



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

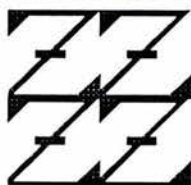
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE ESTEROIDES
SEXUALES EN LA ETAPA NEONATAL SOBRE EL EJE
HIPOTALAMO - HIPÓFISIS - OVARIO EN LA RATA
HEMBRA ADULTA**

**T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:**

MARÍA SELENE RODRÍGUEZ CASTILLO

**U N A M
F E S
Z A R A G O Z A**



**LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXION**

DIRECTORA DE TESIS: Dra. María Elena Ayala Escobar

MÉXICO D. F.

Marzo 2004



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dedicatorias

A mis padres Antonia y José, por regalarme su cariño, confianza y fortaleza. No olviden que son el principal motivo de mi superación.

A mis hermanos Lourdes, Yolanda, Lupita y José Antonio, porque siempre puedo contar con ellos.

A mis sobrinos Germán, Marlen, Tania, Oscar, Alexander, Alina, Michel, Josué y Ángel, porque son los ángeles que alegran mi vida.

A mis cuñados Germán, Miguel y Victoria porque juntos formamos una familia.

A mis amigos Elvira, Eloisa, Kerena, Antelmo, Mario, Genaro, Alberto, Arturo y Gerardo porque juntos compartimos muchos sueños.

A mis compañeros de carrera Sandra, Zenia, Juan Manuel, Rosita, Yola, Miriam, Abel, Inés, Faby, Juan, Vicente, Bety y a todos mis demás compañeros y amigos por todos los momentos inolvidables que compartimos.

A ti Israel que me has acompañado a lo largo de la carrera, y que espero en Dios que nuestros caminos tengan un sentido común.



Agradecimientos

A la Dra. María Elena Ayala Escobar por su dirección y ayuda en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por permitirme colaborar en su grupo de trabajo.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá

Dra. María Elena Ayala Escobar

Dra. Ma. Esther Cruz

Dra. Patricia Rosas Saucedo

M. en BRA. Ma. Judith Villaseñor Macías

Por sus valiosas sugerencias para la realización de este trabajo.

A Juanita por su apoyo en la realización del trabajo

Muy especialmente a Miriam, Juanita, Vicky, Eloir, Abel, Sergio y Julio que hacen posible que en este laboratorio exista un ambiente de trabajo muy agradable, y por todos los momentos agradables que compartimos.

A todos mis compañeros de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción.

A mis profesores que a lo largo de la carrera han contribuido con sus enseñanzas para mi formación.

CONTENIDO

	Pág.
Resumen	I
Introducción	1
Crecimiento folicular y gonadotropinas	3
Atresia folicular.	4
Esteroidogénesis	5
Diferenciación sexual.	5
Diferenciación sexual y sistemas de neurotransmisión	12
Planteamiento	18
Hipótesis	19
Objetivo	19
Materiales y métodos	20
Procedimiento de autopsia.	20
Cuantificación de gonadotropinas y hormonas esteroides	21
Cuantificación de monoaminas en el hipotálamo	21
Estudio de la población folicular.	22
Análisis estadístico	23
Resultados	24
Efecto de la administración de propionato de testosterona (PT)	24
Efecto de la administración de progesterona más PT	36
Discusión de resultados	48
Conclusiones	56
Bibliografía.	59

RESUMEN

La diferenciación sexual en la rata está vinculada a las acciones que las hormonas gonadales ejercen sobre los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas. En el presente estudio se analizaron los efectos de la administración de propionato de testosterona (PT) en la etapa neonatal de la rata hembra sobre los sistemas monoaminérgicos del hipotálamo, la secreción de esteroides y gonadotropinas, y el crecimiento y la diferenciación del folículo ovárico, evaluados en la etapa adulta. También se analizó el posible efecto protector de la progesterona (P_4) en ratas androgenizadas.

En los animales androgenizados en la etapa neonatal se desarrolló en la etapa adulta el cuadro caracterizado por estro vaginal persistente, ovario poliquístico y anovulación. Estos cambios se acompañaron de modificaciones en los diferentes sistemas de neurotransmisión: aumento en la concentración de noradrenalina y disminución de dopamina en el hipotálamo anterior y medio. La concentración de serotonina en el hipotálamo se incrementó en todos los grupos de animales androgenizados, siendo el incremento menos marcado en el grupo que recibió PT al día cinco. Los cambios en los sistemas de neurotransmisión se acompañaron de una menor secreción de gonadotropinas.

La administración de progesterona en el día cuatro y de PT en el día cinco protegió parcialmente a la hembra de los efectos masculinizantes del andrógeno. En este grupo de animales se observó un incremento en la concentración plasmática de FSH y LH, así como de progesterona y 17β -estradiol en suero. Esto se acompañó de la disminución del número de folículos atrésicos. Mientras que, en los animales que recibieron progesterona en el día cinco y el andrógeno a las 24 ó 48 horas después, se observó que se potenciaron los efectos masculinizantes de los andrógenos.

Los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que los andrógenos que pueden ser aromatizados y convertidos a estrógenos inducen masculinización de los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas. Además que la administración de progesterona protege parcialmente al eje hipotálamo - hipófisis de los efectos

masculinizantes de los andrógenos, cuando se administra en el día cuatro, mientras que cuando se administra a un día después potencia los efectos del PT.

INTRODUCCIÓN

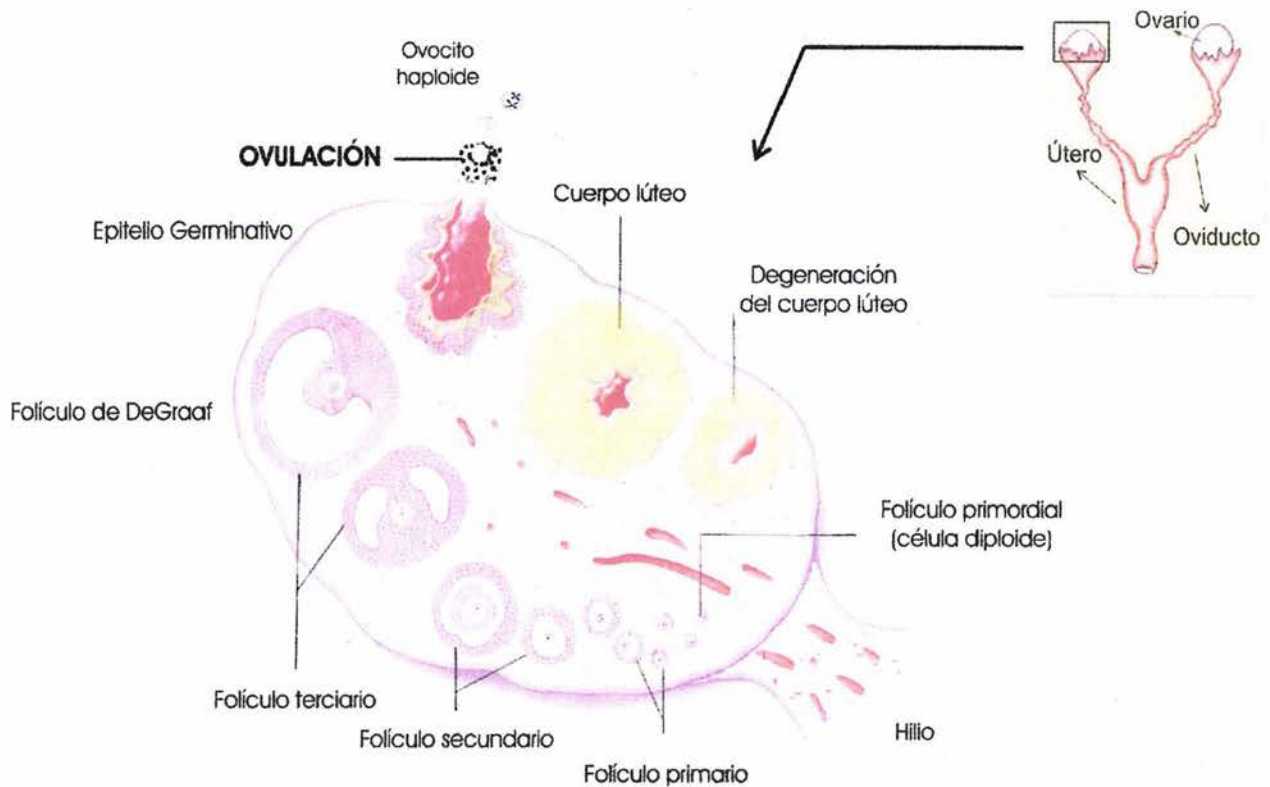
El sistema reproductor de la hembra se puede dividir para su estudio en genitales externos e internos. Entre los componentes internos se encuentran los ovarios, los que cumplen dos funciones: la producción de óvulos y la secreción de las hormonas esteroides sexuales (progesterona, testosterona y estrógenos) y proteicas (inhibina y activina entre otras) (Fawcett, 1995).

En los ovarios se distinguen dos zonas: una externa llamada corteza y la interna o médula. En la última se encuentran agrupaciones de células del estroma, con vasos sanguíneos linfáticos y fibras nerviosas rodeados de tejido conjuntivo. La corteza ovárica está conformada por los folículos en diferentes etapas de desarrollo y de un estroma, el cual tiene dos funciones principales: proporciona el sostén estructural para los folículos en desarrollo y da origen a la teca interna y externa que rodean al folículo en desarrollo (Lesson y col., 1990; Ross y col., 1995) (Esquema 1).

Con base en su desarrollo los folículos se clasifican en diferentes categorías. Folículos primordiales, están incluidos en la corteza ovárica, por debajo de la túnica albugínea. Un folículo primordial se compone de un ovocito rodeado por una capa de células epiteliales aplanadas, las células foliculares. El núcleo del ovocito presenta localización excéntrica y contiene un nucléolo grande. La cromatina es fina y el citoplasma es eosinófilo y contiene escaso retículo endoplasmático rugoso, abundantes ribosomas libres, un aparato de Golgi, mitocondrias y gotas de lípido en estrecha relación con el aparato de Golgi (Lesson y col., 1990; Stevens y Lowe, 1992).

En los folículos primarios, el ovocito aumenta de tamaño y las células foliculares aplanadas crecen en altura hasta hacerse cúbicas y luego cilíndricas. El citoplasma de las mismas adquiere un aspecto granular y se denomina entonces células de la granulosa que proliferan por división mitótica. Esta capa se separa del tejido conectivo circundante por una membrana basal. Durante el crecimiento, las células del estroma se distribuyen alrededor del

folículo y dan origen a una capa concéntrica, la teca folicular (Greenwald y Shyamal, 1994; Paulsen, 1991).



Esquema 1. Componentes del aparato reproductor de la hembra y estructura del ovario en el que se muestran los folículos en diferentes estadios de desarrollo, el proceso de ovulación y el cuerpo lúteo. Modificado de Audesirk y Audesirk (1996).

Cuando el folículo alcanza un tamaño aproximado de unas 200 μm de diámetro se denomina folículo secundario. En esta etapa entre las células de la granulosa aparecen pequeñas zonas irregulares llenas de líquido, que aumentan de tamaño y, por último, se fusionan para dar origen a una cavidad denominada antro folicular. El antro contiene líquido folicular en el que se encuentra agua, hormonas proteicas y esteroides, así como noradrenalina, dopamina entre otros componentes (Copenhaver y col., 1985; Greenwald y Shyamal, 1994).

Conforme el ovocito crece se ubica en uno de los polos del folículo y es rodeado por células de la granulosa que conforman el cúmulo oophorus. La teca folicular se diferencia

entonces en una teca interna y una externa. Además, esta región del folículo tiene una gran cantidad de vasos sanguíneos que ingresan por la teca externa. Las células contienen abundantes gotas de lípido en su citoplasma y en el retículo endoplasmático liso, característico de las células que sintetizan hormonas esteroides. En este estadio de la maduración del folículo, las células de la granulosa no presentan el aspecto de las células secretoras de esteroides, dado que poseen muy poco retículo endoplasmático liso (Carlson, 1999).

Cuando el folículo alcanza su tamaño máximo disminuye la actividad mitótica de las células de la granulosa, mientras que el antro continúa creciendo y las células del cumulus que están en contacto directo constituyen la corona radiada. En esta etapa de desarrollo, al folículo se le conoce como folículos de De Graaf (Ross y col., 1995; Greenwald y Shyamal, 1994). El tamaño del folículo aumenta en los días previos a la ovulación. Cuando el folículo alcanza el tamaño de 1.6 mm aproximadamente en la rata, se forma una elevación en la superficie del ovario. Al mismo tiempo se desprenden las células de la parte basal del cúmulo oophorus y poco antes de la ovulación, el ovocito fluye libremente en el líquido folicular (Krause y Cutts, 1984).

Crecimiento folicular y gonadotropinas

El crecimiento y la diferenciación del folículo están regulados por un conjunto de mensajeros químicos, entre los que se encuentran las gonadotropinas [hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH)]. Durante el crecimiento de los folículos las células de la granulosa y de la teca interna se diferencian en células productoras de hormonas esteroides. Las células de la granulosa poseen receptores para la FSH, mientras que tanto éstas como las células de la teca interna poseen receptores para la LH. En la teca interna se expresan los receptores a la LH y la unión de la hormona al receptor resulta en la estimulación de la síntesis del andrógeno androstenediona, a partir de colesterol. Este esteroide es incorporado por las células de la granulosa y bajo la acción de la aromatasas se transforma a estradiol (Domínguez y col., 1991; Kenigsberg y Collins, 1990;).

La FSH estimula el crecimiento del folículo y al mismo tiempo, induce un aumento de la cantidad de receptores para ella misma y la formación de receptores para la LH. Estos eventos favorecen el incremento en la producción de los estrógenos. Cuando la concentración de estrógenos en suero aumenta en gran proporción y este incremento es seguido por una disminución que estimula la secreción de la FSH y LH, evento que se ha denominado “pico preovulatorio de gonadotropinas”, que en los roedores se presenta en la tarde del proestro. Posteriormente la concentración de estas hormonas disminuye en forma gradual (Fink, 2000; Paulsen, 1991).

El cuerpo lúteo se forma a partir de las células de la granulosa y algunas células de la teca que quedan en el ovario cuando el folículo se ha roto (ovulación), bajo la acción de la LH. Después de la ovulación, la cavidad resultante en el folículo se llena de sangre, y esta sangre se coagula, dando lugar al llamado cuerpo hemorrágico. Posteriormente las células de la granulosa proliferan y se hipertrofian, constituyendo las células foliculares granulosas luteínicas (Greenwald y Shyamal, 1994).

Atresia folicular

Del conjunto de folículos que inician su desarrollo, no todos llegan a madurar y a liberar su ovocito, ya que la mayoría sufre un proceso de degeneración que se denomina atresia folicular. Este evento se presenta en cualquier etapa del desarrollo de este compartimiento. En la gónada de la hembra de los vertebrados, la primera división meiótica del ovocito se detiene en la etapa de profase mientras que este crece y madura. Algunos cambios en el medioambiente folicular provoca alteraciones en el crecimiento y la maduración del folículo y lo conducen a la atresia. Este proceso depende de varios factores y varía en las diferentes especies con las condiciones fisiológicas del animal y del tamaño del folículo (Byskov, 1978; Centola, 1983). Se sugiere que la FSH y la LH estimulan y mantienen el desarrollo del folículo, así como los estrógenos, mientras que la testosterona es un factor inductor de atresia folicular (Greenwold y Shyamal, 1994).

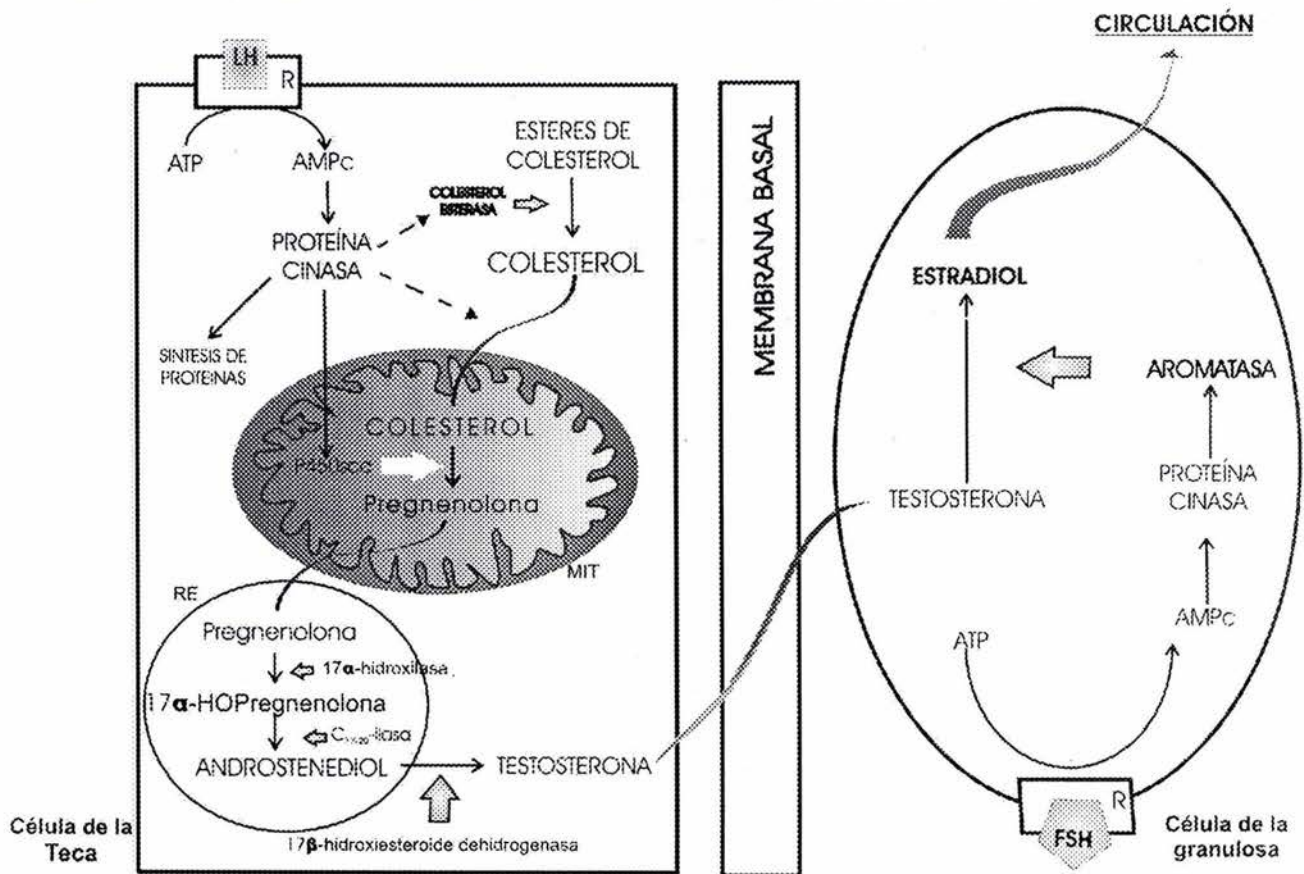
Esteroidogénesis

El ovario además de producir óvulos también secreta hormonas esteroides sexuales (progesterona, andrógenos y estrógenos), bajo la acción de la LH, FSH y de factores de crecimiento. El sustrato para la formación de las hormonas esteroides es el colesterol. La LH al unirse a sus receptores de membrana en las células de la teca induce la formación de andrógenos como la testosterona. Esta hormona puede salir a la circulación o entrar a las células de la granulosa y ser aromatizada a estrógeno, por la acción de la aromatasa estimulada por la FSH, la cual activa al complejo enzimático de la aromatasa P₄₅₀ (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Greenwal y Shyamal, 1994) (Esquema 2).

El paso limitante en la biosíntesis de los andrógenos en el folículo y en otros órganos que secretan este tipo de esteroide es la 17 α -hidroxilasa (complejo enzimático de C17,20-liasa), un componente de las membranas del retículo endoplasmático granular (microsomias). Este sistema de enzimas es un Citocromo P-₄₅₀ que requiere fosfato de nicotinamida-adenín-dinucléotido (trifosfato piridín-nucleótido) (NADPH) y oxígeno molecular. La reacción puede utilizar pregnenolona o progesterona como sustrato, y da como resultado la formación de la dehidroepiandrosterona o androstenediona respectivamente (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Diferenciación sexual

El establecimiento del sexo en los mamíferos, depende de factores cromosómicos (genéticos) y endocrinos, y éste se produce en tres etapas: establecimiento del sexo genético, gonadal y fenotípico. La última etapa se hace evidente después del nacimiento, debido a la acción de las hormonas esteroides. Durante la diferenciación sexual se establecen diferencias anatómicas y fisiológicas entre la hembra y el macho. Dos de las funciones controladas por el cerebro, que diferencian a los machos de las hembras son el patrón de secreción de las gonadotropinas y el comportamiento sexual (Goy y Ewen, 1980; Morales y col. 2001) (Esquema 3). Existen estudios clásicos en los que se plantea que los mecanismos que regulan la secreción de la LH y FSH son diferentes en la hembra y en el macho (Barraclough y Gorski, 1961; Pfeiffer, 1935).



Esquema 2. Mecanismo de acción de la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo estimulante (FSH) en el folículo ovárico (teoría de la doble célula). R (receptor), MIT (mitocondria), RE (retículo endoplasmático), ATP (Adenosin tri-fostato), AMP (adenosin mono-fosfato cíclico). Modificado de Gore-Langton y Armstrong (1994).

Las diferencias que existen en la secreción de las gonadotropinas entre las hembras y los machos no dependen exclusivamente de la información genética de cada sexo, sino que están vinculadas a las acciones que las hormonas ejercen sobre los centros nerviosos durante su maduración. Se ha sugerido que en la rata los esteroides sexuales actúan en etapas tempranas, organizando y activando, durante el desarrollo fetal y postnatal inmediato (del nacimiento al día ocho de vida), los centros nerviosos y vías neurales implicadas en la modulación de la conducta reproductora y en la secreción de las gonadotropinas. Al parecer cuando las hormonas esteroides se administran en los días cercanos al nacimiento, sus efectos son permanentes. Mientras que, cuando el individuo es adulto, los esteroides actúan sobre el tejido neural, ya diferenciado sexualmente, y activan funciones y conductas previamente organizadas, siendo estos efectos reversibles y temporales (Gorski, 1990).

Después de que se demostró que las hormonas esteroideas sexuales están asociadas con el proceso de diferenciación sexual, surgió la pregunta acerca de ¿Cuál sería el esteroide responsable de los efectos masculinizantes o feminizantes?. Inicialmente se asociaba a la testosterona como la responsable de la masculinización de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas. Sin embargo, cuando se analizaron las rutas metabólicas de la testosterona se mostró que en el sistema nervioso, esta hormona puede ser reducida o aromatizada a estradiol. La primera de estas rutas metabólicas reduce la testosterona a 5-dihidrotestosterona (DHT) por acción de la enzima 5α -reductasa, mientras que la segunda aromatiza la testosterona hacia estradiol por la acción de la enzima aromatasa. Además se ha identificado actividad aromatizante en el área preóptica del hipotálamo y la amígdala. En la actualidad se considera que el estradiol que resulta de la aromatización de la testosterona es el responsable de la diferenciación sexual masculina de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas (Morales y col., 2001).

Si los estrógenos son los responsables de la diferenciación sexual, ¿Por qué no se defeminiza o masculiniza la hembra normal?, ya que tanto la rata macho como la hembra, tienen altas concentraciones de estrógeno en plasma durante la etapa postnatal temprana. Sin embargo, en la hembra existe una proteína que se une fuertemente a los estrógenos, la α -feto proteína (AFP). Esta proteína está presente en el plasma de la rata en altas concentraciones durante la última etapa de la gestación y desaparece gradualmente durante la tercera semana de vida postnatal. La función de esta proteína es unirse a los estrógenos de origen materno o los producidos por el propio ovario y que están presentes en la circulación durante la fase fetal y neonatal, evitando en la hembra la posible masculinización de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas (Barraclough y col., 1984; Morales y col., 2001).

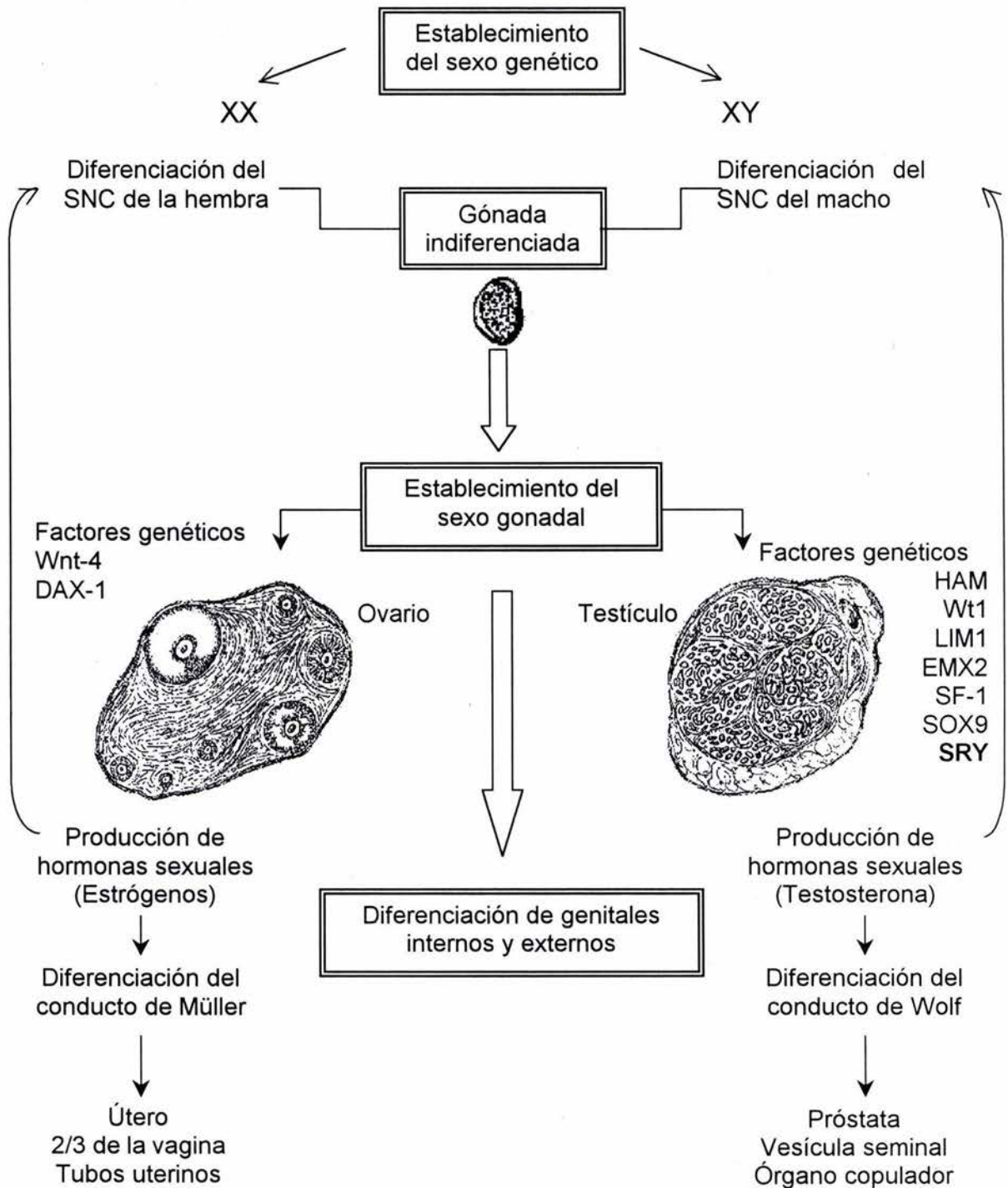


Figura 3. Secuencia de eventos que se presentan durante el período de desarrollo embrionario y que conducen a la diferenciación sexual. En este proceso se expresan diferentes genes como son: SRY (región Y determinante del sexo), Wt1 (gen de tumores de Wilms), SF-1, EMX2 y LIM1 (factores esteroideogénicos) SOX9 (caja SRY relacionada al gen 9). Sistema nervioso central (SNC), hormona anti-mülleriana (HAM), testosterona (T) .

Es posible que el efecto de las hormonas sexuales durante la etapa perinatal (en la cual se establece la diferenciación sexual del cerebro de los roedores) no sea igual en los lados izquierdo y derecho. En la rata de cuatro días de vida, el contenido de receptores a estrógenos en la corteza cerebral es asimétrico; en el macho hay más receptores del lado izquierdo, mientras que en la hembra sucede lo contrario (Sandhu y col., 1986). La diferente concentración de receptores y los efectos de las hormonas gonadales en esta etapa de la vida del animal, pueden generar un efecto asimétrico en el establecimiento de patrones fisiológicos y de la conducta en la etapa adulta. Nordenn y Yahr (1982) mostraron que los implantes de estrógenos en el hipotálamo de la rata hembra recién nacida, inducen cambios conductuales diferentes en la edad adulta, los que dependen del lado y del núcleo hipotalámico en el que se coloca el implante. Así, el implante de estrógenos en el lado izquierdo del núcleo ventromedial disminuye la conducta sexual femenina (expresada como disminución del coeficiente de lordosis); mientras que el implante del lado derecho del área preóptica incrementa la conducta sexual masculina, la que se evidencia por la aparición de la conducta de monta (Barraclough y col., 1984; Gorski, 1990).

Se sabe que la diferenciación sexual puede ser modificada cuando se altera la producción de hormonas esteroides sexuales (Gorski, 1990; Lewin y Mullis, 1964). Así mismo, 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, en los cuales se inducen modificaciones en el proceso de diferenciación de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas (Bradbury, 1941; Gorski, 1963).

Cuando ratas hembra son tratadas con propionato de testosterona en los primeros días de vida postnatal, se induce el desarrollo del síndrome de androgenización que se caracteriza por la presencia de estro vaginal persistente, presencia de quistes en el ovario, ausencia de cuerpos lúteos, menor peso del ovario e infertilidad (Gorski, 1990).

La idea de que los estrógenos están vinculados con la masculinización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas es apoyada por los resultados de Gorski

(1963), quien mostró que en la rata hembra la aplicación de una dosis de benzoato de estradiol en el día cinco de vida, induce infertilidad en la etapa adulta. Además cuando algunas de estas ratas se colocan con machos de fertilidad comprobada, se presenta el apareamiento en la edad adulta como lo evidencia la presencia de espermatozoides en el frotis vaginal. Sin embargo ninguna de las hembras se preña. La administración de esta misma hormona en el día 1 induce apertura vaginal precoz y el peso de los animales y de los ovarios es menor. Cuando los animales llegan a la etapa adulta (90 días) presentan ciclos anovulatorios caracterizados por periodos alternados de diestro y estro, las concentraciones de FSH en suero disminuyen y las de prolactina (PRL) se incrementan. Los autores sugieren que el mecanismo que probablemente está involucrado en el desarrollo del síndrome de anovulación es el resultado de la alteración permanente del sistema nervioso central (Pinilla y col. 1993).

A diferencia de lo observado en los animales que reciben estrógenos, cuando las ratas recién nacidas reciben una inyección de propionato de testosterona, no se presenta la apertura vaginal y los ciclos anovulatorios se caracterizan por la disminución en la concentración de FSH y aumento en la producción de PRL. Además la administración diaria de gonadotropinas desde el día uno al diez o quince de desarrollo no induce ovulación en la etapa adulta (Pinilla y col. 1993).

Diversos autores plantean que los cambios en los centros hipotalámicos que resultan de la administración de propionato de testosterona dependen de la edad en la que se administra el andrógeno. En relación a esto Wilson y col., (1941) mostraron que cuando se administra testosterona en el día cinco o diez de vida, las hembras pierden el ciclo en la etapa adulta (se presenta estro vaginal persistente) y no se observan cuerpos lúteos en los ovarios de estos animales, pero los efectos son más marcados en los animales que se trataron en una edad más temprana (cinco días). Sin embargo, cuando el tratamiento se realiza del día quince en adelante se producen efectos reversibles y no se altera la función reproductora. Además de los efectos en el ovario, la administración del andrógeno en los primeros días de vida, también altera la estructura del útero (disminuye el número de glándulas). Cuando el mismo tratamiento se inicia a los quince, veinte, 30, 40 ó 120 días no se modifica el ciclo estral y los animales ovulan normalmente. Estos resultados apoyan la idea de que el efecto

de las hormonas esteroideas sexuales, en la organización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas, se presenta entre de los primeros días de vida del animal.

Al parecer el mecanismo por el cual se induce la esterilidad en los animales que son tratados con andrógenos o estrógenos se debe a diversas causas como son: alteración de la función normal de los centros hipotalámicos que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas (principalmente de la LH), modificación de la respuesta de la hipófisis a los estímulos que provienen del hipotálamo; o alteración de la funcionalidad de la gónada. Hasta el momento no puede ser descartada ninguna posibilidad (Daniell, 1991).

La liberación cíclica de las gonadotropinas y por tanto de la ovulación, se interrumpe cuando los animales son tratados con andrógenos en la fase neonatal y cuando alcanzan la etapa adulta presentan un patrón de secreción de gonadotropinas tónico. Estos resultados han llevado a los autores a pensar que posiblemente esto se debe a que se modifica la actividad de la hipófisis en los animales androgenizados. Sin embargo, la hipófisis de la hembra que es tratada con andrógenos es capaz de liberar LH cuando se administra un análogo de la hormona liberadora de la LH. Además, se ha mostrado en ratas androgenizadas que cuando se estimula el área preóptica del hipotálamo se induce la ovulación. Todas estas evidencias permiten apoyar la idea de que la androgenización en la etapa neonatal modifica los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas y no la hipófisis (Mennin y col., 1974).

Durante la preñez, el sistema nervioso de los fetos, además de estar expuesto a la acción de los andrógenos o estrógenos, también lo está a la progesterona que al parecer protege a la hembra de los efectos masculinizantes de los estrógenos. Cuando ratas hembra reciben una dosis diaria de 100 μg de progesterona del día uno al diecinueve y 200 μg del día veinte al 40, se observa un estado característico de androgenización, por lo que no se presenta protección de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas. El tratamiento crónico por separado con dosis altas (200 μg) o bajas (100 μg) por separado inducen la misma respuesta. Sin embargo, cuando las hembras reciben una sola dosis de 1200 μg progesterona en el día cinco de desarrollo se presenta ovulación en la etapa adulta.

Con base a estos resultados los autores proponen la hipótesis de que la progesterona tiene un efecto protector en la diferenciación sexual del hipotálamo, cuando se administra en forma aguda (Bukovsky y col., 1979).

En las ratas tratadas con propionato de testosterona, después de la administración de 1000 μg ó 500 μg de progesterona se presenta estro vaginal persistente, en el frotis se observan numerosas células cornificadas, ausencia de leucocitos y raramente células epiteliales nucleadas. En cambio, en las ratas que recibieron propionato de testosterona después del tratamiento con 50 μg de progesterona mostraron ciclos normales, fueron fértiles y en los ovarios se observaron cuerpos lúteos. Esto permitió pensar a los autores que el andrógeno causa alteraciones en el ovario y que al parecer la administración de progesterona en grandes concentraciones no altera este comportamiento, mientras que la administración de progesterona en menor concentración parecería estar impidiendo dichas alteraciones (Cagnoni y col., 1965).

En los ovarios de los animales adultos que son androgénizados en la fase neonatal, disminuye la esteroidogénesis (Spinedi y col., 1990), y la administración de FSH no incrementa la producción de estradiol (Jones y col., 1987). En el ovario de las hembras androgenizadas se encuentran células intersticiales inmaduras (con muy poco retículo endoplásmico liso) y en regresión (con vacuolización citoplásmica y picnosis nuclear), además la expresión de los receptores a la LH disminuye. El aspecto del ovario es muy similar a la gónada de las ratas de diez meses de edad (seniles) (Bukovsky y col. 2000). Estas evidencias indican que el ovario de las ratas androgenizadas en la etapa neonatal son incapaces de producir estradiol en cantidades suficientes para inducir la secreción preovulatoria de las gonadotropinas que culmina con la ovulación. Al parecer la androgenización induce el envejecimiento prematuro de los ovarios.

Diferenciación sexual y sistemas de neurotransmisión

Se sugiere que la acción de las hormonas esteroides sexuales en el proceso de diferenciación sexual posiblemente es el resultando de la modificación de la actividad de los

diferentes sistemas de neurotransmisión. Al parecer las hormonas esteroides modifican el proceso de síntesis de los neurotransmisores, la liberación, la tasa de recambio o la expresión de los receptores a dichos sistemas (Fink y col., 1996).

En el sistema nervioso central la información se conduce principalmente en forma de impulsos nerviosos que involucra a diferentes tipos de neuronas. Estas señales son transmitidas desde una neurona a la siguiente por intermedio de la sinapsis, que constituye el proceso esencial en la comunicación entre dichas células. Este tipo de interrelación es el que existe entre la neurona productora de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y las que sintetizan los diferentes sistemas de neurotransmisión. Entre los sistemas que regulan la secreción de la GnRH se encuentra el noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico (Fink y col., 1996; Ojeda y Urbansky, 1994).

Los neurotransmisores son mensajeros químicos sintetizados por neuronas específicas, que son liberados al medio extracelular en la sinapsis, y que ejercen su acción sobre receptores específicos de membrana que se localizan tanto en neuronas y otras células efectoras como en la propia neurona que sintetiza al neurotransmisor. Como resultado de esta interrelación neurotransmisor – receptor, se puede excitar, inhibir o modificar la sensibilidad de la neurona (Malven, 2000; Schwartz, 2001).

Algunos neurotransmisores como la acetilcolina (ACh), aminoácidos excitadores (glicina, glutamato, aspartato) y ácidos gama-amino butírico (GABA) tienen una actividad biológica directa y aumentan la conductancia a ciertos iones al iniciar la apertura o cierre de canales iónicos en la membrana postsináptica. Otros neurotransmisores como la noradrenalina (NA), dopamina (DA) y serotonina (5-HT), al unirse a su receptor activan la formación de moléculas mensajeros que son los responsables de causar la respuesta postsináptica. Estos mensajeros incluyen adenosin-monofosfato cíclico (AMPC), guanidin-monofosfato cíclico (GMPc), trifosfato de inositol (TPI), diacil-glicerol (DAG), prostaglandinas y el calcio (Ca^{2+}) (Malven, 2000).

Un grupo de neurotransmisores derivan de aminoácidos y tienen la característica de poseer en su estructura un grupo amino (-NH₂), por lo que se denominan aminas biogénicas y constituyen dos grupos; las catecolaminas llamadas así porque la base de su estructura es el grupo catecol (noradrenalina y dopamina) y se forman a partir de la tirosina, y las indolaminas cuya base es el indol (serotonina) que derivan del triptofano (Malven, 2000; Schwartz, 2001).

Los cuerpos celulares que sintetizan noradrenalina se localizan en estructuras extrahipotalámicas, principalmente en el locus coeruleus y el bulbo raquídeo, conforman dos haces nerviosas principales, la dorsal u la ventral (Brown, 1994). Estos cuerpos neuronales que constituyen dos vías, las que se origina en el locus coeruleus, que envía sus fibras a al región de la espina dorsal, el cerebelo y el hipocampo. La otra vía la ventral se origina en el área tegmental lateral e inerva el cerebro medio del órgano vasculoso de la lamina terminal y al hipotálamo (Weinwe y Molinoff, 1994).

La noradrenalina (NA) se sintetiza a partir del aminoácido L-tirosina en las terminales nerviosas noradrenérgicas. La enzima tirosina-hidroxilaza (TH) transforma este aminoácido en dihidroxifenilalanina (DOPA) y está, se convierte en dopamina (DA) por efecto de la DOPA-descarboxilasa. La DA a su vez puede transformarse, en aquellas células que contengan la enzima dopamina-β-hidroxilasa (DβH) en NA. La NA puede convertirse en adrenalina por acción de la enzima fenil-etanol-amina-N-tirosina-hidroxilasa. La tirosina hidroxilasa parece ser el paso limitante de todas estas reacciones (Crowley y Zelman, 1981; Malven, 2000).

Las neuronas dopaminérgicas se localizan en diversos sitios del sistema nervioso central, principalmente en el cerebro medio. Los somas que se encuentran en la sustancia negra proyectan sus axones a los núcleos caudado y putamen. Otro grupo de fibras dopaminérgicas que se ubica en estructuras límbicas y corticales se origina en el área tegmental ventral del mesencéfalo. Un tercer grupo de neuronas dopaminérgicas se sitúan en el núcleo arcuato y periventricular del hipotálamo e inervan la eminencia media principalmente (Kopin, 1996).

Tanto la noradrenalina como la dopamina se degradan como resultado de la acción de las enzimas monoaminooxidasa (MAO) y la catecol-O-metiltransferasa (COMT) en ácido homovanílico (HVA) y ácido dihidroxifenilacético (DOPAC) respectivamente (Crowley y Zemlan, 1981).

La serotonina es producida por grupos de neuronas que se localizan en el cerebro medio y que reciben el nombre de núcleo del rafe el cual se divide en tres regiones (rafe dorsal, medial y del puente). Las fibras serotoninérgicas que se originan en estos núcleos dorsal y medial inervan corteza, hipocampo, amígdala, diferentes núcleos hipotalámicos y la eminencia media (Baumgarten y Grozdanovic, 1999; Frazer y Hensler, 1994).

El paso inicial en la síntesis de serotonina es el transporte del aminoácido L-triptófano de la sangre al sitio de producción. Las neuronas serotoninérgicas contienen la enzima triptófano-hidroxilasa, que convierte el triptófano en 5-hidroxitriptófano (5-HTP) su distribución en el cerebro es similar a la de la propia serotonina (5-HT). La otra enzima implicada en la síntesis de serotonina es la descarboxilasa (aminoácido descarboxilasa: AADC), que convierte al 5-HTP en serotonina. La hidroxilación inicial del triptófano parece ser el paso limitante en la síntesis de serotonina más que la descarboxilación del 5-HTP. El camino primario catabólico para la 5-HT es la desaminación oxidativa por la enzima monoaminooxidasa (MAO). Esta enzima convierte la serotonina en 5-hidroxi-indolacetaldehído, y este producto es oxidado por un aldehído deshidrogenasa dependiente de NAD^+ para formar ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) (Azmitia y Whitaker-Azmitia, 2000; Jacobs, 2000; Joh, 2000; Malven, 2000).

Las catecolaminas y la serotonina se almacenan en vesículas que se transportan desde el cuerpo hasta las terminales de la neurona. La liberación de los neurotransmisores es el resultado de la entrada de calcio a la terminal presináptica y su unión a los receptores postsinápticos.

En las ratas macho y hembra el sistema noradrenérgico, dopaminérgico, serotoninérgico, gaba-érgico, los aminoácidos excitadores y los péptidos opioides participan

que en la regulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas (Brown, 1994). Los sistemas de neurotransmisión antes mencionados están asociados con el desarrollo de las diferencias sexuales que existen entre el cerebro de la hembra y del macho, y con sus conductas reproductivas. Posiblemente los cambios que existen en estos sistemas de neurotransmisión entre los sexos es el resultado de la acción organizadora que ejercen las hormonas gonadales. Por ejemplo, existen diferencias entre los sexos en el contenido de 5-HT, DA, NA y en la actividad de estos sistemas de neurotransmisión en diferentes regiones del sistema nervioso central (De Vries y col., 1984), así como en el número de sus receptores. Este dimorfismo sexual detectado en los sistemas de neurotransmisión en animales adultos no sólo indica un diferencia sexual en el aspecto funcional, sino también un posible dimorfismo estructural en los núcleos que sintetizan estos neurotransmisores o en los patrones de distribución de las fibras que los liberan (Gorski, 1990; Morales y col., 2001).

Durante el desarrollo prepuberal y en la etapa adulta de la rata macho y hembra, no se observan cambios en las concentraciones de 5-HT y 5-HIAA en el área preóptica y en el rafe. Sin embargo, la relación [5-HIAA]/[5-HT] es mayor en los machos a los 40 días de edad y este evento se invierte a los 80 días. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que durante el período crítico de diferenciación sexual no se modifica la actividad del sistema serotoninérgico (Watts y Stanley, 1984). Sin embargo, los autores no contemplan los cambios en la actividad de este sistema en el área preóptica (POA) y rafe medial que se presentan entre la hembra y el macho del día 40 en adelante. Estos hechos permiten pensar que la actividad de estos sistemas depende del esteroide presente (andrógeno o estrógeno).

Cuando ratas hembra son tratadas con propionato de testosterona en el día tres de desarrollo y se sacrifican en el día siete, la concentración de NA en el hipotálamo se incrementa. Cuando se administra la α -metil tirosina (inhibidor de la síntesis de catecolaminas) en combinación con el andrógeno, no se observa el aumento en la concentración de este neurotransmisor (Resnikov y Nosenko, 1983). Estos resultados permiten pensar que la noradrenalina es la amina biogénica responsable del efecto de los andrógenos en la diferenciación sexual del sistema nervioso central.

Los esteroides gonadales además de estar asociados a las diferencias sexuales en los sistemas de neurotransmisión, es probable que también actúen como factores inductores o inhibidores del desarrollo de los contactos sinápticos y como consecuencia actúan como moduladores de la neurotransmisión. Al parecer el sistema colinérgico también presenta diferencias dimórficas en la regulación de las funciones sexuales del animal adulto, así como en la liberación de hormonas gonadotróficas que regulan la función gonadal y la conducta sexual del macho y de la hembra. El tratamiento de ratas ovariectomizadas con estradiol induce un incremento de los receptores muscarínicos en el hipotálamo medio basal (Döhler, 1991; Gorski, 1973) .

En la rata adulta también se han observado efectos de los estrógenos en los sistemas de neurotransmisión. Cuando se administra una dosis del estrógeno 2-hidroxiestradiol (EE₂), la concentración de LH en suero disminuye así como el intercambio de noradrenalina en el hipotálamo medio basal y en el área preóptica. Un efecto parecido se observa cuando se administran los catecolestrógenos (Hiemke y Ghraf, 1982).

En la rata adulta cuando se administra una sola dosis de valerato de estradiol se induce la anovulación y ovario poliquístico. Esto se acompaña de la disminución en la actividad de la tirosina hidroxilasa, así como del contenido de la DA en el hipotálamo anterior. Mientras que, la actividad de la enzima dopamina- β - hidroxilasa se incrementa, pero sin cambios en el contenido de NA. En el hipotálamo medio no se presentan cambios en la actividad de la tirosina hidroxilasa, NA y DA, pero la actividad de la β -hidroxilasa si disminuye, lo que permitió a los autores sugerir que la actividad neuronal se modifica en hembras con anovulación (Luza y col., 1995).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en las evidencias antes mencionadas se ha planteado que los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas son diferentes en la hembra y en el macho. Así mismo, se ha observado que la administración de propionato de testosterona o dipropionato de estradiol en el día cinco de vida neonatal induce anovulación y estro vaginal persistente en el animal adulto (60 días). El efecto que ejercen estas hormonas en la diferenciación de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas dependen de la edad en la que se administran los esteroides y, posiblemente, están asociados con modificaciones en la actividad de diversos sistemas de neurotransmisión (noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico). En este proceso la progesterona protege al hipotálamo de los efectos de los andrógenos. Por ello en el presente trabajo se decidió analizar:

- Si la falta de ovulación en los animales tratados con andrógenos en la etapa postnatal está relacionada con modificaciones en la actividad del sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico
- Si la anovulación en los animales tratados con andrógenos en la etapa postnatal se acompaña de modificaciones en la secreción de las gonadotropinas y en el crecimiento y diferenciación del folículo ovárico.
- Si la administración de progesterona previa a la administración de los andrógenos en la etapa postnatal protege al eje hipotálamo-hipófisis de los efectos masculinizantes de los andrógenos en la rata hembra adulta.

HIPÓTESIS

La administración de propionato de testosterona durante la etapa neonatal de la rata modificará la actividad de los sistemas monoaminérgicos en el hipotálamo y como consecuencia la secreción de gonadotropinas, lo cual se traducirá en modificaciones en las funciones del ovario.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de la administración de esteroides sexuales en la fase neonatal de la rata sobre la concentración de monoaminas en el hipotálamo, de las gonadotropinas y esteroides en suero, y en el desarrollo folicular en la etapa adulta.

Objetivos particulares

1. Evaluar la concentración de monoaminas en el hipotálamo de ratas adultas tratadas con andrógenos o andrógenos más progesterona en la fase neonatal.
2. Analizar la actividad de los sistemas monoaminérgicos en el hipotálamo de ratas adultas tratadas con andrógenos o andrógenos más progesterona en la fase neonatal.
3. Estudiar los cambios en la concentración sérica de FSH, LH, progesterona y 17 β -estradiol en ratas adultas tratadas con andrógenos o andrógenos más progesterona en la fase neonatal.
4. Evaluar el crecimiento y la maduración del folículo ovárico en ratas adultas tratadas con andrógenos o andrógenos más progesterona en la fase neonatal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV de uno, cuatro, cinco, seis o siete días de edad, mantenidas en condiciones controladas de iluminación 14 h luz–10 h oscuridad (luces encendidas de las 5:00 a las 19:00 hrs.), con libre acceso a la madre hasta el destete (día veintiuno de vida) y al alimento y al agua desde ese momento hasta el sacrificio. En el día del nacimiento se colocaron de seis a siete crías por madre (cinco o seis hembras más un macho). En todos los casos se consideró el día del nacimiento como el día uno. En todos los animales de los diferentes grupos experimentales a los diez días previos al sacrificio se realizó la toma de frotis vaginales diarios, los cuales se tiñeron con la técnica de hematoxilina – eosina para conocer los cambios en la citología vaginal. Los animales se asignaron a los siguientes grupos experimentales:

1) Animales tratados con propionato de testosterona (PT) o progesterona (P₄) más PT

Animales de cinco, seis o siete días se inyectaron con 1250 µg de PT por vía s.c. en 0.1 ml de aceite de maíz. Otros grupos de animales recibieron previo a la administración de andrógenos, una dosis de 50 µg de P₄ en el día cuatro o cinco. Como grupo de comparación se utilizaron animales de la misma edad que recibieron 0.1 ml de aceite de maíz (Vh) o que no recibieron tratamiento (TA). Los animales se sacrificaron a los 60 días de edad.

Procedimiento de autopsia

Los animales se sacrificaron por decapitación entre las 14:00 y 15:00 horas. Se diseccionaron los ovarios, se pesaron en balanza de precisión y se fijaron en solución de Bouin. Los dos ovarios se deshidrataron y se incluyeron en parafina para realizar cortes seriados de diez µm, que se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina, para el análisis de la población folicular. En el día del sacrificio, también se colectó la sangre que se dejó coagular por 30 minutos y se centrifugó a 3500 r.p.m. durante quince minutos a temperatura

ambiente, se colectó el suero y se almacenó a -20°C hasta la cuantificación de FSH, LH, progesterona y 17β -estradiol por la técnica de radioinmunoanálisis.

Cuantificación de gonadotropinas y hormonas esteroides en suero

La cuantificación de la concentración sérica de LH y FSH se realizó por medio de la técnica de radioinmunoanálisis de doble anticuerpo (Salve y col., 1994; Tovar y col., 1984). A 100 μl de suero, se le agregaron 100 μl de anticuerpo de suero de ovino para LH y se incubaron a temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente se agregaron 100 μl del segundo anticuerpo (suero normal de coneja) y se incubaron durante dos horas, después los tubos se centrifugaron a 3000 r.p.m. a -4°C . Finalmente el sobrenadante se decantó, se secaron las paredes de cada tubo y se colocaron en un contador de centelleo gama para el análisis. El mismo procedimiento se realizó para FSH. Las concentraciones de LH y FSH se expresaron en ng/ml de suero.

La cuantificación de progesterona y 17β -estradiol se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida, para lo cual se utilizó un estuche (COat-A-Count, USA), que consiste de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales de hormona marcada (^{125}I Progesterona y ^{125}I Estradiol) y 7 calibradores para la realización de la curva patrón (Progesterona: 0.02, 0.1, 0.5, 2.0, 10.0, 20.0 y 40.0 ng/ml; 17β -estradiol: 0.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0, 75.0 y 150.0 $\mu\text{g/ml}$). A cada tubo se le adicionaron 100 μl de suero problema, más 1000 μl de la hormona marcada, todos los tubos se agitaron y se incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante de cada tubo, se secaron las paredes del mismo y se colocaron en un contador de centelleo gama para su análisis. La concentración de la progesterona y de testosterona se expresa en ng/ml y la de 17β -estradiol en $\mu\text{g/ml}$ de suero.

Cuantificación de monoaminas en el hipotálamo

Al momento del sacrificio de los animales, se extrajo el cerebro se lavó con solución salina fría (4°C) y se congeló en nitrógeno líquido. Inmediatamente se disecó el hipotálamo

anterior, medio y posterior siguiendo las coordenadas del Atlas del cerebro de rata (Paxinos y Watson 1982). Las muestras de hipotálamo se almacenaron a -70°C hasta la cuantificación de los siguientes neurotransmisores: [noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT)] y sus metabolitos [el ácido 4, hidroxí-3-metoxifeniletenglicol (MHPG), 3,4-dihidroxifenil acético (DOPAC) y el ácido 5-hidroxí-indolacético (5-HIAA)] por cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC).

Las muestras de hipotálamo se pesaron en balanza de precisión al 0.1 mg, se homogenizaron en ácido perclórico al 0.1 N en frío y se centrifugaron a 12000 r.p.m. durante 30 minutos, a -4°C . El sobrenadante se filtró con papel de poro de $0.2\ \mu\text{m}$. La fracción así obtenida se inyectó en el sistema de cromatografía que está integrado de una bomba isocrática, un detector electroquímico (Bioanalytical system) modelo LC4 y un integrador. Los resultados de las concentraciones de los neurotransmisores y sus metabolitos se expresaron en ng/mg de tejido. Se calculó la actividad de la neurona noradrenérgica, dopaminérgica y serotoninérgica con la relación propuesta por Shannon y col. (1986):

$$\text{Actividad neural} = [\text{Metabolito del neurotransmisor}] / [\text{Neurotransmisor}].$$

Estudio de la población folicular

El análisis de la población folicular se realizó en el ovario izquierdo y derecho de tres animales de cada grupo experimental, los cuales se eligieron al azar. Se revisaron los cortes seriados de cada ovario y en los folículos en los que se observó el ovocito con su núcleo y nucleolo, se midió el diámetro mayor y el menor (perpendicular al primero), con la ayuda de un ocular micrométrico filiar adaptado a un microscopio. El diámetro promedio se calculó con la relación:

$$\text{Diámetro promedio} = (\text{diámetro mayor} + \text{diámetro menor}) / 2.$$

Con base en el diámetro promedio los folículos se clasificaron en tres categorías: folículos pequeños (< 200 μm de diámetro); folículos medianos (201 – 400 μm de diámetro); folículos preovulatorios (>401 μm de diámetro).

Además de su diámetro, los folículos se clasificaron en sanos y atrésicos. Las características que se consideraron para caracterizar a un folículo atrésico fueron: alteración del ovocito, engrosamiento de la teca, picnosis de las células de la granulosa y descamación de las células de la granulosa en el antro folicular (más de cinco células).

Análisis estadístico

Los resultados de las concentraciones de hormonas (testosterona, progesterona, 17β -estradiol, FSH y LH) en suero, de monoaminas y sus metabolitos en el hipotálamo se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey o por la prueba “t” de Student (cuando se comparan los resultados de dos grupos). El número de folículos por la prueba de Kruskal–Wallis seguida de “U” de Mann-Whitney. En todos los casos se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue igual o menor al 5%.

RESULTADOS

1) Efecto de la administración de propionato de testosterona (PT)

Los animales testigo absoluto presentaron un ciclo estral de cuatro días de duración; con dos días de diestro, uno de proestro y un día de estrus. En los animales que recibieron aceite no se modificó el patrón de ciclicidad antes mencionado, mientras que, en los animales que fueron inyectados con PT presentaron estrus vaginal persistente durante los diez días previos al sacrificio. Todos los animales se sacrificaron en estrus y en el día del sacrificio se presentó la ovulación [TA 7/7 vs. Vh 5/6], y en los animales que recibieron PT ninguno ovuló [PT₅ (0/6); PT₆ (0/8); PT₇ (0/7)]. Debido a que no se observaron en ninguno de los parámetros evaluados en los grupos de animales sin tratamiento (TA) o que recibieron aceite de maíz (Vh), los resultados se combinaron y se conformó un solo grupo denominado testigo (T).

En la figura 1 se presentan los resultados de la concentración de noradrenalina en el hipotálamo de animales testigo o con PT. En los animales androgenizados se observó el incremento en la concentración de noradrenalina en el hipotálamo anterior en comparación con el grupo testigo. Este mismo comportamiento se observó en el hipotálamo medio. En el hipotálamo posterior de los animales tratados con PT al día cinco o seis de edad también se presentó el aumento significativo en la concentración de noradrenalina con respecto al grupo testigo. Sin embargo, en el hipotálamo posterior de los animales que fueron androgenizados en el día cinco de desarrollo postnatal el aumento en la concentración de este neurotransmisor fue mayor que en los que recibieron el PT al día seis o siete.

En la figura 2 se muestra la concentración de dopamina en el hipotálamo de animales con aceite de maíz o tratados con PT. En el hipotálamo anterior de los animales que recibieron PT al día cinco de edad, la concentración de dopamina fue menor que la cuantificada en el grupo de animales testigo. En los inyectados con PT en el día seis o siete de edad la concentración de este neurotransmisor fue mayor que en el grupo que recibió PT en el día cinco de edad. En el hipotálamo medio de los animales androgenizados el

comportamiento fue similar al observado en el hipotálamo anterior. En el hipotálamo posterior de los animales que recibieron PT la concentración de DA fue significativamente menor que la del grupo de animales testigo.

En la mayoría de los animales la concentración del MHPG y de DOPAC (metabolito de dopamina) estuvo por debajo de la sensibilidad del método (0.001 ng/mg de tejido) en las tres regiones del hipotálamo. Por ello no se calculó la relación $[MHPG]/[NA]$ y la de $[DOPAC]/[DA]$ que es un indicador de la actividad de la neurona noradrenérgica y dopaminérgica .

En la figura 3 se presentan los resultados de la concentración de 5-HT en el hipotálamo anterior de los grupos de animales tratados con aceite de maíz o tratados con propionato de testosterona. En los tres grupos de animales androgenizados la concentración de serotonina se incrementó en relación al grupo testigo. Este aumento fue mayor en el grupo de animales androgenizados en el día siete del desarrollo postnatal. La concentración del ácido 5-hidroxiindolacético no se modificó de manera significativa en ninguno de los animales recibió PT. La actividad de la neurona serotoninérgica en esta región del hipotálamo disminuyó en los tres grupos de animales que recibieron el tratamiento de PT, sin embargo esta disminución es significativa exclusivamente en los animales que recibieron el andrógeno en el día siete. En el hipotálamo medio y posterior se observó un comportamiento similar (figuras 4 y 5). Sin embargo en el hipotálamo medio y posterior de los animales androgenizados la relación $[5-HIAA]/[5-HT]$ disminuyó de manera significativa (figura 4 y 5).

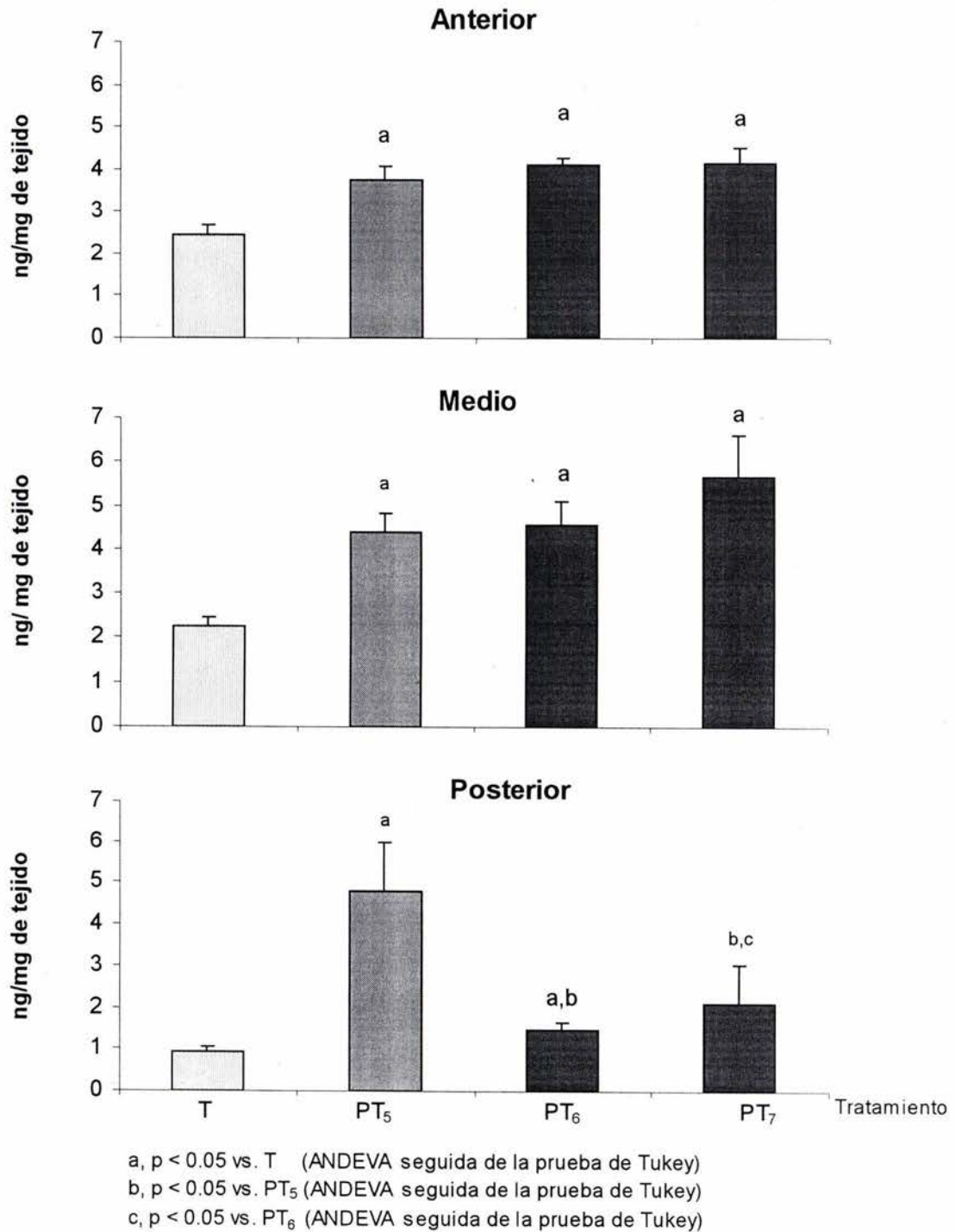


Figura 1. Concentración (Media \pm e.e.m.) de noradrenalina en el hipotálamo anterior, medio y posterior de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

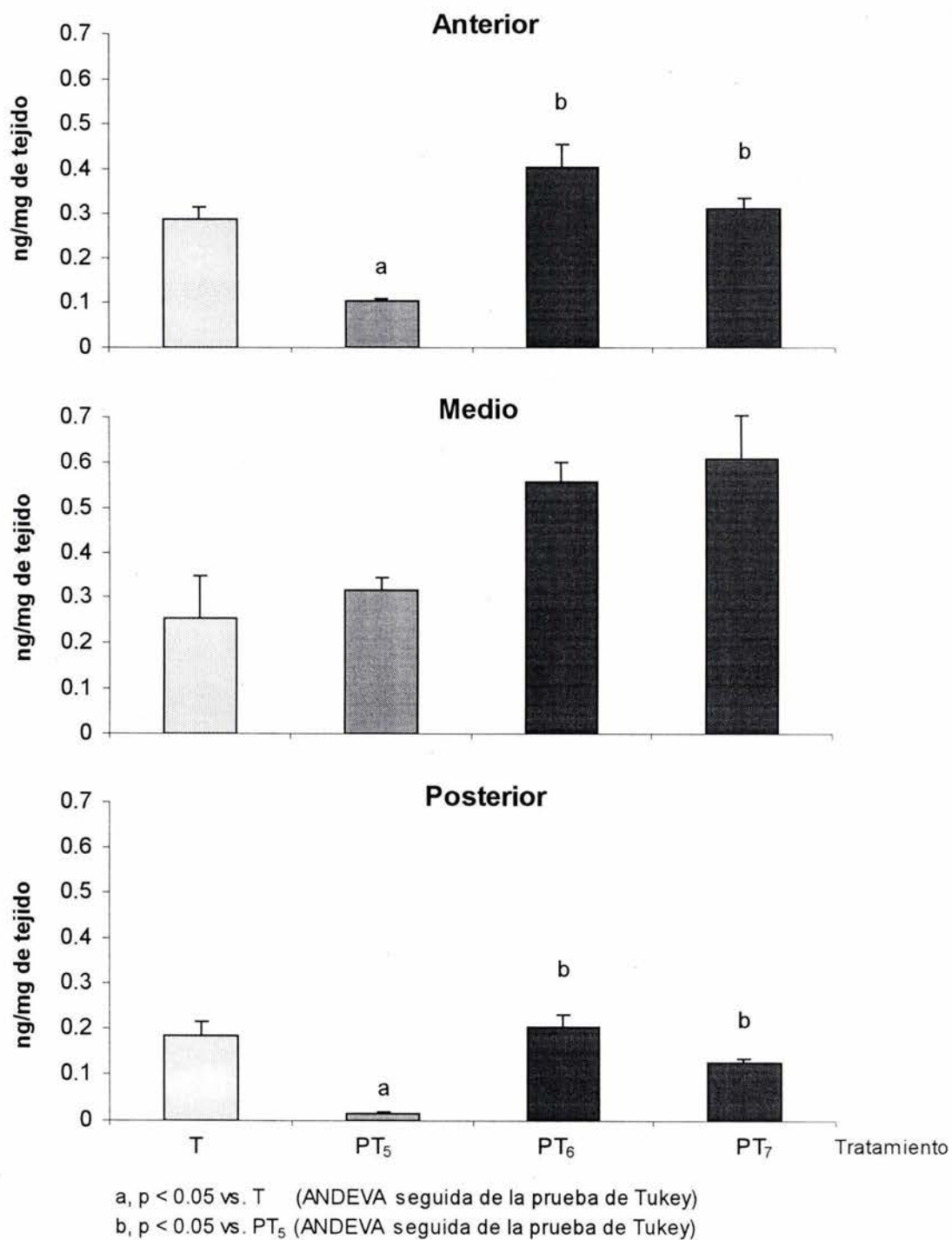


Figura 2. Concentración (Media \pm e.e.m.) de dopamina en el hipotálamo anterior, medio y posterior de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

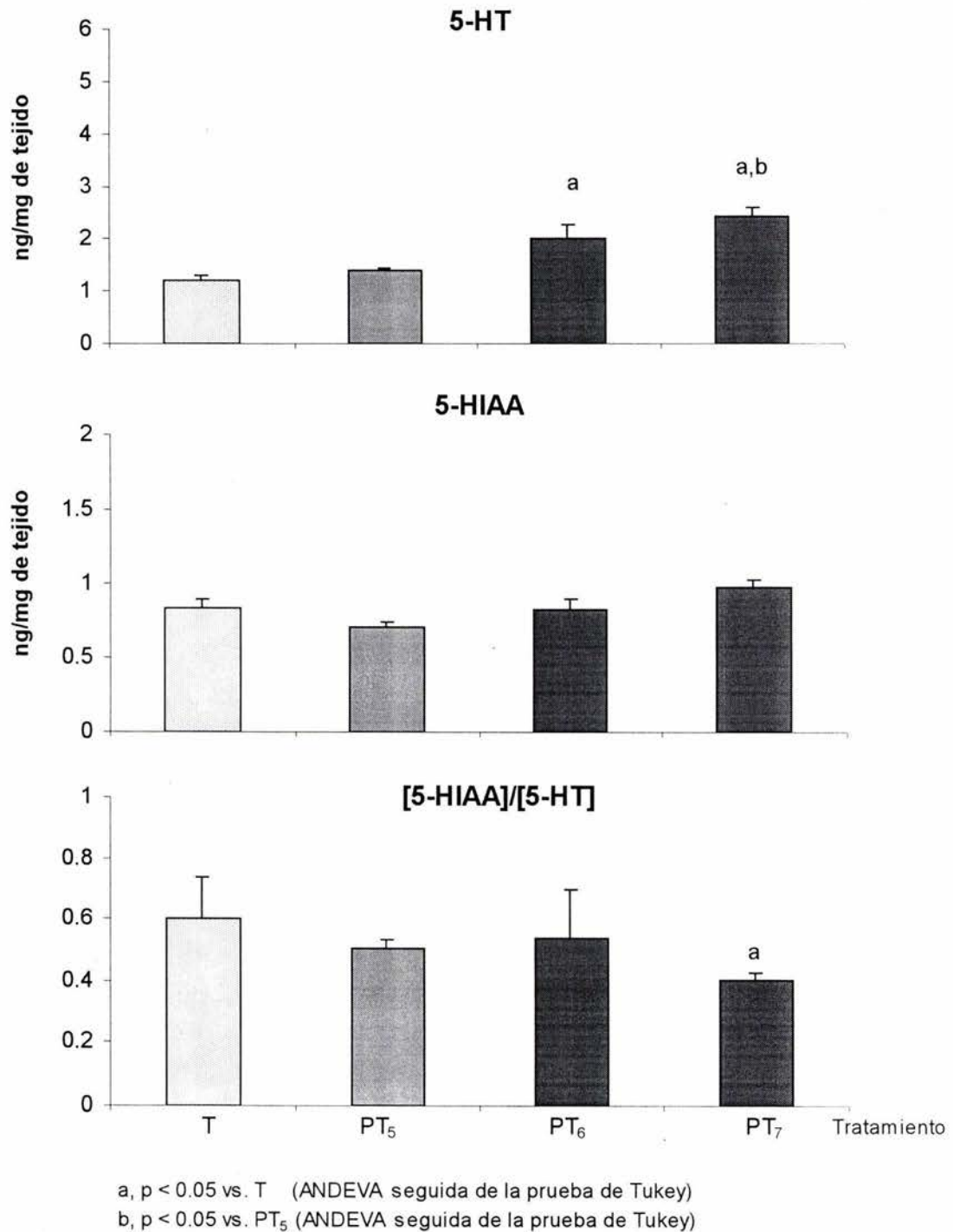


Figura 3. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo anterior de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

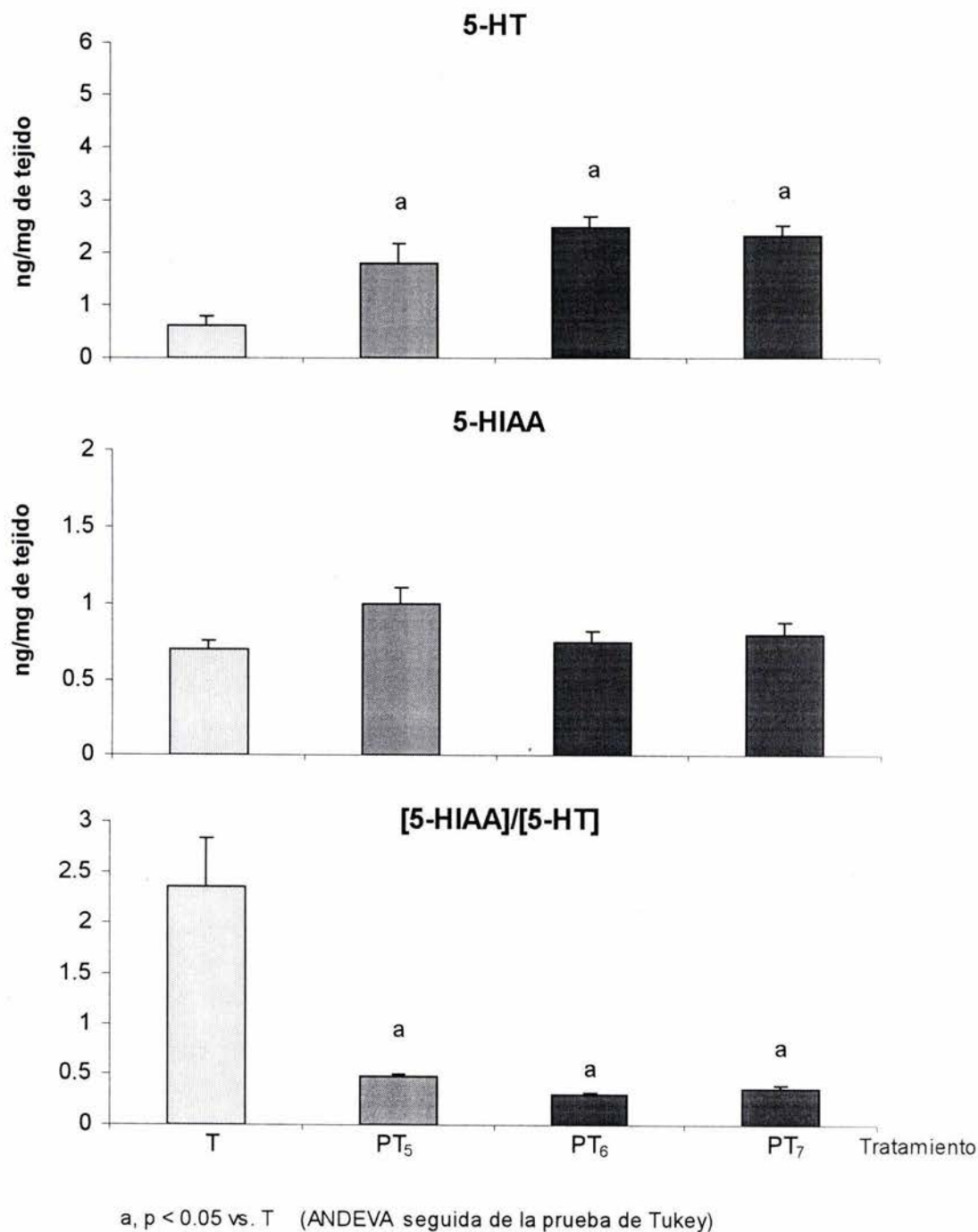


Figura 4. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo medio de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

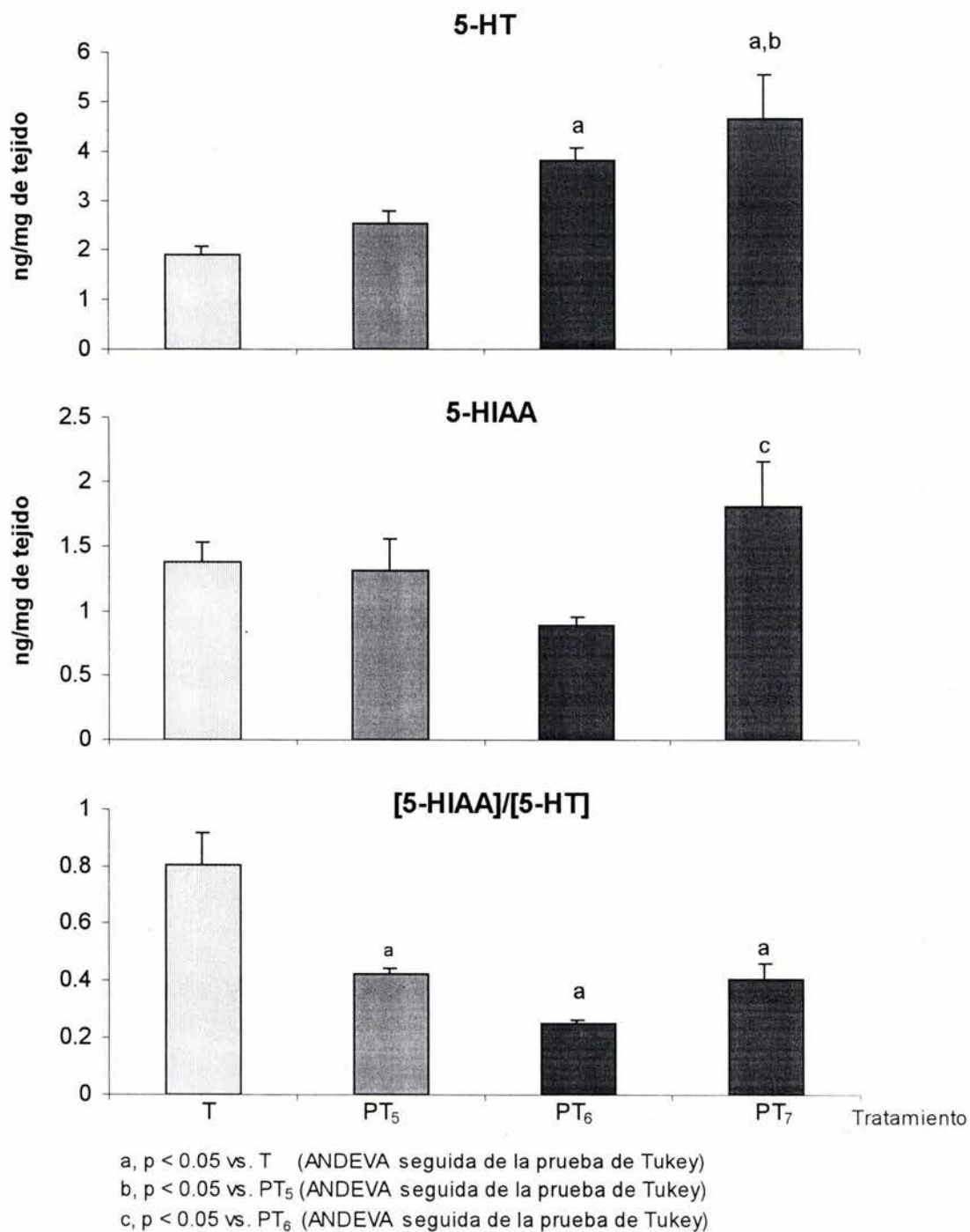


Figura 5. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo posterior de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

Hormonas esteroides

En el grupo que recibió propionato de testosterona en el día cinco de edad, se observó la disminución en la concentración de progesterona y 17β -estradiol con respecto al grupo tratado con Vh, mientras que en los grupos que recibieron propionato de testosterona en el día seis o siete de edad las concentraciones de estas hormonas son similares a las del grupo que fue inyectado con aceite de maíz (figura 6).

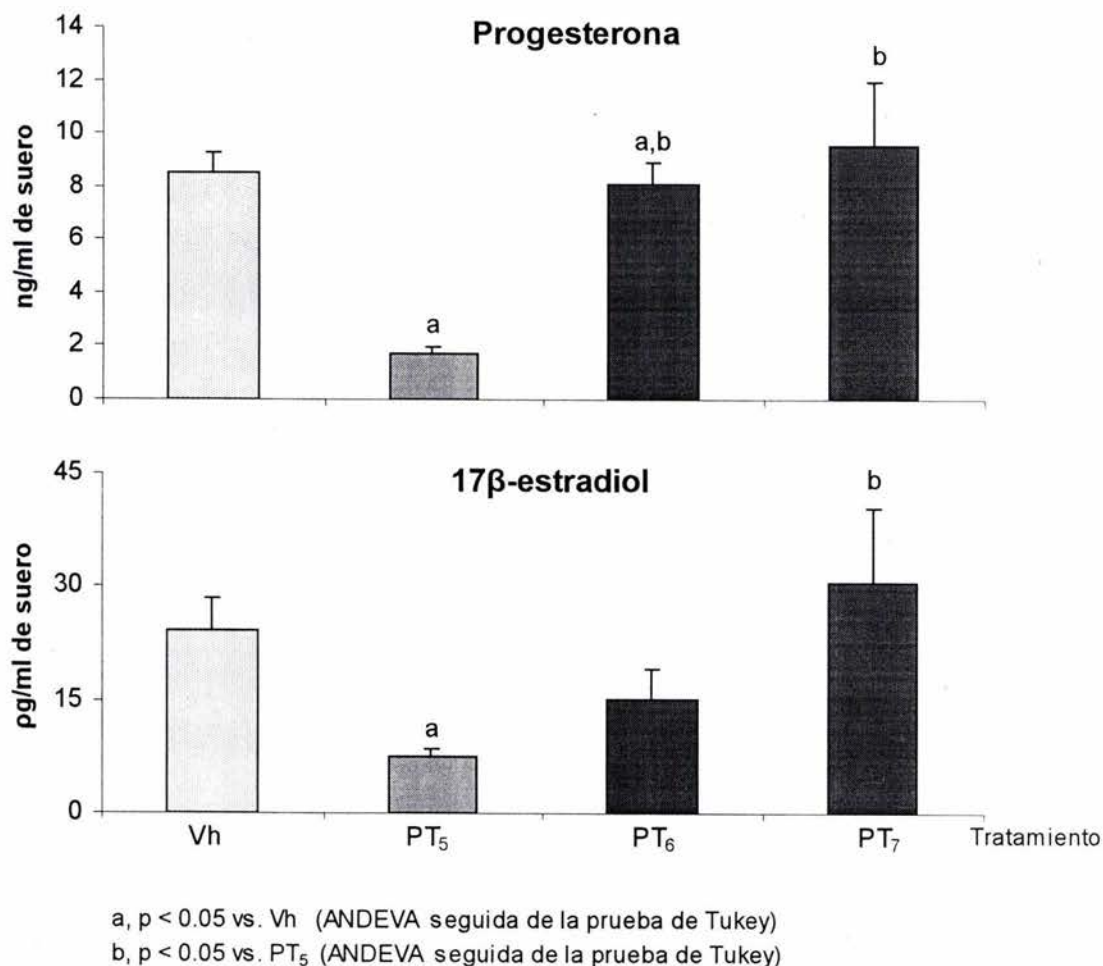
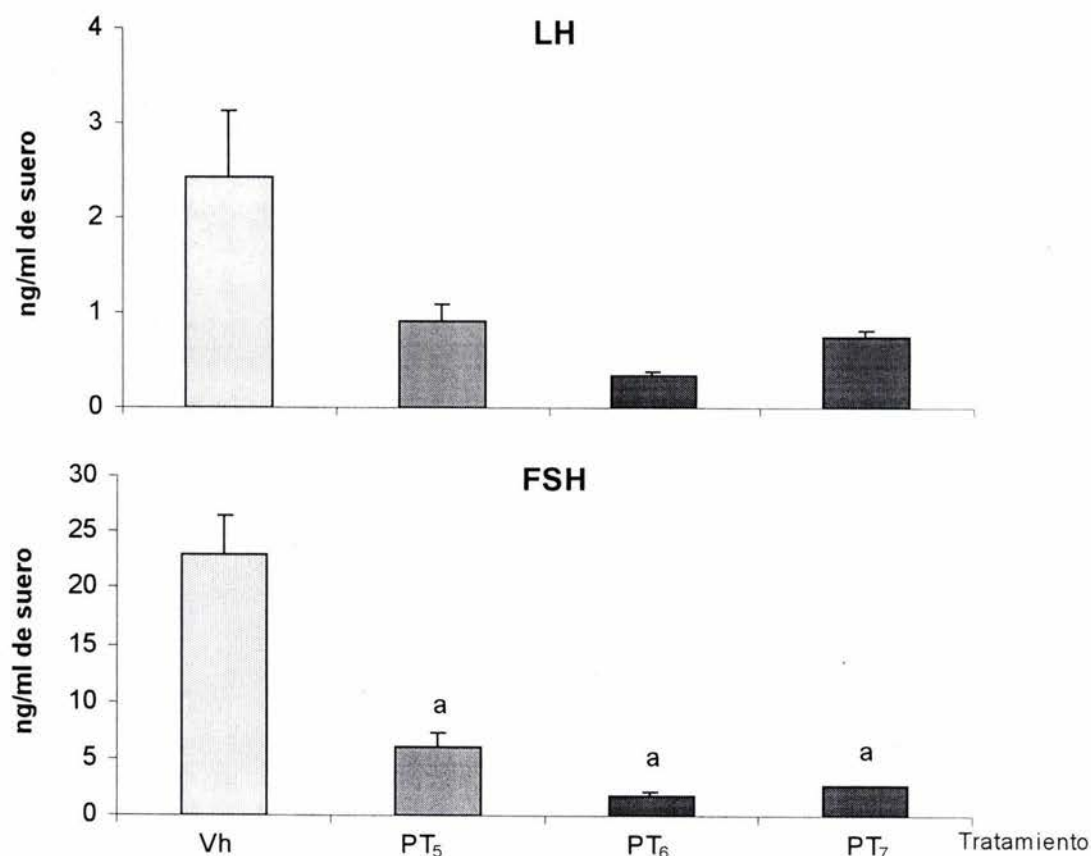


Figura 6. Concentración (Media \pm e.e.m.) de progesterona y 17β -estradiol en suero de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

Gonadotropinas

En la figura 7 se presentan los resultados de las concentraciones de FSH y LH en suero. En todos los grupos de animales androgenizados se observó la disminución significativa en la concentración de estas dos hormonas con respecto al grupo de animales testigo. Sin embargo, esta disminución fue más evidente en el grupo de animales que fueron inyectados con el andrógeno en el día seis de vida.



a, $p < 0.05$ vs. Vh (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey)

Figura 7. Concentración (Media \pm e.e.m.) de la hormona fólculo estimulante (FSH), y luteinizante (LH) en suero de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

Población folicular

En el cuadro 1 se presenta el número de folículos totales y por rango presentes en los ovarios de ratas androgenizadas a diferentes edades de la etapa neonatal. El número total de folículos no se modificó en ninguno de los grupos experimentales. Sin embargo, al realizar el análisis de la población folicular con base en su diámetro, se observó el incremento en el número de folículos preovulatorios en el grupo de animales que fueron androgenizados en el día seis o siete.

Cuadro 1. Número de folículos totales (Media \pm e.e.m.) y su distribución por rango, en los ovarios de ratas testigo (T), o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

Grupo	Folículos totales	Distribución por rango		
		< 200 μ m	201 - 400 μ m	> 401 μ m
T	53.75 \pm 8.88	33.80 \pm 6.44	16.4 \pm 3.72	3.55 \pm 0.86
PT5	48.67 \pm 6.25	22.25 \pm 3.28	22.08 \pm 4.64	4.5 \pm 0.95
PT6	47.25 \pm 5.52	23.75 \pm 5.33	16.75 \pm 2.21	6.75 \pm 0.66
PT7	50.17 \pm 7.43	31.17 \pm 6.75	13.75 \pm 1.9	5.25 \pm 1.04

Cuando se analizó el estado de los folículos se observó que en todos los grupos de animales androgenizados, el número de folículos atrésicos se incrementó de manera significativa en comparación con el grupo testigo, sin embargo este incremento fue mayor en los animales androgenizados en el día cinco (figura 8).

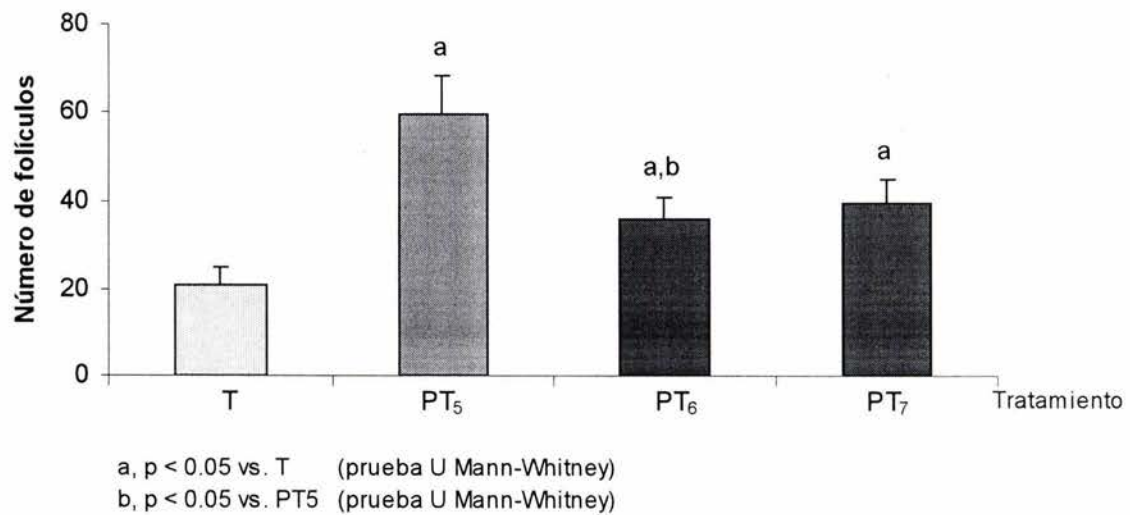


Figura 8. Número de folículos atrésicos (Media \pm e.e.m.) presentes en los ovarios de ratas testigo (T), tratados con aceite (Vh) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

El número de folículos atrésicos pequeños ($<200 \mu\text{m}$ de diámetro) se incrementó ligeramente en los animales androgenizados en el día cinco y siete; sin embargo esto no llegó a ser diferente en los animales androgenizados en el día cinco en comparación con los animales testigo. El número de folículos atrésicos medianos ($201 - 400 \mu\text{m}$) y preovulatorios atrésicos ($> 401 \mu\text{m}$) se incrementó en todos los grupos de animales androgenizados pero este incremento fue mayor cuando la androgenización se realizó en el día cinco de vida (figura 9).

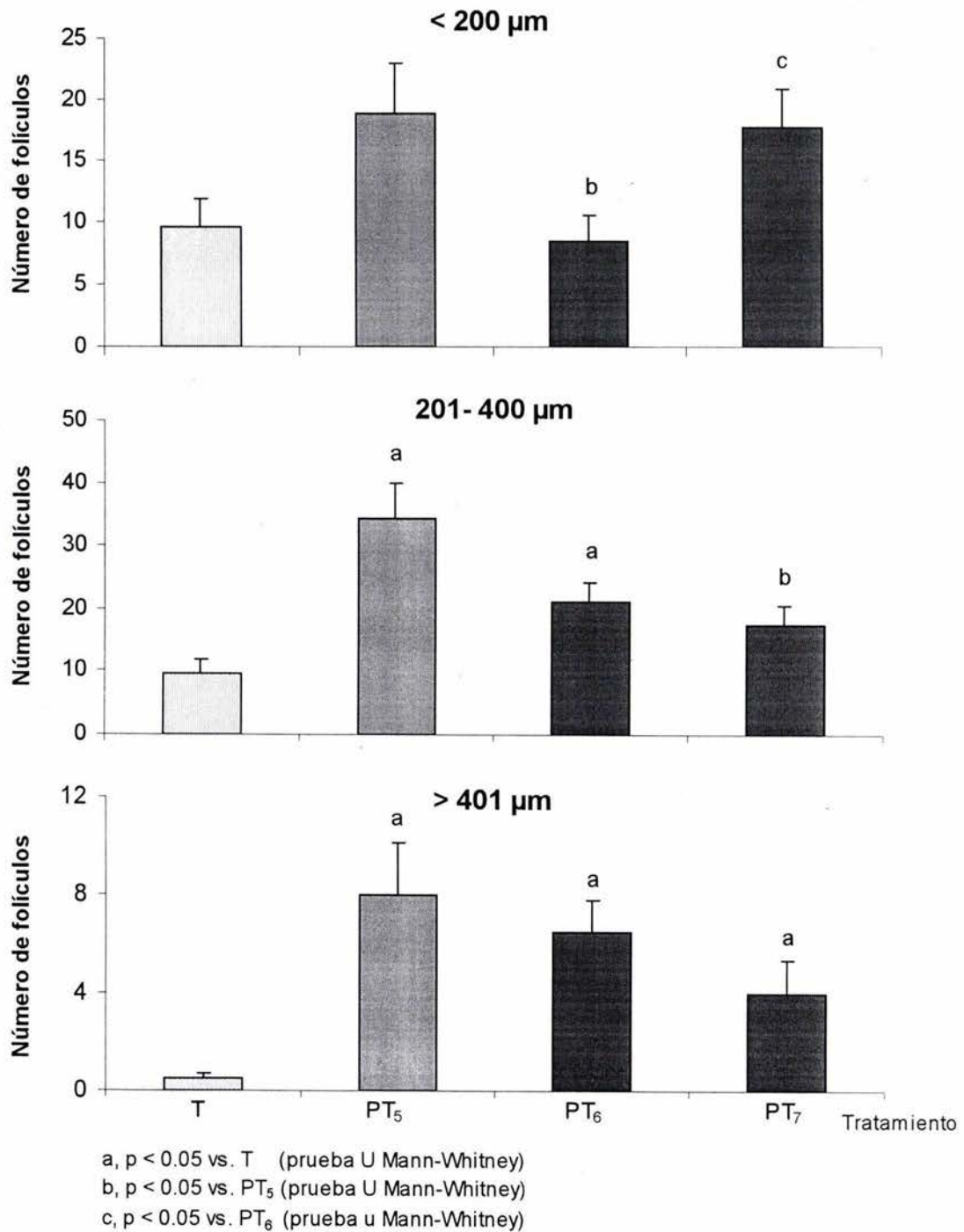


Figura 9. Número de folículos atrésicos por rango (Media \pm e.e.m.) presentes en los ovarios de animales testigo (T) o con propionato de testosterona (PT) en la fase neonatal y sacrificados a los 60 días de edad.

2) Efecto de la administración de progesterona más PT

En los animales que previo a la androgenización fueron inyectados con progesterona, la citología vaginal presentó características de estro persistente con algunos días intercalados de diestro o proestro. En el día del sacrificio ninguno de los animales ovuló [P₄+PT₅ (0/12); P₅+PT₆ (0/9); P₅+PT₇ (0/9)].

En los animales que recibieron progesterona en el día cinco y se androgenizaron en el día siete, la concentración de noradrenalina en las tres regiones del hipotálamo no se modificó en comparación con el que únicamente fue androgenizado. Sin embargo, en los que se trataron con progesterona en el día cinco y se androgenizaron en el día seis, la concentración de este neurotransmisor se incrementó en las tres regiones del hipotálamo (figura 10).

En las tres regiones del hipotálamo de los animales tratados con progesterona en el día cinco más PT en el día seis o siete la concentración de dopamina fue similar a la de los animales que únicamente fueron androgenizados, Mientras que, en los que recibieron progesterona en el día cuatro y PT en el cinco, la concentración de este neurotransmisor se incrementó de manera significativa (figura 11).

En la mayoría de los animales la concentración del metabolito de la noradrenalina (MHPG) y de la dopamina (DOPAC), estuvo por debajo de la sensibilidad del método (0.001 ng), por ello no se evaluó la relación [MHPG]/[NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) y la relación [DOPAC]/[DA] (actividad de la neurona dopaminérgica).

En el hipotálamo anterior de los diferentes grupos de animales que fueron tratados con progesterona más andrógenos la concentración de serotonina, del 5-HIAA y de la relación [5-HIAA]/[5-HT] no se modificó en relación con el grupo que únicamente fue androgenizado (figura 12). En el hipotálamo medio de los animales que fueron inyectados con progesterona en el día cinco más PT en el día seis o siete, la concentración de este neurotransmisor disminuyó de manera significativa. La concentración del 5-HIAA también

disminuyó en los tres grupos que previo a la androgenización recibieron progesterona, sin embargo esta disminución únicamente fue significativa en el grupo de animales que recibió progesterona en el día cuatro. La relación [5-HIAA]/[5-HT] se incrementó únicamente en esta región del hipotálamo de los animales que recibieron progesterona en el día cinco y andrógenos en el día seis (figura 13).

En el hipotálamo posterior de los animales que fueron inyectados con progesterona en el día cinco más PT en el día seis, la concentración de serotonina fue significativamente menor que los animales androgenizados y la concentración del 5-HIAA y la relación [5-HIAA]/[5-HT] presentó un comportamiento inverso, en los otros grupos experimentales no se presentaron cambios (figura 14).

En el grupo de animales que previo al tratamiento de andrógenos recibieron progesterona en el día cuatro, la concentración de progesterona y 17β -estradiol en suero aumentó de manera significativa. Un comportamiento inverso se observó en la concentración de progesterona en suero de los animales que solamente fueron inyectados con progesterona en el día cinco y andrógenos en el día seis, mientras que la concentración de 17β -estradiol no se modificó (figura 15).

En comparación con los animales androgénizados en el día cinco, en los que previo a la administración del PT recibieron progesterona en el día cuatro, las concentraciones de FSH y LH en suero se incrementaron pero esta diferencia fue estadísticamente significativa únicamente en la concentración de la FSH. En los grupos que se inyectaron con progesterona en el día cinco no se presentaron cambios (figura 16).

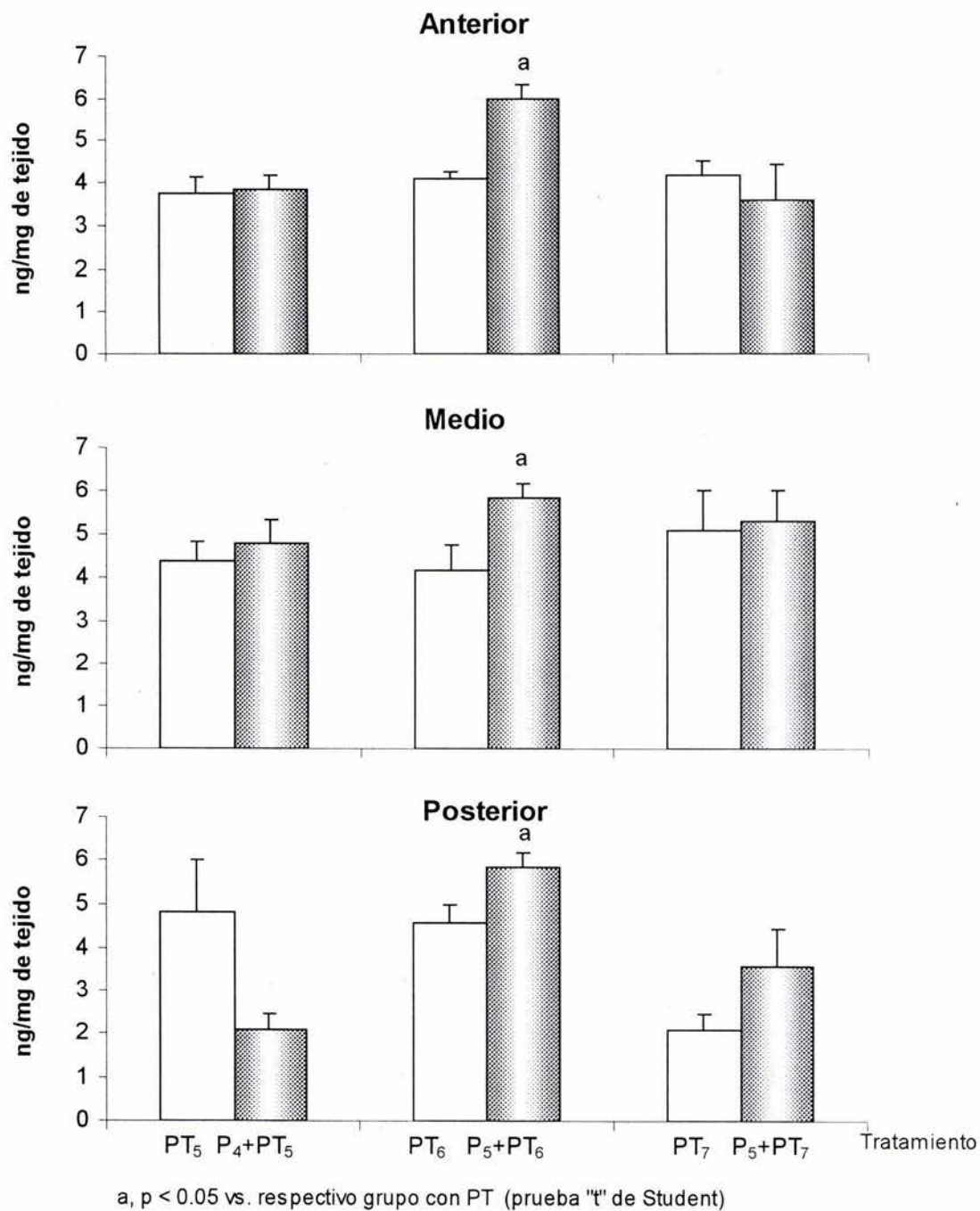


Figura 10. Concentración (Media \pm e.e.m.) de noradrenalina en el hipotálamo anterior medio y posterior de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día postnatal cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

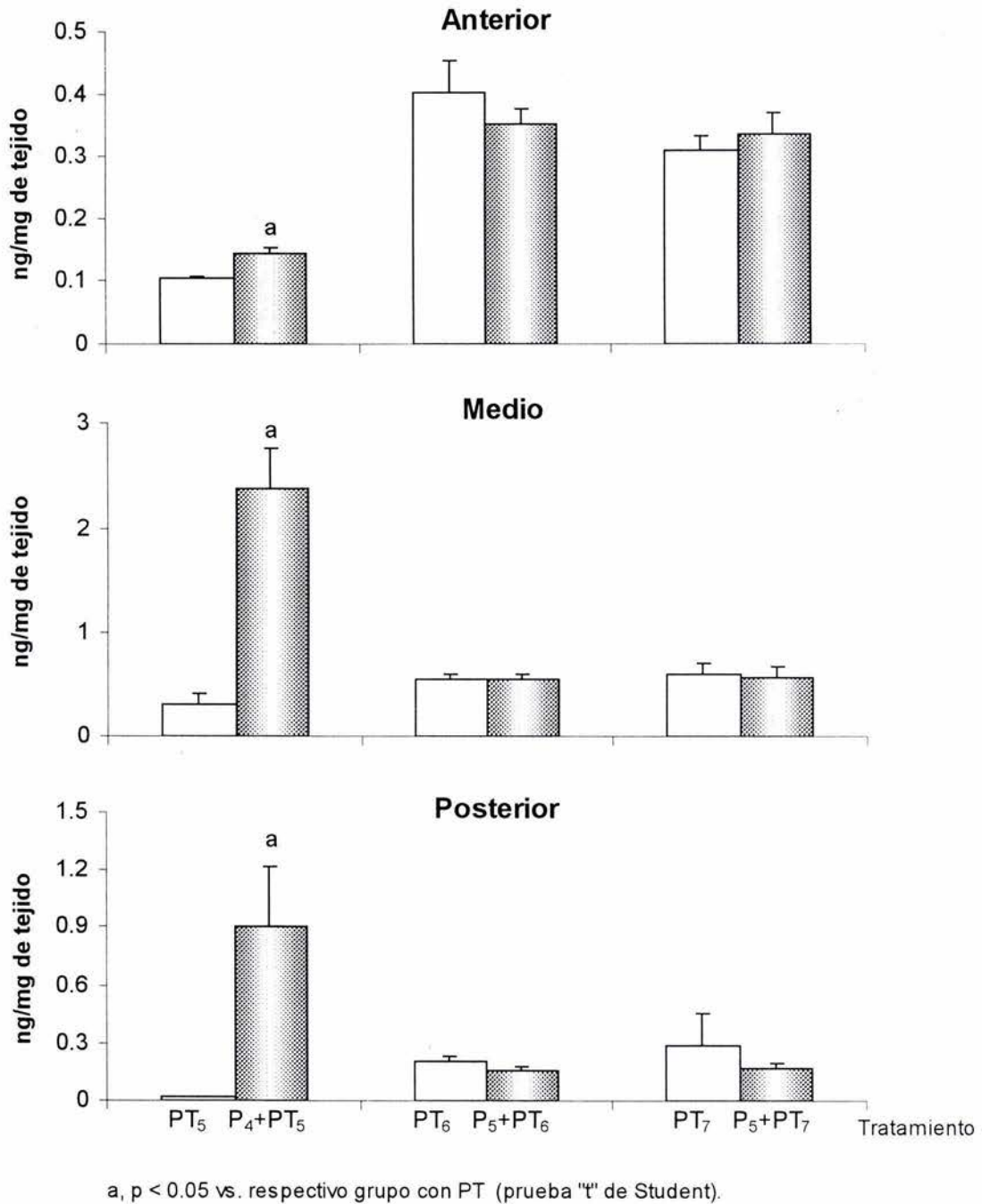
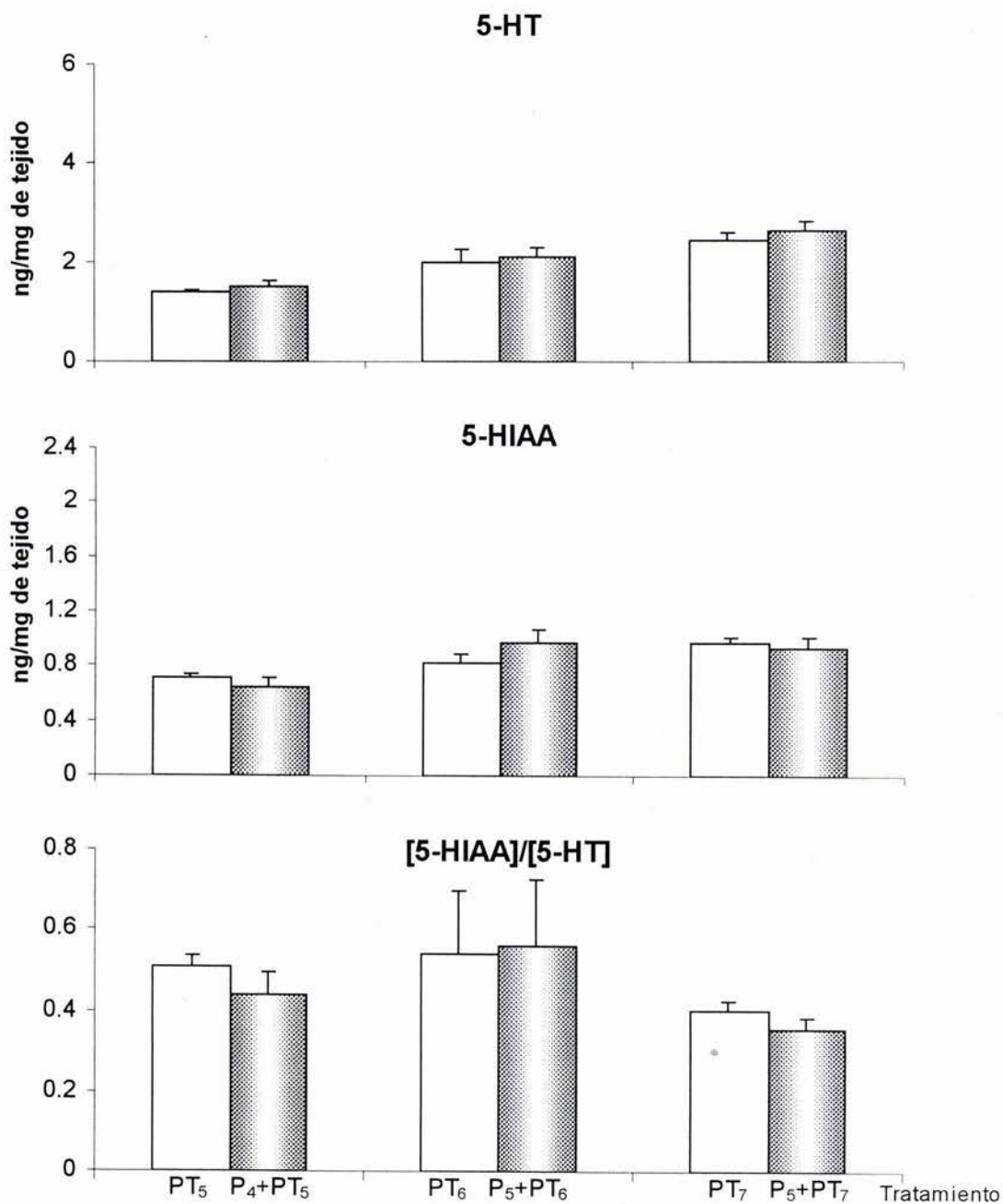
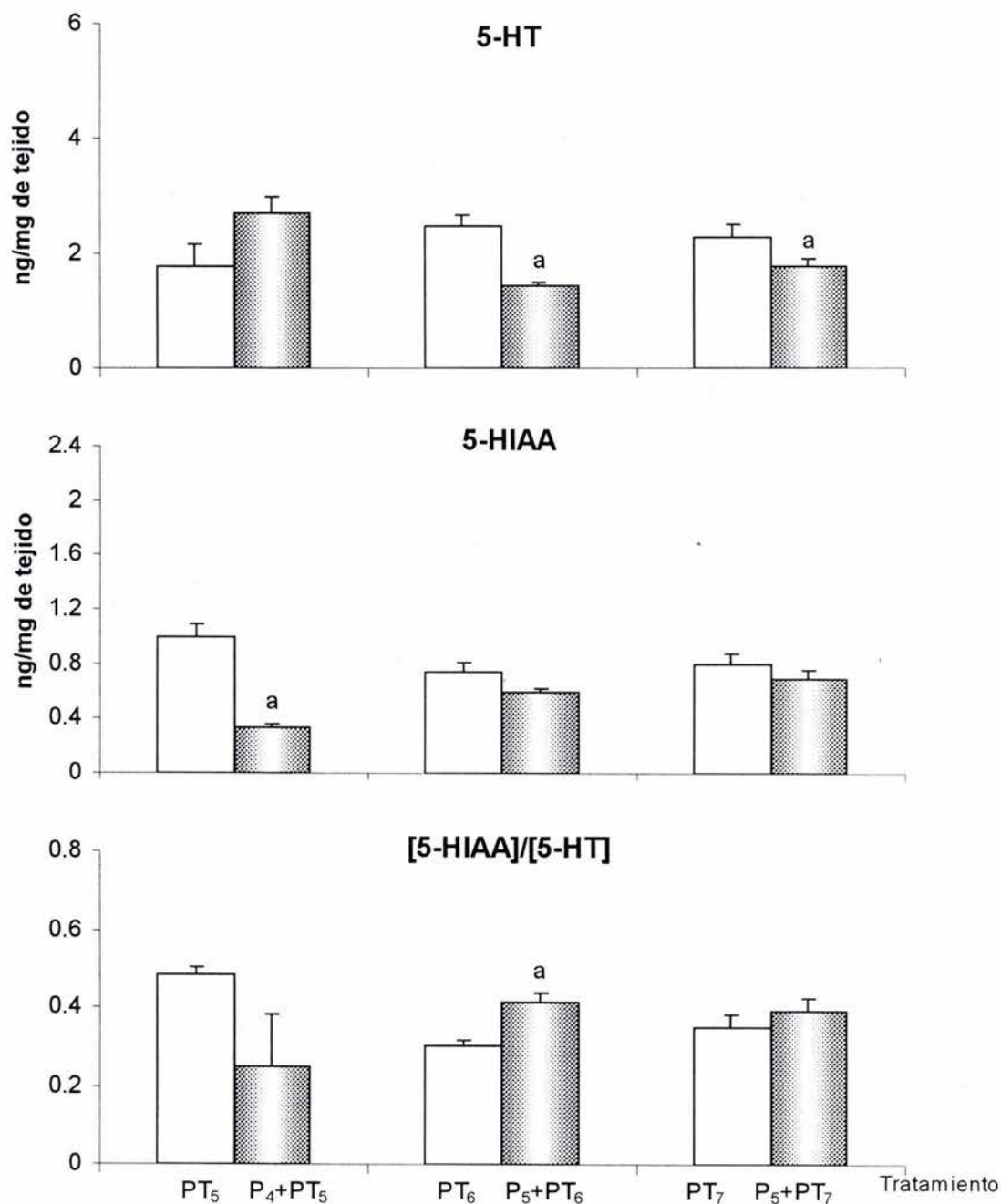


Figura 11. Concentración (Media \pm e.e.m.) de dopamina en el hipotálamo anterior medio y posterior de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.



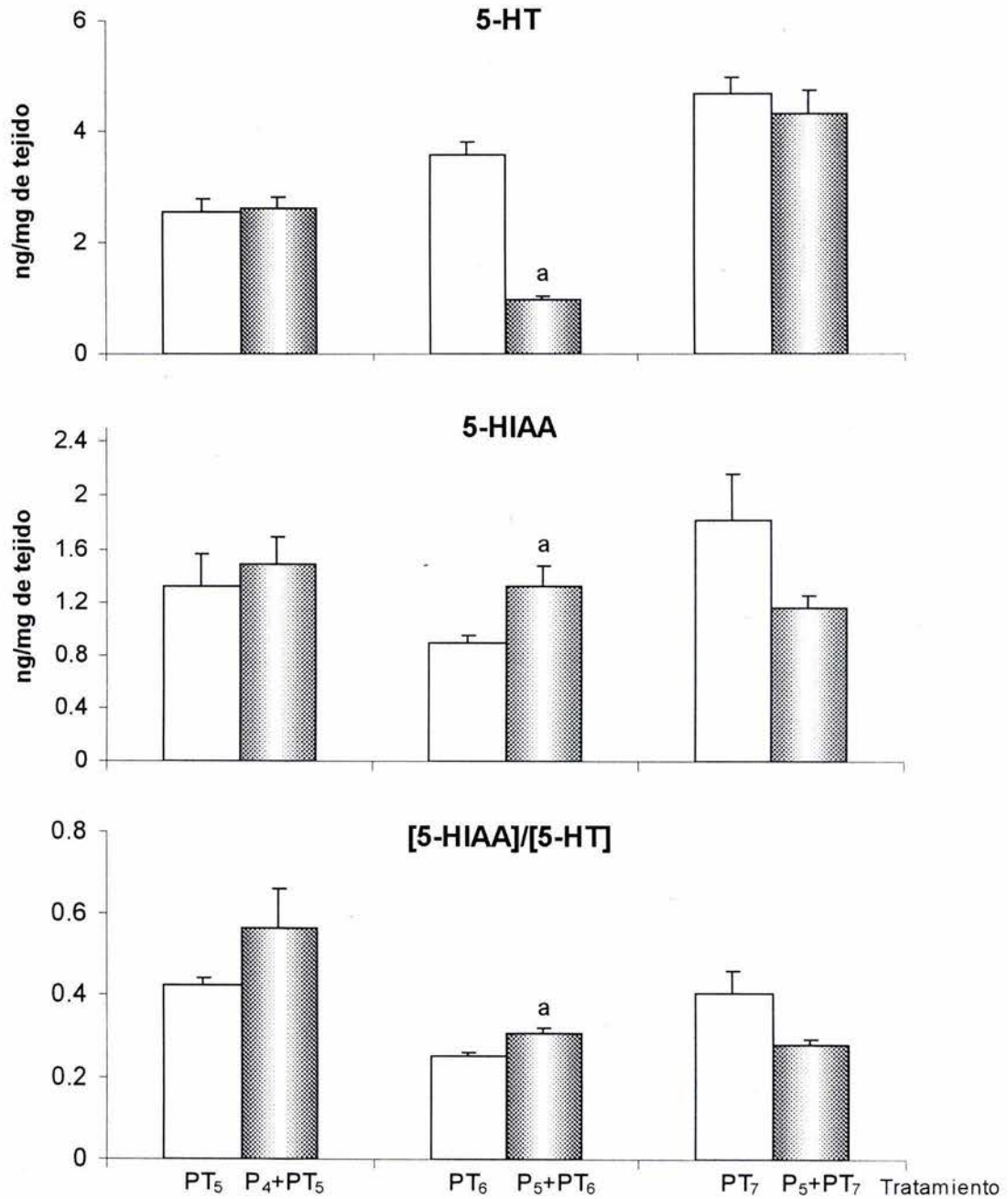
a, $p < 0.05$ vs. respectivo grupo con PT (prueba "t" de Student).

Figura 12. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), y actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo anterior de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.



a, $p < 0.05$ vs. respectivo grupo con PT (prueba "t" de Student).

Figura 13. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), y actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo medio de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día postnatal cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.



a, $p < 0.05$ vs respectivo grupo con PT (prueba "t" de Student).

Figura 14. Concentración (Media \pm e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), y actividad de la neurona serotoninérgica ([5-HIAA]/[5-HT]) en el hipotálamo posterior de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día postnatal cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

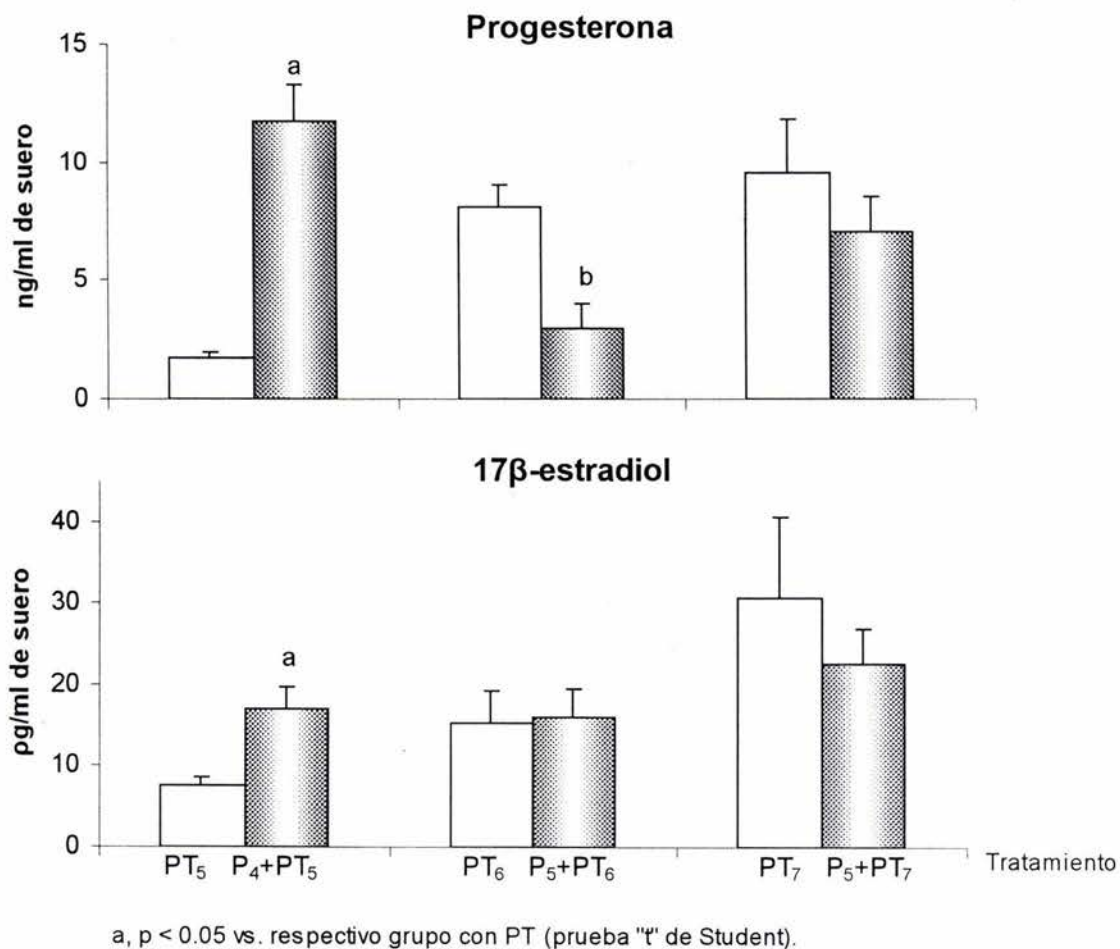


Figura 15. Concentración (Media \pm e.e.m.) de progesterona y 17 β -estradiol en suero de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día postnatal cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

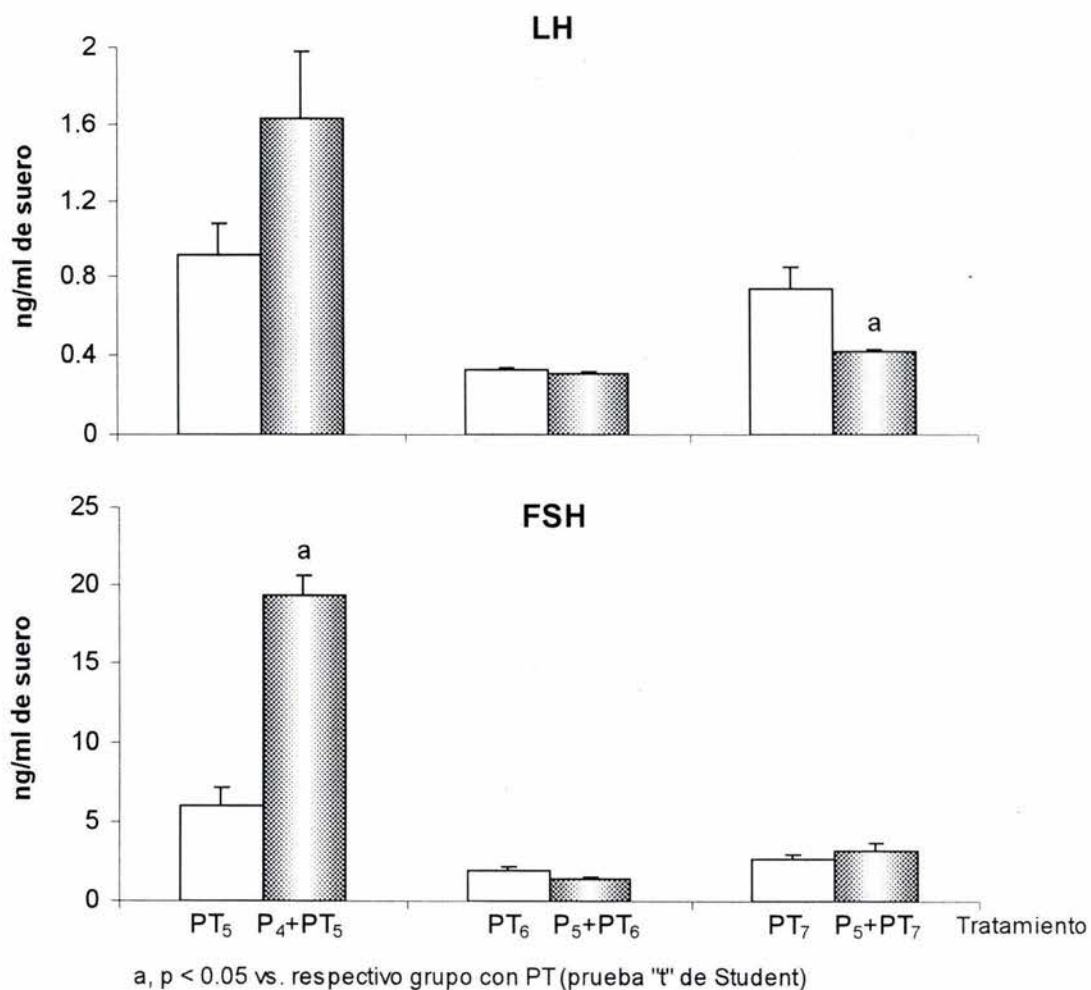


Figura 16. Concentración (Media \pm e.e.m.) de la hormona foliculo estimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH) en suero de animales tratados con propionato de testosterona en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día postnatal cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

Población folicular

El número de folículos totales medidos en los ovarios de los animales que recibieron progesterona más andrógenos no se modificó, con excepción del grupo que recibió progesterona en el día cuatro más PT en el día cinco, en donde se cuantificó un menor número de folículos. Cuando se analiza la población de folículos por tamaño, se observó que en este último grupo el número de folículos pequeños (<200 μm y medianos (201-400 μm) disminuyeron y no se observaron cambios en los preovulatorios (Cuadro 2).

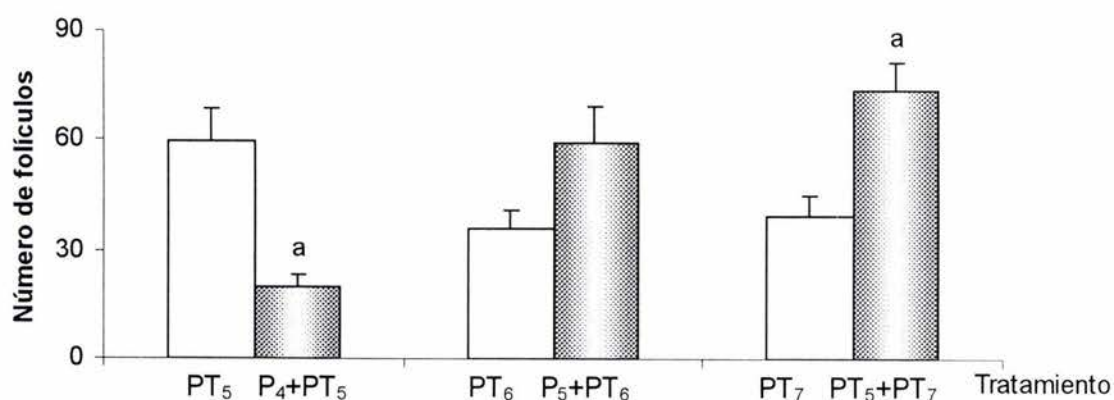
Cuadro 2. Numero de folículos (Media \pm e.e.m.) y su distribución por rango, en los ovarios de ratas tratadas con propionato de testosterona (PT) en el día postnatal cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ ó PT₇) o con progesterona en el día cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

Grupo	Folículos totales	Distribución por rango		
		< 200 μm	201 - 400 μm	> 401 μm
PT5	48.67 \pm 6.25	22.25 \pm 3.28	22.08 \pm 4.64	4.5 \pm 0.95
P4 + PT5	25.5 \pm 2.62 ^a	14.58 \pm 3.75 ^a	4.83 \pm 0.94 ^a	6.08 \pm 2.31
PT6	47.25 \pm 5.52	23.75 \pm 5.33	16.75 \pm 2.21	6.75 \pm 0.66
P5 + PT6	57.42 \pm 5.99	36.25 \pm 5.52	16.33 \pm 3.51	4.83 \pm 1.22
PT7	50.17 \pm 7.43	31.17 \pm 6.75	13.75 \pm 1.9	5.25 \pm 1.04
P5 + PT7	56.42 \pm 6.43	24.67 \pm 2.53	11.42 \pm 2.22	7.33 \pm 0.45

a, $p < 0.05$ vs. respectivo grupo con PT (prueba "t" de Student)

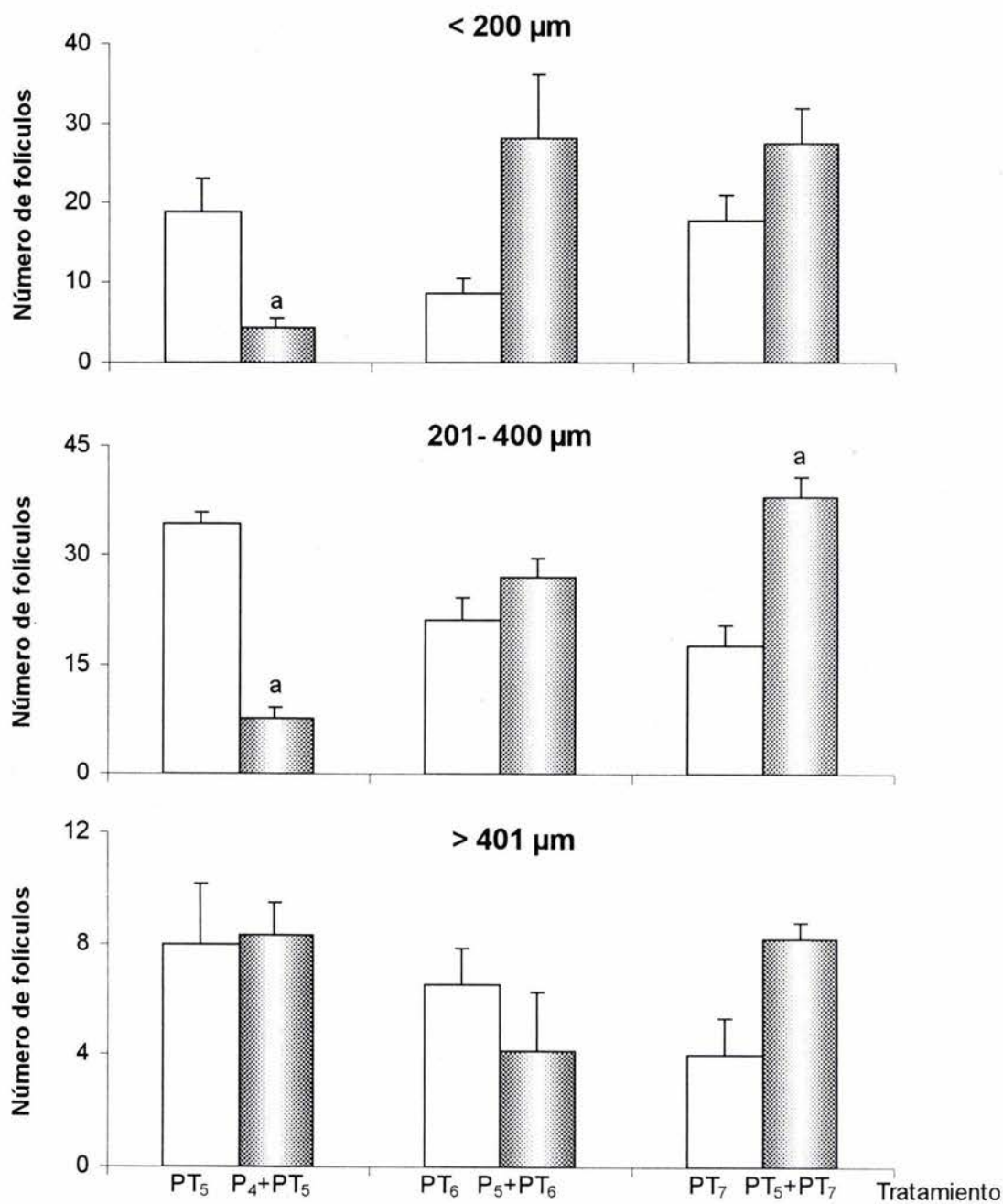
En el grupo de animales que previa a la androgenización en el día cinco recibieron progesterona en el día cuatro se presentó una disminución significativa en el número de folículos atrésicos totales con respecto al grupo de animales que sólo fueron androgenizados. Mientras que, en el grupo de animales tratados con progesterona en el día cinco más propionato de testosterona en el día seis o siete se presentó un aumento significativo del número de folículos atrésicos totales (figura 17).

Cuando se analizó el estado de los folículos por tamaño se observó que en el grupo de animales tratados con progesterona en el día cuatro más PT al día cinco disminuyó de manera significativa la atresia en los folículos pequeños y medianos. En los grupos de animales tratados con progesterona en el día cinco de edad más propionato de testosterona en los días seis o siete se observó un aumento en el número de folículos atrésicos pequeños y medianos.



a, $p < 0.05$ vs. respectivo grupo con PT (prueba U Mann-Whitney)

Figura 17. Número de folículos atrésicos (Media \pm e.e.m.) medidos en los ovarios de ratas tratadas con propionato de testosterona (PT) en el día cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ o PT₇) o con progesterona en el día cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.



a, $p < 0.05$ vs. respectivo grupo con PT (prueba U Mann-Whitney)

Figura 18. Número de folículos atrésicos por rango (Media \pm e.e.m.) presentes en los ovarios de animales tratados con propionato de testosterona (PT) en el día cinco, seis o siete (PT₅, PT₆ o PT₇) o con progesterona en el día cuatro o cinco (P₄ ó P₅) más PT₅, PT₆ ó PT₇ y sacrificados a los 60 días de edad.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que en la etapa neonatal de la rata hembra los andrógenos participan en el proceso de diferenciación sexual de los sistemas de neurotransmisión (noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico) del hipotálamo y de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas y como consecuencia las funciones del ovario. Estas observaciones concuerdan cada una por separado, con las evidencias descritas por Gerardin y Pereira (2002); Kawashima y Takagi (1994); Kawata y col. (1994).

En este estudio se observó que en las ratas tratadas con propionato de testosterona aumentó la concentración de noradrenalina en el hipotálamo anterior y medio, semejante a lo descrito por Resznikov y Nosenko (1983) quienes mostraron que cuando se administra este andrógeno en el día tres, se incrementa la concentración de este neurotransmisor desde el día siete de edad.

El aumento en la concentración de noradrenalina posiblemente es el reflejo de una mayor síntesis. La tiroxina hidroxilasa (TH) es la enzima limitante en la síntesis de noradrenalina y se localiza en las neuronas noradrenérgicas en sistema nervioso central y en ganglios simpáticos (Crowley y Zelman 1981). Esta enzima cataliza la transformación del aminoácido tiroxina en dihidroxifenilalanina producto intermedio en la síntesis de noradrenalina (Malven 2000). Además se ha mostrado que la actividad de la TH es regulada por las hormonas esteroides. La testosterona incrementa la actividad de la TH y la concentración de NA en los ganglios simpáticos (Dibner y Black, 1976), en el conducto deferente (Bustamante y col., 1989) y en el hipotálamo (Resznikov y Nosenko, 1983). Otro factor que posiblemente contribuyó al incremento en la síntesis de noradrenalina es el reflejo de una mayor actividad de la enzima dopamina- β -hidroxilasa, que cataliza el último paso de síntesis de este neurotransmisor. Al respecto, Bustamante y col. (1989) sugieren que los cambios en la actividad de esta enzima se correlacionan con la concentración de noradrenalina.

Se ha mostrado que en el cuerpo estriado y en el sistema límbico de ratas adultas la concentración de DA es similar entre las hembras y machos (Leret y col. 1987). Las evidencias antes mencionadas difieren a lo encontrado en este trabajo, en el animal androgenizado en el día cinco de vida. Es posible que estas diferencias sean el resultado de que se trabajaron con modelos diferentes y las evaluaciones de la dopamina se realizaron en tejidos diferentes. Con relación a esto se ha mostrado que las hormonas esteroideas modulan la organización de las células que sintetizan los neurotransmisores pero de manera diferencial dependiendo del tejido (Kawata y col., 1994). En nuestro caso las evaluaciones de dopamina se realizaron en tres regiones del hipotálamo (anterior, medio y posterior).

Según información disponible, hay evidencias que indican que en el sistema nervioso central existe dimorfismo sexual en algunas estructuras como el núcleo paraventricular anteroventral, entre otras en donde el número de neuronas dopaminérgicas es mayor en las hembras en comparación con los machos (Simerly y col., 1985). También la tasa de síntesis y recambio de la dopamina es mayor en las hembras (Demarest y col., 1981). Este conjunto de evidencias nos llevan a corroborar que la androgenización en el día cinco, modifica los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas en la rata hembra, y que tienen innervación dopaminérgica, debido a que la concentración de dopamina en el hipotálamo de estos animales fue muy baja, posiblemente como resultado de una baja síntesis de este neurotransmisor, como sucede en el macho.

El efecto de los andrógenos observado en el sistema dopaminérgico no se presentó cuando la administración de propionato de testosterona se realizó en el día seis y siete. En estos dos grupos de animales la concentración del neurotransmisor, es similar al de las hembras que no recibieron tratamiento. Las diferencias observadas en el efecto de los andrógenos sobre el sistema dopaminérgico puede ser el reflejo de la diferencia de edades en las que se realizó el tratamiento con el andrógeno. Con relación a esto, Barraclough y Gorski (1961), mostraron que existe una "fase crítica" o de máxima susceptibilidad para provocar la masculinización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas y que ocurre dentro de los primeros cinco días de vida.

La androgenización de la rata hembra realizada a los seis o siete días de edad, provoca anovulación, sin embargo la concentración de DA no se modificó. Estos hechos nos llevan a pensar que en estas edades este sistema de neurotransmisión no es el único implicado en la modulación de los mecanismos neuroendocrinos que culminan con la ovulación. Esta idea es apoyada por los resultados obtenidos en estos animales en los cuales se modificó el sistema noradrenérgico y serotoninérgico. En relación a esto se ha reportado que la noradrenalina estimula la secreción de GnRH y de gonadotropinas y la serotonina estimula o inhibe estos eventos (Kordón y col., 1994).

En el modelo de la rata prepúber y adulta, se ha demostrado que el sistema serotoninérgico interviene en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (Fink, 2000) y que durante el desarrollo prepuberal su participación es sexualmente dimórfica (Moguilevsky y col., 1987). En este estudio observamos que el aumento en la concentración de serotonina en el hipotálamo anterior y medio de los animales androgenizados, se acompaña de la disminución en la relación $[5\text{-HIAA}]/[5\text{-HT}]$, lo que nos indica una baja actividad en este sistema de neurotransmisión. Estos resultados posiblemente son el reflejo de una mayor síntesis de serotonina y menor liberación. Otra posibilidad es que en los animales androgenizados sea el resultado de una menor actividad de la enzima monoamino oxidasa (MAO), que cataliza la transformación de la serotonina en 5-HIAA. Esta interpretación se ve apoyada por los estudios realizados por Shimara y col. (1976) quienes mostraron que cuando se administra propionato de testosterona y se inhibe la actividad de la MAO durante los primeros 10 días de vida, se adelanta la edad en que se presenta el estro vaginal persistente.

Con base en lo antes mencionado es posible pensar que la masculinización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas y como consecuencia la anovulación en la etapa adulta se asocian con una menor actividad del sistema serotoninérgico en los animales androgenizados. Se ha propuesto la hipótesis de que la disminución de la actividad de este sistema durante los primeros días del desarrollo postnatal, puede potenciar los efectos defeminizantes de los andrógenos (Döhler, 1991).

Los cambios en los sistemas de neurotransmisión observados en las tres regiones del hipotálamo de los animales androgénizados, pueden ser un reflejo de la masculinización de algunas estructuras del sistema nervioso central inducida por los andrógenos. Las hormonas esteroides modifican diversas funciones del encéfalo, como son expresión de genes para la comunicación célula-célula, la estructura y diferenciación neuronal de los sistemas de neurotransmisión, entre otras actividades. Además, a los esteroides gonadales durante la etapa neonatal se les atribuye un papel organizador (Kawata y col, 1994). Es posible que los cambios en la síntesis y el metabolismo de las catecolaminas y la serotonina observados en los animales androgénizados sean los responsables de los efectos del propionato de testosterona sobre la diferenciación sexual de los centros que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas. En particular en el hipotálamo anterior y medio donde se localizan los centros que regulan este tipo de secreción hormonal en la rata hembra (Fink, 2000).

Con base en los resultados obtenidos en el modelo del animal androgenizado utilizado en este estudio, se puede pensar que los andrógenos que son aromatizados y convertidos a estrógenos en el sistema nervioso central, inducen la masculinización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas (Barraclough, 1983; Gorski, 1990). Este proceso se traduce en la aparición del cuadro caracterizado por estro vaginal persistente, ovario poliquístico, falta de ovulación (ausencia de cuerpos lúteos), modificaciones en la estructura del ovario y en la secreción de esteroides, como fue observado en este estudio.

En ninguno de los animales que recibieron andrógenos se presentó la ovulación, independientemente de la edad en la que se realizó la administración de la hormona. Este evento se acompañó de disminución en la producción de FSH y LH y aumento en el número de folículos preovulatorios con características de atresia. Estos resultados pueden ser interpretados como el reflejo de la masculinización de los centros que regulan la secreción cíclica de las gonadotropinas, lo que propició que la producción de la FSH y LH sea constante, como en el macho y que no se presentara el aumento en la producción de estas dos hormonas en la tarde del proestro “pico ovulatorio” como ya ha sido mostrado por otros autores (Gorski, 1963). Este “pico” de secreción de las gonadotropinas es necesario para la maduración final de los folículos y como consecuencia que se presente la ovulación

(Greenwald y Shyamal (1994). Los resultados de nuestro estudio concuerdan con lo reportado por Pinilla y col. (1993), quienes mostraron que cuando se administra propionato de testosterona en la etapa neonatal, se presentan ciclos anovulatorios y disminución en la producción de FSH.

Las alteraciones en el crecimiento folicular y la falta de ovulación observada en los animales androgénizados en el día cinco se acompañaron de la disminución en la producción de progesterona y 17β -estradiol, éstos eventos posiblemente están asociados con la menor producción de FSH y LH, ya que la esteroidogénesis en el ovario es regulada por múltiples factores, entre ellos las gonadotropinas (Greenwald y Shyamal 1994). La LH regula uno de los pasos iniciales de la esteroidogénesis, formación de pregnenolona, y la FSH la aromatización de los andrógenos para formar estrógenos. Además también se ha mostrado que existe una estrecha relación entre el desarrollo y maduración del folículo ovárico, y la esteroidogénesis (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Greenwald y Shyamal, 1994). En relación a esto Bukovsky y col. (2000) mostraron que los ovarios de los animales androgenizados son incapaces de producir en cantidades suficientes de esteroides para inducir la secreción preovulatoria de las gonatropinas que culmina con la ovulación.

A diferencia de lo observado en los animales androgénizados en el día cinco, en los que fueron tratados con PT en el día seis o siete, la concentración de 17β -estradiol y progesterona fue mayor. Además, estos resultados del estudio pueden ser una evidencia más de que el efecto del andrógeno en el proceso de diferenciación sexual disminuye con la edad (Wilson y col., 1941). Existen evidencias que señalan que las gónadas y las adrenales son la fuente de hormonas esteroides (Gore-Langton y Armstrong, 1994). Por ello, la mayor concentración de progesterona cuantificada en estos animales posiblemente es de origen adrenal, debido a que en los ovarios de estos animales no se observaron cuerpos lúteos (compartimiento ovárico que produce grandes cantidades de este esteroide (Greenwald y Shyamal, 1994).

El desarrollo del folículo es regulado por las gonadotropinas, factores de crecimiento, neurotransmisores y las propias hormonas esteroides. De estos algunos mantienen el

desarrollo del folículo como la FSH, la LH y los estrógenos y otros son inductores de atresia como la testosterona (Greenwald y Shyamal, 1994). Con base en estas evidencias y nuestros resultados, es posible que el aumento en la incidencia de atresia observado en los diferentes tipos de folículos en los ovarios de los animales androgenizados, sea el resultado de la disminución en la producción de 17β -estradiol como lo observamos en este estudio y a una mayor producción de testosterona. En apoyo a esta interpretación se ha mostrado que los ovarios de animales androgenizados producen grandes cantidades de testosterona (Daniell, 1991; Gore-Langton y Armstrong, 1994; Jones y col., 1987) (figura 19).

Los estudios sobre la diferenciación sexual del sistema nervioso central en los mamíferos, se han conducido para explorar si la progesterona protege a la hembra de los efectos masculinizantes de los andrógenos. Se ha propuesto que esta hormona actúa como un antiandrógeno protegiendo a la hembra del mono rhesus de los efectos masculinizantes de la testosterona (Resko, 1974) o la rata (Cagnoni y col., 1965; Rhoda y col., 1987).

En este estudio observamos que cuando se administra progesterona en el día cuatro y propionato de testosterona veinticuatro horas después, se protege parcialmente a la hembra de los efectos masculinizantes de esta última hormona. Los parámetros que se evaluaron en la etapa adulta y que apoyan esta interpretación, es el incremento en la concentración de gonadotropinas en suero, las cuales actúan como factores que regulan el desarrollo y maduración del folículo ovárico (Greenwald y Shyamal, 1994). El incremento en las concentraciones de gonadotropinas en suero observada en estos animales, la disminución de la atresia folicular y el aumento en la esteroidogénesis. Estos resultados corroboran parcialmente lo ya reportado por Cagnoni y col., (1965), quienes al aplicar el mismo esquema hormonal observaron ciclos normales, ovulación y formación de cuerpos lúteos.

Es necesario destacar que la progesterona no modificó las alteraciones en el sistema noradrenérgico y serotoninérgico inducidas por los andrógenos, aunque si provocó cambios puntuales en el sistema dopaminérgico en el hipotálamo anterior, donde se ubican los núcleos que regulan la secreción de gonadotropinas (Brown, 1994; Fink, 2000).

La posibilidad de que la administración de progesterona previa a la androgenización proteja al animal de los efectos del propionato de testosterona, no se presenta cuando los animales reciben la progesterona en el día cinco y el andrógeno 24 ó 48 horas después, debido a que en estos animales las concentraciones de catecolaminas y serotonina en el hipotálamo, y gonadotropinas y esteroides en el suero fueron similares a las del animal que recibió únicamente el andrógeno. Además, si se presentaron cambios en la estructura del ovario, debido a que en estos animales se incrementó el número de folículos preovulatorios atrésicos, posiblemente debido a la falta de estimulación gonadotrópica. Así con base en nuestros resultados es posible sugerir que la progesterona administrada bajo este esquema no protege a los animales de los efectos masculinizantes de los andrógenos tal y como se ha postulado que sucede cuando se administra en el día 4 (Cagnoni y col. 1965) o durante los últimos días de la gestación (Rhoda y col. 1987).

Existen datos que muestran que la expresión de los receptores a progesterona es sexualmente dimorfica y que para que se expresen los efectos masculinizantes de los andrógenos se requiere que se expresen los receptores a progesterona (Quadros y col., 2002). Además, también se ha reportado que la expresión de los receptores a esta hormona en el núcleo preóptico medial de la rata macho en la etapa neonatal es alta y en las hembras de la misma edad no se expresan (Quadros y col., 1998). Estos resultados han sido interpretados como una indicación de que el receptor a progesterona en el cerebro y en particular el hipotálamo cumple una función clave en la diferenciación sexual de esta estructura (Arrieta y col. 2003; Quadros y col. 2002). Aunque a la fecha se desconoce con exactitud su participación. Estas evidencias y nuestros resultados observados en los animales tratados con progesterona en el día cinco más propionato de progesterona en el día siete, nos lleva a plantear la posibilidad de que el tiempo transcurrido entre la administración de la primera hormona y el andrógeno fue suficiente para que se expresara un mayor número de receptores a progesterona y como consecuencia se incrementaron los efectos inducidos por el propionato de testosterona. Mientras que, en los que recibieron el andrógeno en el día seis fue menor la expresión de los receptores a progesterona. Esta interpretación es apoyada por los estudios realizados por Donath y col. (2000) quienes han mostrado que la expresión de

los receptores a progesterona en la hipófisis y en el hipotálamo del animal adulto es estimulada por la propia progesterona y los estrógenos (figura 20).

HIPOTÁLAMO

Neurotransmisores

	PT ₅	PT ₆	PT ₇
NA	↑ _{HA, HM}	↑ _{HA, HM}	↑ _{HA, HM}
DA	↓ _{HA}	↑ _{HA, HM}	↑ _{HM}
5-HT	↑ _H	↑ _H	↑ _H

HIPÓFISIS

LH	↓	↓	↓
FSH	↓	↓	↓

OVARIO

Esteroidogénesis

P	↓	—	↑
E ₂	↓	↓	↑
AF	↑	↓	↓

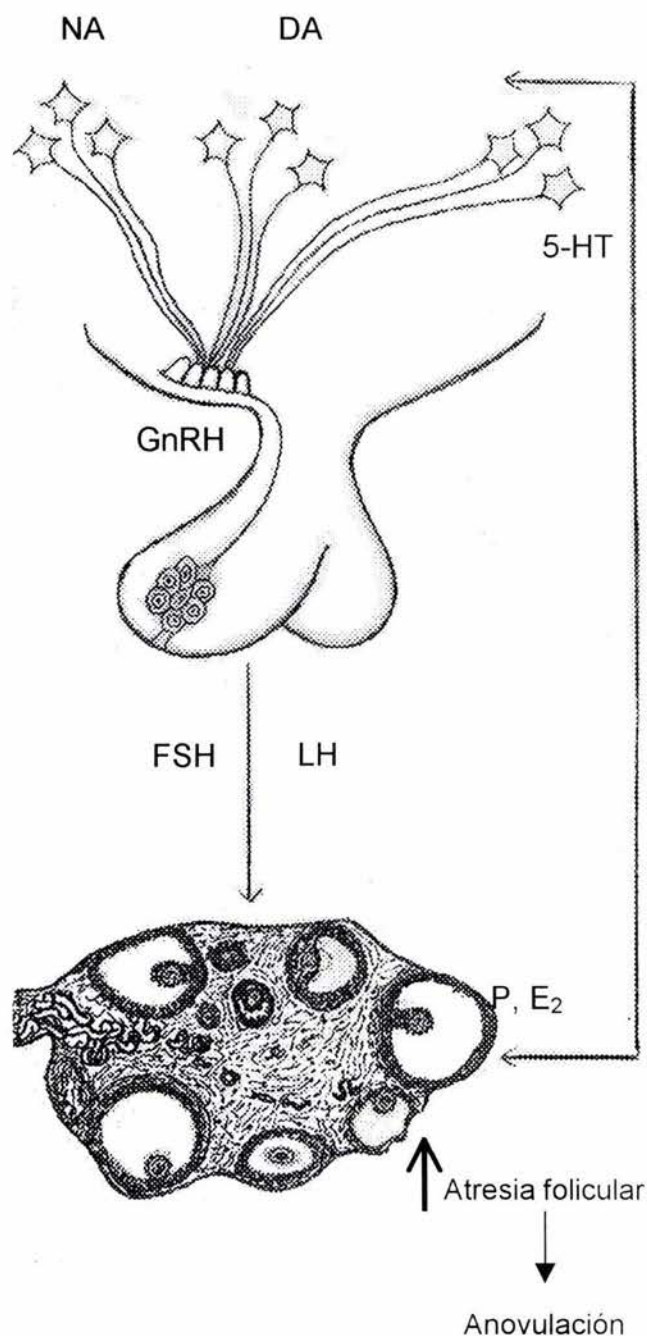


Figura 19. Eventos que suceden en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, en la rata hembra adulta tratada con propionato de testosterona en etapa neonatal (días cinco, seis o siete de vida PT₅, PT₆, PT₇). Las flechas (↑ o ↓) indican incremento o disminución respectivamente. Noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT), hipotálamo (H), hipotálamo anterior (HA), medio (HM), hormona liberadora de la gonadotropinas (GnRH), hormona luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH), progesterona (P) y 17β-estradiol (E₂), atresia folicular (AF).

HIPOTÁLAMO

Neurotransmisores

	P ₄ +PT ₅	P ₅ +PT ₆	P ₅ +PT ₇
NA	↑ HA	↑ HA, HM	—
DA	↑ HA, HM	—	—
5-HT	↑ HM	↓ HM	↓ HM

HIPÓFISIS

LH	↑	—	↓
FSH	↑	—	—

OVARIO

Esteroidogénesis

P	↑	↓	—
E ₂	↑	—	—
AF	↓	↑	↑

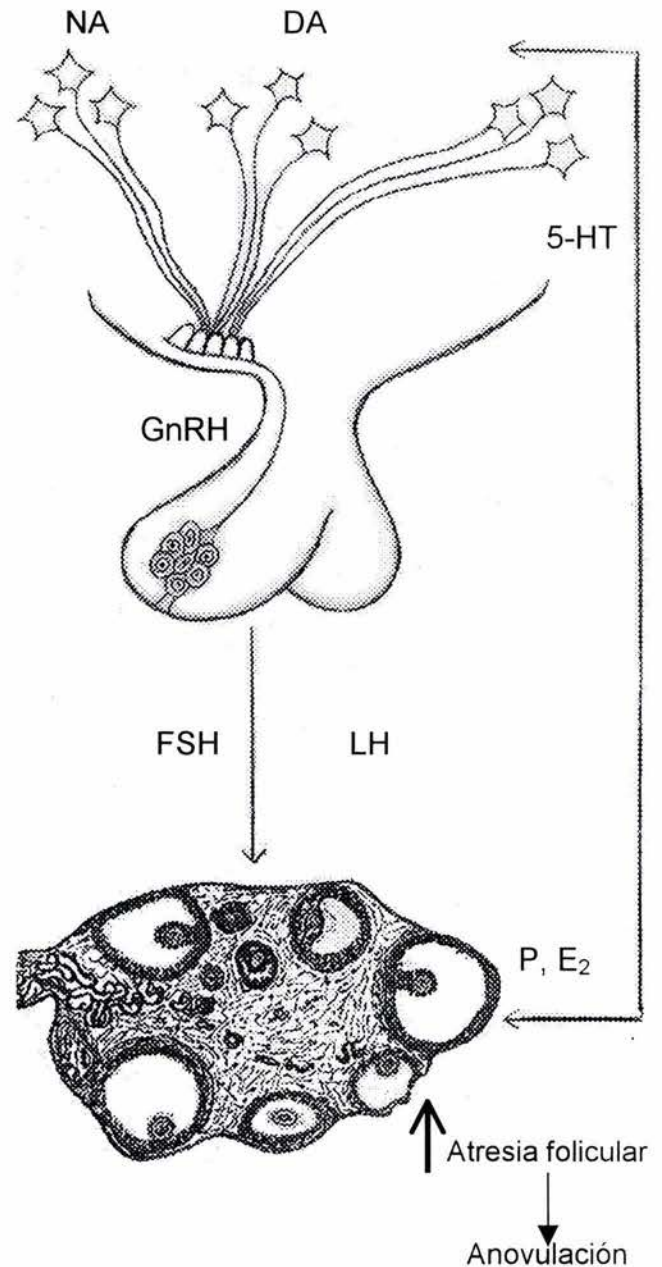


Figura 20. Eventos que suceden en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, en la rata hembra adulta tratada con progesterona (P) más propionato de testosterona (PT) en la etapa neonatal. Las flechas (↑ o ↓) indican incremento o disminución respectivamente. Noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT), hipotálamo anterior (HA), medio (HM), hormona liberadora de la gonadotropinas (GnRH), hormona luteinizante (LH), foliculo estimulante (FSH), progesterona (P) y 17β-estradiol (E₂), atresia folicular (AF).

CONCLUSIONES

1. Durante la etapa neonatal los andrógenos participan en la diferenciación sexual de los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas.
2. La administración de andrógenos durante la etapa neonatal modifica la actividad del sistema noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico del hipotálamo en la etapa adulta.
3. Los cambios en la actividad de los sistemas monoaminérgicos inducidos por la administración de andrógenos son los responsables de la masculinización de los centros que regulan la secreción de las gonadotropinas.
4. La administración de andrógenos en la etapa neonatal modifica la secreción de las gonadotropinas y las funciones del ovario.
5. La progesterona administrada en el día cuatro protege parcialmente al hipotálamo de los efectos masculinizantes de los andrógenos.
6. La progesterona administrada en el día cinco potencia los efectos masculinizantes de los andrógenos en los centros hipotalámicos

BIBLIOGRAFÍA

1. Arrieta I., Díaz LB., Morales T., Mendoza L., Morimoto S., Moreno N. (2003) Progesterone receptor gene and protein expression in the anterior preoptic area and hypothalamus of defeminized rats. *Journal of Neurobiology*, 56; 338-346.
2. Audesirk TG., Audesirk G. (1996). *Biology. Life on Earth. Fourth Edition.* Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey. USA. p. 772.
3. Azmitia EC, Whitaker-Azmitia. (2000). Development and adult plasticity of serotonergic neurons, En: **Serotonergic neurons and 5-HT receptor in the CNS.** (eds) Baumgarten HG., Gothert M. Springer-Verlag Berlin Herdelberg. pp. 2-22.
4. Barraclough CA. (1983). The role of catecholamines in regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphologica Hungaricae*, 31; 101-106.
5. Barraclough CA., Gorski RA. (1961). Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. *Endocrinology*, 68; 68-79.
6. Barraclough CA., Ladkingland KJ., Wise PM, (1984). Role of the hypothalamic noradrenergic system in sexual differentiation of the brain. En: **Sexual Differentiation: Basic and Clinical Aspects**, (eds.) Serio MM., Motta M., Zanisi M., Martini L. Raven Press New York pp 99-106.
7. Baumgarten HG., Grozdanovic Z. (1999). Anatomy of central Serotoninegic Projection Systems. En: **Primer on the Autonomic Nervous System.** pp. 43-51
8. Bradbury JT. (1941). Permanent after-effects following masculinization of the infantile female rat. *Endocrinology*, 28; 101-106.

9. Brown ER. (1994). Neurotransmitters. En: **An introduction to Neuroendocrinology**. Cambridge University Press. pp. 56-87.
10. Bukovsky A., Ayala ME., Domínguez R., Keenan JA., Wimalasena J., Mc Kenzie PP., Caudle MR. (2000). Postnatal androgenization induces premature aging rat ovaries. *Steroids*, 65; 190-205.
11. Bukovsky A., Presl J., Krabec Z. (1979). Effects of postnatal progesterone treatment on ovarian function in adult rats. *Experientia*, 35; 562-563.
12. Bustamente 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.
13. Byskov AG. (1978). Follicular Atresia. En: **The Vertebrate Ovary**. (eds.) RE. Jones. Plenum Press. New York. pp. 533-561.
14. Cagnoni M., Fantini F., Morace G., Ghetti A. (1965). Failure of testosterone propionate to induce the "early-androgen" syndrome in rats previously injected with progesterone. *The Journal of Endocrinology*, 33; 527-528.
15. Carlson BM. (1999). *Human Embryology & Developmental Biology*, Second Edition. Mosby. U.S.A. pp. 494.
16. Centola GM. (1983). Atresia. En: **The Ovary. Structural Changes**. (ed.) GB. Serra. *Comprehensive Endocrinology*. (ed. gral.) L. Martini. Raven Press New York. pp. 113-120.
17. Copenhaver WM., Kelly QE., Wood RL. (1985). *Tratado de histología*. 17ª edición. Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México. pp. 779.

18. Crowley WR., Zelman FP. (1981). Neurotransmitter systems: Anatomy and Pharmacology. En: **Neuroendocrinology of Reproduction, Physiology and Behavior**. (ed.) N.T. Adler. Plenum Press, New York. pp. 65-84 .
19. Daniell JF. (1991). Surgical management of polycystic ovarian disease. En **Ovulation induction**. (ed.) RL. Collins. Springer – Verlag, New York. pp. 145-152.
20. Demarest KT., McKay DW., Dura NJ., Riegler GD., Moore KE. (1981). Sexual differences in tuberoinfundibular dopamine nerve activity induced by neonatal androgen exposure. *Neuroendocrinology*, 32; 108-113.
21. De Vries GJ., Buijs RM., Van Leeuwen FW. (1984). Sex differences in vasopressin and other neurotransmitter systems in the brain. En G.J. de Vries y col. (eds.), op cit., pp. 185-203.
22. Dibner M.D. y Black IB (1976). Elevation of sympathetic ganglion tyrosine hydroxylase activity in neonatal and adult rats by testosterone treatment. *Journal of Neurochemistry*, 27; 323-324.
23. Döhler KD. (1991). The pre-and postnatal influence of hormones and neurotransmitters on sexual differentiation of the mammalian hypothalamus. *International Review of Cytology*, 131; 1-55.
24. Domínguez R., Chávez R., Cruz ME. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: **Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción**. (ed.) R. Domínguez. UNAM-PORRUA, México, pp 102-161.
25. Donath J., Nishino Y., Schulz T., Michna H. (2000). The antiovarian potential of progesterone correlates with a down-regulation of progesterone receptors in the hypothalamus, pituitary and ovaries. *Anatomischer Anzeiger*, 182;143-150.

26. Fawcett DW. (1995). Tratado de Histología. 12 ed. McGraw Hill. Interamericana. Madrid. pp. 885.
27. Fink G. (2000). Neuroendocrine Regulation of Pituitary Function. General Principles. En: **Neuroendocrinology in Physiology and Medicine**. (eds.) PM. Conn, ME. Freeman; Human Press, Totowa New Jersey, pp. 109-145.
28. Fink G., Sumner BE., Rosie R., Grace O., Quinn JP. (1996), Estrogen control of central neurotransmission: effects on mood, mental state and memory. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 16; 325-344.
29. Frazer A., Hensler JG. (1994). Serotonin. En: **Basic Neurochemistry**. (eds.) GJ. Siegel, BW. Agronoff, RW. Albers, PB. Molinoff. Raven Press New York, pp. 238-319.
30. Gerardin DC., Pereira O. (2002). Reproductive changes in male rats treated perinatally with on aromatase inhibitor. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71; 309-313.
31. Gore-Langton RE., Armstrong T. (1994). Follicular Steroidogenesis and its Control. En: **The Physiology or Reproduction**. (eds.) E. Knobil, JD. Neill. Raven Press, New York. pp. 571-627.
32. Gorski RA. (1963). Modification of ovulatory mechanism by postnatal administration of estrogen to the rat. *The American Journal of Physiology*, 205; 842-844.
33. Gorski RA. (1973). Perinatal effects of sex steroids on brain development and function. *Progress in Brain Research*, 30; 149-163.

34. Gorski RA. (1990). Sexual differentiation of the brain. Comparative aspects. En: **Control of the onset of Puberty.** (eds.) M.M. Grambach, P.C. Sizonenko; M.L. Aubert. Baltimore, Maryland, U.S.A. pp 231-250.
35. Goy RW., Mc Ewen BS. (1980). Sex differences in behavior: rodents, birds and primates. En: **Sexual Differentiation of the Brain.** (eds) RW. Goy, BS. Mc Ewen, The MIT Press Massachu-setts. pp. 13-73.
36. Greenwald GS., Shyamal RK. (1994). Follicular development and its control. En: **The Physiology of Reproduction.** (eds.) E. Knobil, J. Neill. Raven Press, New York. pp. 629-724.
37. Hiemke C., Ghraf R. (1982). Effects of Short-Term Exposure to Catecholestrogens on Catecholamine Turnover in the Preoptic-Hypothalamic Brain of Ovariectomized Rats. *Brain Research*, 240; 294-301.
38. Jacobs BL., (2000). Physiology and pharmacology of brain serotonergic neurons. En: **Serotonergic neurons and 5-HT receptor in the CNS.** (eds) HG. Baumgarten, M. Gothert. Springer-Verlag, Berlin Herdelberg. pp. 91-108.
39. Joh TH. (2000). Tryptophan hydroxylase: Molecular biology and regulation. En: **Serotonergic neurons and 5-HT receptor in the CNS.** (eds) HG. Baumgarten, M. Gothert. Springer-Verlag, Berlin Herdelberg pp. 117-126.
40. Jones HM., Vernon MW., Rush ME. (1987). Systematic studies invalidate the neonatally androgenized rat as a model for polycystic ovary disease. *Biology of Reproduction*, 36; 1253-65.
41. Kawata M., Yuri K., Morimoto M. (1994). Steroid hormone effects on gene expression neuronal structure and differentiation. *Hormones and Behavior*, 28; 477-482.

42. Kawashima S., Takagi K. (1994). Role of sex steroids on the survival neuritic outgrowth of neurons and dopamine neurons in cultured preoptic area and hypothalamus. *Hormones and Behavior*, 28; 305-312.
43. Kenigsberg D., Collins RL. (1990). "Pulsatile" Gonadotropin-Releasing Hormone for Ovulation Induction. En: **Ovulation Induction**. (eds.) RL. Collins, S. Verlag, New York, Inc. pp. 92-99.
44. Kopin IJ. (1996). Dopaminergic Neurotransmission. En: **Primer on the Autonomic Nervous System**. (eds.) D. Robertson, PA. Low, R.J. Polinsky. Academic. San Diego. pp. 87-91.
45. Kordón C., Crouvas SV., Martínez De la Escalera G., Weiner RI. (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. En: **The Physiology of Reproduction**. Second edition. (eds.) E. Knobil, JD. Neill. Raven Press. New York. pp. 1621-1681.
46. Krause WJ., Cutts JH. (1984). *Histología*. Editorial Médica Panamericana, S. A. Buenos Aires, Argentina. pp. 434.
47. Leeson TS., Leeson CR., Paparo AA. (1990). *Texto y Atlas de Histología*. Ed. Interamericana. McGraw Hill, México, pp. 741.
48. Leret ML., González MI, Tranque P., Fraile A. (1987). Influence of sexual differentiation on striatal and limbic catecholamines. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 86C; 299-303.
49. Lewin S., Mullins R. (1964). Estrogen administered neonatally affects adults sexual behavior in male and female rats. *Science* 144;185-187.

50. Luza SM., Lizama L., Burgos RA., Lara HE. (1995). Hypothalamic changes in norepinephrine release in rats with estradiol valerate – induced polycystic ovaries. *Biology of Reproduction*, 52; 398-404.
51. Malven PV. (2000). Neurotransmitters as regulators of hypothalamic function. En: **Neuroendocrinology in physiology and Medicine**. (eds.) P.M. Conn, M.E. Freeman; Human Press Totowa New Jersey pp. 59-74.
52. Mennin SP., Kubo K., Gorski RA. (1974). Pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing factor in normal and androgenized female rats. *Endocrinology*, 95; 412-416.
53. Moguilevsky JA., Faigon MR., Scacchi P., Szwarcfarb B. (1987). Role of sexual differentiation of the hypothalamus in the differential effect of the serotonergic system on LH in prepuberal male and female rats. *Neuroendocrinology*, 52; 392-398.
54. Morales OA, Ferreira NA, Velázquez MJ. (2001). Diferenciación sexual del sistema nervioso. En: **Biología de la Reproducción**. (ed.) J. Velázquez. UAM, México pp. 1-13.
55. Norden EJ., Yahr P. (1982). Hemispheric asymmetries in the behavioral and hormonal effects of sexually differentiating mammalian brain. *Science*, 218; 391-398.
56. Ojeda SR., Urbanski HF. (1994). Puberty in the rat. En: **The Physiology of Reproduction**. (eds.) E. Knobil, SD. Nelly. Raven Press. New York, pp 363-409.
57. Paulsen DF. (1991). *Histología Básica*. Ed. Manual Moderno. México p 602.
58. Paxinos G., Watson Ch. (1982). *The Rat Brain in stereotaxic coordinates*. Ed. Academic Press.

59. Pfeiffer CA. (1935). Origin of functional differences between male and female hypophyses. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 32; 603-605
60. Pinilla L., Trimiño E., Garnelo P., C Bellido., 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.
61. Quadros PS., López V., De Vries GJ., Chung WC., Wagner CK. (1998). Progesterone receptors and the sexual differentiation of the medial preoptic nucleus. *Journal of Neurobiology*, 51; 24-32.
62. Quadros PS., Pfau JL., Goldstein AY., De Vries GJ., Wagner CK. (2002). Sex differences in progesterone receptor expression: a potential mechanism for estradiol-mediated sexual differentiation. *Endocrinology*, 143; 3727-3739.
63. Resnikov AG., Nosenko ND. (1983). It is Possible that Noradrenergic is the Biogenic Monoamine Responsible for Androgen-Dependent Sexual Brain Differentiation., *Experimental and Clinical Endocrinology*, 81; 91-93.
64. Resko JA. (1974). The relationship Between fetal hormones and the distribution of the central nervous system in primates. En: **Reproductive Behavior**. (eds.) Montagna W., A. Sadler. Plenum Press, New York. pp. 211.
65. Rhoda J., Valens M., Edward DA., Roffi J. (1987). Effect of progesterone on the testosterone and estradiol levels in the hypothalamus of neonatal rats. *Biology of the Neonate*, 51; 255-259.
66. Ross MH., Romrell LJ., Kaye GI. (1995). *Histología Texto y Atlas Color*. 3ª. Edición. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 817.

67. Salve M.L., Amich S., Prieto S., Casas A. (1994). Laboratorio clínico, bioquímica. Editorial Mc Graw-Hill. p. 456.
68. Sandhu S., Cooke P., Diamond MC. (1986). Rat cerebral cortical estrogen receptors: male-female, right-left. *Exp Neurol* , 92; 186-196.
69. Schwartz JH. (2001). Neurotransmisores. En: **Principios de Neurociencia**. (eds). ER. Kandel, JH. Schwartz, TM. Jessell. 4º Edición. McGraw-Hill-Interamericana México, pp 280-296.
70. Shannon NJ., Gunnet JW., Moore KE. (1986). A comparison of biochemical indices of 5-hydroxytryptaminergic neuronal activity following electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus. *Journal of Neurochemistry*, 47; 958-965.
71. Shimara K., Kikyama S., Takeo Y., Shimizu K., MacKawa K. (1976). Influence of monoamine oxidase inhibitor on the induction of persistent estrus by androgen in the rat. *Neuroendocrinology*, 20; 282-287.
72. Simerly RB., Swanson LW., Gorski RA. (1985). The distribution of monoaminergic cells and fibers in a periventricular preoptic nucleus involved in the control of gonadotropin release: Immunohistochemical evidence for a dopaminergic sexual dimorphism. *Brain Research*, 330; 55-64.
73. Spinedi E., Mariani V., Bulfon M, Colombani-Vidal M., Scaglia H. (1990). Análisis of the hypothalamic-pituitary-ovary axis in the neonatally androgenized female rat. *Journal of endocrinological investigation*, 13; 481-488.
74. Stevens A., Lowe J. (1992). Texto y Atlas de Histología. Ed. Mosby / Doyma Libros. España, pp. 378.

75. Tovar BN., Aguirre U., Landeros VJ., Palacios PG. (1984). Análisis de datos y control de calidad en el radioinmunoanálisis. Guía para la evaluación de resultados. Revista de investigación clínica; Órgano del Hospital de Enfermedades de la Nutrición, 36: 179-192.
76. Watts AG., Stanley HF. (1984). Indolamines in the hypothalamus and area of the midbrain raphe nuclei of male and female rats throughout postnatal development. Neuroendocrinology, 38; 461-466
77. Weiner N., Molinoff PB. (1994). Catecholamines. En: Basic Neurochemistry. (edits.) GJ. Siegel, BW. Agronoff, RW. Albers, PB. Molinoff. Raven Press New York. pp. 261-282.
78. Wilson JG., Hamilton JB., Young WC. (1941). Influence of age and presence of the ovaries on reproductive function in rats injected with androgens. Endocrinology, 29; 784-789.



Gracias Dios por brindarme la
oportunidad de experimentar
la felicidad de la vida,
el cariño de mis padres,
la calidez de un hogar,
la compañía de los amigos,
el reconocimiento de mis retractoros,
las tempestades del camino,
el juicio justo de los sabios
y la satisfacción de una meta cumplida.

María Selene

