formados y predominó la presencia de quistes foliculares (Fig. 21). En el grupo que recibió DE se identificaron folículos pequeños exclusivamente (Fig. 21). La administración de P<sub>4</sub> no modificó el desarrollo de cuerpos lúteos (Fig. 23). La estructura histológica de los ovarios de los animales que previo a la administración de andrógenos recibieron P<sub>4</sub> fue muy similar a la de los animales tratados con PT únicamente.



Fig. 20. Fotomicrografía de un corte histológico de un ovario de rata tratada con vehículo y sacrificada en el día del estro, en la que se observa un cuerpo lúteo recién formado y de ciclos anteriores, aumento a 10x.



Fig. 21. Fotomicrografía del corte histológico de un ovario de rata tratada con propionato de testosterona, en la que se observa un quiste folicular, que se caracteriza por un antro folicular grande, y el ovocito inmerso en esta cavidad. La capa de células de la granulosa está adelgazada y la teca engrosada, aumento a 10x.



Fig. 22. Fotomicrografía de un corte histológico de ovario de rata tratada con dipropionato de estradiol, donde se observan folículos pequeños, pero con ausencia de cuerpos lúteos, aumento a 10x.

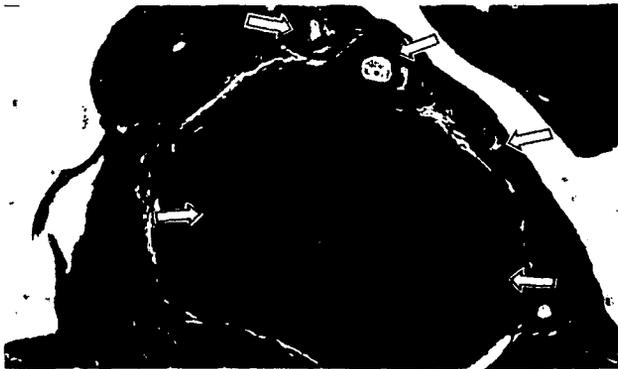


Fig. 23. Fotomicrografía del corte histológico de un ovario de rata tratada con progesterona, donde se observan folículos pequeños y un cuerpo lúteo de ciclos anteriores, aumento a 10x.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio permiten sugerir que la administración de PT en la fase neonatal (5 días de vida) induce el desarrollo del síndrome de anovulación, como ya ha sido planteado previamente (3, 5, 8, 13, 17, 27, 46, 58, 64, 96). Así mismo, el desarrollo de este síndrome está asociado a modificaciones en la actividad del sistema catecolaminérgico en el hipotálamo anterior y medio (Figura 24). El hecho de que en estos animales se presentara estro vaginal persistente, en la estructura del ovario (quistes ováricos), en la secreción de gonadotropinas, de hormonas esteroides ováricas, anovulación e incremento en la concentración de noradrenalina y disminución de la dopamina, en el hipotálamo anterior y medio, apoyan esta idea.

Experimentos realizados en la rata, sugieren que las hormonas esteroides gonadales alteran la distribución de las fibras del sistema monoaminérgico, ya que la administración de andrógenos a ratas durante la etapa perinatal (día 16), disminuye el número de fibras inmunorreactivas a serotonina en el área preóptica en la etapa adulta, así como el número de células que expresan la tiroxina hidroxilasa (TH) en el núcleo periventricular y también disminuye el volumen del locus ceruleus (91), que tiene una gran inervación noradrenérgica (53).

Nuestros resultados muestran que en la rata neonatal (5 días de edad) la administración de PT o DE, disminuye la actividad del sistema noradrenérgico, ya que en la etapa adulta (60 días de edad) la concentración de NA en el hipotálamo anterior y medio se incrementó (Fig. 24 y 25), lo cual se acompañó de una baja concentración del MHPG. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores, en animales tratados con andrógenos.

Quienes también han demostrado que la concentración de este neurotransmisor es mayor en el macho que en la hembra (77).

Se ha sugerido que la concentración de un neurotransmisor y de su metabolito son utilizados como indicador de la actividad de ese sistema de neurotransmisión, debido a que es un balance entre la tasa de síntesis, utilización y degradación del neurotransmisor (56, 83).

Las variaciones observadas en la concentración de NA y la aparente ausencia de su metabolito en el hipotálamo anterior y medio en los animales tratados con PT, posiblemente es el resultado de las modificaciones en la actividad de las enzimas involucradas en la biosíntesis de este neurotransmisor, en particular de la enzima tiroxina hidroxilasa (TH) (limitante en la síntesis de la NA). Esta idea es apoyada por las evidencias que muestran que la actividad de la TH disminuye en los machos castrados y se incrementa cuando estos animales reciben testosterona (16, 24). De igual forma, la administración de un inhibidor de la actividad de la TH, la  $\alpha$ -metil-p-tirosina a hembras tratadas con andrógenos al tercer día de vida, previno el incremento en la concentración de NA en el hipotálamo (77).

Al parecer, en los animales tratados con PT y DE, el incremento en la concentración de NA en el hipotálamo anterior y medio, y la aparente disminución de su metabolito, es el resultado de que el sistema noradrenérgico no es activo en estas dos regiones del hipotálamo. Es posible, que la NA que se está sintetizando no está siendo degradada rápidamente, lo que se traduce en una menor actividad de este sistema de neurotransmisión, posiblemente como resultado de la inhibición de la enzima que degrada a la NA, catecol-o-metil-transferasa. Esta última afirmación es apoyada por los resultados que muestran que cuando se administra testosterona a la rata hembra recién

---

nacida, disminuye la concentración de esta enzima (59). Otra posible explicación a nuestros resultados, es que la mayor concentración de NA observada en los animales tratados con PT y DE es debido a un mayor número de fibras noradrenérgicas en el hipotálamo, ya que previamente Luza y col. (63), describieron que la administración de estrógenos durante los primeros días de vida, sensibiliza al hipotálamo [específicamente en área preóptica media (MPOA)] e incrementa las terminales nerviosas de los principales sistemas de neurotransmisión.

Los resultados obtenidos en este estudio sobre la cuantificación de DA en el hipotálamo, muestra que a diferencia de la NA, la DA disminuyó en el hipotálamo anterior de los animales tratados con PT (Figura 24). Estas observaciones concuerdan con lo observado por Resnikov y Nosenko (77) quienes señalan que la administración de PT durante la fase neonatal (día 3) disminuye la concentración de DA en el hipotálamo completo.

Los cambios en la concentración de dopamina y su metabolito, el DOPAC, en el hipotálamo anterior y medio, de los animales tratados con PT o DE, nos indica que no existe una relación proporcional entre la tasa de síntesis, liberación y metabolismo del neurotransmisor. Es posible que conforme se sintetiza la dopamina, esta se libera y metaboliza, lo que posiblemente se traduce en una mayor actividad de las neuronas dopaminérgicas en estos animales.

En los animales tratados con PT no se observaron cambios en la concentración de 5-HT y su metabolito, el 5-HIAA, en las tres regiones del hipotálamo (Figura 24). Estos resultados muestran, que existe una relación entre la tasa de síntesis y el metabolismo del neurotransmisor, lo que nos permite pensar que la actividad de las neuronas serotoninérgicas no se

modificó en los animales que recibieron PT. A diferencia de lo observado en el animal adulto, en el prepúber, Giulian y col., (39), señalan que cuando se administra PT en el primer día de vida, se incrementa la concentración de 5-HT, y este aumento es muy similar a lo observado en el macho. Es posible que estos cambios observados en el día 10 sean el resultado del proceso de maduración de este sistema de neurotransmisión. En apoyo a esta idea se ha mostrado que el desarrollo del sistema serotoninérgico culmina alrededor de la tercera semana de desarrollo postnatal (61, 91).

Otra posible explicación es que estas diferencias se deban a que en nuestro estudio la concentración de 5-HT se cuantificó a los 60 días de edad y en el estudio antes mencionado fue en el día 10. Por ello, es probable que en este último caso aún no se manifestaban los efectos del PT en la reorganización de las neuronas serotoninérgicas y como consecuencia no se detectaron cambios en este sistema de neurotransmisión (Figura 24).

A partir de estos resultados, se puede sugerir que el proceso de diferenciación sexual de los centros que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas está asociado a las acciones que las hormonas esteroides sexuales ejercen sobre el sistema noradrenérgico, en particular del hipotálamo anterior y medio, donde se localizan los núcleos celulares que regulan este tipo de secreción hormonal en la hembra (39, 59, 62, 63, 65, 69, 77) (Figuras 24, 25 y 26).

Con base en nuestros resultados y los reportados por otros autores, parecería que la NA es uno de los neurotransmisores asociado al desarrollo del síndrome de androgenización inducido por la administración de PT, que se caracteriza por la aparición de estro vaginal persistente, ovario poliquístico, anovulación (falta de ovulación y ausencia de cuerpos lúteos) y esterilidad

---

permanente (59, 62, 77, 85, 86).

En la rata hembra se ha mostrado que la inyección de esteroides (4, 5, 7, 44, 89), o el trasplante de testículos, durante la fase neonatal, el mantener los animales en iluminación constante, la lesión de algunas regiones del hipotálamo, (área hipotalámica anterior) (89), inducen el desarrollo del estro vaginal persistente. En nuestro estudio los animales que recibieron PT o DE en el día 5 de vida, presentaron estro vaginal persistente durante los 10 días previos al sacrificio. Este evento puede estar vinculado a la secreción constante de estrógenos por el ovario de estos animales.

La idea de que el estro vaginal persistente es el resultado de la acción de los estrógenos, es apoyada por las evidencias que muestran que esta hormona influye en el crecimiento, composición y apariencia celular de la vagina. Bajo la influencia de los estrógenos, el epitelio de la vagina crece, toma sus características cornificadas, y posteriormente pierde su núcleo. Esto se ha mostrado en cultivos de vagina *in vitro* a los que se les adiciona estradiol o por la aplicación intravaginal de la hormona (87).

La presencia de estro vaginal persistente en los animales tratados con PT o con DE, se acompañó de falta de ovulación, independientemente de que en el día de sacrificio la citología vaginal mostraba características de estro, como ya había sido observado por Gorsky (44) y por Bradbury (13). La falta de ovulación en estos animales puede ser explicada por la disminución en la concentración de la FSH y la LH sérica observada en estos animales.

Los cambios en la producción de estas hormonas podría estar relacionado con alteraciones en el crecimiento y diferenciación del folículo

ovárico, lo cual se reflejó en la falta de ovulación en los animales tratados con andrógenos. Se sugiere que el síndrome de anovulación se acompaña de modificaciones en la estructura del ovario, caracterizado por el desarrollo de folículos con apariencia de quistes y ausencia de cuerpos lúteos recién formados o de ciclos anteriores, así como un menor peso del órgano (3, 5, 13). En cambio en los animales tratados con DE se observaron únicamente folículos pequeños.

Con base en nuestros resultados y los de otros autores es posible sugerir que la falta de ovulación observada en los animales tratados con PT es el resultado de la masculinización de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción tónica-cíclica de las gonadotropinas y como consecuencia las funciones del ovario (producción de óvulos y hormonas esteroides sexuales, como ha sido planteado por otros autores (4, 6, 45, 46, 47, 48).

La anovulación observada en los animales tratados con PT o DE, también se acompañó de modificaciones en la esteroidogénesis. La disminución de la concentración del  $17\beta$ -estradiol en suero de estos animales, como resultado de la alteración en la producción de gonadotropinas apoya esta idea. Se ha mostrado que en los ovarios poliquísticos, los folículos producen predominantemente andrógenos y en menor proporción los estrógenos (66, 89).

Previamente se ha mostrado que el tratamiento con PT o DE al nacimiento, induce alteraciones en la secreción de las gonadotropinas (3, 13, 14, 17, 39, 44, 59, 69, 86), y hormonas esteroides ováricas (89). En el presente estudio la disminución en la concentración de gonadotropinas se acompañó de una menor producción de  $P_4$  y  $17\beta$ -estradiol en los animales tratados con PT o DE. Son diversos los reportes que han mostrado que las

---

gonadotropinas son factores esenciales en la regulación de la esteroidogénesis por el ovario (30, 43, 49). Con base en estas evidencias y nuestros resultados (Figuras 24, 25 y 26), una posible explicación de la disminución de  $P_4$  y estradiol, es que la tasa de transformación de colesterol a pregnenolona, paso limitante en la síntesis de andrógenos, que es regulada por la LH, esté modificado, ya que también esta hormona disminuyó en sangre (43). Así mismo, ante la menor concentración de FSH, disminuyó la aromatización de los andrógenos a estrógenos en las células de la granulosa, esta acción de la FSH ha sido planteada previamente en otros modelos de estudio (41, 49).

Se ha mostrado que en la rata, los cambios en el comportamiento sexual, citología vaginal y peso del útero son modificaciones biológicas de las fluctuaciones y secreción de las hormonas ováricas (29). La disminución en el peso del útero observado en nuestros animales tratados con PT o DE se acompañó de la disminución de estrógenos en suero; lo que indicaría que el ovario de estos animales no es capaz de secretar la cantidad o el tipo de esteroide necesario para estimular el crecimiento y desarrollo de este órgano. La importancia de los estrógenos en el desarrollo del útero ha sido planteada previamente. Además, se ha mostrado que en los animales tratados con andrógenos a los 2 ó 5 días de edad, el útero no se desarrolla, el endometrio contiene muy pocas glándulas, donde el epitelio se hipertrofia (3). Sin embargo Fink y Henderson (31), al describir los efectos de la androgenización en sus resultados indican que el PT produce un incremento significativo en el peso del útero.

En el grupo de animales que recibieron una sola dosis de  $P_4$ , la ciclicidad vaginal fue muy similar a la de los animales testigo (Figura 21). En

---

estos animales se presentaron periodos de diestro alternados de proestro y estro, y en el ovario se observaron cuerpos lúteos de ciclos anteriores. Estos resultados nos permiten plantear que la administración de una dosis de progesterona no modificó los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las gonadotropinas en la rata hembra.

Con los resultados obtenidos en los animales tratados con  $P_4$  y PT no se puede definir claramente si el tratamiento previo con  $P_4$  protege al hipotálamo de los efectos de los andrógenos, en la diferenciación sexual de esta estructura (Figura 26). A la  $P_4$  producida por la placenta se le ha atribuido un papel protector de los efectos masculinizantes de los andrógenos en los fetos de los primates de ambos sexos, así como la administración de altas dosis de  $P_4$  en la rata (15, 17). En nuestro estudio parecería que la  $P_4$  no protege al sistema nervioso central de los efectos masculinizantes de los andrógenos. Sin embargo, es importante señalar que a diferencia de los trabajos antes mencionados, en este estudio se aplicó una dosis baja de  $P_4$  (50  $\mu$ g).

Los resultados presentados en este estudio muestran que los efectos de la administración de PT sobre el sistema dopaminérgico del hipotálamo, dependieron de si previo a la administración de andrógenos los animales recibieron el tratamiento con  $P_4$ . La administración de PT incrementa la concentración de NA en el hipotálamo anterior y medio (Figura 24). Mientras que cuando los animales previamente recibieron  $P_4$  (Figura 26), si bien se observa un ligero incremento en la concentración de esta amina, no llega a ser diferente. Así mismo, a diferencia de los animales que únicamente fueron tratados con PT, de los que recibieron  $P_4$  + PT, la concentración de DA se incrementa y el metabolito no se modifica.

Con base en estos resultados, parecería que en los animales que previo a la administración de PT recibieron  $P_4$ , la síntesis y la liberación de DA están incrementadas, lo que se traduce en una mayor actividad de este sistema de neurotransmisión (Figura 26).

En ninguno de los animales tratados con  $P_4$  + PT, se presentó ovulación, ni ciclicidad normal (predominó la presencia de estro vaginal) y en los ovarios de estos animales no se observaron cuerpos lúteos de ciclos anteriores ni recién formados (Figura 23). Este último evento apoya la idea de que la  $P_4$  no protegió a los animales de los efectos de los andrógenos en la diferenciación de los centros que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas, debido a que estos animales presentaron todas las características que se han identificado en el síndrome de androgenización.

En conjunto estos resultados nos permiten sugerir que las hormonas esteroideas participan en el proceso de diferenciación de los centros del sistema nervioso central que regulan la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas en la rata hembra. Así mismo que el efecto de estas hormonas es por medio de la modulación de la actividad del sistema catecolaminérgico y en particular el noradrenérgico.

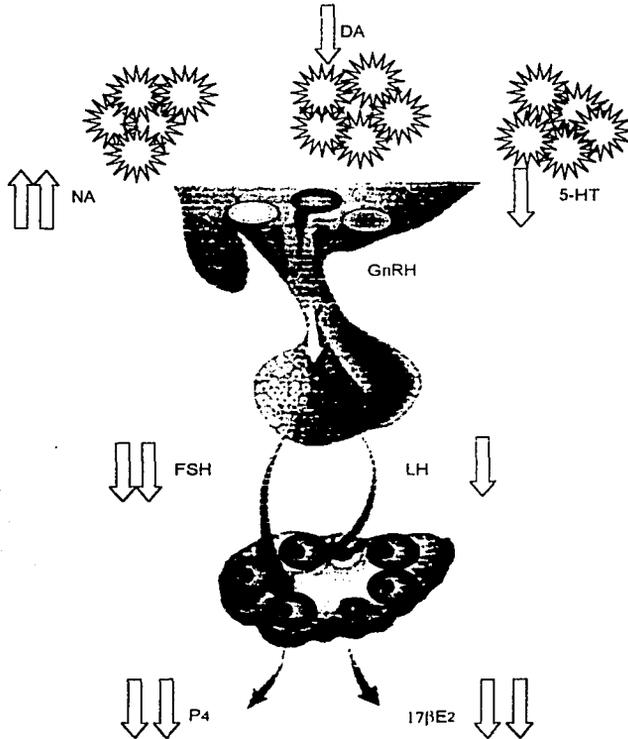


Figura 18. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario de los animales tratados con PT Noradrenalina (NA); Dopamina (DA); Serotonina (5-HT); Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH); Hormona foliculoestimulante (FSH); Hormona Luteinizante (LH); Progesterona (P<sub>4</sub>); 17β-estradiol (17βE<sub>2</sub>). Aumento (↑) ó disminución (↓).

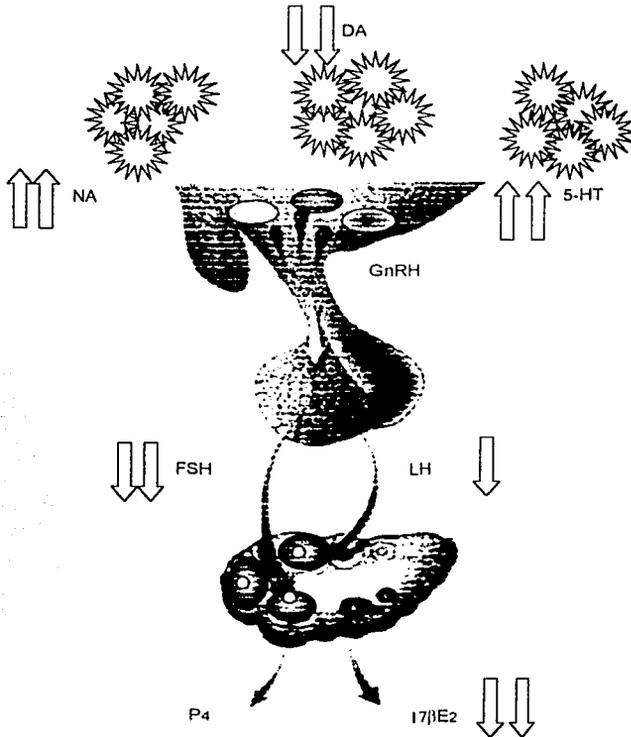


Figura 19. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario de los animales tratados con DE. Noradrenalina (NA); Dopamina (DA); Serotonina (5-HT); Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH); Hormona foliculoestimulante (FSH); Hormona Luteinizante (LH); Progesterona (P<sub>4</sub>); 17β-estradiol (17βE<sub>2</sub>). Aumento (↑) ó disminución (↓).

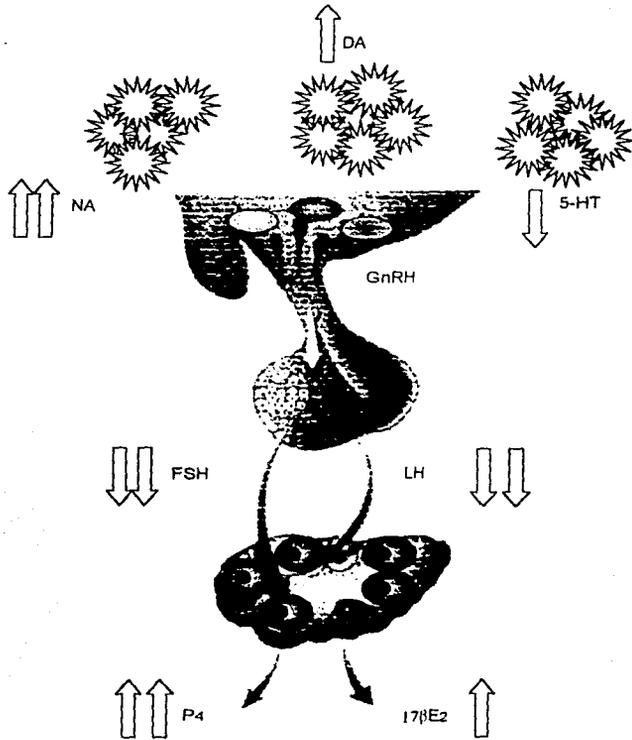


Figura 20. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario de los animales tratados con P<sub>4</sub> + PT. Noradrenalina (NA); Dopamina (DA); Serotonina (5-HT); Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH); Hormona folículoestimulante (FSH); Hormona Luteinizante (LH); Progesterona (P<sub>4</sub>); 17β-estradiol (17βE<sub>2</sub>). Aumento (▲) ó disminución (▼).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

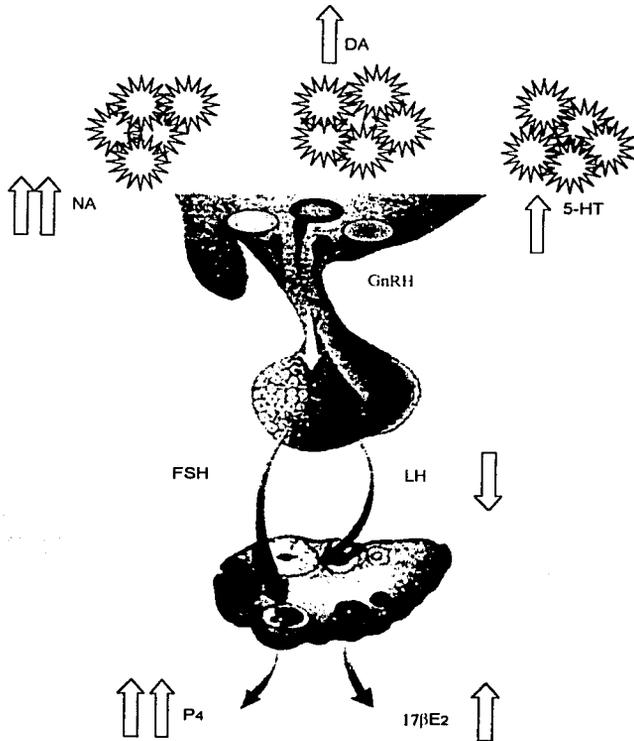


Figura 21. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario de los animales tratados con P<sub>4</sub>. Noradrenalina (NA); Dopamina (DA); Serotonina (5-HT); Hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH); Hormona folículoestimulante (FSH); Hormona Luteinizante (LH); Progesterona (P<sub>4</sub>); 17β-estradiol (17βE<sub>2</sub>). Aumento (↑) ó disminución (↓).

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## CONCLUSIONES

1. Las hormonas esteroides participan en el proceso de diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas.
2. La administración de PT o DE neonatal, modifica la secreción tónica-cíclica de las gonadotropinas y como consecuencia la estructura y funciones del ovario.
3. La actividad del sistema noradrenérgico está asociado al proceso de diferenciación sexual de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de gonadotropinas.
4. La progesterona parecería no participar en la diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas.
5. La progesterona protege parcialmente al hipotálamo de los efectos masculinizantes del propionato de testosterona, lo cual depende del momento de diferenciación hipotalámica en que ésta sea aplicada .

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## BIBLIOGRAFÍA

1. AYALA M A., MONROY J., MORALES L., CASTRO M E., DOMINGUEZ R. (1998). Effects of a lesion in the dorsal raphe nuclei performed during the juvenile period of the female rat, on puberty. *Brain Research Bulletin*, 47: 211-218.
2. BAIRD D T. (1978). Reproduction hormones. En : **Reproduction in mammals**. Eds. C. R. Austin y R. V. Short, Cambridge University Press. New York. pp 1 - 13.
3. BARRACLOUGH CH A. (1961). Production of anovulatory sterile rats by single injection of testosterone propionate. *Endocrinology*, 68: 62-67.
4. BARRACLOUGH CH A., YRARRAZAVAL S., HATTON R. (1964). A possible hypothalamic site of action of progesterone in the facilitation of ovulation in the rat. *Endocrinology*, 75: 838-845.
5. BARRACLOUGH CH A. (1966). Modification in reproductive function after exposure to hormones during the prenatal and early postnatal period. En: **Neuroendocrinology**. Eds. L. Martini, W. F. Ganong. Academic Press. pp 61-99.
6. BARRACLOUGH CH A. (1966). Modifications in the CNS regulation of reproduction after exposure of prepubertal rats to steroid hormones. *Research Progress Hormone Research*, 22: 503-539.
7. BARRACLOUGH CH A. (1973). Sex steroid regulation of reproductive neuroendocrine processes. En: **Handbook of physiology**. American Physiological Society. Eds. R O Greep, E B Astwood. Washington, D. C. pp 29-56.
8. BARRACLOUGH CH A., GORSKY R A. (1961). Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. *Endocrinology*, 68: 68 - 79.

9. BECÚ-VILLALOBOS D., LACAU-MENGIDO I M. (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican*, 40:1-17.
10. BECÚ-VILLALOBOS D., LIBERTUN C. (1986). Ontogenesis of (3H) serotonin binding sites in the hypothalamus of the female rat: Relation of serotonin-induced LH release in moxestrol-pretrated rats. *Developmental Brain Research*, 25:111-116.
11. BEIGON A., BERCOVITZ H., SAMUEL D. (1980). Serotonin receptor concentration during the estrous cycle of the rat. *Brain Research*. 187: 221-225.
12. BOOTH J E. (1979). Sexual behavior of male rats injected with the anti-androgens MER-25 during infancy. *Physiology Behavioral*, 19: 35-39.
13. BRADBURY J T. (1941). Permanent after-effects following masculinization of the infantile female rat. *Endocrinology* 28: 101- 106.
14. BRAWER J R., SCHIPPER H., NAFTOLIN F. (1980). Ovary-dependent degeneration in the hypothalamic arcuate nucleus. *Endocrinology*, 107: 274-279.
15. BUKOVSKÝ A., PRESL J., KRABEC Z. (1979). Effects of postnatal progesterone treatment on ovarian function in adult rats. *Experientia*, 35: 562-563.
16. BUSTAMANTE D., LARA H., BELMAR J. (1989). Changes of norepinephrine levels, tyrosine hydroxylase and dopamine-beta-hydroxylase activities after castration and testosterone treatment in vas deferens of adult rats. *Biology of Reproduction*, 40: 541-548.
17. CAGNONY M., FANTONY F., MORACE G., GHETTI A. (1965). Failure of testosterone propionate to induce the "early androgen syndrome" in rats previously injected with progesterone. *Journal of Endocrinology*, 33: 527-578.
18. CHAPPEL S C., ULLUOA-AGUIRRE A., COUTIFARIS CH. (1983). Biosynthesis and secretion of follicle stimulating hormone. *Endocrine Society*, 4: 179- 221.

19. CARRER H F., AOKI A. (1982). Ultrastructural changes in the hypothalamic ventromedial nucleus in ovariectomized rats after estrogens treatment. *Brain Research*, 240: 221-233.
20. COWAN B. (1991). Anovulation. En: **Ovulation induction**. Ed. R L. Collins. Springer-Verlag, New York. pp 41-51.
21. DANIELL J F. 1991. Surgical management of polycystic ovarian disease. En: **Ovulation induction**. Ed. R L. Collins. Springer-Verlag, New York. pp 145-152.
22. DEJARDINS G C., BEAUDET A., BRAWER J R. (1990). Alterations in opioid parameters in the hypothalamus of rats with estradiol-induced polycystic ovarian disease. *Endocrinology* 127: 2969-2976.
23. DEJARDINS G C., BRAWER J R., BEAUDET A. (1993). Estradiol is selectively neurotoxic to hypothalamic  $\beta$ -endorphin neurons. *Endocrinology* 132: 86-93.
24. DIBNER M D., BLACK I B. (1976). Elevation of sympathetic ganglion tyrosine hydroxylase activity in neonatal and adult rats by testosterone treatment. *Journal of Neurochemistry*, 27: 323-324.
25. DOMÍNGUEZ R., CHAVEZ R., CRUZ M E. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En **Tópicos selectos de Biología de la reproducción**. Edit. R Domínguez. UNAM-Porrúa. México pp 162-192.
26. DZIUK P J. (1999). Fertility and fecundity. En: **Encyclopedia of Reproduction**. Eds. E. Knobil, J. D. Neill. Vol 2. Academic Press, New York. pp 252-256.
27. FEDER H H. (1967). Specificity of testosterone and estradiol in the differentiating neonatal rat. *Anatomical Research*. 157: 79-86.

28. FEDER H H. (1981). Hormonal actions on the sexual differentiation of the genitalia and the gonadotropin regulation systems. En: **Neuroendocrinology of Reproduction**. Physiology and Behavior. Ed. N. T. Adler. Plenum Press, New York & London. pp 89-126.
29. FEDER H., WHALEN R E. (1965). Feminine behavior in neonatally castrated and estrogen-treated male rats. *Science*, 147: 306-307
30. FINK G. (1988). Gonadotrophin secretion and its control. En: **The Physiology of Reproduction**. Eds. E. Knobil, S. Neil. Raven Press, New York pp 1349-1378.
31. FINK G., HENDERSON S R. (1977). Steroids and pituitary responsiveness in female, androgenized female and male rats. *Journal of Endocrinology* 73: 157-164.
32. FINK G., SUMNER B. E. H., ROSIE R., GRACE O., QUINN J. P. (1996). Estrogen control of central neurotransmission: effects on mood, mental state, and memory. *Cellular Molecular Neurobiology*, 16: 325-344.
33. FLORES A., DOMÍNGUEZ R. (1992). Noradrenergic peripheral denervation of the female rat accelerates the positive feedback mechanisms resulting in puberal ovulation, and blocks the modifications induced by administration of testosterone propionate at birth. *Journal of Endocrinology* 135: 415- 420.
34. FRANKFURT M., GOULD E., WOOLLEY C., McEWEN B S. (1990). *Neuroendocrinology*, 51: 530-535.
35. FRANKFURT M. (1994). Gonadal steroids and neuronal plasticity: studies in the adult rat hypothalamus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 743: 45-50.
36. FREEMAN M E. (1994). The ovarian cycle of the rat. En: **The physiology of reproduction**. edit. E. Knobil y J. Neil. Raven Press. New York. 1893-1928.
37. GARCÍA-SEGURA L M., CHOWEN J A., PARDUEZ A., NAFTOLIN F. (1994). Gonadal hormones as promoters of structural synaptic plasticity: cellular mechanisms. *Progress Neurobiology*: 279-307.

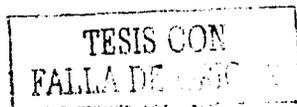
38. GILMORE D P., WILSON C A., (1983). Indolamine and catecholamine concentrations in the mid term human fetal brain. *Brain Research Bulletin*, 10: 395-398.
39. GIULIAN D., LARISSA A., POHORECKY L A., McEWEN B S. (1973). Effects of gonadal steroids upon brain 5-hydroxytryptamine levels in the neonatal rat. *Endocrinology* 93: 1329-1335.
40. GONZÁLEZ-MERLO J. (1993). *Ginecología*. 6ª edición. Editoriales Científicas y Técnicas, S. A. pp 199-205.
41. GOLDZIEHER J W., AXELROD L R. (1963). Clinical and biochemical features of polycystic ovarian disease. *Fertility and Sterility* 14: 631-653.
42. GORDON J H., SHELLER BERGER M K. (1974). Regional catecholamine content in the rat brain: sex difference and correlation with motor activity. *Neuropharmacology* 13: 129-137.
43. GORE-LANGTON R E., ARMSTRONG D T. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: **The physiology of reproduction**. Eds. Knobil, J. Neill. Raven Press, New York. pp 571 - 627.
44. GORSKI R A. (1963). Modification of ovulatory mechanisms by postnatal administration of estrogen to the rat. *American Journal of Physiology* 205: 842-844.
45. GORSKY R A. (1978). Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area for the rat brain. *Brain Research*, 148: 333 - 346.
46. GORSKY R A. (1990). Sexual differentiation of the brain: comparative aspects. En: **Control of the Onset of Puberty**. Eds. M. M. Grumbach, P. C. Sizonenko, M. L. Aubert. Baltimore, Maryland, U. S. A. 231-250.
47. GORSKY R A, CSERNUS V J., JACOBSON C D. (1981). Sexual dimorphism in the preoptic area. En: **Advances in physiological sciences**. Vol 15. Reproduction and development. Eds. B. Flerko, G. Stetalo, L. Tima. Budapest: Pergamon Press and Akademiai Kiado, pp 121-130.
48. GORSKY R A., WAGNER J W. (1965). Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. *Endocrinology* 76: 226-239.

49. GREENWALD G S., SHYAMAL R K. (1994). Follicular development and its control. En: **The physiology of Reproduction**. Edit. Knobil, J. Neill. Raven Press, New York. pp 629 - 724.
50. HADFIELD H G., CRANE M E., NUGET E A., MILIO C., NARASHIMASCHARI N. (1985). Determination of 13 catecholamines, indolamines, metabolites and precursors in less than 20 minutes during a simple HPLC run. *Journal Liquid Chromatography*. 8: 89- 2697.
51. HODGKIN J. (1991). Sex determination and the generation of sexually dimorphic nervous system. *Neuron*, 6: 177-185.
52. HUTTON J C., SIDDLE. (1990). Peptide hormone serotonin. A practical approach.
53. JENNES L., BECKMAN W. C., STUMPF W. E., GRZANNA R. (1982). Anatomical relationships of serotonergic and noradrenergic projections with the Gn-RH system in septum and hypothalamus. *Exp. Brain Research*, 46: 331-338.
54. JONES K J., PFAFF D W., McEWEN B S. (1985). Early estrogen-induced nuclear changes in rat hypothalamic ventromedial neurons: An ultrastructural and morphometric analysis. *Journal Comp. Neurology*, 239: 255-266.
55. KEITH L. M. (1989). *Embriología Clínica*. 4ª edición. Editorial Interamericana. México. pp 288-300.
56. KERDELHUÉ B., BOJNA F., LESIEUR P., PASQUALINI C., EL ABAD A., LENOIR V., DOVILLER P., CHIUEH M. C., PALKOVITS M. (1989). Median eminence dopamine and serotonin neuronal activity. *Neuroendocrinology* 49: 176-180.
57. KOLB B., STEWART J. (1991). Sex-related differences in dendritic branching of cells in the prefrontal cortex of rats. *Journal Neuroendocrinology*, 3: 95-99.

58. KORENBROT C. C., PAUP D. C., GORSKY R. A. (1975). Effects of testosterone propionate or dihydrotestosterone propionate on plasma FSH and LH levels in neonatal rats and on sexual differentiation of the brain. *Endocrinology*, 97:709-117.
59. LADOSKY M., SCHNEIDER H. F., BRAXILIAN J. (1981). TITULO. *Med. Biol. Res.* 14: 409-413.
60. LEWINE S., MULLINS R. Jr. (1964). Estrogen administered neonatally affects adult sexual behavior in male and female rats. *Science* 144: 185 - 187.
61. LOYDOV H. G., MOLLIVER M. E. 1982. Immunochemical study of the development of serotonergic neurons in the rat CNS. *Brain Research Bulletin*, 9: 559-604.
62. LOYO R., DOMÍNGUEZ R., FLORES A. (1994). Modificaciones en la concentración de noradrenalina en el hipotálamo y los ovarios inducidos en la rata por la androgenización o estrogenización al nacimiento. *Nacional de Ciencias Fisiológicas. A. C. México.* 98.
63. LUZA S. M., LIZAMA L, BURGOS R A., LARA H E. 1995. Hypothalamic changes in norepinephrine release in rats with estradiol valerate-induced polycystic ovaries. *Biology of Reproduction*, 52: 398-404.
64. McEWEN B S. (1978). Sexual maturation and differentiation. The role of the gonadal steroids. En: **Progress in Brain Research Maturation of the Nervous System**. Eds. M. A. Corner, R. A. Baker, N.E. Van de Poll, D. F. Swaub, H. B. M. Vylings. Elsevier. Amsterdam. pp 291-307.
65. McEWEN B S. (1991). Non-genomic and genomic effects of steroids on neural activity. *Trends Pharmacology. Science.* 12: 141-147.
66. MENNIN S P., KUBO K. y GORSKI, R A. (1974). Pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing factor in normal and androgenized female rats. *Endocrinology.* 95: 412-416.

67. MERCHANT L. H. (1991). Gametogénesis. En : **Tópicos selectos de Biología de la Reproducción**. Edit. R. Domínguez. Porrúa. México, D. F. 11-30.
68. MIYAKAWA M., ARAI Y. (1987). Synaptic plasticity to estrogen in the lateral septum of adult male and female rats. *Brain Research*. 436: 184-188.
69. MOGUILLEVSKY J. A., FAIGÓN M. R., SEACCHI P., SZWAREFARB B. (1987). Role of sexual differentiation of the hypothalamus in the differential effect of the serotonergic system on LH in pubertal male and female rats. *Neuroendocrinology*, 45: 274-277.
70. MONTEMAYOR M. E., CLARK A. S., LYNN D. N., ROY E. J. (1990). Modulation by norepinephrine of neuronal responses to estradiol. *Neuroendocrinology* 52: 473-480.
71. MORENO-MENDOZA N., MERCHANT-LARIOS H. (1977). Desarrollo embrionario de las gónadas. En: **Curso internacional de actualización en Fisiología**. Eds. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A. C. Morelia Michoacán, México. pp 255-280.
72. OJEDA S. R., URBANSKY H. F. (1994). Puberty in the rat. En: **The physiology of reproduction**. Eds. E. Knobil, J. Neil. Plenum Press. New York. pp 363 - 409.
73. PARROT J. A., SKINNER M. K., (1999). Gonadogenesis, female. En: **Encyclopedia of Reproduction**. Eds. E. Knobil, J. D. Neil. Vol 2 Academic Press. N.Y. pp 483-491.
74. PAXINOS G., WATSON C. (1982). **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Academic Press Australia.
75. PINILLA L., TRIMIÑO E., GARNELO P., BELLIDO C., AGUILAR R., GAYTÁN F., AGUILAR E. (1993). Changes in pituitary secretion during the early postnatal period and anovulatory syndrome induced by neonatal oestrogen or androgen in rats. *Journal of Reproduction and Fertility*. 97: 13 -20.

76. REINSERT I., HAN V., LIETH E., TORAN-ALLERAND D., PILGRIM C., LAUDER J. (1987). Sex steroids promote neurite growth in mesencephalic tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons in vitro. *International Journal Developmental Neuroscience*, 5: 91-98.
77. REZNIKOV A G., NOSENKO N D. (1983). It is possible that noradrenaline is the biogenic amine responsible for androgen-dependent sexual brain differentiation. *Experimental and Clinical Endocrinology*. 81: 91-93.
78. ROSS M H., REITH E J., ROMRELL L J. (1992). *Histología texto y Atlas a color*. Edit. Médica Panamericana. 2ª edición. México. p 749.
79. SADLER T W. (1996). *Langman Embriología Médica*. 7ª edición. Edit. Panamericana S. A. de C. V. México, D. F. pp 267-278.
80. SALVE M L., AMICH S., PRIETOS., CASAS A. (1994). *Laboratorio clínico, bioquímica*. 1ª ed. Ed. McGraw-Hill pp 496.
81. SCHATTEN G. (1999). Fertilization. En: **Encyclopedia of Reproduction**. Eds. E. Knobil, J. D. Neil. Vol. 2 Academic Press New York. pp. 256- 265.
82. SHAH B H., KRISHNA RAO A S M., HAUSMAN R E. (1992). Role of cell recognition molecule, cognin, in GABAergic differentiation in chick retina. *Brain Research*, 589: 268-274.
83. SHANNON N. J., GUNNET J. W., MOORE K. E. (1986). A comparison of biochemical indices of 5-hydroxytryptaminergic neuronal activity following electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus. *Journal Neurochemical*. 47: 958-965.
84. SCHUMACHER M., COIRINI H., FRANKFURT M., McEWEN B S. (1989). *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, 86: 6798-6801.
85. SIDDIQUI A., GILMORE D. P. (1988). Regional differences in the catecholamine content of the rat brain: effects of neonatal castration and androgenization. *Acta Endocrinologica* 118: 483-484.



86. SIDDQUI A., SHAH B H. (1997). Neonatal androgen manipulation differentially affects the development of monoamine systems in rat cerebral cortex, amygdala and hypothalamus. *Developmental Brain Research*. 98: 247-252.
87. STEINETS B G. (1973). Secretion and function of ovarian estrogens. En: **Handbook of physiology**. Eds. R O. Greep; E B. Astwood. American Physiological Society, Washington. pp 439 - 466.
88. SWANSON H E., VAN DER WERFF J J. (1964). The early-androgen syndrome its development and the response to hemispaying. *Acta Endocrinológica* 45: 1-12.
89. TAKEWAKI K. (1962). Some aspects of hormonal mechanism involved in persistent estrous in the rat. *Experientia* 18: 1 - 6.
90. TEXEIRA J., LEE M M. (1999). Gonadogenesis, male. En: **Encyclopedia of Reproduction**. Eds. E. Knobil, J. D. Neil. Vol 2. Academic Press. New York. pp 492-497.
91. TOBET S A., FOX T O. (1989). Androgen regulation of an antigen expressed in regions of developing brainstem monoaminergic cell groups. *Developmental Brain Research*, 46: 243-261.
92. TORAN-ALLERAND C D. (1980). Sex steroids and the development of the newborn mouse hypothalamus and preóptica area in vitro. II. Morphological correlates and hormonal specificity. *Brain Research*, 189: 413-427.
93. TORAN-ALLERAND C D. (1983). Sex steroids and the development of the newborn mouse hypothalamus and preóptica area in vitro. III. Effects of estrogen on dendritic differentiation. *Developmental Brain Research*, 7: 97-101.
94. VACCARI A., BROTMAN S., CIMINO J., TIMIRAS P S. (1977). Sex differential of neurotransmitter enzymes in central and peripheral nervous systems *Brain Research*, 132: 176-185.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

ESTA TESIS NO SALE 79  
DE LA BIBLIOTECA

95. WATTS G A., STANLEY F H. (1984). Indoleamines in the hipothalamus and area of the midbrain in raphe nuclei of male and female rats throughout postnatal development. *Neuroendocrinology* 38: 461 - 466.
96. WILSON J G., HAMILTON J B., YOUNG W C. (1941). Influence of age and presence of the ovaries on reproductive function in rats injected with androgens. *Endocrinology* 29: 784-789.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN