

INFLUENCIA DEL CICLO ESTRAL Y LA GONADECTOMIA SOBRE LA SINTESIS  
DE PROTEINAS Y ÁCIDOS NUCLEICOS EN ADENOHIPOFISIS, HIPOTALAMO  
Y SISTEMA LIMBICO DE LA RATA.

560863  
184710

Memoria para aspirar al Grado de Doctor  
Lcdo. Juan Carlos Díaz Chico.

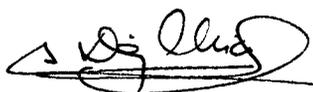
BONIFACIO N. DIAZ CHICO, DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y JEFE  
DEL DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA DE LA DIVISION DE MEDICINA DEL  
COLEGIO UNIVERSITARIO DE LAS PALMAS -----

CERTIFICA:

Que D. Juan Carlos Díaz Chico, Licenciado en Cien--  
cias Biológicas y Profesor Ayudante de Bioquímica del Colegio  
Universitario de Las Palmas (División de Medicina) ha realizado  
do los trabajos que han conducido a la Memoria "INFLUENCIA =  
DEL CICLO ESTRAL Y LA GONAECTOMIA SOBRE LA SINTESIS DE PRO--  
TEINAS Y ACIDOS NUCLEICOS EN ADENOHIPOFISIS, HIPOTALAMO Y SISTE  
TEMA LIMBICO DE LA RATA", en el Departamento de Fisiología y  
Bioquímica de este Centro bajo mi dirección.

Para que conste, expido el presente Certificado en  
Las Palmas de Gran Canaria, a treinta de Abril de mil nove---  
cientos ochenta y tres.

FDO.-



ENRIQUE MELENDEZ HEVIA, CATEDRATICO DE BIOQUIMICA  
DE LA FACULTAD DE BIOLOGIA DE LA UNIVERSIDAD DE =  
LA LAGUNA -----

CERTIFICA:

Que ha revisado la presente Memoria, ==  
considerando que cumple los requisitos necesarios  
para que pueda ser presentada como Tesis Doctoral.

Para que conste, expido el presente Cer\_  
tificado en La Laguna, a dieciseis de Mayo de mil  
novecientos ochenta y tres.

FDO.-

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Enrique Hevia', with a horizontal line extending to the right from the end of the signature.

A Luisa, Nayra,  
Videlia y Teodoro

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. D. Bonifacio Díaz Chico por su dirección, constante estímulo y apoyo, indispensables para la realización de este trabajo.

A D. Angel Gonzalez Rivero y D. Juan Rivero Baez, Técnicos de Laboratorio, por la gran ayuda prestada en la realización práctica del presente trabajo.

A Dña. Julia Suárez y Bravo de Laguna y Dña. Margarita Bartolomé = Gironella, por su excelente labor mecanográfica.

A D. Manuel Priego López por su colaboración en el trabajo gráfico.

A todos mis compañeros de Departamento, que de una forma u otra == han participado en su elaboración.

Mi especial agradecimiento a D. Enrique Meléndez Hevia, Catedrático de Bioquímica de la Facultad de Biología de la Universidad de La Laguna, por su aportación crítica y su gentileza al aceptar la ponencia de esta Tesis Doctoral.

# I N D I C E

	Pág.N°
1.- <u>INTRODUCCION</u> . . . . .	1
1.1.- Nociones Generales . . . . .	2
1.2.- Modo de acción de las hormonas esteroideas . . . . .	5
1.3.- Respuesta celular a las hormonas esteroideas . . . . .	10
1.4.- Modo de acción de las hormonas polipeptídicas . . . . .	20
1.5.- Respuesta celular a las hormonas polipeptídicas . . . . .	27
1.6.- El Ciclo Estral . . . . .	34
1.7.- La Castración . . . . .	44
1.8.- Planteamiento y justificación del trabajo . . . . .	49
2.- <u>MATERIAL Y METODOS</u> . . . . .	51
2.1.- Animales . . . . .	52
2.1.1.- Control del ciclo estral . . . . .	52
2.1.2.- Castración . . . . .	52
2.2.- Procedimiento Experimental . . . . .	55
2.2.1.- Obtención de las áreas cerebrales . . . . .	55
2.2.2.- Incubación . . . . .	58
2.2.3.- Fraccionamiento de los tejidos . . . . .	58
2.3.- Determinaciones bioquímicas . . . . .	61
2.3.1.- Incorporación de precursores marcados . . . . .	61
2.3.2.- Concentración de DNA . . . . .	61
2.3.3.- Concentración de RNA . . . . .	62
2.3.4.- Concentración de Proteínas . . . . .	62
2.4.- Estadística . . . . .	64
2.5.- Reactivos . . . . .	65
2.5.1.- Solución KRCP Tamponada (pH=7.4) . . . . .	65

2.5.2.- Precursores Marcados . . . . .	65
2.5.3.- Composición del Líquido de Centelleo . . . . .	66
2.5.4.- Reactivo de Orcinol . . . . .	66
2.5.5.- Reactivo de Difenilamina . . . . .	66
2.6.6.- Reactivo Cupro-Alcalino . . . . .	66
2.6.- Verificación de la Metodología empleada . . . . .	67
2.6.1.- Condiciones de incubación . . . . .	67
2.6.2.- Fraccionamiento celular . . . . .	67
2.6.3.- Incorporación de precursores marcados . . . . .	72
2.6.4.- Determinación de la Concentración de DNA . . . . .	76
2.6.5.- Determinación de la Concentración de RNA . . . . .	78
2.6.6.- Determinación de la Concentración de Proteínas . . . . .	79
3.- <u>RESULTADOS</u> . . . . .	83
3.1.- Corteza cerebral . . . . .	84
3.1.1.- Corteza cerebral de ratas hembra . . . . .	85
3.1.2.- Corteza cerebral de ratas macho . . . . .	98
3.2.- Adenohipófisis . . . . .	109
3.2.1.- Adenohipófisis de ratas hembra . . . . .	110
3.2.2.- Adenohipófisis de ratas macho . . . . .	132
3.3.- Hipotálamo . . . . .	151
3.3.1.- Hipotálamo de ratas hembra . . . . .	152
3.3.2.- Hipotálamo de ratas macho . . . . .	166
3.4.- Amígdala cerebral . . . . .	178
3.4.1.- Amígdala de ratas hembra . . . . .	179
3.4.2.- Amígdala de ratas macho . . . . .	192
3.5.- Hipocampo . . . . .	204
3.5.1.- Hipocampo de ratas hembra . . . . .	205
3.5.2.- Hipocampo de ratas macho . . . . .	218
4.- <u>DISCUSION</u> . . . . .	229

4.1.- Corteza Cerebral . . . . .	230
4.2.- Adenohipófisis . . . . .	232
4.2.1.- Adenohipófisis de ratas hembra . . . . .	233
A) Ciclo Estral . . . . .	233
B) Castración . . . . .	241
4.2.2.- Adenohipófisis de ratas macho . . . . .	244
4.2.3.- Visión global del metabolismo en la Adenohipófisis	247
4.3.- Hipotálamo . . . . .	250
4.3.1.- Hipotálamo de ratas hembra . . . . .	251
A) Ciclo Estral . . . . .	251
B) Castración . . . . .	254
4.3.2.- Hipotálamo de ratas macho . . . . .	256
4.4.- Sistema Límbico . . . . .	258
4.4.1.- Amígdala Cerebral . . . . .	259
A) Ratas hembra . . . . .	259
B) Ratas macho . . . . .	260
4.4.2.- Hipocampo . . . . .	262
A) Ratas hembra . . . . .	262
B) Ratas macho . . . . .	263
4.4.3.- Visión global del metabolismo en el Sistema Límbico	264
5.- <u>CONCLUSIONES</u> . . . . .	266
6.- <u>BIBLIOGRAFIA</u> . . . . .	271

## 1.- INTRODUCCION

### 1.1.- NOCIONES GENERALES .-

Las gónadas, adenohipófisis, hipotálamo y distintas áreas del sistema nervioso central (SNC) son las estructuras implicadas en la función reproductora de la rata adulta.

Las gónadas en el animal maduro desarrollan dos funciones: la producción de gametos y la síntesis y secreción de hormonas esteroideas: 17-beta estradiol y progesterona en la hembra y testosterona en el macho, principalmente. Ambos procesos requieren la intervención de las gonadotrofinas y las propias hormonas esteroideas.

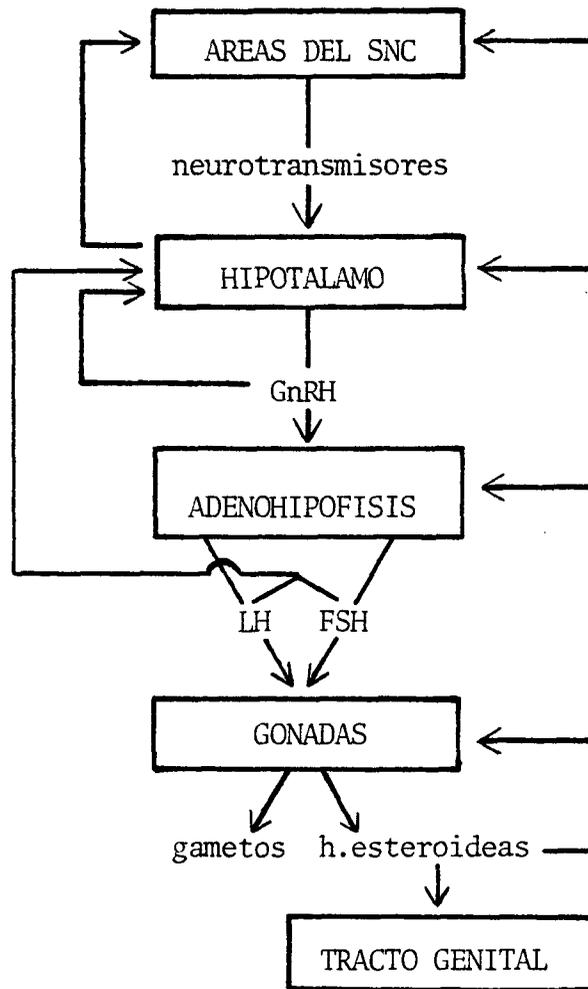
La adenohipófisis elabora y libera a la circulación sistémica diversas hormonas polipeptídicas, estando entre ellas las dos gonadotrofinas: hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) y la prolactina (Pr1). La actividad gonadotrófica de esta glándula se halla bajo el control de la hormona liberadora de gonadotrofinas (GnRH), las hormonas esteroideas gonadales y, posiblemente, las mismas gonadotrofinas.

El hipotálamo produce y secreta al sistema porta, entre otros neuropéptidos, a la GnRH. Su participación en el eje sexual está regulada por diversas áreas del SNC, por las hormonas esteroideas gonadales, por las gonadotrofinas y, probablemente, por la GnRH.

Las áreas extrahipotalámicas del SNC, principalmente el sistema límbico, intervienen influenciando la actuación hipotalámica. Ellas, a su vez, están controladas por las hormonas esteroideas y, tal vez, por el hipotálamo.

Visto en su conjunto, el sistema reproductor se muestra como una compleja maquinaria en la que sus componentes se interfieren coordinando su acción a través de señales hormonales y nerviosas precisas (vease Cuadro n°1).

CUADRO N° 1



Esquema de las conexiones hormonales y nerviosas que regulan y coordinan la actuación de los distintos = componentes del sistema reproductor de la rata adulta.

En las últimas décadas se ha producido un notable avance en el conocimiento de la operatividad del sistema en lo que respecta a los mecanismos que regulan la función de las distintas estructuras que lo componen y al modo de participación de cada una de ellas. Ello se ha tipificado, más bien, en la relación dosis ó título plasmático (o en el medio) de la (s)= hormona (s)-respuesta ó liberación hormonal/actividad eléctrica. Sin embargo, la naturaleza precisa de las transformaciones metabólicas que subyacen en la manifestación de estos fenómenos dista mucho de ser la necesaria.

La falta de información acerca de las transformaciones que experimenta el metabolismo de los ácidos nucleicos y proteínas en las estructuras que intervienen en el control de la función gonadal, esto es, en el adenohipófisis, hipotálamo y áreas extrahipotalámicas del SNC, es de particular trascendencia dada la naturaleza peptídica de parte de las hormonas participantes y los procesos celulares que parecen ser afectados por la acción de las hormonas tanto esteroideas como polipeptídicas.

En los siguientes apartados, al objeto de profundizar en esta problemática, se analizará la información disponible sobre el mecanismo de acción de las hormonas esteroideas y polipeptídicas y la respuesta de los tejidos diana, el funcionamiento del sistema reproductor en la rata hembra adulta y el efecto que la castración ejerce sobre los componentes del sistema, tanto en hembras como en machos.

## 1.2.- MODO DE ACCION DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS .-

Para las tres hormonas esteroideas gonadales que tienen una intervención más decisiva en la función reproductora de la rata ha sido propuesto un mecanismo similar de actuación sobre sus tejidos diana (JENSEN y DESOMBRE (126), CHANG y O'MALLEY (49), MAINWARING (180), CHAN y TINDALL (48), KING y MAINWARING (148)).

Tras ser sintetizadas y secretadas por las gónadas: el 17-beta estradiol y la progesterona por las células de la granulosa del ovario (RICHARD (224) y la testosterona por las células de Leydig del testículo (DORRINGTON (64)), las hormonas debido a su escasa solubilidad en el medio acuoso circulan en el plasma asociadas, en su mayor parte (alrededor de un 90%), a la albúmina y a otras proteínas del mismo (KING y MAINWARING (148)).

La albúmina se une débil ( $K_d=10^{-5}M$ ) e inespecíficamente a los tres esteroideos, si bien posee una gran capacidad de captación de los mismos. Debido a su elevada concentración plasmática es la proteína que transporta la mayor cantidad de hormona circulante.

Las otras proteínas muestran menor capacidad que la albúmina pero su unión tiene mayor especificidad y afinidad ( $K_d$  del orden de  $10^{-6}$  a  $10^{-9}M$ ) (MERCIER y Col. (194)). Una idea de esta alta especificidad la da, por ejemplo, la EBP (Estradiol Binding Protein), que se une al estradiol y a la estrona y no reconoce a la testosterona ni a la 5-alfa dihidrotestosterona.

Del esteroide circulante el que tiene actividad biológica es el que se halla en estado libre. Dado el permanente equilibrio existente entre las formas libre y asociada, se ha sugerido que las proteínas plasmáticas pueden tener alguna función en la acción hormonal influenciando la cantidad de hormona 'activa' disponible por las células. Este hecho cobra más re-

lieve si se tiene presente que los tejidos diana, pese a los casos de metabolización hormonal detectados en algunos de ellos, no parecen tener una influencia significativa en los niveles plasmáticos de las hormonas.

Aunque su papel no ha sido establecido con claridad, es ampliamente aceptada la propuesta de RAYNAUD (223) y ALBERGA y BAULIEU ( 5 ), en el sentido de que las proteínas plasmáticas constituyen un reservorio hormonal que asegura el abastecimiento a los tejidos en caso de verse incrementada la demanda y/o sirven de amortiguadores que protegen a las células de un aporte hormonal excesivo.

El mecanismo íntimo del proceso de entrada del esteroide en las células no es bien conocido. Es sabido, no obstante, que la membrana celular no representa obstáculo alguno para que la sustancia de naturaleza lipídica como estas hormonas difundan a su interior.

JENSEN y JACOBSON (123), PECK y Col. (214) y MILGROM y Col. (196), entre otros, han aportado pruebas en favor de esta difusión pasiva y MULLER y Col. (205) experimentando con membranas purificadas fueron incapaces de probar la existencia de transportadores. A pesar de las evidencias disponibles, algunos autores han señalado, sin embargo, que no se debe descartar totalmente la posibilidad de un transporte mediado por proteínas (205).

Si se trata del tejido diana, el esteroide, una vez en el interior de la célula, es captado rápidamente por un componente proteico citosólico: el receptor.

En el caso de la testosterona se sabe que, excepcionalmente, buena parte de sus efectos sobre distintos órganos diana están condicionados a la unión con el receptor de la 5-alfa dihidrotestosterona, un derivado reducido del andrógeno (MOTTA y Col. (203)).

En los centros de control superior de la función reproductora, donde =

las etapas del mecanismo de acción intracelular de estas hormonas son menos conocidas, se ha encontrado, igualmente, que además de la testosterona los otros esteroides pueden ser transformados en distintos derivados = previa a su unión al receptor (KARAVOLAS y NUTI (139), JOUAN y SAMPEREZ = (128), FISHMAN (82)). Se ha sugerido que este hecho constituye, posiblemente, un factor adicional de control de la respuesta celular, aunque su = significado real es desconocido.

La unión hormona-receptor, que sigue una cinética análoga a la de los enzimas michaelianos, es de gran especificidad (el receptor para el estradiol distingue entre los estereoisómeros 17-alfa y 17-beta) y afinidad = (Kd del orden de  $10^{-9}$ - $10^{-10}$ M). El receptor por otro lado, tiene una limitada capacidad de captación del esteroide.

La formación del complejo esteroide-receptor comporta un cambio en las características del receptor, probablemente una alteración de su conformación (BAILLY y Col. (17), MILGROM (196)), que modifica algunas de sus = propiedades como son su coeficiente de sedimentación y su nucleofilia.

El amplio debate abierto sobre la naturaleza de este proceso de "activación" del receptor (JENSEN (126) y MULDOON (204)) excede de todas formas de los objetivos propuestos en este trabajo.

Una vez activado, el complejo hormona-receptor es traslocado al núcleo= donde se une específicamente a algún componente de la cromatina.

Numerosas investigaciones se han desarrollado con el propósito de descubrir la identidad química de los receptores nucleares o lugares de la = cromatina a los que se une el complejo esteroide-receptor. De los trabajos de O'MALLEY y MEANS (212), YAMAMOTO y ALBERT (295), SPELBERG (253) y ROCHEFORT y Col. (227), entre otros, se desprende que las nucleoproteínas acídicas, más que las histonas ó el DNA, constituyen el componente más im= portante de la unión. Con estas proteínas la cromatina adquiere dos carac=

terísticas imprescindibles para que su interacción con el complejo esteroide-receptor se traduzca en una respuesta celular adecuada: la especificidad y la capacidad de retención del mismo.

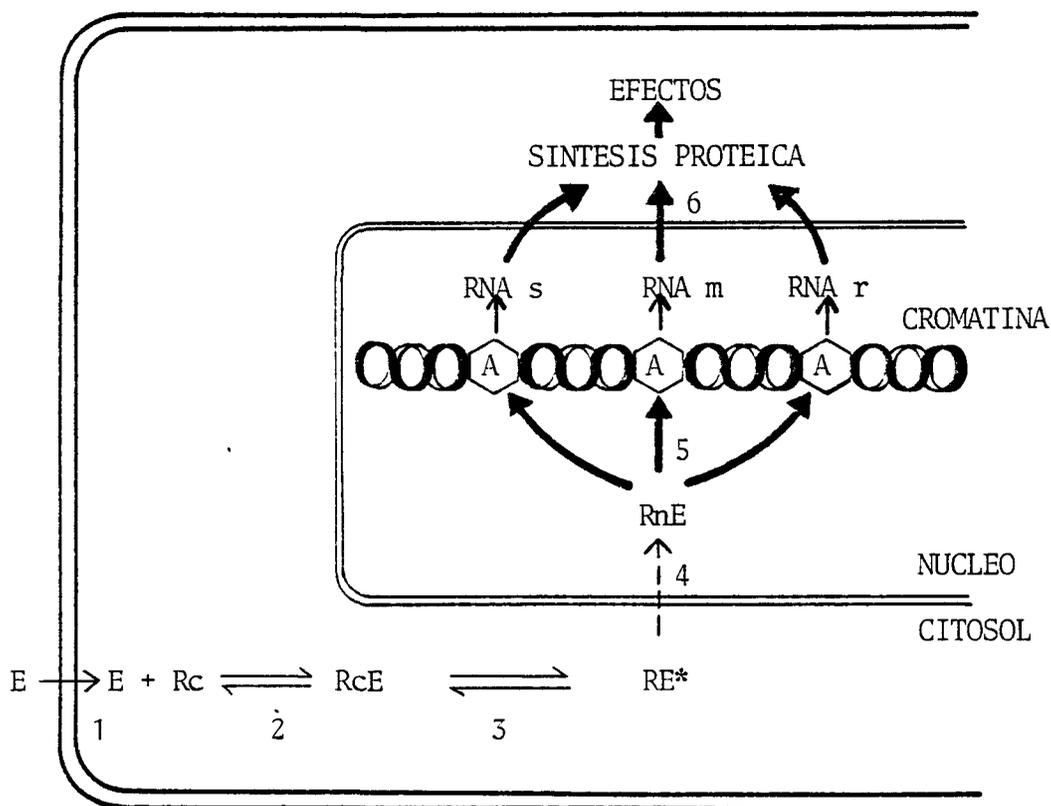
No hay acuerdo acerca de si todas las uniones del complejo a los aceptores son activas, hipótesis avalada por los resultados obtenidos por VIC y Col. (282, 283) y LEROY y Col. (166), quienes observaron que buena parte de la cromatina se ve afectada por la acción hormonal, o si son solo unas pocas (las uniones a los efectores) las operativas, tal y como han propuesto CLARK y PECK (35) y WESTLEY y ROCHEFORT (289) al demostrar que un número limitado de uniones de larga duración son las que están implicadas en la respuesta celular.

En cualquier caso, sea a través de su unión a los aceptores o a los efectores, parece evidente que el complejo esteroide-receptor puede alterar de algún modo la capacidad "template" de la cromatina, lo que se traduce en un incremento o disminución de la actividad de las RNA polimerasas involucradas en la transcripción de la información genética (CHAN y O'MALLEY (49), GORSKI y GANNON (96), JENSEN y DESOMBRE (126)). Alternativamente el complejo hormona-receptor podría, igualmente, actuar como afectar enzimas que modifican covalentemente las proteínas de la cromatina a través de reacciones tales como fosforilación, ADP-ribosilación o acetilación. Las proteínas de la cromatina así transformadas pueden alterar la actividad o accesibilidad al DNA de los enzimas envueltos en la transcripción genética (YAMAMOTO y ALBERTS (295)).

Como consecuencia de estos cambios inducidos por la hormona en la actividad genómica de la célula diana, el contenido de ésta en RNA y proteínas se ve afectado cualitativamente y cuantitativamente, lo que constituye o en lo que se sustente buena parte de la respuesta celular.

El Cuadro n° 2 muestra esquemáticamente las distintas etapas que componen el mecanismo de acción de las hormonas esteroideas.

CUADRO N° 2



ESQUEMA DEL MODO DE ACCION INTRACELULAR DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS.

- 1.- Entrada del estradiol en la célula.
- 2.- Formación del complejo estradiol-receptor citosólico.
- 3.- Activación del complejo estradiol-receptor.
- 4.- Translocación del complejo estradiol-receptor activado al núcleo.
- 5.- Fijación del complejo a los lugares aceptores cromatínicos.
- 6.- Producción de efectos a través de la activación del genoma.

### 1.3.- RESPUESTA CELULAR A LAS HORMONAS ESTEROIDEAS .-

Los órganos diana de las hormonas esteroideas gonadales son numerosos y el grado de control que dichas hormonas ejercen sobre ellos es bastante variable.

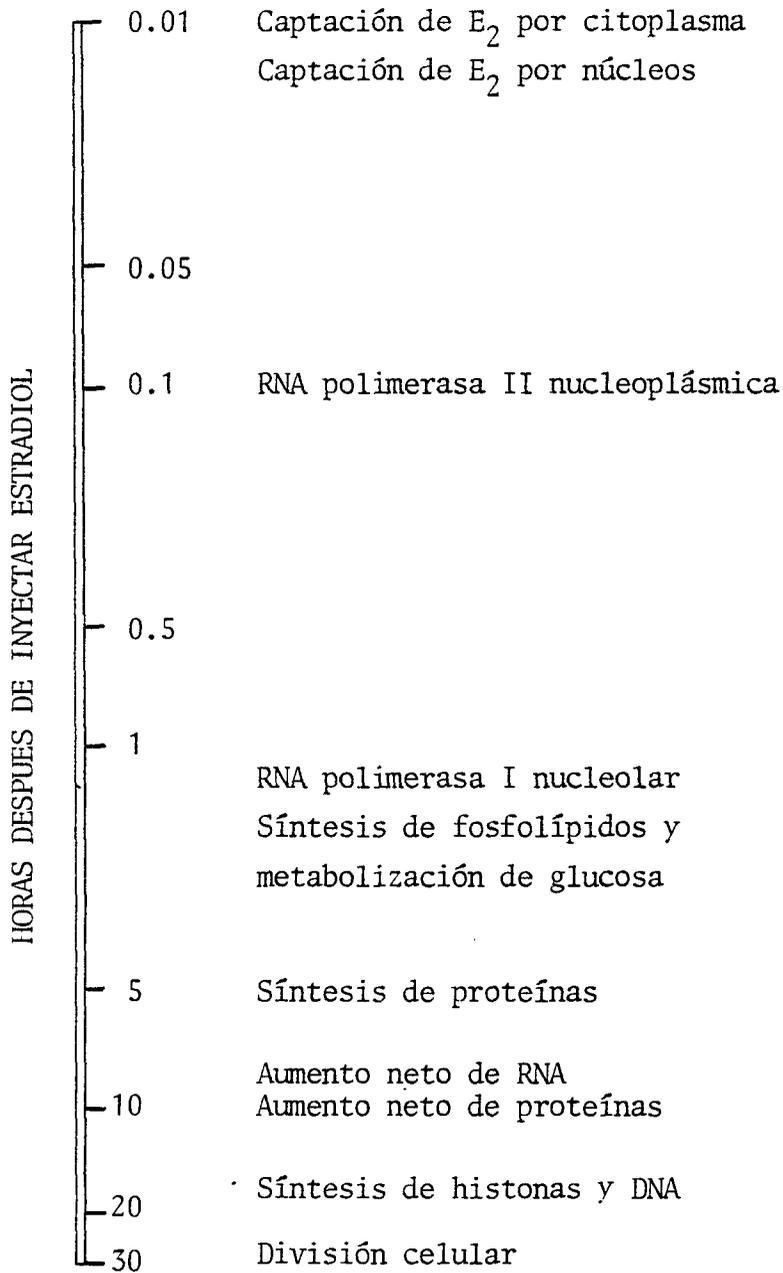
Estudios autorradiográficos realizados "in vivo" con  $^3\text{H}$ -esteroides por PFAFF (215), STUMPF y Col. (265, 266) y McEWEN (185, 186), entre otros, han permitido trazar un mapa topográfico de los órganos que acumulan estas hormonas en la rata.

Con variable intensidad todos los órganos implicados en la actividad reproductiva retienen a los tres esteroides. La mayor capacidad de concentración la presentan las estructuras accesorias del tracto genital y en un sentido decreciente se sitúan la adenohipófisis, gónadas, hipotálamo y áreas extrahipotalámicas del SNC.

Los sistemas de respuesta mejor conocidos son el útero de rata impúber o madura ovariectomizada para el estradiol, el oviducto inmaduro de pollo para la progesterona y el estradiol y la próstata de rata orquidectomizada para la testosterona.

Tomando como prototipo el útero de ratas prepúberes, el Cuadro n° 3 resume la secuencia temporal de sucesos que se manifiestan en él después de la administración de una dosis fisiológica de estradiol. El cuadro muestra también en buena medida, los efectos que son inducidos por el estradiol en este órgano durante la fase proliferativa (días del diestro y proestro) del ciclo estral de la rata hembra adulta.

Sin pretender realizar un análisis pormenorizado de la sucesión de eventos desencadenados por la hormona, conviene resaltar que la mayoría de ellos, si no todos, derivan del aumento de la capacidad "template" de la cromatina para la síntesis de RNA que sigue a la rápida aparición del

CUADRO N° 3

RESPUESTA DEL UTERO DE RATAS PREPUBERES A LA ADMINISTRACION DE ESTRADIOL (Modificado de Katznellobogen y Col. (141)).

estradiol en el núcleo (TENG y HAMILTON (270), KATZENELLENBOGEN y Col. = (141)).

Esta influencia del estrógeno sobre la actividad genómica se refleja = igualmente en los incrementos observados en las actividades de las RNA po= limerasas I y II que gobiernan, respectivamente, la síntesis de los RNAs= mensajero y ribosómico (COURVELIN y Col. (43)).

Un aumento en el contenido de RNA es significativo entre las 8 y 12 ho= ras después de la administración de la hormona.

La síntesis de proteínas es activada entre las 2 y 4 horas y un incre= mento del contenido proteico neto se observa sobre las 10 horas.

Un aumento en el contenido de DNA y en la síntesis de histona se hace= patente hacia las 18 horas, mientras que la división celular comienza a = detectarse después de las 24 horas (STORMSHAK y Col. (264)).

Junto a estos cambios, alteraciones en el metabolismo glucídico y li= pídico se hacen también evidentes (SMITH y GORSKI (248), SPOONER y GORSKI (257)).

El estradiol produce, pues, en el útero un incremento de todas sus ac= tividades metabólicas, entre las que sobresalen la estimulación de la sín= tesis y el aumento en el contenido de RNA, proteínas y DNA, que conducen, finalmente, a la hipertrofia, hiperplasia y maduración de este órgano.

Otros efectos más específicos tales como la alteración de diferentes = tipos de RNA y proteínas uterinas han sido igualmente referidos (AZID y KNOWLER (15), SKIPPER y Col. (247)).

Unos componentes de respuesta análogos a los comentados han sido tam= bién referidos para la próstata de rata orquidectomizada después de la = administración de testosterona (MINGUELL y SIERRALTA (198)) y para el == oviducto de pollo tras el tratamiento con estradiol o progesterona (O'MA= LLEY y Col. (211)).

En el caso del oviducto de pollo, dos son los factores que contribuyen más decisivamente en configurar los efectos inducidos: la clase de hormona empleada y el estado de diferenciación celular. Junto a ellos, la cuantía de la dosis administrada, el número de aplicaciones y el posible uso combinado de los esteroides completan el cuadro de circunstancias que delimitan las características de las respuestas observadas (49 ).

En el caso de los centros superiores que controlan la actividad gonadal, donde los efectos de la acción hormonal son menos conocidos, la respuesta aparece condicionada, además de por las circunstancias antes mencionadas, por la eventual participación de otros reguladores hormonales = y/o nerviosos. Si a esto unimos la estrecha interdependencia existente entre estas estructuras, resulta comprensible la gran dificultad en conocer de modo preciso y detallado las consecuencias derivadas de la actuación = "in vivo" de una determinada hormona en un órgano concreto.

En mecánica reproductiva, un capítulo importante de los efectos inducidos por las hormonas esteroideas en la unidad hipotálamo-adenohipofisaria lo constituye la influencia que dichas hormonas ejercen sobre la secreción de gonadotrofinas y la identificación de los lugares en que tal acción se desarrolla.

Por lo que al estradiol se refiere, la rápida elevación de los niveles plasmáticos de LH y FSH siguiendo la castración (SHAAR y Col. (242 ), GAY y Col. ( 90)) y la inhibición observada en los mismos después del tratamiento con altas dosis de esta hormona (KREY y Col. (156)), sugiere una acción inhibitoria del estrógeno sobre la secreción de gonadotrofinas.

Parece claro, sin embargo, que esta hormona puede tener, también, efectos estimuladores sobre la secreción de LH y FSH "in vivo". Esto lo demuestra la producción de la descarga de LH después de la administración = de estradiol a ratas ovariectomizadas (LEGAN y Col. (165), el avance en =

la descarga preovulatoria de LH que sigue a la inyección del estrógeno en los tempranos estadios del ciclo estral (EVERETT (75)) y la abolición de la descarga ovulatoria de LH en el proestro por el tratamiento con anti-suero para la hormona (FERIN y Col. (79)).

El papel jugado por la adenohipófisis y el hipotálamo en estas respuestas endocrinas no está totalmente esclarecido.

De todas formas, en lo que a la acción inhibidora respecta, los trabajos de DE KONING y Col. (63) y HENDERSON y Col. (107), quienes no detectaron disminución en la respuesta de la adenohipófisis a la GnRH tras la incubación de la glándula con estradiol, y los de SMITH y DAVIDSON (250) = al observar una disminución en la secreción de LH tras la implantación == del estrógeno en el hipotálamo medio-basal, sugieren que el efecto inhibidor de la hormona sobre la liberación de gonadotrofinas se ejerce a nivel hipotalámico.

En lo que al efecto estimulador se refiere, hay evidencias convincentes de que éste es debido a una actuación directa del estrógeno tanto sobre la adenohipófisis como sobre el hipotálamo. Así, VILCHEZ-MARTINEZ y = Col. (284), LIBERTUN y Col. (168), y otros, han referido que el estradiol incrementa la respuesta de la adenohipófisis a la GnRH exógena, y KALRA y McCANN (136) y GOODMAN (43) encontraron que el implante de la hormona en el área preóptica induce la descarga de LH.

Es bien conocido, también, que la progesterona puede ejercer efectos = estimuladores e inhibidores sobre la secreción gonadotrófica. De hecho, = cuando es inyectada en diferentes momentos durante el ciclo estral la hormona puede adelantar o retrasar la ovulación (EVERETT (75), MARTIN y Col. (182)). Acciones facilitadoras e inhibidoras del esteroide sobre los niveles plasmáticos de LH han sido igualmente encontradas en ratas ovariectomizadas primadas con estradiol (CALIGARIS y Col. (29), KALRA y Col. (133)).

Como en el caso del estradiol, los lugares de su actuación no están = completamente esclarecidos.

Ha recibido poca atención la búsqueda del sitio en que la acción 'feedback' negativa del esteroide se desarrolla. Los pocos estudios disponibles sugieren que la progesterona interviene a nivel hipotalámico, como parece indicarlo el hecho de que los implantes de la hormona en el hipotálamo medio-basal supriman la secreción de LH sin disminuir la respuesta adenohipofisaria a la GnRH (SMITH y Col. (249)). De otro lado, la progesterona = puede bloquear la liberación de GnRH inducida por el estradiol (SARKAR y FINK (233)), si bien no está claro el lugar del cerebro donde este efecto ocurre. Por contra, el tratamiento "in vitro" con progesterona previene = los efectos estimuladores del estradiol sobre los gonadotrofos (HSUEH y = Col. (114)), aunque los datos "in vivo" no soportan un sitio adenohipofisario de acción de la hormona (BANKS y FREEMAN (21)).

La mayor parte de la información disponible señala a la adenohipófisis como la estructura donde la progesterona actúa para inducir sus efectos = estimuladores de la secreción gonadotrófica. Así, el esteroide administrado agudamente incrementa, tanto "in vivo" (FINK y HENDERSON (81)) como = "in vitro" (LAGACE y Col. (161)), la respuesta de la adenohipófisis a la GnRH. Además, la inyección sistémica de la hormona no estimula la liberación del neuropéptido (SARKAR y FINK (233)). Por contra, es sabido que el pretratamiento con progesterona incrementa significativamente la reten---ción del estradiol por el hipotálamo, potenciando así la acción estimuladora de éste sobre la secreción de gonadotrofinas (LISK y REUTER (171)).

En relación a la testosterona, hay abundantes pruebas de que la administración sistémica del andrógeno disminuye los niveles plasmáticos de = LH y FSH en la rata orquidectomizada (VERJANS y Col. (281), SWERDLOFF y = WALSH (267)). Los estudios con implantes (KINGSLEY y BODGANOVE (150) y = con cultivos de adenohipófisis (LABRIE y Col. (158)) señalan una acción =

directa de la hormona sobre la adenohipófisis disminuyendo la respuesta de ésta a la GnRH. Sin embargo, evidencias de que es el hipotálamo el lugar de la acción también han sido presentadas (160).

Distintas observaciones han mostrado, igualmente, que la testosterona ejerce una acción estimuladora de la liberación gonadotrófica y que ésta es realizada influyendo directamente en la actividad adenohipofisaria (KINGSLEY y BOGDANOVE (150), LABRIE y Col. (160)).

Dado el modo de acción de las hormonas esteroideas (Apdo. 1.2), tiene especial interés el conocer los cambios inducidos, directa o indirectamente, por dichas hormonas en el metabolismo de los ácidos nucleicos y proteínas de la adenohipófisis e hipotálamo y la posible vinculación de los mismos con las alteraciones endocrinas comentadas.

En lo que respecta a la adenohipófisis, DUFY y Col. (66) señalaron que el efecto inhibitor del estradiol sobre la secreción de LH y FSH no parece estar condicionado a sistemas de síntesis de RNA y proteínas.

Una acción inhibitoria de este estrógeno sobre el metabolismo de estas macromoléculas es sugerida por los hallazgos de que la ausencia de la hormona produce un incremento de la síntesis de proteínas (TONOUE y YAMAMOTO (275)), hipertrofia glandular (FARQUHAR y Col. (78)), aumento de la síntesis de DNA e hiperplasia adenohipofisaria (HYMER y Col. (116)).

APFELBAUM y TALEISNIK (6) describieron, por su parte, que la estimulación de la liberación de gonadotrofinas por el estradiol es un reflejo de la estimulación inducida por la hormona en la síntesis de LH y FSH.

JACKSON (47, 118) ha referido también que esta acción <sup>de</sup> feedback <sup>de</sup> positiva del esteroide es dependiente de la síntesis de RNA y proteínas.

SPONA y Col. (256) y WAKABAYASHI y Col. (285) señalaron, igualmente, un incremento del metabolismo de estas macromoléculas después del tratamiento con la hormona.

Por otro lado, KAPP y FOX (138) encontraron que el estradiol produce un aumento en el número de mitosis e hiperplasia glandular.

Hay una total ausencia de trabajos relativos a las alteraciones en el metabolismo de los ácidos nucleicos y proteínas adenohipofisarias que pueden ser debidas específicamente a la progesterona.

Para la testosterona se ha descrito un incremento del metabolismo proteico tras la administración de la hormona a ratas orquidectomizadas (WAKABAYASHI y Col. (285)). Otros autores, no obstante, han relacionado, también, la ausencia del andrógeno con una estimulación de esta ruta metabólica (MOGUILEVSKY y Col. (204)). VALOTAIRE y Col. (278), por su parte, refirieron un efecto inhibitor de este esteroide sobre la síntesis de DNA.

Otras rutas metabólicas adenohipofisarias parecen estar sujetas a regulación por las hormonas esteroideas. Entre ellas el metabolismo glucídico y lipídico, estimados por la actividad de enzimas marcadores de los mismos (LUINE y Col. (177)), y el metabolismo energético, medido a través del consumo de oxígeno (SCHIAFFINI (235)).

En lo que el hipotálamo se refiere, hay datos de que el metabolismo de RNA y proteínas es afectado por las hormonas esteroideas. Ello lo prueba los cambios que han sido observados en la actividad de los procesos relacionados con estas macromoléculas durante el ciclo estral (TER HAAR y McKINNON (273), SALAMAN (230), FOREMAN (86)) y tras la castración (TER HAAR y Col. (272)). La vinculación de estas alteraciones con la actividad endocrina de esta estructura no está, sin embargo, resuelta.

Un aspecto a destacar en la respuesta del hipotálamo, como en la de otras áreas cerebrales, es la ausencia de hipertrofia e hiperplasia. De acuerdo con KELNER y Col. (146) esto pudiera ser debido a la insensibilidad mostrada por la RNA polimerasa I a la presencia del esteroide.

Otras actividades hipotalámicas supuestamente vinculadas con su función endocrina parecen estar reguladas por las hormonas esteroideas.

La actividad eléctrica de distintos núcleos hipotalámicos muestra == fluctuaciones con el ciclo estral (KAWAKAMI y Col. (143)). La del área= preóptica, en particular, incrementa en el día del proestro y tras la = ovariectomía, y disminuye después de la administración de estradiol == (RUF (228)). Dado que la estimulación con electrodos de esta zona del = hipotálamo produce una descarga de LH en ratas con actividad ciclante = bloqueada (TURGEON y BARRACLOUGH (276)), parece deducirse que las alte= raciones inducidas por las hormonas en este parámetro fisiológico se co= rresponden, de alguna manera, con variaciones de la actividad endocrina.

Tanto el estradiol como la testosterona incrementan la actividad de peptidasas hipotalámicas capaces de degradar la GnRH, mientras que la = castración la disminuye (TATE y SWIFT (268), GRIFFITHS y HOPPER (98, 99)). Si bien se ha intentado relacionar estos cambios con la función endocri= na del hipotálamo, su significado verdadero se desconoce.

Hay abundante información acerca de los efectos que las hormonas es= teroideas producen en el metabolismo hipotalámico y extrahipotalámico = de distintos neurotransmisores que se saben implicados en la actividad= reproductiva del animal (CROWLEY y Col. (44, 45), LUINE y Col. (178)). Aunque atractivo e importante (SAWYER y CLIFTON (231), FUXE y Col. (88)) este amplio y, aún, conflictivo tema desborda los objetivos propuestos = en el presente trabajo.

El papel jugado por distintas estructuras extrahipotalámicas del SNC en la función reproductiva de la rata adulta es, cuando menos, contro= vertido. A pesar de que los resultados producidos por la de<sup>s</sup>aférentación del hipotálamo indicaron que esta zona del cerebro se bastaba por sí so= la para mantener la actividad sexual del animal (HALASZ y Col. (105)), = otros trabajos sugirieron conclusiones opuestas (ELEFTERIOU (70), ELLEN= DORF y PARVIZI (73)).

El sistema límbico, en concreto, parece tener alguna participación como lo demuestran las consecuencias que sobre la secreción de gonadotrofinas tienen las lesiones o estimulaciones producidas en algunas de las estructuras del mismo (CARRILLO y Col. (31 ), KAWAKAMI y TERESAWA (144), entre otros).

Hay algunas evidencias de que las hormonas esteroideas gonadales pueden ser factores reguladores de la actividad límbica. KAWAKAMI y Col.(143) y TERESAWA y TIMIRAS (271), por ejemplo, observaron oscilaciones en la actividad eléctrica de la amígdala e hipocampo a lo largo del ciclo sexual. Implantes hormonales en estas estructuras han sido relacionados, igualmente, con alteraciones en la actividad eléctrica de las mismas (KUBO y Col. (157), KAWAKAMI y KIMURA (145)). Interacciones de los esteroides con las transmisiones sinápticas catecolaminérgicas y peptidérgicas concernientes con la función límbica son igualmente aparentes (HAGINO (104)).

En cualquier caso, siguen existiendo dudas acerca del verdadero control que sobre los parámetros citados ejercen las hormonas gonadales. Hay un profundo desconocimiento de las alteraciones que estas hormonas pueden inducir en el metabolismo de los ácidos nucleicos y proteínas de las distintas estructuras del sistema. Y, en definitiva, no hay certeza real del papel que puedan desempeñar los cambios producidos en la actividad de estas áreas nerviosas en la función endocrino-reproductora de la unidad hipotálamo-adenohipofisaria.

#### 1.4.- MODO DE ACCION DE LAS HORMONAS POLIPEPTIDICAS .-

A diferencia de lo que ocurre con las hormonas esteroideas, existe cierta confusión en torno a la identidad de algunos de los procesos básicos implicados en el mecanismo de actuación de las hormonas polipeptídicas que participan en la actividad reproductora de la rata.

Salvando algunas ambigüedades y admitiendo pasos alternativos cuya importancia real en la acción celular de las hormonas que nos ocupan no han sido aún totalmente contrastada, se puede, deducido de la acción de otras hormonas proteicas más conocidas, avanzar una posible vía de acción común, tanto para la GnRH como para la LH y FSH, con inclusión de los sucesos más relevantes que son desencadenados por dichas hormonas. Este es también, muy probablemente, el mecanismo de acción de, al menos, algunos neurotransmisores implicados en las conexiones neuronales de las estructuras nerviosas que intervienen en la función reproductora.

El primer paso de la acción de las hormonas polipeptídicas lo constituye su unión a receptores específicos ubicados en la membrana plasmática de las células diana (CATT y DUFAU (32), KAHN (132), CUATRECASAS y HOLLENBERG (47)).

Los receptores han sido identificados como entidades moleculares individuales, de naturaleza predominantemente proteica, con algún componente glucídico o lipídico adicional cuya importancia no ha sido revelada, y que tienen su lugar de unión a la hormona dispuesto en la cara externa de la membrana y orientado hacia el exterior de la célula (KAHN (132), CUATRECASAS (46)).

La unión hormona-receptor se caracteriza, además de por su gran especificidad, por su alta afinidad (Kd del orden de  $10^{-8}$ - $10^{-10}$  M), saturabilidad (baja capacidad de captación de la hormona) y reversibilidad, si bien este último aspecto está cuestionado por algunos autores (CATT y Col. (33), =

CHEN y Col. ( 51 )).

Parece fuera de toda duda que el número de moléculas receptoras presentes en el tejido diana es uno de los principales determinantes de la cuantía y características de los efectos inducidos por las hormonas. No se conoce en detalle la naturaleza de los procesos que intervienen en su regulación. Conviene, no obstante, hacer mención de la atención que están recibiendo aspectos tales como la microagregación del complejo hormona-receptor, internalización del mismo y su distribución en algunos orgánulos celulares (tales como los lisosomas, donde es supuestamente degradado), y cuyo significado es desconocido (KING y CUATRECASAS (149), CONN y Col. = ( 38 )). Entre los factores que es sabido controlan positiva y/o negativamente la concentración del receptor y que condicionan de esta manera la sensibilidad o refractariedad del tejido a la acción de la hormona, se encuentran la propia hormona así como otras hormonas polipeptídicas y/o esteroideas (CATT y Col. ( 33 ), TELL y Col. (269)).

A resultados de la interacción de la hormona con el receptor se produce la activación del enzima adenilato-ciclasa localizado, también, en la membrana plasmática y cuyo centro catalítico se halla dirigido hacia el interior de la célula.

El mecanismo por el cual se origina esta activación está pobremente entendido. Parece comprobado, sin embargo, la participación del GTP y de una proteína reguladora dependiente de este nucleótido y ubicada, igualmente, en la membrana celular (SPIEGEL y DOWNS Jr. (254), ABRAMOWITZ y Col. ( 1 )). La hipótesis más aceptada sobre el modo en que intervienen los componentes citados se fundamenta en la libre movilidad de las tres proteínas en el plano transversal de la matriz lipídica de la membrana. Según ella, la unión de la hormona al receptor introduce un cambio conformacional en éste de modo tal que al entrar luego en contacto con la proteína reguladora la altera permitiéndole incorporar el GTP. Es el complejo =

proteína reguladora GTP el que se encarga, a continuación, de activar a la adenilato-ciclasa (CUATRECASAS (46), HOLLENBERG (112)).

La adenilato-ciclasa cataliza la conversión de adenosina 5'-trifosfato (ATP) a adenosina 3', 5'-monofosfato (AMP cíclico o cAMP). La concentración celular de cAMP es una resultante del balance de actividad de dos enzimas: la ya citada y la fosfodiesterasa, un enzima soluble del citosol = que es, en principio, insensible a la presencia de la hormona, y que == transforma el cAMP a adenosina 5'-monofosfato (AMP).

Al ser estimulada la actividad de la adenilato-ciclasa, se produce una elevación de los niveles intracelulares de cAMP. Este incremento es considerado responsable de la cadena de sucesos que se desarrollan "a posteriori" y que culminan en los distintos efectos que se agrupan en la respuesta celular. Este hecho unido a la más generalizada participación del nucleótido cíclico como mediador intracelular de la actuación de un número de hormonas polipeptídicas (y neurotransmisores) es lo que ha llevado a considerarle como "segundo mensajero" en la acción de este tipo de hormonas (ROBISON y Col. (226)).

El modo en que el cAMP ejerce su función es a través de su unión a una proteína receptora específica del citosol, que ha sido identificada como la enzima proteína kinasa dependiente de cAMP.

La proteína kinasa consta de dos subunidades: una subunidad reguladora= con alta afinidad por el cAMP, y una subunidad catalítica. Cuando el nucleótido se une a la subunidad reguladora causa la disociación de las dos subunidades. Esta disociación hace posible a la unidad catalítica ejercer su función kinasa, esto es, transferir fosfato a alguna proteína aceptora apropiada, ya que la actividad de dicha subunidad es deprimida por su == unión a la unidad reguladora (KREBS (155), LABRIE y Col. (159) y GLASS y KREBS (91)).

Para valorar el posible significado de este proceso baste recordar que la fosforilación es uno de los pocos procesos por el cual pueden ser inducidos en condiciones fisiológicas cambios reversibles en la configuración de una proteína y, por ende en su actividad (OCHOA y Col. (210), JAGUS y Col. (119)).

La acción de la kinaasa sobre sustratos proteicos específicos parece estar mediatizada por una previa redistribución de la enzima en la célula = tras su activación por el cAMP. JUNGMANN y Col. (131), SPIELVOGEL y Col. = (255) y CHO-CHUNG (53), en particular, han referido una translocación nuclear de la enzima (tanto del complejo cAMP-proteína reguladora como de = la unidad catalítica) y su unión a lugares aceptores de la cromatina donde parece ser que interviene en la fosforilación de determinadas proteínas acídicas de la misma (y en algún caso también de histonas). Este suceso ha sido interpretado como una manera de modificar la capacidad "template" de la cromatina y de regular, en consecuencia, la actividad transcripcional de determinados genes (MAURER (184), CHUANG y Col. (54), CHO-CHUNG (53)).

Entre las variadas proteínas que se sabe son afectadas directa o indirectamente por la proteína kinasa se encuentran, además de las proteínas = cromatínicas ya citadas, proteínas de la membrana celular, de la membrana de gránulos de secreción, de microtúbulos y microfilamentos, ribosomales, enzimas mitocondriales y citosólicos, etc. (OCHOA y Col. (210), GREENGARD (97), BAKKER y Col. (19), AZHAR y MENON (14)). Todo ello da una idea = de la amplia gama de funciones celulares que pueden ser influidas por la acción hormonal.

La aceptación del cAMP como un posible o único segundo mensajero de la acción intracelular de las hormonas en estudio, aunque avalada por buen = número de datos, es puesta en entredicho por otros.

Dos firmes candidatos alternativos o, al menos, complementarios han =

sido sugeridos: el guanosin 3', 5'-monofosfato (cGMP) y el ión calcio.

Evidencias presentadas por algunos autores muestran, efectivamente, que la concentración intracelular del cGMP está influenciada por la presencia de las distintas hormonas polipeptídicas que operan en el eje sexual de la rata y que los cambios en la concentración celular de este nucleótido se correlacionan bien con la magnitud de la respuesta inducida (NAKANO y Col. (208), NAOR y Col. (209)).

Si bien el mecanismo de acción de este nucleótido es menos conocido que el del cAMP, parece muy probable que sea bastante similar al de éste. El nucleótido cíclico se uniría, así, a una (s) proteína kinasa (s)-dependiente de cGMP, a la que activa, y que es la que se encarga, a continuación, por fosforilación de sustratos proteicos específicos, de provocar una cascada de eventos que desembocan en las alteraciones funcionales que se observan en las células diana (WALSH y ASHBY (286), GLASS y KREBS (91)).

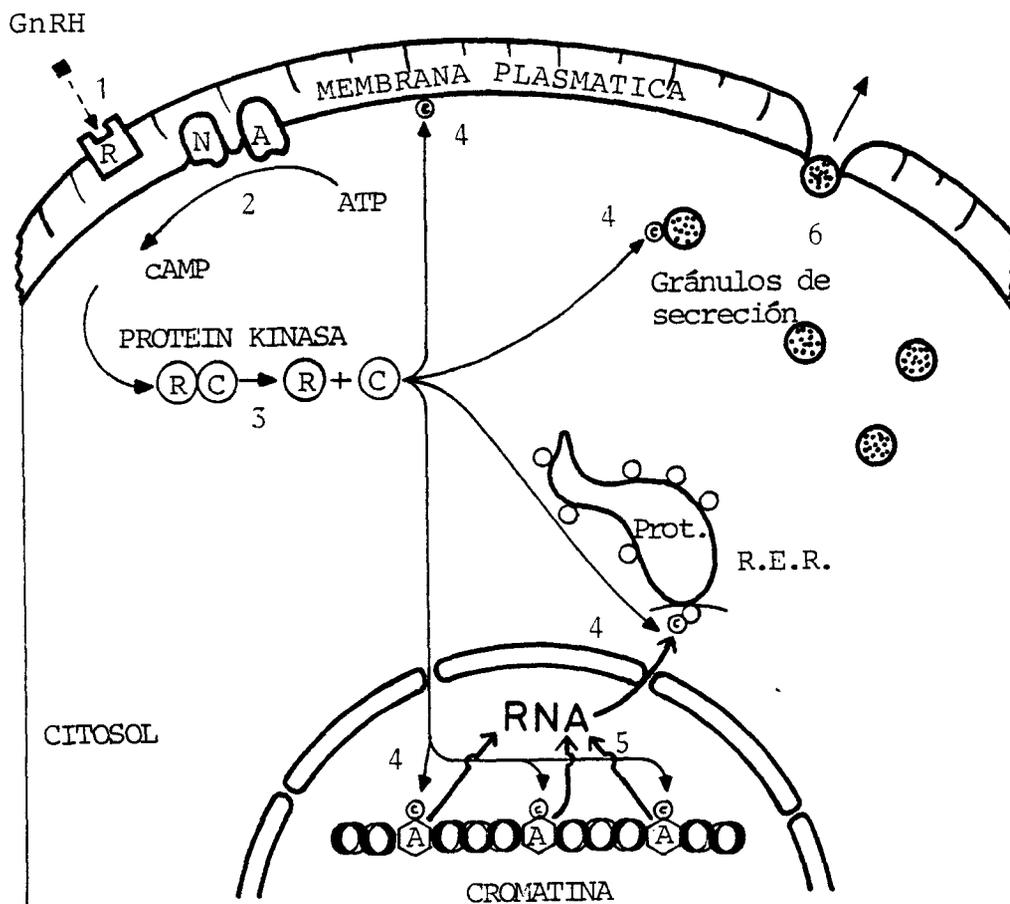
La intervención del  $Ca^{++}$  es mediada, con seguridad, por la calmodulina, una proteína con alta afinidad y especificidad por este ión y que se halla ubicuamente presente en los tejidos de mamíferos (GREENGARD (97), KIEE y Col. (151)). Aunque el entendimiento del papel de esta proteína como mediador de la acción hormonal está solo en su comienzo, el hecho de que controle el flujo de  $Ca^{++}$  entre los compartimentos celulares y a través de la membrana celular y los niveles intracelulares de cAMP y cGMP, entre otras importantes actividades, deja entreverle una trascendente función como integradora de los procesos reguladores que operan en la célula (MEANS y DEDMAN (190), STOCLET (263), CHEUNG (52), CONN y Col. (38)).

Independientemente de la naturaleza del segundo mensajero, y sin alcanzar la exclusividad mostrada para el caso de las hormonas esteroideas, es un hecho evidente -como quedará demostrado en el apartado siguiente-, pero del que debe quedar constancia aquí, que buena parte de los componentes =

de la respuesta celular derivan de cambios inducidos por las hormonas en los procesos de transcripción y traslación del mensaje genético, o lo que es lo mismo, dependen de la síntesis de RNA y proteínas.

Como resumen gráfico de lo expuesto en este apartado, el Cuadro n° 4 = muestra las distintas etapas que conforman el modo de acción de las hormonas polipeptídicas consideradas, suponiendo al cAMP como segundo mensajero.

## CUADRO N° 4



## RESUMEN GRAFICO DEL MODO DE ACCION DE LAS HORMONAS POLIPEPTIDICAS

- 1.- Unión hormona -receptor (R).
- 2.- Activación adenilato-ciclasa (A). (N=Proteína reguladora dependiente de cGMP).
- 3.- Activación proteína quinasa (R=subunidad reguladora, C=subunidad catalítica).
- 4.- Fosforilación substratos proteicos.
- 5.- Síntesis de RNA y Proteínas.
- 6.- Liberación de material secretor.

### 1.5.- RESPUESTA CELULAR A LAS HORMONAS POLIPEPTIDICAS .-

Los órganos diana por excelencia para las hormonas polipeptídicas que participan en la actividad reproductora de la rata son las adenohipófisis para la GnRH y las gónadas para las gonadotrofinas.

En relación con la GnRH no hay dudas en que su acción se realiza específicamente sobre los gonadotrofos (LABRIE y Col. (160)). Por otra parte, se ha sugerido que la neurohormona ejerce un retrocontrol sobre su propia secreción (y ¿síntesis?), que influencia la actividad de distintas áreas= extrahipotalámicas del SNC y que tiene una acción directa a nivel gonadal.

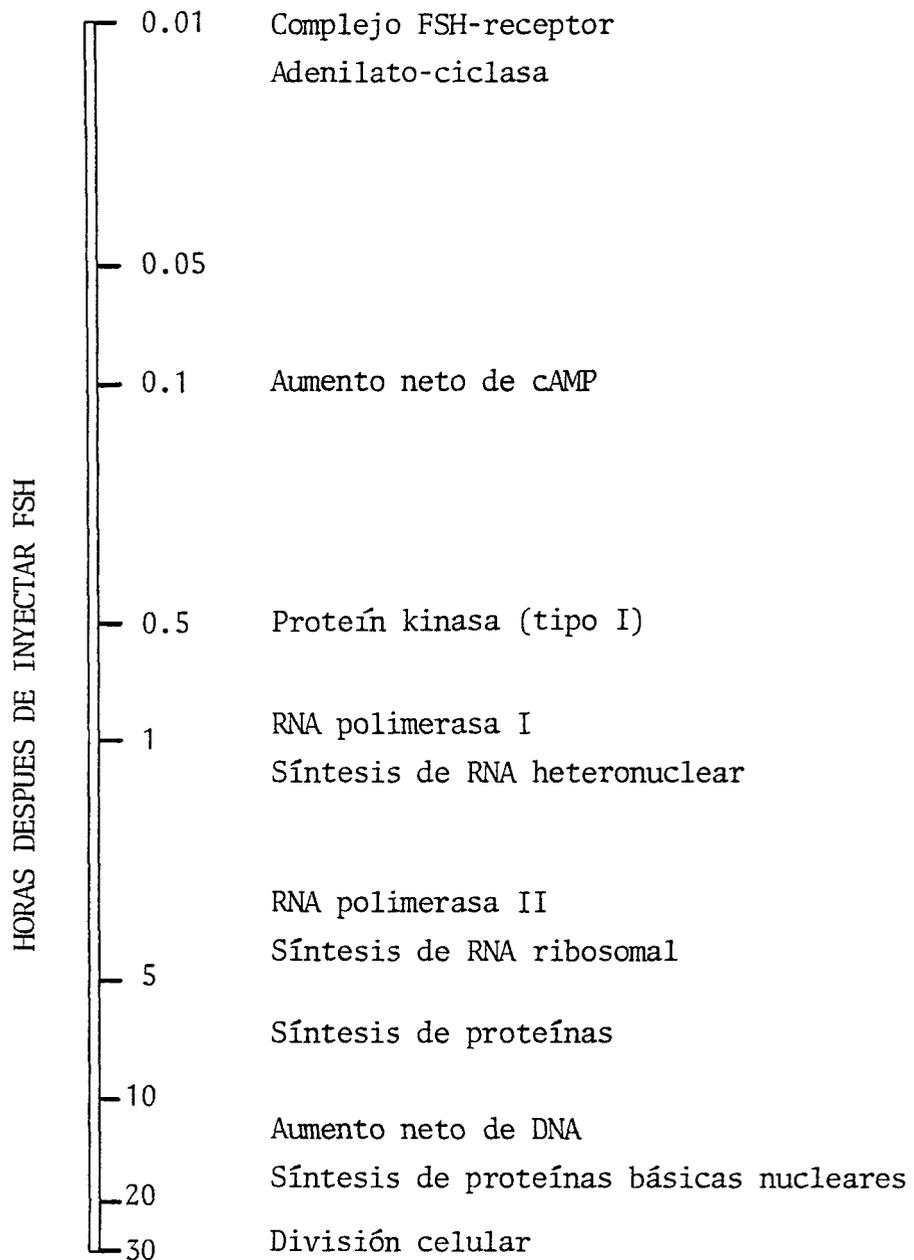
Por lo que a las gonadotrofinas se refiere, es sabido (DORRINGTON y = ARMSTRONG (64), RICHARDS (224) que la LH regula el funcionamiento de las células de la teca de los folículos en cualquier estado de maduración y = las de los folículos preovulatorios en el ovario y de las células de Leydig en el testículo y que la FSH controla la actividad de las células de la granulosa en el ovario y de las células de Sertoli en el testículo. De otro lado, existen evidencias de que estas hormonas influyen la función hipotalámica en determinadas condiciones experimentales.

Los sistemas de respuesta mejor conocidos son el ovario luteinizado y las células de Leydig para la LH y las células de Sertoli de ratas inmaduras y adultas hipofisectomizadas para la FSH. Se sabe bastante, también, = de los componentes de la respuesta adenohipofisaria a la GnRH.

El Cuadro n° 5 muestra, a modo de ejemplo, y sin pretender ofrecer de talladamente una sucesión temporal de eventos que acontecen, algunos de = los efectos producidos por la FSH en las células de Sertoli. Con algunas= excepciones, el cuadro refleja igualmente, la respuesta de las células de Leydig a la acción de la LH (CATT y Col. (33), JANSZEN y Col. (120)).

El conjunto de la respuesta parece depender de la activación de la pro

CUADRO N° 5



RESPUESTA DE LAS CELULAS DE SERTOLI DEL TESTICULO DE RATAS IMPUBERES AL TRATAMIENTO CON FSH (Modificado de Davies ( 58 )).

teín kinasa (tipo I) que se presenta ya estimulada 2 minutos después de la unión de la hormona al receptor y alcanza un máximo de actividad a los 30 minutos (MEANS y Col. (187)).

Una activación de la RNA polimerasa II se detecta con un retraso de 45 minutos y muestra un pico a las 4 horas, mientras que la RNA polimerasa I presenta un aumento de actividad a los 30 minutos y alcanza un 'plateau' entre las 1 y 2 horas después del tratamiento hormonal (MEANS y Col.(189)). Ambos incrementos son mediados, muy probablemente por alteraciones inducidas en la capacidad "template" de la cromatina (184, 53, 54).

La síntesis de RNA ribosomal comienza a subir a las 2 horas y muestra su valor más alto a las 4 horas (MEANS (188)). Por su parte, la síntesis del RNA heteronuclear se observa incrementada a los 30 minutos y alcanza su nivel más elevado a la hora (DAVIES ( 58)). Aún pasadas 6-8 horas de la administración de la hormona se mantiene aumentada la síntesis de RNA total (DAVIES y LAWRENCE ( 60)).

La estimulación de la síntesis de proteínas en general presenta su valor máximo a las 2 horas y persiste así hasta las 12-14 horas (MEANS (188) DAVIES y LAWRENCE ( 60)).

En las células de Sertoli la esteroidogénesis, y más en concreto, la conversión de androstenediona y testosterona en distintos derivados androgénicos y estrogénicos se ve también incrementada por la presencia de la hormona. Si bien los efectos a corto plazo pueden ser independientes de la síntesis de RNA y proteínas, la activación esteroidogénica a medio y largo plazo son indudablemente mediados por modificaciones inducidas en los procesos de transcripción y traslación, como lo prueba el hecho de que sean anulados por el tratamiento con cicloheximida y actinomicina D (MENDELSON y Col. (192), JANSZEN y Col. (121)).

Un aumento en el contenido de DNA y en la síntesis de proteínas básicas

nucleares se hace, igualmente patente, transcurrido un número suficiente de horas (WELCH y Col.(287)), así como un incremento de la división celular (60)).

En resumen, la FSH produce en las células de Sertoli (y la LH en las células de Leydig) en las condiciones experimentales citadas un conjunto de efectos coordinados que incluyen como sucesos generales más destacables, la estimulación de la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas y la activación de la esteroidogénesis, lo que se traduce, a posteriori, en la maduración, hipertrofia e hiperplasia del órgano.

Unos componentes básicos de respuesta similares a los reseñados, con la excepción de la esteroidogénesis propia de los tejidos gonadales y la inclusión de otros efectos específicos de los órganos a considerar, se aprecian en los distintos tejidos sometidos a la acción de las hormonas polipeptídicas. Uno de los principales condicionantes de las características de la respuesta inducida lo constituye, en cualquier caso, además de la naturaleza del tejido diana, el estado de diferenciación del mismo. Este hecho aparece maravillosamente plasmado en el control que las gonadotrofinas ejercen sobre la maduración, ovulación y luteinización de los folículos ováricos en la rata adulta ciclante, y que será analizado con alguna extensión en el apartado 1.5 de esta introducción.

Por lo que se refiere a la respuesta de los centros superiores que controlan la actividad sexual de la rata, los más conocidos son los efectos inducidos por la GnRH sobre la función adenohipofisaria.

La participación de la GnRH en la regulación de la función adenohipofisaria es un hecho ampliamente reconocido desde hace aproximadamente una década, después del descubrimiento del sentido y posible significado de la circulación en el sistema porta-hipofisario por HARRIS (106), de los trabajos de deafferentación hipotalámica de HALASZ y su equipo (105), resaltando el papel del "área hipofisiotropa" (núcleo arcuato y EM) y

área preóptica en el control de la liberación tónica y cíclica de gonadotrofinas, respectivamente, y de la puesta en evidencia por SCHALLY y Col. (234) y GUILLEMIN (102) de que el decapeptido estimula la secreción tanto de LH como de FSH.

Más recientemente, LABRIE y Col. (158) y NAIR y Col. (207), entre otros, detectaron, en hembras y machos, que la GnRH incrementa, no sólo la liberación de gonadotrofinas, sino que también estimula su síntesis, mientras que JENNER y Col. (122) y YOSHIDA y Col. (296) por su parte, observaron una activación de la síntesis de RNA y proteínas siguiendo la administración del neuropéptido a ratas hembra intactas y ovariectomizadas, y MENNON y Col. (193) registraron "in vitro" un efecto similar del neuropéptido sobre la síntesis proteica adenohipofisaria.

Además, aunque los procesos de síntesis y liberación de gonadotrofinas han sido considerados tradicionalmente como procesos relativamente independientes, tal afirmación debe ser tomada, en algunos casos con cierta precaución. Así LIU y Col. (176) y AZHAR y Col. (12) encontraron "in vitro", una posible vinculación entre el incremento de la secreción de LH y la estimulación de la glicosilación de esta hormona después del tratamiento con GnRH, sugiriendo, así, una acción paralela de la hormona hipotalámica a nivel, al menos, translacional.

Por otro lado, si bien es cuestionable de que se trate exclusivamente de gonadotrofinas, hay un buen número de trabajos (PICKERING y FINK (216), EDWARDSON (68), KHAR y JUTISZ (147), DE KONING y Col. (62)), que prueban que el efecto "priming" de la GnRH es dependiente de la síntesis de RNA y proteínas, dado que el mismo es bloqueado mediante el empleo de cicloheximida y actinomicina D.

Una posible acción de la GnRH sobre la duplicación del DNA y la división celular está menos estudiada. De todas formas, STEPIEN (262) ha referido una posible intervención de la neurohormona en este proceso celular.

En cualquier caso, y como aparece reflejado en el apartado 1.2 y será puesto de nuevo de manifiesto al estudiar el ciclo sexual y la castración (Aptdo. 1.6 y 1.7), las características de la respuesta de la adenohipófisis a la actuación de la GnRH están sumamente condicionadas al medio endocrino en general, y a la presencia de las hormonas esteroideas = gonadales en particular.

El probable efecto feedback ultra corto de la GnRH sobre su propia se creción (¿y síntesis?), que ha sido sugerido por algunos autores (PIVA y Col. (219), y que podría operar, también, en el caso de las gonadotrofinas, ha merecido muy poco estudio y se desconocen, ciertamente, sus conse cuencias reales. Podría tratarse de una manifestación propia de los meca nismos de autocontrol y homeostasia a los que se ven sometidos todos == los tejidos para salvaguardar su economía.

La posibilidad de que el hipotálamo, vía la GnRH, otros neuropéptidos, o a través de conexiones mediadas por neurotransmisores clásicos, interfiera en la actividad de algunas áreas del SNC está cobrando cuerpo por los resultados obtenidos en investigaciones recientes (FREDERICKSON (85) y WILBER y Col. (292)). Las nociones que se tienen al respecto, no obs--<sup>1</sup> tante, aunque en aumento, son mínimas y sus repercusiones en el eje se-- xual desconocidas.

Tanto HSUEH y Col. (115) como CATT y Col. (34) han mostrado que la = GnRH ejercen un efecto inhibitor de la esteroidogénesis gonadal. Dista = por valorar, sin embargo, la importancia del mismo en la operatividad == del sistema reproductor de la rata.

En lo que respecta a un posible control feedback de las gonadotrofi-- nas sobre la función hipotalámica, los escasos trabajos disponibles indi can que en circunstancias de experimentación concretas, tanto en la LH, = como de la FSH, ejercen un efecto inhibitor sobre la secreción (¿y sínte sis?) de GnRH. Así, por ejemplo, detectaron que la implantación de estas

hormonas en la eminencia media de ratas hembra y macho castradas disminuye su propia liberación por la adenohipófisis (FRASCHINI y Col. ( 84 ), y CORBIN y COHEN ( 42 )). Persiste, no obstante, la duda sobre el verdadero significado fisiológico de esta actuación.

## 1.6.- EL CICLO ESTRAL .-

El funcionamiento del sistema reproductor de la rata, en el animal in tacto, muestra su máxima expresión de complejidad en la hembra adulta -- con el ciclo estral.

Resultados obtenidos en investigaciones recientes, entre los cuales = los referidos en los apartados precedentes son un componente fundamental, han permitido un notable avance en el entendimiento de como las distin-- tas estructuras participantes coordinan sus actividades para dar lugar a la sucesión periódica de eventos que caracteriza el ciclo. Ha sido posi-- ble así, dar una descripción fenomenológica razonablemente buena de los cambios en los niveles circulantes de las hormonas y de como ellos se co-- rrelacionan con las variaciones de la morfología endometrial, maduración folicular, ovulación y formación del cuerpo lúteo. Resta por conseguir, = sin embargo, una mejor comprensión de los sucesos que acontecen en los = centros que intervienen en el control de la función ovárica.

Se distinguen en el ciclo estral dos fases bien diferenciadas: la pre ovulatoria o folicular y la postovulatoria o luteal. En la rata hembra = con un ciclo de 4 días de duración la fase folicular comprende los días de diestro y proestro y la luteal los del estro y metaestro.

El avance del ciclo en la fase folicular hasta el momento de la des-- carga ovulatoria de gonadotrofinas (en la tarde del proestro) viene mar-- cado por el rápido crecimiento y diferenciación de los folículos destina dos a ovular, que evolucionan desde el estado de pequeños folículos an-- trales al de folículos graafianos preovulatorios. En realidad, y como == han demostrado GROENKLEVANT (101) y HIRSFIELD y MIDGLEY (111), la madura ción folicular comienza, al menos, tres ciclos antes con la formación, = por mecanismos que se desconocen, de los pequeños folículos preantrales. En el transcurso del proceso el pico gonadotrófico que precede al ovula--

torio es crítico, ya que parece seleccionar del "pool" folicular inicial a los folículos que continuarán su desarrollo hasta ovular y luteinizar= en el próximo proestro, volviéndose atréticos<sup>7</sup> aquellos que son incapaces de responder a la señal hormonal (WELSCHEN (283)).

La conversión de los folículos antrales pequeños en alargados, es particularmente trascendente debido a la progresiva adquisición, por parte= de estos, de una mayor capacidad de síntesis y secreción de hormonas esteroideas, y más en concreto de 17-beta estradiol. Niveles basales de LH y FSH regulan conjuntamente los cambios que se producen en estas etapas= del desarrollo (ARMSTRONG y PAKKOFF ( 9 ), LOSTROH y JOHNSON (175)), a = través de una acción mediada, en buena medida, por alteraciones induci- das en los metabolismos de ácidos nucleicos y proteínas de sus respecti- vas células diana (JUNGMAN y SCHWEPPE (129,130), TSAFRIRI y Col. (274), = LIEBERMAN y Col. (169), LOSIER y YOUNGLAI (174)). Los mecanismos que sub- yacen en estas transformaciones son, en cualquier caso, bastante comple- jos ya que precisan, ineludiblemente, de la interacción de las células de = la teca y granulosa además de la participación del estrógeno liberado.

Las evidencias disponibles señalan que las células de la teca, contro- ladas por la LH, son el principal lugar de biosíntesis folicular de an- drógenos, principalmente androstenediona y testosterona, y que estos pro- ductos una vez secretados sirven como sustratos de una aromataza presen- te en las células de la granulosa -cuya actividad se halla en principio= bajo la influencia de la FSH-, que los convierte en estradiol y otros de- rivados estrogénicos (ARMSTRONG y Col. ( 10 ), HILLIER (109). El incremen- to que se produce con la maduración en la esteroidogénesis folicular es motivado por la activación tanto de la formación de andrógenos en las cé- lulas de la teca como de la aromatización de éstos en las células de la granulosa (HILLIER y Col. (110), FORTUNE y ARMSTRONG (87 ), BAIRD (18 ). RICHARDS (224)) y otros, han sugerido que la principal causa de estos cam- bios de respuesta radica en el aumento de la sensibilidad de las células

foliculares a la acción de las gonadotrofinas y que un componente central justificador de esta sensibilización parece constituirlo la ganancia en receptores de LH y FSH por las células de la teca y granulosa, = respectivamente, y la aparición de receptores de LH en las células de = la granulosa, suceso éste dependiente de la actuación de la FSH y el estradiol.

La estimulada actividad estrogénica mostrada por los folículos dominantes del ovario es responsable de la subida en los niveles plasmáticos de 17-beta estradiol que se observa en el día del diestro y mañana = del proestro (SMITH y Col. (251), KALRA y KALRA (135), BUTCHER y Col. = (28), y está bien establecido que este alto título de hormona circulante es indispensable para que se produzca la descarga preovulatoria de = gonadotrofinas (EVERETT (76) y SCHWARTZ (240)).

Aunque no están totalmente esclarecidos los procesos afectados en == los distintos centros de control superior del sistema en relación con esta acción feedback positiva del estradiol sobre la actividad secretora adenohipofisaria, el conocimiento que se tiene de algunos de los == efectos que son inducidos por el estrógeno en el hipotálamo y adenohipofisis, sobre todo, permite establecer un orden lógico de los sucesos = que acontecen.

A nivel hipotalámico, ARAKI y Col. (8) refirieron que la actividad GnRH tisular es controlada directamente por la hormona gonadal, mientras que BARR y BARRACLOUGH (22) detectaron incrementos y descensos == rítmicos en el contenido del neuropéptido previos y concomitantes con = el pico ovulador.

KALRA y Col. (134) por su parte, observaron un aumento en la síntesis de GnRH en el proestro de ratas ciclantes y siguiendo la estimulación electroquímica del área preóptica en ratas en proestro bloqueadas = con nembutal, y GOODMAN (93) encontró que los implantes de estradiol =

en el área hipotalámica citada a ratas agudamente ovariectomizadas restauran la descarga preovulatoria de LH y la ovulación.

Finalmente, SARKAR y Col. (232) observaron un incremento en los niveles de GnRH de la circulación porta en la tarde del proestro, SARKAR y FINK (233) demostraron que tal subida estaba directamente vinculada a la elevada concentración plasmática de estradiol del diestro, y MEYER y Col. (195) constataron que el bloqueo con pentobarbital del pico preovulatorio de gonadotrofinas conlleva una reducción significativa de los títulos séricos de la hormona hipotalámica.

Los datos existentes sobre las fluctuaciones que experimentan los metabolismos de RNA y proteínas en esta fase del ciclo indican que la síntesis o el recambio de ambas macromoléculas aumenta con la llegada del proestro (SALAMAN (230), TER HAAR y Col. (272), MOGUILEVSKI y Col. (199)) y que este incremento parece depender de los altos niveles circulantes de estradiol del diestro (TER HAAR y MACKINNON (273)). Algo contradictorios son, sin embargo, los resultados relativos a los cambios de concentración, ya que mientras que FOREMAN (86) registró un incremento en los niveles hipotalámicos de RNA con el avance del ciclo, otros autores (230,272) <sup>no</sup> observaron una ausencia de diferencias significativas al comparar las concentraciones de RNA y proteínas de las tardes del diestro y proestro.

A nivel adenohipofisario, AIYER y Col. (3), COOPER y Col. (41) y GORDON y REICHLIN (44) pusieron de manifiesto que la sensibilidad de la glándula a la acción de la GnRH era mayor en el día del proestro que en el resto del ciclo. VILCHEZ-MARTINEZ y Col. (284) y LEGAN y KARSCH (165) mostraron que este cambio de respuesta estaba ligado a las fluctuaciones plasmáticas de los esteroides gonadales. DROUIN y Col. (65) y HENDERSON y Col. (107) concluyeron que, al menos en parte, la sensibilización adenohipofisaria observada era debida a una influencia di-

recta del estradiol sobre la función de la glándula.

MEIDAN y KOCH (191), MARIAN y Col. (181) y PARK y Col. (213) estudiando la variación del número de receptores adenohipofisario de GnRH = durante el ciclo estral encontraron un pico en la tarde del proestro. = CLAYTON y Col. (37) al verificar que la causa de esta subida era la alta concentración de estradiol circulante, sugirieron que la misma podía ser un importante componente de los mecanismos responsables de la sensibilización glandular.

PICKERING y FINK (217) relacionaron el incremento de la respuesta y la descarga ovulatoria con un aumento, en el proestro, del "pool" rápidamente liberable de LH, en ausencia de alteraciones significativas en el contenido glandular total de la hormona. NAFTOLIN y Col. (206), por su parte, señalaron que una estimulada síntesis gonadotrófica podría = ser parte del proceso desencadenado.

En definitiva, SCHUILLING y GNODDE (239) y BLAKE y Col. (24) pusieron en evidencia que la liberación de GnRH se realiza en forma de descargas pulsátiles. AIYER y Col. (4) y FINK y Col. (80) certificaron que sucesivos pulsos de GnRH ejercen un efecto potenciador de su propia acción (o "priming") sobre la adenohipófisis. Y SPEIGHT y Col. (252) y CLAYTON y Col. (37) postularon que este efecto primador podría, en buena medida, operar a través de la inducción de receptores al propio neuropéptido y colaboraba en la incrementada sensibilidad de la glándula = del día del proestro.

En lo que respecta a las oscilaciones presentadas por los metabolismos ácidos nucleicos y proteínas en esta fase del ciclo, SALAMAN (230), TER HAAR y Col. (273) y MOGUILEVSKI y Col. (200) coincidieron al observar una aumentada síntesis y recambio de RNA y proteínas en el día del proestro y sugirieron que tal estimulada actividad sería un reflejo de alteraciones funcionales de la glándula relacionadas con la producción=

del pico preovulatorio de gonadotrofinas. TER HAAR y MACKINNON (272) = constataron, además, que la subida en los niveles séricos de estradiol iniciada en el diestro era indispensable para que los cambios biosintéticos referidos tuviesen lugar.

La evolución de las concentraciones (y contenidos glandulares) de = RNA y proteínas parece contradictoria, pues mientras CONVEY y Col. (40) y SALAMAN (230) destacaron que las mismas permanecen constantes en este avance del ciclo, ROBINSON y Col. (225) encontraron un incremento, = en ambas, en el día del proestro y lo justificaron en una supuesta sí tesis de gonadotrofinas.

De otro lado, distintos autores han mostrado que tanto la concentraci ón de DNA como el peso de la adenohipófisis se mantiene sin variaciones significativas en el tránsito del diestro al proestro (40 ,225).

A nivel del sistema límbico y en cuanto a la participación de la = amígdala se refiere, LAWTON y SAWYER (168) observaron que la produc--- ción de lesiones en esta estructura se tradujo en un incremento de la síntesis y liberación de LH. ELEFTERIOU (70) detectó una subida en = los niveles plasmáticos de LH por implantación de actinomicina D en este área nerviosa. KAWAKAMI y Col. (144, 142) registraron una disminu- ción de la actividad eléctrica amigdalár con la progresión del ciclo = del diestro al proestro.

En contraposición con estos resultados, ELLENDORF y Col. (72), VE LASCO y TALEISNIK (279) y ARAI (7) aseguraron haber inducido la ovulación por estimulación eléctrica o electroquímica de la amígdala a = ratas en estro persistente o bloqueadas en proestro, y TER HAAR y == MACKINNON (273) refirieron una disminución del recambio proteico de = esta estructura en el día del proestro después de la administración = de anticuerpos para el estradiol en el diestro.

Los datos relativos al hipocampo ofrecen mayor acuerdo, así, GALLO (89) y VELASCO y TALEISNIK (280) encontraron una disminución de la actividad eléctrica hipotalámica y bajos títulos séricos de gonadotropinas tras la estimulación electroquímica de esta área. TERESAWA y TIMIRAS (41) refirieron un descenso en la actividad eléctrica hipocampal con el tránsito del diestro al proestro. Y, en fin, SCHIAFFINI (235) verificó que con el avance del ciclo en la fase folicular disminuía, también, el consumo de oxígeno en la estructura.

El pico preovulatorio de LH se produce en la tarde-noche del proestro y tiene un tiempo de duración aproximado de 7 horas: de las 13.00 a las 20.00. El de FSH, por su parte, comprende dos fases, una primera que comienza con el inicio de la descarga de LH y la segunda que se prolonga hasta la mañana del estro (28, 135, 251).

Dos son las principales consecuencias de este suceso en la función de los folículos antrales alargados: la activación en las células de la granulosa de enzimas líticas que serán los responsables de la liberación de los óvulos en las primeras horas del día del estro, y la interrupción de la coordinada interacción funcional demostrada por las células de la teca y granulosa, originándose un abrupto declive en la formación de andrógenos y estrógenos y un rápido incremento en la biosíntesis de progesterona, indicativos, ambos, de la conversión del folículo preovulatorio en cuerpo lúteo (AHREN y Col. (2), SAIDAPUR y GREENWALD (269)). LEUNG y ARMSTRONG (167), RICHARD (224) y CHANNING y Col. (50) han sugerido, además, que en este cambio de respuesta esteroideogénica están implicados fenómenos de homo y heteroregulación de los receptores hormonales presentes en las células foliculares y que la LH y la prolactina -con un pico en la tarde del proestro simultáneo al de la hormona luteinizante- desempeñan un papel de control central en los mismos.

La fase luteal del ciclo estral, con diferencia la menos conocida de éste, está caracterizada por el mantenimiento de la actividad del cuerpo lúteo por niveles basales de gonadotrofinas y prolactina (28, 135, = 251). La estimulada capacidad productora de progesterona de los folículos luteinizados, proceso que es dependiente de la síntesis de RNA y = proteínas (AZHAR y Col. ( 12), DARVON y Col. (56 ), HERMIER y JUTISZ == (108)), resulta en dos periodos de elevada concentración circulante del progestágeno (28,135, 251 ). El primero se inicia, ya, en la tarde del proestro y perdura hasta la mañana del estro y el segundo, menos pronun= ciado, se extiende desde la tarde del metaestro hasta la mañana del == diestro, en que tiene lugar la regresión de los cuerpos lúteos en ausen= cia de fertilización e implantación de los óvulos.

No está claro el papel que desempeña la progesterona en los aconteci= mientos que se desarrollan en esta fase del ciclo y no existe, tampoco, un total entendimiento de la manera en que intervienen en los mismos == los centros de control superior del sistema.

Entre otras evidencias, GOODMAN (92 ) refirió que los niveles plasmá= ticos luteales de progesterona bloquean la capacidad de altas concentra= ciones séricas de estradiol para provocar una descarga de LH, hecho es= te, sin embargo, de incierto significado fisiológico. BANK y FREEMAN == (20 ) sugirieron que los elevados títulos de progestágeno circulante en el día del proestro limitan la magnitud del pico de LH en este día. Y = HOOLEY y Col. (113) señalaron que la hormona puede ser responsable de = la baja respuesta mostrada por la adenohipófisis a la acción de la GnRH durante la fase luteal.

Por su parte, LISK (170) y BEYER (23 ) establecieron que el hipotála= mo es una estructura esencial para la manifestación del comportamiento= sexual precoital (incrementada receptividad y "lordosis") del día del = estro. KOMISARUK (153) y MASCO y CARRER (183) implicaron, también, a la

amígdala y el hipocampo en la aparición de esta conducta. GORSKI (95) = yPOWER (220) certificaron que la progesterona participa decisivamente = en la inducción de estos fenómenos. Y, en definitiva, WHALEN y Col.(290) y QUADAGNO y HO (221) comprobaron que la producción de los mismos es de pendiente de la síntesis de RNA y proteínas hipotalámicas.

De otro lado, ASAI y WAKABAYASHI (11) y BARR y BARRACLOUGH (22) de tectaron una recuperación, en la tarde del estro, de los deprimidos ni= veles hipotalámicos de GnRH observados en la noche del proestro tras la aumentada liberación de la neurohormona que precede y acompaña al pico= gonadotrófico. ELIAS y BLAKE (71) obtuvieron una dinámica similar en lo concerniente al contenido adenohipofisario de FSH y LH. En ambos ca= sos las nuevas cotas de concentración tisular alcanzadas permanecieron= inalteradas en los días metaestro y diestro. NAFTOLIN y Col. (206), por contra, encontraron en la fase luteal los niveles adenohipofisarios de= gonadotrofinas más bajos del ciclo.

En relación con el sistema límbico y por lo que a la amígdala se re= fiere, KAWAKAMI y Col. (144,142) registraron una actividad eléctrica lu= teal disminuida en comparación a la del diestro, mientras que TER HAAR= y Col. (272) encontraron que el recambio proteico en el estro y metaes= tro se correspondía con el de los días del ciclo de menor capacidad bio= sintética. Para el hipocampo TERESAWA y TIMIRAS (271) refirieron una ac= tividad eléctrica postovulatoria análoga a la del proestro y KUBO y Col. (157) comprobaron que la estimulación hipocampal es particularmente == efectiva en el día del estro.

En cuanto a la evolución de los metabolismos de ácidos nucleicos y = proteínas en el hipotálamo y adenohipófisis, los datos disponibles, ade= más de escasos, revelan un cierto confucionismo. En el hipotálamo y en el tránsito del proestro al estro, TER HAAR y Col. (272) observaron un ligero descenso en el recambio proteico, manteniéndose invariable la ==

concentración de proteínas. MOGUILEVSKI y Col. (199) destacaron la ausencia de cambio significativo en el recambio proteico. SALAMAN (230) encontró un incremento tanto de la concentración como del recambio de RNA. Todos estos autores coincidieron, no obstante, en señalar que la progresión del ciclo del estro al diestro supone una disminución de los parámetros bioquímicos mencionados.

En la adenohipófisis, y respecto al paso proestro-estro, MOGUILEVSKI y Col. (199) y TER HAAR y Col. (272) mostraron que el recambio proteico no sufre alteración. SALAMAN (230) obtuvo igual constancia para la concentración y el recambio de RNA. ROBINSON y Col. (225) refirieron similares contenidos de DNA, RNA y proteínas en estos dos días. Y CONVEY y Col. (40) registraron en el día del estro los más altos niveles glandulares de DNA y RNA y el mayor peso adenohipofisario de todo el ciclo. Como en el caso del hipotálamo, los autores citados son unánimes al considerar que los días del metaestro y diestro son los de menor actividad metabólica del ciclo estral.

1.7.- LA CASTRACION .-

En los apartados anteriores ha quedado constancia del trascendente papel que desempeñan las hormonas esteroideas gonadales en los mecanismos que coordinan e integran la actividad de las estructuras que intervienen en la función reproductora de la rata. La gonadectomía <sup>ha</sup> probado ser un modelo adecuado para el estudio de distintos aspectos del modo de participación "in vivo" de estas hormonas. El análisis de los efectos de la extirpación gonadal a largo plazo - que ocupa este apartado - tiene especial interés, dado que el sistema se encuentra ya plenamente adaptado a la nueva situación (ZANISI y MARTINI (297), BADGER y Col. (16)).

En la rata hembra, está suficientemente probado que la deprivación crónica de los ovarios resulta en una elevada tasa de gonadotrofinas = circulantes FLERKO (77), SCHWARTZ (240)). KREY y Col. (156) y KALRA y Col. (133) mostraron que la ausencia de los esteroides gonadales es = esencial para que este suceso se produzca.

A nivel adenohipofisario, YAMAMOTO y Col. (294) y GAY y Col. (90), observaron, también, un aumento en las concentraciones tisulares de LH y FSH e indicaron que el mismo debería corresponder a un estado de incrementada biosíntesis de estas hormonas. FARQHAR y Col. (78), por su parte, relacionaron la estimulada capacidad biosintética y secretora = de la glándula con la aparición de las llamadas "células de castración" correspondientes a gonadotrofos hipertrofiados.

De otro lado, CLAYTON y Col. (37) destacaron el alto contenido adenohipofisario en receptores de GnRH de las ratas ovariectomizadas, y = sugirieron que este aumento podría ser un componente importante de los mecanismos responsables de la incrementada respuesta que presenta la = glándula a la acción de la neurohormona en estos animales.

Respecto a la evolución de los metabolismos de ácidos nucleicos y proteínas adenohipofisarias ante la falta de feedback gonadal, TONOUE y Col. (275) encontraron un elevado recambio proteico, similar al obtenido en los días proestro y estro. TER HARR y Col. (272) refirieron un recambio proteico análogo al del estro y algo inferior que el del proestro. ROBINSON y Col. (226) constataron concentraciones de RNA y proteínas iguales a las más altas de las registradas en la hembra ciclante y niveles glandulares de DNA superiores a los del ciclo. En alguna medida todos estos autores vincularon estas oscilaciones metabólicas con los cambios que ocurren, en la actividad endocrina de la glándula.

A nivel hipotalámico, SHERWOOD y Col. (243), BURGER y Col. (25) y KOBAYASHI y Col. (152) pusieron de manifiesto que tras la extirpación gonadal se alcanzan niveles de GnRH en el sistema porta semejantes a los del proestro. ESKAY y Col. (74), por contra, obtuvieron una concentración portal de la neurohormona no diferente significativamente a la del diestro y estro.

SHERWOOD y Col. (243) encontraron una concentración tisular de GnRH intermedia a la del proestro y diestro, y WHEATON y Col. (291) postularon que la síntesis del neuropéptido no debería diferir sensiblemente de los valores de actividad medios presentados por la hembra ciclante.

En cuanto a la influencia de la castración en el metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas hipotalámicas, los únicos datos disponibles señalan una concentración y recambio proteico equivalente a los niveles intermedios registrados durante el ciclo estral (TER HAAR y Col. (272)).

La participación del sistema límbico en los fenómenos descritos no está bien documentada, y las posibles conclusiones derivadas de las oscilaciones referidas en algunos parámetros metabólicos y fisiológicos, como consecuencia de la eliminación y administración de las hormonas esteroideas gonadales resultan contradictorias. (ELLENDORF y PARVIZI =

(73), SCHIAFFINI (235), ELEFTERIOU (70)).

En la rata macho adulta intacta, a diferencia de la hembra, la función reproductora está caracterizada por la carencia de variaciones = cíclicas en la actividad de las estructuras implicadas en la misma == (DAVIDSON y Col. (57), STEINBERGER (260)). En estos animales una determinada y continua capacidad de biosíntesis y secreción de hormonas esteroideas -en especial testosterona- y maduración gamética por los testículos, es mantenida por títulos plasmáticos de gonadotrofinas relativamente constantes y no sujetos a las fluctuaciones propias de la hembra (SCHWARTZ y MCCORMACK (241) y EIK-NES (69)).

Está, ahora, bien reconocido que la testosterona es sintetizada == por las células de Leydig bajo la influencia de la LH y que las células de Sertoli, controladas por la FSH, aromatizan parte del andrógeno liberado para producir distintos derivados estrogénicos importantes en el sostenimiento de la espermatogénesis (DORRINGTON y ARMSTRONG (64), STEINBERGER (260)).

La testosterona desempeña además, un papel central en la operatividad del sistema al intervenir decisivamente en el control de la secreción de gonadotrofinas por la adenohipófisis (DAMASA y Col. (55), == PIRKE y Col. (218)).

Es, ahora evidente, que la ausencia de fenomenología cíclica en la dinámica de los procesos que intervienen en la actividad reproductora del macho, parece radicar en una diferencial organización estructural y funcional de los centros superiores de control del eje, derivada de la divergente diferenciación sexual de los mismos en los tempranos estadios de la vida del animal bajo el mandato de una específica acción gonadal (MACLUSKY y NAFTOLIN (179), JOST y Col. (127), WILSON (293)).

La castración en el macho, como en la hembra, conlleva la apari---

ción de una incrementada concentración circulante de gonadotrofinas, como suceso más relevante (SHAAR y Col. (242), GUPTA y Col. (103), == BADGER y Col. (16)). VERJANS y Col. (281), SWERDOFF y WALS (267) y = RAMIREZ y MCCANN (222) dejaron constancia inequívoca de que este evento es, esencialmente, el resultado de la eliminación de la influencia retroinhibidora ejercida por la testosterona sobre la actividad secretora adenohipofisaria.

A nivel de la adenohipófisis, GRIZARD y Col. (100), STEINBERGER y = Col. (260), GAY y Col. (90) y BADGER y Col. (16) constataron, además, un aumento paralelo en las concentraciones glandulares de LH y = FSH, indicadores, presumiblemente, de una situación de estimulada biosintesis de estas hormonas, STADLER y Col. (253) relacionaron este estado de activación funcional de la glándula con la presencia de gonadotrofos hipertrofiados en estos animales.

CLAYTON y Col. (36), por su parte, observaron un alto contenido = glandular en receptores GnRH y vincularon esta subida con la incrementada sensibilidad que muestra la adenohipófisis de machos castrados a la acción de la GnRH.

En relación con el efecto de la ablación gonadal sobre el metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas adenohipofisarias, WAKABAYASHI = y Col. (285), MOGUILEVSKI y Col. (200) y TONOUE y Col. (270) detectaron una activación de la síntesis y el recambio proteico. LEE y Col. = (163), sin embargo, no encontraron variación significativa de la síntesis proteica al comparar los dos grupos de experimentación.

KRAICER y Col. (282) y CLAYTON y Col. (36) refirieron en los machos gonadectomizados un aumento en los contenidos de RNA y proteínas, respectivamente, y el mismo equipo de KRAICER verificó, a la par, una ausencia de cambio significativo en la concentración de RNA.

Por último, HYMER y Col. (116) y STADLER y Col. (258) certificaron la presencia de un mayor contenido de DNA en la adenohipófisis de machos castrados, y STEINBERGER y Col. (259) registraron, un incremento de peso glandular en estos animales.

En cualesquiera de los casos citados, las fluctuaciones metabólicas fueron interpretadas en el contexto de las alteraciones en la actividad endocrina mostradas por la glándula.

A nivel del hipotálamo, SHIN y Col. (244) no encontraron alteraciones en los títulos séricos de GnRH con la orquidectomía, mientras que, en contraposición, MOGUILVSKI y Col. (199) sugirieron un incremento en la secreción de la neurohormona en estas circunstancias.

KALRA y KALRA (135) postularon que los cambios en el contenido tisular de GnRH deberían ser considerablemente sutiles. SHIN y Col. (245) y BADGER y Col. (16) describieron niveles hipotalámicos de la neurohormona disminuídos por la castración. MOGUILVSKI y Col. (200), sin embargo, señalaron un incremento en la concentración tisular del neuropéptido tras la extirpación gonadal.

Los datos sobre el metabolismo de <sup>los</sup> ácidos nucleicos y proteínas en esta estructura son prácticamente inexistentes. Al respecto únicamente cabe reseñar que MOGUILVSKI y Col. (199, 200) mostraron que la orquidectomía resulta en un ligero descenso del recambio y la concentración de proteínas mientras que las concentraciones de RNA y DNA permanecían constantes.

A nivel del sistema límbico, y de acuerdo con los resultados recogidos por ELEFTERIOU (70), SCHIAFFINI (235) y ELLENDORF y PARVIZI (73), es posible que la amígdala tenga algún papel, aún por esclarecer, en los acontecimientos que se han referido. Es, por otra parte, generalizada la opinión de que el hipocampo no interviene en los mismos (235, 70, 73).

### 1.8.- PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACION DEL TRABAJO .-

En la revisión realizada a lo largo de los apartados precedentes queda = claro que la mayor parte de la abundante información existente acerca del = funcionamiento y control del sistema reproductor de los mamíferos se ha cen = trado en el estudio de la modulación de las concentraciones plasmáticas de las hormonas que participan en dichas funciones. También ha sido profusamen = te estudiado el modo de acción de las hormonas esteroideas y polipeptídicas sobre sus órganos diana periféricos y centrales.

Cuando se han intentado correlacionar los hechos conocidos en las variacio = nes de secreción de hormonas relacionadas con la reproducción con los acontecimientos a nivel molecular que subyacen a su secreción, con frecuencia = han surgido notables discrepancias.

Como ya quedó señalado, tales discrepancias tienen un variado origen, pe = ro es notable el hecho de que el metabolismo de ácidos nucleicos y proteí = nas en estructuras nerviosas e hipofisarias, a pesar de su enorme interés = intrínseco dado el carácter proteico de las hormonas hipotalámicas e hipofi = sarias, haya sido comparativamente poco estudiado.

Además, la mayoría de los trabajos disponibles al respecto se refieren a un solo parámetro (síntesis o concentración de ácidos nucleicos o proteínas) y, generalmente, a un solo tejido. Por otra parte, el metabolismo de <sup>los</sup> ácidos nucleicos y proteínas en estructuras nerviosas que como las del sistema límbico están relacionadas con la reproducción, prácticamente no ha sido abordado.

Los estudios que se describen a lo largo de la presente Memoria fueron = realizados en orden a contribuir al conocimiento de los mecanismos íntimos = que subyacen en las funciones de los centros nerviosos (sistema límbico e = hipotálamo) y de la adenohipófisis durante las etapas más significativas de

la reproducción en ratas machos y hembras.

Se estudia el contenido en DNA, RNA y proteínas y la incorporación <sup>in</sup> = vitro de precursores radiactivos al RNA y las proteínas simultáneamente en muestras de tejido individuales, durante las diferentes fases del ciclo sexual de la rata hembra y tras la castración en ambos sexos. Tales situaciones se eligieron para comparar las fluctuaciones de dichos metabolismos en el animal intacto durante el ciclo sexual y las consecuencias que sobre los mismos tiene la privación de hormonas gonadales.

La visión suministrada por la medición de estos cinco parámetros simultáneamente en cada una de las estructuras nerviosas (corteza cerebral, hipocampo, amígdala cerebral e hipotálamo) y adenohipófisis de un mismo animal de experimentación, permite discutir ampliamente las correlaciones neuroendocrinas conocidas con las modificaciones del substrato nucleoproteico celular.

## 2.- MATERIAL Y METODOS

---

## 2.1.- ANIMALES .-

Se usaron ratas hembras y machos adultas de la cepa Sprague-Dawley y procedentes de nuestro criadero. Sus pesos oscilaron entre 200 y 250 gramos.

Fueron alimentadas con una dieta especial para ratas, con agua y comida "ad libitum".

Las condiciones del criadero eran: ciclo diario de 14 horas de luz -entre las 0.5.00 y 19.00 horas-, y 10 de oscuridad, buena ventilación y temperatura constante de  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

### 2.1.1.- CONTROL DEL CICLO ESTRAL .-

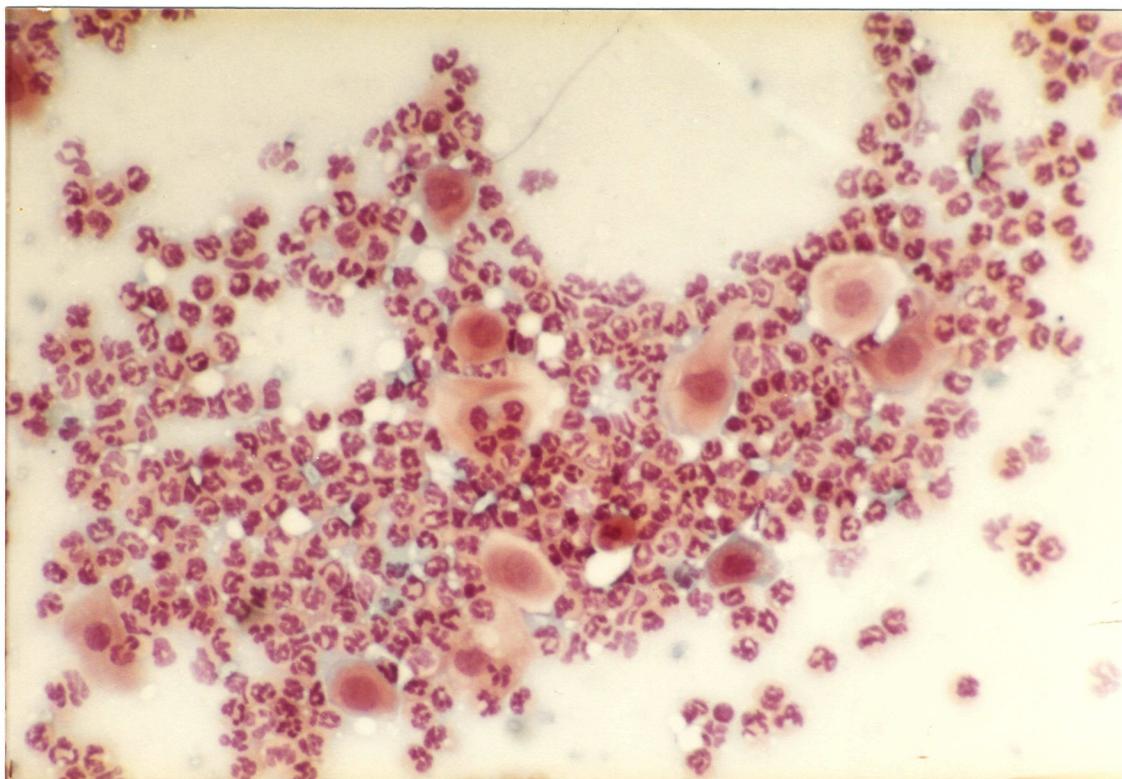
La duración y las fases del ciclo estral de las ratas hembras se estudiaron mediante frotis vaginales diarios realizados entre las 13.00 y 15.00 horas y observación de las preparaciones al microscópio óptico.

Unicamente se sacrificaron las ratas cuyos frotis ofrecieron imágenes fuera de toda duda y que mantenían ciclos regulares de 4 días durante, al menos, tres ciclos consecutivos.

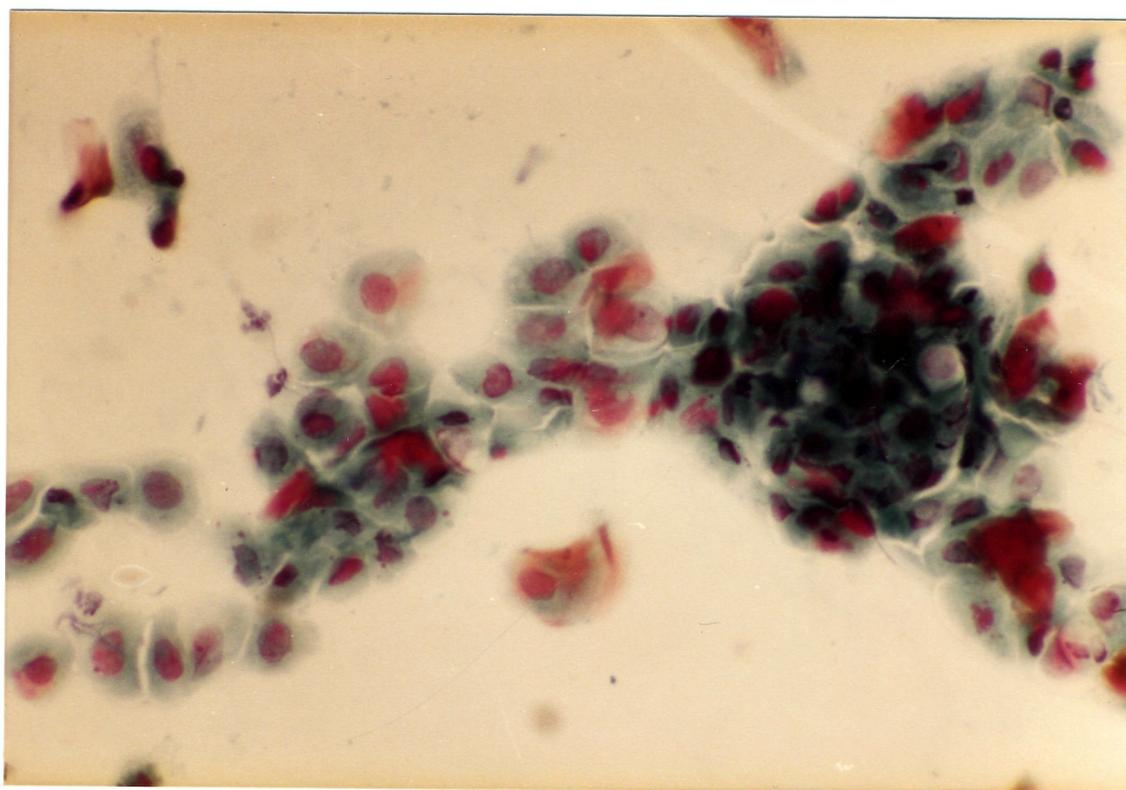
Se seleccionaron, para su estudio tres días del ciclo: Diestro, Proestro y Estro. Las imágenes observadas al microscópio de los frotis vaginales realizados en estos tres estados del ciclo estral se muestran en las fotografías n°1, 2 y 3.

### 2.1.2.- CASTRACION .-

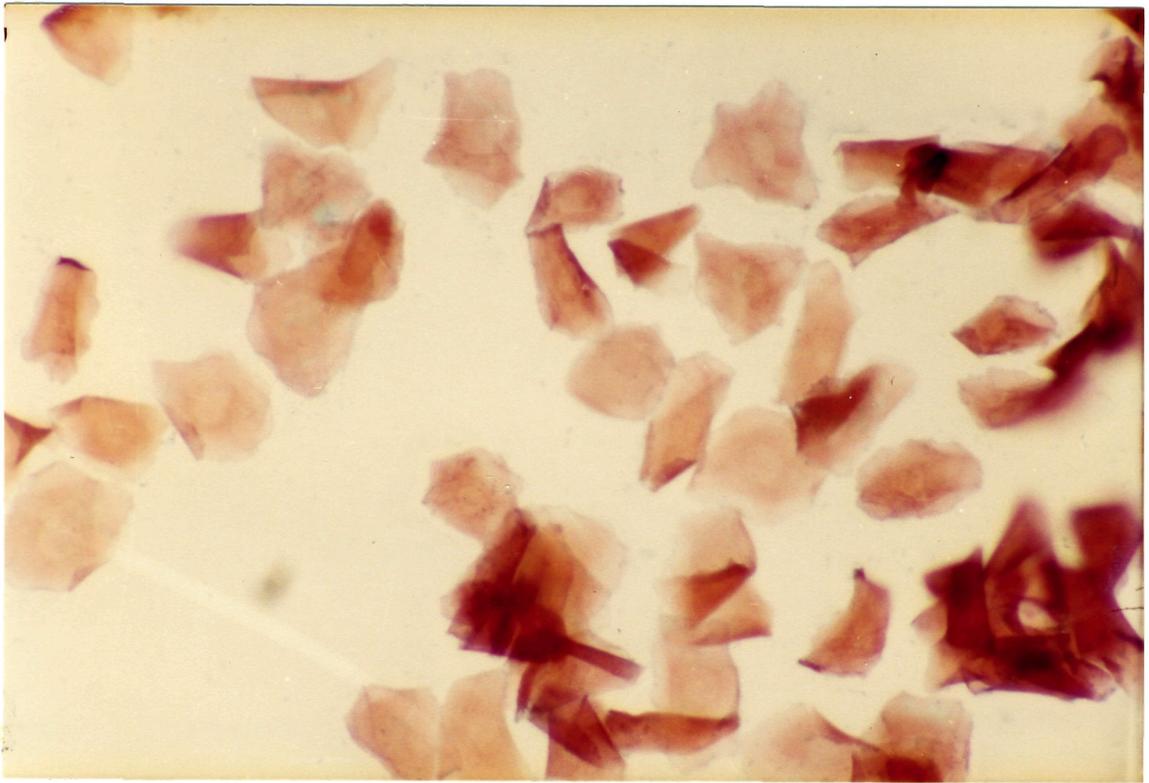
Las operaciones de ovariectomía -por aproximación dorsal- y orquidectomía -por escisión escrotal- totales, fueron practicadas bajo anestesia ligera con éter.



Fotografía n° 1: Diestro



Fotografía n° 2: Proestro



Fotografía n° 3: Estro

IMAGENES MICROSCOPICAS DE LOS FROTIS VAGINALES REALIZADOS EN DISTINTAS FASES DEL CICLO ESTRAL (x 400).

(Colaboración del Departamento de Histología del Colegio Universitario de Las Palmas).

Las extensiones fueron teñidas según el método de Shorr's.

Las imágenes se identificaron siguiendo las indicaciones dadas = por LONG y EVANS (173):

Diestro: Omnipresencia de leucocitos polimorfonucleares, con escasas células epiteliales nucleadas y/o anucleadas.

Proestro: Células epiteliales, pequeñas, de contornos redondeados regulares.

Estro: Células epiteliales anucleadas, alargadas, traslúcidas, de contornos irregulares.

Los animales se sacrificaron entre 35 y 40 días después de la operación.

## 2.2.- PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL .-

### 2.2.1.- OBTENCION DE LAS AREAS CEREBRALES .-

Los animales fueron decapitados entre las 16.00 y 17.00 horas y las distintas áreas cerebrales disecadas de acuerdo con los límites dados por DE GROOT (292):

. Hipotálamo: Límite anterior: 2-3 mms. frontalmente al quiasma óptico; posterior: los cuerpos mamilares; laterales: las incisuras hipotalámicas: profundidad ventrodorsal: 3-4 mms.

Amígdala Cerebral: Límites antero-posteriores como el hipotálamo; profundidad: la cisura entorrinal.

Hipocampo: Límite superior el cuerpo calloso, límites laterales el ventrículo lateral, límite medial, el tálamo e hipotálamo y límite inferior el isocortex.

Corteza Cerebral: Pequeña porción de la corteza frontal.

Igualmente una vez extraída la hipófisis, la adenohipófisis se separó del resto de la glándula empleando una lente binocular.

Las fotografías (del 4 al 8) muestran una imagen de los límites de disección de los tejidos en estudio.

Inmediatamente después de la disección, las distintas áreas cerebrales y adenohipófisis se trocearon y pesaron en una balanza analítica METTLER H43, introduciéndose a continuación, indivi

Fotografía n° 4



Fotografía n° 5

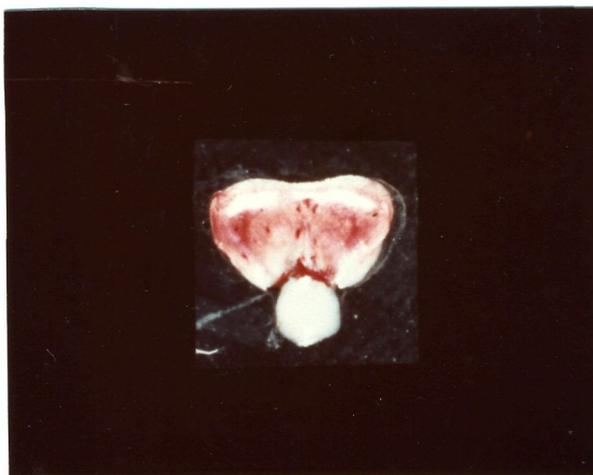


Fotografía n° 6





Fotografía n° 7



Fotografía n° 8

Fotografía n° 4 : Visión ventral del encéfalo de la rata.

Fotografía n° 5 : Visión ventral del encéfalo después de haber extraído el hipotálamo.

Fotografía n° 6 : Visión ventral del encéfalo después de haber extraído el hipotálamo y la amígdala cerebral.

Fotografía n° 7 : Visión ventral del encéfalo después de haber extraído el hipotálamo, la amígdala cerebral y el hipocampo.

Fotografía n° 8 : Separación de la adenohipófisis del = resto de la glándula.

Los límites de disección de las áreas cerebrales se establecieron en acuerdo con las indicaciones dadas por DE = GROOT (61).

dualmente, en tubos conteniendo 0.5 ml. de solución Krebs Ringer glucosa tamponada con Fosfato a pH = 7.4 (KRGF) (277)(2.5.1.), a 0°C.

#### 2.2.2.- INCUBACION .-

El procedimiento de incubación y tratamiento del tejido se == realizó según las indicaciones sugeridas por DUNLOP y Col. (67 ), FAIGON y Col. (77 ) y CARDINALI y Col. (30 ), con las modificaciones que a continuación se describen.

Los tubos con las muestras de tejido, fueron colocados en un incubador metabólico tipo Dubnoff, a 39°C, 100 oscilaciones por minuto y oxigenación permanente con una mezcla de 95% de oxígeno y 5% de dióxido de carbono.

Transcurridos 15 minutos se añadió a cada tubo 0.5 ml. de solución KRGF (pH = 7.4), a 37°C, conteniendo  $\mu\text{Ci}$  de ( $^3\text{H}$ ) Uridina= (2.5.2.) y 1  $\mu\text{Ci}$  de una mezcla de ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácidos (2.5.2.), con siderandose este instante como tiempo 0 de la incubación.

Al cabo de 90 minutos, la incubación fué detenida por adición de 0.5 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 30% a cada tubo.

#### 2.2.3.- FRACCIONAMIENTO DE LOS TEJIDOS .-

Los tejidos fueron triturados mecánicamente con un homogenizado r vidrio-teflón usando TCA 10% conteniendo 0.2% de una mezcla de aminoácidos y uridina fríos, centrifugando (Centrifuga MSE) a continuación a 3.000 r.p.m., 15 minutos.

El "pellet" se lavó tres veces con 5 ml. de la misma solución empleada para homogeneizar, suficientes para eliminar la radiactividad sobrenadante.

De la fracción ácido-insoluble resultante se extrajo el componente lipídico mediante dos lavados con 2 ml. de Cloroformo: Metanol (1:1)(v/v), durante 20 minutos a 45°C y un lavado de 2 ml. de éter etílico, 20 minutos, a temperatura ambiente.

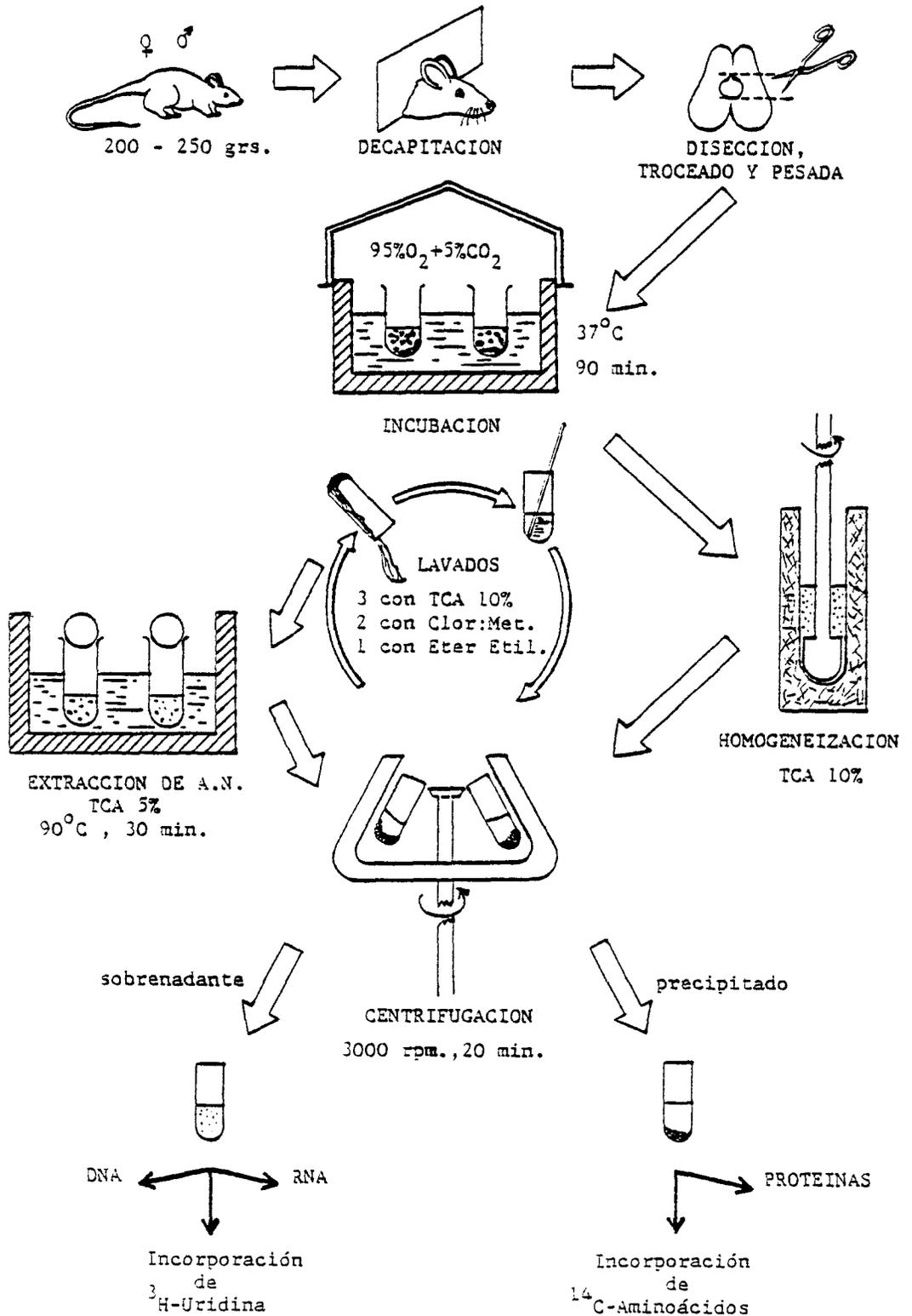
Evaporado el éter, el precipitado fué resuspendido en 1.5 ml. de TCA 5% a 90°C durante 30 minutos y centrifugado.

El sobrenadante se utilizó para las determinaciones de las == concentraciones de RNA y DNA y la incorporación de (<sup>3</sup>H) Uridina= al RNA.

El precipitado una vez resuspendido y solubilizado en 2.5 ml. de KOH 1 H durante 2 horas y media a 45°C, fué usado para determinar la concentración de proteínas y la incorporación de (<sup>14</sup>C) Aminoácidos a las proteínas.

El Cuadro n° 6 muestra un esquema gráfico del procedimiento= experimental utilizado.

CUADRO N° 6



ESQUEMA GRAFICO DEL PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL UTILIZADO

## 2.3.- DETERMINACIONES BIOQUIMICAS .-

### 2.3.1.- INCORPORACION DE PRECURSORES MARCADOS .-

Alícuotas de 0.5 ml. de las fracciones de ácidos nucleicos y proteínas fueron dispuestas en los viales respectivos añadiéndose, seguidamente, 10 ml. de líquido de centelleo (2.5.3.).

El conteo se realizó en un espectómetro nuclear Chicago ISOCAP 3099 y las eficiencias respectivas se obtuvieron por el método de relación de canales.

La contaminación del canal del tritio con productos marcados con carbono 14 fué eliminada mediante el siguiente formulario:

$$\text{dpm } ^3\text{H} = \frac{\text{cpm } ^3\text{H} - \frac{\text{cpm } ^{14}\text{C}}{\text{Efic. } ^{14}\text{C}} \times \text{Efic. } ^3\text{H}}{\text{Efic. } ^3\text{H}}$$

### 2.3.2.- CONCENTRACION DE DNA .-

Se utilizó, en pequeñas modificaciones, el procedimiento de Burton (26, 27), fundamentado en la reacción colorimétrica entre la deoxirribosa y la difenilamina.

Alícuotas, por duplicado, de 0.2 ml. de la fracción de ácidos nucleicos (2.2.3.) fueron mezclados con el reactivo de difenilamina (2.5.5.) en la proporción 1:2.

Se dejó desarrollar el color 48 horas a temperatura ambiente y se hizo la lectura a 660 nm. en un espectrofotómetro BAUSCH & LOMB 70.

Soluciones estandard de 3.125, 6.25, 12.5, 25, 37.5, 50 y 100  $\mu\text{g}/\text{DNA}/\text{ml}$ . TCA 5%, por triplicado, preparadas con DNA altamente polimerizado de timo de ternera (B.D.H.), fueron sometidas al procedimiento de precipitación y redisolución en T.C.A. descrito anteriormente (2.2.3.) y utilizadas para construir la curva patrón.

### 2.3.3.- CONCENTRACION DE DNA .-

Fué determinada, con algunas variaciones, empleando el procedimiento de SCHNEIDER (237, 238), basado en la reacción de color entre la pentosa y el orcinol.

Distintas diluciones, según el tejido, de alícuotas (por duplicado) de la fracción de ácidos nucleicos (2.2.3.) se mezclaron con el reactivo de orcinol (2.5.4.) en la proporción 1:1.

La reacción se desarrolló a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos, estimándose la intensidad de color a 660 nm en el espectrofotómetro referido en el apartado precedente.

Soluciones estandard de 3.125, 6.25, 12.5, 25, 37.5, 50 y 100  $\mu\text{gr}/\text{RNA}/\text{ml}$ . TCA 5%, por triplicado, preparadas con RNA de levadura altamente polimerizado (B.D.H.) fueron sometidas al procedimiento de precipitación y redisolución en TCA ya comentado y empleadas para obtener la curva patrón.

### 2.3.4.- CONCENTRACION DE PROTEINAS .-

Se realizó siguiendo el método descrito por LOWRY y Col. (176). La reacción colorimétrica es el resultado de (a) reacción de biuret de la proteína con el ión cúprico en solución alcalina, y (b) la reducción del reactivo fosfomolibdico-fosfotúngstico por

los restos de tirosina y triptofano presentes en la proteína tratada.

Se mezclaron, por duplicado, 100  $\mu$ l. de distintas diluciones según el tejido, de alícuotas de la fracción de proteínas (2.2.3.) con 4 ml. del reactivo cupro-alcalino (solución E) (2.5.6.) y == transcurridos 10 minutos se agregó 100  $\mu$ l. de reactivo de Folin-Ciocaltean diluido 1:1 en agua destilada.

Una vez desarrollada la reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 30 minutos, se midió la absorbancia a 750 = nm en el espectrofotómetro ya citado.

Para hacer la curva patrón se prepararon, por triplicado, soluciones estándar de 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 y = 1.5 mg proteína/ml. KCM 1M empleando albúmina de suero bovino == cristalizado (Sigma) y se les trató de un modo similar al indicado para con las muestras de los distintos tejidos (2.2.3.).

#### 2.4.- ESTADISTICA .-

Para cada grupo de datos se calculó la media ( $\bar{x}$ ), desviación estandar (Sx) y error de distribución (E).

El estudio comparado entre dos grupos de valores se realizó empleando el test t de Student, que permite calcular la significación de las comparaciones consideradas.

Todos los cálculos fueron programados con una calculadora CASSIO Fx-201 P. ===

2.5.- REACTIVOS .-2.5.1.- SOLUCION KRGP TAMPONADA (pH = 7.4) .-

Cl Na al 9%	. . . . .	40.0 ml.
Cl K al 1.15%	. . . . .	1.6 "
Cl <sub>2</sub> Ca al 0.61%	. . . . .	0.6 "
SO <sub>4</sub> Mg al 3.82%	. . . . .	0.4 "
Buffer Fosfato (pH = 7.4)	. . . . .	8.4 "
Glucosa Anhidra	. . . . .	67.5 mgr.

2.5.2.- PRECURSORES MARCADOS .-

<sup>3</sup>H-Uridina con una actividad específica de 5.600 m Ci/mmol.  
Mezcla de <sup>14</sup>C-Aminoácidos uniformemente marcados con una composición por actividad de:

L. Ala . . . . .	10.0%	. . . . .	L. Lis . . . . .	5.5%
L. Arg monohidroclorado . . . . .	6.5%	. . . . .	L. Fen . . . . .	7.0%
L. Asp . . . . .	9.0%	. . . . .	L. Pro . . . . .	6.0%
L. Glu . . . . .	12.5%	. . . . .	L. Ser . . . . .	5.0%
Gli . . . . .	5.0%	. . . . .	L. Tre . . . . .	6.0%
L. Leu . . . . .	12.0%	. . . . .	L. Tir . . . . .	3.5%
L. Ile . . . . .	5.0%	. . . . .	L. Val . . . . .	7.0%

y una actividad específica de 54 m Ci/m Atom carbón = 87% de = abundancia isotópica en todos los átomos de carbono.

Ambos precursores marcados fueron suministrados por The Radiochemical Centre, Amersham, England.

2.5.3.- COMPOSICION DEL LIQUIDO DE CENTELLEO .-

5.0 grs. PPO

0.5 grs. Dimetil POPOP

Hasta 1 l. de Tolueno conteniendo un 20% de Tritón X-10

2.5.4.- REACTIVO DE ORCINOL .-

0.3 grs. Fe  $Cl_3$  anhidro.

1.0 gr. Orcinol (BDH)

100 ml. Cl H 37%

Preparado extemporáneamente y diluído en 50 ml. de agua destilada.

2.5.5.- REACTIVO DE DIFENILAMINA .-

0.5 grs. Difenilamina (BDH)

50 ml. Ac. Acético glacial.

1.5 ml. Ac. Sulfúrico conc.

0.25 ml. Acetaldehído 1.6%

Preparado en el momento de la reacción.

2.5.6.- REACTIVO CUPRO-ALCALINO .-

Solución A: 10 grs. de  $CO_3 Na_2$  + 2 grs. NaOH en 500 ml.  $H_2O$  dest.

Solución B: 1 gr. Tartrato Na-K en 100 ml.  $H_2O$  destil.

Solución C: 25% de  $SO_4 Cu.5 H_2O$  en  $H_2O$  destil.

Solución D: 0.1 ml. sobre c + 5 ml. de solución B.

Solución E: 1 ml. solución D + 50 ml. de solución A.

Las soluciones D y E fueron preparadas extemporáneamente.

## 2.6.- VERIFICACION DE LA METODOLOGIA EMPLEADA .-

### 2.6.1.- CONDICIONES DE INCUBACION .-

El troceado del tejido se realizó con bisturí tratando de == conseguir rodajas lo más finas posible, en un intento de acerca\_miento al grosor de 0.5 mm estipulado por DUNLOP y Col.( 67 ) co\_mo el más idóneo para la incorporación de los precursores.

La solución KRGP empleada es una ligera modificación de la = usada por UMBREIT y Col. (277) en sus estudios "in vitro" sobre consumo de oxígeno y actividad enzimática.

El tiempo de incubación, de 90 minutos, fué elegido tras com\_probar en ensayos previos que existía una relación lineal entre la cantidad de precursores incorporados y el tiempo transcurri-do, cuando éste era de 60, 90 y 120 minutos. Esto confirmaba lo encontrado por LEE y Col. (163) y TONOUE y Col. (275), entre = otros. Además, para este periodo de tiempo, LABRIE y Col. (158) refirieron que las características citológicas y bioquímicas = del tejido en incubación permanecían intactas.

### 2.6.2.- FRACCIONAMIENTO CELULAR .-

El procedimiento desarrollado ha seguido, con algunas modifi\_caciones, las pautas del empleado por otros autores (236, 237, = 238, 298).

En consecuencia con las determinaciones bioquímicas a reali-zar, se pretendió separar las fracciones de ácidos nucleicos y proteínas entre sí y del resto de los componentes celulares, en base al diferente comportamiento de estas macromoléculas ante = distintos solventes en condiciones (especialmente la temperatu-

ra y tiempo) apropiadas.

Históricamente, SCHMIDT y THANNHAUSER (236) y SCHNEIDER (237) entre otros, establecieron las normas generales más óptimas del procesamiento del tejido, que luego se han seguido usando.

Sostenido en tres propósitos fundamentales: 1°) Máximo rendimiento en la separación (mayor pureza de la fracción obtenida); 2°) Menor pérdida posible (destrucción, trasiego, etc.) y 3°) = Mínima interferencia en la determinación bioquímica; estos autores sugirieron varias alternativas, que, a modo de resumen se = muestran en el Cuadro n° 7.

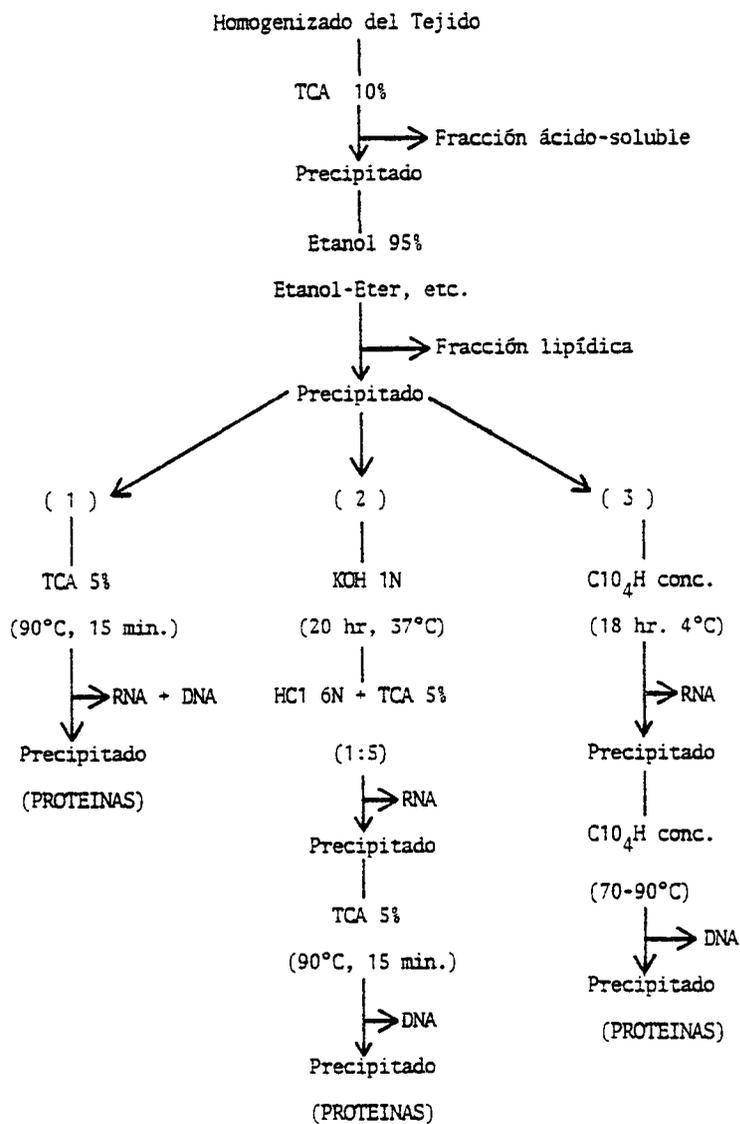
Las condiciones en las que se desarrolló el procedimiento en el presente trabajo se indican a continuación:

Todo el procesamiento del tejido se realizó, salvo excepciones, a 4°C como temperatura máxima, con el fin de evitar la degradación enzimática de las macromoléculas. En particular, las centrifugaciones fueron efectuadas con centrifuga MSE en cámara fría ó, en ocasiones, en una Sorvall refrigerada.

Para eliminar ó reducir al mínimo la pérdida de tejido, todo el proceso se hizo en el mismo tubo de incubación hasta la obtención de la fracción ó alícuota correspondiente.

La homogeneización del tejido y los lavados con TCA 10% se = practicaron en presencia de 0.2% de precursores no marcados evitando así, posibles fenómenos de adsorción de los precursores = marcados, como ha sido reseñado por algunos autores (236).

El número de lavados fué considerado suficiente como para = eliminar la radiactividad presente en la fracción ácido-soluble. Los controles hechos en distintas ocasiones dieron, para los = <sup>14</sup>C-Aminoácidos, estimaciones próximas a las siguientes:

CUADRO N° 7

POSIBLES ALTERNATIVAS EN EL PROCESAMIENTO TISULAR  
PARA OBTENER LAS FRACCIONES MOLECULARES.

Después de la homogeneización . . . .	3.000.000 cpm.
Después del primer lavado . . . . .	120.000 cpm.
Después del segundo lavado . . . . .	8.000 cpm.
Después del tercer lavado . . . . .	420 cpm.
(background . . . . .)	65 cpm.)

La deslipidación se efectuó evitando el empleo del etanol da da su condición de posible disolvente de pequeños péptidos, lo= que podría tener cierta importancia en la determinación de proteínas de los tejidos estudiados, en especial, del hipotálamo.

Los controles realizados en la fracción deslipidizada indica ron una contaminación lipídica prácticamente despreciable.

Tras varios ensayos previos, la separación de ácidos nucleícos y proteínas se hizo siguiendo el procedimiento referido como (1) en el Cuadro n° 7 .

El hecho de no continuar la vía indicada como (2), y que en un principio se consideró como más idónea, fué debido a la impo sibilidad de medir el DNA siguiendo este procedimiento, por cau sas que se desconocen.

La extracción de ácidos nucleícos con TCA 5% supone un equi-  
librio en el tiempo entre una pequeña pérdida de deoxiribosa ==  
por destrucción y una adecuada hidrólisis de los ácidos. Se han  
sugerido tiempos de incubación entre los 10 y 40 minutos.

En ensayos previos se estimó como idóneo el tiempo de 30 mi-  
nutos, dado que la cuantificación del DNA en este momento mos--  
tró un sensible aumento en relación a los 10 minutos y fué prac  
ticamente igual que a los 40 minutos.

En relación a la solubilización de las proteínas en KOH 1H, si bien se han citado condiciones de incubación bastante dispares (30 minutos a 50°C y 20 hr. a 37°C), se comprobó que tras = 2.5 horas a 45°C y agitación permanente, la disolución era completa.

2.6.3.- INCORPORACION DE PRECURSORES MARCADOS .-

Una vez establecido definitivamente el procedimiento experimental para el fraccionamiento molecular de los tejidos, la determinación de la incorporación de precursores marcados se realizó, en primera instancia, utilizando como líquido de centelleo el líquido de Bray (indicado como válido para muestras hidrosolubles):

Naftaleno . . . . .	60 grs.
PPO . . . . .	4 grs.
POPOP . . . . .	200 mgrs.
Metanol . . . . .	100 ml.
EtilenGlicon . . . . .	20 ml.
p-Dioxano . . . . .	Hasta 1 l.

Resultó no obstante, como primer inconveniente, que las proteínas no se disolvían bien en este líquido de centelleo.

En base a ello, se decidió modificar el líquido de Bray original añadiéndole un disolvente orgánico, concretamente Solueno-350 o Tritón X-100, en una proporción adecuada que se estableció, tras varios tanteos, en 50 (líq. Bray):1 (sol. Sol. o Tri.).

El Solueno-350 fué prontamente descartado ya que la disolución de las proteínas seguía teniendo inconvenientes, incluso, previo secado de la alícuota en estufa a 50°C durante 30 min.

No obstante, en los ensayos previos, y a modo de comparación, se empleó la modificación del líquido de Bray original usando tanto el Solueno como el Tritón.

El cálculo de las eficiencias de contaje, por el método de =

de relación de canales con estandard externo, dió un valor, para ambos disolventes, comprendido entre 0.2 y 0.3, que resultaba ser bastante inferior al considerado como idóneo (0.5 como mínimo para el  $^{14}\text{C}$ ).

En consecuencia, se vió la necesidad de replantear la composición del líquido de centelleo buscando una mayor simpleza en el mismo al objeto de que aportase un menor "quench" al contaje.

Se partió así, de dos componentes básicos: PPO y POPOP, y se estudió la proporción idónea de Tritón X-100 a añadir. Resultó= un líquido de centelleo con la siguiente composición:

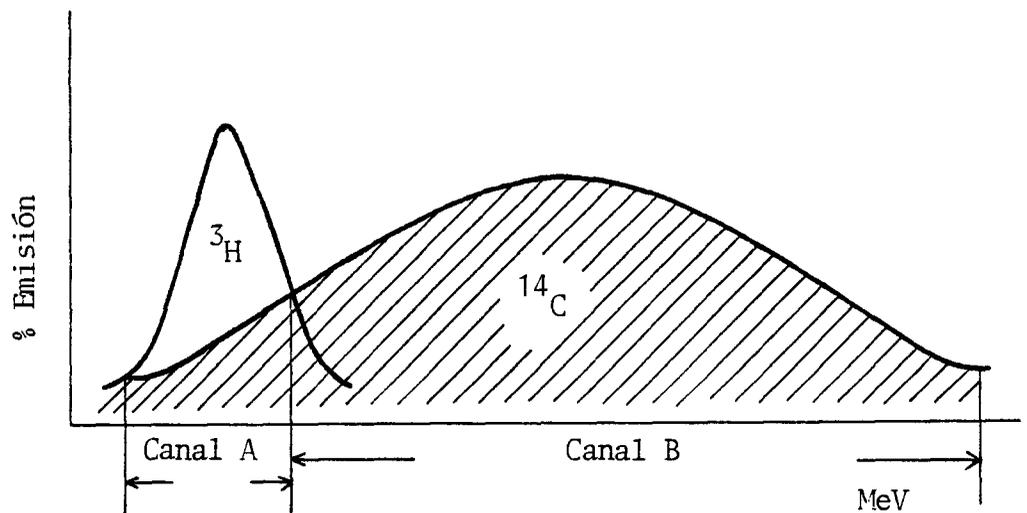
PPO . . . . .	5.0 grs.
POPOP . . . . .	0.5 grs.
Tolueno con un 20% de	
Tritón X-100 . . . . .	hasta 1 l.

Se consiguió una completa disolución de las proteínas neutralizando el medio básico, en el que éstas se hallaban disueltas= en la alícuota, con 50  $\mu\text{l}$ . de  $\text{C}_1\text{H}_8\text{N}$ , añadido previa adición = del líquido de centelleo.

El cálculo de las eficiencias de contaje para las fracciones que habían incorporado tritio y carbono-14, en los distintos canales, dió los resultados apetecidos, con valores comprendidos= entre 0.5 y 0.6.

La expresión de los resultados de incorporación en d.p.m. = ofreció algunas dificultades dadas: las particularidades de los espectros de emisión de ambos isótopos, las características de registro de los canales de  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$  del espectómetro empleado, y la dificultad técnica de conseguir una perfecta o ideal separación de las fracciones moleculares (ácidos nucleicos y proteína)

que han incorporado los isótopos ( $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$ , respectivamente).



Espectros de emisión del  $^3\text{H}$  y  $^{14}\text{C}$   
y canales del espectrómetro.

Se determinó el siguiente cálculo:

$$1^\circ) \text{ dpm } ^{14}\text{C} \text{ incorp.} = \frac{\text{cpm } ^{14}\text{C} (\text{Canal B})}{\text{Efic. } ^{14}\text{C} (\text{Canal B})}$$

Con lo cual se desestimó la pequeña porción de cpm de  $^{14}\text{C}$  que se registran en el canal de tritio (Canal A) y se consideró insignificante la aportación de  $^3\text{H}$  al Canal B.

$$2^\circ) \text{ dpm } ^3\text{H} \text{ incorp.} = \frac{\text{cpm } ^3\text{H} (\text{Canal A}) - \text{cpm } ^{14}\text{C} (\text{Canal A})}{\text{Efic. } ^3\text{H} (\text{Canal A})}$$

siendo:

$$\text{cpm } ^{14}\text{C} (\text{Canal A}) = \frac{\text{cpm } ^{14}\text{C} (\text{Canal B}) \times \text{Efic. } ^{14}\text{C} (\text{Canal A})}{\text{Efic. } ^{14}\text{C} (\text{Canal B})}$$

De esta manera, además de no tener en cuenta la insignificante pérdida de cpm de  $^3\text{H}$  que son contadas en el canal de  $^{14}\text{C}$ , se elimina una posible contribución de cpm  $^{14}\text{C}$ -proteínas, consecuencia de una incompleta separación de fracciones moleculares, al cálculo de las dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporadas.

Como orientación se relacionan a continuación los resultados obtenidos al calcular en corteza cerebral las dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/mg de tejido fresco, sin o con  $^{14}\text{C}$  "contaminante" :

dpm $^3\text{H}$ -Uridina incorp./mg Tej.fresco				dpm $^{14}\text{C}$ -Aminoác. incorp/ mg tejido fresco.	
Sin $^{14}\text{C}$	Con $^{14}\text{C}$	Difer.	% Aumento	Canal $^{14}\text{C}$	% $^{14}\text{C}$ en canal $^3\text{H}$
HD 114.0	119.2	5.2	4.6	65.0	8.0
HP 117.2	122.1	4.9	4.2	60.4	8.1
HD 125.9	132.1	6.2	4.9	68.1	9.1
HC 122.3	128.7	6.4	5.2	67.1	9.5
MN 110.0	114.2	4.2	3.8	74.3	5.6
MC 115.9	122.3	6.4	5.5	69.8	9.2

(H=Hembras; M=Machos; D=Diestro; P=Proestro; E=Estro; C=Castrada (o)s; N=Intactos).

Como puede observarse, la aportación del  $^{14}\text{C}$  al cálculo de = las dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/mg de t.f., se mantiene inferior a 7 dpm, lo que supone una contribución menor al 6%.

En relación a las dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/mg t.f., la pérdida de  $^{14}\text{C}$ -Proteínas en la fracción de ácidos nucleicos se puede cifrar en un valor menor al 10%.

#### 2.6.4.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE DNA .-

Se empleó en método de Burton ( 27 ), de reconocida validez = en la actualidad, dados los numerosísimos trabajos en los que es utilizado.

El método se fundamenta en la reacción de color azulado que = se produce entre la deoxiribosa procedente del DNA hidrolizado, y que originalmente se hallaba unida a las bases púricas, y el reactivo de Difenilamina.

En los estudios previos del método se comprobó positivamente = la aportación de Burton al procedimiento original: aumentar la = sensibilidad y disminuir las interferencias introduciendo acetaldehido en el reactivo y alargando el tiempo de la reacción (de = 10 minutos a 17 horas) disminuyendo, paralelamente, la temperatura de 100°C a 37°C.

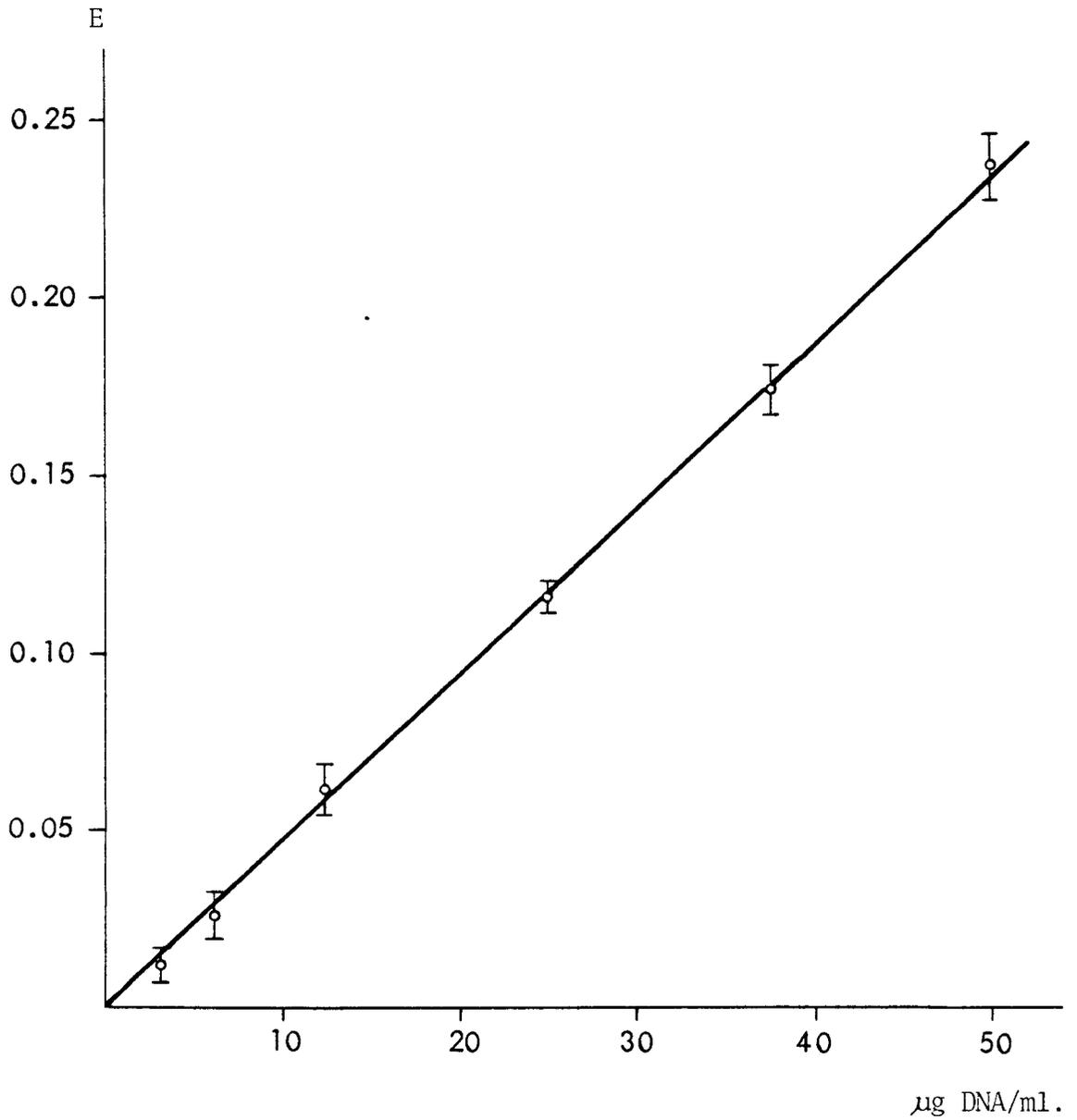
Igualmente tras las distintas pruebas realizadas, se consideró oportuno, dado el ligero aumento en la sensibilidad que se = conseguía, alterar ligeramente la proporción de los componentes = del reactivo y dejar transcurrir la reacción por 48 horas a 20°C.

El estudio de las interferencias mostró que la aportación del RNA resultaba insignificante y menor al 1%.

Las distintas curvas standard realizadas durante el periodo = de experimentación dieron un alto grado de reproducibilidad, con escasa dispersión de valores en cada punto de la recta como puede observarse en la Fig. 1.

Los coeficientes de extinción (E) óptimos de medida se situaron entre 0.100 y 0.25, equivalentes a 25 y 50  $\mu\text{g}$  de DNA/ml., respectivamente. En este rango de valores se procuró situar las concentraciones de DNA problema de los distintos tejidos mediante = diluciones adecuadas.

FIGURA N° 1



RECTA DE CALIBRADO PARA LA DETERMINACION DE DNA.

En general se apreció que para concentraciones de DNA inferiores a 6  $\mu\text{g/ml.}$ , el método carece de fiabilidad.

Originalmente, Burton refería sus datos a concentraciones de P-DNA (fosforo contenido en el DNA) en vez de a concentraciones de DNA mismas (deoxiribosa unida a purinas). Con ello trataba de evitar posibles impurezas en el DNA estandard empleado y "homogeneizar" los datos para distintos DNA estardards y DNA problemas.

En la actualidad, por razones obvias, esta determinación está en desuso, al menos, en estudios que, como el presente, más que estimaciones absolutas pretende obtener valores comparativos en un mismo tejido de una misma especie animal.

#### 2.6.5.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE RNA .-

El método de Schneider ( 238 ), usado en este trabajo, se basa en la reacción colorimétrica (verdosa) que se produce entre la ribosa, originalmente unida a bases púricas del RNA hidrolizado y el reactivo de orcinol.

A diferencia del método de Burton, su empleo es bastante menos frecuente, y los datos que aporta deben ser considerados con una mayor prudencia.

Tras los ensayos previos, se decidió alterar ligeramente la composición del reactivo original y el tiempo de la reacción, sin que ello supusiera una mejoría sensible del método.

El estudio de las interferencias puso de manifiesto que la deoxiribosa reacciona ligeramente con el reactivo de orcinol. Esta reacción aditiva a la de la ribosa, no llegó a ser en cualquier caso, y en el rango de concentraciones de DNA presentes en

la alicuota procedente de los distintos tejidos, superior al 5%. Este hecho, unido a la constancia en las concentraciones de DNA de un tejido determinado en las distintas circunstancias experimentales, llevó a la conclusión de tomar la concentración de RNA tal y como era medida sin aplicar ningún factor de corrección.

Las curvas standards obtenidas en el curso del periodo de experimentación ofrecieron un apreciable grado de reproductibilidad, con escasa dispersión de valores en cada punto de la recta (véase Fig. 2).

Los valores óptimos de E estuvieron entre 0.100 y 0.400 y correspondieron a un margen de variación de RNA entre 12.5 y 50  $\mu\text{g/ml}$ . El límite de sensibilidad del método se situó en 10  $\mu\text{g}$  de RNA/ml.

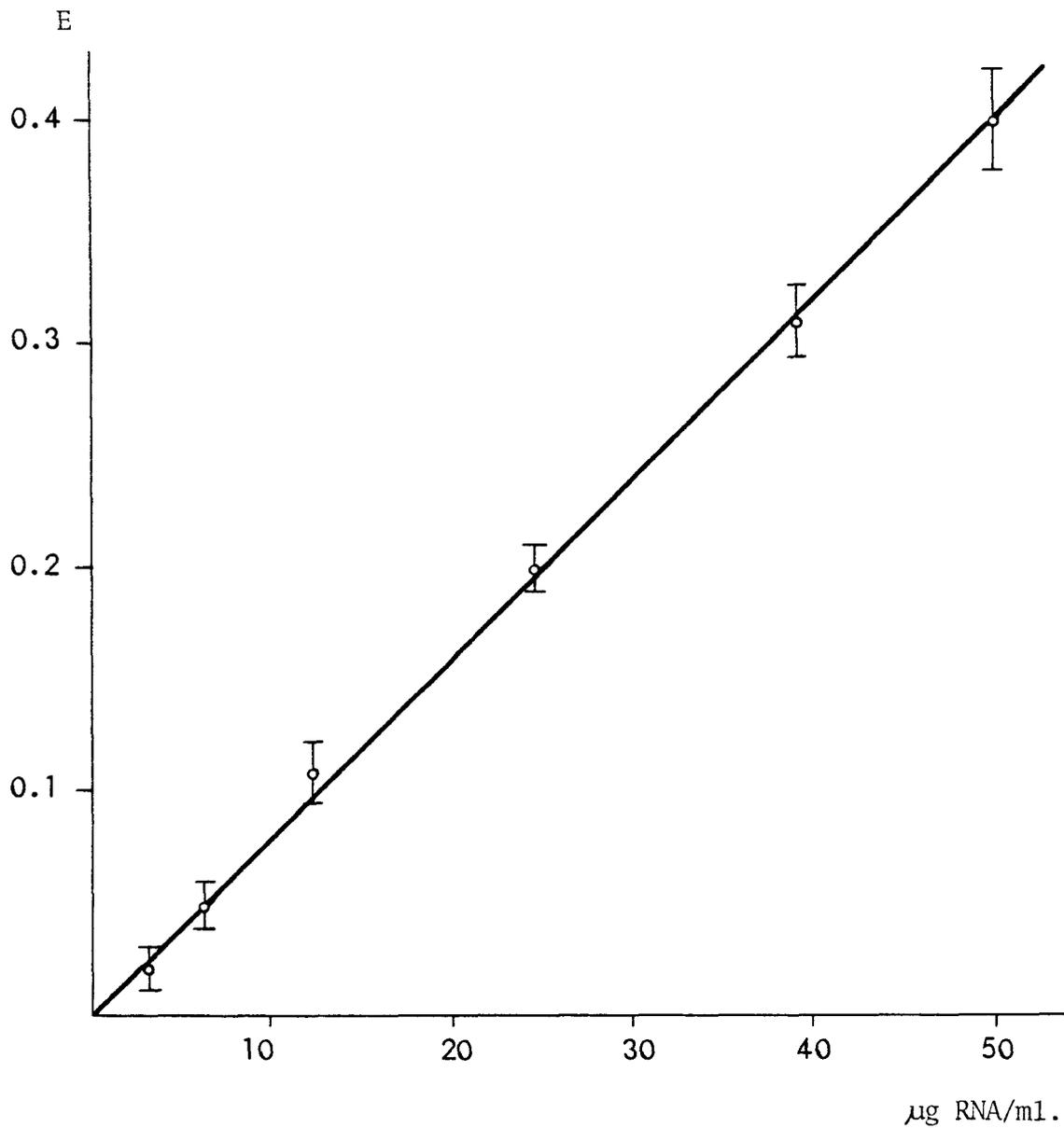
Quizás el aspecto más débil del método se encuentre en que, dado que solo mide ribosa unida a purinas, su uso debe ser restrictivo a comparaciones en un mismo tejido y las concentraciones de RNA obtenidas en situaciones de distinta actividad no reflejen con absoluta fiabilidad lo que en la realidad acontece. Es razonable pensar, no obstante, que el margen de error que este hecho pudiera introducir en el presente trabajo debe ser, si no despreciable, al menos poco significativo.

#### 2.6.6.- DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DE PROTEINAS .-

El empleo del método de Lowry y Col. se realizó tal y como estaba establecido en el procedimiento original.

Su amplia aceptación hace que se prescinda de cualquier valoración crítica del mismo.

FIGURA N° 2



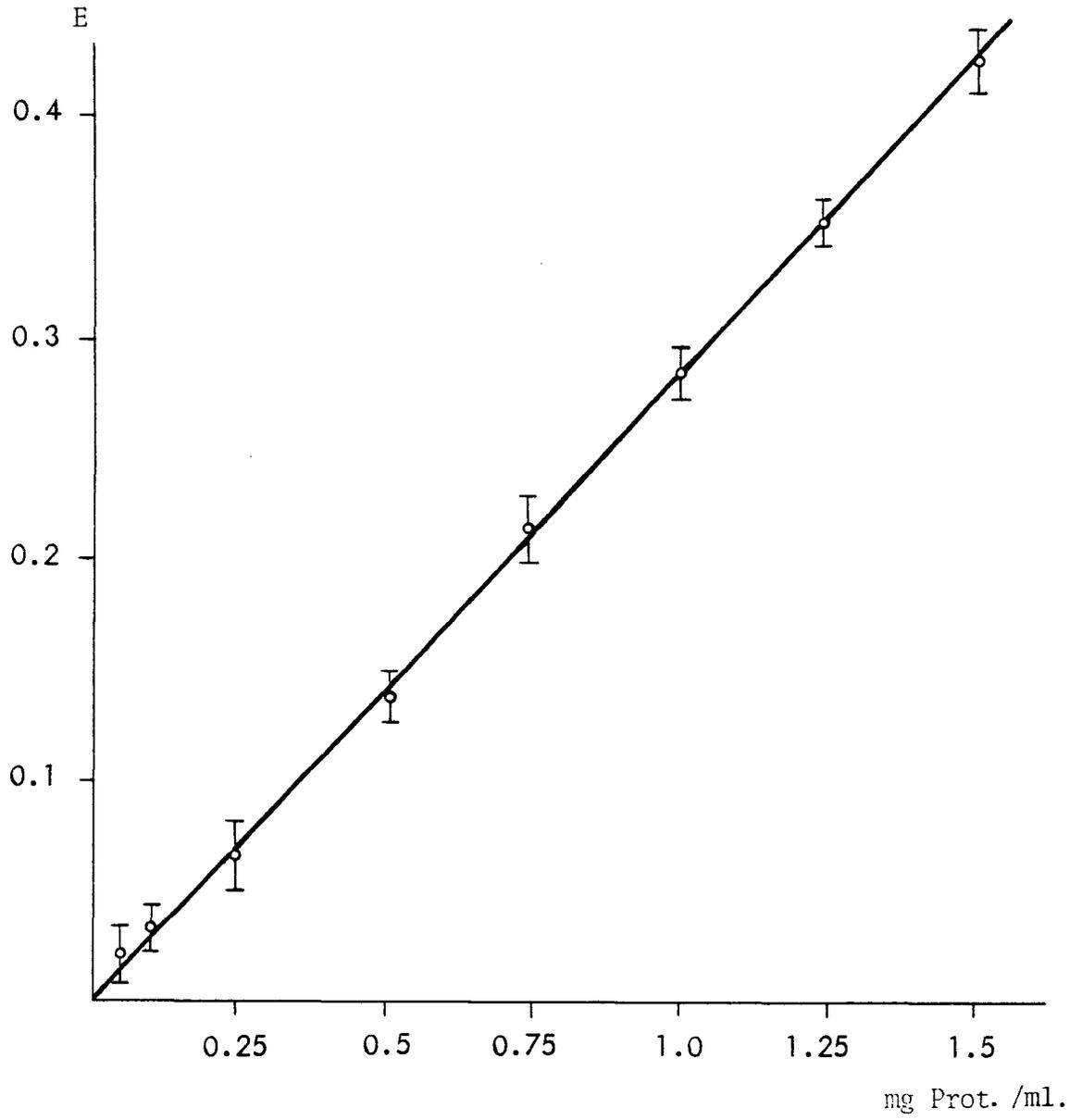
RECTA DE CALIBRADO PARA LA DETERMINACION DE RNA.

La Fig. 3 muestra una recta de calibrado resumen de las realizadas durante el tiempo de experimentación. En general la recta sufrió escasas variaciones, ofreciendo valores de E con muy poca dispersión para cada concentración de proteínas.

El rango óptimo de medida de E estuvo entre 0.200 y 0.44, correspondiendo a concentraciones de proteínas situadas entre 0.5 y 1.5 mg/ml.

El límite de fiabilidad del método se estableció en 0.2 mg = de proteínas/ml.

FIGURA N° 3



RECTA DE CALIBRADO PARA LA DETERMINACION DE PROTEINAS.

### 3.- RESULTADOS

### 3.1.- C O R T E Z A   C E R E B R A L

### 3.1.1.- CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.-

Durante el ciclo sexual la concentración de DNA por célula expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco, fué de: 0.665 en el diestro, 0.717 en el proestro y 0.677 en el estro (3.1.1.1, Fig. 4a). La mayor diferencia no llegó al 8% y las comparaciones entre los distintos días carecieron de significación.

La concentración de DNA por célula en ovariectomizadas: 0.662  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco (3.1.1.1, Fig. 4a) no presentó variación alguna en relación a la obtenida durante el ciclo.

En la hembra ciclante la concentración de RNA por célula, estimada a partir del cociente  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , evolucionó así: 0.897 en el diestro, 0.866 en el proestro y 0.915 en el estro (3.1.1.2, Fig. 4b). Los cambios, que no superaron el 6%, no fueron significativos.

La castración condujo a una concentración de RNA de 0.967  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  (3.1.1.2, Fig. 4b), estadísticamente similar a las registradas en el ciclo, de las que difirió en menos de un 12%.

La concentración de proteínas por célula, expresada en  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$ , presentó una fluctuación mínima, no más de un 11%, y no significativa, a lo largo del ciclo sexual, siendo los niveles alcanzados de 287.0 en el diestro, 255.0 en el proestro y 264.7 en el estro (3.1.1.3, Fig. 4c).

Tras la ovariectomía, la concentración de proteínas: 273.2  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  (3.1.1.3, Fig. 4c), tampoco resultó ser distinta a la obtenida en la hembra ciclante.

Para la síntesis de RNA por célula, expresada como dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g DNA}$ , se encontraron, durante el ciclo sexual,

los siguientes valores: 179.3 en el diestro, 178.8 en el proestro y 184.1 en el estro (3.1.1.4, Fig. 5a). Las diferencias inferiores al 3%, no tuvieron significación estadística.

En la hembra castrada la síntesis de RNA fué de 191.1 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA (3.1.1.4, Fig. 5a), mostrando así, un índice de actividad igual al observado durante el ciclo.

La síntesis de proteínas por célula, calculada en dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA, se mantuvo constante a lo largo del ciclo sexual, siendo el 99.6 en el diestro, 96.8 en el proestro y 101.7 en el estro (3.1.1.5, Fig. 5b).

Idéntica intensidad biosintética se registró tras la extirpación gonadal, donde la síntesis de proteínas fué de 103.6 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporado/ $\mu\text{g}$  DNA (3.1.1.5, Fig. 5b).

Como para los parámetros citados, la tasa de recambio de RNA, expresada en dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA, no se modificó significativamente en la hembra ciclante. Los resultados obtenidos fueron: 190.8 en el diestro, 200.3 en el proestro y 185.4 en el estro (3.1.1.6, Fig. 6a).

En ovariectomizadas, el recambio de RNA hallado: 185.4 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA (3.1.1.6, Fig. 6a) fué, también, análogo al detectado a lo largo del ciclo.

La tasa de recambio proteica, calculada como dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/mg proteínas, evolucionó en el ciclo de la forma siguiente: 367.5 en el diestro, 365.5 en el proestro y 376.0 en el estro (3.1.1.7, Fig. 6b). Los cambios mínimos carecieron de significación.

Esta situación de constancia permaneció después de la castra-

ción, que dió lugar a un recambio proteico de 398.8 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporado/mg proteínas (3.1.1.7, Fig. 6b).

3.1.1.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA .

EXPRESADA EN;  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	10	0.665	0.127	0.040
Proestro	10	0.717	0.144	0.045
Estro	8	0.677	0.067	0.024
Castradas	10	0.662	0.253	0.080
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	0.81	N.S.	7.8	
Proestro/Diestro	0.68	N.S.	5.6	
Estro/Diestro	0.23	N.S.	1.8	
Diestro/Castradas	0.00	N.S.	0.5	
Proestro/Castradas	0.57	N.S.	7.7	
Estro/Castradas	0.15	N.S.	2.2	

3.1.1.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	7	0.897	0.226	0.085
Proestro	9	0.866	0.193	0.064
Estro	8	0.915	0.226	0.080
Castradas	8	0.967	0.212	0.074

-----

	t Student	Signific. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.28	N.S.	3.5
Proestro/Estro	0.45	N.S.	5.7
Estro/Diestro	0.14	N.S.	2.0
Diestro/Castradas	0.58	N.S.	7.8
Proestro/Castradas	0.97	N.S.	11.7
Estro/Castradas	0.44	N.S.	5.7

3.1.1.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

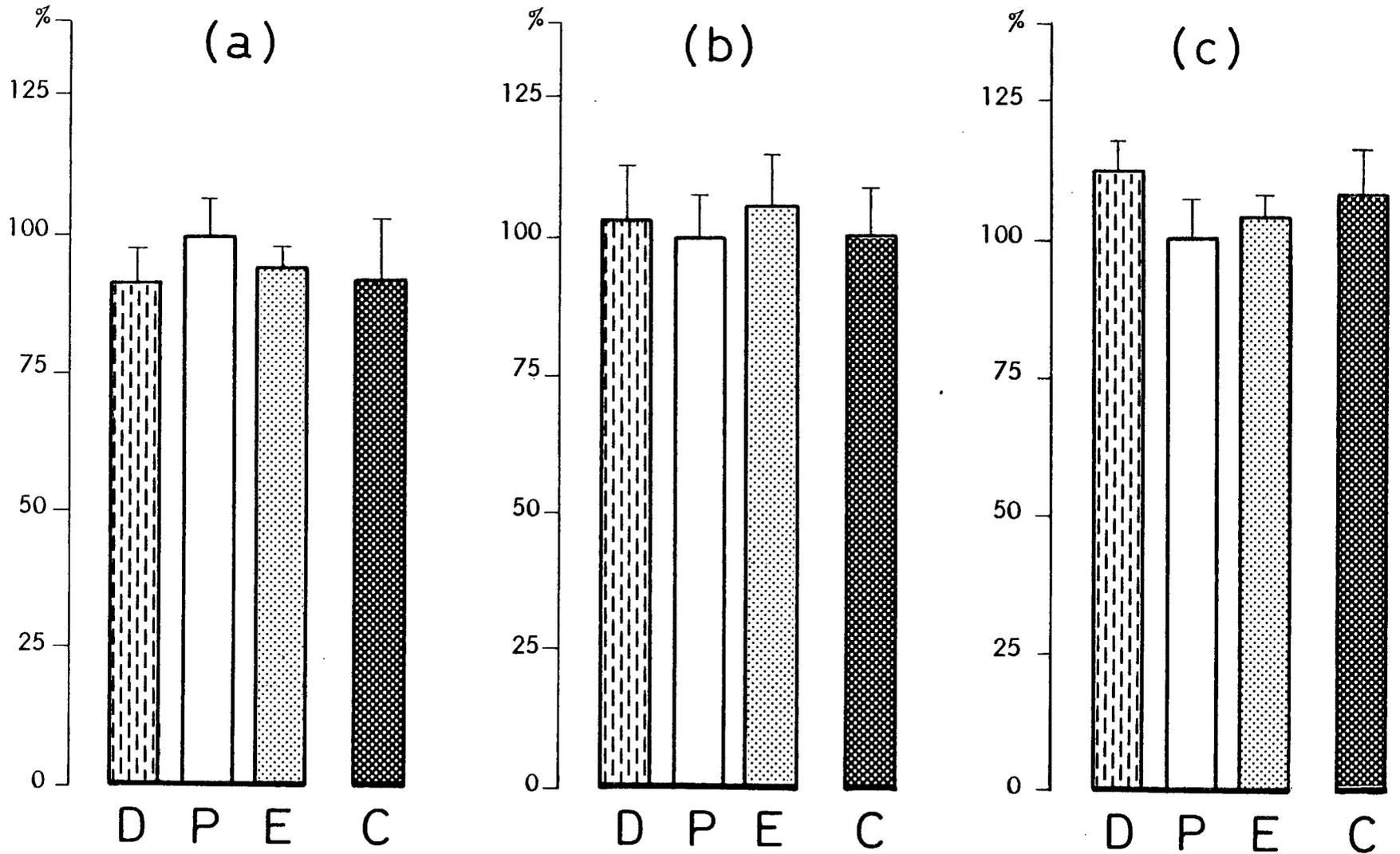
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	287.0	40.7	14.4
Proestro	8	255.0	51.7	18.3
Estro	7	264.7	26.5	10.0
Castradas	8	273.2	64.0	22.6

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.03	N.S.	11.1
Proestro/Estro	0.31	N.S.	3.8
Estro/Diestro	0.29	N.S.	8.4
Diestro/Castradas	0.62	N.S.	4.8
Proestro/Castradas	0.62	N.S.	7.1
Estro/Castradas	0.40	N.S.	3.2

FIGURA N° 4



3.1.1.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

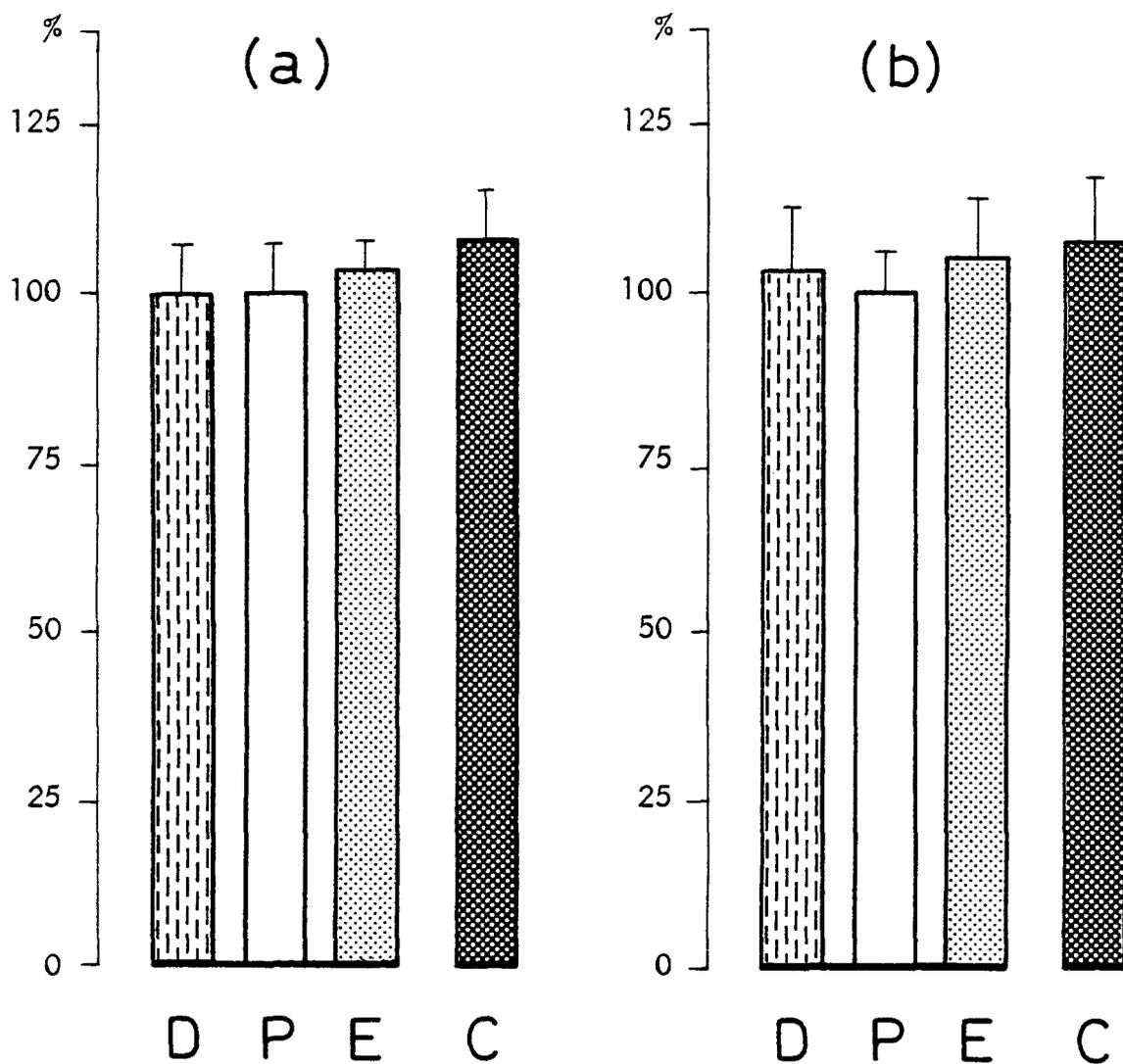
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	179.3	37.1	12.4
Proestro	8	178.8	37.6	13.3
Estro	8	184.1	24.6	8.7
Castradas	10	191.1	41.2	13.0
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	0.03	N.S.	0.3	
Proestro/Estro	0.31	N.S.	3.0	
Estro/Diestro	0.29	N.S.	2.6	
Diestro/Castradas	0.62	N.S.	6.6.	
Proestro/Castradas	0.62	N.S.	6.9	
Estro/Castradas	0.40	N.S.	3.8	

3.1.1.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	99.6	25.3	8.9
Proestro	9	96.8	19.0	6.3
Estro	8	101.7	23.4	8.3
Castradas	8	103.6	24.3	8.6
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	0.30	N.S.	2.8	
Proestro/Estro	0.45	N.S.	5.1	
Estro/Diestro	0.16	N.S.	2.1	
Diestro/Castradas	0.30	N.S.	4.0	
Proestro/Castradas	0.61	N.S.	7.0	
Estro/Castradas	0.15	N.S.	1.9	

FIGURA N° 5



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los = valores obtenidos en proestro (P): (a)  $178.8 \pm 13.3$  dpm ( $^3$ H) Uridina incorp./ $\mu$ g DNA, (b)  $96.3 \pm 6.3$  dpm ( $^{14}$ C) Aminoácid. incorp./ $\mu$ g DNA (D = - diestro, E = estro).

3.1.1.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATA HEMBRA  
DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	190.8	47.7	14.1
Proestro	10	200.3	46.5	14.7
Estro	8	185.4	42.4	15.0
Castradas	10	185.4	47.8	15.1

-----

	t Student	Signif.Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.42	N.S.	5.0
Proestro/Estro	0.66	N.S.	7.4
Estro/Diestro	0.23	N.S.	2.9
Diestro/Castradas	0.23	N.S.	2.8
Proestro/Castradas	0.67	N.S.	7.4
Estro/Castradas	0.00	N.S.	0.0

3.1.1.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

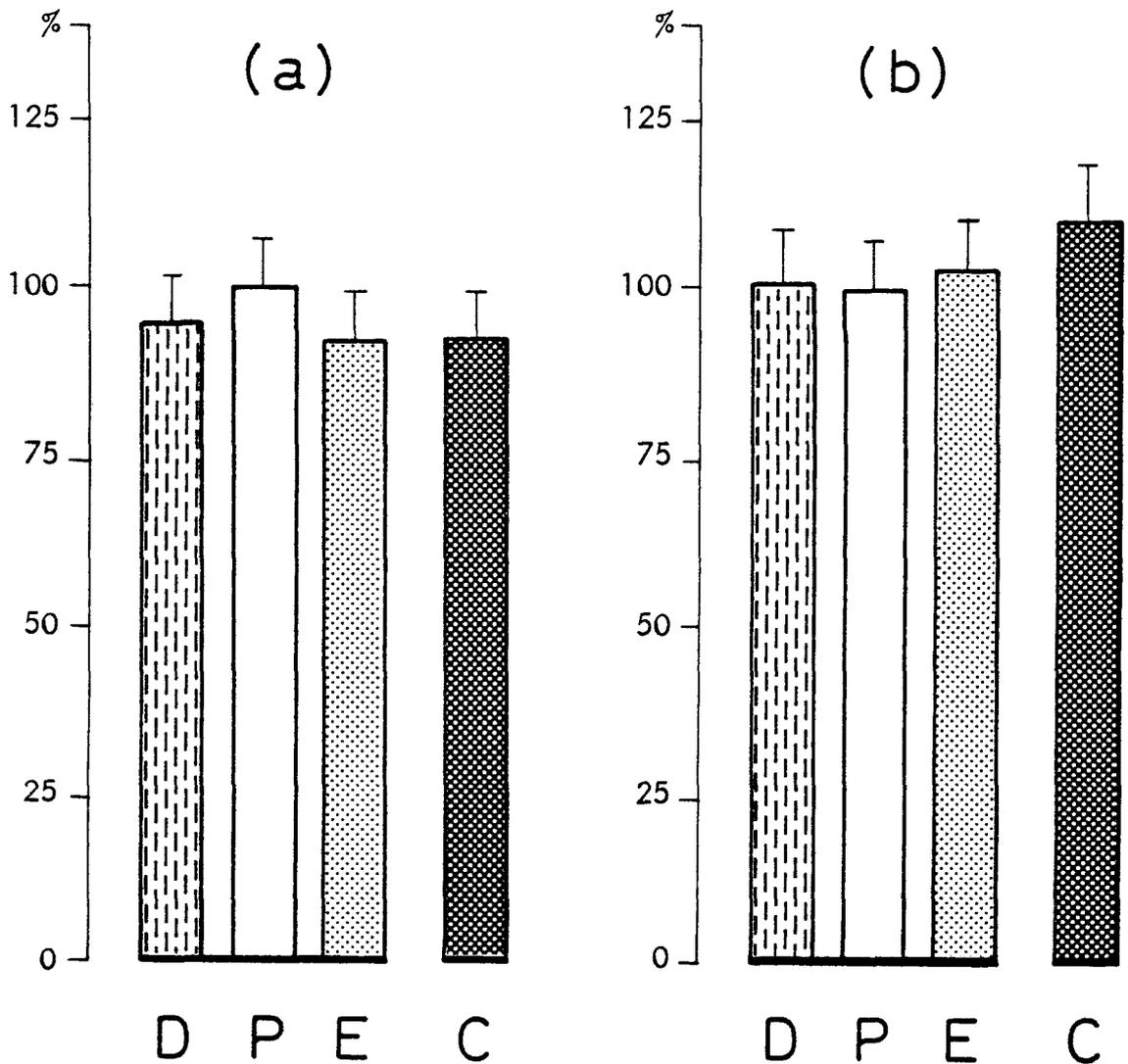
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	367.5	86.0	30.4
Proestro	8	365.5	74.6	26.3
Estro	8	376.0	72.3	25.5
Castradas	9	398.8	91.5	30.5

-----

	t Student	Signif.Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.05	N.S.	0.5
Proestro/Estro	0.27	N.S.	2.9
Estro/Diestro	0.20	N.S.	2.3
Diestro/Castradas	0.68	N.S.	8.5
Proestro/Castradas	0.77	N.S.	9.1
Estro/Castradas	0.53	N.S.	6.1

FIGURA N° 6



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los = valores obtenidos en proestro (P): (a)  $200.3 \pm 14.7$  dpm ( $^3H$ ) Uridina incorp./ $\mu$ g RNA, (b)  $365.5 \pm 26.3$  dpm ( $^{14}C$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas. (D = diestro, E = estro).

3.1.2.- CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO .-

Después de la orquidectomía la concentración de DNA por célula, expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco, permaneció inalterada, siendo de 0.668 en los machos intactos y de 0.691 en los castrados, (3.1.2.1., Fig. 7a).

La concentración de RNA por célula que pasó de 0.871  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en los controles a 0.863  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en castrados (3.1.2.2, Fig. 7b), se matuvo igualmente, sin cambio significativo.

La extirpación testicular tampoco afectó a la concentración de proteínas por célula, que fué de 303.9  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  = en los machos control y de 299.3 en orquidectomizados (3.1.2.3, Fig. 7c).

Los valores obtenidos para la síntesis de RNA por célula, expresada en  $\text{dpm } ^3\text{H-Uridina incorporada}/\mu\text{g DNA}$ : 172.6 en machos = intactos y 175.5 en castrados (3.1.2.4, Fig. 8a), mostraron, como en los casos anteriores, la ausencia de variación significativa.

Idéntica fué la respuesta a la ausencia de las gónadas de la síntesis de proteínas por célula que, calculada por el cociente  $\text{dpm } ^{14}\text{C-Aminoácidos incorporados}/\mu\text{g DNA}$ , dió: 119.1 en los controles y 111.8 en los castrados (3.1.2.5, Fig. 8b).

En tasa de recambio de RNA, obtenida en la relación  $\text{dpm } ^3\text{H-Uridina incorporada}/\mu\text{g RNA}$ , también se conservó sin cambios: = 176.2 en machos intactos y 179.8 en orquidectomizados (3.1.2.6, Fig. 9a).

Finalmente, lo mismo sucedió con la tasa de recambio proteica, que, medida como el cociente  $\text{dpm } ^{14}\text{C-AAAs incorporada}/\text{mg}$  = proteínas, resultó ser de 393.0 en los controles y 377.0 en los machos castrados (3.1.2.7, Fig. 9b).

3.1.2.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	0.668	0.128	0.043
Castrados	8	0.691	0.137	0.048
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.34	N.S.	3.4	

3.1.2.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	0.871	0.196	0.069
Castradas	8	0.863	0.208	0.073

-----

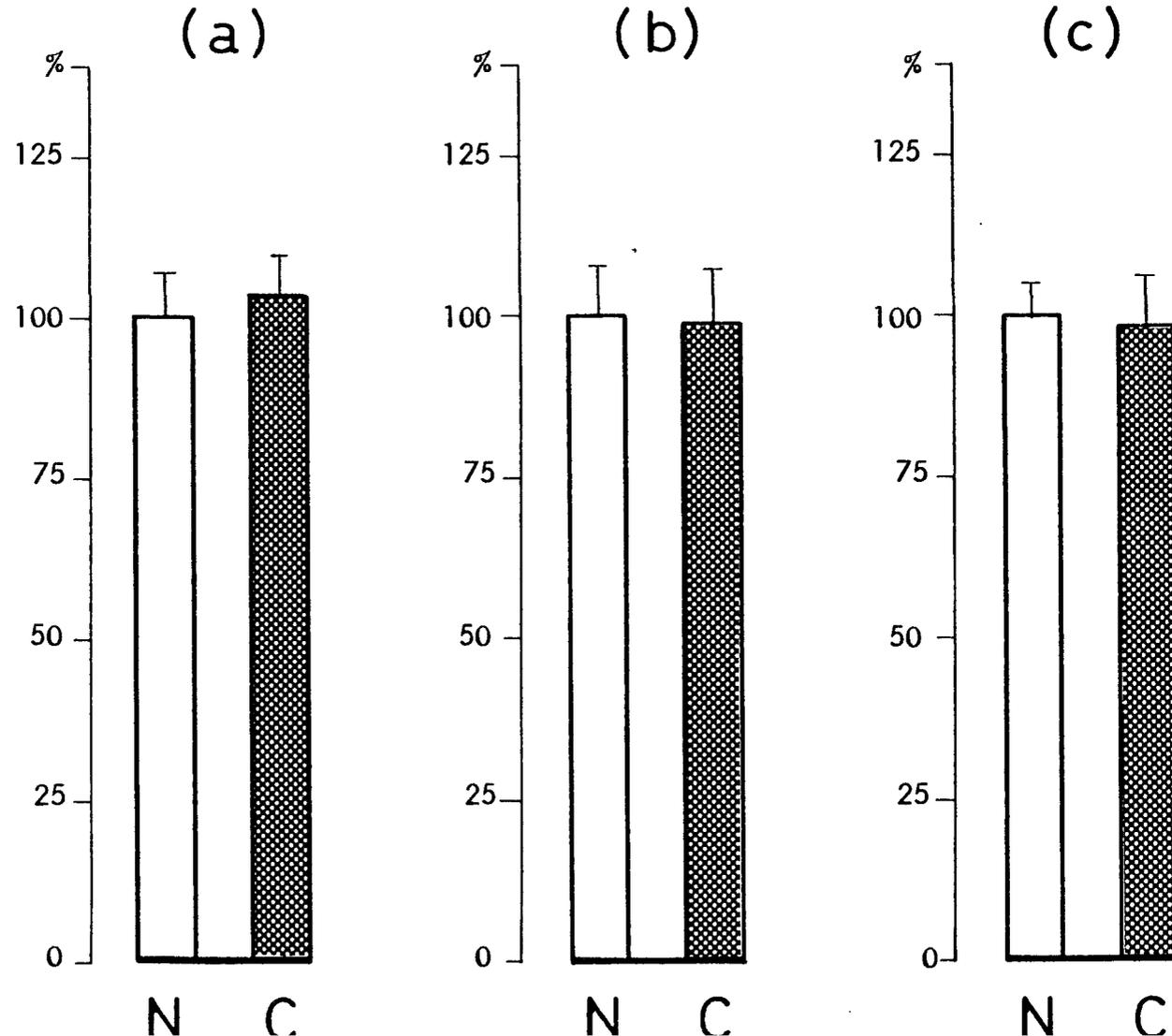
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	0.07	N.S.	0.9

3.1.2.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	303.86	41.63	14.72
Castrados	8	299.32	65.54	23.17
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.15	N.S.	1.5	

FIGURA N° 7



3.1.2.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

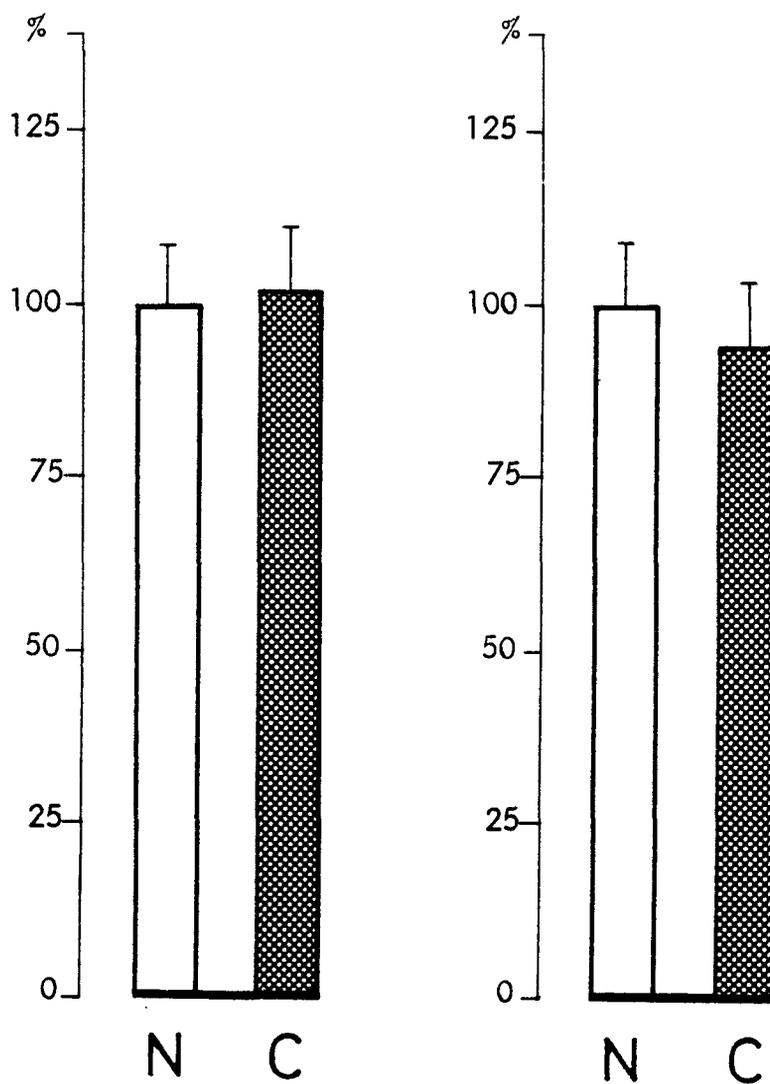
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	172.65	43.03	14.34
Castradas	8	175.53	45.87	16.22
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.12	N.S.	1.7	

3.1.2.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	119.06	30.89	10.92
Castradas	8	111.80	31.91	11.28
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.37	N.S.	6.1	

FIGURA N° 8



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $172.6 \pm 14.3$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  = DNA, (b)  $119.1 \pm 10.9$  dpm ( $^{14}\text{C}$ )Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  = DNA.

3.1.2.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

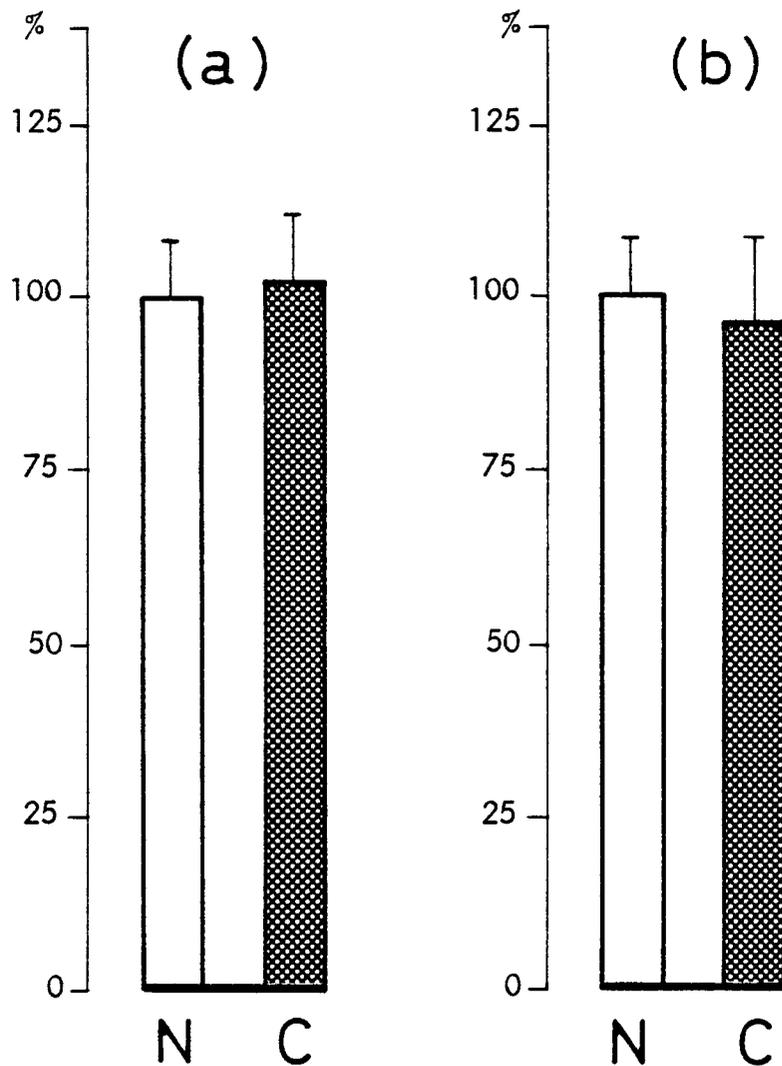
EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	10	176.2	47.1	14.9
Castradas	8	179.8	47.0	16.6
-----				
	t Student	Signif, Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.34	N.S.	3.4	

3.1.2.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	10	393.0	103.7	32.7
Castrados	9	377.0	142.5	47.5
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.26	N.S.	4.1	



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN CORTEZA CEREBRAL DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $176.2 \pm 14.9$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $393.0 \pm 32.7$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas.

### 3.2.- ADENOHIPOFISIS

### 3.2.1.- ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA .-

A lo largo del ciclo estral el peso fresco de la glándula permaneció constante, obteniéndose valores de: 8.32 mg en el diestro, 9.19 mg en el proestro y 8.69 mg en el estro (3.2.1.1, Fig. 10a), lo que supuso una diferencia máxima del 10.5% (entre el diestro y el proestro).

ROBINSON y Col. (226) y SALAMAN (230) han referido, igualmente, una ausencia de cambio significativo en el peso fresco de la adenohipófisis con las distintas fases del ciclo sexual.

CONVEY y Col (40), sin embargo, detectaron en el estro un peso glandular más elevado en un 19.8% al del proestro y en un 13.4% al del diestro.

En ratas ovariectomizadas la adenohipófisis alcanzó un peso de 10.75 mg (3.2.1.1, Fig. 10a), que resultó ser significativamente mayor que el peso de la glándula en cualesquiera de los días del ciclo. Porcentualmente, la castración representó un incremento del 29% ( $p < 0.005$ ), 17% ( $p < 0.025$ ) y 24% ( $p < 0.01$ ) respecto al diestro, proestro y estro, respectivamente.

Después de 16 días de extirpación gonadal, ROBINSON y LEAVITT (225) encontraron entre un 7% y un 10% de aumento en el peso adenohipofisario en comparación a la hembra ciclante.

La concentración de DNA por célula, expresada como  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco, fué durante el ciclo de: 6.10 en el diestro, 5.82 en el proestro y 6.01 en el estro (3.2.1.2, Fig. 10b). La variación porcentual entre cada par de valores no llegó al 5%, careciendo siempre de significación.

Tras la ovariectomía la concentración de DNA:  $5.75 \mu\text{g DNA/mg}$

tejido fresco (3.2.1.2, Fig.10b) fué algo más baja que la registrada a lo largo del ciclo. Este descenso, que no sobrepasó el 6%, no tuvo significación estadística.

Los resultados obtenidos para el contenido glandular de DNA: 47.2  $\mu\text{g}$  en el diestro, 50.6  $\mu\text{g}$  en el proestro y 49.8  $\mu\text{g}$  en el estro (3.2.1.3, Fig.10c), con una diferencia máxima del 7%, mostraron la constancia del mismo en la hembra ciclante.

Tanto para la concentración por célula como para el contenido glandular de DNA, ROBINSON y Col. (226) y CONVEY y Col. (40) señalaron, de acuerdo con los datos presentados aquí, la ausencia de variaciones significativas durante el ciclo sexual.

En hembras castradas el contenido adenohipofisario en DNA se elevó a 56.64  $\mu\text{g}$  (3.2.1.3, Fig.10c), lo que representó un ligero aumento, no significativo, del 12% en relación al proestro e incrementos del 20% ( $p < 0.025$ ) y 14% ( $p < 0.05$ ) en comparación a lo obtenido en el diestro y estro, respectivamente.

ROBINSON y Col. (226) a la vez que no observaron cambio alguno en la concentración de DNA por célula tras la ovariectomía, encontraron un contenido glandular de DNA en hembras castradas superior en un 26% respecto al del diestro y en un porcentaje algo menor en relación al del proestro y estro.

Durante el ciclo sexual la concentración de RNA por célula, estimada por el cociente  $\text{ug RNA}/\mu\text{g DNA}$ , evolucionó así: 0.182 para el diestro, 0.236 para el proestro y 0.213 para el estro (3.2.1.4, Fig.11a). Tuvo significación ( $p < 0.05$ ) el incremento del 30% que se produjo en el tránsito del diestro al proestro.

Un patrón de fluctuación similar se encontró para el contenido glandular de RNA: 9.54  $\mu\text{g}$  en el diestro, 12.50  $\mu\text{g}$  en el proes

tro y  $11.17 \mu\text{g}$  en el estro (3.2.1.5, Fig.11b), siendo significativos el aumento del 31% ( $p < 0.025$ ) que acompañó el paso diestro-proestro y el descenso del 17% ( $p < 0.05$ ) que supuso el avance = del estro al nuevo diestro.

Como en el presente trabajo, ROBINSON y Col. (226) detectaron los más altos niveles de concentración y contenido de RNA en los días del proestro y estro, estando las diferencias porcentuales = de los pares de valores comprendidas entre el 10 y el 20%.

SALAMAN (230), por el contrario, observó oscilaciones mínimas y no significativas de la concentración de RNA a lo largo del ciclo.

CONVEY y Col. (40), por su parte, obtuvieron las mayores concentraciones celulares y contenido glandular de RNA en el día = del estro, siendo las más bajas (en un 22% y 28%, respectivamente) las del diestro.

La extirpación gonadal dió lugar a una concentración de RNA = por célula de  $0.213 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (3.2.1.4, Fig.11a), que fué = un 37% mayor que la del diestro ( $p < 0.05$ ) y no significativamente distinta a la de los otros días del ciclo.

De otro lado, el contenido adenohipofisario de RNA en hembras castradas:  $11.17 \mu\text{g}$  (3.2.1.5, Fig.11b), representó una subida = del 47% ( $p < 0.025$ ) respecto al del diestro y del 26% ( $p < 0.05$ ) = comparado al del estro.

En ovariectomizadas de 16 días, ROBINSON y Col. (226) registraron, tanto para la concentración como para el contenido de = RNA, descensos comprendidos entre el 20 y el 30% en relación a = las hembras ciclantes.

La concentración de proteínas por célula en el promedio de la glándula, estimada por el cociente  $\mu\text{g}$  proteínas/ $\mu\text{g}$  DNA, osciló = así a lo largo del ciclo: 48.5 en el diestro, 53.7 en el proestro y 52.3 en el estro (3.2.1.6, Fig.12a ). Los cambios producidos, carentes todos de significación estadística, no superaron = el 11% (entre el diestro y el proestro).

El contenido glandular de proteínas durante el ciclo sexual = fluctuó de un modo parecido a como lo hizo la concentración: = 2.63 mg en el diestro, 3 mg en el proestro y 2.76 en el estro = (3.2.1.7, Fig.12b ). Aunque se llegaron a conseguir diferencias = de hasta un 14% (entre el proestro y el estro), éstas carecieron siempre de significación estadística.

En coincidencia con los resultados expuestos, ROBINSON y Col. (226) encontraron valores de concentración y contenido de proteínas ligeramente más altos, si bien no significativamente diferentes, en los días del proestro y estro.

Igualmente TER HAAR y Col. (272) refirieron, para las horas = del día en que se efectuaron las mediciones en el presente trabajo, una concentración de proteínas por célula constante durante = el ciclo sexual.

En hembras castradas la concentración de proteínas por célula fué de 55.6  $\mu\text{g}$  proteínas/ $\mu\text{g}$  DNA (3.2.1.6, Fig.12a ), un nivel = igual al mayor de los obtenidos durante el ciclo y más elevado, = en un 15% ( $p < 0.05$ ), al registrado en el diestro.

En lo que concierne al contenido proteico adenohipofisario, éste resultó ser de 3.21 mg tras la extirpación gonadal (3.2.1.7, Fig.12b ), lo que supuso un aumento del 22% ( $p < 0.05$ ) en relación al diestro y un contenido similar que el del proestro y estro.

La síntesis de RNA por célula, expresada como dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA, osciló en la hembra ciclante de la siguiente manera: 44.2 en el diestro, 57.5 en el proestro y 63.1 en el estro (3.2.1.8, Fig. 13a). En el avance del ciclo fueron significativos el incremento del 43% ( $p < 0.005$ ) en el paso diestro=proestro y el descenso del 30% ( $p < 0.005$ ) en el paso estro=diestro.

La castración condujo a una síntesis de RNA de 72.8 (3.2.1.8, Fig. 13 a), lo que significó un aumento del 65% ( $p < 0.005$ ) y = 27% ( $p < 0.005$ ) respecto a la observada en el diestro y proestro, respectivamente.

A lo largo del ciclo sexual la síntesis de proteínas por célula, expresada por el cociente dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA, evolucionó así: 350.4 en el diestro, 432.9 en el proestro y 444.9 en el estro (3.2.1.9, Fig. 13b). Destacan la subida del 24% ( $p < 0.025$ ) en el paso diestro-proestro y la baja del 27% ( $p < 0.05$ ) en el tránsito del estro al diestro.

Tras la ovariectomía la síntesis de proteínas por célula: = 499.3 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA (3.2.1.9, Fig. 13b) no difirió de la obtenida en los días proestro y estro y fué más alta, con un 43% ( $p < 0.005$ ), que la del diestro.

En la hembra ciclante la tasa de recambio de RNA, calculada a partir del cociente dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA, resultó ser de: 244.8 en el diestro, 232.3 en el proestro y 312.6 en el estro (3.2.1.10, Fig. 14a). Mostraron significación estadística la elevación del 28% ( $p < 0.01$ ) del paso proestro=estro y el descenso del 35% ( $p < 0.005$ ) del paso estro=diestro.

SALAMAN (230) describió una intensidad de recambio de RNA =

mayor, hasta en un 87%, en el proestro y el estro que en el diestro.

La tasa de recambio encontrada después de la extirpación gonadal: 312.6 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA (3.2.1.10, Fig.14a) supuso incrementos del 37% ( $p < 0.005$ ) y del 44% ( $p < 0.005$ ) en relación a los valores registrados en los días del diestro y proestro, respectivamente.

Por lo que se refiere a la fluctuación de la tasa de recambio de proteínas, expresada en dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/mg = proteínas, durante el ciclo sexual, los datos recogidos: 6718.3 en el diestro, 8375.7 en el proestro y 9156.5 en el estro (3.2.1.11, Fig.14b), señalaron cambios significativos en los pasos diestro-proestro (elevación del 25%) ( $p < 0.025$ ) y estro-diestro = (descenso del 36%) ( $p < 0.01$ ).

MOGUILJEVSKI y Col. (199) experimentando "in vitro" refirieron, en coincidencia con lo expuesto, una tasa de recambio proteica = mayor (entre un 58. y un 70%) en el proestro y el estro que en el diestro.

Por contra, TER HAAR y Col. (272), trabajando "in vivo", encontraron una intensidad de recambio en torno a un 45% más alta en el proestro que en los otros días del ciclo.

La castración situó la tasa de recambio proteica en 10361.8 = dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/mg proteínas (3.2.1.11, Fig.14b), un nivel de actividad análoga al del estro y significativamente más elevada, en un 24% ( $p < 0.025$ ) y en un 54% ( $p < 0.005$ ) respectivamente, a la obtenida en el proestro y diestro.

En hembras castradas por 21 días, SALAMAN(148) encontró un recambio proteico similar al del estro y diestro y menor, en un 33%, al del proestro.

## 3.2.1.1.- PESO DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	10	8.32	1.20	0.38
Proestro	10	9.19	1.05	0.33
Estro	9	8.69	1.11	0.37
Castradas	10	10.75	1.66	0.53

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.64	N.S.	10.5
Proestro/Estro	0.95	N.S.	5.7
Estro/Diestro	0.66	N.S.	4.5
Diestro/Castradas	3.56	< 0.005	29.2
Proestro/Castradas	2.38	< 0.025	17.0
Estro/Castradas	2.97	< 0.01	23.7

3.2.1.2.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	6.10	0.92	0.31
Proestro	9	5.82	0.79	0.26
Estro	8	6.01	0.70	0.25
Castradas	10	5.75	1.02	0.32

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.65	N.S.	4.81
Proestro/Estro	0.62	N.S.	3.26
Estro/Diestro	0.21	N.S.	1.50
Diestro/Castradas	0.74	N.S.	6.09
Proestro/Castradas	0.16	N.S.	1.22
Estro/Castradas	0.58	N.S.	4.52

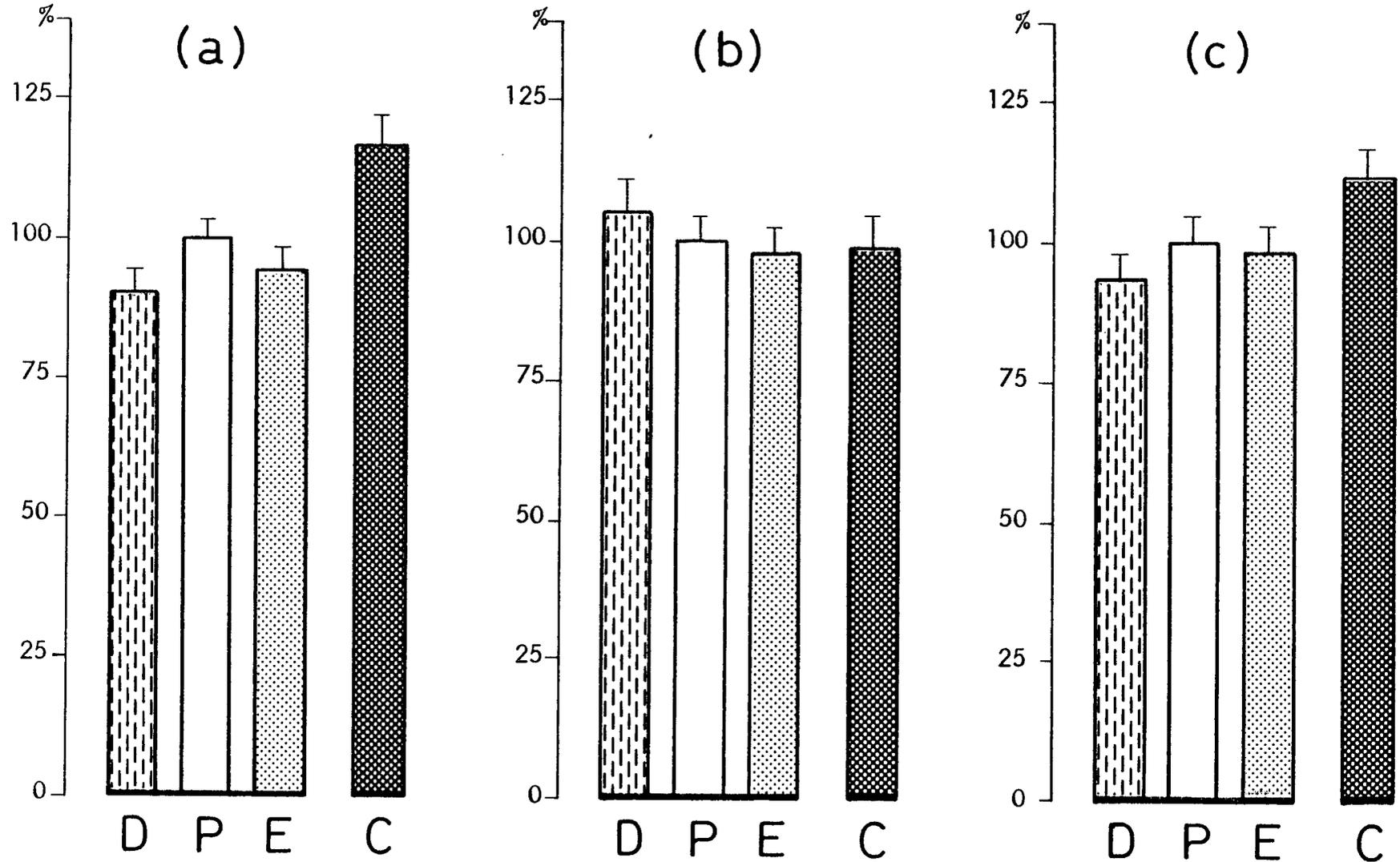
3.2.1.3.- CONTENIDO TOTAL EN DNA DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS  
HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	47.23	6.19	2.19
Proestro	9	50.61	7.01	2.34
Estro	8	49.83	6.12	2.16
Castradas	9	56.64	7.94	2.65

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.98	N.S.	7.16
Proestro/Estro	0.23	N.S.	1.57
Estro/Diestro	0.79	N.S.	5.50
Diestro/Castradas	2.54	< 0.025	19.92
Proestro/Castradas	1.61	N.S.	11.91
Estro/Castradas	1.84	< 0.05	14.27

FIGURA N° 10



3.2.1.4.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	0.182	0.037	0.013
Proestro	8	0.236	0.056	0.020
Estro	7	0.213	0.036	0.014
Castradas	9	0.249	0.042	0.014

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.13	< 0.05	29.7
Proestro/Estro	0.87	N.S.	10.8
Estro/Diestro	1.53	N.S.	17.0
Diestro/Castradas	3.26	< 0.005	36.8
Proestro/Castradas	0.51	N.S.	5.5
Estro/Castradas	1.69	N.S.	16.9

3.2.1.5.- CONTENIDO TOTAL EN RNA DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS  
HEMBRA.

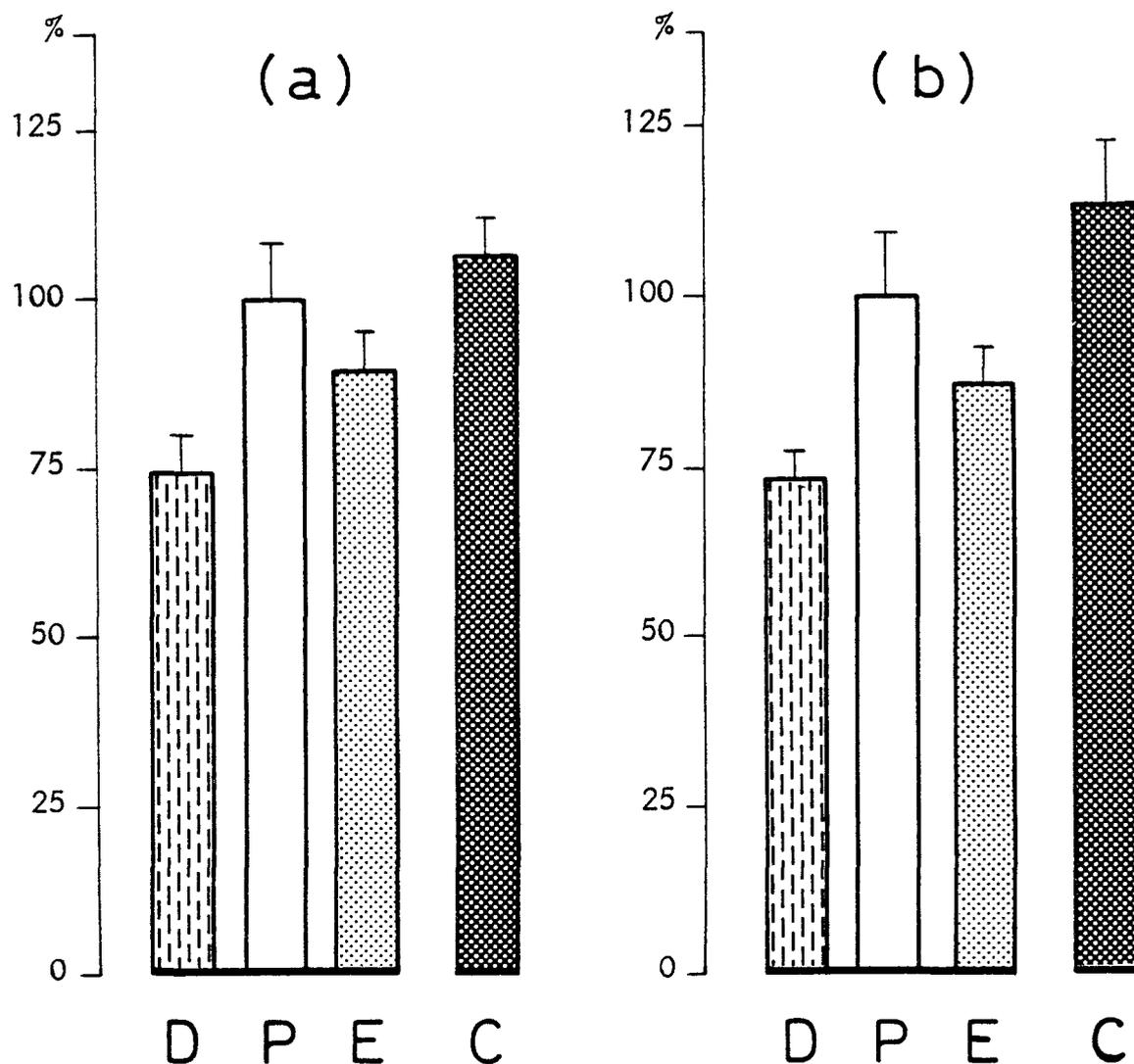
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	9.54	1.51	0.53
Proestro	8	12.50	3.20	1.13
Estro	7	11.17	1.62	0.61
Castradas	9	14.03	3.36	1.12

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.21	< 0.025	31.0
Proestro/Estro	0.93	N.S.	11.9
Estro/Diestro	1.88	< 0.05	17.1
Diestro/Castradas	3.27	< 0.005	47.1
Proestro/Castradas	0.90	N.S.	12.2
Estro/Castradas	1.94	< 0.05	25.6

FIGURA N° 11



CONCENTRACION (a) Y CONTENIDO TOTAL (b) DE RNA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $0.236 \pm 0.020 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (b)  $12.50 \pm 1.13 \mu\text{g RNA}$ . (D = diestro, E = estro).

(a) D-P  $p < 0.05$   
 D-C  $p < 0.005$

(b) D-P  $p < 0.025$   
 E-D  $p < 0.05$   
 D-C  $p < 0.005$   
 E-C  $p < 0.05$

3.2.1.6.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS  
DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROT/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	48.56	7.42	2.62
Proestro	7	53.74	8.77	3.32
Estro	7	52.30	8.86	3.35
Castradas	8	55.61	7.19	2.54

-----

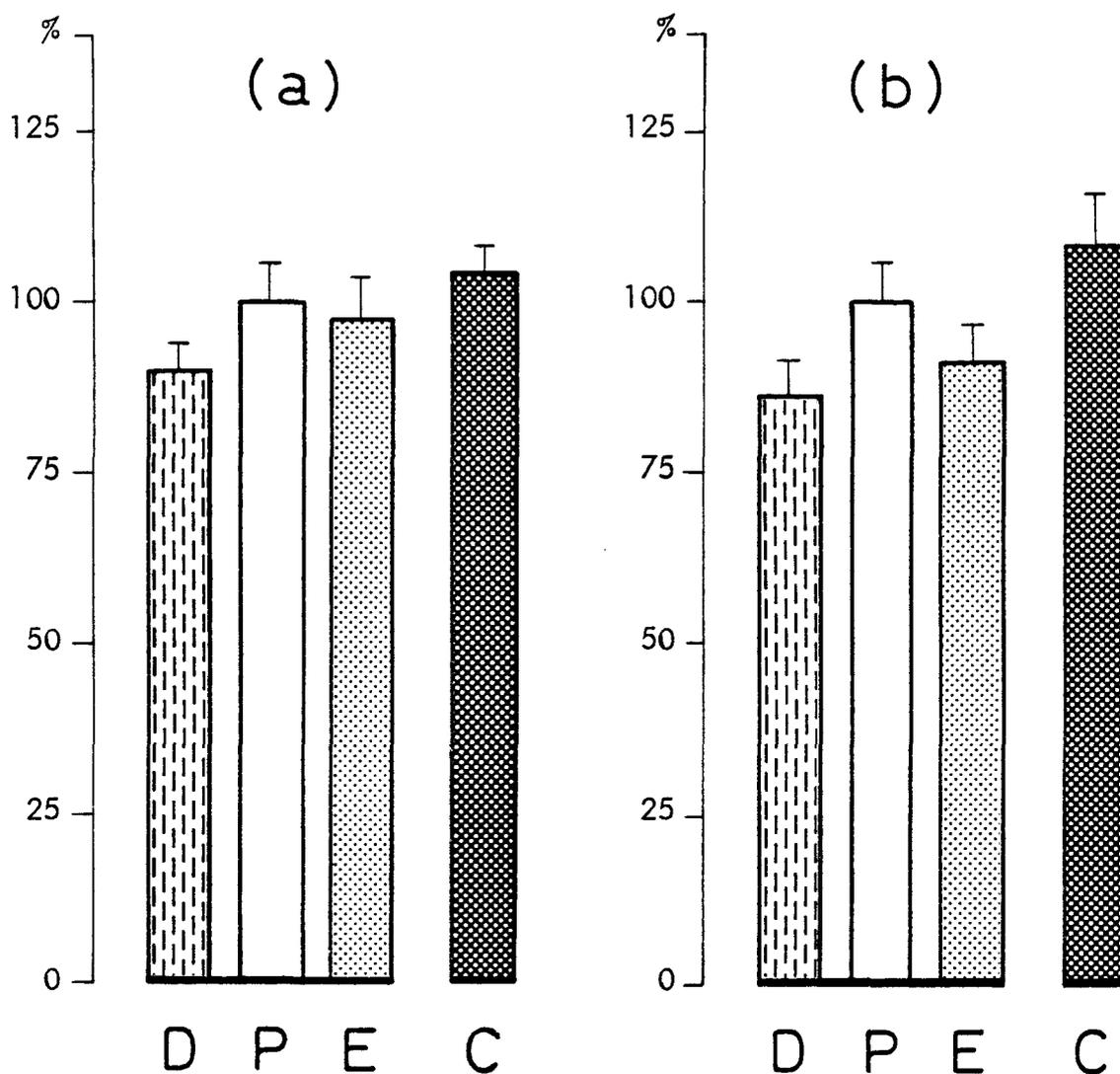
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.15	N.S.	10.7
Proestro/Estro	0.28	N.S.	2.75
Estro/Diestro	0.83	N.S.	7.70
Diestro/Castradas	1.81	< 0.05	14.5
Proestro/Castradas	0.42	N.S.	3.5
Estro/Castradas	0.74	N.S.	6.3

3.2.1.7.- CONTENIDO TOTAL EN PROTEINAS DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: mg PROTEINAS

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	2.63	0.49	0.17
Proestro	7	3.00	0.46	0.17
Estro	7	2.76	0.45	0.17
Castradas	8	3.21	0.61	0.22
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	1.40	N.S.	14.1	
Proestro/Estro	0.91	N.S.	8.7	
Estro/Diestro	0.50	N.S.	8.0	
Diestro/Castradas	1.96	< 0.05	22.1	
Proestro/Castradas	0.69	N.S.	7.0	
Estro/Castradas	1.50	N.S.	16.3	

FIGURA N° 12



CONCENTRACION (a) Y CONTENIDO TOTAL (b) DE PROTEINAS EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $53.74 \pm 3.32 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ , (b)  $3.00 \pm 0.17 \text{ mg Proteínas}$ . (D = diestro, E = estro)

(a) D-C  $p < 0.05$

(b) D-C  $p < 0.05$

3.2.1.8.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS  
HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	44.22	8.02	2.83
Proestro	8	57.51	8.02	2.83
Estro	7	63.05	7.09	2.68
Castradas	8	72.76	15.91	5.62
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	3.10	< 0.005	30.05	
Proestro/Estro	1.31	< 0.005	9.6	
Estro/Diestro	4.46	N.S.	42.6	
Diestro/Castradas	4.24	< 0.005	64.5	
Proestro/Castradas	2.26	< 0.025	26.5	
Estro/Castradas	1.39	N.S.	15.44	

3.2.1.9.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

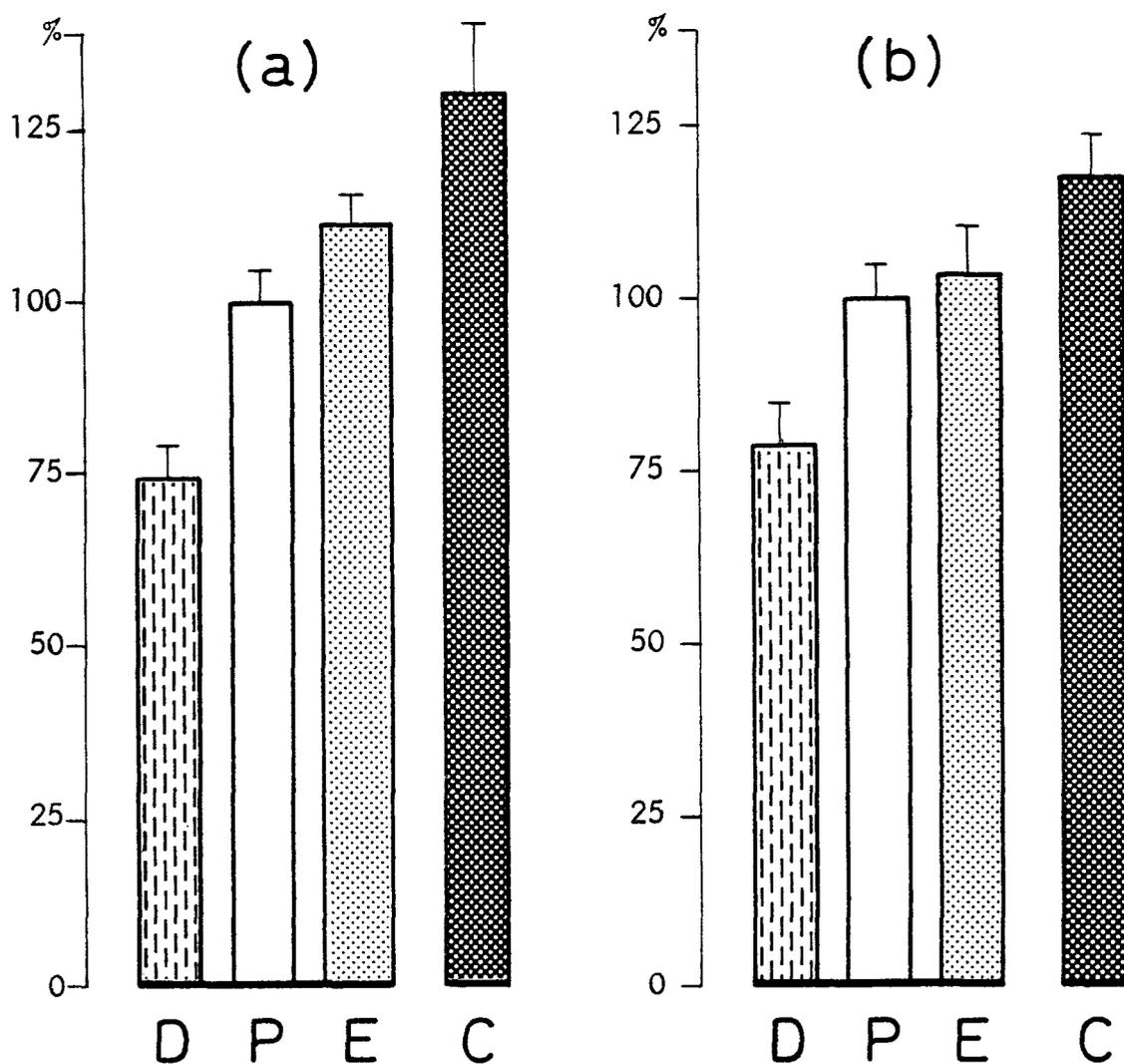
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	7	350.43	69.06	26.11
Proestro	7	432.94	57.11	21.59
Estro	7	444.89	85.89	32.47
Castradas	9	499.30	85.03	28.34

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.59	N.S.	5.4
Proestro/Estro	4.23	< 0.005	34.6
Estro/Diestro	3.98	< 0.01	27.7
Diestro/Castradas	3.36	< 0.005	36.8
Proestro/Castradas	3.65	< 0.005	44.2
Estro/Castradas	0.74	N.S.	7.2

FIGURA N° 13



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $57.51 \pm 2.83$  dpm ( $^3H$ ) Uridina = incorp./ $\mu g$  DNA, (b)  $432.9 \pm 21.6$  dpm ( $^{14}C$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu g$  DNA. (D = diestro, E = estro).

(a)	D-P	$p < 0.005$	(b)	P-E	$p < 0.005$
	P-E	$p < 0.005$		E-D	$p < 0.01$
	D-C	$p < 0.005$		D-C	$p < 0.005$
	P-C	$p < 0.025$		P-C	$p < 0.005$

3.2.1.10.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	244.8	33.2	11.0
Proestro	9	232.3	37.8	12.6
Estro	7	312.6	31.5	11.9
Castradas	9	335.0	70.2	23.4

-----

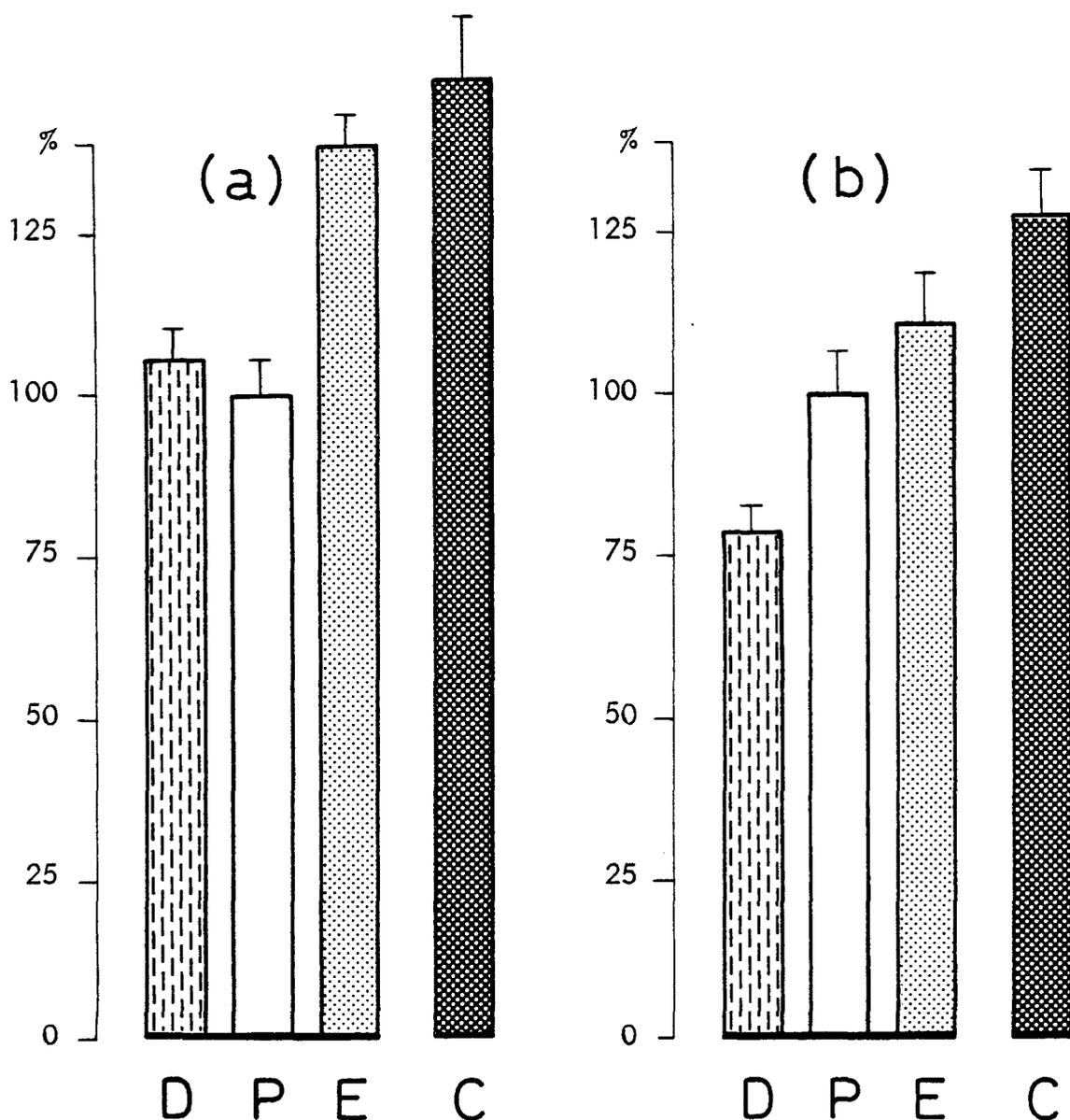
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.26	< 0.025	23.5
Proestro/estro	0.28	N.S.	2.8
Estro/Diestro	2.10	< 0.05	27.0
Diestro/Castradas	3.52	< 0.005	42.5
Proestro/Castradas	1.66	N.S.	15.3
Estro/Castradas	1.18	N.S.	12.2

3.2.1.11.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AAs INCORPORADA/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	7	6718.3	963.9	364.3
Proestro	7	8375.7	1463.8	553.2
Estro	7	9156.5	1762.8	666.2
Castradas	8	10361.6	1604.2	567.1
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Diestro/Proestro	2.32	< 0.025	24.7	
Proestro/Estro	0.84	N.S.	0.8	
Estro/Diestro	2.97	< 0.01	36.3	
Diestro/Castradas	4.88	< 0.005	54.2	
Proestro/Castradas	2.32	< 0.025	23.7	
Estro/Castradas	1.29	N.S.	13.1	

FIGURA N°14



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $232.3 \pm 12.6$  dpm ( $^3H$ ) Uridina = incorp./ $\mu$ g RNA, (b)  $8375.7 \pm 553.2$  dpm ( $^3H$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas. (D = diestro, E = estro).

(a) D-P  $p < 0.025$   
 E-D  $p < 0.05$   
 D-C  $p < 0.005$

(b) D-P  $p < 0.025$   
 E-D  $p < 0.01$   
 D-C  $p < 0.005$   
 P-C  $p < 0.025$

### 3.2.2.- ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO .-

El peso de la glándula pasó de 6.65 mg en los controles a 9.24 mg en machos castrados (3.2.2.1, Fig. 15a), lo que representó un incremento del 39% ( $p < 0.005$ ).

STEINBERGER y Col. (261) refirieron, tras 8 semanas de extirpación testicular, una subida del 24% en el peso de la adenohipófisis.

KRAICER y Col. (154), por su parte, encontraron un aumento en el peso del 28% después de 32 días de orquidectomía.

La concentración de DNA por célula, estimada por el cociente =  $\mu\text{g DNA/mg tejido fresco}$ , cambió por la castración de 5.99 a 5.27 (3.2.2.2, Fig. 15b), suponiendo así, un ligero descenso del 12% = que no tuvo significación estadística.

De acuerdo con lo expuesto, KRAICER y Col. (154) comprobaron = que la orquidectomía mantenía invariable la concentración de DNA.

El contenido de DNA por glándula fué de 39.7  $\mu\text{g}$  en machos intactos y de 49.1  $\mu\text{g}$  en castrados (3.2.2.3, Fig. 15c), lo que supuso un incremento del 24% ( $p < 0.05$ ).

En machos castrados por 28 días HYMER y Col. (116) observaron = un contenido de DNA mayor, en un 23%, que en los controles.

Igualmente KRAICER y Col. (154) detectaron una subida del 20% en el contenido de DNA glandular después de la extirpación gonadal.

La concentración de RNA por célula, expresada en  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , fué de 0.235 en controles y 0.286 en machos castrados (3.2.2.4, = Fig. 16a). Ello significó un alza del 22% ( $p < 0.05$ ) tras la ausencia de las gonadas.

En lo que respecta al contenido glandular de RNA éste evolucionó desde 10.4  $\mu\text{g}$  en los machos intactos hasta 14.1  $\mu\text{g}$  en orquitectomizados (3.2.2.5, Fig. 16b), equivaliendo a un aumento del 36% ( $p < 0.05$ ).

KRAICER y Col. (154) no encontraron cambio significativo en la concentración de RNA con la castración y sí un incremento del 25% en el contenido glandular de RNA.

Con la extirpación testicular la concentración de proteínas por célula, valorada por el cociente  $\mu\text{g}$  proteínas/ $\mu\text{g}$  DNA, experimentó una ligera subida no significativa del 13%, pasando de 51.2 en controles a 58.0 en castrados (3.2.2.6, Fig. 17a).

Por su parte el contenido adenohipofisario de proteínas fué de 2.03 mg en machos intactos y 2.43 mg en orquitectomizados (3.2.2.7, Fig. 17b), lo que representó un aumento del 20% ( $p < 0.05$ ) debido a la manipulación experimental.

La síntesis de RNA por célula, expresada en dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA, resultó ser de 89.6 en controles y 115.3 en machos castrados (3.2.2.8, Fig. 18a). Así, la extirpación gonadal produjo una activación de la síntesis del 29% ( $p < 0.05$ ).

STADTLER y Col. (258) observaron autorradiográficamente una mayor síntesis de RNA en todos los tipos celulares de la adenohipófisis, y en particular en los gonadotrofos, en machos castrados por 4 y 8 semanas.

En lo que concierne a la síntesis de proteínas por célula, estimada en dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA, varió desde 362.1 en machos intactos hasta 471.2 en orquitectomizados (3.2.2.9, Fig. 18b), lo que supuso un aumento del 30% ( $p < 0.05$ ).

La tasa de recambio de RNA, calculada a partir del cociente  $\text{dpm } ^3\text{H-Uridina incorporada}/\mu\text{g RNA}$ , no se alteró significativamente por la orquidectomía, siendo de 342.0 en machos intactos y de 396.7 en los castrados (3.2.2.10, Fig. 19a).

Por lo que se refiere a la tasa de recambio proteica estimada por la relación  $\text{dpm } ^{14}\text{C-Aminoácidos incorporados}/\text{mg proteínas}$ , se intensificó por la castración en un 34% ( $p < 0.005$ ), pasando de 6.769,8 en los controles a 9.100,1 en los machos castrados (3.2.2.11, Fig. 19b).

TONOUE y Col. (275) experimentando "in vitro" encontraron, de acuerdo con los resultados obtenidos aquí, una activación del 42% de la tasa de recambio proteica tras tres semanas de orquidectomía.

LEE y Col. (163) también "in vitro" no llegaron a detectar cambios significativos en el recambio proteico después de cuatro semanas de castración.

MOGUILVSKI y Col. (200), por su parte, y confirmando igualmente los datos expuestos, observaron "in vivo" un aumento del 31% en el recambio proteico de ratas macho ante la ausencia de las gonadas por cuatro semanas.

## 3.2.2.1.- PESO DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	6.65	1.08	0.36
Castrados	9	9.24	1.98	0.66
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	3.25	< 0.005	38.9	

3.2.2.2.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	5.99	1.10	0.39
Castrados	9	5.27	1.65	0.55

-----

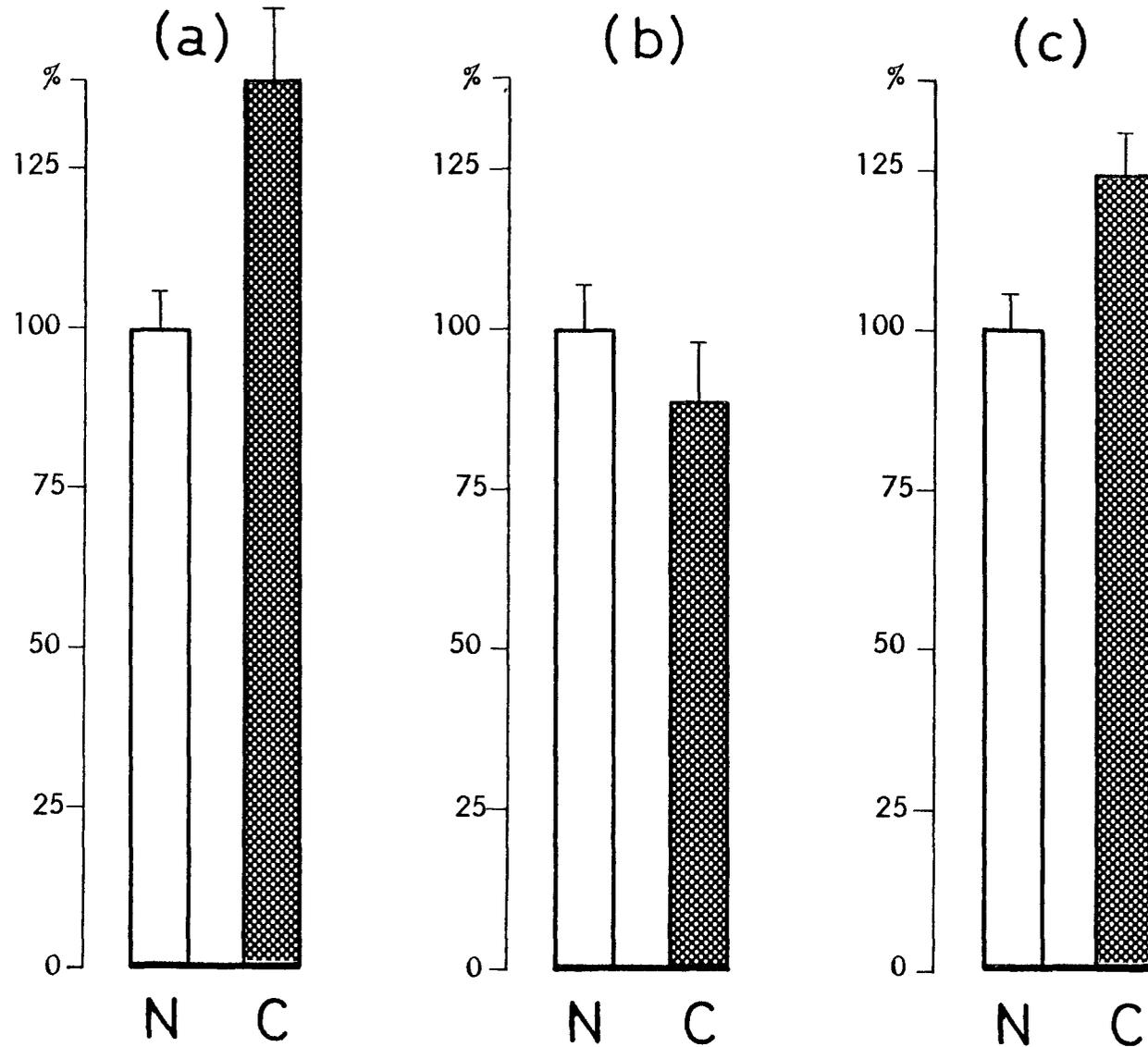
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	0.35	N.S.	12.0

3.2.2.3.- CONTENIDO TOTAL EN DNA DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	39.71	6.47	2.29
Castrados	7	49.1	7.05	2.67
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.50	< 0.05	23.6	

FIGURA N° 15



3.2.2.4.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	0.235	0.051	0.018
Castrados	7	0.286	0.051	0.019

-----

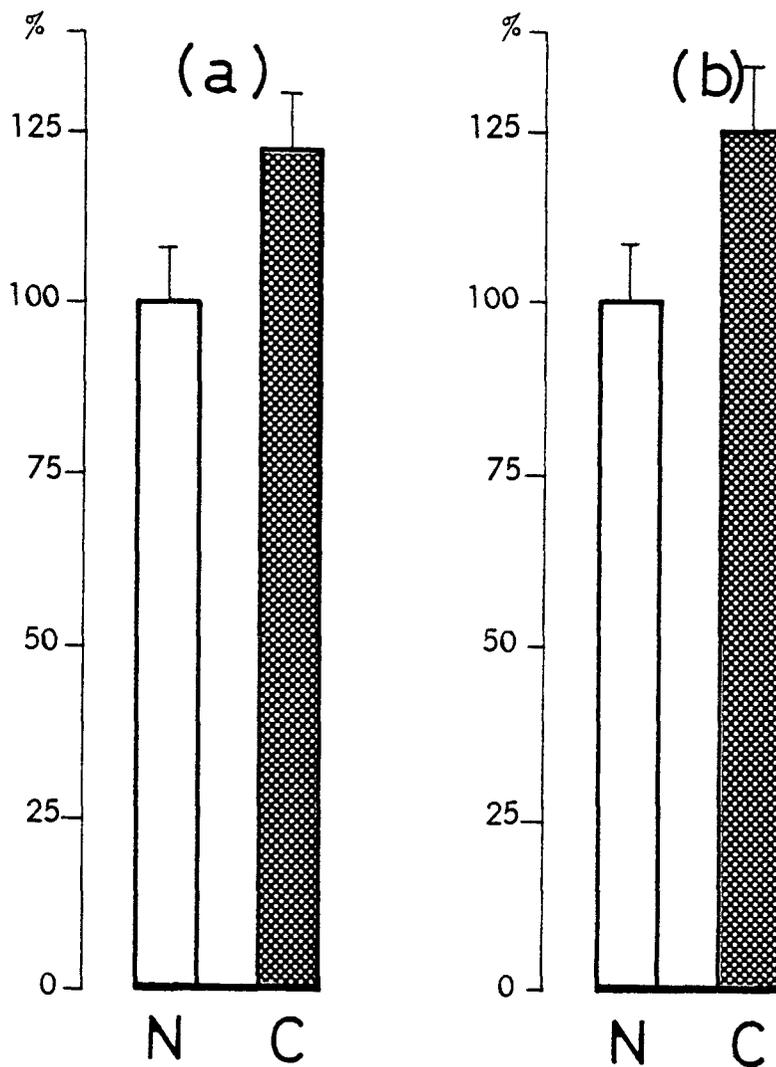
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	1.80	< 0.05	21.7

3.2.2.5.- CONTENIDO TOTAL EN RNA DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	10.4	2.42	0.96
Castrados	7	14.10	2.67	1.01
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.63	< 0.05	35.7	

FIGURA N°16



CONCENTRACION (a) Y CONTENIDO TOTAL (b) DE RNA EN ADENO-  
HIPOFISIS DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con  
respecto a los valores obtenidos en los normales (contro-  
les): (a)  $0.235 \pm 0.018 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (b)  $10.4 \pm 0.96$   
 $\mu\text{g RNA}$ .

(a) N-C  $p < 0.05$

(b) N-C  $p < 0.05$

3.2.2.6.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS  
DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROT./ $\mu\text{g}$  DNA

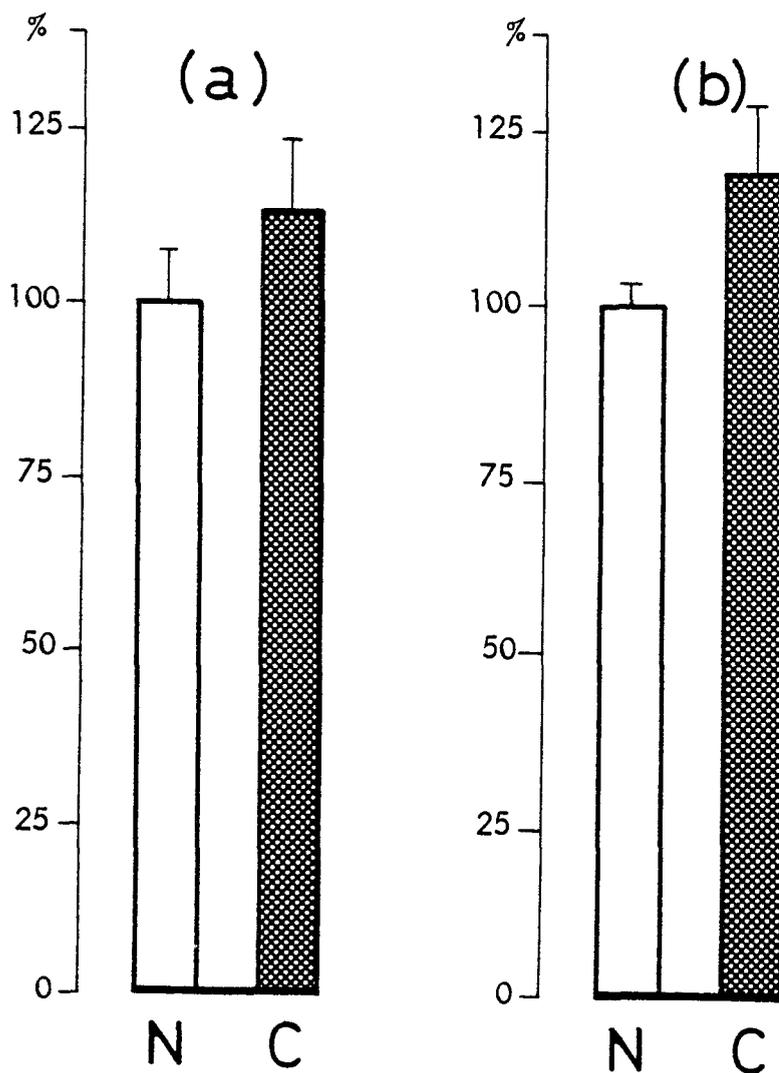
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	51.2	11.7	4.1
Castrados	7	58.0	14.0	5.3
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.96	N.S.	13.3	

3.2.2.7.- CONTENIDO TOTAL EN PROTEINAS DE LA ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN; mg PROTEINAS

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	2.03	0.21	0.07
Castrados	8	2.43	0.55	0.19
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.80	< 0.05	19.7	

FIGURA N° 17



CONCENTRACION (a) Y CONTENIDO TOTAL (b) DE PROTEINAS EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADAS= (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $51.2 \pm 4.1 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ , (b)  $2.03 \pm 0.07 \text{ mg Proteínas}$ .

(b) N-C  $p < 0.05$

3.2.2.8.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

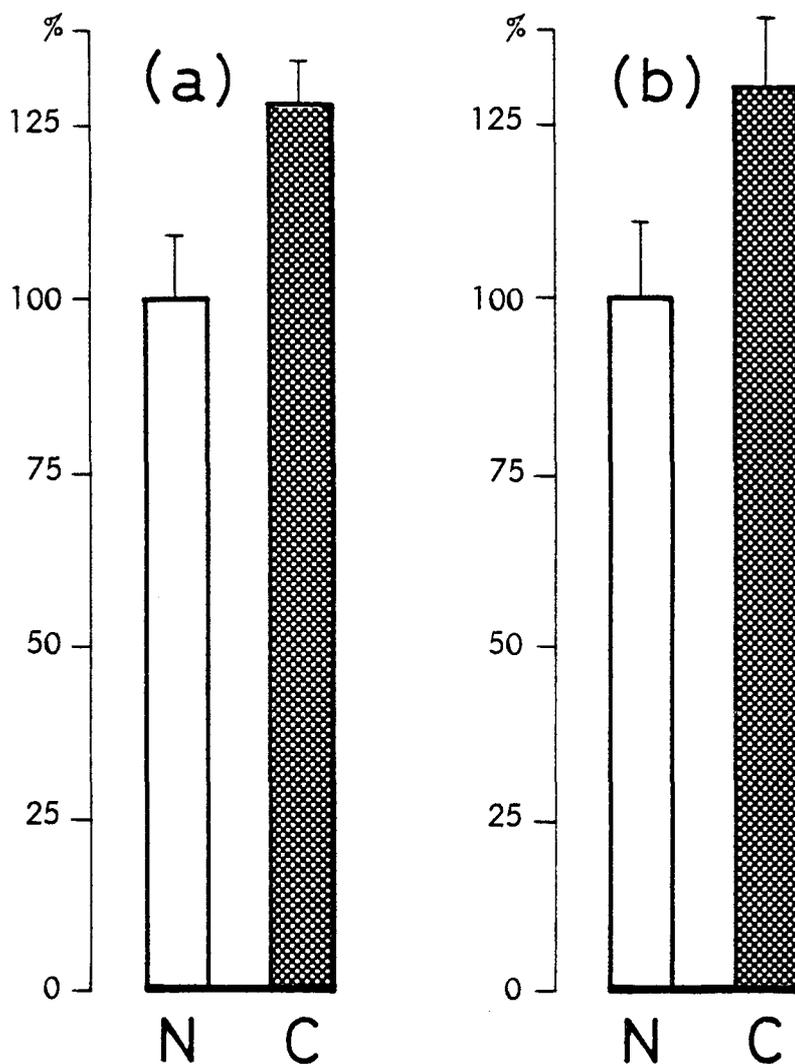
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	89.6	23.3	8.2
Castrados	8	115.3	15.8	5.6
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.42	< 0.05	28.7	

3.2.2.9.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	342.0	97.3	32.4
Castrados	8	396.7	63.6	22.5
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.27	N.S.	16.0	

FIGURA N°18.



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $89.6 \pm 8.2$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $342.0 \pm 52.4$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  DNA.

(a) N-C  $p < 0.05$

## 3.2.2.10.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

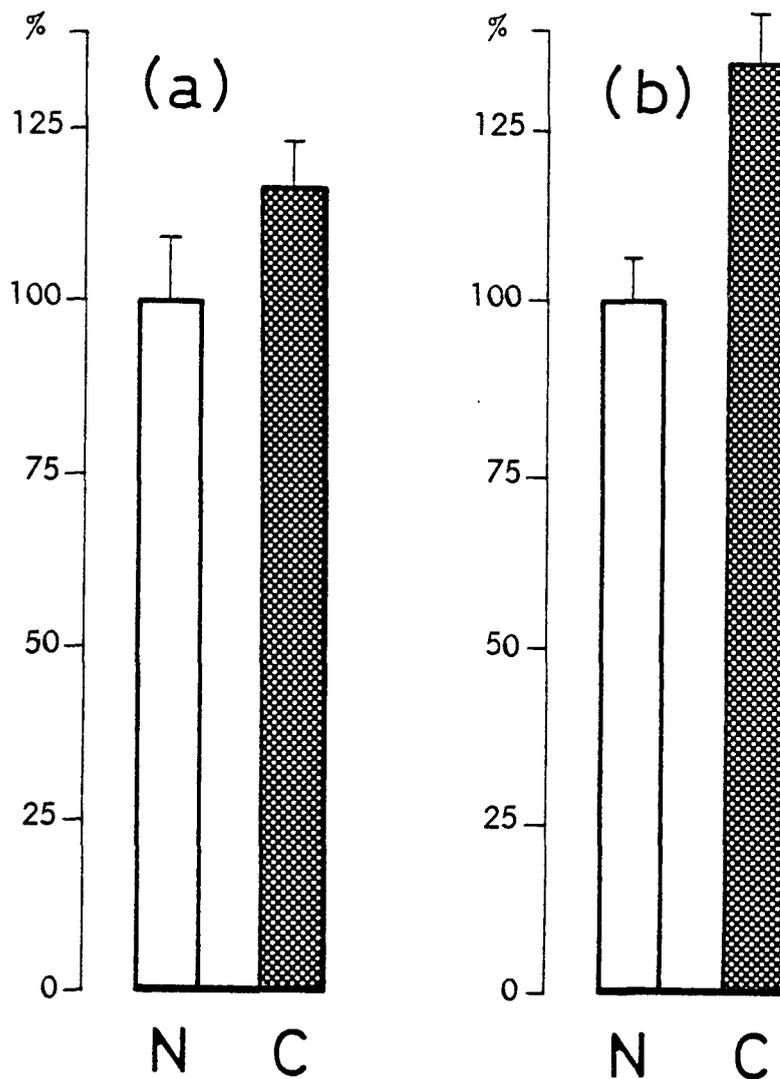
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	362.1	108.7	38.4
Castradas	8	471.2	102.6	36.3
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.93	< 0.05	30.1	

3.2.2.11.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AAs INCORPORADO/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	6769.8	1198.9	399.6
Castrados	8	9100.1	1349.1	476.2
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	3.55	< 0.005	34.4	

FIGURA N° 19



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN ADENOHIPOFISIS DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $362.1 \pm 38.4$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  - RNA, (b)  $6769.8 \pm 399.6$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas.

(a) N-C  $p < 0.05$

(b) N-C  $p < 0.005$

### 3.3.- HIPOTALAMO

### 3.3.1.- HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA .-

Durante el ciclo sexual la concentración de DNA por célula = (expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco) fué de: 0.908 en el diestro, 0.827 en el proestro y 0.898 en el estro (3.3.1.1, Fig.20a). La máxima variación porcentual resultó ser del 9% y las comparaciones entre los pares de valores careció, en cualquier caso, de significación estadística.

En ovariectomizadas se observó una concentración de DNA por célula de 0.846  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco (3.3.1.1, Fig.20a), que supuso en relación con las distintas fases del ciclo, un cambio porcentual que no superó el 7% y diferencias que no fueron significativas.

La concentración de RNA por célula, medida por el cociente =  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , mostró diferencias mínimas y no significativas a lo largo del ciclo estral, siendo de 0.779 en el diestro, 0.707 en el proestro y 0.672 en el estro (3.3.1.2, Fig.20b) y situándose la mayor variación porcentual (entre el diestro y el estro) en un 15%.

FOREMAN y Col. (86) en ratas sacrificadas en las mañanas de cada día del ciclo, detectó, mediante análisis citofotométrico, una concentración de RNA por célula en el proestro y en el estro superior en un 50% a la del diestro.

SALAMAN (230), por su parte, en estimaciones realizadas en = las primeras horas de la tarde, encontró oscilaciones en la concentración similares a las registradas en el presente trabajo.

Tras la castración la concentración de RNA por célula fué de 0.701  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  (3.3.1.2, Fig.20b), lo que representó una diferencia máxima del 10% respecto a los valores alcanzados en

el ciclo, sin que, en ningún caso, ésta tuviese significación estadística.

Para la concentración de proteínas por célula, estimada a partir de la relación  $\mu\text{g}$  proteínas/ $\mu\text{g}$  DNA, se observaron los siguientes niveles en la hembra ciclante: 208.2 en el diestro, 235.4 en el proestro y 210.1 en el estro (3.3.1.3, Fig. 20c). La variación mayor fué del 13.1% (diestro-proestro), y las comparaciones carecieron siempre de significación.

TER HAAR y Col. (272) detectaron a través del ciclo concentraciones de proteínas con un margen de fluctuación inferior al 5%.

La ausencia del feed back gonadal resultó en una concentración de proteínas por célula de 216.1  $\mu\text{g}$  proteínas/ $\mu\text{g}$  DNA (3.3.1.3, Fig. 20c), que no fué significativamente distinta de los valores obtenidos en los días del ciclo, con los que difirió en menos de un 10%.

La síntesis de RNA por célula permaneció, también, sin cambio significativo a lo largo del ciclo exual, siendo (expresada en dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA) de: 165.5 en el diestro, 154.5 en el proestro y 178.5 en el estro (3.3.1.4, Fig. 21a), con lo que el cambio más acentuado llegó al 15.5% (proestro-estro).

Tras la ovariectomía la síntesis de RNA por célula: 154.0 - dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA (3.3.1.4, Fig. 21a), fué similar a la de los días del diestro y proestro y menor (descenso del 13.5%) ( $p < 0.05$ ) que la registrada en el día del estro.

Por su parte, los resultados obtenidos para la síntesis de proteínas por célula, expresada en dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA, en la hembra ciclante: 100.2 para el diestro, ==

115.4 para el proestro y 122.5 para el estro (3.3.1.5, Fig. 21b) señalaron un descenso significativo ( $p < 0.05$ ) de la misma, en = aproximadamente un 18% en el tránsito del estro al diestro.

La síntesis de proteínas por célula en hembras castradas: = 113.1 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA, no presentó alteración significativa alguna en relación a los valores observados durante = el ciclo. (3.3.1.5., Fig. 21b).

Las fluctuaciones de la tasa de recambio de RNA, estimada = por el cociente dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA, a lo largo del ciclo sexual: 190.9 en el diestro, 226.2 en el proestro y = 235.3 en el estro (3.3.1.6, Fig. 22a), mostraron variaciones = significativas en los pasos diestro-proestro (aumento del 18.5%) ( $p < 0.01$ ) y estro-diestro (descenso del 23.3%) ( $p < 0.05$ ).

Trabajando "in vitro" SALAMAN (230) describió en la rata hembra ciclante un cuadro de oscilación de la tasa de recambio de RNA similar al encontrado en el presente trabajo, refiriendo, no obstante, cambios de hasta un 50%.

La extirpación gonadal produjo una tasa de recambio de RNA = de 216.0 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA (3.3.1.6, Fig. 22a), que fué significativamente más elevada que la del diestro (subida del 13%) ( $p < 0.05$ ) e igual que la del proestro y estro.

La tasa de recambio de proteínas durante el ciclo sexual, es timada mediante el cociente dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/mg proteínas, resultó ser de: 483.7 en el diestro, 609.6 en el = proestro y 639.1 en el estro (3.3.1.7, Fig. 22b). En el análisis comparado de los datos destacaron los cambios significativos de las etapas diestro-proestro (incremento del 26%) ( $p < 0.05$ ) y estro-diestro (disminución del 24.3%) ( $p < 0.05$ ).

MOGUILEVSKI y Col. (199) experimentando "in vitro" registraron en acuerdo con los resultados citados, tasas de recambio == proteico más altas (en un 60%) en el proestro y estro que en el diestro.

Por otro lado, TER HAAR y Col. (272) mediante estudios "in vivo", encontraron una tasa de recambio mayor en el proestro == (alrededor de un 14%) que en el diestro y estro.

En hembras castradas la tasa de recambio proteica: 534.2 dpm <sup>14</sup>C-AAs incorporado/mg proteínas (3.3.1.7, Fig. 22b) fué intermedia con relación a los niveles que alcanzó en la hembra ciclan- te, con los que además no difirió significativamente.

TER HAAR y Col. (272) reflejaron para ovariectomizadas de 21 días una situación de la tasa de recambio proteico similar a la descrita.

3.3.1.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	0.908	0.129	0.043
Proestro	10	0.827	0.080	0.025
Estro	8	0.898	0.111	0.039
Castradas	9	0.846	0.139	0.046

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.58	N.S.	8.9
Proestro/Estro	1.47	N.S.	8.6
Estro/Diestro	0.17	N.S.	1.1
Diestro/Castradas	0.93	N.S.	6.8
Proestro/Castradas	0.35	N.S.	2.3
Estro/Castradas	0.79	N.S.	5.8

3.3.1.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN HIPOTALAMO EN RATAS  
HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	0.779	0.178	0.059
Proestro	9	0.707	0.236	0.079
Estro	8	0.672	0.101	0.036
Castradas	9	0.701	0.125	0.042

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.69	N.S.	8.9
Proestro/Estro	0.36	N.S.	8.6
Estro/Diestro	1.41	N.S.	1.1
Diestro/Castradas	1.01	N.S.	10.0
Proestro/Castradas	0.06	N.S.	0.8
Estro/Castradas	0.51	N.S.	4.3

3.3.1.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA.

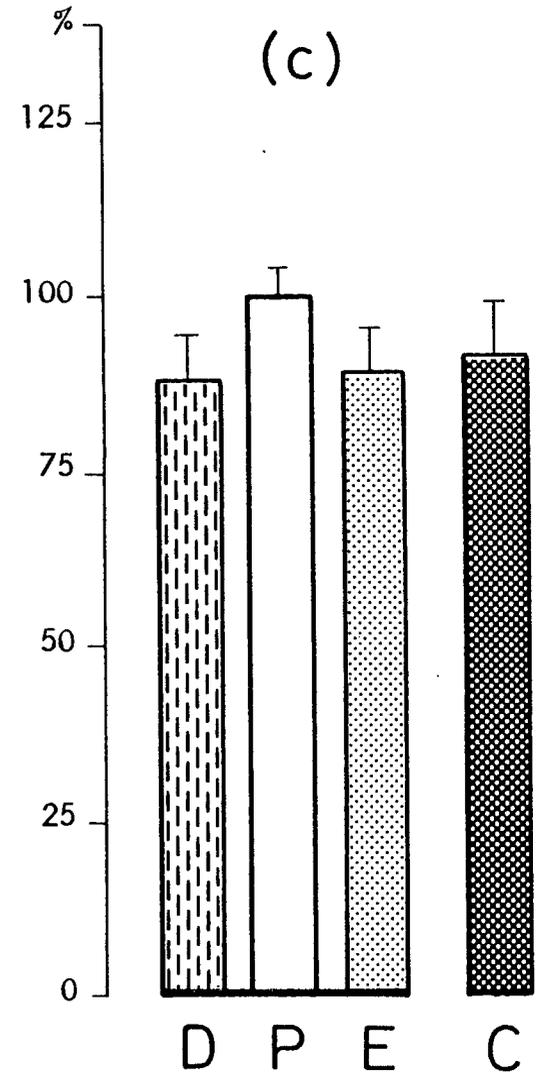
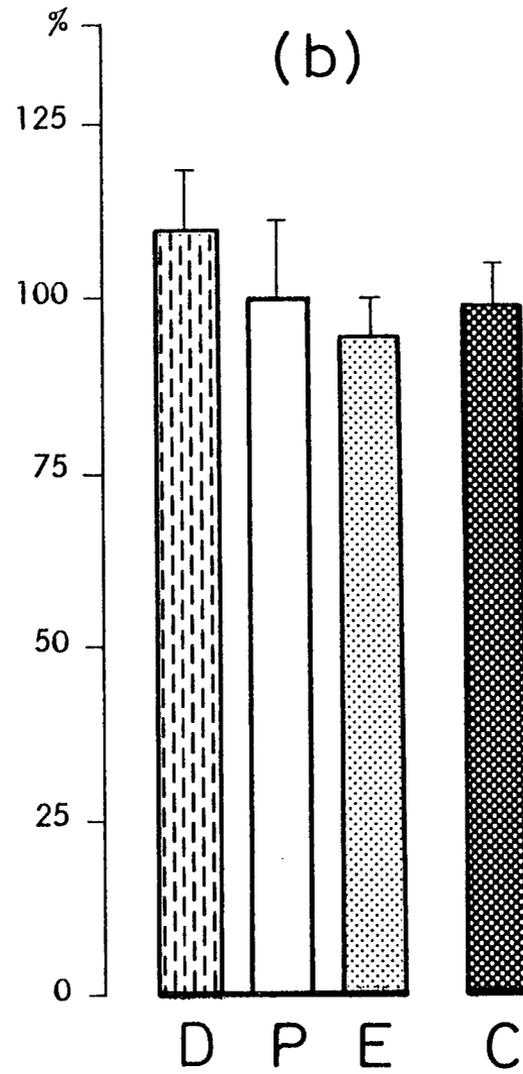
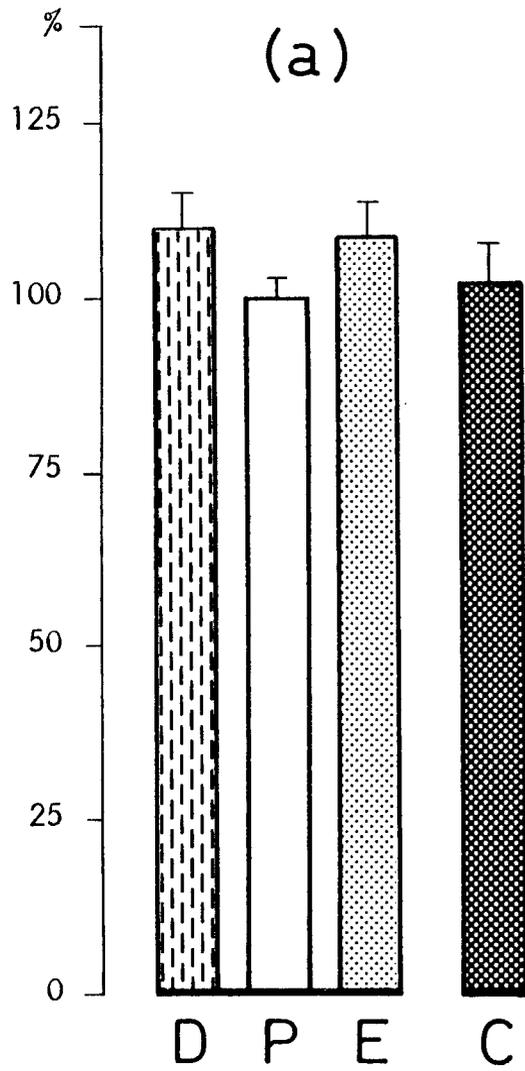
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	208.2	38.7	13.7
Proestro	8	235.4	26.8	9.5
Estro	8	210.1	41.0	14.5
Castradas	8	216.1	50.3	17.8

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.53	N.S.	13.1
Proestro/Estro	1.37	N.S.	10.7
Estro/Diestro	0.09	N.S.	0.9
Diestro/Castradas	0.33	N.S.	3.8
Proestro/Castradas	0.89	N.S.	8.2
Estro/Castradas	0.24	N.S.	2.9

FIGURA N° 20



## 3.3.1.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	165.5	22.9	8.1
Proestro	9	154.5	25.5	8.5
Estro	8	178.5	31.5	11.2
Castradas	9	154.0	18.1	6.0

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.88	N.S.	6.7
Proestro/Estro	1.63	N.S.	15.5
Estro/Diestro	0.88	N.S.	7.3
Diestro/Castradas	1.09	N.S.	6.9
Proestro/Castradas	0.05	N.S.	0.3
Estro/Castradas	1.87	< 0.05	13.7

3.3.1.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA.

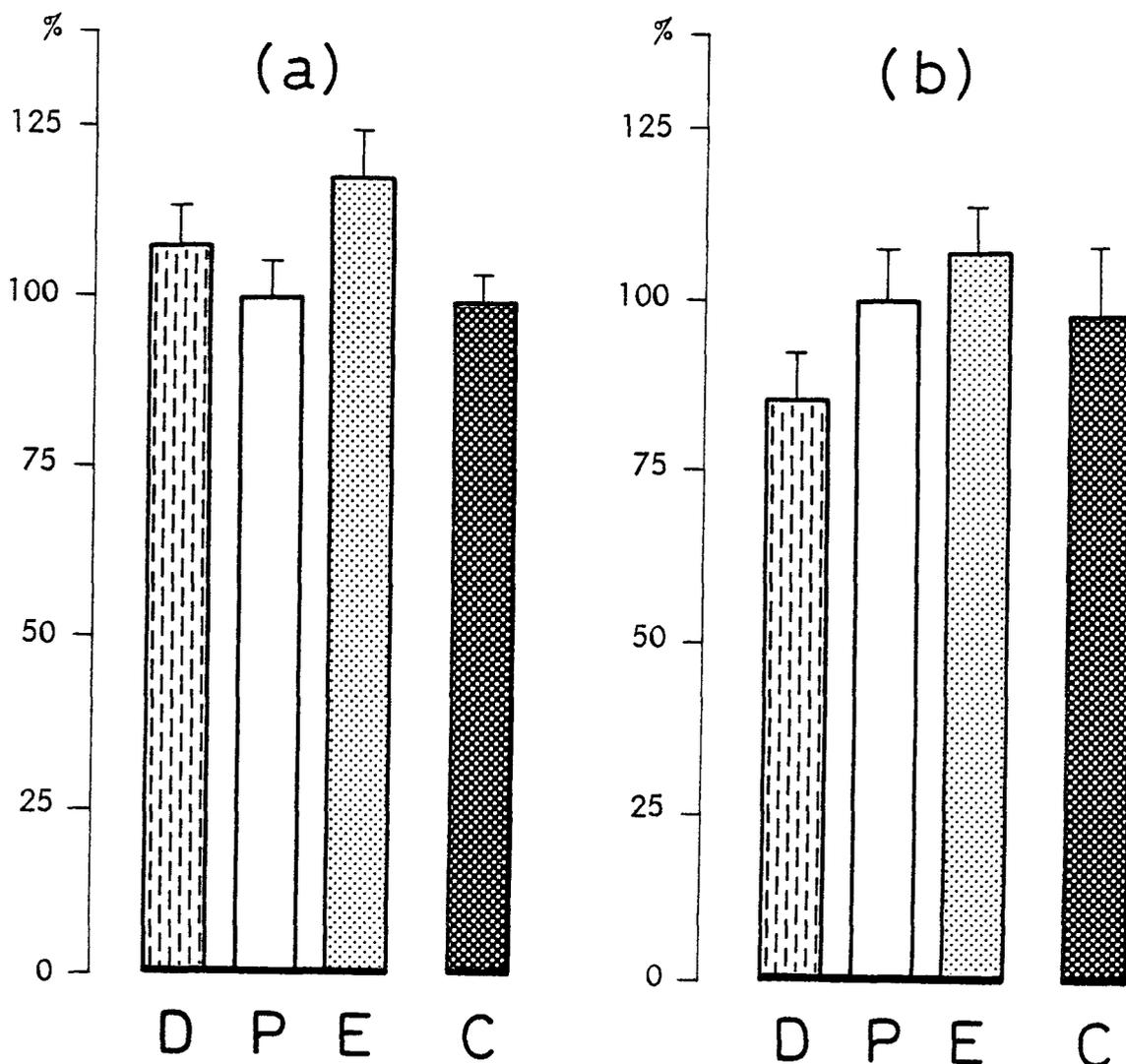
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	100.2	22.8	8.1
Proestro	9	115.4	26.3	8.8
Estro	8	122.5	23.0	8.1
Castradas	9	113.1	31.8	10.6

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.19	N.S.	15.2
Proestro/Estro	0.55	N.S.	6.2
Estro/Diestro	1.82	< 0.05	18.2
Diestro/Castradas	0.89	N.S.	12.9
Proestro/Castradas	0.16	N.S.	2.0
Estro/Castradas	0.63	N.S.	7.7

FIGURA N° 21



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $154.5 \pm 8.5$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $115.4 \pm 8.8$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  DNA (D = diestro, E = estró).

(a) E-C  $p < 0.05$

(b) E-D  $p < 0.05$

## 3.3.1.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN HIPOTALAMO DE RATA HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	190.9	24.4	8.6
Proestro	8	226.2	21.6	7.6
Estro	8	235.3	49.6	17.5
Castradas	9	216.0	26.0	8.6

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.87	< 0.01	18.5
Proestro/Estro	0.45	N.S.	4.0
Estro/Diestro	2.13	< 0.05	18.9
Diestro/Castradas	1.92	< 0.05	13.1
Proestro/Castradas	0.82	N.S.	4.5
Estro/Castradas	0.96	N.S.	8.2

3.3.1.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN HIPOTALAMO DE RATAS  
HEMBRA.

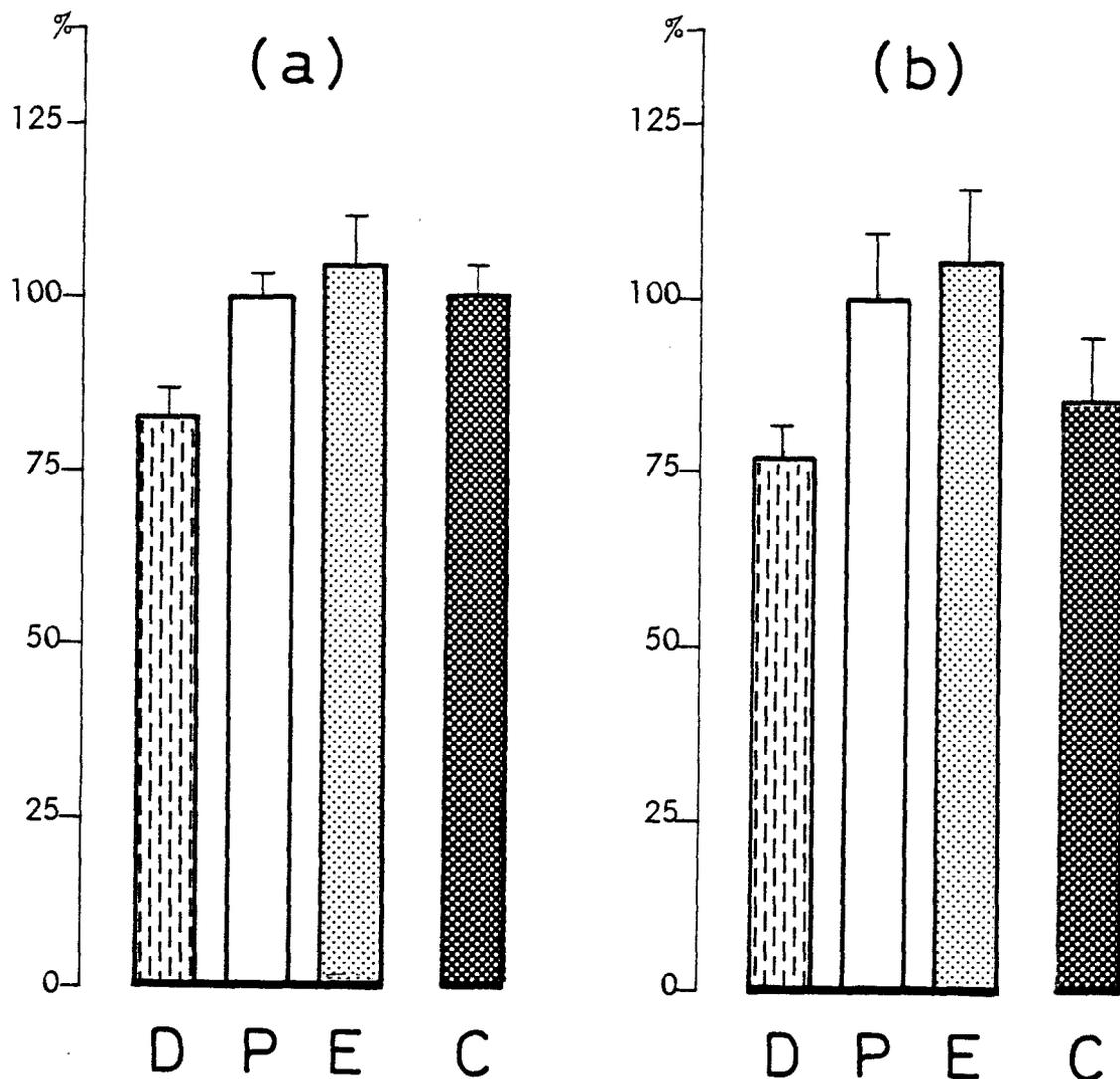
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	483.7	86.0	30.4
Proestro	7	609.6	155.6	58.8
Estro	8	639.1	179.4	63.4
Castradas	8	534.2	145.4	51.4

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.83	< 0.05	26.0
Proestro/Estro	0.31	N.S.	4.8
Estro/Diestro	2.07	< 0.05	24.3
Diestro/Castradas	0.79	N.S.	10.4
Proestro/Castradas	0.90	N.S.	12.4
Estro/Castradas	1.20	N.S.	16.4

FIGURA N° 22



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOTALAMO DE RATAS = HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a == los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $226.2 \pm 7.6$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridi na incorp./ $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $609.6 \pm 58.8$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg = Proteínas. (D = diestro, E = estro).

(a) D-P  $p < 0.01$   
 E-D  $p < 0.05$   
 D-C  $p < 0.05$

(b) D-P  $p < 0.05$   
 E-D  $p < 0.05$

### 3.3.2.- HIPOTALAMO DE RATAS MACHO .-

La concentración de DNA por unidad celular, estimada a partir del cociente  $\mu\text{g DNA/mg tejido fresco}$ , permaneció inalterada tras la extirpación gonadal, pasando de 0.805 en los machos control a 0.854 en los castrados (3.3.2.1, Fig. 23a).

MOGUILEVSKI y Col. (200) han referido, igualmente, una concentración de DNA constante después de 6 semanas de orquidectomía.

La castración hizo descender la concentración de RNA por célula de 0.979  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  a 0.821  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  (3.3.2.2, Fig. 23b). Este cambio careció, no obstante, de significación estadística.

En acuerdo con estos resultados MOGUILEVSKI y Col. (200) registraron una concentración de RNA similar al comparar machos intactos y castrados.

La concentración de proteínas por célula, calculada por la relación  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$ , fué de 238.3 en controles y 206.9 en orquidectomizados (3.3.2.3, Fig. 23c). La ligera disminución experimentada no tuvo significación.

Los autores ya citados (200) observaron con la castración una bajada en la concentración de proteínas en un porcentaje análogo al obtenido en el presente trabajo (próxima al 13%), si bien, en su caso, el descenso fué estadísticamente significativo.

La síntesis de RNA por célula, expresada en  $\text{pdm } ^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g DNA}$ , evolucionó de 118.8 en los controles a 105.8 = en orquidectomizados (3.3.2.4, Fig. 24a). Como en los casos anteriores, esta pequeña alteración no resultó significativa.

En contrapartida, la síntesis de proteínas por célula, estimada a partir del cociente  $\text{dpm } ^{14}\text{C-Aminoácidos incorporados}/\mu\text{g DNA}$ ,

que pasó de 105.6 en los controles a 88.9 en los machos castrados (3.3.2.5, Fig. 24b.), disminuyó significativamente, en un 16% ( $p < 0.05$ ).

La tasa de recambio de RNA, valorada por la relación  $\text{dpm } ^3\text{H-Uridina incorporada}/\mu\text{g RNA}$ , no cambió con la castración, siendo de 133.1 en machos intactos y de 137.6 en orquidectomizados (3.3.2.6, Fig. 25a.).

Por su parte, la tasa de recambio proteica, calculada como  $= \text{dpm } ^{14}\text{C-AAAs incorporada}/\text{mg proteínas}$ , varió desde 481.3 en los controles hasta 419.1 en los machos castrados (3.3.2.7, Fig. 25b) lo que supuso un descenso significativo del 13% ( $p < 0.05$ ).

Una misma disminución significativa del recambio proteico fué encontrada por MOGUILEVSKI y Col. (200) después de tres semanas de extirpación testicular.

3.3.2.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	0.805	0.078	0.028
Castrados	9	0.854	0.206	0.069
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.59	N.S.	6.1	

3.3.2.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	7	0.979	0.254	0.096
Castrados	8	0.821	0.157	0.056

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	1.43	N.S.	16.1

3.3.2.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

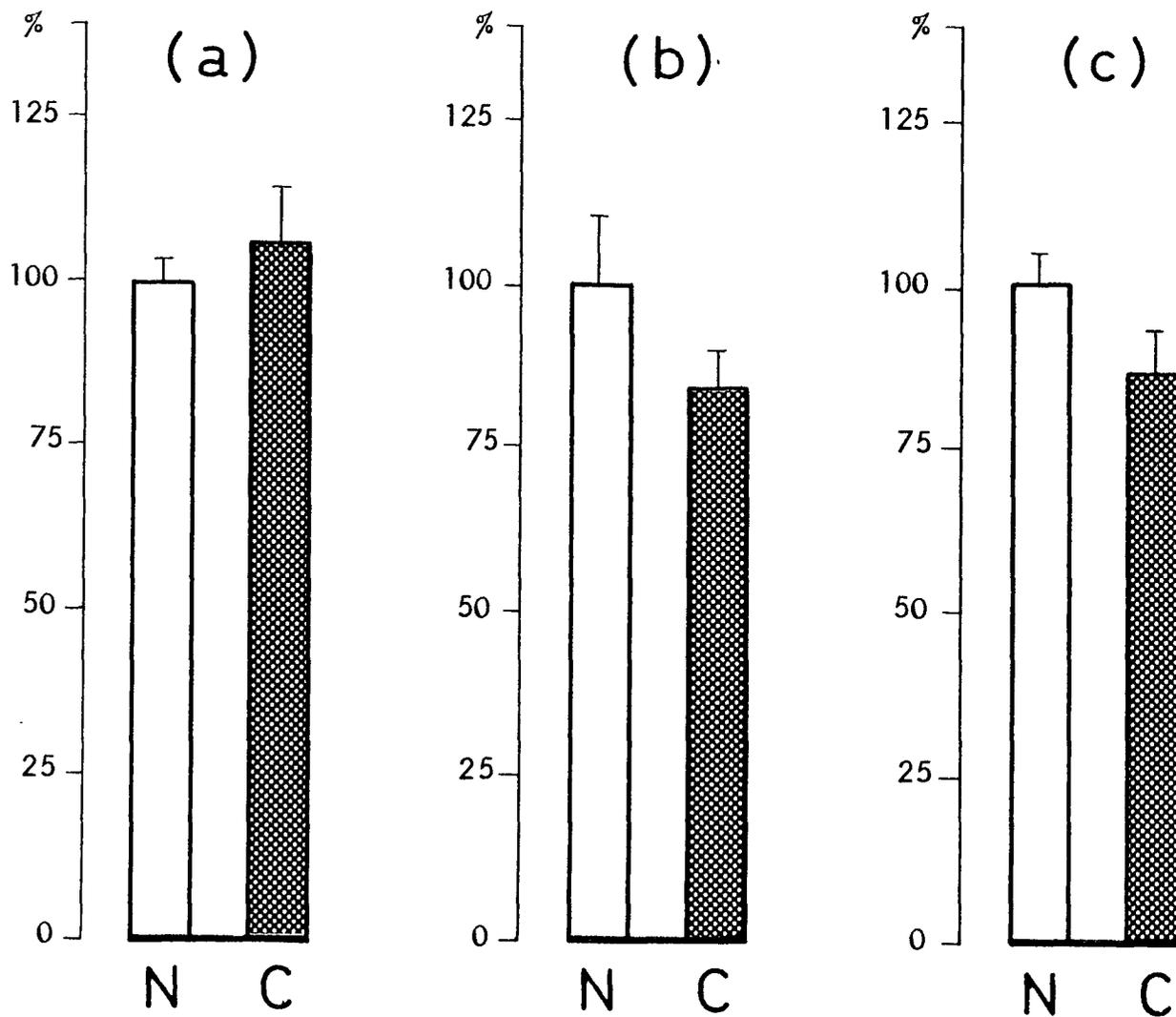
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	238.3	29.1	10.3
Castradas	8	206.9	50.0	17.7
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.44	N.S.	13.2	

CONCENTRACION DE DNA (a), RNA (b) Y PROTEINAS (c) EN HIPOTALAMO DE RATAS  
MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C)

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $0.805 \pm 0.028 \mu\text{g DNA/mg. tej. fresco}$ , (b)  $0.979 \pm 0.096 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (c)  $238.3 \pm 10.3 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ .

FIGURA N° 23



3.3.2.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

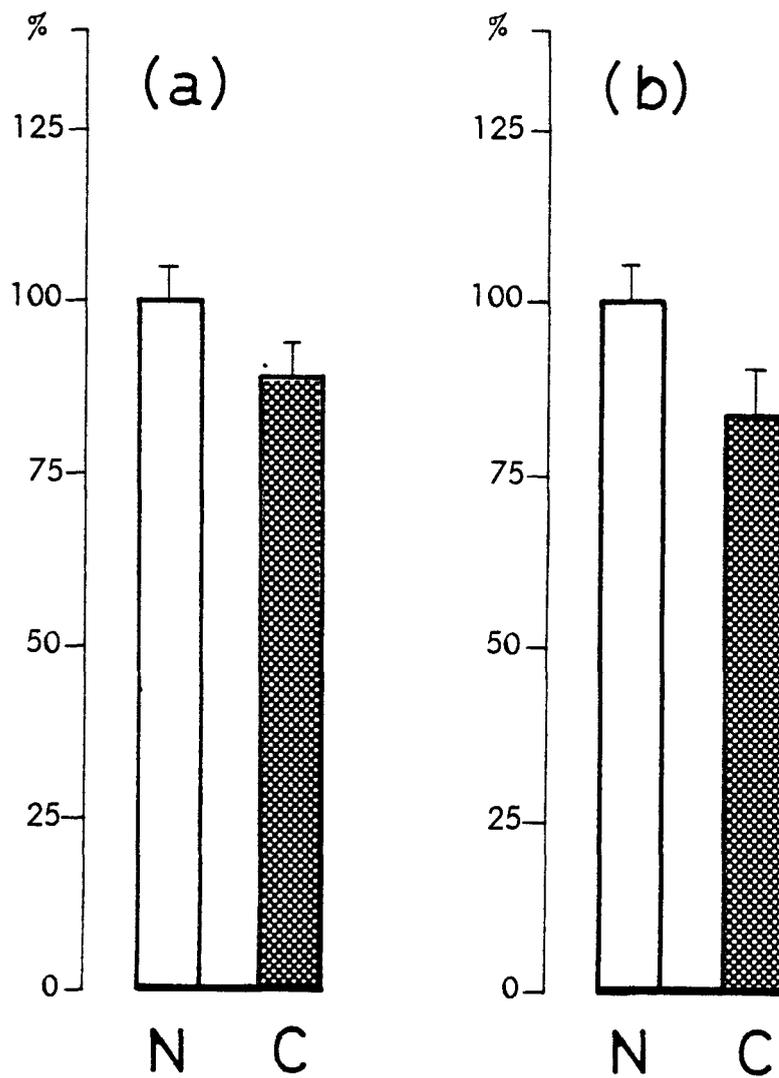
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	118.81	15.1	5.3
Castrados	9	105.8	17.9	5.95
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.51	N.S.	10.9	

3.3.2.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	105.6	15.0	5.3
Castrados	8	88.9	19.8	7.0
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.78	< 0.05	15.8	

FIGURA N° 24



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $118.31 \pm 5.3$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  == DNA, (b)  $105.6 \pm 5.3$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  == DNA.

(b) N-C  $p < 0.05$

## 3.3.2.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN HIPOTALAMO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

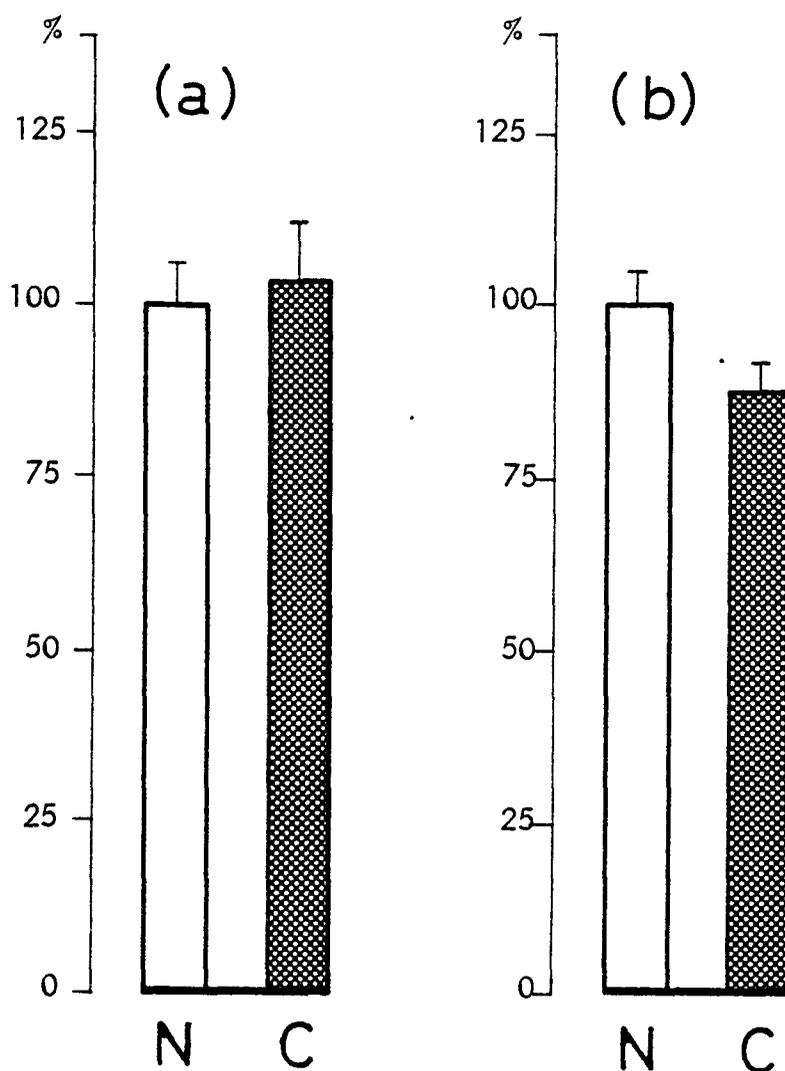
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	133.1	21.0	7.0
Castrados	9	137.6	33.4	11.1
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.33	N.S.	3.4	

3.3.2.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN HIPOTALAMO DE RATAS  
MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	481.3	56.9	20.1
Castrados	8	419.1	61.7	21.8
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.96	< 0.05	12.9	

FIGURA N° 25



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOTÁLAMO DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) = con respecto a los valores obtenidos en los normales= (controles): (a)  $135.1 \pm 7.0$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./  $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $481.3 \pm 20.1$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp/ mg. Proteínas.

(b) N-C  $p < 0.05$

### 3.4.- AMIGDALA CEREBRAL

### 3.4.1.- AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA .-

Durante el ciclo sexual la concentración de DNA por célula = (expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco) fué de: 0.686 en el diestro, 0.692 en el proestro y 0.706 en el estro (3.4.1.1, Fig. 26a). Las variaciones porcentuales entre cada día no superaron el 3%, siendo estadísticamente no significativas.

Tras la castración la concentración de DNA por célula obtenida: 0.672  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco (3.4.1.1, Fig. 26a) resultó = similar a la encontrada a lo largo del ciclo (diferencia máxima: 5%).

Para la concentración de RNA por célula se registraron los = siguientes valores en la hembra ciclante (3.4.1.2, Fig. 26b): = 1.056  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en el diestro, 1.050  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en el == proestro y 0.976  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en el estro. Las oscilaciones, me nores del 9%, no llegaron a ser significativas.

La concentración de RNA por célula tras la ovariectomía: = 1.081  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  (3.4.1.2, Fig. 26b) tampoco supuso cambio = alguno en relación a los niveles alcanzados durante el ciclo == (las diferencias se mantuvieron inferiores al 11%).

La evolución de la concentración de proteínas por célula a = lo largo del ciclo sexual fué de: 252.4  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en el diestro, 242.4  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en el proestro y 255.4  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en el estro (3.4.1.3, Fig. 26c). El análisis = estadístico mostró una ausencia de significación en las altera ciones (mayor diferencia: 8%).

En las hembras castradas la concentración de proteínas por = célula: 255.4  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  (3.4.1.3, Fig. 26c), tampoco= resultó ser significativamente distinta de los valores observa

dos a través del ciclo (cambio máximo: 5.5%).

En la rata hembra ciclante, la síntesis de RNA por célula = (expresada por dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA) presentó una fluctuación algo más acusada que la de los parámetros citados: 157.2 en el diestro, 140.2 en el proestro y 158.8 en el estro = (3.4.1.4, Fig. 27a). Estas variaciones que llegan a ser del == 13.5%, carecieron, no obstante, de significación estadística.

En ovariectomizadas, la síntesis de RNA por célula: 144.7 = dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA (3.4.1.4, Fig. 27a) fué tam- bien similar a la descrita para las distintas fases del ciclo = (oscilación menor al 9%).

Por su parte la síntesis de proteínas por célula (expresada= en dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA) mostró una activi- dad más elevada en el diestro: 81.5 y en el estro: 83.6 que en el proestro: 68.2 (3.4.1.5, Fig. 27b). Los cambios encontrados en el paso diestro-proestro (disminución del 16.5%) y en el == tránsito del proestro al estro (aumento del 22.5%) tuvieron sig- nificación estadística ( $p < 0.05$ ).

La síntesis de proteínas por célula en hembras castradas: == 71.9 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporados/ $\mu\text{g}$  DNA (3.4.1.5, Fig. 27b) no difirió significativamente de los valores registrados en cada uno de los días del ciclo, a pesar de que se detectaron variaciones de hasta un 14%.

La tasa de recambio de RNA (estimada por el cociente dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA) osciló a lo largo del ciclo sexual= de la siguiente forma: 172.1 en el diestro, 147.4 en el proes- tro y 179.8 en el estro (3.4.1.6, Fig. 28a). Fueron significati- vas ( $p < 0.05$ ) las alteraciones halladas en las etapas diestro-

proestro (descenso del 14.5%) y proestro-estro (incremento del 22%).

La extirpación de los ovarios dió lugar a una tasa de recambio de RNA de 156.3 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA (3.4.1.6, Fig. 28a) que no fué significativamente distinta (mayor diferencia: 13%) de los niveles obtenidos en la hembra ciclante.

En lo que respecta a las fluctuaciones de la tasa de recambio proteica (expresada en dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/mg proteínas) durante el ciclo sexual: 316.1 en el diestro, 265.4 en el proestro y 314.2 en el estro (3.4.1.7, Fig. 28b), resultaron = significativas ( $p < 0.05$ ) las de los pasos diestro-proestro == (disminución del 19%) y proestro-estro (aumento del 18.5%).

TER HAAR y MACKINNON (272) encontraron un margen de oscilación no superior al 8% para la tasa de recambio proteica en las distintas fases del ciclo sexual.

Tras la castración la tasa de recambio proteica: 276.9 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporada/mg proteínas (3.4.1.7, Fig. 28b) fué estadísticamente igual (el mayor cambio comparativo no superó el = 12.5% que la detectada en la hembra ciclante.

3.4.1.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL  
DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	0.686	0.058	0.020
Proestro	10	0.692	0.062	0.020
Estro	8	0.706	0.053	0.019
Castradas	11	0.672	0.170	0.051

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.20	N.S.	0.9
Proestro/Estro	0.67	N.S.	2.0
Estro/Diestro	0.48	N.S.	2.8
Diestro/Castradas	0.21	N.S.	2.0
Proestro/Castradas	0.33	N.S.	2.9
Estro/Castradas	0.52	N.S.	4.8

3.4.1.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL  
DE RATAS HEMBRA .

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	1.056	0.081	0.214
Proestro	10	0.050	0.271	0.090
Estro	8	0.976	0.217	0.077
Castradas	11	1.081	0.266	0.089

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.05	N.S.	0.6
Proestro/Estro	0.58	N.S.	7.0
Estro/Diestro	0.86	N.S.	8.2
Diestro/Castradas	0.23	N.S.	2.4
Proestro/Castradas	0.23	N.S.	3.0
Estro/Castradas	0.83	N.S.	10.8

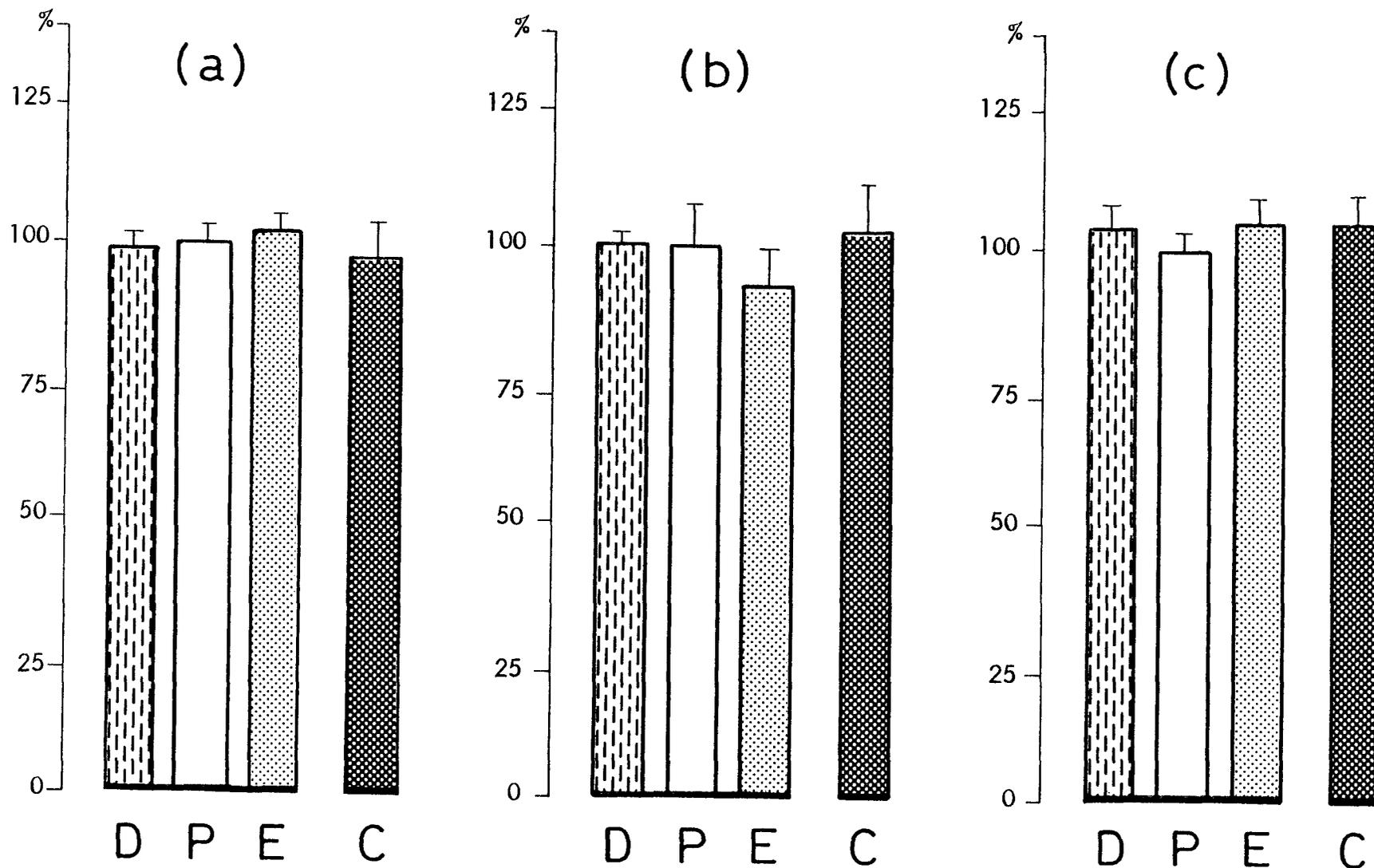
3.4.1.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN AMIGDALA  
CEREBRAL DE RATAS HEMBRA .

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	252.4	31.8	11.2
Proestro	9	242.4	22.6	7.5
Estro	8	255.4	34.6	12.2
Castradas	10	255.4	37.9	12.0

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.71	N.S.	3.9
Proestro/Estro	0.87	N.S.	5.4
Estro/Diestro	0.17	N.S.	1.2
Diestro/Castradas	0.17	N.S.	1.2
Proestro/Castradas	0.85	N.S.	5.4
Estro/Castradas	0.00	N.S.	0.0

FIGURA N° 26



3.4.1.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	7	157.2	24.5	9.3
Proestro	8	140.2	13.7	4.8
Estro	8	158.8	25.9	9.2
Castradas	8	144.7	40.9	14.5

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.57	N.S.	10.8
Proestro/Estro	1.68	N.S.	13.3
Estro/Diestro	0.11	N.S.	1.0
Diestro/Castradas	0.66	N.S.	8.0
Proestro/Castradas	0.28	N.S.	3.2
Estro/Castradas	0.77	N.S.	8.9

3.4.1.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

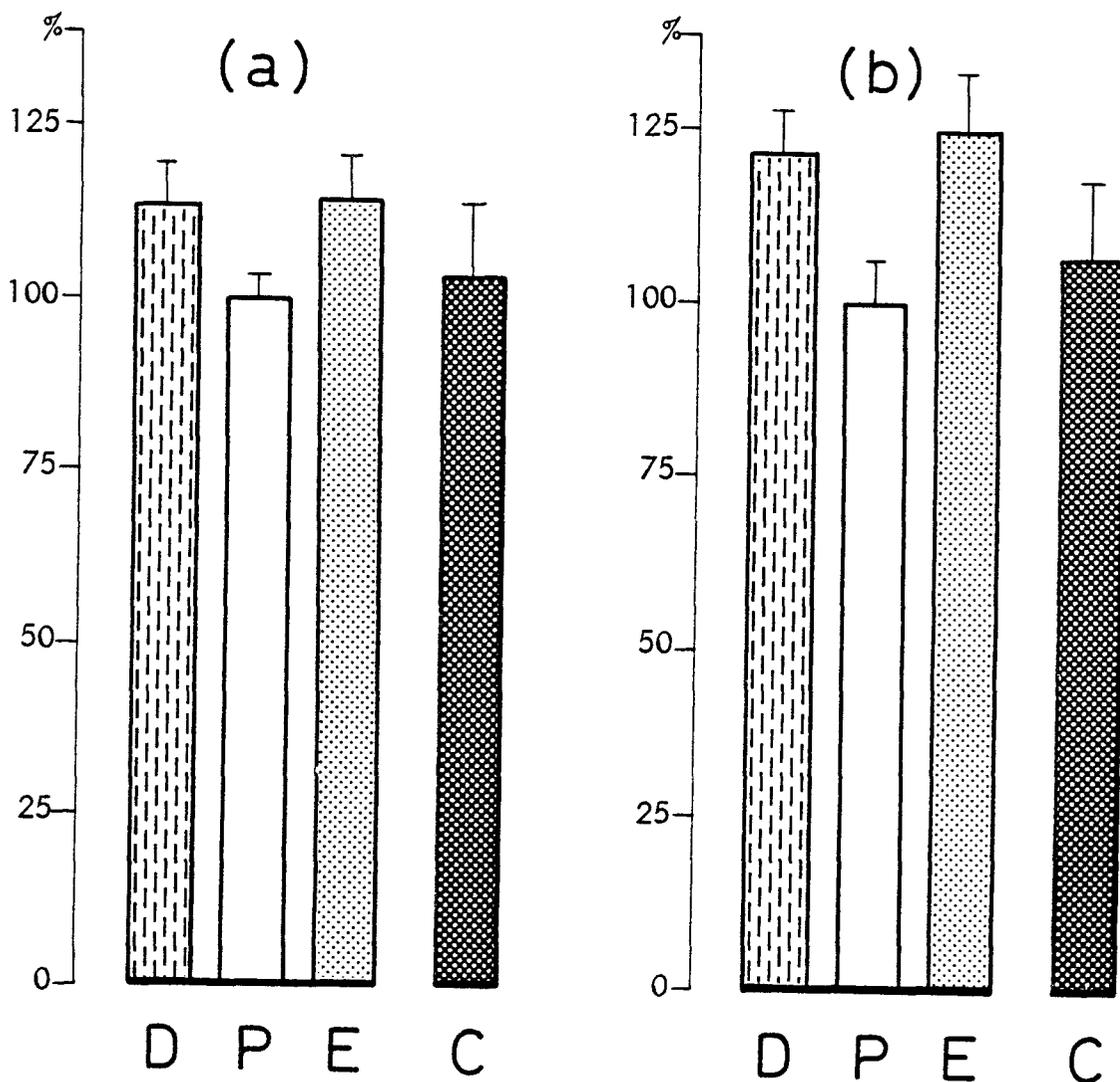
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	81.5	12.9	4.6
Proestro	8	68.2	12.0	4.2
Estro	8	83.6	17.9	6.3
Castradas	9	71.9	22.1	7.4

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.00	< 0.05	16.3
Proestro/Estro	1.89	< 0.05	22.6
Estro/Diestro	0.25	N.S.	2.5
Diestro/Castradas	1.01	N.S.	11.8
Proestro/Castradas	0.40	N.S.	5.4
Estro/Castradas	1.12	N.S.	14.0

FIGURA N° 27



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a == los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $140.2 \pm 4.8$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $68.2 \pm 4.2$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  DNA. (D = diestro, E = estro).

(b) D-P  $p < 0.05$

P-E  $p < 0.05$

3.4.1.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	172.1	29.6	10.5
Proestro	9	147.4	23.6	7.9
Estro	8	179.8	39.6	14.0
Castradas	9	156.3	31.3	10.4

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.80	< 0.05	14.4
Proestro/Estro	1.95	< 0.05	22.0
Estro/Diestro	0.41	N.S.	4.3
Diestro/Castradas	1.00	N.S.	9.2
Proestro/Castradas	0.64	N.S.	6.0
Estro/Castradas	1.28	N.S.	13.1

3.4.1.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRA.

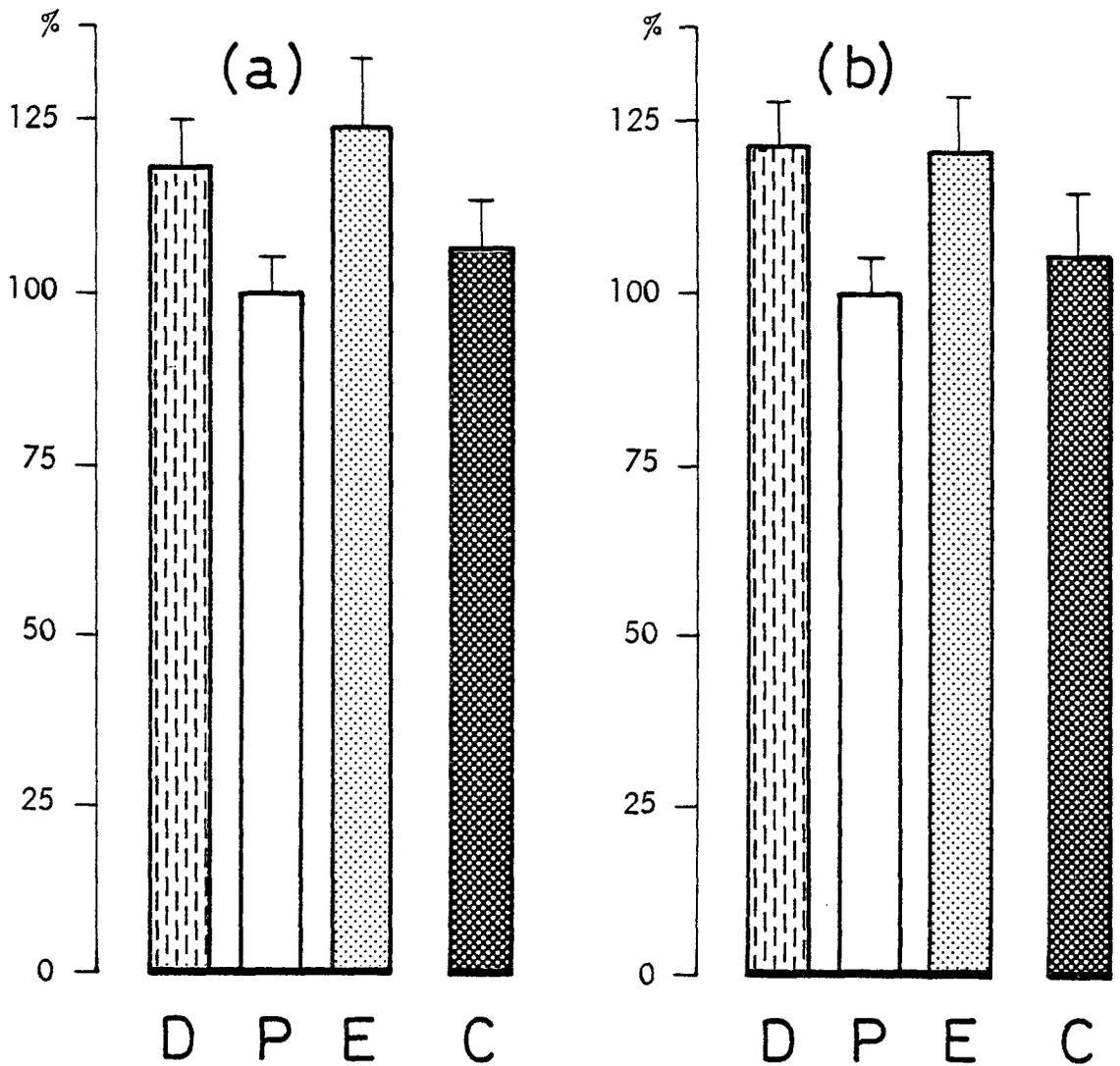
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	316.1	52.6	18.6
Proestro	8	265.4	41.6	14.7
Estro	8	314.2	60.1	21.3
Castradas	9	276.9	70.4	23.5

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.00	< 0.05	19.1
Proestro/Estro	1.77	< 0.05	18.4
Estro/Diestro	0.06	N.S.	0.6
Diestro/Castradas	1.21	N.S.	12.4
Proestro/Castradas	0.38	N.S.	4.3
Estro/Castradas	1.28	N.S.	11.9

FIGURA N° 28



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $147.4 \pm 7.9$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridina incorp. / $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $265.4 \pm 14.7$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas. (D = diestro, E = estro).

(a) D-P  $p < 0.05$   
P-E  $p < 0.05$

(b) D-P  $p < 0.05$   
P-E  $p < 0.05$

### 3.4.2.- AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO .-

La concentración de DNA por célula (estimada por la relación  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco) fué de 0.692 en controles y 0.727 en castrados (3.4.2.1, Fig. 29a). El análisis comparado de ambos valores (que difieren en un 5%) señaló la ausencia de variación significativa entre ellos.

La concentración de RNA por célula evolucionó desde 1.080  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en controles a 0.947 en orquidectomizados, (3.4.2.2, Fig. 29b), lo que supuso un ligero descenso del 12.5%, no significativo.

La extirpación gonadal no modificó tampoco la concentración de proteínas por célula, que pasó de 279.7  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en machos intactos a 250.7  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en castrados (diferencia: 10.5%) (3.4.2.3, Fig. 29c).

Tras la castración la síntesis de RNA por célula descendió en un 18% ( $p < 0.05$ ), variando de 127.1 a 104.1 dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g DNA}$  (3.4.2.4, Fig. 30a).

De igual modo, la síntesis de proteínas por célula disminuyó alrededor de un 18% ( $p < 0.05$ ) después de la orquidectomía, siendo de 72.6 dpm  $^{14}\text{C-Aminoácidos}$  incorporados/ $\mu\text{g DNA}$  en controles a 59.5 dpm  $^{14}\text{C-AA}$ s incorporado/ $\mu\text{g DNA}$  en castrados (3.4.2.5, Fig. 30b).

La tasa de recambio de RNA fué, también, más baja, en un 18.5% ( $p < 0.005$ ) en machos castrados (102.3 dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g RNA}$ ) que en intactos (125.5 dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g RNA}$ ), (3.4.2.6, Fig. 31a).

Un idéntico sentido de cambio experimentó la tasa de recam--

bio proteica: 285.4 dpm  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/mg proteínas para los controles y 230.3 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporados/mg proteínas para los machos castrados (3.4.2.7, Fig. 31b), lo que representó un descenso del orden del 24% ( $p < 0.05$ ) tras la extirpación gonadal.

3.4.2.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL  
DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	0.6692	0.089	0.030
Castrados	9	0.727	0.106	0.035
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.72	N.S.	5.1	

3.4.2.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL  
DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	1.081	0.166	0.059
Castrados	9	0.947	0.169	0.056

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	1.60	N.S.	12.4

3.4.2.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

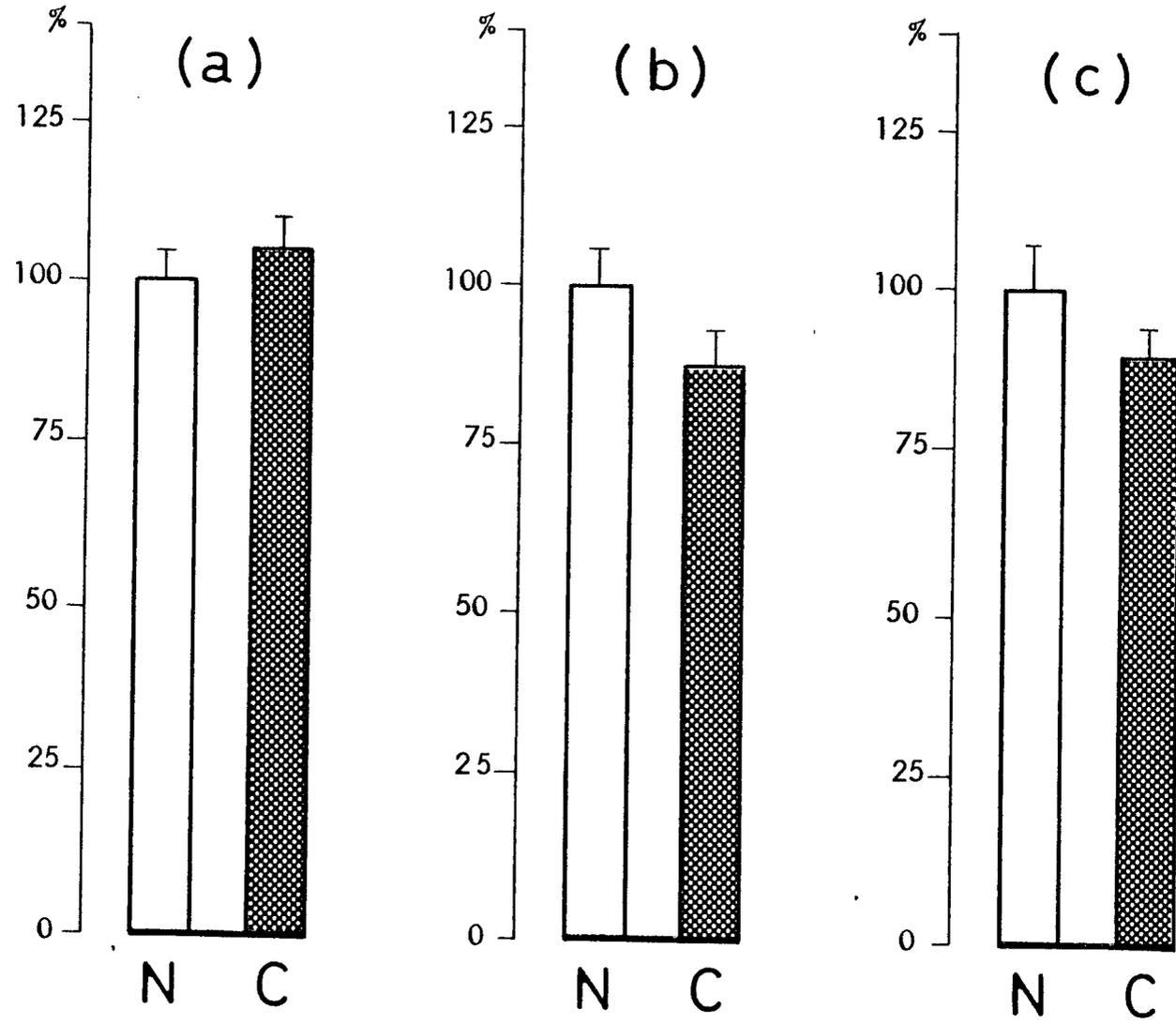
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	279.7	54.1	19.1
Castrados	8	250.5	34.6	12.2
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.20	N.S.	10.4	

CONCENTRACION DE DNA (a), RNA (b) Y PROTEINAS (c) EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $0.692 \pm 0.030 \mu\text{g DNA/mg. tej. fresco}$ , (b)  $1.081 \pm 0.059 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (c)  $279.7 \pm 19.1 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ .

FIGURA N° 29



3.4.2.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

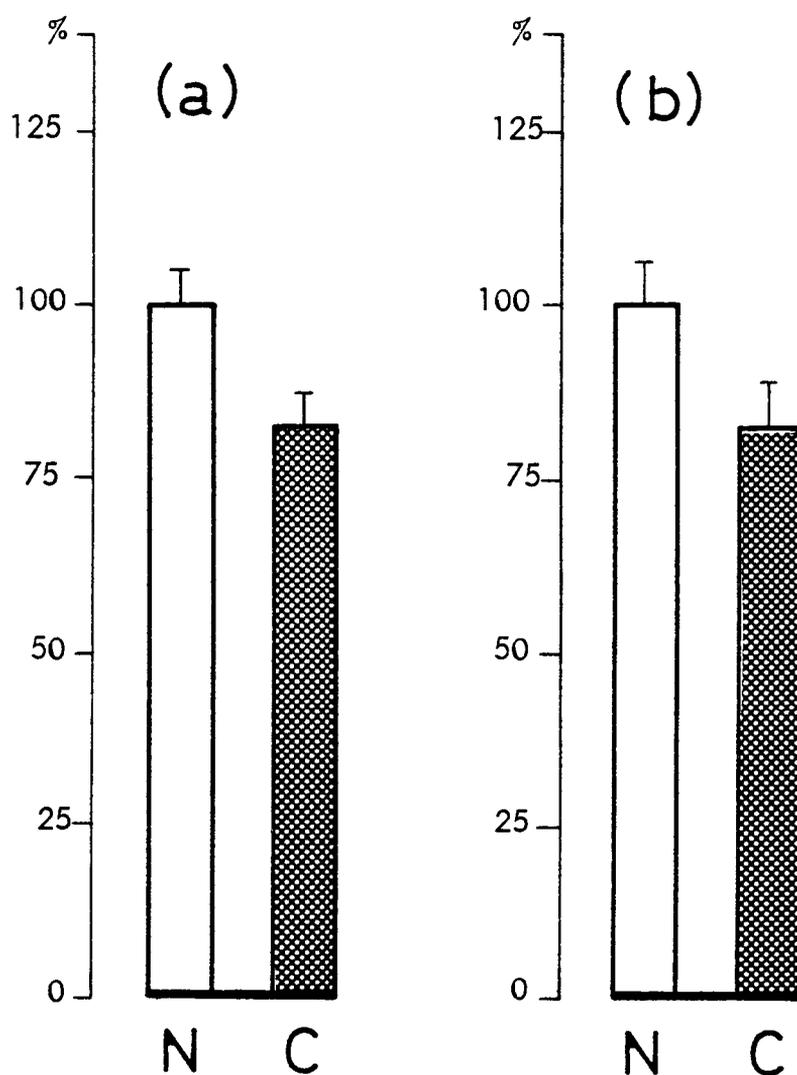
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	127.1	17.5	6.2
Castrados	8	104.1	18.2	6.4
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.41	< 0.05	18.1	

3.4.2.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	72.6	12.5	4.4
Castrados	9	59.5	14.6	4.9
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.86	< 0.05	18.1	

FIGURA N° 30



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) = con respecto a los valores obtenidos en los normales= (controles): (a)  $127.1 \pm 6.2$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $72.6 \pm 4.4$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid.incorp./ $\mu\text{g}$  DNA.

(a) N-C  $p < 0.05$

(b) N-C  $p < 0.05$

3.4.2.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

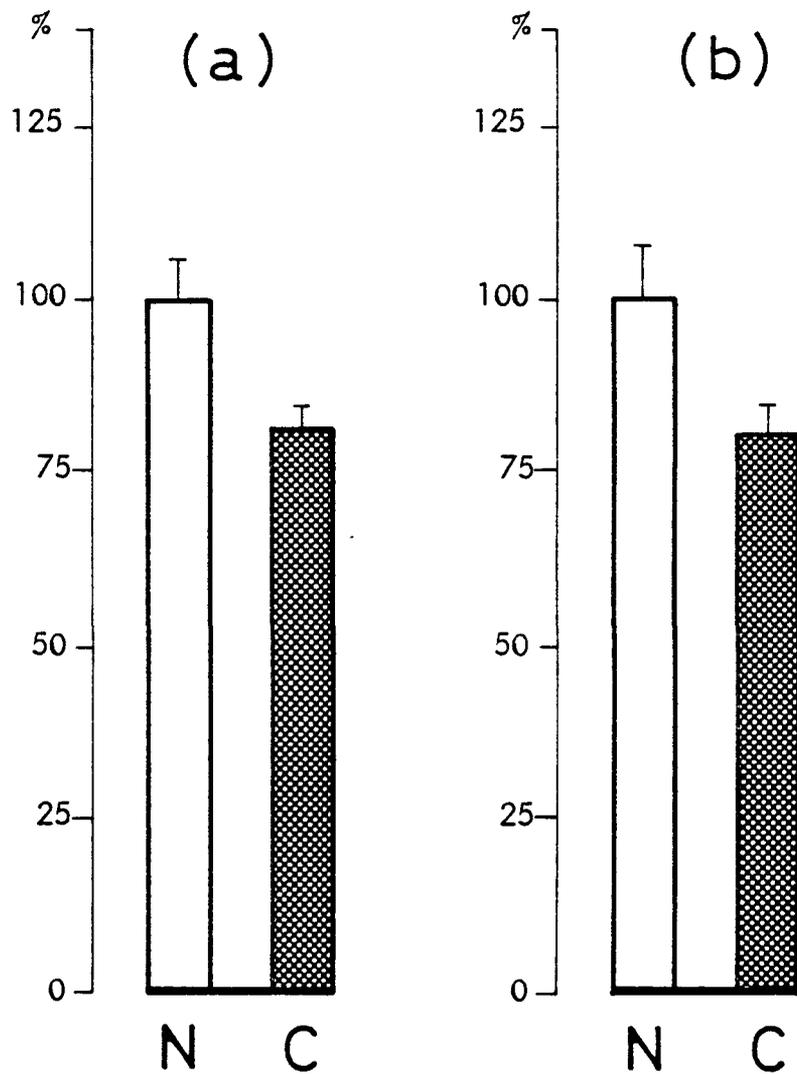
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	125.5	19.8	6.6
Castrados	9	102.3	10.0	3.4
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.96	< 0.005	18.5	

3.4.2.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	10	285.4	68.4	21.6
Castrados	9	230.3	28.3	9.6
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	2.12	< 0.05	23.9	

FIGURA N° 31



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN AMIGDALA CEREBRAL DE RATAS. MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $125.5 \pm 6.6$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $285.4 \pm 21.6$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg. Prot.

(a) N-C  $p < 0.005$

(b) N-C  $p < 0.05$

### 3.5.- H I P O C A M P O

### 3.5.1.- HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRA .-

La concentración de DNA por célula expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco, obtenida a lo largo del ciclo estral fué de: 0.613 en diestro, 0.627 en el proestro y 0.644 en el estro (3.5.1.1., Fig. 32a). Las diferencias entre los pares de valores no sobrepasaron el 5% y carecieron siempre de significación.

Tras la castración la concentración de DNA: 0.638  $\mu\text{g DNA/mg}$  = tejido fresco, (3.5.1.1, Fig. 32a), resultó análoga a las registradas durante el ciclo, de las cuales difirió en menos de un 5%.

En la hembra ciclante la concentración de RNA por célula, estimada por el cociente  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , evolucionó así: 1.08 en el diestro, 1.19 en el proestro y 1.09 en el estro (3.5.1.2, Fig 32b). Las oscilaciones, que no llegaron al 10%, no fueron significativas.

La concentración de RNA en ovariectomizadas: 1.04  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  (3.5.1.2, Fig. 32b) no supuso cambio alguno en relación a los niveles observados en los distintos días del ciclo, con los que no se diferenció en más de un 12%.

Durante el ciclo sexual la concentración de proteínas por célula, expresada como  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$ , fluctuó mínimamente y sin significación, dándose los siguientes resultados: 364.2 en = el diestro, 352.2 en el proestro y 333.1 en el estro (3.5.1.3, = Fig. 32c ).

La ovariectomía dió lugar a una concentración de proteínas de 350.6  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  (3.5.1.3, Fig. 32c), que, tampoco, representó una modificación significativa de los valores hallados a lo largo del ciclo.

La síntesis de RNA por célula, calculada por el cociente dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA, fué, en la hembra ciclante, de: 258.6 en el diestro, 236.9 en el proestro y 225.3 en el estro = (3.5.1.4, Fig. 33a). Aunque se apreciaron diferencias de hasta un 13%, el análisis comparado de los datos demostró la ausencia de variaciones significativas.

La castración que condujo a una síntesis de RNA de 225.4 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  DNA (3.5.1.4, Fig. 33a), no alteró, = al igual que en el caso de los parámetros ya citados, la constancia en la actividad biosintética encontrada a lo largo del = ciclo.

En lo que respecta a la síntesis de proteínas por célula, los valores obtenidos durante el ciclo sexual, expresados en dpm --  $^{14}\text{C}$ -Aminoácidos incorporados/mg Proteínas, fueron 216.3 en el = diestro, 185.5 en el proestro y 192.4 en el estro (3.5.1.1, Fig. 33b). El margen de oscilación llegó hasta el 14%, si bien, las comparaciones resultaron, en todos los casos, no significativas.

La síntesis de proteínas en ovariectomizadas descendió hasta 186.8 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporados/mg Proteínas (3.5.1.5, Fig. 33b), un 13% más baja que el nivel de actividad mayor del ciclo. Esta disminución careció, no obstante, de significación.

La tasa de recambio de RNA, expresada en dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA, fluctuó, a lo largo del ciclo sexual, de la = siguiente manera: 291.2 en el diestro, 239.0 en en proestro y = 244.2 en el estro (3.5.1.6, Fig. 34a). Tuvieron significación = estadística el descenso del 18% ( $p < 0.05$ ) del paso diestro-proes- tro y el incremento del 19% ( $p < 0.05$ ) del tránsito del estro al diestro.

La extirpación testicular se tradujo en un recambio de RNA =

de 240.6 dpm  $^3\text{H}$ -Uridina incorporada/ $\mu\text{g}$  RNA (3.5.1.6, Fig. 34a ). que fué igual al encontrado en los días del proestro y estro y menor, en un 17% ( $p < 0.05$ ) al registrado en el diestro.

Por su parte, los resultados de la tasa de recambio proteica, estimados en dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs incorporados/mg proteínas, en la hembra ciclante: 564.7 en el diestro, 448.8 en el proestro y 464.5 en = el estro (3.5.1.7, Fig. 34b), mostraron, en analogía con los del recambio de RNA, una disminución del 21% ( $p < 0.025$ ) en el tránsito del diestro al proestro y una subida del 22% ( $p < 0.05$ ) en el avance del ciclo del estro al diestro.

El recambio proteico de hembras castradas: 458.4 dpm  $^{14}\text{C}$ -AAs= incorporados/mg proteínas (3.5.1.7, Fig. 34b ) fué similar al de los días proestro y estro e inferior, en un 19% ( $p < 0.05$ ) al del diestro.

3.5.1.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS  
HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	0.613	0.096	0.032
Proestro	10	0.627	0.065	0.021
Estro	8	0.644	0.128	0.045
Castradas	11	0.638	0.160	0.048

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.35	N.S.	2.3
Proestro/Estro	0.34	N.S.	2.7
Estro/Diestro	0.53	N.S.	4.8
Diestro/Castradas	0.39	N.S.	4.1
Proestro/Castradas	0.19	N.S.	1.8
Estro/Castradas	0.01	N.S.	0.9

3.5.1.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA DE HIPOCAMPO DE RATAS  
HEMBRA.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	1.083	0.187	0.063
Proestro	9	1.190	0.207	0.069
Estro	8	1.089	0.086	0.030
Castradas	10	1.043	0.223	0.071

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.04	N.S.	9.9
Proestro/Estro	1.21	N.S.	8.5
Estro/Diestro	0.08	N.S.	0.5
Diestro/Castradas	0.38	N.S.	3.7
Proestro/Castradas	1.40	N.S.	12.4
Estro/Castradas	0.52	N.S.	4.2

3.5.1.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRAS.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	364.2	36.4	12.1
Proestro	10	352.2	73.8	23.4
Estro	8	333.1	40.8	14.4
Castradas	10	350.6	83.4	26.4

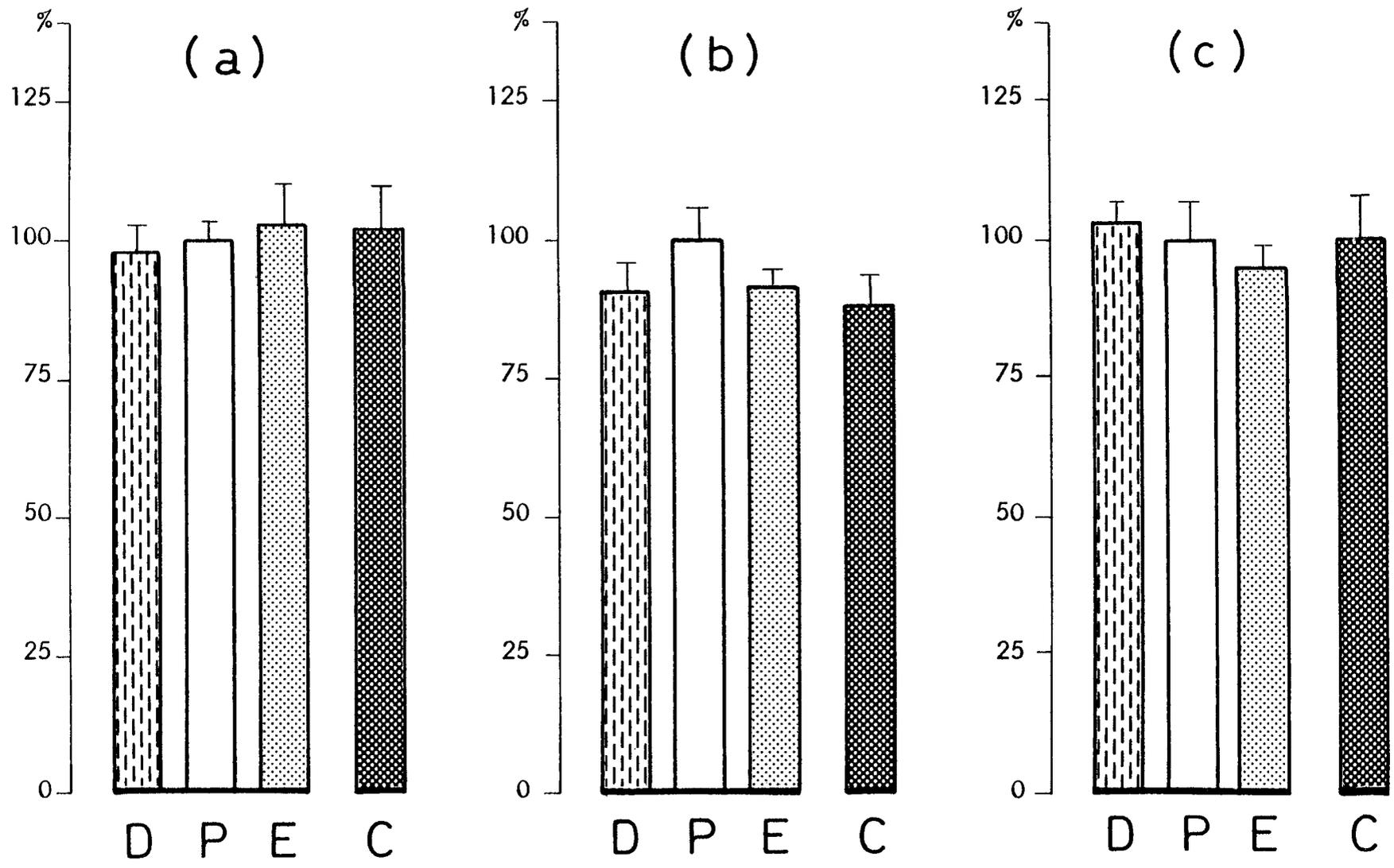
-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.42	N.S.	3.3
Proestro/Estro	0.62	N.S.	5.4
Estro/Diestro	1.56	N.S.	9.3
Diestro/Castradas	0.43	N.S.	3.7
Proestro/Castradas	0.04	N.S.	5.3
Estro/Castradas	0.51	N.S.	5.3

CONCENTRACION DE DNA (a), RNA (b) Y PROTEINAS (c) EN HIPOCAMPO DE RATAS  
HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $0,627 \pm 0,021 \mu\text{g DNA/mg tej. fresco}$ , (b)  $1,190 \pm 0,069 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (c)  $352,2 \pm 23,4 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ . (D = diestro, E = estro).

FIGURA N° 32



## 3.5.1.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	258.6	40.0	14.1
Proestro	10	236.9	69.2	21.9
Estro	8	225.3	51.0	18.0
Castradas	10	225.4	60.9	19.3

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	0.74	N.S.	8.4
Proestro/Estro	0.37	N.S.	4.9
Estro/Diestro	1.36	N.S.	12.9
Diestro/Castradas	1.25	N.S.	12.8
Proestro/Castradas	0.37	N.S.	4.9
Estro/Castradas	0.00	N.S.	0.0

## 3.5.1.5.- SINTESIS DE PROTEINAS EN HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRA.

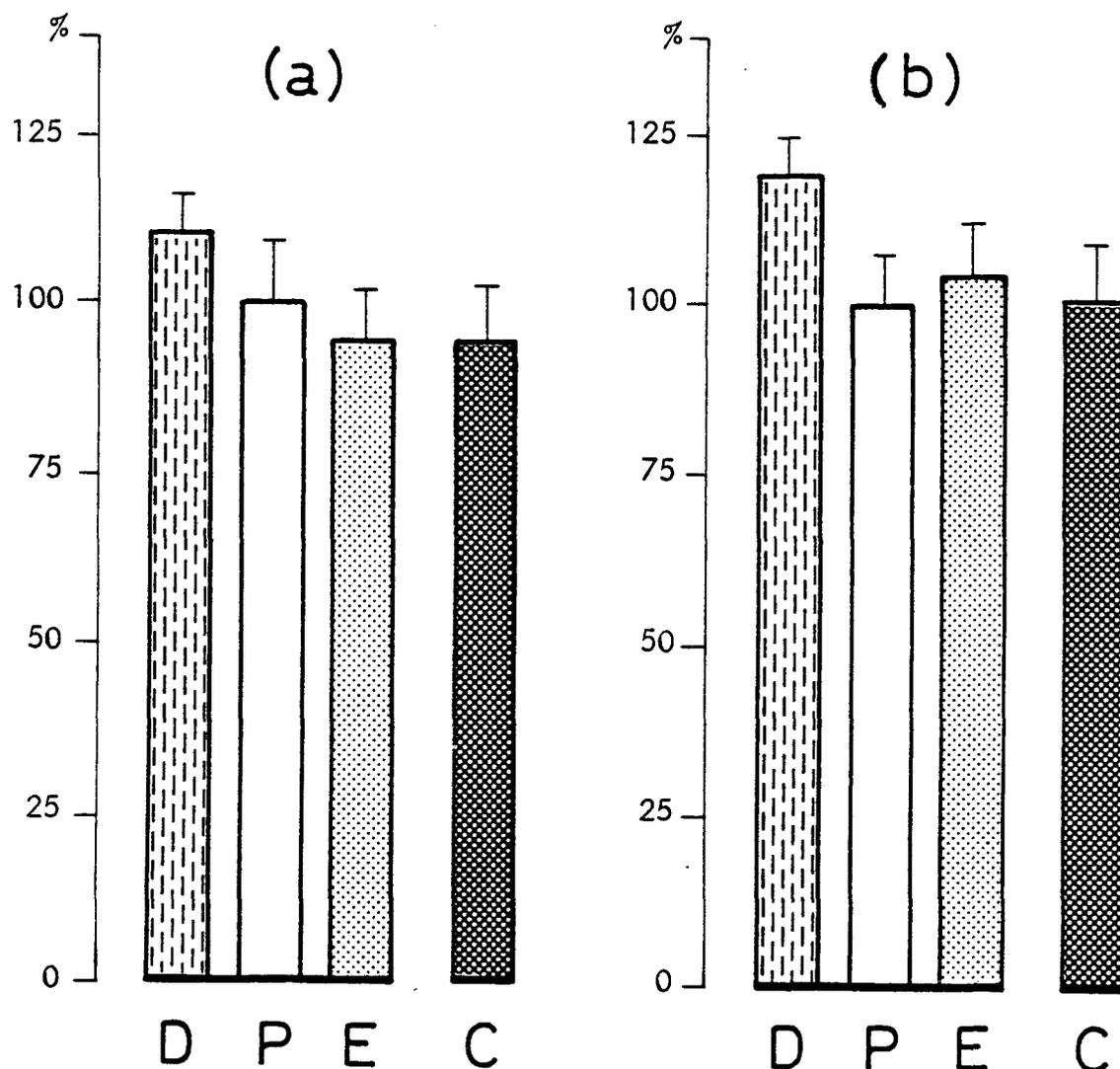
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	216.3	29.4	10.4
Proestro	8	185.5	38.2	13.5
Estro	8	192.4	39.4	13.9
Castradas	8	186.8	44.0	14.7

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.69	N.S.	14.2
Proestro/Estro	0.33	N.S.	3.7
Estro/Diestro	1.29	N.S.	12.4
Diestro/Castradas	1.51	N.S.	13.6
Proestro/Castradas	0.06	N.S.	0.7
Estro/Castradas	0.26	N.S.	2.9

FIGURA N° 33



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a == los valores obtenidos en proestro (P): (a)  $236.9 \pm 21.9$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $185.5 \pm 13.5$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  DNA. (D = diestro, E = estro).

## 3.5.1.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN HIPOCAMPO DE RATA HEMBRA.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  RNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	9	291.2	56.9	19.0
Proestro	10	239.0	54.7	17.3
Estro	8	244.2	44.3	15.7
Castradas	10	240.6	50.9	16.1

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	1.93	N.S.	17.9
Proestro/Estro	0.21	N.S.	2.2
Estro/Diestro	1.77	N.S.	19.2
Diestro/Castradas	1.94	N.S.	17.4
Proestro/Castradas	0.06	N.S.	0.7
Estro/Castradas	0.15	N.S.	1.5

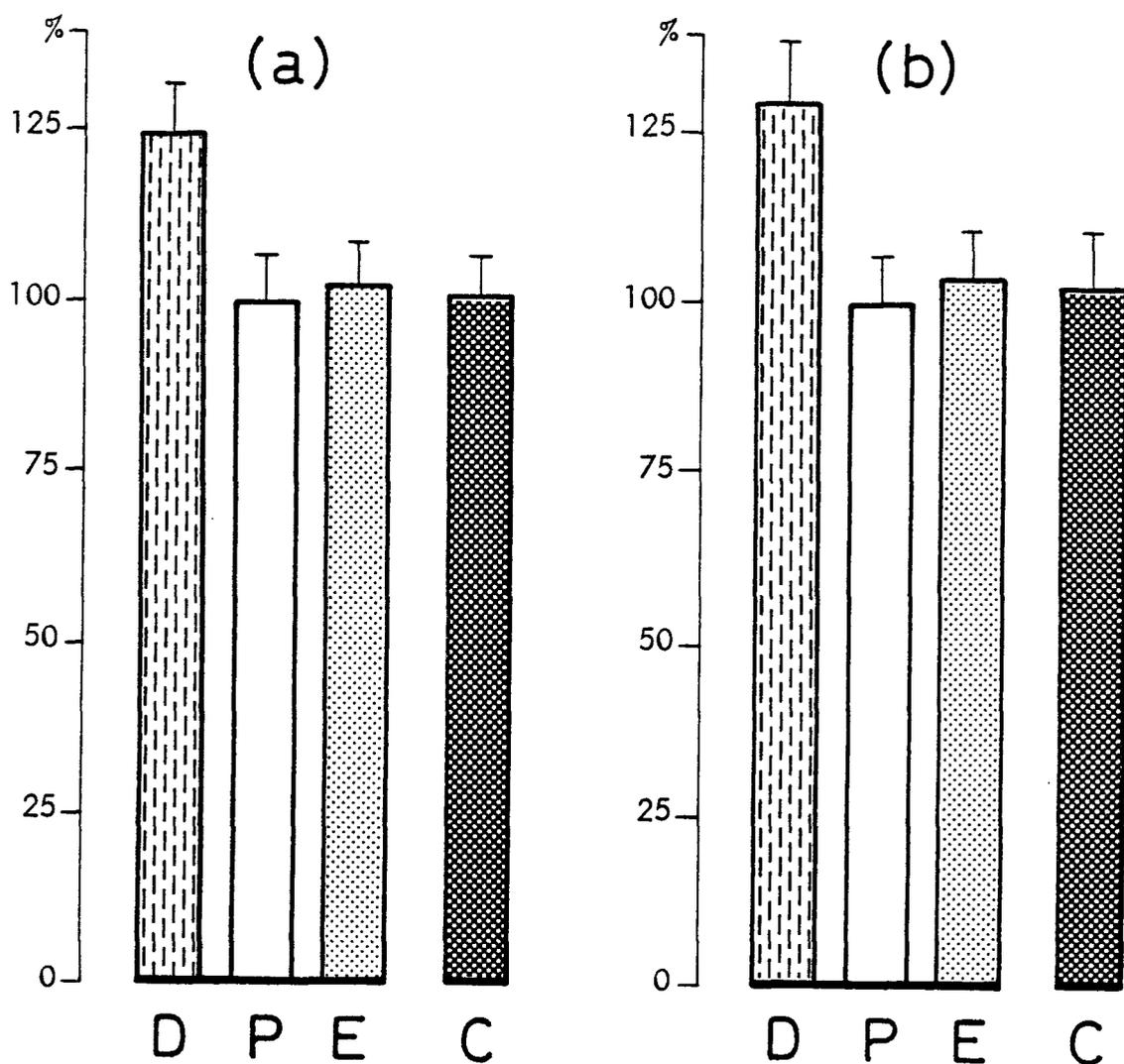
3.5.1.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN HIPOCAMPO DE RATA HEMBRA.  
EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Diestro	8	564.7	114.4	40.5
Proestro	9	448.8	90.9	30.3
Estro	8	464.5	43.3	33.0
Castradas	9	458.4	113.5	37.8

-----

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Diestro/Proestro	2.18	< 0.025	20.5
Proestro/Estro	0.33	N.S.	3.5
Estro/Diestro	1.80	< 0.05	21.6
Diestro/Castradas	1.80	< 0.05	18.8
Proestro/Castradas	0.19	N.S.	2.1
Estro/Castradas	0.11	N.S.	1.3

FIGURA N° 34



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOCAMPO DE RATAS HEMBRAS DURANTE EL CICLO ESTRAL Y CASTRADAS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en proestro (P) : (a)  $239.0 \pm 17.3$  dpm ( $^3\text{H}$ ) Uridina=incorp./ $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $488.8 \pm 30.3$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas. (D = diestro, E = estro).

(b) D-P  $p < 0.025$   
 E-D  $p < 0.05$   
 D-C  $p < 0.05$

### 3.5.2.- HIPOCAMPO DE RATAS MACHO .-

La castración de DNA por célula, expresada en  $\mu\text{g DNA/mg}$  tejido fresco, no se alteró por la extirpación gonadal, obteniéndose valores de 0.674 en los machos control y 0.662 en orquidectomizados (3.5.2.1, Fig. 35a ).

La concentración de RNA por célula pasó de 1.016  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en machos intactos a 1.094  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$  en castrados (3.5.2.2, Fig. 35b ), lo que supuso una ligera subida carente de significación.

También permaneció constante la concentración de proteínas == por célula, siendo de 341.8  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en los controles y 361.3  $\mu\text{g proteínas}/\mu\text{g DNA}$  en los machos castrados (3.5.2.3, Fig. 35c ).

La orquidectomía llevó la síntesis de RNA por célula de 171.2 a 191.1 dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g DNA}$  (3.5.2.4, Fig. 36a ), = lo que supuso un ligero aumento, no significativo, del 12%.

Tampoco cambió ante la ausencia de las gónadas la síntesis de proteínas por célula, que, expresada en dpm  $^{14}\text{C-Aminoácidos}$  incorporados/ $\mu\text{g DNA}$ , fué de 85.4 en los machos control y de 93.3 = en castrados (3.5.2.5., Fig. 36b ).

La tasa de recambio de RNA, calculada por el cociente dpm  $^3\text{H-Uridina}$  incorporada/ $\mu\text{g RNA}$ , pasó de 160.4 en machos intactos a = 181.2 en orquidectomizados (3.5.2.6, Fig. 37a ). Este pequeño incremento del 13% careció, igualmente, de significación.

Como en los casos expuestos, la tasa de recambio proteica, es timada en dpm  $^{14}\text{C-AA}$ s incorporados/ $\text{mg proteínas}$ , se mantuvo invariable tras la extirpación gonadal, registrándose niveles de == 247.3 en los controles y 273.0 en castrados (3.5.2.7, Fig. 37b ).

3.5.2.1.- CONCENTRACION DE DNA POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  DNA/mg TEJIDO FRESCO

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	0.674	0.105	0.035
Castrados	8	0.662	0.143	0.050
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.19	N.S.	1.8	

3.5.2.2.- CONCENTRACION DE RNA POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN:  $\mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	9	1.016	0.249	0.083
Castrados	8	1.094	0.247	0.087

---

	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.
Controles/Castrados	0.61	N.S.	7.7

3.5.2.3.- CONCENTRACION DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

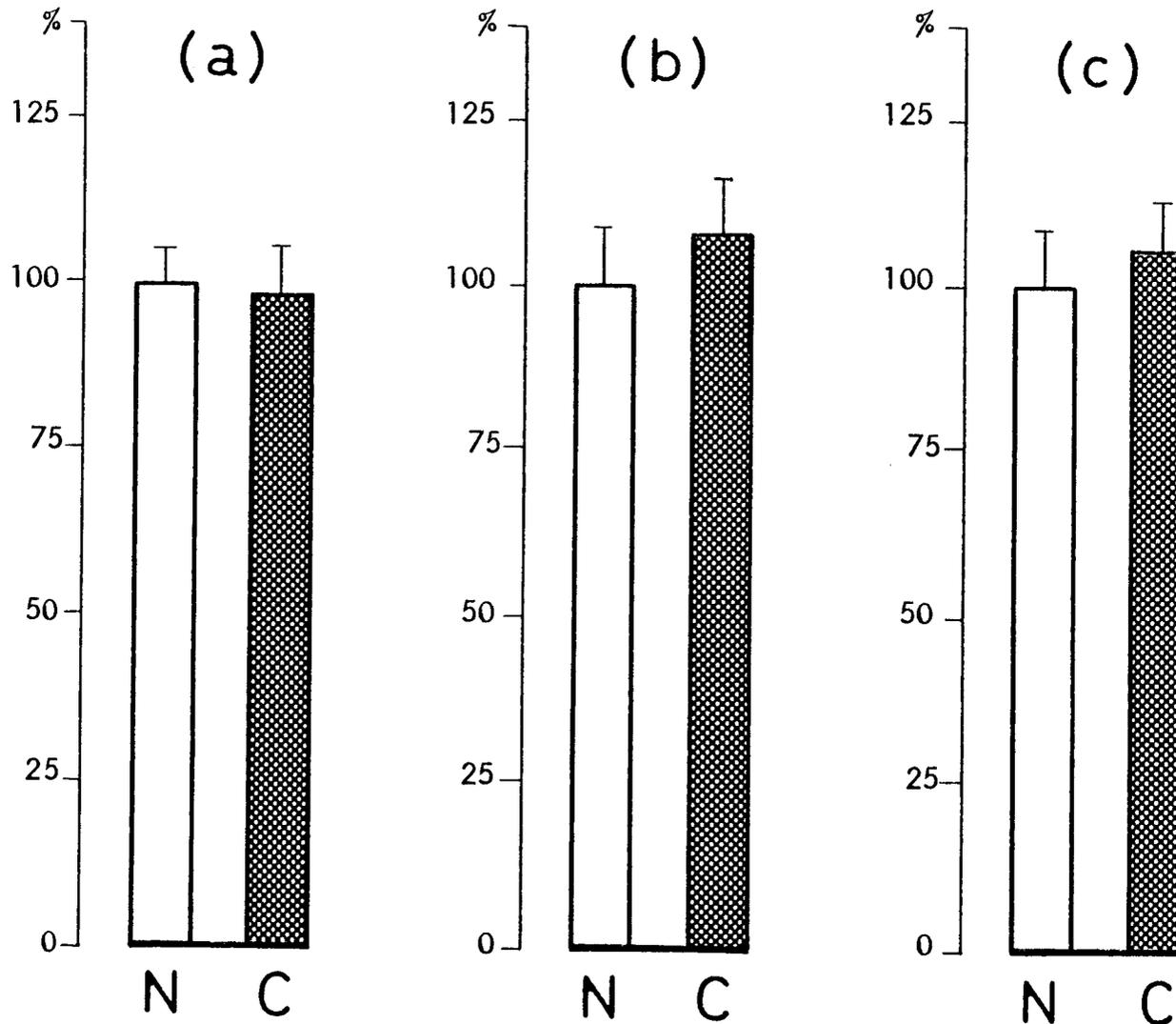
EXPRESADA EN:  $\mu\text{g}$  PROTEINAS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	341.8	83.5	29.5
Castrados	8	361.3	67.3	23.8
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.48	N.S.	5.7	

CONCENTRACION DE DNA (a), RNA (b) Y PROTEINAS (c) EN HIPOCAMPO DE RATAS MA-  
CHOS NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $0.674 \pm 0.035 \mu\text{g DNA/mg. tej. fresco}$ , (b)  $1.016 \pm 0.083 \mu\text{g RNA}/\mu\text{g DNA}$ , (c)  $341.8 \pm 29.5 \mu\text{g Proteínas}/\mu\text{g DNA}$ .

FIGURA N° 35



## 3.5.2.4.- SINTESIS DE RNA POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

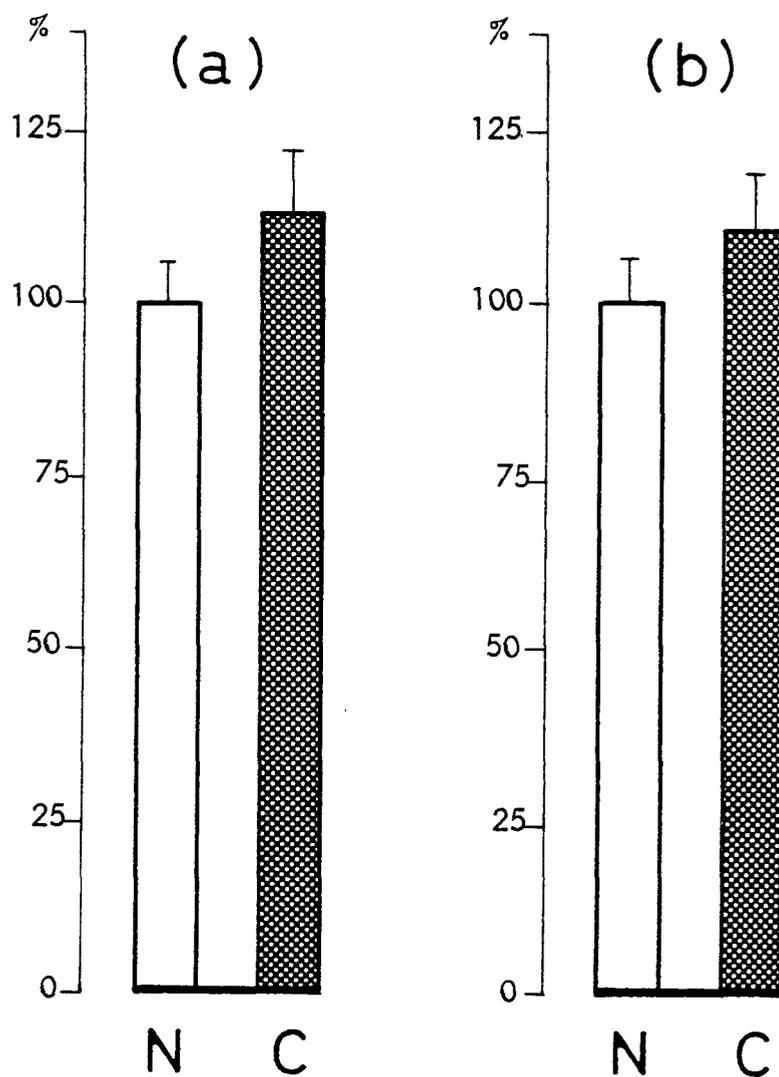
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	171.2	29.2	10.3
Castrados	8	191.1	53.1	19.1
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.87	N.S.	11.6	

3.5.2.5.- SINTESIS DE PROTEINAS POR CELULA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/ $\mu\text{g}$  DNA

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	85.4	13.9	4.9
Castrados	8	93.3	28.5	10.1
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.66	N.S.	9.3	

FIGURA N° 36



SINTESIS DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHOS NORMALES (N) Y CASTRADOS (C)

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $171.2 \pm 10.5$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  DNA, (b)  $85.4 \pm 4.9$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./ $\mu\text{g}$  DNA.

## 3.5.2.6.- TASA DE RECAMBIO DE RNA EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: ( $^3\text{H}$ ) URIDINA INCORPORADA/ $\mu\text{g}$  DNA

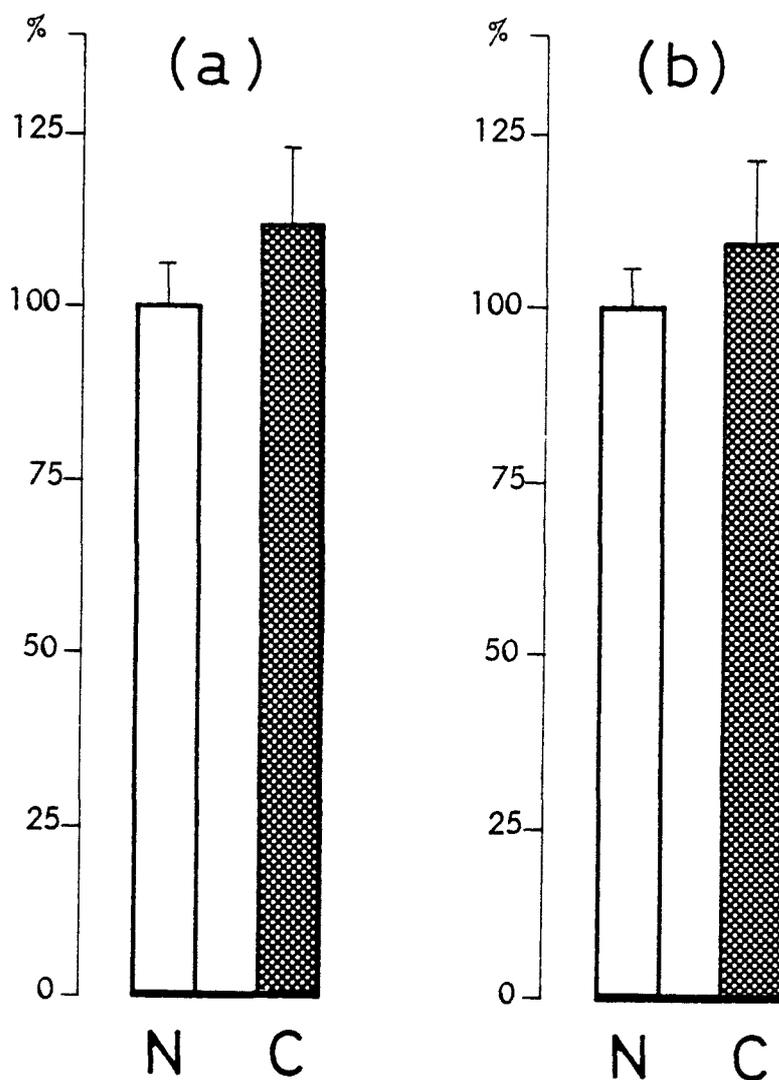
	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	160.4	26.4	9.3
Castradas	9	181.2	43.0	14.3
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	1.11	N.S.	13.0	

3.5.2.7.- TASA DE RECAMBIO DE PROTEINAS EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO.

EXPRESADA EN: DPM ( $^{14}\text{C}$ ) AMINOACIDOS INCORPORADOS/mg PROT.

	N	$\bar{X}$	Sx	E
Controles	8	247.3	45.1	16.1
Castrados	9	273.0	58.0	19.5
-----				
	t Student	Signif. Estad. y Probabilidad	% Difer.	
Controles/Castrados	0.95	N.S.	10.4	

FIGURA N° 37



TASA DE RECAMBIO DE RNA (a) Y PROTEINAS (b) EN HIPOCAMPO DE RATAS MACHO NORMALES (N) Y CASTRADOS (C).

Los datos expresan porcentajes de variación ( $\bar{x} \pm E$ ) con respecto a los valores obtenidos en los normales (controles): (a)  $160.4 \pm 9.5$  dpm ( $^3\text{H}$ )Uridina incorp./ $\mu\text{g}$  RNA, (b)  $247.5 \pm 16.1$  dpm ( $^{14}\text{C}$ ) Aminoácid. incorp./mg Proteínas.

## 4.- D I S C U S I O N

#### 4.1.- CORTEZA CEREBRAL

---

Ninguno de los parámetros bioquímicos determinados del metabolismo de = ácidos nucleicos y proteínas experimentó cambios significativos en corteza cerebral de ratas hembras durante el ciclo estral y tras la castración (3.1.1.1 al 3.1.1.7) y de ratas macho después de la extirpación gonadal (3.1.2.1 al 3.1.2.7).

Estos resultados coinciden con los referidos por MOGUILEVSKI y Col.(200) TONOUE y Col. (275) y SCHIAFFINI (235), entre otros, quienes, en similares condiciones de experimentación, encontraron inalterados los valores alcanzados en las distintas estimaciones metabólicas que efectuaron.

En acuerdo con los autores mencionados, esta constancia metabólica presentada por la corteza cerebral da validez a su empleo como estructura de referencia.

## 4.2.- A D E N O H I P O F I S I S

---

4.2.1.- ADENOHIPOFISIS RATAS HEMBRAS .-A) CICLO ESTRAL .-

El contenido glandular de DNA (3.2.1.3.) experimentó cambios mínimos y no significativos a lo largo del ciclo sexual, ob<sub>u</sub>teniendo el valor más elevado en el día del Proestro.

En base a estos datos, se puede deducir que el número de células adenohipofisarias permaneció constante durante el Ciclo Estral. Tal afirmación es válida, al menos, para la glándula en su conjunto, sin que sea posible, dada la naturaleza de la de<sub>u</sub>terminación realizada, establecer si hubieron variaciones en la cantidad de células de algún tipo celular en particular y de mo<sub>u</sub>do tal que en total de la glándula tales cambios se contrarrestasen. Esta interpretación ha sido ya apuntada por ROBINSON y Col (225) y CONVEY y Col.(40) quienes encontraron resultados = similares a los referidos. Es muy posible, no obstante, que == ello no sea así, pues estudios histológicos han mostrado la ausencia de fluctuación en la actividad mitótica de los distintos grupos celulares adenohipofisarios de la rata hembra ciclante = (40).

La concentración de DNA por célula (3.2.1.2.) permaneció= prácticamente inalterada, con el nivel más bajo del Ciclo en el Proestro.

Tomando esto en consideración y teniendo en cuenta la ausencia de cambio en el número de células de la glándula, se pue<sub>u</sub>de afirmar que la masa (y el volumen) de las células adenohipofisarias, en promedio, se mantuvo inalterada a lo largo del Ci<sub>u</sub>clo. Obviamente esta deducción es aplicable una vez más, y como lo será en adelante en esta discusión, al conjunto de la glándu<sub>u</sub>la.

En consonancia con los resultados precedentes parecen hallarse los datos obtenidos para el peso del tejido en fresco de la glándula en las distintas fases del Ciclo (3.2.1.1.). Al respecto recordemos que éste se mostró con mínimas variaciones, no significativas estadísticamente, presentando su nivel más alto en el Proestro, lo que concuerda con los datos de ROBINSON y Col (225), quienes obtuvieron, en lo que respecta a concentración de DNA por célula y al peso glandular estimaciones análogas a las registradas en el presente trabajo.

Los resultados aquí descritos discrepan con los de CONVEY y Col (40) quienes observaron un mayor margen de oscilación de la concentración celular de DNA y del peso glandular sugirieron un estado de hipertrofia celular en el Estro en comparación al resto del Ciclo.

La valoración de la actividad glandular en lo que a los metabolismos de RNA y Proteínas se refiere, precisa un análisis comparado de las determinaciones que sobre los mismos se han realizado en cada etapa del ciclo.

1) La progresión del ciclo Estral en la fase folicular, desde la tarde del Diestro hasta el llamado "periodo crítico" (intervalo de tiempo en el que se produce la descarga preovulatoria de LH) en el día del Proestro, conlleva un aumento significativo, tanto de la concentración celular como del contenido glandular de RNA (3.2.1.4. y 3.2.1.5.).

El mayor contenido adenohipofisario de RNA, en particular, no es explicable a través de una posible hiperplasia de la glándula, puesto que, tal y como se mostró antes, el contenido glandular de DNA permaneció sin cambio significativo a lo largo del Ciclo.

El incremento en la concentración celular de RNA observado debe ser consecuencia de una intensificación de la síntesis de RNA durante el periodo de tránsito (noche del Diestro y/o mañana del Proestro) entre los dos puntos de medida.

En el día del Proestro la síntesis de RNA por célula (3.2.1.8) se elevó en un 30% respecto a lo obtenido en el Diestro. Este aumento es probablemente responsable del incremento de la concentración de RNA que ha tenido lugar en dicho periodo. Al no existir diferencias significativas entre los índices de recambio de los RNA (3.2.1.10), el aumento de la síntesis de RNA por célula podría ser el reflejo de la existencia de un nuevo equilibrio celular en el periodo crítico, caracterizado por un metabolismo del RNA más intenso.

ROBINSON y Col.(225) y CONVEY y Col.(40) consiguieron sólo una visión parcial de la evolución del metabolismo del RNA, ya que únicamente realizaron determinaciones de concentración celular y contenido glandular de RNA. CONVEY y Col. no detectaron cambios significativos en las mediciones de RNA que efectuaron. ROBINSON y Col. relacionaron el aumento que observaron en el contenido glandular de RNA (del orden del 20%) en el paso Diestro-Proestro, con una activación de la síntesis de RNA previa a la descarga preovulatoria de gonadotrofinas.

SALAMAN (230), por su parte, encontró que la concentración celular de RNA se mantenía constante entre el Diestro y el Proestro, mientras que la tasa de recambio de RNA se elevaba en un 87%. Sugirió la existencia de una posible relación entre la subida del recambio, reflejo de una mayor síntesis de RNA, y un aumento en la biosíntesis de gonadotrofinas previa a la descarga preovulatoria.

Una posible explicación de la discrepancia en la evolución de la tasa de recambio de RNA entre lo observado por SALAMAN y = lo referido en el presente trabajo, puede residir, al menos en = parte, en que el citado autor obtuvo sus datos horas antes del = inicio del periodo crítico, mientras que aquí se recogieron en = el momento de máxima descarga preovulatoria de gonadotrofinas-de acuerdo con las referencias disponibles (KALRA y Col. (133), == SMITH y Col. (249))-.

La progresión del ciclo desde la tarde del Diestro hasta = la del Proestro llevó consigo ligeros incrementos de la concen- tración celular de proteínas (3.2.1.6.) y del contenido proteico glandular (3.2.1.7.), careciendo, no obstante, ambas subidas de significación estadística.

Este avance del ciclo supuso también un incremento signifi- cativo, tanto en la síntesis proteica celular (3.2.1.10.), como= en la tasa de recambio proteica (3.2.1.11.).

Estos resultados sugieren como muy posible, que la intensi- ficación de la síntesis proteica en el intervalo Diestro-Proes- tro persiste durante el periodo crítico.

La naturaleza parcialmente secretora del material proteico, y el hecho de que en el momento de la determinación en la tarde= del Proestro buena parte del contenido hormonal haya sido libera- do ya por la glándula (28, 251), es posible que influya en que = los aumentos de la concentración y el contenido de proteínas no alcanzasen grado de significación estadística.

ROBINSON y Col. (225) observaron un incremento (próximo al 15%) tanto de la concentración celular como del contenido glandu- lar de proteínas en el paso Diestro-Proestro.

MOGUILEVSKI y Col. (200) y TER HAAR y Col. (272) encontra-

ron un aumento significativo en la tasa de recambio proteica. Interpretaron estos resultados sugiriendo que la descarga preovulatoria de gonadotrofinas estaría precedida, acompañada y sería dependiente de una intensificación de la síntesis proteica adenohipofisaria.

De acuerdo con los datos obtenidos y las referencias citadas, la activación de los metabolismo de RNA y proteínas observadas en el avance del ciclo desde el Diestro al Proestro, parece que está directamente vinculada y, al menos parcialmente, justificada por el incremento en la biosíntesis de gonadotrofinas, prolactina y material proteico de secreción que precede y acompaña la descarga hormonal preovulatoria en el Proestro.

2) La progresión del ciclo sexual en la fase luteal, desde la tarde del Proestro hasta la del Estro, no supuso alteración significativa ni en la concentración celular, ni en el contenido glandular de RNA (3.2.1.4. y 3.2.1.5.).

La concentración celular y el contenido glandular de proteínas no difirieron en el día del Estro de los valores respectivos registrados en el día precedente (3.2.1.6. y 3.2.1.7.).

Por otra parte, tanto la síntesis como las tasas de recambio de RNA y Proteínas conservaron en el Estro la actividad presentada por las mismas en el Proestro (3.2.1.8. al 3.2.1.11).

Un primer análisis de la situación desde el punto de vista endocrino, no parece justificar la intensidad metabólica mostrada por la glándula en la tarde del Estro.

En efecto, tanto la concentración hipofisaria de gonadotrofinas y prolactinas (NAFTOLIN y Col. (206)), como los nive-

les plasmáticos de estas hormonas (KALRA y Col. y SMITH y Col. (249)), son de los más bajos del ciclo y no se detectan, en esta fase del ciclo, otros acontecimientos de especial interés.

La bibliografía disponible muestra un considerable grado de confusión, pues los trabajos, además de incompletos, carecen en buena medida de una valoración crítica de los datos que presentan.

Así, ROBINSON y Col. (225) no encontraron cambios ni en la concentración celular ni en el contenido glandular de RNA y Proteínas. CONVEY y Col. (40) relacionaron el incremento que detectaron en la concentración y el contenido de RNA con una estimulación de la síntesis proteica, que en su opinión deberían corresponderse con una mayor producción hormonal.

SALAMAN (230) obtuvo constancia de la concentración y el recambio de RNA, y lo relacionó vagamente con la situación endocrina general de esta fase del ciclo. Finalmente, ni TER HAAR y Col. (272), que registraron una misma concentración y tasa de recambio proteica en los días del Proestro y Estro, ni MOGUILVSKI y Col. (200) quienes, tampoco, observaron variación en el recambio proteico en el tránsito entre estos dos días, hicieron una interpretación de sus resultados desde el punto de vista endocrino.

Planteadas así las cosas, una posible explicación del alto nivel metabólico encontrado en el día de Estro, quizá reside en una demanda celular de nuevas biomoléculas, en particular de proteínas. Estas serían necesarias para la recuperación y readaptación del funcionamiento glandular tras el esfuerzo desplegado por la misma en el día del Proestro para producir y secretar importantes cantidades de hormonas con la pérdida adi-

cional de otro material celular.

3) El tránsito del Estro al Diestro supuso una disminución significativa de la concentración, el contenido, la síntesis y el recambio de RNA (3.2.1.4., 3.2.1.5., 3.2.1.8. y 3.2.1.10).

Igualmente, la síntesis y el recambio de proetinas bajaron significativamente (3.2.1.9 y 3.2.1.11.). La concentración y el contenido de proteínas no se alteraron, como, por otra parte, fué su norma a lo largo de todo el ciclo (3.2.1.6. y 3.2.1.7.).

Estos resultados coinciden, en egeneral, con los obtenidos por los autores ya citados (225, 200, 230, 40).

Todo indica que el día del diestro es el de más baja actividad metabólica de todo el ciclo. Siguiendo con la argumentación expuesta para la etapa anterior, es razonable pensar que esta circunstancia se corresponde con un estado en el que la adenohipófisis ha acomodado ya su maquinaria biosintética a la producción (y secreción) de cantidades basales de las distintas hormonas.

Los factores endocrinos que afectan la actividad metabólica de la adenohipófisis son de varios tipos. Las descargas pulsátiles de GnRH en el sistema porta, cuya influencia sobre la síntesis de gonadotrofinas ha podido ser demostrada (227, 228). Los cambios de sensibilidad a la GnRH que experimenta la glándula a lo largo del ciclo, cuya variabilidad ha sido comprobada por AIYER y Col. (211) y COOPER y Col. (212), entre otros, y que es máxima en el proestro. Las variaciones de la concentración plasmática de estradiol (251,135), que influencia directamente el metabolismo hipofisario (216, 217) e indirectamente modificando ==

las dos variables anteriores(213,208 ). Las variaciones en la se cre ci ón de progesterona (28, 251 ), y finalmente la posible exis tencia de mecanismos de autorregulación intracelulares y/o intra glandulares cuya existencia se sugiere en esta discusión, pero = que no ha podido probarse eficazmente.

La importancia relativa de cada una de estas variables a = lo largo del ciclo será objeto de discusión al final del apartado de hipófisis.

B) CASTRACION .-

En las ratas ovariectomizadas el peso en fresco de la glándula fué entre un 18% y un 30% más elevado que el registrado en cualquiera de los días del ciclo sexual (3.2.1.1.). El contenido glandular de DNA, tras la castración, también resultó de un 14 a un 20% mayor que el obtenido en los días del estro y diestro, respectivamente (3.2.1.3.).

Estos resultados sugieren que, al menos parte del incremento experimentado por el peso de la adenohipófisis después de la extirpación gonadal es debido a un aumento en el número de las células constituyentes de la glándula.

Estos datos que corroboran los descritos por ROBINSON y Col. (225), no permiten distinguir él o los tipos celulares que ven afectada su actividad mitótica. Hay autores, sin embargo, que han identificado a los gonadotrofos como los principales contribuyentes a la hiperplasia glandular(20).

La castración no modificó la concentración celular de DNA (3.2.1.2.), indicando, de acuerdo con las referencias disponibles (225), que, a pesar de la aparición en ratas ovariectomizadas de las llamadas 'células de castración (correspondientes a gonadotrofos hipertrofiados) (FARQUHAR y Col. (78)), la masa (y el volumen) celular medio en el conjunto de la glándula permanece inalterada.

Dada la heterogeneidad de los componentes celulares de la adenohipófisis y el hecho de que los gonadotrofos representan únicamente del 5 al 10% del contenido celular glandular (LABRIE y Col. (158)), es probable que la constancia encontrada en la masa (y el volumen) celular medio sea el resultado de un efecto de "dilución" o compensación en el total glandular.

En ratas ovariectomizadas las concentraciones celulares y los contenidos glandulares de RNA y proteínas alcanzaron niveles similares a los obtenidos en los días del proestro y estro (los más altos del ciclo sexual) y significativamente más elevados que los registrados en el diestro (3.2.1.4. al 3.2.1.7.).

Idéntico efecto tuvo la castración sobre las síntesis y = tasas de recambio de RNA y proteínas (3.2.1.8. al 3.2.1.11).

La comparación de estos resultados con los obtenidos por otros autores es, en parte, contradictoria. Así, ROBINSON y = Col. (225) junto a una evolución de la concentración y el contenido protéico análogos a los observados aquí, encontraron = unos valores de concentración y contenido de RNA en hembras = castradas, inferiores a los detectados a lo largo del ciclo. = TER HAAR y Col. (273) refirieron un recambio protéico en hembras castradas igual al del estro, si bien, menor que el del proestro. TONOUE y Col. (275) reseñaron un mismo efecto de la ovariectomía sobre el recambio proteico que el mostrado en el presente trabajo. No se dispone de argumentos que permitan re solver estas discrepancias.

La elevada actividad de síntesis y recambio de RNA y proteínas observada en las ratas hembras castradas parece guardar una buena correlación con la incrementada síntesis y secreción adenohipofisaria de gonadotrofinas que caracteriza es te estado endocrino (SHAAR y Col. (242), GAY y Col.(90)).

Igualmente las altas concentraciones y contenidos glandulares de proteínas (y RNA) podrían ser, en alguna medida un reflejo de las subidas en los niveles glandulares de LH y FSH = producidos por la ausencia de las hormonas gonadales (GAY y = Col.(90)).

Dada la carencia de variaciones apreciables en las actividades metabólicas y endocrinas del hipotálamo tras la extirpación gonadal (véase apdo. 4.3.), es razonable considerar, tal y como ha sido sugerido por CLAYTON y Col. (37); que el significativo aumento post-castración de los receptores adenohipofisarios de GnRH y, en consecuencia, la mayor sensibilización de esta glándula a la acción de la propia GnRH, constituye uno de los componentes más significativos del mecanismo responsable de los incrementos metabólicos obtenidos y, paralelamente, de la más alta producción y secreción de gonadotropinas.

#### 4.2.2.- ADENOHIPOFISIS RATAS MACHO .-

Tras la orquidectomía, el peso del tejido fresco de la glándula aumentó en un 39% (3.2.2.1.), datos que concuerdan con los = de STEINBERGER (260).

Paralelamente, el contenido adenohipofisario de DNA fué un 23.5% más elevado en los machos castrados que en los controles in tactos (3.2.2.3.).

Ambos datos sugieren que, al menos, parte del incremento en el peso de la adenohipófisis es consecuencia del mayor número de células constituyentes de la glándula en los machos castrados, de modo análogo a lo descrito para las hembras castradas.

A esta misma conclusión llegaron HYMER y Col.(116) y STADTLER y Col. (258) mediante estudios autorradiográficos realizados "in vitro" e "in vivo", respectivamente. Estos autores, además, = identificaron histológicamente a los gonadotrofos como el tipo ce lular que mostraba una actividad mitótica más intensa.

En ausencia de las hormonas esteroideas gonadales, y tal y como ha sido propuesto por otros autores (STEPHEN y Col. (262)) es posible que la GnRH sea el factor estimulador de los procesos de-sencadenantes en la división celular.

La concentración de DNA por célula no fué modificada significativamente por la extirpación testicular (3.2.2.2.), resultado que coincide con el obtenido por KRAICER y Col.(154). Este dato = sugiere que la masa (y el volumen) celular en el conjunto de la= glándula permanece constante tras la orquidectomía.

Dado que en los machos castrados se produce la hipertrofia= de los gonadotropos dando origen a las llamadas células de castración (STADTLER y Col.(258)), es previsible que la ausencia de cam

bios en la masa de las células adenohipofisarias, en promedio, sea debida a un efecto de 'dilución' motivado por la heterogénea respuesta de los distintos tipos celulares de la glándula a la ablación gonadal.

La orquidectomía se tradujo en incrementos significativos de la concentración celular y del contenido glandular de RNA (3.2.2.4. y 3.2.2.5.).

También el contenido adenohipofisario de proteínas aumentó significativamente en machos castrados (3.2.2.7.), mientras que la concentración de proteínas por célula experimentó una ligera subida, no significativa (3.2.2.6.) .Estos resultados están de acuerdo con los encontrados por KRAICER y Col. (154) para el contenido de RNA y por CLAYTON y Col. (36) para el contenido proteico.

La extirpación gonadal supuso, así mismo, un aumento, tanto en la síntesis de RNA (3.2.2.8.), como en la síntesis y el recambio proteico (3.2.2.9. y 3.2.2.11.).

WAKABAYASHI y Col. (285) para la síntesis de proteínas y MOGUILEVSKI y Col. (200) y TONOUE y Col. (275) para el recambio proteico, obtuvieron resultados similares a los expuestos, mientras que LEE y Col. (163) registraron una síntesis proteica invariable al comparar los machos controles con los castrados, hecho que supusieron debido a un efecto de 'dilución' en el conjunto de la glándula.

En consonancia con lo propuesto por la generalidad de los autores citados, los cambios metabólicos observados tras la orquidectomía parecen estar en consonancia con la nueva situación endocrina de la glándula y, en particular, con su actividad gonadotrófica.

Desde esta perspectiva, la activación de la síntesis y el = recambio de RNA y proteínas detectados en las ratas macho castradas estaría justificada, en buena medida, por el aumento de la de manda glandular, necesitada de dotarse de una mayor maquinaria == biosintética y un más completo aparato secretor de gonadotrofinas (GAY y Col. (90), GRIZARD y Col.(100), BADGER y Col. (16 ),STEIN BERGER y Col. (259)).

Tambien los aumentos en las concentraciones y contenidos == glandulares de proteínas (y RNA) tendrían correspondencia con los altos niveles glandulares de gonadotrofinas hallados en los ma--- chos castrados (BADGER y Col. (16 ), GRIZARD y Col. (100)).

Descargas portales de GnRH análogas a las que se producen = en los controles intactos (vease aptdo. 4.3.) unido a una más alta sensibilización adenohipofisaria a esta neurohormona motivada= muy posiblemente por el aumento en machos castrados de los receptores adenohipofisarios de GnRH (CLAYTON y Col. (37 )) debido a la ausencia de las hormonas esteroideas, podrían ser los agentes = causantes de los incrementos metabólicos descritos y, a la par, de la mayor síntesis y secreción de gonadotrofinas.

#### 4.2.3.- VISION GLOBAL DEL METABOLISMO EN LA ADENOHIPOFISIS .-

Al observar de modo conjunto la evolución del metabolismo de ácidos nucleicos y proteínas en ratas hembras y machos, normales o castradas, pueden extraerse algunas hipótesis de trabajo.

La castración tanto en machos como en hembras produce un aumento en el metabolismo de ambas macromoléculas. En machos = muy por encima de la situación de los normales, en coincidencia con la mayor secreción de gonadotrofinas. En hembras el incremento metabólico equipara la castración con el proestro: ambos= estados se caracterizan por una intensa secreción de gonadotrofinas. Parece existir pues, una buena correlación entre los estados de fuerte liberación de material secretor con la correspondiente intensificación de los procesos de síntesis del mismo.

La ausencia de hormonas gonadales vinculadas a los aumentos metabólicos en las castradas, hace pensar que deben tener = un importante papel como represores de dicha actividad metabólica. Por otra parte, esta relación debe ser compleja y posiblemente varíe según las circunstancias: el tránsito diestro- = proestro, caracterizado por un aumento del estradiol circulante también es seguido de un incremento del metabolismo proteico y de ácidos nucleicos. Las épocas de más bajo nivel de estradiol= plasmático, el diestro y estro, tienen respectivamente cifras = metabólicas bajas y altas. Por tanto, deben participar otros factores.

La actividad de la GnRH no se reduce a estimular la liberación de gonadotrofinas por la adenohipófisis, sino que existen pruebas de su participación directa en la estimulación de = la síntesis de estos productos (99, 100 ). La descarga de GnRH

por el hipotálamo no se ha demostrado que aumente excesivamente con la castración. Pero sí lo hacen los niveles de receptores = de GnRH y con ellos la sensibilidad glandular a dicha hormona.= Los niveles de los receptores de GnRH no se conoce como están = regulados, pero sí que su concentración fluctúa a lo largo del ciclo. Particularmente interesante resulta el hecho de que es--tos receptores aumenten del diestro al proestro, en el que pre--sentan un pico en coincidencia con la evolución del metabolismo proteico y de ácidos nucleicos. También es cierto que los recep--tores de GnRH disminuyen en el estro, y que el mantenimiento de un nivel metabólico alto en este día del ciclo no está justifi--cado tampoco por este camino.

El posible papel de la progesterona segregada en el estro no debe subestimarse, pues aunque su mecanismo de acción hipofisa--rio es poco conocido, el nivel de receptores de progesterona en esta glándula es alto en el día precedente al estro y puede per--manecer actuando por espacio de 24 o más horas. No obstante, el incremento del metabolismo en las castradas minimiza el posible papel general de esta hormona.

La existencia de un mecanismo autorregulador intracelular de las concentraciones de gonadotrofinas, que tiende a mantener == los niveles de estas hormonas relativamente estables, ha sido = sugerido por algunos autores. La situación de elevado metaboli--mo de proteínas y ácidos nucleicos en el estro puede represen--tar la tendencia niveladora de este mecanismo autorregulador == después del esfuerzo del proestro. Una vez se ha alcanzado el = equilibrio, el metabolismo tendería a decrecer, como ocurre en el diestro.

La existencia de mecanismos intraglandulares, entendiendo == por tales los que ajustan la población celular hipofisaria y su

capacidad secretora al equilibrio homeostático de cada momento, parece desprenderse de los datos relativos a la hiperplasia e hipertrofia celular asociada a la castración en ambos sexos. Los mecanismos que afectan a la multiplicación de los gonadotrofos hipofisarios "in vivo" no son conocidos, aunque "in vitro" se ha demostrado que existe relación entre la división celular y la presencia de GnRH en el medio de cultivo. Esto sugiere que, al igual que ocurre con la actividad metabólica, la división celular esté predominantemente vinculada a la GnRH, y contrastada en condiciones normales por la acción inhibidora, directa o indirecta, de las hormonas gonadales.

### 4.3.- H I P O T A L A M O

-----

#### 4.3.1.- HIPOTALAMO DE RATAS HEMBRA .-

##### A) CICLO ESTRAL .-

La concentración de DNA por célula permaneció constante a lo largo del ciclo (3.3.1.1.), de lo que cabe deducir que, independientemente del comportamiento de los distintos núcleos hipotalámicos, la masa (y el volumen) celular medio en el conjunto de esta área cerebral se mantiene inalterada en las distintas fases del ciclo sexual.

Los metabolismos de RNA y proteínas fueron afectados por el cambiante medio endocrino del ciclo únicamente en las tasas de recambio, mientras que las concentraciones y síntesis respectivas oscilaron en márgenes carentes de significación estadística (3.3.1.2. al 3.3.1.5.).

Si ceñimos las posibles variaciones metabólicas a los núcleos hipotalámicos que influyen más directamente la actividad endocrina del eje adenohipofisis-gonadas (área preóptica anterior y núcleo arcuato, además de la eminencia media), parece probable que si las alteraciones no son cuantitativamente importantes y dada la limitada localización de las mismas, éstas aparezcan diluidas en el conjunto de la estructura nerviosa.

Los datos obtenidos con los recambios nos permiten, no obstante, y tal como han hecho otros autores (278, 230, 199 ), seguir el curso de la participación hipotalámica.

En el tránsito del diestro al proestro el recambio de RNA se incrementó en un 18% (3.3.1.6.), mientras que el de proteínas lo hizo en un 26% (3.3.1.7.).

Resultados similares a los obtenidos aquí fueron registrados por SALAMAN (230) en lo relativo a la concentración y el re-

cambio de RNA, TER HAAR y Col. (273) en lo referente a la concentración y el recambio protéico y MOGUILVSKI y Col. (200) en lo relativo a la evolución del recambio protéico.

FOREMAN y Col. (86), sin embargo, detectaron un incremento significativo de la concentración celular media de RNA sin que se disponga de una explicación para la discrepancia de sus datos con los recogidos en el presente trabajo, a excepción de que sus mediciones fueron hechas en las mañanas de los días de estudio.

Es muy posible, como ha sido sugerido por los autores citados, que las alteraciones producidas en los metabolismos de RNA y proteínas en este avance del ciclo estén directamente vinculados a los cambios que se operan en el hipotálamo en cuanto a su participación en la descarga preovulatoria de gonadotropinas.

De ser esto así, los aumentos observados en los recambios de RNA y proteínas estarían destinados a satisfacer, entre otras demandas, una mayor síntesis de GnRH, el transporte de neurohormona desde la región preóptica hasta la ventromedial-arcuato-EM y la activación del mecanismo de secreción hormonal (KALRA y Col. (133), ARAKI y Col. (8)).

Es muy posible, como lo indican, entre otros, los estudios con antiestrógenos y de ovariectomía (TER HAAR y MACKINNON (272), SARKAR y Col. (233)), que la subida en los títulos plasmáticos de estradiol en la tarde del diestro y mañana del proestro sea la responsable de las transformaciones metabólicas y, por ende, endocrinas comentadas.

En el tránsito de proestro al estro los recambios de RNA y proteínas se conservaron altos, sin que se apreciaran diferencias significativas entre los valores obtenidos en estos dos días (3.3.1.6. y 3.3.1.7.).

La bibliografía disponible aporta datos un tanto dispares, así, mientras TER HAAR y Col. (273) encontraron concentraciones proteícas similares y un recambio proteico ligeramente disminuido en el estro, SALAMAN (230) describió un aumento de la concentración y el recambio de RNA y MOGUILEVSKI y Col. (199) registraron un recambio proteico constante al comparar estos dos días del ciclo.

No parece posible aunar algunos de estos resultados con los recogidos en el presente trabajo.

La alta actividad metabólica registrada en este 'conflictivo' día del estro podría, en parte, estar relacionada con la recuperación por parte del hipotálamo de buena parte de sus reservas de GnRH vaciadas el día anterior (BARR y Col. (22)) y, de otro lado con el necesario proceso de reorganización que ha de experimentar esta estructura después de su participación en la descarga preovulatoria de gonadotrofinas.

Aunque no está clara la identificación de él o los factores responsables de estas modificaciones, es posible, como han señalado ARAKI y Col. (8), que la progesterona sea uno de los principales. En efecto, su secreción está aumentada en la mañana del estro y es posible que afecte de modo directo al metabolismo hipotalámico.

En el paso del estro al diestro el recambio de RNA disminuyó en un 18% (3.3.1.6.) y el de proteínas lo hizo en un 24% (3.3.1.7.).= También la síntesis de proteínas fué un 18% más baja en el diestro (3.3.1.5.).

Estos datos están de acuerdo con lo señalado por distintos autores (230, 190, 273), con cuyos resultados, que coinciden los referidos aquí, apuntan en calificar esta etapa del ciclo como aquella en que el hipotálamo se encamina hacia un estado de cierto equilibrio metabólico y endocrino basal, en ausencia de factores que puedan alterarlo.

B) CASTRACION .-

La masa (y el volumen) celular media no fué alterada por la ovariectomía, como se puede deducir por la ausencia de variación significativa entre la concentración de DNA por célula de hembras castradas y ciclantes (3.3.1.1.).

La extirpación gonadal tampoco modificó significativamente las concentraciones por célula de RNA y proteínas encontradas en los distintos días del ciclo sexual (3.3.1.2. y 3.3.1.3.).

Por su parte, la síntesis y el recambio de RNA y proteínas en las hembras castradas alcanzaron valores bastante similares a los del proestro, ligeramente más altos (entre un 10 y un 13%) que los del diestro y algo inferiores (entre un 8 y un 16%) a los del estro (3.3.1.4. al 3.3.1.7.).

De todas formas, dado que la mayoría de los cambios referidos carecieron de significación estadística, se puede deducir que la ovariectomía situó el metabolismo de RNA y proteínas a un nivel de actividad intermedio al observado en la rata hembra ciclante que, además, no difirió de los valores extremos registrados durante el ciclo. Esta situación es análoga a la referida por TER = HAAR y Col. (272) para la concentración y el recambio proteico.

Tomando los datos de la rata hembra ciclante en su conjunto -sin distinción de los días del ciclo sexual-, se aprecia, tras la castración, un ligero descenso, no significativo, de la generalidad de los parámetros bioquímicos medidos.

En definitiva, pues, los metabolismos estudiados no parecen ser afectados apreciablemente por la extirpación de las gónadas, lo que, en base a la argumentación esgrimida hasta el momento, sugiere que las alteraciones endocrinas originadas en el hipotálamo

por la castración deben ser, en su aspecto cuantitativo, de poca importancia.

Esta hipótesis tiene cierta confirmación en la información disponible sobre la situación endocrina del hipotálamo de ratas= ovariectomizadas. Según ésta, la síntesis de GnRH no difiere sen= siblemente del nivel de actividad biosintética media mostrados = por la rata hembra ciclante (WHEATON y Col. (291)), la concentra= ción hipotalámica de GnRH se halla algo disminuida en relación a la estimada por el proestro (SHERWOOD y Col.(243) y la secreción de la neurohormona es equivalente a la registrada en el proestro (KOBAYASHI y Col. (152), BURGUS y Col. (264), SHERWOOD y Col. = (243)).

En relación con el funcionamiento del eje hipotálamo-aden= hipófisis-gónadas, la valoración hecha de los resultados parece= encajar en una de las hipótesis sugerida, entre otros, por -- BADGER y Col. ( 16 ) y CLAYTON y Col. ( 36 ), y según la cual, el mantenimiento de una cierta actividad metabólica y endocrina en el hipotálamo en ausencia de las hormonas gonadales y el incre= mento de la respuesta adenohipofisaria a la acción de la GnRH, = constituyen los componentes esenciales del mecanismo responsable del importante grado de estimulación metabólico y endocrino al= canzado por la adenohipófisis en las ratas castradas.

#### 4.3.2.- HIPOTALAMO DE RATAS MACHO .-

Independientemente de la respuesta de los distintos núcleos y áreas hipotalámicas, la masa (y el volumen) celular media en el total de esta estructura cerebral permanece inalterada tras la orquidectomía como se deduce de la constancia mostrada por la concentración de DNA por célula al comparar los machos castrados y los controles (3.3.2.1.). Estos datos coinciden con los referidos por MOGUILVSKI y Col. (199).

Las concentraciones por célula y la síntesis de RNA y proteínas tampoco fueron modificadas significativamente por la castración (3.3.2.2. al 3.3.2.5.), sugiriendo que los cambios metabólicos producidos por el hipotálamo por la extirpación gonadal deben ser poco importantes desde el punto de vista cuantitativo. Tal posibilidad es apoyada, también, por los resultados obtenidos por otros autores (200).

En lo que respecta a los recambios de RNA y proteínas, estos mostraron en las ratas orquidectomizadas un ligero, aunque significativo, descenso del 16% y 11%, respectivamente (3.3.2.6. y 3.3.2.7.), reflejo de una actividad metabólica algo disminuida en ausencia de las hormonas testiculares.

La situación metabólica encontrada parece corresponderse con el estado endocrino de machos castrados, caracterizado, en comparación con el de los machos intactos, por una actividad de síntesis de GnRH similar o, incluso, algo menor (SHIN y Col. (245)), una concentración celular de GnRH más baja (BADGER y Col. (16), SHIN y Col. (246)) y una capacidad secretora para la neurohormona análoga (SHIN y Col. (244)), ó, puede que, un poco más alta = MOGUILVSKI y Col. (200).

En cuanto a su vinculación con la operatividad del eje adenohipófisis-gonadas, el análisis desarrollado está en armonía con el planteamiento expuesto por otros autores (16, 37, 246 ), según el cual, la permanencia en el hipotálamo de un determinado nivel de actividad metabólica unido a un importante incremento en la sensibilidad de la adenohipófisis a la actuación de la GnRH, pueden ser los factores decisivos que expliquen las transformaciones metabólicas y endocrinas encontradas en la adenohipófisis tras la orquidectomía.

#### 4.4.- SISTEMA LIMBICO

---

#### 4.4.1.- AMIGDALA CEREBRAL .-

##### A) RATAS HEMBRA .-

La ausencia de cambios significativos en la concentración de DNA por célula de hembras ciclantes y castradas (3.4.1.1.) = sugiere que la masa (y el volumen) de las células, en promedio, en esta estructura nerviosa no es afectada por las fluctuaciones hormonales que caracterizan estas situaciones endocrinas.

Tampoco experimentaron variaciones significativas, con el ciclo sexual y la ovariectomía, las concentraciones de RNA (3.4.1.2.) y proteínas (3.4.1.3.) y la síntesis de RNA (3.4.1.4.).

En las hembras ciclantes la síntesis de proteínas y los cambios de RNA y proteínas fueron más bajos (entre un 14 y un = 23%) en el proestro que en el estro y diestro (3.4.1.5. al 3.4.1.7.). La castración, por su parte, situó estos parámetros bioquímicos en un nivel de actividad similar al del proestro, si = bien, no significativamente distinto de los valores registrados en los otros días del ciclo (3.4.1.5. al 3.4.1.7.).

La naturaleza nerviosa de la estructura en estudio y el controvertido papel asignado a la amígdala en el funcionamiento == del eje hipotálamo-adenohipófisis-gónadas (ELLENDORFF y PARVIZI (73), ELEFTERIOU (70), KAWAKAMI y KIMURA (145)), hacen que re sulte difícil la interpretación de las alteraciones metabólicas observadas.

En la hembra ciclante los datos metabólicos obtenidos están= en buena armonía con los de actividad eléctrica referidos por = KAWAKAMI y Col. (144,142), quienes describieron un incremento= de dicha actividad en la tarde del diestro que fué seguido por una disminución en la tarde del proestro.

De los datos obtenidos durante el ciclo estral, resulta evidente que el metabolismo amigdalario es sensible a la acción de las hormonas gonadales. Sin embargo, en lo que al estradiol se refiere no hay buena armonía entre los títulos plasmáticos de la hormona y el grado de intensidad biosintética alcanzado. Así, la situación metabólica en el proestro es similar a la de hembras castradas, lo que hace pensar que en el mecanismo controlador del metabolismo intervienen otros factores que interfieren la acción del esteroide.

Sin ánimo de querer establecer una vinculación directa y determinante con el eje hipotálamo-adenohipófisis-gónadas, se aprecia, no obstante, que los momentos de baja actividad metabólica en la amígdala: día del proestro y castradas, se corresponden con estados de actividad biosintética aumentada en el hipotálamo y adenohipófisis y con altos niveles séricos de gonadotrofinas.

#### B) RATAS MACHO .-

La castración no alteró la concentración de DNA por célula (3.4.2.1.), indicando que la masa (y el volumen) de las células amigdalares, en promedio, no es afectada por la extirpación testicular.

Análogamente, la orquidectomía no varió las concentraciones de RNA y proteínas obtenidas en los machos intactos (3.4.2.2. y 3.4.2.3.).

La síntesis y los recambios de RNA y proteínas, sin embargo, mostraron un nivel de actividad disminuido (entre un 18 y un 23%) en machos castrados al compararlos con los controles intactos (3.4.2.4. al 3.4.2.7.).

El descenso en el metabolismo de RNA y proteínas de machos = castrados está, como en hembras castradas, en relación con los altos niveles séricos de gonadotrofinas de estos animales. Estos datos coinciden en buena medida con el aumento de LH plasmática obtenido por ELEFTERIOU y Col. (70) tras implantar actinomicina D en la amígdala de machos intactos.

4.4.2.- HIPOCAMPO .-A) RATAS HEMBRA .-

Durante el ciclo sexual y tras la castración la masa (y el volumen) medio de las células hipotalámicas se mantiene inalterado, como se puede deducir de la constancia observada al comparar en estos estados endocrinos la concentración de DNA por célula = (3.5.1.1.).

Tampoco resultaron afectados por el ciclo sexual y la ovariectomía las concentraciones y las síntesis de RNA y proteínas (3.5.1.2. al 3.5.1.5.).

Los recambios de RNA y proteínas, sin embargo, se mostraron = significativamente más activos (entre un 17 y un 22%) en el diestro que en el resto de las situaciones estudiadas (3.5.1.6. y = 3.5.1.7.).

Las fluctuaciones metabólicas observadas en la hembra ciclante están en armonía con los datos obtenidos sobre actividad eléctrica por TERESAWA y TIMIRAS (271) y sobre consumo de oxígeno == por SCHIAFFINI (235).

En lo que respecta a la posible intervención del hipocampo en el funcionamiento del eje hipotálamo-adenohipófisis-gónadas, resalta el hecho de que en la hembra ciclante las actividades metabólicas de esta estructura y la del hipotálamo muestran una relación inversa en cualesquiera de las circunstancias endocrinas == analizadas. Además las situaciones de alta intensidad de secreción y síntesis de gonadotrofinas (proestro y castradas) se corresponden con momentos de intensidad biosintética disminuida en el hipocampo.

Los argumentos expuestos parecen confirmar, así, la opinión =

generalizada ( 70 , 73 , 235 ) de que el hipocampo de la rata = hembra ejerce, a través del hipotálamo, una influencia inhibi- toria sobre la liberación (y la síntesis ) de gonadotrofinas.= De todas formas queda por valorar la importancia que dicha ac- ción hipocampal tiene en el mecanismo que controla la activi- dad hipotalámica.

El papel de las hormonas gonadales como responsables exclu- sivos de los cambios metabólicos que se producen en el hipotá- lamo se presenta controvertido dada la similar intensidad bio- sintética alcanzada en esta estructura en circunstancias tan = dispares como el proestro, estro y castradas. Más bien parece= que podrían intervenir otros factores, entre ellos las mismas= gonadotrofinas.

#### B) RATAS MACHO .-

La orquidectomía no modifica la masa (y el volumen) me- dio de las células del hipocampo, dado que la concentración de DNA por células es la misma en los machos castrados que en los intactos (3.5.2.1.).

La castración tampoco alteró significativamente cualesquie- ra de los parámetros medidos del metabolismo de RNA y proteí- nas (3.5.2.2. al 3.5.2.7.). Resultados similares obtuvo SCHIA- FFINI ( 235 ) sobre consumo de oxígeno.

De estos datos parece deducirse que el hipocampo de la rata macho ni interviene ni es afectado por las transformaciones = que se producen en el eje hipotálamo-adenohipófisis-gónadas. = Coinciden, así, con la observación de ELEFTERIOU ( 70 ) acerca de que la lesión del hipocampo de la rata macho no cambia los niveles plasmáticos de gonadotrofinas.

#### 4.4.3.- VISION GLOBAL DEL METABOLISMO EN EL SISTEMA LIMBICO .-

Al considerar globalmente los resultados obtenidos en la = amígdala cerebral y el hipocampo de ratas hembra y macho, va--rios hechos merecen ser resaltados.

En la rata hembra el comportamiento de ambas estructuras es similar en todas las circunstancias endocrinas estudiadas, ex--cepto en el estro, donde muestran actividades metabólicas o--== puestas.

En la rata macho la orquidectomía afecta de un modo distin--to a la amígdala y el hipocampo. Así, mientras se produce un = descenso en la capacidad biosintética de la amígdala, el hipo--campo se muestra insensible a la retirada de las hormonas gonadales.

Por lo que a la amígdala en particular se refiere, destaca-- la correlación existente entre los momentos de actividad meta--bólica disminuida en esta estructura y las situaciones de po--tente síntesis y secreción de gonadotrofinas.

Estos resultados parecen concordar con la sugerencia hecha-- por LAWTON y SAWYER (162) y ELEFTERIOU ( 70 ), entre otros, en-- el sentido de que la amígdala ejerce un efecto inhibitorio de la liberación (y la síntesis) de gonadotrofinas a través del = hipotálamo.

Esta teoría, sin embargo, choca con algunos de los datos ob--tenidos en el mismo estado sexual en la amígdala y el hipotála--mo. Así, en el diestro el metabolismo de RNA y proteínas es al--to en ambas estructuras. En animales castrados, hembras o ma--chos, existe una bajada simultánea de ambos parámetros. De he--cho solo se presentan actividades metabólicas invertidas entre

estas estructuras en los días del diestro y proestro.

En base a los argumentos expuestos, tampoco se puede, en consecuencia, descartar la posibilidad de que la amígdala, al me--nos en algunos estados endocrinos, tenga una influencia estimu--ladora sobre la actividad hipotalámica. Esta hipótesis ha sido= sugerida por ARAI ( 7 ), VELASCO y TALEISNIK (279), ELLENDORF y Col. (73) y otros.

Por lo que al hipocampo de rata hembra se refiere, la genera--lizada relación inversa observada entre la actividad metabólica de esta estructura y la del hipotálamo (aunque en hembras cas--tradas no se de esta correspondencia de un modo tan claro), en--caja en la idea más sólidamente establecida de que el hipocampo actúa inhibiendo la actividad hipotalámica.

Con todo, es posible que la intervención tanto de la amígdala como del hipocampo en el funcionamiento del eje hipotálamo--adenohipófisis-gónadas, sea más moduladora que decisoria y que la situación metabólica y endocrina del hipotálamo esté contro--lada por un mecanismo más complejo en el que participen otros = centros extrahipotalámicos de integración neuroendocrina.

La falta de correlación entre los estados metabólicos de la amígdala y el hipocampo y los títulos plasmáticos de las hormo--nas gonadales sugiere también, que, posiblemente, no son estas= hormonas las únicas que regulan el grado de intensidad biosinté--tica de estas estructuras límbicas y que otros factores, como = las gonadotrofinas, podrían intervenir.

## 5 .- CONCLUSIONES

- 1.- El metabolismo de DNA, RNA y proteínas en la corteza cerebral de la rata no experimentó cambios significativos a lo largo del ciclo estral. = Tampoco fué alterado por la ovariectomía en hembras o la orquidectomía en machos. Esta estabilidad metabólica permite utilizar a la corteza cerebral como órgano de referencia para juzgar las alteraciones de dichos parámetros que aparecen en otras estructuras nerviosas en idénticas condiciones experimentales.
- 2.- La fase folicular del ciclo sexual supuso en adenohipófisis un aumento de la síntesis y el contenido celular de RNA y proteínas entre el diestro y el proestro. Estos cambios son interpretados como resultado de un proceso de activación de la biosíntesis de gonadotrofinas, prolactina y material proteico de secreción, que precede y acompaña la descarga hormonal pre-ovulatoria en la tarde del proestro.
- 3.- La fase luteal del ciclo estral se manifestó en adenohipófisis sin variaciones significativas desde el punto de vista del metabolismo de RNA y proteínas entre proestro y estro, manteniéndose por tanto la elevada tasa metabólica del final de la fase folicular. Dado que en este periodo hay una neta disminución de la liberación gonadotrófica, estos datos se interpretan como un proceso de readaptación de la glándula tras la intensa secreción de hormonas del proestro.
- 4.- La ovariectomía hizo que la síntesis y recambio de RNA y proteínas en adenohipófisis alcanzara los niveles máximos del ciclo sexual o incluso los superara. Existe una buena correlación entre la situación metabólica en proestro y la de las ratas ovariectomizadas, caracterizadas ambas por intensa secreción de hormonas.
- 5.- La orquidectomía produjo un aumento significativo de la síntesis y recambio de RNA y proteínas en la adenohipófisis de las ratas macho. Al =

igual que ocurre en las hembras, la supresión de las gónadas hace que = la adenohipófisis adecúe su metabolismo al aumento de la secreción hormonal.

- 6.- En ambos sexos la supresión de gónadas produjo aumentos significativos= del contenido adenohipofisario de DNA y de la síntesis y recambio de == RNA y proteínas. Ello indica que la eliminación de las hormonas gonadales conduce a la adenohipófisis a aumentar el número de células y su intensidad metabólica en respuesta a la mayor demanda de hormonas y material de secreción que caracteriza la castración.
- 7.- El hipotálamo experimentó durante la fase folicular un aumento del re--cambio de RNA y proteínas entre el diestro y el proestro. Aparentemente estos cambios reflejan la necesidad de acomodar el metabolismo hipotalámico para una mayor síntesis de GnRH y de otras moléculas involucradas= en su transporte y secreción en la tarde del proestro.
- 8.- Durante el estro, el hipotálamo mantuvo un elevado nivel de recambio de RNA y proteínas, con cifras similares a las del proestro. La alta tasa= metabólica en estro pudiera estar relacionada con la necesidad de esta= estructura de recuperar sus reservas de GnRH y material secretor perdidas el día anterior.
- 9.- La ovariectomía produjo unos niveles de recambio de RNA y proteínas en= hipotálamo intermedios a los que se encontraron durante el ciclo. Estos resultados sugieren que el hipotálamo de ratas hembras mantiene una amplia autonomía respecto del ovario.
- 10.- La orquidectomía se tradujo en una disminución significativa del recambio de RNA y proteínas en el hipotálamo de la rata macho. Estos resultados coinciden con la descripción de otros autores de que la castración=

baja los niveles de GnRH hipotalámicos, y revelan que el hipotálamo de los machos tiene una mayor dependencia de las hormonas gonadales que el de las hembras.

- 11.- La buena correlación del metabolismo de RNA y proteínas entre adenohipófisis e hipotálamo durante el ciclo sexual, pero no en la castración de hembras y machos, sugiere que la dependencia metabólica de la adenohipófisis con respecto a las hormonas hipotalámicas es efectiva en condiciones fisiológicas pero se ve distorsionada por manipulaciones endocrinas drásticas.
- 12.- La fase folicular produjo una disminución del recambio de RNA y proteínas en el sistema límbico, pues tanto en amígdala como hipocampo disminuyeron ambos parámetros entre el diestro y proestro. Estos resultados fueron exactamente opuestos a los encontrados en hipotálamo y adenohipófisis.
- 13.- La fase luteal se manifestó de forma opuesta en amígdala e hipocampo, pues mientras la primera estructura presentó un aumento de su síntesis y recambio de RNA y proteínas en esto respecto al proestro, en hipocampo se mantuvo el mismo nivel.
- 14.- La ovariectomía produjo un nivel metabólico de RNA y proteínas del mismo orden de los encontrados en proestro en ambas estructuras del sistema límbico. En machos la orquidectomía produjo una disminución del metabolismo en la amígdala, pero en hipocampo no se produjo alteración significativa. Ello sugiere que en hipocampo existe una diferenciación sexual que no aparece en amígdala.
- 15.- Globalmente, el hipocampo manifestó una tendencia metabólica opuesta a la del hipotálamo en todas las situaciones estudiadas en hembras,

mientras que la amígdala solo la manifiesta en la fase folicular. Las situaciones de potente secreción de gonadotrofinas (proestro, castración) van acompañadas de disminución de la actividad metabólica en == las estructuras límbicas, y confirman la hipótesis de que actúan de = modo inhibitorio modulando la actividad hipotalámica.

## 6.- BIBLIOGRAFIA

- 1 .- ABRAMOWITZ, J., R. IYENGAR y L. BIRNBAUMER (1979): Guanyl nucleotide regulation of hormonally-responsive adenylyl cyclases. Mol. Cell. Endocrinol. 16:129-146.
- 2 .- AHREN, K.L., L. HAMBERGER, T. HILLENSJO, L. NILSSON y NORDERSTROM (1979): Control of steroidogenesis in the preovulatory rat follicle. J. Steroid Biochem. 11:791-798.
- 3 .- AIYER, M.S., G. FINK y F. GREIG (1974): Changes in the pituitary gland to LHRF during the oestrous cycle of the rat. J. Endocr. 60:47-64.
- 4 .- AIYER, M.S., S.A. CHIAPPA y G. FINK (1974): A priming effect of luteinizing hormone releasing factor on the anterior pituitary gland in the female rat. J. Endocr. 62:573-588.
- 5 .- ALBERGA, A. y E.E. BAULIEU (1974): Mode of action of steroid hormones. En: 'Advances in Steroid Analysis' Vol. II, págs.115-153. Proceeding of Second International Symposium en Steroid Analysis. Barcelona.
- 6 .- APFELBAUM, M.E. y S. TALEISNIK (1977): Influence of oestrogen administration in vivo and in vitro on the release and synthesis of LH and FSH from incubated pituitaries. Acta Endocr. 86:7)4-713.
- 7 .- ARAI, Y. (1971): Effect of electrochemical stimulation of amygdala on induction of ovulation in different types of persistent estrous rats and castrated male rats with an ovarian transplant. Endocrinol. Jpn. 18:211-214.
- 8 .- ARAKI, S., M. FERIN, E.A. ZIMMERMAN y R.L. VAN DE WIELE (1975): Ovarian modulation of immunoreactive gonadotropins-releasing hormone (GnRH) in the rat brain: evidence for a differential effect on the anterior and mid-hypothalamus. Endocrinology, 96:644-650.

- 9 .- ARMSTRONG, D.T. y H. PAPKOFF (1976): Stimulation of aromatization of exogenous and endogenous androgens in ovaries of hypophysectomized rats in vivo by follicle-stimulating hormone.  
Endocrinology, 99:1144-1151.
- 10.- ARMSTRONG, D.T., A.K. GOFF y J.H. DORRINGTON (1978): Regulation of follicular oestrogen biosynthesis.  
En: 'Ovarian follicular development and function', págs.169-181. Ed. por A.R. Midgley, Jr. y W.A. Sadler, Raven Press, New York.
- 11.- ASAI, T. y K. WAKABAYASHI (1975): Changes of hypothalamic LH-RF content during the rat estrous cycle.  
Endocrinol. Jpn. 22:319-326.
- 12.- AZHAR, S., J.R. REEL, C.A. PASTUSHOK y K.M.J. MENON (1978): LH biosynthesis and secretion in rat anterior pituitary cell cultures: stimulation and secretion by GnRH and an agonistic analogue and blockage by an antagonistic analogue.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 80:659-666.
- 13.- AZHAR, S., M. MENON y K.M.J. MENON (1980): Receptor mediated gonadotropin action in the ovary. Modulation of progesterone response in isolated rat ovary cells by gonadotrophin, cholera enterotoxin and cyclic nucleotides: requirement for RNA and protein synthesis.  
Acta Endocr. 95:528-539.
- 14.- AZHAR, S. y K.M.J. MENON (1981): Receptor-mediated gonadotropin action in the ovary. Action of cytoskeletal element-disrupting agents on gonadotropin-induced steroidogenesis in rat luteal cells.  
Biochem. J. 194:19-27.
- 15.- AZIZ, S. y J.T. KNOWLER (1978): Characterization of uterine heterogeneous nuclear ribonucleic acid and the effect of oestradiol-17 beta on its synthesis.  
Biochem. J. 172:587-593.

- 16.- BADGER, T.M., C.E. WILCOX, E.R. MEYER, R.D. BELL y T.S. CICERO (1978): Simultaneous changes in tissue and serum levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone / follicle stimulating hormone releasing factor after castration in the male rat. *Endocrinology*, 102:136-141.
- 17.- BAILLY, A., B. LEFEVRE, J.F. SAVOURET y E. MILGROM (1980): Activation and changes in sedimentation properties of steroid receptors. *J. Biol. Chem.* 255:2729-2734.
- 18.- BAIRD, D.T. (1978): Pulsatile secretion of LH and ovarian oestradiol during the sheep oestrous cycle. *Biol. Reprod.* 18:359-364.
- 19.- BAKKER, G.H., J.W. HOOGERBRUGGE, F.F.G. ROMMERTS y H.J. VAN DER MOLEN (1981): Lutropin-dependent protein phosphorylation and steroidogenesis in rat tumour leydig cells. *Biochem. J.* 198:339-346.
- 20.- BANKS, J.A. y M.E. FREEMAN (1978): The temporal requirement of progesterone on proestrus for extinction of the estrogen-induced daily signal controlling luteinizing hormone release in the rat. *Endocrinology*, 102:426-432.
- 21.- BANKS, J.A. y M.E. FREEMAN (1980): Inhibition of the daily LH release mechanism by progesterone acting at the hypothalamus. *Biol. Reprod.* 22:217-222.
- 22.- BARR, G.O. y C.A. BARRACLOUGH (1978): Temporal changes in medial basal hypothalamic LH-RH correlated with plasma LH during the rat estrous cycle and following electrochemical stimulation of the medial preoptic area in pentobarbital- treated proestrous rats, *Brain Res.* 148:413-423.

- 23.- BEYER, C. (1976): Neuroendocrine mechanism in sexual behavior.  
En: Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology. págs.  
471-484. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies, Elsevier, Amsterdam.
- 24.- BLAKE, C.A., R. SRIDARAN, K.A. ELIAS, O.A. ASHIURU y M.A. RUSH (1980):  
Plasma LH patterns after LH-RH infusion in long-term unanesthetized  
ovariectomized rats.  
Neuroendocrinology, 30:45-51.
- 25.- BURGER, H.G., G. FINK y V.W.K. LEE (1972): Luteinizing hormone releasing  
factor in ultrafiltrates of blood collected from the pituitary stalk of  
ovariectomized rats and rats subjected to electrical stimulation of the  
preoptic area.  
J. Endocr. 54:227-237.
- 26.- BURTON, K. (1956): A study of condition and mechanism of the diphenyla  
mine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid.  
Biochem. J. 62:315-323.
- 27.- BURTON, K. (1968): Determination of DNA concentration with diphenylamine.  
Págs. 163-166. En: 'Methods in Enzymology'. Vol. XII. Ed. por L. Grossman  
y K. Moldave. Academic Press, New York.
- 28.- BUTCHER, R.L., W.E. COLLIN y N.W. FUNGO (1974): Plasma concentration of  
LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 beta throughout the 4  
day estrous cycle of the rat.  
Endocrinology, 94:1704-1708.
- 29.- CALIGARIS, L., J.J. ASTRADA y S. TALEISNIK (1971): Biphasic effect of  
progesterone on the release of gonadotropins in rats.  
Endocrinology, 89:331-337.
- 30.- CARDINALI, D.P., C.A. NAGLE y J.M. ROSNER (1974): Incorporation of <sup>3</sup>H-  
Leucine into proteins in the hypothalamus and the anterior hypophysis.  
Effects of pinealectomy, superior cervical ganglionectomy and continuous  
exposure to light or darkness.  
Neuroendocrinology, 16:74-83.

- 31.- CARRILLO, A.J., J. RABII, H.F. CARRER y C.H. SAWYER (1977): Modulation of the proestrous surge of luteinizing hormone by electrochemical stimulation of the amygdala and hippocampus in the unanesthetized rat. *Brain Res.* 128:81-92.
- 32.- CATT, K.J. y M.L. DUFAU (1977): Peptide hormone receptors. *Annu. Rev. Physiol.* 39:529-557.
- 33.- CATT, K.J., J.P. HARWOOD, G. AGUILERA y M.L. DUFAU (1979): Hormonal regulation of peptide receptors and target cell responses. *Nature*, 280:109-116.
- 34.- CATT, K.J., J.P. HARWOOD, R.N. CLAYTON, T.F. DAVIES, V. CHAN, M. KAIKIENI, K. NOZU y M.L. DUFAU (1980): Regulation of peptide hormone receptors and gonadal steroidogenesis. *Recent Prog. Horm. Res.* 36:557-622.
- 35.- CLARK, J.H. y E.J. PECK Jr. (1976): Nuclear retention of receptor-oestrogen complex and nuclear acceptor sites. *Nature*, 260:635-637.
- 36.- CLAYTON, R.N., A.R. SOLANO, A. GARCIA-VELA, M.L. DUFAU y K.J. CATT (1980): Regulation of pituitary receptors for gonadotropin-releasing hormone during the rat estrous cycle. *Endocrinology*, 107:699-706.
- 37.- CLAYTON, R.N. y K.J. CATT (1981): Regulation of pituitary gonadotropin-releasing hormone receptors by gonadal hormones. *Endocrinology*, 108:887-895.
- 38.- CONN, P.M., J. MARIAN, M. MACMILLIAN, J. STERN, D. ROGERS, M. HAMBY, A. PENNA y E. GRANT (1981): Gonadotropin-releasing hormone action in the pituitary: a three step mechanism. *Endocrine Rev.* 2:174-184.

- 39.- CONN, P.M., R.G. SMITH y D.C. ROGERS (1981): Stimulation of pituitary gonadotropin release does not require internalization of gonadotropin-releasing hormone.  
J. Biol. Chem. 256:1098-1100.
- 40.- CONVEY, E.M. y R.P. REECE (1969): Influence of the estrous cycle on the nucleic acid content of the rat anterior pituitary.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132:878-880.
- 41.- COOPER, K.J., C.P. FAWCETT y S.M. MCCANN (1974): Variations in pituitary responsiveness to a luteinizing hormone/follicle stimulating hormone releasing factor (LH-RF/FSH-RF) preparation during the rat estrous cycle.  
Endocrinology, 95:1293-1299.
- 42.- CORBIN, A. y A.I. COHEN (1966): Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female rats.  
Endocrinology, 78:41-46.
- 43.- COURVELIN, J.C., M.M. BOUTON, E.E. BAULIEU, P. NURET y P. CHAMBON (1976): Effect of estradiol on rat uterus DNA-dependent RNA polymerases.  
J. Biol. Chem. 251:4843-4849.
- 44.- CROWLEY, W.R., T.L. O'DONOHUE y D.M. JACOBOWITZ (1978): Changes in catecholamine content in discrete brain nuclei during the estrous cycle of the rat.  
Brain Res. 147:315-326.
- 45.- CROWLEY, W.R., T.L. O'DONOHUE, H. WACHSLICHT y D.M. JACOBOWITZ (1978): Effects of estrogen and progesterone on plasma gonadotropins and on catecholamine levels and turnover in discrete brain regions of ovariectomized rats.  
Brain Res. 154:345-357.
- 46.- CUATRECASAS, P. (1974): Membrane receptors.  
Annu. Rev. Biochem. 43:169-214.

- 47.- CUATRECASAS, P. y M.D. HOLLENBERG (1976): Membrane receptors and hormone action.  
Adv. Protein Chem. 30:251-451.
- 48.- CHAN, L. y D.J. TINDALL (1981): Steroid hormone action.  
En: 'Pediatric Endocrinology', págs. 63-97. Ed. por R. Collu y Col., Raven Press, New York.
- 49.- CHANG, L. y B.W. O'MALLEY (1976): Mechanism of action of the sex-steroid hormones.  
N. Engl. J. Med. 294:1322-1328, 1372-1381, 1430-1437.
- 50.- CHANNING, C.P., K. THANKI, A.M. LINDSEY y F. LEDWITZ-RIBBY (1978): Development and hormonal regulation of gonadotropin responsiveness in granulosa cells of mammalian ovary.  
En: 'Receptors and hormone action', págs. 435-455. Ed. por L. Birnbaumer y B.W. O'Malley, Academic Press, New York.
- 51.- CHEN, C.J., J.G. LINDEMAN, C.G. TROWBRIDGE y V.K. BHALLA (1979): Gonadal receptors: evidence for irreversibility in the binding of human chorionic gonadotropin and human luteinizing hormone.  
Biochim. Biophys. Acta 584:407-435.
- 52.- CHEUNG, W.Y. (1979): Calmodulin plays a pivotal role in cellular regulation.  
Science 207:19-27.
- 53.- CHO-CHUNG, Y.S. (1980): Cyclic AMP and its receptor protein in tumor growth regulation in vivo.  
J. Cyclic Nucleotide Res. 6:163-177.
- 54.- CHUANG, D.M., R. HOLLENBECK y E. COSTA (1976): Enhanced template activity in chromatin from adrenal medulla after phosphorylation of chromosomal proteins.  
Science 193:60-62.

- 55.- DAMASA, D.A., D. KOBASHIGAWA, E.R. SMITH y J.M. DAVIDSON (1976): Negative feedback control of LH by testosterone: a quantitative study in male rats.  
Endocrinology 99:736-742.
- 56.- DARBON, J.-M., J. URSELY y P. LEYMAIRE (1981): Correlation between protein phosphorylation and progesterone synthesis in bovine luteal cells stimulated by lutropin.  
Eur. J. Biochem. 119:237-243.
- 57.- DAVIDSON, J.M., D.A. DAMASA, E.R. SMITH y C. CHUNG (1976): Feedback control of gonadotropin secretion in the male rat.  
En: 'Regulatory Mechanisms of Male Reproductive Physiology', págs. 151-164. Ed. por C.H. Spilman, T.J. Lobl y K.T. Kirton, Excerpta Medica, Amsterdam.
- 58.- DAVIES, A.G. (1981): Role of FSH in the control of testicular function.  
Arch. Androl. 7:97-108.
- 59.- DAVIES, A.G. y R. LAWRENCE (1978): Timing and sites of testicular effects of FSH in vivo.  
En: 'Structure and Function of the Gonadotropins', págs. 473-495. Ed. por K.W. McKerns, Plenum, New York.
- 60.- DAVIES, A.G. y R. LAWRENCE (1981): Timing and localization of the stimulatory effect of follicle-stimulating hormone on uridine incorporation in the mouse testis in vivo.  
J. Endocr. 88:443-449.
- 61.- DE GROOT, J. (1959): The rat forebrain in stereotaxic coordinates.  
Verhandelingen der Koninklike Nederlandse N. V. Noord-Hollandsche Uitg. Maatsch, Amsterdam.
- 62.- DE KONNING, J., J.A.M.J. VAN DIETEN y G.P. VAN REES (1976): Inhibitory and augmentative effects of oestradiol on LH-RH induced release of LH by anterior pituitary glands from intact female rats in vitro.  
Mol. Cell. Endocr. 5:321-326.

- 63.- DE KONNING, J., J.A.M.J. VAN DIETEN, A.M.I. TIJSSSEN y G.P. VAN REES (1979): Studies on a protein synthesis dependent step in LH release by LH-RH.  
Acta Endocr. 92:648-657.
- 64.- DORRINGTON, J.H. y D.T. ARMSTRONG (1979): Effects of FSH on gonadal functions.  
Recent Prog. Horm. Res. 35:301-342.
- 65.- DROUIN, J., L. LAGACE y F. LABRIE (1976): Estradiol-induced release of the responsiveness to LH releasing hormone (LHRH) in rat anterior pituitary cells in culture. .  
Endocrinology 99:1477-1481.
- 66.- DUFY, B., L. DUFY-BARBE y J.D. VINCENT (1978): Effects of protein synthesis inhibitors on the negative feed-back effect of estrogen on LH release.  
Hormone Res. 9:279-291.
- 67.- DUNLOP, D.S., W. VAN ELDEN y A. LAJTHA (1975): Optimal conditions for protein synthesis in incubated slices of rat brain.  
Brain Res. 99:303-318.
- 68.- EDWARDSON, J.A. (1975): Sensitivity of self-potentiating effect of luteinizing hormone to cycloheximide.  
Nature 255:71.
- 69.- EIK-NES, K.B. (1975): Biosynthesis and secretion of testicular steroids. En: 'Handbook of Physiology', sec. 7, vol. 5, págs. 95-115. Ed. por R.O. Greep y E.B. Astwood, American Physiological Society, Washington.
- 70.- ELEFTERIOU, B.E. (1975): El sistema límbico y los procesos neuroendocrinos.  
En: 'Neuroendocrinología', págs. 315-351. Ed. por O. Schiaffini, A. Oriol Bosch, L. Martini y M. Motta, Toray, Barcelona.

- 71.- ELIAS, K.A. y C.A. BLAKE (1981): A detailed in vitro characterization of the basal follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone secretion rates during the rat four-day estrous cycle.  
Endocrinology 109:708-713.
- 72.- ELLENDORFF, F., J.A. COLOMBO, C.A. BLAKE, D.I. WHITOMOYER y C.H. SAWYER (1973): Effects of electrical stimulation of the amygdala on gonadotropin release and ovulation in the rat.  
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142:417-420.
- 73.- ELLENDORF, F. y N. PARVIZI (1980): Role of extrahypothalamic centers in neuroendocrine integration.  
En: 'The Endocrine Functions of the Brain', págs. 297-325. Ed. por M. Motta, Raven Press, New York.
- 74.- ESKAY, R.L., C. OLIVER, N. BEN-JONATHAN y J.C. PORTER (1975): Hypothalamic hormones in portal and systemic blood.  
En: 'Hypothalamic Hormones', págs. 125-137. Ed. por M. Motta, P.G. Crosignani y L. Martini, Academic Press, New York.
- 75.- EVERETT, J.W. (1948): Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat.  
Endocrinology 43:389-405.
- 76.- EVERETT, J.W. (1964): Central neural control of reproductive functions of the adenohypophysis.  
Physiol. Rev. 44:373-431.
- 77.- FAIGON, M.R. y J.A. MOGUILVSKI (1976): Effect of estradiol on aminoacid incorporation into protein of different hypothalamic areas in prepuberal rats.  
Experientia 32:392-394.

- 78.- FARQUHAR, M.G. y J.F. RINEHART (1954): Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate rats.  
Endocrinology 54:516-541.
- 79.- FERIN, M., Z. TEMPONE, P.E. ZIMMERING y R.L. VANDE-WIELE (1969): Effect of antibodies to 17-beta estradiol and progesterone on the estrous cycle of the rat.  
Endocrinology 85:1070-1078.
- 80.- FINK, G., S.A. CHIAPPA y M.S. AIYER (1976): Priming effect of luteinizing hormone releasing factor elicited by preoptic stimulation and by intravenous infusion and multiple injections of the synthetic decapeptide.  
J. Endocr. 69:359-372.
- 81.- FINK, G. y S.R. HENDERSON (1977): Steroids and pituitary responsiveness in female, androgenized female and male rats.  
J. Endocr. 73:157-164.
- 82.- FISHMAN, J. (1976): Estrogen metabolism by neuroendocrine tissues.  
En: 'Subcellular Mechanism in Reproductive Neuroendocrinology', págs. 357-362. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies, Elsevier, Amsterdam.
- 83.- FLERKO, B. (1966): Control of gonadotropin secretion in the female.  
En: 'Neuroendocrinology', vol. 1, págs. 613-668. Ed. por L. Martini y W.F. Ganong, Academic Press, New York.
- 84.- FRASCHINI, F., M. MOTTA y L. MARTINI (1968): A short feedback mechanism controlling FSH secretion.  
Experientia 24:270-271.
- 85.- FREDERICKSON, R.C.A. (1980): Peptide receptors in the brain.  
En: 'The Endocrine Functions of the Brain', págs. 233-270. Ed. por M. Motta, Raven Press, New York.

- 86.- FOREMAN, M.M., E.W. WICKERSHAM y A. ANTHONY (1977): Cytophotometric analysis of hypothalamic RNA fluctuations during the rat estrous cycle. Brain Res. 119:471-475.
- 87.- FORTUNE, J.E. y D.T. ARMSTRONG (1977): Androgen production by theca and granulosa cells isolated from proestrous rat follicles. Endocrinology 100:1341-1347.
- 88.- FUXE, K., T. HOKFELT, A. LOFSTROM, O. JOHANSSON, L. AGNATI, B. EVERITT, M. GOLDSTEIN, S. JEFFCOATE, N. WHITE, P. ENEROTH, J.-A. GUSTAFSSON y P. SKETT (1976): On the role of neurotransmitters and hypothalamic hormones and their interactions in hypothalamic and extrahypothalamic control of pituitary function and sexual behavior. En: 'Subcellular Mechanism in Reproductive Neuroendocrinology', págs. 193-246. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies, Elsevier, Amsterdam.
- 89.- GALLO, R.V., J.H. JOHNSON, B.D. GOLDMAN, D.I. WHITMOYER y C.H. SAWYER (1971): Effects of electrochemical stimulation of the ventral hippocampus on hypothalamic electrical activity and pituitary gonadotropin secretion in female rats. Endocrinology 89:704-713.
- 90.- GAY, V.L. y A.R. MIDGLEY, Jr. (1969): Response of the adult rat to orchidectomy and ovariectomy as determined by radioimmunoassay. Endocrinology 84:1359-1364.
- 91.- GLASS, D.B. y E.G. KREBS (1980): Protein phosphorylation catalized by cyclic AMP-dependent and cyclic GMP-dependent protein kinases. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 20:363-388.
- 92.- GOODMAN, R.L. (1978): A quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat. Endocrinology 102:142-150.

- 93.- GOODMAN, R.L. (1978): The site of positive feedback action of estradiol in the rat.  
Endocrinology 102:151-159.
- 94.- GORDON, J.H. y S. REICHLIN (1974): Changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing factor during the rat estrous cycle.  
Endocrinology 94:974-978.
- 95.- GORSKI, R.A. (1975): La regulación endocrina de la conducta sexual.  
En: 'Endocrinología', págs. 261-313. Ed. por O. Schiaffini, A. Oriol Bosch, L. Martini y M. Motta, Toray, Barcelona.
- 96.- GORSKI, J. y F. GANNON (1976): Current models of steroid hormone action: a critique.  
Annu. Rev. Physiol. 38:425-450.
- 97.- GREENGARD, P. (1978): Phosphorylated proteins as physiological effectors.  
Science 199:146-152.
- 98.- GRIFFITHS, E.C. y K.C. HOOPER (1973): The effects of orchidectomy and testosterone propionate injections on peptidase activity in the male rat hypothalamus.  
Acta Endocr. 72:1-8.
- 99.- GRIFFITHS, E.C., K.C. HOOPER, S.L. JEFFCOATE y D.T. HOLLAND (1975): The effects of gonadectomy and gonadal steroids on the activity of hypothalamic peptidases inactivating luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH).  
Brain Res. 88:384-388.
- 100.- GRIZARD, G., M. ANDRE y D. BOUCHER (1980): Plasma and pituitary gonadotrophins before and after LRH in normal, cryptorchid and castrated rats.  
Acta Endocr. 95:454-464.

- 101.- GROEN-KLEVANT, A.C. (1981): An autoradiographic study of follicle growth in the ovaries of cyclic rats.  
Acta Endocr. 96:377-381.
- 102.- GUILLEMIN, R. (1974): The hormones of the hypothalamus.  
Prog. Brain Res. 41:117-132.
- 103.- GUPTA, D., K. KRAGER, J. ZARZYCKI y M. EICHNER (1975): Levels of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, testosterone and dihydrotestosterone in the circulation of sexually maturing intact male rats and after orchidectomy and experimental bilateral cryptorchidism.  
J. Endocr. 66:183-193.
- 104.- HAGINO, N. (1981): Aged limbic system. Interactions of estrogen with catecholaminergic and peptidergic synaptic transmissions.  
Biomedical Res. 2:85-108.
- 105.- HALASZ, B. y L. PUPP (1969): The endocrine effects of isolation of the hypothalamus from the rest of the brain.  
En: 'Frontiers in Neuroendocrinology', págs. 307-342. Ed. por W.F. Ganong y L. Martini, Oxford University Press, New York.
- 106.- HARRIS, G.W. (1948): Neural control of the pituitary gland.  
Physiol. Rev. 28:139-179.
- 107.- HENDERSON, S.R., C. BLAKE y G. FINK (1977): Oestradiol-17 beta and pituitary responsiveness to luteinizing hormone releasing factor in the rat: a study using rectangular pulses of oestradiol-17 beta monitored by non-chromatographic radioimmunoassay.  
J. Endocr. 73:441-453.
- 108.- HERMIER, C. y M. JUTISZ (1971): Role of a regulating protein and molecular oxygen in the mechanism of action of luteinizing hormone.  
Biochim. Biophys. Acta 244:625-633.

- 109.- HILLIER, S.G., D.J.M. VAN DEN BOOGARD, L.E. REICHERT y E.V. VAN HALL (1977): Alterations in granulosa cell aromatase activity accompanying preovulatory follicular development in the rat ovary with evidence that 5 alfa-reduced C<sub>19</sub> steroids inhibit the aromatase reaction in vitro.  
J. Endocr. 84:409-419.
- 110.- HILLIER, S.G. (1981): Regulation of follicular oestrogen biosynthesis: a survey of current concepts.  
J. Endocr. 89:3P-18P.
- 111.- HIRSFIELD, A.N. y A.R. MIDGLEY (1978): Morphometric analysis of follicular development in the rat.  
Biol. Reprod. 19:597-605.
- 112.- HOLLENBERG, M.D. (1979): Hormone receptor interactions at the cell membrane.  
Pharmacol. Rev. 30:393-410.
- 113.- HOOLEY, R.D., R.W. BAXTER, W.A. CHAMLEY, I.A. CUMMING, H.A. JONAS y J. F. FINDLAY (1974): FSH and LH response to gonadotropin-releasing hormone during the ovine estrous cycle and following progesterone administration.  
Endocrinology 95:937-942.
- 114.- HSUEH, A.J.W., G.F. ERICKSON y S.C.C. YEN (1979): The sensitizing effect of estrogens and catechol estrogen on cultured pituitary cells to luteinizing hormone-releasing hormone: its antagonism by progestins.  
Endocrinology 104: 807-813.
- 115.- HSUEH, A.J.W., J.R. SCREIBER y G.F. ERICKSON (1981): Inhibitory effect of gonadotropin releasing hormone upon cultured cells.  
Mol. Cell. Endocr. 21:43-49.

- 116.- HYMER, W.C., A. MASTRO y E. GRISWOLD (1970): DNA synthesis in the anterior pituitary of the male rat: effect of castration and photoperiod. *Science* 167:1629-1631.
- 117.- JACKSON, G.L. (1972): Effect of actinomycin D on estrogen-induced release of luteinizing hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology* 91:1284-1287.
- 118.- JACKSON, G.L. (1973): Time interval between injection of estradiol benzoate and LH release in the rat and effect of actinomycin D or cycloheximide. *Endocrinology* 93:887-892.
- 119.- JAGUS, R., W.F. ANDERSON y B. SAFER (1981): The regulation of initiation of mammalian protein synthesis. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 25:127-185.
- 120.- JANSZEN, F.H.A., B.A. COOKE y H.J. VAN DER MOLEN (1977): Specific protein synthesis in isolated rat testis leydig cells. *Biochem. J.* 162:341-346.
- 121.- JANSZEN, F.H.A., B.A. COOKE, M.J.A. VAN DRIEL y H.J. VAN DER MOLEN (1978): The effect of lutropin on specific protein synthesis in tumour leydig cells and in leydig cells from immature rats. *Biochem. J.* 172:147-153.
- 122.- JENNER, A.A.J., J. DE KONING y G.P. REES (1982): Release and synthesis of FSH by pituitary glands of female rats in vitro. *Acta Endocr.* 100:499-503.
- 123.- JENSEN, E.V. y H.I. JACOBSON (1962): Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Prog. Horm. Res.* 18:387-408.

- 124.- JENSEN, E.V. y E.R. DESOMBRE (1972): Mechanism of action of the female sex hormones.  
Annu. Rev. Biochem. 41:203-230.
- 125.- JENSEN, E.V. (1979): Interaction of steroid hormones with the nucleus.  
Pharmacol. Rev. 30:477-491.
- 126.- JENSEN, E.V. y E.R. DESOMBRE (1979): Steroid sex hormone receptors and action.  
En: 'Endocrinology', vol. 3, págs. 2055-2061. Ed. por C.J. De Groot, Grune and Stratton, New York.
- 127.- JOST, A., B. VIRGIER, J. PREPIN y J.P. PERCHELLET (1973): Studies on sex differentiation in mammals.  
Recent Prog. Horm. Res. 29:1-42.
- 128.- JOUAN, P. y S. SAMPEREZ (1980): Metabolism of steroid hormones in the brain.  
En: 'The Endocrine Functions of the Brain', págs. 95-115. Ed. por M. Motta, Raven Press, New York.
- 129.- JUNGMAN, R.A. y J.S. SCHWEPPE (1972): Mechanism of action of gonadotropin I. Evidence for gonadotropin-induced modification of ovarian nuclear basic and acidic protein biosynthesis, phosphorylation and acetylation.  
J. Biol. Chem. 247:5535-5542.
- 130.- JUNGMAN, R.A. y J.S. SCHWEPPE (1972): Mechanism of action of gonadotropin. II. Control of ovarian nuclear ribonucleic polymerase activity and chromatin template capacity.  
J. Biol. Chem. 247:5543-5548.
- 131.- JUNGMAN, R.A., P.C. HIESTAND y J.S. SCHWEPPE (1974): Mechanism of action of gonadotropin. IV. Cyclic adenosine monophosphate-dependent translocation of ovarian cytoplasmic cyclic adenosine monophosphate-binding protein and protein kinase to nuclear acceptor sites.  
Endocrinology 94:168-183.

- 132.- KAHN, C.R. (1976): Membrane receptors for hormones and neurotransmitters.  
J. Cell. Biol. 70:261-286.
- 133.- KALRA, P.S., C.P. FAWCETT, L. KRULICH y S.M. MCCANN (1973): The effects of gonadal steroids on plasma gonadotropins and prolactin in the rat.  
Endocrinology 92:1257-1268.
- 134.- KALRA, S.P., L. KRULICH y S.M. MCCANN (1973): Changes in gonadotropin-releasing factor content in the rat hypothalamun following electrochemical stimulation of anterior hypothalamic area and during the estrous cycle.  
Neuroendocrinology 12:321-333.
- 135.- KALRA, S.P. y P.S. KALRA (1974): Temporal interrelationships among circulating levels of estradiol, progesterone and LH during the rat estrous cycle: effects of exogenous progesterone.  
Endocrinology 95:1711-1718.
- 136.- KALRA, S.P. y S.M. MCCANN (1975): The stimulatory effect on gonadotropin release of implants of estradiol or progesterone in certain sites in the central nervous system.  
Neuroendocrinology 19:284-302.
- 137.- KALRA, P.S. y S.P. KALRA (1980): Modulation of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone levels by intracranial and subcutaneous implants of gonadal steroids in castrated rats: effects of androgen and estrogen antagonists.  
Endocrinology 106:390-397.
- 138.- KAPP, R. y J.L. FOX (1981): Responses of the anterior pituitary of ovariectomized rats to oestradiol-17 beta administration.  
Acta Endocr. 96:175-181.

- 139.- KARAVOLAS, H.J. y K.M. NUTI (1976): Progesterona metabolism by neuroendocrine tissues.  
En: 'Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology', págs. 305-326. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies. Elsevier, Amsterdam.
- 140.- KATZENELLENOGEN, B.S. y J. GORSKI (1975): Estrogen actions on synthesis of macromolecules in target cells.  
En: 'The Biochemical Actions of Hormones', págs. 187-238. Ed. por G. Litwack, Academic Press, New York.
- 141.- KATZENELLENBOGEN, B.S., H.S. BHAKOO, E.R. FERGUSON, N.C. LAN, T. TATTE, T.-L.S. TSAI y J.A. KATZENELLENBOGEN (1979): Estrogen and antiestrogen action in reproductive tissues and tumors.  
Recent Prog. Horm. Res. 35:259-300.
- 142.- KAWAKAMI, M., E. TERESAWA y T. IBUKI (1970): Changes in multiple unit activity of the brain during the estrous cycle.  
Neuroendocrinology 6:30-48.
- 143.- KAWAKAMI, M. y E. TERESAWA (1972): Acute effect of neural deafferentation of timing of gonadotropin secretion before proestrous in the female rat.  
Endocr. Jap. 19:449-459.
- 144.- KAWAKAMI, M., E. TERESAWA, F. KIMURA, T. HIGUCHI y N. KONDA (1973): Changes in multiple electrical activity (MUA) in rat brain during the estrous cycle and after administration of sex steroids.  
Prog. Brain Res. 39:125-134.
- 145.- KAWAKAMI, M. y F. KIMURA (1976): Limbic-preoptic responses to estrogens and catecholamines in relation to cyclic LH secretion.  
En: 'Subcellular Mechanism in Reproductive Neuroendocrinology', págs. 423-452. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies, Elsevier, Amsterdam.

- 146.- KELNER, K.L., A.L. MILLER y E.J. PECK, Jr. (1980): Estrogen and hypothalamus: nuclear receptor and RNA polymerase activation.  
J. Receptor Res. 1:215-237.
- 147.- KHAR, A. y M. JUTISZ (1980): Effect of actinomycin D and cycloheximide on the release and biosynthesis of gonadotropins by pituitary cell cultures.  
Mol. Cell. Endocr. 17:85-93.
- 148.- KING, R.J.B. y W.I.P. MAINWARING (1974): 'Steroid-Cell Interactions', págs. 190-378, Univ. Park Press, Baltimore.
- 149.- KING, A.C. y P. CUATRECASAS (1981): Peptide hormone-induced receptor mobility, aggregation, and internalization.  
N. Engl. J. Med. 305:77-88.
- 150.- KINGSLEY, T.R. y E.M. BOGDANOVE (1973): Direct feedback of androgens: localized effects of intrapituitary implants of androgens on gonadotrophic cells and hormone stores.  
Endocrinology 93:1398-1409.
- 151.- KLEE, C.B., T.H. CROUCH y P.G. RICHMAN (1980): Calmodulin.  
Annu. Rev. Biochem. 49:489-515.
- 152.- KOBAYASHI, R.M., K.H. LU, R.Y. MOORE y S.S. YEN (1978): Regional distribution of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone in proestrous rats: effects of ovariectomy and estrogen replacement.  
Endocrinology 102:98-105.
- 153.- KOMISARUK, B.R. (1974): Neural and hormonal interactions in the reproductive behavior of female rats.  
En: 'Advances in Behavioral Biology', vol. 11, págs. 97-129. Ed. por W. Montagna y W.A. Sadler, Plenum, New York.

- 154.- KRAICER, J.y S.C.CHENG (1968): "Adenohypophysial DNA and RNA after adrenalectomy, castration, and PTU".  
Amer. J. Physiol. 214(1): 158-160
- 155.- KREBS, E.G.: "Protein kinase"  
Curr. Top. Cell. Regul. 5: 99-133 (1972)
- 156.- KREY, L.C., I. LIEBERBURG, E.ROY y B.S. MCEWEN: "Oestradiol plus receptor complexes in the brain and anterior pituitary gland".  
J.Steroid Biochem. 11: 279-284 (1979).
- 157.- KUBO, K., R.A. GORSKI y M.KAWAKAMI: "Effects of estrogen on neuronal excitability in the hippocampal-septal-hypothalamic system"  
Neuroendocrinology, 18: 176-191 (1975).
- 158.- LABRIE, F., G.PELLETIER, A. LEMAY, P.BORGEAT, N.BARDEN, A.DUPONT, M. SAVARY, J.COTE y R. BOUCHER: "Control of protein syntesis in antherior pituitary gland".  
Acta Endocr. suppl. 180: 301-340 (1973).
- 159.- LABRIE, F., P.BORGEAT, L.FERLAND, A.LEMAY, A.DUPONT, S.LEMAIRE, G.PELLETIER, N.BARDEU, J.DROUIN, A.DE LEAN, A.BELANGER y P.JOLICOEUR: "Mechanisms of action and modulation of activity of hypothalamic hypophysiotropic hormones".  
en "Hypothalamic Hormones", págs. 109-123. Ed. por M.Motta, P.Crosignani y L. Martini, Academic Press, New York (1975).
- 160.- LABRIE, F., J.DROUIN, L.FERLAND, L.LAGACE, M.BEAULIEU, A.DE LEAN, P.A. KELLY, M.G. CARON y V.RAYMOND: "Mechanisms of action of hypothalamic hormones in the anterior pituitary gland and specific modulation of their activity by sex steroids and thyroid hormones.  
Recent Progr. Horm. Res. 34: 25-93 (1978).

- 161.- LAGACE, L., J.MASSICOTTE y F.LABRIE: "Acute stimulatory effects of progesterone on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release in rat anterior pituitary cells in culture".  
Endocrinology 106: 684-689 (1980).
- 162.- LAWTON, I.E. y C.H.SAWYER: "Role of amygdala in regulating LH secretion in the adult rat".  
Amer. J.Physiol. 218: 622-626 (1970).
- 163.- LEE, K.L., C.Y.BOWERS y O.N.MILLER (1968): "Some studies of the effect of thyroid hormone on the metabolism of anterior pituitary gland of rats".  
Endocrinology. 83: 754-762.
- 164.- LEGAN, S.J., G.A. COON y F.J. KARSCH: "Role of estrogen as initiator of daily LH surges in the ovariectomized rat".  
Endocrinology 96: 50-56 (1975).
- 165.- LEGAN, S.J. y F.J.KARSCH: "Modulation of pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing factor during the estrous cycle of the rat".  
Endocrinology, 96: 571-575 (1975).
- 166.- LEROY, F., A.M.PREUMONT, P.GALAND y J.BRACHET: "Increased chromatin acid lability and actinomycin D binding in endometrial cells under the action of sex steroids".  
J.Endocr. 52 : 525-531 (1972).
- 167.- LEUNG, P.C.K. y D.T. ARMSTRONG: "Interactions of steroids and gonadotropins in the control of steroidogenesis in the ovarian follicle".  
Annü.Rev.Physiol. 42: 71-82 (1980).
- 168.- LIBERTUN,C., R.ORIAS y S.M. MCCANN: "Biphasic effect of estrogen on the sensitivity of the pituitary to luteinizing hormone-releasing factor (LRF)".  
Endocrinology, 94: 1094-1100 (1974).

- 169.- LIEBERMAN, M.E., A.BARNEA, S.BAUMINGER, A.TSAFRIRI, W.P.COLLINS y H.R. LINDNER: "LH effect on pattern of steroidogenesis in cultured graafian follicles of the rat: dependence on macromolecular synthesis".  
Endocrinology 96: 1533-1542 (1975).
- 170.- LISK, R.D.: "Hormonal regulation of sexual behavior in polyestrous mammals: common to the laboratory"  
en "Handbook of Physiology" Sec.7 Endocrinology. vol 11. Female Reproductive System. Part. I. pags. 223-260. Ed. por R.D.Greep. American Physiological Society. Washington (1973).
- 171.- LISK, R.D. y L.A. REUTER: "In vivo progesterone treatment enhances (<sup>3</sup>H) estradiol retention by neural tissue of the female rat".  
Endocrinology 100: 1652-1658 (1977).
- 172.- LIU, T.C., P.S.WANG y G.L. JACKSON.: "Effects of GnRH and drugs that affect cAMP levels on LH synthesis and release".  
Amer.J.Physiol. 241: E14-E21 (1981).
- 173.- LONG, J.A. y H.M.EVANS: "The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena"  
en "Memoirs of the University of California". vol. 6, pags.1-148. Ed. por A.O.Leuschner, University of California Press, Berkeley, California (1922).
- 174.- LOSIER, A.J. y E.V. YOUNGLAY: "Role of protein synthesis in rabbit follicular testosterone production".  
J.Steroid Biochem. 14: 285-293 (1981).
- 175.- LOSTROH, A.J. y R.E. JOHNSON: "Amounts of interstitial cell-stimulating hormone required for follicular development, uterine growth and ovulation in the hypophysectomized rat".  
Endocrinology, 79: 991-996 (1966).

- 176.- LOWRY, O.H., N.J. ROSEBROUGH, L. FARR, R.J. RANDALL (1951): "Protein measurement with the folin phenol reagent".  
J. Biol. Chem. 193: 265-275 .
- 177.- LUINE, V.N., R.I. KHYLCHEVSKAYA y B.S. MCEWEN: "Effect of gonadal hormones on activities of monoamine oxidase and choline acethylate in rat brain".  
Brain Res. 86: 293-306 (1975).
- 178.- LUINE, V.N., R.I. KHYLCHEVSKAYA y B.S. MCEWEN: "Effect of gonadal hormones on enzyme activities in brain and pituitary of male and female rats".  
Brain Res. 86: 283-292 (1975).
- 179.- MCLUSKY, N.J. y F. NAFTOLIN: "Sexual differentiation of the central nervous system".  
Science, 211: 1294-1303 (1981)
- 180.- MAINWARING, W.I.P.: "The mechanism of action of androgens".  
Springer-Verlag, New York (1977).
- 181.- MARIAN, J.- R.L. COOPER y P.M. CONN: "Regulation of the rat pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor".  
Mol. Pharmacol. 19: 399-405 (1981).
- 182.- MARTIN, J.E., L. TYREY, J.W. EVERETT y R.E. FELLOWS: "Estrogen and progesterone modulation of the pituitary response to LRF in the cyclic rat".  
Endocrinology, 95: 1664-1673 (1974).
- 183.- MASCO, D.H. y H.F. CARRER: "Sexual receptivity in female rats lesions or stimulation in different amygdaloid nuclei".  
Physiol. Behav. 24: 1073-1080 (1980).
- 184.- MAURER, R.A.: "Transcriptional regulation of the prolactin gene by ergocryptine and cyclic AMP".  
Nature, 294: 94-97 (1981).

- 185.- MCEWEN, B.S.: "Steroid receptors in neuroendocrine tissues: topography, subcellular distribution and functional implications".  
en "Subcellular Mechanism in Reproductive Neuroendocrinology". pags. 277-304. Ed. por F.Naftolin, K.J. Ryan y J.Davies, Elsevier, Amsterdam (1976).
- 186.- MCEWEN, B.S.: "Gonadal steroid receptors in neuroendocrine tissues".  
en "Receptors and Hormone action" vol.2, pags.353-400 Ed. por B.W. O'Malley y C.Birnbaumer, Academic Press, New York (1978).
- 187.- MEANS, A.R., E.MACDOUGALL, T.R. SODERLING y J.D.CORBIN: "Testicular adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase".  
J.Biol.Chem. 249: 1231-1238 (1974).
- 188.- MEANS, A.R.: "Biochemical effects of follicle-stimulating hormone on the testis".  
en "Handbook of physiology", sec.7, vol.5., pags 203-218 . Ed. por D.W. Hamilton y R.O.Greep. American Physiological Society, Washington (1975).
- 189.- MEANS, A.R., J.L. FAKINDING, C.HUCKINGS, A.J.TINDALL y R.VITALE: "Follicle-stimulating hormone, the sertoli cell, and spermatogenesis".  
Recent Prog.Horm.Res. 32: 477-527 (1976).
- 190.- MEANS, A.R. y J.R.DEDMAN: "Calmodulin in endocrine cells and its multiple roles in hormone action".  
Mol.Cell.Endocrinol. 19: 215-227 (1980).
- 191.- MEIDAN, R. y Y.KOCH: "Variations in luteinizing hormone-releasing hormone receptors in pituitary cells from immature and mature cycling female rats".  
Febs Lett. 132: 114-116 (1981).
- 192.- MENDELSON, C., M.DUFAU y K.CATT: "Dependence of gonadotropin-induced steroidogenesis upon RNA and protein synthesis in the interstitial cells of the rat testis:"  
Biochim.Biophys.Acta: 411: 222-230 (1975).

- 193.- MENON, K.M.J., K.P.GUNAGA y S.AZHAR: "GnRH action in rat anterior pituitary gland: regulation of protein, glycoprotein and LH synthesis". Acta Endocr. 86: 473-488 (1977).
- 194.- MERCIER, C., A.ALFSEN y E.BAULIEU: "Sex steroid binding plasma protein" Acta Endocr.supl. 147: 204 (1970).
- 195.- MEYER, A.H., J.F.MASKEN, T.M. NETT y G.D. NISWENDER: "Serum levels of gonadotropin releasing hormone (GnRH) during the estrous cycle and in pentobarbital-treated rats". Neuroendocrinology. 15: 32-37 (1974).
- 196.- MILGROM, E.: "Activation of steroid-receptor complex". en "Biochemical Actions of Hormones". pags. 465-492. Academic Press, New York (1981).
- 197.- MILGROM, E., M.ATGER y E.E.BAULIEU: "Studies on estrogen entry into uterine cells and on estradiol-receptor complex attachment to the nucleus" Biochim. Biophys. Acta 320: 267-283 (1973).
- 198.- MINGUELL, J.J. y W.D.SIERRALTA: "Molecular mechanisms of action of the male sex hormones". J.Endocr. 65: 287-315 (1975).
- 199.- MOGUILEVSKY, J.A., P.SCACCHI y J.CHRISTOT (1970): "Amino acid incorporation into protein of anterior pituitary gland and hypothalamus in androgenized and normal female rats". Proc.Soc. Exp.Biol.Med. 137: 653-656
- 200.- MOGUILEVSKY, J.A., L.E.KALBERMAN, C.LIBERTUN y C.J.GOMEZ: "Effect of orchidectomy on the amino acid incorporation into proteins of anterior pituitary and hypothalamus of rats". Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 136: 1115-1118 (1970).

- 201.- MOGUILLEVSKY, J.A. y P. SCACCHI: "RNA and protein content in different hypothalamic areas: influence of castration".  
J.Endocr. 51: 219-220 (1971).
- 202.- MOGUILLEVSKY, J.A., P. SCACCHI, L. DEBELJUK y M.R. FAIGON: "Effect of castration upon hypothalamic luteinizing hormone releasing factor (LH-RF)".  
Neuroendocrinology. 17: 189-192 (1975).
- 203.- MOTTA, M., F. CELOTTI y L. MARTINI: "Control and biological significance of testosterone metabolism in androgen-sensitive structures".  
en 'Oligozoospermia: Recent Progress in Andrology'. pags. 155-165 Ed. por G. Frajese y Col. Raven Press, New York (1981).
- 204.- MULDOON, T.G.: "Role of receptors in the mechanism of steroid hormone action in the brain".  
en 'The Endocrine Function of the Brain'. págs. 51-93. Ed. por M. Motta. Raven Press. New York (1980).
- 205.- MULLER, G.C., B. VONDERHAAR, U.H. KIM y M. LEMAHIEU: "Estrogen action: an inroad to cell biology".  
Recent Prog. Horm. Res. 28: 1-49 (1972).
- 206.- HAFTOLIN, F., K. BROWN-GRANT y C.S. CORKER: "Plasma and pituitary luteinizing hormone and peripheral plasma oestradiol concentrations in the normal oestrous cycle of the rat and after experimental manipulation of the cycle".  
J.Endocr. 53: 17-30 (1972).
- 207.- NAIR, R.M.G., C. DE VILLIER, N. THOMAS, M. BARNES y J.L. LUBORSKY-MOORE: "Action of gonadotropin-releasing hormone and its superactive analogues on the anterior pituitary: the mechanism of release and synthesis of gonadotropins".  
Neuroendocrinology, 28: 11-24 (1979).

- 208.- NAKANO, H., C.P.FAWCETT, F.KIMURA y S.M. MCCANN: "Evidence for the involvement of guanosine 3',5'-cyclic monophosphate in the regulation of gonadotropin release".  
Endocrinology 103: 1527-1533 (1978).
- 209.- NAOR, Z., C.P.FAWCETT y S.M.MCCANN: "Involvement of cGMP in LHRH-stimulated gonadotropin release".  
Am.J.Physiol. 235: E586-E590 (1978).
- 210.- OCHOA, S., C. DE HARO, J.SIEKIERKA y H.GROSFELD: "Role of phosphorylation-dephosphorylation cycles in the control of protein synthesis in eukaryotes".  
Curr.Top.Cell.Regul. 18: 421-435 (1981).
- 211.- O'MALLEY, B.W., W.L.MCGUIRE, P.O.KOHLER y S.G.KORENMAN: "Studies on the mechanism of steroid hormone regulation of synthesis of specific proteins".  
Recent Prog.Horm.Res. 25: 105-161 (1969)
- 212.- O'MALLEY, B.W. y A.R. MEANS: "Female steroid hormones and target cell nuclei".  
Science, 183: 610-620 (1974).
- 213.- PARK, K.R., B.B.SAXENA y H.M.GANDY: "Specific binding of LH-RH to the anterior pituitary gland during the oestrous cycle in the rat"  
Acta Endocr. 82: 62-70 (1976).
- 214.- PECK, Jr., E.J., J.J.PURGNER y J.H.CLARK: "Estrophilic binding sites of the uterus. Relation to uptake and retention of estradiol 'in vivo'".  
Biochemistry 12: 4596 (1973).
- 215.- PFAFF, D.W.: "Autoradiographic localization of radioactivity in rat brain after injection of tritiated sex hormones".  
Science 161: 1355-1356 (1968).

- 216.- PICKERING, A.J.M., y G.FINK: "Priming effect of luteinizing hormone releasing factor: in-vitro and in-vivo evidence consistent with its dependence upon protein and RNA synthesis".  
J.Endocr. 69: 373-379 (1976).
- 217.- PICKERING, A.J.M.C. y G.FINK: "Variation in the size of the 'readily releasable pool' of luteinizing hormone during the oestrous cycle of the rat".  
J.Endocr. 83: 53-59 (1979).
- 218.- PIRKE, K.M., M.GEISS y R.SINTERMANN: "A quantitative study on feedback control of LH by testosterone in young adult and old male rats".  
Acta Endocr. 89: 789-795 (1978).
- 219.- PIVA, F., M.MOTTA y L.MARTINI: "Regulation of hypothalamic and pituitary function: long, short, and ultrashort feedback loops".  
en 'Endocrinology'. vol.1, págs. 21-33. Ed. por C.J. de Groot, Grune and Stratton, New York (1979).
- 220.- POWERS, J.B.: "Hormonal control of sexual receptivity during the estrous cycle of the rat".  
Physiol. Behav. 5 : 831-835 (1970)
- 221.- QUADAGNO, A.M. y G.K.W. HO: "The reversible inhibition of steroid-induced sexual behavior by intracranial cycloheximide".  
Hormone Behav. 6:19-26 (1975).
- 222.- RAMIREZ, V.D. y S.M.MCCANN: "Inhibitory effects of testosterone on luteinizing hormone secretion in immature and adult rats".  
Endocrinology. 76: 412-417 (1965).
- 223.- RAYNAUD, J.P.: "Influence of rat estradiol binding plasma protein (EBP) on uterotrophic activity".  
Steroids 21:249-257 (1973).

- 224.-RICHARDS, J.S.: "Hormonal control of ovarian follicular development: a 1978 perspective".  
Recent Progr. Horm. Res. 35: 343-373 (1979).
- 225.-ROBINSON, J.A. y W.W. LEAVITT: "Estrogen related changes in anterior pituitary RNA levels".  
Proc.Soc. Exp.Biol. 139: 471-475 (1971).
- 226.-ROBINSON, G.A., R.W. BUTCHER y E.W. SUTHERLAND: "Cyclic AMP"  
Academic Press. New York (1971).
- 227.-ROCHERFORD, H., J.ANDRE, P.P.BASKEVITCH, J.KALLOS, F.VIGNON y B.WESTLEY: "Nuclear translocation of the estrogen receptor in uterus and mammary tumors".  
J.Steroid Biochem. 12: 135-142 (1980).
- 228.-RUF, K.B.: " Electrophysiological correlates of neuroendocrine tissues".  
  
en 'Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology'. págs. 33-44. Ed. por F. Naftolin, K.J. Ryan y J. Davies, Elsevier. Amsterdam (1976).
- 229.-SAIDAPUR, S.K. y G.S. GREENWALD: "Regulation of 17  $\beta$ -estradiol synthesis in the proestrous hamster: role of progesterone and luteinizing hormone".  
Endocrinology. 105 : 1432-1439 (1979).

- 230.- SALAMAN, D.F.: "RNA synthesis in the rat anterior hypothalamus and pituitary: relation to neonatal androgen and the oestrous cycle".  
J.Endocr. 48: 125-137 (1970).
- 231.-SAWYER, C.H. y D.K. CLIFTON: "Aminergic innervation of the hypothalamus".  
Fed.Proc. 39: 2889-2895 (1980).
- 232.-SARKAR, D.K., S.A.CHIAPPA, G. FINK y N.M. SHERWOOD: "Gonadotropin releasing hormone surge in pro-estrous rats".  
Nature 264: 461-463 (1976).
- 233.-SARKAR, D.K. y G. FINK: "Effects of gonadal steroids on output of luteinizing hormone releasing factor into pituitary stalk blood in the female rat".  
J.Endocr. 80: 303-313 (1979).
- 234.-SCHALLY, A.V., A.ARIMURA, A.J.KASTIN, H.MATSUO, Y.BARBA, T.W. REDDING y R.M.G. NAIR: "Gonadotropin-releasing hormone: one polypeptide regulates secretion of luteinizing and follicle-stimulating hormone".  
Science, 173: 1036-1038 (1971).
- 235.-SCHIAFFINI, O.: "Oxidative metabolism in neuroendocrine tissue".  
en 'Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology'. págs. 363-379. Ed. por F. Naftolin, K.J.Ryan y J. Davies. Elsevier, Amsterdam (1976).

- 236.- SCMIDTH, G. y S.J. THANNAHUSER (1945): A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues.  
J. Biol. Chem. 161:83-89.
- 237.- SCHNEIDER, W.C. (1945): Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid.  
J. Biol. Chem. 161:293-303.
- 238.- SCHNEIDER, W.C. (1957): Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis.  
En: 'Methods in Enzymology'. Vol. III, Págs. 680-684. S.P. Colowick y N.O. Kaplan Eds., Academic Press, New York.
- 239.- SCHUILING, G.A. y H.A. GNODDE (1976): Site of origin of the pulsatile secretion of luteinizing hormone in long-term ovariectomized rats.  
J. Endocr. 70:97-104.
- 240.- SCHWARTZ, N.B. (1968): A model for the regulation of ovulation in the rat.  
Recent. Prog. Horm. Res. 25:1-55.
- 241.- SCHWARTZ, N.B. y C.E. MC CORMACK (1972): Reproduction gonadal function and its regulation.  
Ann. Rev. Physiol. 34:425-472.
- 242.- SHAAR, C.J., J.S. EUKER, G.D. RIEGLE y J. MEITES (1975): Effects of castration and gonadal steroids on serum luteinizing hormone and prolactin in old an young rats.  
J. Endocr. 66:45-51.
- 243.- SHERWOOD, N.M. y G. FINK (1980): Effect of ovariectomy and adrenalectomy on luteinizing hormone-releasing hormones in pituitary stalk blood from female rats.  
Endocrinology, 106:363-367.

- 244.- SHIN, S.H., C.J. HOWITT y J.V. MILUGAN (1974): A paradoxical castration effect on LH-RH levels in male rat hypothalamus and serum.  
Life Sci. 14:2491-2496.
- 245.- SHIN, S.M., C.J. HOWITT (1975): Effect of castration on luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone in the male rat.  
J. Endocr. 65:447-448.
- 246.- SHIN, S.H. y C.J. HOWITT (1976): Effect of testosterone on hypothalamic LH-RH content.  
Neuroendocrinology, 21:165-174.
- 247.- SKIPPER, J.K., S.D. EAKLE y T.H. HAMILTON (1980): Modulation by estrogen of synthesis of specific uterine proteine.  
Cell. 22:69-78.
- 248.- SMITH, D.E. y J. GORSKI (1968): Estrogen control of uterine glucose metabolism.  
J. Biol. Chem. 243:4169-4174.
- 249.- SMITH, E.R., R.F. WEICK y J.M. DAVIDSON (1969): Influence of intracerebral progesterone on the reproductive system of female rats.  
Endocrinology, 85:1129-1136.
- 250.- SMITH, E.R. y J.M. DAVIDSON (1974): Location of feedback receptors: Effects of intracranially implanted steroids on plasma LH and LRH response.  
Endocrinology, 95:1566-1573.
- 251.- SMITH, M.S., M.E. FREEMAN y J.D. NEILL (1975): The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy.  
Endocrinology, 96:219-226.

- 252.- SPEIGHT, A. y G. FINK (1981): Changes in responsiveness of dispersed pituitary cells to luteinizing hormone releasing hormone at different times of the oestrous cycle of the rat.  
J. Endocr. 89:129-134.
- 253.- SPELGBER, T.C., A.W. STEGGES y B.W. O'MALLEY (1971): Progesterone binding component of chick oviduct. III. Chromatin acceptor sites.  
J. Biol. Chem. 246:4188-4197.
- 254.- SPIEGEL, A.M. y DOWNS Jr., R.W. (1981): Guanine nucleotides: key regulators of hormone receptor-adenylate cyclase interaction.  
Endocrine Rev. 2:275-305.
- 255.- SPIELVOGEL, A.M., M.I. MEDNIEKS, U. EPPENBERGER y R.A. JUNGSMANN (1977): Evidence for the identity of nuclear and cytoplasmic adenosine-3': 5'-monophosphate-dependent protein kinase from porcine ovaries and nuclear translocation of the cytoplasmic enzyme.  
Eur. J. Biochem. 73:199-212.
- 256.- SPONA, J., C. BIEGLMAYER y H. LEIBL (1980): Estrogen interaction with the anterior pituitary of female rats.  
Biochim. Biophys. Acta 633:361-375.
- 257.- SPOONER, P. y J. GORSKI (1972): Early estrogen effects on lipid metabolism in the rat uterus.  
Endocrinology, 91:1273-1283.
- 258.- STADTLER, F., E. STOCKER, G. DHOM y H.U. TIETZE (1970): Autoradiographic studies on nuclear DNA and RNA synthesis in the adenohipophysis of castrated rats.  
Acta Endocr. 64:324-338.
- 259.- STEINBERGER, E. y G.E. DUCKETT (1966): Pituitary "total" gonadotropins, FSH and LH in orchidectomized or cryptorchid rats.  
Endocrinology, 79:912-920.

- 260.- STEINBERGER, E. (1971): Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.* 51:1-22.
- 261.- STEINBERGER, E. y M. CHOWDHURY (1974): Control of pituitary FSH in male rats. *Acta Endocr.* 76:235-241.
- 262.- STEPIEN, H. (1981): LHRH inhibits (<sup>3</sup>H) Thymidine incorporation by pituitary cells cultured in vitro. *Endocrinology*, 109:1784-1786.
- 263.- STOCLET, J.C. (1981): Calmodulin. An ubiquitous protein which regulates calcium-dependent cellular functions and calcium movements. *Biochem. Pharmacol.* 30:1723-1729.
- 264.- STORMSHAL, F., R. LEAKE, N. WERTZ y J. GORSKI (1976): Stimulatory and inhibitory effects of estrogen on uterine DNA synthesis. *Endocrinology*, 99:1501-1511.
- 265.- STUMPF, W.E. y M. SAR (1978): Anatomical distribution of estrogen, androgen, progestin, corticosteroid and thyroid hormone target sites in the brain of mammals: phylogeny and ontogeny. *Amer. Zool.* 18:435-445.
- 266.- STUMPF, W.E. (1979): Binding of estrogen, progestagens, androgens and corticosteroids in the central nervous system. En: 'Interaction between The Nervous and the Endocrine Systems', Págs. 103-134. Ed. por A.A.J. Verhofstad y J.A.M. van Kemenade. Univ. de Nijmegen.
- 267.- SWERDLOFF, R.S. y P.C. WALSH (1965): Testosterone and oestradiol suppression of LH and FSH in adult male rats: duration of castration, duration of treatment and combined treatment. *Acta Endocr.* 76:412-417.

- 268.- TATE, A.C. y A.D. SWIFT (1981): The effect of sex steroids on the degradation of LRH by hypothalamic homogenates.  
Acta Endocr. 98:321-325.
- 269.- TELL, G.P., F. HAOUR y J.M. SAEZ (1978): Hormonal regulation of membrane receptors and cell responsiveness: A review.  
Metabolism, 27:1566-1592.
- 270.- TENG, C.S. y T.H. HAMILTON (1968): The role of chromatin in estrogen action in the uterus. I. The control of template capacity and chemical composition and binding of H<sup>3</sup>-estradiol-17 beta.  
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 60:1410-1417.
- 271.- TERESAWA, E. y P.S. TIMIRAS (1968): Electrical activity during the estrous cycle of the rat: cyclic changes in limbic structures.  
Endocrinology, 83:207-216.
- 272.- TER HAAR, M.B. y P.C.B. MACKINNON (1973): Changes in serum gonadotrophin levels, and in protein levels and in-vivo incorporation of (<sup>35</sup>S) methionine into protein of discrete brain areas and the anterior pituitary of the rat during the oestrous cycle.  
J. Endocr. 58:563-576.
- 273.- TER HAAR, M.B. y P.C.B. MACKINNON (1975): Effects of antibody to oestrogen or of ovariectomy on the incorporation of (<sup>35</sup>S) methionine into brain protein and gonadotrophin levels during the oestrous cycle in the rat.  
J. Endocr. 65:399-410.
- 274.- TSAFIRI, A., M.E. LIEBERMAN, A. BARNEA, S. BAUMINTER y H.R. LINDNER (1973): Steroidogenesis in isolated graafian follicles of the rat: role of RNA and protein synthesis.  
Endocrinology, 93:1378-1386.

- 275.- TONOUE, T. y K. YAMAMOTO (1967): Effect of thyroidectomy and thyroxine supplement on amino acid incorporation into protein of rat anterior pituitary.  
Endocrinology, 81:1029-1032.
- 276.- TURGEON, J.L. y C.A. BARRACLOUGH (1973): Temporal patterns of LH release following graded preoptic electrochemical stimulation in proestrous rats.  
Endocrinology, 92:755-761.
- 277.- UMBREIT, W.W., R.H. BURRIS y J.F. STAUFFER (1972): Methods for preparation and study of tissues and enzymes.  
En: 'Manometric and Biochemical Techniques', Págs. 133-176, Burgess Publ. Comp. Minneapolis.
- 278.- VALOTAIRE, Y. y J. DUVAL (1973): Regulation of rat pituitary thymidine kinase activity by androgens.  
Acta Endocr. 73:612-624.
- 279.- VELASCO, J.A. y S. TALEISNIK (1969): Release of gonadotropins induced by amygdaloid stimulation in the rat.  
Endocrinology, 84:132-139.
- 280.- VELASCO, M.E. y S. TALEISNIK (1969): Effect of hippocampal stimulation on the release of gonadotropin.  
Endocrinology, 85:1154-1159.
- 281.- VERJANS, H.L., H.J. VAN DER MOLEN y K.B. EIK-NES (1975): Relation between circulating levels of testosterone, LH and FSH in intact and castrated, adult, male rats after testosterone administration.  
Acta Endocr. 79:380-386.
- 282.- VIC, P., M. GARCIA, J. ANDRE, C. HUMEAU y H. ROCHEFORT (1978): Modifications ultrastructurales precoces de la chromatine induite par les oestrogens dans l'endometre et les cancers du sein hormono dependants.  
C. R. Acad. Sci. Paris. 287:141-144.

- 283.- VIC. P., M. GARCIA, C. HUMEAU y H. ROCHEFORT (1980): Early effect of estrogen on chromatin ultrastructure in endometrial nuclei.  
Mol. Cell. Endocrinol. 19:79-92.
- 284.- VILCHEZ-MARTINEZ, J.A., A. ARIMURA, L. DEBELJUK y A.V. SCHALLY (1974): Biphasic effect of estradiol benzoate on the pituitary responsiveness to LH-RH.  
Endocrinology, 94:1300-1303.
- 285.- WAKABAYASHI, K., T. OGISO y B.I. TAMAOKI (1968): Acute effects of androgen and estrogen on the promotion of amino acid incorporation into luteinizing hormone and protein in the anterior pituitary glands of male rats.  
Endocrinology, 82:721-730.
- 286.- WALSH, D.A. y C.D. ASHBY (1973): Protein kinases: aspects of their regulation and diversity.  
Recent. Progr. Horm. Res. 29:329-359.
- 287.- WELCH, J.P., R.B. MITCHELL y J.C. DAVIS (1979): Cytophotometric measurements of DNA, RNA and basic protein in FSH treated rat sertoli cells in culture.  
Biol. Reprod. 21:69-74.
- 288.- WELSCHEN, R. (1973): Amount of gonadotrophins required for normal follicular growth in hypophysectomized rats.  
Acta Endocr. 72:137-155.
- 289.- WESTLEY, B.W. y H. ROCHEFORT (1979): Estradiol induced protein in the MCF<sub>7</sub> human breast cancer cell line.  
Biochem. Biophys. Res. Commun. 90:410-417.
- 290.- WHALEN, R.E., B.B. GORZALKA, J.F. de BOLA, D.M. QUADAGNO, G.K.W. HO y J.C. HOUGH (1944): Studies on the effects of intracerebral actinomycin D implants on estrogen induced receptivity in rats.  
Hormone Behav. 5:337-343.

- 291.- WHEATON, J.E. y S.M. McCANN (1976): Luteinizing hormone-releasing hormone in peripheral plasma and hypothalamus of normal and ovariectomized rats. *Neuroendocrinology*, 20:296-310.
- 292.- WILBER, J.F., E. MONTOYA, R. GENDRICH, N.P. PLOTNIKOFF, W.F. WHITE, L. RENAUD y J.B. MARTIN (1976): Gonadotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone: distribution and effects in the central nervous system.  
*Recent. Prog. Horm. Res.* 32:117-159.
- 293.- WILSON, J.D. (1978): Sexual differentiation.  
*Ann. Rev. Physiol.* 40:279-306.
- 294.- YAMAMOTO, M., N.D. DIEBEL y E.M. BOGDANOUE (1970): Analysis of initial and delayed effects of orchidectomy and ovariectomy on pituitary and serum LH levels in adult and immature rats.  
*Endocrinology*, 86:1102-1111.
- 295.- YAMAMOTO, K.R. y ALBERTS, B.M. (1976): Steroid receptors: elements for modulation of eukaryotic transcription.  
*Annu. Rev. Biochem.* 45:721-746.
- 296.- YOSHIDA, T., Y. HATTORI, H. HOSHIAI, M. HIRANO, K. TAKAHASHI y M. SUZUKI (1975): The effects of LH-RH on the concentration of 3', 5'-cyclic AMP and RNA synthesis in rat anterior pituitary.  
*Acta Endocr.* 79:658-662.
- 297.- ZANISI, M. y L. MARTINI (1975): Differential effects of castration on LH and FSH secretion in male and female rats.  
*Acta Endocr.* 78:683-688.