

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA IZTAPALAPA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

**MADURACION GONADAL DEL AJOLOTE (*Ambystoma mexicanum*) EN
AUSENCIA DE HORMONAS TIROIDEAS**

Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Biología de la Reproducción Animal

Presenta
María del Rosario Tarragó Castellanos

Asesor: Dr. Adolfo Rosado García
Co-asesores: MVZ Carlos M. Romero Ramírez
M. en C. Mario García Lorenzana

1997

Indice

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Antecedentes	2
Importancia Biológica	2
II. Hormonas Tiroideas y regulación del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides.	5
III. Regulación endócrina de la metamorfosis y la neotenia.	10
La metamorfosis en los anuros.	10
La metamorfosis y el caso de la neotenia en los urodelos.	12
IV. Características reproductivas de los anfibios.	15
Características generales de la espermatogénesis.	16
Control endócrino de la foliculogénesis.	18
Vitelogénesis	19
V. Hormonas tiroideas y reproducción.	20
Machos.	21
Hembras.	23
El caso de los anfibios	26
Planteamiento del problema.	28
Hipótesis.	28
MATERIAL Y METODOS.	29
Animales y tratamientos.	29
Obtención de muestras.	29
Valoración histológica.	30
Análisis estadístico.	31
RESULTADOS.	35
Parámetros somáticos	35
Efecto del PTU sobre el peso corporal y del hígado	35
Machos	35
Indices gonadales y de organos accesorios.	35
Descripción histológica.	36
Cuantificación de células.	50
Parámetros morfométricos.	50
Hembras.	53
Índice ovario somático y relación oviductos peso corporal.	53
Pigmento.	54
Descripción histológica.	54
Número de ovocitos por corte.	57
Grosor del epitelio folicular.	57
DISCUSION.	63
BIBLIOGRAFIA.	71

AXÓLOTL o juego del agua

Es una especie de pez lacustre cubierto de piel blanda y con cuatro patas como de lagartija, de un palmo de largo y del grueso del pulgar, aunque a veces tiene más de un codo de longitud. Tiene vulva muy parecida a la de la mujer, el vientre con manchas pardas, y desde la mitad del cuerpo hasta la cola, que es larga y muy delgada en su extremo, adelgaza gradualmente; tiene por lengua un cartílago corto y ancho; nada con las cuatro patas, que terminan en dedos muy parecidos a los de la rana; la cabeza es deprimida, y grande en relación al cuerpo; la boca entreabierta y el color negro. Se ha observado repetidas veces que tiene flujos mensuales como las mujeres, y que comido excita la actividad genésica, no de otra suerte que los estincos, que algunos llaman cocodrilos terrestres y son quizá de su misma especie. Suministra un alimento saludable y sabroso, semejante a la carne de anguilas. Se preparan de muchas maneras, fritos, asados o cocidos. Los españoles los aderezan generalmente con clavos de especie y pimienta de Indias; los mexicanos con el pimienta solo, molido o entero, condimento muy común de que gustan sobremanera. Tomó su nombre de la forma rara y divertida que tiene.

Francisco Hernández

Abreviaturas

Tiroglobulina	TgB
Yodo	I
Tiroperoxidasa	TPO
Monoyodotironina	MIT
Diyodotironina	DIT, T ₂
Triyodotironina	T ₃
Tiroxina	T ₄
Triyodotironina reversa	rT ₃
Globulina que une tiroxina	TBG
Prealbúmina que une tiroxina	TBP _a
Albúmina	TBA
Propiltiouracilo	PTU
Hormona estimulante del tiroides	TSH
Hormona luteinizante	LH
Hormona folículo estimulante	FSH
Gonadotropina coriónica humana	HCG
Hormona liberadora de tirotropina	TRH
Hormonas tiroideas	HT
Prolactina	PRL
Hormona liberadora de gonadotropinas	GnRH
Somatostatina	GHRH
Células germinales primordiales	CGP
Proteína transportadora de andrógenos	ABP
Sistema tuberoinfundibular dopaminérgico	TIDA
Grupo tratado con 0 mg/l de PTU	GC
Grupo tratado con 5 mg/l de PTU	G5
Grupo tratado con 10 mg/l de PTU	G10
Grupo tratado con 20 mg/l de PTU	G20
Peso corporal	PC
Peso del hígado	PH
Peso conductos espermáticos	PCE
Peso oviductos	POv
Índice hepatosomático	IHS
Índice testículosomático	ITS
Índice ovariosomático	IOS
Espermatogonias	gonias, G
Espermatocitos	citocitos, C
Espermátidas	tididas, T
Espermatozoides	zoides, Z
Célula Sertoli	S1, S2
Células intersticial	Ia, Ib

Lóbulo	L
Quiste	Q
Tejido intersticial	Ti
Arcadas	A
Mitosis	M
Núcleo	N
Nucleolo	Nu
Ovocito previtelogénico	Op
Ovocito vitelogénico	Ov
Epitelio folicular plano	Efp
Epitelio folicular cúbico	Efc
Plaquetas vitelinas	Pv

RESUMEN

Para evaluar la maduración gonadal del ajolote *A. mexicanum* en ausencia de hormonas tiroideas se utilizaron 24 larvas divididas en cuatro grupos. Cada grupo recibió, durante 333 días, diferentes tratamientos con Propiltiouracilo (PTU) agregando dosis de 0, 5, 10 y 20 mg/l de agua en el medio. Al finalizar el tratamiento, se tomó el peso corporal, se sacrificaron los animales y se registró el peso del hígado, de los conductos sexuales y de las gonadas de cada animal. Una de las gonadas de cada animal fue fijada en Bouin para realizar estudios histológicos. Nuestros resultados revelan que la presencia de PTU interfiere con el aumento normal del peso corporal, alcanzando esta diferencia los niveles de significancia estadística ($p < 0.05$) sólo en el grupo tratado con 20 mg/l de PTU. El índice hepatosomático del grupo control fue significativamente menor que el de los grupos tratados. En los machos el tratamiento no produjo ninguna modificación del índice testículo/somático, ni tampoco en la relación peso de los conductos espermáticos sobre peso corporal. La descripción histológica reveló que no hubo modificaciones en el proceso de la espermatogénesis ya que observamos desde lóbulos con espermatogonias hasta lóbulos con espermatozoides; sin embargo, se observó en los grupos tratados con PTU un aumento en la superficie que ocupa el tejido conectivo en la gonada. En la cuantificación de células en lóbulos con espermatogonias y espermatoцитos se encontró que la variabilidad intra grupo fue mayor que la variabilidad entre grupos no observándose un efecto por el tratamiento; la razón espermatogonias/espermatoцитos no mostró modificaciones entre tratamientos. En relación a los parámetros micrométricos, sólo en el área de los lóbulos se encontraron diferencias significativas entre los grupos tratados y el grupo control siendo mayor en éste último; en el diámetro de los quistes, así como en el diámetro mayor y menor de las células de Sertoli no se encontraron diferencias, y tampoco en el número de quistes por túbulo. En las hembras, el índice ovario/somático fue mayor en el grupo control que en los grupos tratados, en la relación peso de los oviductos sobre peso corporal no se encontró ninguna diferencia entre los grupos. En los ovarios del grupo control se observó la presencia de pigmento en los ovocitos, pero solo en algunos ovarios de los grupos tratados se llegan a observar ovocitos con pigmento. Los ovocitos se clasificaron como previtelogénicos y vitelogénicos. En las hembras control observamos ovocitos vitelogénicos con epitelio folicular cúbico gran número de nucléolos y vitelogénesis completa; pero en un elevado porcentaje de ovocitos en los grupos tratados se observó ausencia de vitelo o escasos ovocitos con vitelogénesis completa cuando se comparan con el grupo control. El grosor del epitelio folicular tanto en ovocitos previtelogénicos como vitelogénicos no varía entre los grupos.

Los efectos del PTU se presentaron en ambos sexos. En el caso de las hembras se observó alteración en la vitelogénesis y por lo tanto en el crecimiento y diferenciación de los ovocitos; en el caso de los machos las modificaciones provocadas por el tratamiento se relacionan con el incremento del espacio ocupado por el tejido conectivo, no se observan alteraciones en la espermatogénesis encontrándose lóbulos en espermiación.

INTRODUCCION

Desde hace mucho tiempo ha llamado la atención de los investigadores la característica neoténica del ajolote, y para explicarla se han propuesto diversas hipótesis entre las cuales es conveniente mencionar las siguientes:

- la neotenia no es una característica del ajolote como especie en condiciones naturales, sino de una línea consanguínea seleccionada en las colonias por la presión del interés de los investigadores en esta característica (Smith, H. M., 1969).
- los ajolotes desarrollaron la neotenia al desarrollarse en masas de agua en las que no existían depredadores de la especie por lo que no tenían presión para abandonar el medio acuático que además es más benigno que el terrestre (Shaffer, H.B., 1989).
- los ajolotes desarrollaron esta estrategia reproductiva al encontrarse en una región pobre de iodo que limitaba la síntesis de hormonas tiroideas, indispensables para la metamorfosis (Cockrum, 1982).

En relación con esta tercera hipótesis, es bien conocido que en todos los vertebrados estudiados, las hormonas tiroideas cumplen un papel indispensable y limitante en la maduración gonadal (Palmero, 1982, Palmero, 1988; Palmero, 1989; Corrales-Hernández, 1990; Francavilla, 1990; Ruder, 1971; Akande, 1972; Tulchinsky, 1973).

En este trabajo se analiza el efecto que tiene la supresión de las hormonas tiroideas en la maduración gonadal del *Ambystoma mexicanum*.

ANTECEDENTES

I. IMPORTANCIA BIOLÓGICA

El *Ambystoma mexicanum* es un anfibio paedomórfico perteneciente a la subclase urodela, es una especie endémica que habita en agua dulce de la zona montañosa de México, especialmente los lagos de Xochimilco y Chalco (Brandom 1989), desde su estado larvario tiene apéndices pares formados por verdaderas patas, piel desprovista de escamas, fosas nasales internas, respiración branquial y tegumentaria, mandíbulas fusionadas al cráneo,

corazón dividido en 3 cámaras, sexos separados, reproducción estacional durante el invierno y fecundación externa (Weisz, 1974).

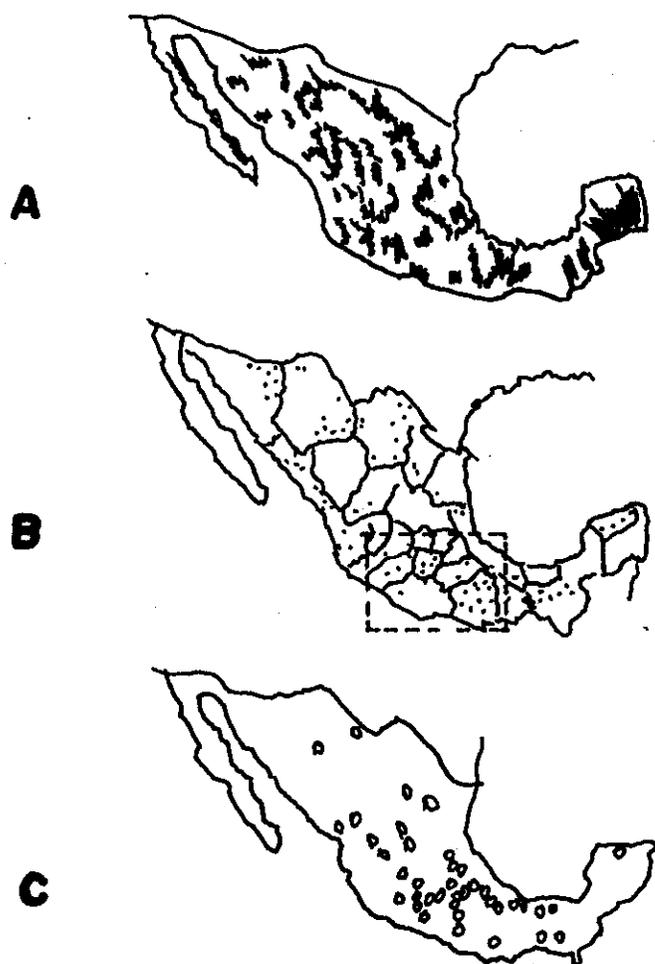
Una de las características más distintivas de esta especie es el ser neoténica; la neotenia es una condición en la cual las características de la larva son retenidas por tiempo prolongado, pero los individuos maduran sexualmente y pueden llegar a reproducirse (Etkin, 1968). En estudios en los que se han mantenido en cautiverio se ha observado que pueden vivir hasta 10 años y que mantienen su estado larvario de generación en generación. (Fleischman, 1951)

Lynn en 1961, propuso que la falla para metamorfosearse puede ser debida a factores ambientales o genéticos; la alteración de las condiciones ambientales pueden ser suficientes para producir una incapacidad para liberar hormonas tiroideas que induzcan la metamorfosis. En el caso del *A. mexicanum* la neotenia parece deberse a que los requerimientos de yodo necesarios para la biosíntesis de hormonas tiroideas, no son satisfechos por la presencia de este elemento en las aguas que habitan. Esta deficiencia interfiere con la biosíntesis de hormonas tiroideas y por lo tanto la metamorfosis no ocurre (Maisterrena, 1969; Cockrum, 1982) (Figura 1).

En este tipo de organismos no se da la transición de un estado larvario a uno adulto, fenómeno denominado "metamorfosis". La metamorfosis involucra diversas actividades morfogenéticas:

1. Las estructuras larvarias presentan sólo funciones transitorias al sufrir regresiones que son caracterizadas por la involución fisiológica de los tejidos.
2. Aparecen nuevas estructuras que forman parte de la organización del adulto, como resultado de la reactivación del crecimiento y la diferenciación.
3. Transformación, la cual involucra tanto eventos recesivos como constructivos que ocurren en ciertos órganos (Weber, 1967).

Se ha observado que durante el crecimiento de las larvas neoténicas en el *A. mexicanum*, se presentan algunos cambios bioquímicos que están usualmente asociados a la metamorfosis de los anfibios. Dichos cambios son: sustitución de la excreción de amonio por



A REGION MONTAÑOSA

B ZONAS ENDEMICAS DE BOCIO

C REGIONES CON BAJO CONTENIDO DE YODO EN EL
AGUA o CONTENIDO INSUFICIENTE DE YODO

FIGURA 1: DISTRIBUCION GEOGRAFICA DE LA REGION MONTAÑOSA EN LA REPUBLICA MEXICANA. LOCALIZACION DE ZONAS BO-CIOGENAS Y REGIONES CON BAJO CONTENIDO DE YODO EN EL AGUA .

urea, cambios en el tipo de proteínas plasmáticas y de hemoglobinas; los cuales son inducidos por tiroxina, aún a concentraciones bajas (Tompkins, 1977).

Desde el punto de vista reproductivo, el *A. mexicanum* se ha podido clasificar en cuatro grupos: a) larvas inmaduras sexualmente; b) larvas maduras sexualmente; c) individuos metamorfoseados inmaduros sexualmente y d) individuos metamorfoseados maduros sexualmente. Donde sólo b y d son capaces de reproducirse.

El *A. mexicanum* por sus características ha sido un modelo utilizado principalmente en embriología tanto en estudios sobre regeneración de tejidos como en estudios relacionados al desarrollo embrionario ya que sus huevos permiten hacer observaciones fáciles sobre el desarrollo embrionario de la larva. También se ha utilizado para estudios sobre la determinación de características por genes específicos y una variedad de mutantes.

Otra característica del ajolote es su estacionalidad reproductiva, esta misma la presentan otras especies, sin embargo el ajolote es una alternativa de un modelo más sencillo en donde se pueden modificar y controlar con mayor facilidad las variables ambientales.

II. HORMONAS TIROIDEAS Y REGULACIÓN DEL EJE HIPOTÁLAMO HIPOFISIS TIREIDES.

Las hormonas tiroideas influyen en muchos procesos (Goodman 1981) tales como:

1. Regulación del crecimiento y desarrollo.
2. Efecto calorigénico.
3. Efecto metabólico.
4. Efecto permisivo sobre la maduración gonadal.

El papel fisiológico de las hormonas tiroideas es regular el metabolismo energético de casi todas las células lo cual se puede ejercer a tres niveles (Aceves y col. 1987):

1. Genómico: modulando síntesis de enzimas esenciales y proteínas estructurales.
2. Mitocondrial: regulando la actividad de las enzimas que participan en la fosforilación oxidativa.

3. Membranal: aumentando la actividad de la ATPasa dependiente de Na^+/K^+ .

Estas hormonas son sintetizadas, almacenadas y secretadas por la glándula tiroides, por su naturaleza química reciben el nombre de yodotironinas. La unidad funcional de la glándula tiroides se denomina folículo o acini tiroideo, el cual ha desarrollado un mecanismo muy eficiente y específico denominado bomba de yodo que permite concentrar activamente este elemento y organificarlo uniéndolo a los residuos tirosilo que se encuentran formando parte de una glucoproteína específica de la glándula llamada tiroglobulina (TgB). La yodación de la tirosina de la TgB requiere que el I^- pase a la forma molecular (I_2). Esta reacción de oxidación está catalizada por una tiroperoxidasa (TPO) y da lugar a la formación de moléculas de mono y diyodotirosinas (MIT y DIT) las cuales carecen de actividad biológica. La combinación de MIT y DIT da lugar a las yodotironinas con actividad hormonal; la triyodotironina (T_3) y la tetrayodotironina o tiroxina (T_4), así como también a pequeñas cantidades de un isómero de T_3 llamado triyodotironina reversa (rT_3) (Valverde y col. 1989) (Figura 2).

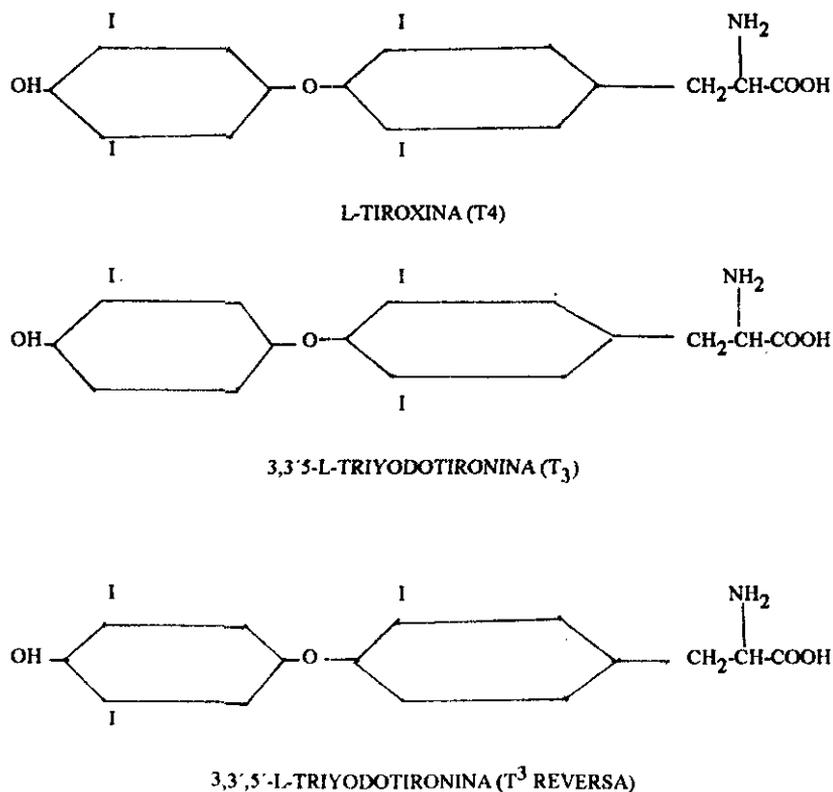


Figura 2 Estructura química de las hormonas tiroideas.

Las hormonas tiroideas son moléculas hidrofóbicas que viajan por el torrente sanguíneo unidas a proteínas de tres tipos: globulinas que unen tiroxina (TBG), prealbúmina que une tiroxina (TBPa) y albúmina (TBA). Las tres proteínas son sintetizadas a nivel hepático, la TBPa también se sintetiza en los plexos coroideos y el páncreas. Aproximadamente el 75-80% viajan unidas a albúmina. Las hormonas unidas a estas proteínas son metabólicamente inactivas y constituyen una forma de almacenamiento hormonal (Yen y Jaffe, 1978).

A nivel de los diferentes órganos en los que actúan las hormonas tiroideas existe un mecanismo específico de biotransformación que implica la monodesyodación de las yodotironinas a través de dos vías en las que participan tres enzimas. La primera vía involucra la monodesyodación del anillo fenilo o externo de la molécula de tironina y se le conoce como desyodación 5' (D-5'); por esta vía la T_4 es convertida a T_3 y la rT_3 a $3,3'-T_2$. La segunda vía denominada desyodación 5 (D-5), involucra la monodesyodación del anillo tirosilo o interno de la tironina; en esta vía la T_4 es transformada a rT_3 y la T_3 a $3,3'-T_2$. Por sus implicaciones fisiológicas se considera a la primera como la vía de activación metabólica. Entre las enzimas que actúan en estas vías encontramos las siguientes:

Desyodasa Tipo I: Desyoda tanto el anillo fenilo como el tirosilo, presenta una mayor afinidad por la rT_3 , y es inhibida por propiltiouracilo (PTU).

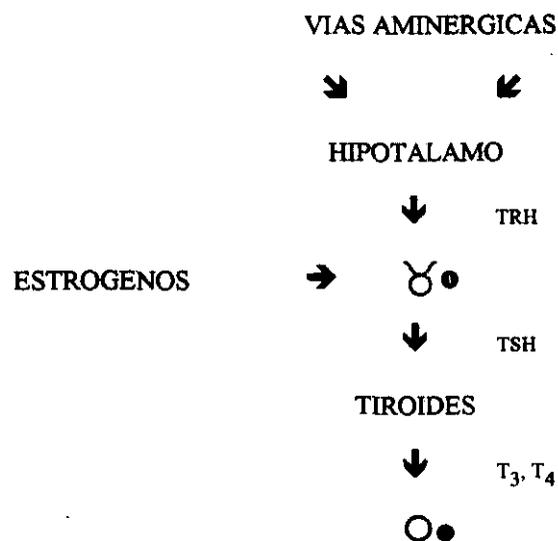
Desyodasa Tipo II: Se considera una verdadera desyodasa D-5' ya que desyoda exclusivamente el anillo externo, su sustrato preferente es la T_4 y también es inhibida por PTU.

Desyodasa Tipo III: Representa a la verdadera desyodasa D-5 ya que desyoda exclusivamente el anillo interno de la molécula. Su sustrato preferencial es la T_4 y no es inhibida por PTU (Valverde y col. 1989).

El mecanismo de acción de las hormonas tiroideas se encuentra todavía en discusión. La búsqueda y demostración de sitios de unión específicos en el núcleo de la célula surge de la hipótesis original de Tata y Widnell (1963), los cuales propusieron que las hormonas tiroideas

ejercen su efecto facilitando la transcripción de DNA, resultando en síntesis de proteínas. Dicha hipótesis está basada en las observaciones del incremento en la incorporación de precursores de ácido nucleico en RNA marcado, posterior a la administración de HT; lo anterior sustenta el concepto de que los sitios de unión nuclear son importantes en la iniciación de la acción de las hormonas tiroideas. Estas hormonas, presentan respuestas en una gran variedad de tejidos, presumiblemente por la regulación de moléculas específicas de RNA mensajero (Kurtz y col. 1976).

La función tiroidea es controlada por el hipotálamo y la hipófisis. La secreción de hormonas tiroideas es estimulada por la hormona estimulante del tiroides TSH, secretada en las células basófilas de la hipófisis anterior llamadas tiotropos, su liberación está regulada por los niveles circulantes de hormonas tiroideas (Figura 3).



● Hipófisis

● Organo Blanco.

Figura 3. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Tiroides.

La TSH es una glicoproteína (PM 28000) compuesta por dos subunidades. De hecho la subunidad alfa es idéntica a la de la LH, FSH, y HCG (Cornell y col. 1973). La subunidad beta parece ser específica para esta hormona, le confiere especificidad y está involucrada en la unión de TSH con la membrana de las células tiroideas. La unión de TSH a la membrana produce a su vez una estimulación de la adenil ciclasa e incremento en la formación de AMP cíclico (AMPc). El AMPc activa la *protein quinasa* dependiente de AMPc en tiroides, la cual cataliza la transferencia del fósforo del ATP a residuos de serina y tirosina de varias proteínas. Se ha demostrado que las proteínas fosforiladas son las responsables de los cambios que ocurren en tiroides por la estimulación de TSH (Spaulding, 1972) (Figura 4).

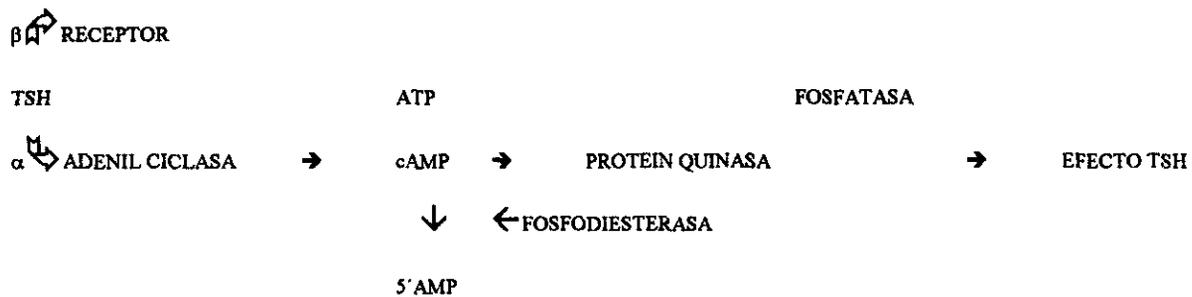


Figura 4. Mecanismo de acción de la hormona estimulante de tiroides (TSH).

La acción de TSH en la glándula tiroides es regular el transporte del yodo así como la manufactura de las hormonas tiroideas, también estimula la secreción de T_4 y T_3 . (Bennet y Whitehead 1983).

A su vez la liberación de TSH parece ser determinada por las concentraciones de la hormona liberadora de tiotropina (TRH). La TRH tiene una vida media de menos de un minuto y estimula la secreción de TSH llegando a hipófisis por el sistema portal hipofisiario, también se ha encontrado distribuida en el cerebro y aparentemente actúa como un neurotransmisor (Dyer y col. 1974).

La TRH es sintetizada en los ribosomas del cuerpo de la neurona como un polipéptido de gran tamaño, posteriormente es procesado durante su transporte a las terminales nerviosas; el sistema porta hipotalámico transporta la TRH a la hipófisis, otra ruta alternativa de transporte es la secreción de TRH en el fluido cerebro espinal del tercer ventrículo, y el transporte a través de tanocitos endimales y de vesículas portales (Bennett y Whitehead 1983).

La TRH se une con alta afinidad a los sitios receptores en la membrana celular de las células hipofisarias, su efecto es mediado por cambios en el AMPc intracelular con un requerimiento de iones calcio (Bennett y Whitehead 1983).

Diversos estudios han estado encaminados a determinar una posible acción de retroalimentación de las hormonas tiroideas. Se ha sugerido que las hormonas tiroideas actúan como un sistema de retroalimentación positiva en la síntesis de TRH junto con un sistema de retroalimentación negativa para la secreción de TSH. No se tienen suficientes evidencias sobre un asa que module la secreción de TRH por TSH. Se ha reportado la presencia de un asa corta en la glándula tiroidea, estimulando las hormonas tiroideas la secreción de TSH (Gofni y col. 1975).

Algunas otras hormonas pueden afectar la sensibilidad de la hipófisis al TRH como los estrógenos, este esteroide incrementa la respuesta a TRH al incrementar los receptores hipofisarios a ésta hormona (Bennett y Whitehead 1983).

III. REGULACIÓN ENDÓCRINA DE LA METAMORFOSIS Y LA NEOTENIA

La metamorfosis en los anuros. Etkin en 1966 propuso que las hormonas tiroideas estaban involucradas como principales promotoras de la metamorfosis en este Orden. Las hormonas tiroideas, tienen un efecto de maduración en el desarrollo del sistema nervioso e incrementan el desarrollo hipotalámico, Norris y Gern (1976) propusieron que estas hormonas estimulan la producción de TRH y la metamorfosis en general.

Los eventos neuroendócrinos que ocurren durante la metamorfosis han sido estudiados ampliamente en anuros (Gilbert, 1991), estos estudios han demostrado que la metamorfosis se puede considerar como un solo evento dividido en tres etapas: Premetamorfosis, Prometamorfosis y Climax de la metamorfosis. Se ha observado que principalmente dos hormonas se encuentran involucradas en estos eventos, Prolactina (PRL) y T_4 ; Peyrot y col. (1971) observaron que la PRL tiene un efecto inhibitorio sobre la actividad tiroidea en algunas especies de Urodelos.

Relacionando los eventos endócrinos Houillon (1978) describió también en anuros el período larvario dividido en tres fases:

1. Inicio de la prometamorfosis, los miembros posteriores se hallan en estado de muñones. Predomina la secreción de Prolactina la cual promueve el crecimiento.

2. Coincide con el desarrollo de los miembros posteriores. Se produce un incremento en la síntesis de hormonas: TRH, TSH, T_3 y T_4 , cuya secreción aún siendo efectiva no aumenta de modo apreciable.

3. La última fase abarca desde la aparición de los miembros anteriores hasta la regresión de la cola. La liberación masiva de TSH facilita la secreción de hormonas tiroideas. La máxima actividad de la glándula se alcanza al iniciarse la metamorfosis, para posteriormente regresar a un estado de equilibrio.

La relación hipófisis-tiroides es importante para poder explicar los cambios y eventos que ocurren en las larvas. Al iniciarse la premetamorfosis ya existen algunas granulaciones basófilas del lobulo anterior, lo cual permite suponer que las células tirotropas se comienzan a diferenciar precozmente; sin embargo, en este período se observa que la secreción predominante de la hipófisis es la PRL que estimula el crecimiento larvario. En la prometamorfosis, se establece la comunicación entre el hipotálamo y la hipófisis; el hipotálamo entonces, secreta Dopamina la cual inhibe la secreción de PRL y simultáneamente induce la secreción de TRH la cual estimula la liberación de la TSH que a su vez estimula la síntesis en tiroides tanto de T_4 como de T_3 . La liberación de T_3 se incrementa gradualmente

provocándose los primeros cambios de la metamorfosis. En esta etapa se considera que la T_3 ejerce una "retroalimentación positiva" induciendo que la síntesis de T_3 sea mayor hasta que se alcanza el climax de la metamorfosis; una vez alcanzado el estado adulto, se instala un sistema de retroalimentación negativa provocando que disminuyan los niveles elevados de hormonas y se llegue a un balance adecuado (Gilbert, 1991) (Figura 5).

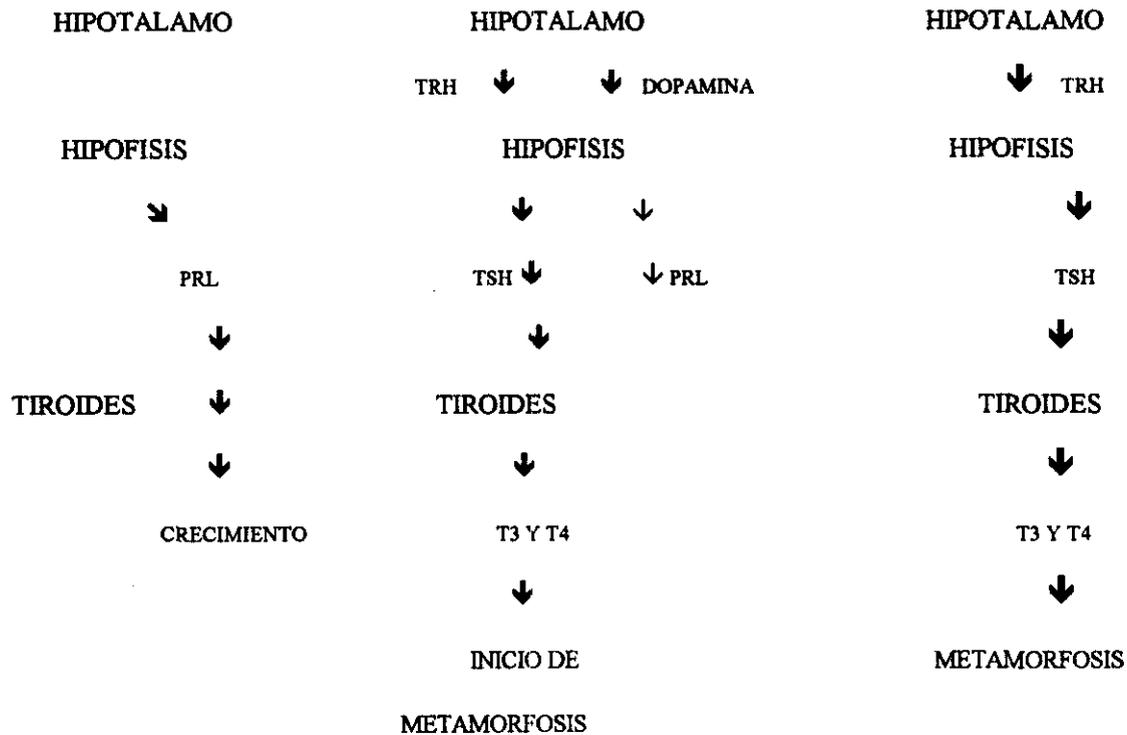
Estudios anatómicos tendientes a demostrar el control hipotalámico de la metamorfosis muestran que la comunicación hipotálamo - hipofisiaria comienza a funcionar durante la prometamorfosis tardía. En *Xenopus laevis*, los incrementos observados en la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), hormona inhibidora de la hormona de crecimiento (Somatostatina o GHRIH) y particularmente en TRH en el cerebro durante ésta etapa sugieren que estos péptidos pueden bien ser los iniciadores o estar involucrados en los cambios que se dan en la metamorfosis. Las concentraciones de TRH pueden ser responsables de que se inicie el incremento de TSH seguido de HT y que éste sea el iniciador primario de la metamorfosis. El incremento de GHRIH observado en la prometamorfosis puede contribuir a una disminución en los niveles de PRL, también puede inducir un decremento en la secreción de hormona de crecimiento en esta etapa. La GnRH aumenta posterior a la metamorfosis lo cual puede ser indicador de una función en la maduración reproductiva del cerebro y/o del sistema reproductor (King y Millar, 1981).

La metamorfosis y el caso de la neotenia en los urodelos. Las causas de la neotenia han sido muy discutidas, Blount (1950), realizó estudios con *Ambystoma mexicanum* a los cuales les transplantó hipófisis de *Ambystoma tigrinum*, y encontró que la glándula tiroides era activada después del trasplante, por lo cual propuso, que la causa de la neotenia en el *A. mexicanum* era debida a una hipofunción hipofisiaria con respecto a la secreción de tirotrópina, lo cual produce un estado de quiescencia en la glándula tiroides.

PREMETAMORFOSIS

PROMETAMORFOSIS

CLIMAX



(Gilbert, 1991)

Figura 5. Características principales de las diferentes etapas de la Metamorfosis en Anuros.

Se ha especulado mucho sobre las causas que provocan la neotenia en el *Ambystoma mexicanum*, Rolic (1927) propuso que hay una falla para producir hormonas tiroideas que induzcan la metamorfosis y realiza estudios en los que transplanta tiroides de otras especies obteniendo como resultado la inducción de metamorfosis.

Posteriormente, Gorbman (1964) realizó estudios en los cuales trató ajolotes en etapas tempranas del desarrollo con hormonas tiroideas presentándose la metamorfosis en estos organismos, y aunque esos resultados no lo mostraban, concluyó que la condición neoténica podía ser debida a una falla para producir suficiente hormona tiroidea o a una insensibilidad en el proceso de producción de las hormonas tiroideas.

Bern y col. (1967) analizaron el control endócrino de la metamorfosis entre el *A. mexicanum* y el *A. tigrinum*. Las larvas del primero, que presentan neotenia, fueron tratadas con tirotropina, y las del segundo que presentan metamorfosis espontánea, fueron tratadas con PRL. En las larvas de *A. mexicanum* se observaron cambios que condujeron a la metamorfosis completa y en las de *A. tigrinum* se observó un retroceso en los procesos de metamorfosis con lo que concluyeron que el estado de neotenia era debido a una inhabilidad para liberar suficiente tirotropina que activara la función tiroidea y postularon que la PRL probablemente juegue algún papel en el mantenimiento del estado larvario.

Tauroug y col. (1975) al realizar estudios sobre la neotenia encontraron que la baja secreción de TSH no es debida a un defecto en la síntesis de TRH ya que esta se ha identificado tanto en tejido hipotalámico como en tejido cerebral extrahipotalámico. Por esta razón propusieron que es posible que la neotenia sea debida a una insensibilidad de la hipófisis a TRH, ya que la administración de TRH exógena falla tanto en estimular la metamorfosis *in vivo*, como en la liberación de TSH por la hipófisis en estudios *in vitro*.

Prahlad y col. (1975) al tratar ajolotes con hormonas tiroideas y observar que se lleva a cabo la metamorfosis, propusieron al igual que en los estudios anteriores que la neotenia en el *A. mexicanum* es debida a la falta de liberación de TSH activa que estimule la glándula tiroides.

Norris y col. (1973), propusieron que la falla en el *A. mexicanum* para metamorfosearse es debida a una incapacidad para liberar suficiente tirotropina que active la función tiroidea, así mismo proponen que el alcanzar la madurez sexual temprana provoca en el animal la incapacidad de presentar metamorfosis por bloquear la diferenciación hipotalámica para la secreción de TRH o la acción periférica de las hormonas tiroideas y por una posible interacción de gonadotropinas y/o esteroides gonadales con tirotropinas y/o hormonas tiroideas.

Sin embargo, en estudios realizados por Darras y Kühn (1983) en los que administraron TSH exógena observaron que ésta falló en inducir un incremento en las

concentraciones plasmáticas de T_4 en los ajolotes neoténicos; por lo cual podemos concluir que la hipótesis de una incapacidad secretora de estructuras superiores a la tiroides no esta completamente justificada.

Por otra parte, si habláramos de una metamorfosis anatómica y una bioquímica se podría decir que la neotenia del ajolote sólo se presenta en los cambios anatómicos, pero no en los bioquímicos que se dan en la metamorfosis de los demás anfibios. Los cambios bioquímicos incluyen modificaciones en la hemoglobina y en la composición de las proteínas plasmáticas (Ducibella, 1974) e incremento en la actividad de la sintetasa de carbamil fosfato (CPS) en el hígado (Lamers y col. 1978). Para explicar estos cambios, Ducibella (1974) sugirió que la metamorfosis bioquímica requiere de niveles mucho más bajos de hormonas tiroideas de los que se necesitan para efectuar la metamorfosis anatómica.

La neotenia anatómica en el ajolote puede ser atribuída a los bajos niveles circulantes de T_4 , aunque éste puede no ser el único factor involucrado. En la mayoría de los anfibios la metamorfosis es precedida y acompañada por marcados cambios a nivel tanto de receptores a hormonas tiroideas, como de las deydodasas que metabolizan T_4 y T_3 , incrementándose así la sensibilidad de los tejidos a los niveles circulantes de hormonas tiroideas (Galton, 1989).

En estudios realizados en el *A. mexicanum* Galton (1992), encontró que los valores de T_4 y T_3 son indetectables en el plasma de animales juveniles y que la T_4 es apenas detectable en algunos adultos. Así mismo encontró que la actividad de 5-desydodasa no es medible en ningún tejido, apoyando así el concepto de que la principal causa de la neotenia anatómica en el ajolote es debida a una inadecuada concentración de T_4 plasmática.

IV. CARACTERÍSTICAS REPRODUCTIVAS DE LOS ANFIBIOS

Los anfibios en su mayoría se reproducen en el agua ya que los huevos requieren de ésta para desarrollarse. Los sexos se encuentran separados y la fertilización es externa.

Machos.

En el macho los testículos varían de forma en relación con la del cuerpo. En urodelos son alargados e irregulares (Paniagua y Nistal, 1983; Leake, 1975).

El testículo de urodelos consiste en estructuras denominadas lóbulos que muestran una distribución zonal de los quistes germinales. El testículo se encuentra segmentado, cada uno consta de un número variable de lóbulos unidos en una cadena lineal por puentes estrechos de tejido. Cada lóbulo es una organización estructural completa con zonas de quistes germinales que muestran un eje cefalocaudal que se incrementa con la madurez. Después de descargar el contenido seminal los quistes germinales evacuados y los lóbulos comienzan a comprimirse en distintos nódulos de tejido que frecuentemente es conocido como tejido glandular (Lofts, 1987).

Lazard (1979), describió en el *Ambystoma mexicanum* las características histológicas generales del testículo para animales jóvenes y adultos. En animales jóvenes, sexualmente maduros, identificó 5 zonas: una zona donde básicamente se localizan espermatogonias, una zona de meiosis, una zona de espermátides y una de espermatozoides, por último describió una zona glandular compuesta esencialmente por células intersticiales y células de Sertoli. En los testículos de animales adultos la estructura esquemática primaria parece complicada debido a la coexistencia de diversos gradientes de maduración independientes.

Características generales de la espermatogénesis. La espermatogénesis en anfibios es quística, en cada lóbulo las espermatogonias primarias están rodeadas por una o más células foliculares. Los lóbulos de espermatogonias primarias están restringidos a la región cefálica o meso ventral (ampulogénica) de la zona testicular.

La recrudescencia estacional de la actividad mitótica en estas células repobla los elementos seminíferos con quistes germinales. Cada división repetida produce un grupo de células hijas con núcleo redondo similares en tamaño y apariencia a todas las que están en idéntico estado de desarrollo. Dentro de este grupo de espermatogonias secundarias cada célula está interconectada por medio de puentes citoplásmicos los cuales permanecen a través

de subsecuentes divisiones meióticas. Dado que las células se desarrollan sincrónicamente en el mismo quiste se ha sugerido que estos puentes intracelulares ayudan a mantener la sincronía dentro de los quistes individuales. En esta vía los quistes de espermatogonias enteros inician la profase meiótica, se transforman en un quiste de espermatocitos primarios, con la subsecuente división sincrónica de estas células, el quiste se transforma posteriormente en un quiste de espermatocitos secundarios y posteriormente en quistes de espermatídes. La ruptura se da posteriormente para liberar espermatozoides. En los quistes postmeióticos que contienen numerosas espermatídes las células foliculares cambian a células aplanadas y toman la apariencia y ultraestructura característica de células de Sertoli. Estas células diferenciadas no se encuentran presentes en los quistes en estado de desarrollo anteriores a la formación de espermatídes (Lofts, 1987).

Una vez concluida la espermatogénesis, los espermatozoides se liberan aglutinados en una secreción glandular proveniente de la cloaca, formándose un espermatóforo.

Hembras

La hembra se caracteriza por tener ovarios grandes de forma irregular y carecer prácticamente de estroma. Se observa una cavidad revestida por un epitelio delgado que contiene células en desarrollo. Cada ovocito en desarrollo está rodeado por células foliculares que secretan hormonas esteroideas.

Los gametos formados por la ovogénesis contienen todos los factores necesarios para la iniciación y mantenimiento del metabolismo y desarrollo. Además de formar núcleos haploides, la ovogénesis también es responsable de almacenar enzimas citoplásmicas, RNAm, organelos y sustratos metabólicos (Gilbert, 1991). Dentro de este proceso el ovocito primario progresa en la primera profase meiótica hasta la etapa de diploteno donde se detiene la ovogénesis. Cuando se reestablece la ovogénesis y los ovocitos primarios se dividen, la membrana nuclear del ovocito que limita la llamada vesícula germinal, se rompe. En la telofase una de las células hijas contiene mayor cantidad de citoplasma que la otra. La célula pequeña

es llamada primer cuerpo polar y la célula mayor ovocito secundario. Durante la segunda división meiótica la mayoría del citoplasma es retenido en el huevo maduro denominado óvulo.

Dumont (1972) reconoció seis estadios de desarrollo durante la ovogénesis de *Xenopus laevis*. Los dos primeros estadios se denominan previtelogénicos, se caracterizan por presentar una capa delgada de células foliculares. En el estadio tres aparecen tanto pigmento como gránulos corticales comenzando al mismo tiempo la aparición de esferas de vitelo, este proceso continua hasta el estadio cinco incrementándose la cantidad de vitelo. El último estadio se caracteriza por la terminación del crecimiento de los ovocitos teniendo ya aproximadamente cuatriplicado su tamaño.

Durante el proceso de ovogénesis en anfibios el epitelio folicular permanece como una monocapa, se observa una interdigitación entre las células de la granulosa y microvellosidades de los ovocitos lo cual es indicativo del paso de material de las células de la granulosa al ovocito. Las células de la teca consisten en una capa fina de fibroblastos, esta capa está involucrada en la transferencia de nutrientes (Chieffi and Pierantoni, 1987).

Control endócrino de la foliculogénesis. En los anfibios se presentan dos tipos de gonadotropinas, la hormona luteinizante (LH) y la hormona foliculo estimulante (FSH), ambas reguladas por una hormona liberadora de gonadotropinas. Tanto la LH como la FSH inducen la síntesis de esteroides ováricos. En cultivos *in vitro* de ovarios de rana tratados con LH se obtienen como productos principales progesterona y testosterona, aproximadamente a las 24 horas de iniciado el tratamiento se observa una disminución en la producción de progesterona y aumento en la producción de estradiol (Mohanty y col. 1978). Mulner y col. (1978) proponen que los folículos preovulatorios producen preferencialmente progesterona. La ovulación en anfibios se sugiere que es inducida principalmente por andrógenos y/o progesterona los cuales pueden inducir el pico preovulatorio de gonadotropinas. Los niveles elevados de estradiol se han encontrado relacionados con la etapa de vitelogénesis (Chieffi y Pierantoni, 1987).

Vitelogénesis. El óvulo de los anfibios acumula en el citoplasma el material necesario para iniciar y mantener el desarrollo. Este material incluye fuentes de energía, organelos, vitelo, enzimas y precursores para la síntesis de DNA, RNA y proteínas, proteínas estructurales y determinantes morfogénicos. La mayoría de esta acumulación se lleva a cabo en la Profase I y los estadios se dividen en previtelogénesis y vitelogénesis. La vitelogénesis ocurre cuando el ovocito alcanza el estado de diploteno de la primera profase meiótica (Gilbert, 1991).

En muchos vertebrados la síntesis de vitelo no se efectúa *in situ*, deriva de un precursor que es una proteína conocida como vitelogenina la cual se sintetiza en el hígado del animal. La síntesis de esta proteína involucra una secuencia de eventos conocidos colectivamente como vitelogénesis que incluye en forma general los siguientes pasos:

1. Inducción de la síntesis de vitelogenina en el hígado y subsecuente liberación a la circulación sanguínea.
2. Transporte de vitelogenina por el torrente circulatorio.
3. Captura de vitelogenina-determinado por el crecimiento del oocito.
4. Conversión de vitelogenina a las formas de almacenamiento (Ho, 1987).

Los ovocitos postvitelogénicos muestran gran cantidad de vitelo (Paniagua y Nistal, 1983; Leake, 1975). La síntesis de éste se da bajo el estímulo de hormonas sexuales femeninas, principalmente estrógenos los cuales actúan a nivel hepático estimulando la expresión de genes específicos en los hepatocitos produciendo RNAm y posteriormente traduciendo en polipéptidos de vitelogenina de aproximadamente 200,000 daltones (Ho, 1987). La vitelogenina pasa al torrente sanguíneo y es captada por el ovocito mediante pinocitosis. En el ovocito maduro, la vitelogenina está constituida por dos proteínas: una fosforilada de gran peso molecular (120 000) llamada fosfovítina, y una lipoproteína llamada lipovítelina cuyo peso molecular es de 31 000, éstas dos proteínas se acumulan finalmente en forma cristalina como plaquetas vitelinas (Brachet, J. 1975; Ham, 1980, Gilbert, 1991). En el

ovocito maduro la acumulación de vitelogenina en la superficie varia situándose preferencialmente en el polo vegetal (Danilchik and Gerhart, 1987).

La inducción de la síntesis de vitelogenina es específica de los estrógenos siendo el 17β estradiol el más potente seguido de estrona y estriol. Los estrógenos estimulan la expresión de genes específicos en los hepatocitos produciendo RNAm y posteriormente traducándose en polipéptidos de vitelogenina. Además del estradiol se ha visto que la tiroxina junto con el estradiol estimulan la síntesis de vitelogenina (Ho, 1982).

Una vez concluido el proceso de ovogénesis, los ovocitos maduros pasan a los oviductos; que en los urodelos son largos, contorneados y alados. La mucosa presente en los oviductos tiene glándulas tubulares secretoras de material gelatinoso que rodea al huevo. Cada oviducto se ensancha en un ovisaco que termina en una vagina corta, independiente para cada oviducto los cuales se abren en la cloaca. Los urodelos carecen de órgano copulador, en la mayoría de los casos el espermátforo es buscado por la hembra la cual, mediante movimientos de la cloaca los introduce en la espermateca donde son fecundados los óvulos, en el caso del ajolote la fecundación es externa (Paniagua y Nistal, 1983; Leake, 1975).

V. HORMONAS TIROIDEAS Y REPRODUCCIÓN

Como se ha podido observar las hormonas tiroideas se encuentran involucradas en diversos procesos. Para este trabajo es de particular interés la relación que pueden tener estas hormonas con la actividad reproductiva. Los estudios sobre esta relación se han realizado principalmente en ratas y en el humano.

Las evidencias de que las hormonas tiroideas están involucradas en la reproducción de mamíferos deriva de 3 tipos de estudio:

1. Hallazgos de disfunción sexual en pacientes que sufren disturbios en la economía tiroidea.
2. Estudios de alteraciones en el metabolismo de esteroides gonadales en respuesta al incremento o decremento de hormonas tiroideas.

3. Estudios de alteraciones en la economía tiroidea en respuesta a incrementar o disminuir el nivel de hormonas esteroides gonadales (Leatherland, 1987).

Machos

La relación de las hormonas tiroideas y la función reproductiva no ha sido tan estudiada en el macho como en la hembra.

En algunos estudios realizados sobre la secreción de gonadotropinas en ratas machos de 200-250 g tiro y paratiroidectomizados los cuales a su vez se dividieron en animales intactos y castrados Bruni y col (1975) encontraron disminuidas las secreciones tanto de LH como de FSH en las ratas intactas y un incremento de ambas gonadotropinas en las ratas castradas, la administración de T_4 en ambos casos regreso los niveles de gonadotropinas a los valores normales.

En ratas machos a los que se les indujo la condición de hipotiroidismo con I^{131} se observó que la fertilidad no se modificaba, sin embargo el peso de los organos sexuales accesorios sí se vió disminuido (Vilchez-Martinez, 1973).

Valle y col (1986), observaron que el desarrollo normal del sistema reproductor en ratas hipotiroideas es afectado significativamente observándose disminución en el peso de los órganos sexuales accesorios por la falta de actividad tiroidea. Kalland (1978) en estudios realizados con animales a los cuales les indujo la condición hipotiroidea con I^{131} o propiltiuracilo no encontró cambios en los niveles de gonadotropinas pero sí, en la respuesta que tienen las glándulas sexuales accesorias de los machos para responder a la testosterona, lo cual se manifestó en una disminución del peso de estas glándulas. Hasta aquí parece que los efectos encontrados sólo son responsabilidad del efecto sinérgico que las hormonas tiroideas tienen con las hormonas sexuales sobre los órganos blanco de estas últimas.

En un estudio realizado para investigar la ontogenia de los receptores nucleares de T_3 en diferentes tipos celulares del testículo de fetos de rata de 19 días de gestación y de 1, 5, 15, 20 y 60 días postnacimiento, Jannini y col. (1990) encontraron que los sitios de más alta afinidad se encuentran en las células de Sertoli y que no se modifica significativamente con la

edad. En el testículo completo la concentración de receptores cambia durante el desarrollo encontrándose su máximo en el feto y en ratas de 1 y 5 días postnacimiento decreciendo posteriormente hasta estar ausentes en el adulto. Estos resultados sugieren un papel importante de las hormonas tiroideas en la regulación del crecimiento y maduración de células somáticas en el epitelio seminífero.

Sanborn (1986), después de realizar cultivos de células de Sertoli, de animales que fueron previamente hipofisectomizados y tratados con propionato de testosterona y FSH, propuso que las HT ejercen cierta influencia sobre la función de las células de Sertoli ya que en estos animales hipofisectomizados se presenta un decremento en la actividad de la enzima gama glutamil transpeptidasa y de la síntesis de proteína transportadora de andrógenos (ABP), las cuales se recuperan con tratamientos de hormonas tiroideas.

Se ha encontrado que las hormonas tiroideas tienen como órgano blanco a nivel testicular las células de Sertoli, las cuales juegan un papel fundamental en la iniciación, mantenimiento y control de la espermatogénesis, siendo la maduración de estas células dependiente de hormonas tiroideas. Palmero y col. (1988), observaron la existencia de receptores a T_3 al núcleo de células de Sertoli, con una $K_a = 0.15 \pm 0.02 * 10^{10}$ M y una capacidad de unión de 1.35 ± 0.07 pmol de T_3 / mg de DNA. Mas tarde este mismo grupo (Palmero y col., 1989), realizó estudios en dos tipos de ratas: las primeras, hipotiroideas mediante metimazol 0.1% en el agua de bebida, éstas fueron posteriormente tratadas con 100 μ g de T_3 /kg de peso corporal en días alternados. Las segundas, ratas eutiroideas tratadas con metimazol, y encontraron que las HT son necesarias para la maduración postnatal de la función de las células de Sertoli, al observar en los animales hipotiroideos un severo retardo en el crecimiento corporal y testicular así como una disminución en la actividad de gama glutamil transpeptidasa y en la producción tanto de la proteína que une andrógenos (ABP) como de lactato producidos por células de Sertoli, con base en ésto sugirió un papel regulatorio de las hormonas tiroideas en el desarrollo de la gametogénesis en los animales prepúberes.

Posteriormente Palmero y col. (1992) encontraron que la T_3 induce un incremento en la función de las células de Sertoli durante su maduración valorada a través de la síntesis de proteínas y producción de lactato; en otro momento poco antes de la pubertad, induce un decremento en la síntesis de DNA y actividad de aromatasa, sugiriendo un importante papel de las HT en promover y mantener la diferenciación de las células de Sertoli. La respuesta a la T_3 parece además ser edad-dependiente y se relaciona con la ontogenia de los receptores nucleares a T_3 en el testículo.

Ando y col (1990) indujeron hipotiroidismo en ratas machos mediante tratamiento durante cuatro semanas con Metimazol (1% en el agua de bebida) o tiroidectomía. El hipotiroidismo produjo un decremento de la producción *in vitro* de testosterona y sus precursores. Sin embargo la administración de 100 μg de T_3 / kg de peso corporal sólo restauró parcialmente la producción de testosterona.

En el hombre, Corrales-Hernández y col. (1990) estudiaron la espermatogénesis en 10 pacientes a los cuales se les había diagnosticado hipotiroidismo primario, los resultados obtenidos fueron comparados con 16 pacientes normales. Los pacientes hipotiroideos se caracterizaron por tener un menor volumen seminal, disminución en la movilidad progresiva y en el porcentaje de formas móviles; sin embargo no presentaron anomalías en la concentración de espermatozoides o en el porcentaje de espermatozoides con una morfología normal, así como tampoco alteraciones en los niveles de gonadotropinas o testosterona circulante.

En algunas especies en las cuales la fertilidad se ve disminuida en las estaciones donde las temperaturas se encuentran elevadas, Marcato (1990) propuso que esto puede ser debido en parte por la temperatura elevada lo cual produce una reducida actividad tiroidea.

Hembras

En el caso de las hembras se han realizado estudios de la relación de las HT y la reproducción en diferentes especies, los primeros estudios que se realizaron al respecto fueron encaminados a tratar de explicar algunas alteraciones o desórdenes reproductivos en la mujer, posteriormente se han realizados estudios en roedores, ovejas y perros entre otros, buscando

la relación de estas hormonas en diferentes estados reproductivos como el ciclo estral, la gestación y la lactancia.

En estudios realizados en ratas hembras tratadas con metimazol, se ha visto que el hipotiroidismo provoca la desaparición de la ovulación (Hagino, 1971; Pepler y col. 1975). Se ha visto también que existe una relación entre las HT y las hormonas sexuales principalmente con los estrógenos. Franklin y col. (1987), en estudios realizados con ratas hembras a las que les indujeron hipotiroidismo con propiltiuracilo y I^{131} , encontraron que los estrógenos modulan el efecto supresivo de la T_3 sobre la síntesis de TSH, lo cual fue determinado al realizar un análisis de la unión de T_3 sobre sus receptores nucleares de adenohipófisis encontrándose cambios en el número de receptores y en la unión de la hormona con el receptor.

Zaninovich y col. (1979), en ratas ovariectomizadas a las que administraron diferentes dosis de estradiol, demostraron que los estrógenos inducen incremento de los niveles plasmáticos tanto de T_4 como de T_3 y propusieron que las hormonas tiroideas afectan diversos aspectos de la fisiología reproductiva. Sin embargo, en este estudio no se consideró el incremento que producen los estrógenos en la síntesis de la proteína transportadora de HT y el consecuente incremento por esa razón de las hormonas en sangre.

En reciprocidad, los receptores a estrógenos también son dependientes de hormonas tiroideas. Altschuler y col. (1988), al determinar la respuesta de los receptores a estrógenos hipotalámicos e hipofisarios en ratas en las cuales se indujo hipotiroidismo con I^{131} , encontraron que en estos animales los receptores estrogénicos hipotalámicos (núcleo y citosol) e hipofisarios sufren un pronunciado decremento el cual puede revertirse al suministrar T_4 .

Maurer (1982) demostró que las HT además pueden actuar directamente en las células de la hipófisis inhibiendo la síntesis de PRL, aún cuando se estimule con estrógenos. Por otra parte, Pan y Che y col. (1990) en estudios realizados en ratas con hipotiroidismo e hiperprolactinemia concluyeron que las HT son la llave para la regulación de la secreción de

TSH en el tirocito, y tanto los estrógenos como las HT son necesarias para la secreción de PRL en el lactocito.

La propia tiroides esta sujeta a variaciones funcionales moduladas por la actividad reproductiva. En estudios realizados en ovejas y perros, Chmielewski y col. (1988) por medio de observaciones morfológicas demostraron que la glándula tiroides esta inervada tanto por nervios adrenérgicos como por colinérgicos, así mismo observaron variaciones en la inervación colinérgica de la glándula las cuales se encuentran relacionadas con la edad del animal, y con el estado fisiológico de la hembra ya sea en relación al ciclo estral, la gestación o la lactancia. Los mismos autores, observaron una alta actividad de la inervación colinérgica de la glándula antes del parto y durante la lactogénesis y lactopoyesis.

En el caso del humano la función tiroidea normal ha sido considerada como necesaria para la fertilidad y el mantenimiento de la gestación. Greeman y col. (1962) en seguimientos realizados en mujeres que presentaban hipotiroidismo durante la gestación encontraron abortos espontáneos, abortos silenciosos o defectos congénitos en su descendencia; además también encontraron que sus hijas presentaban en ocasiones un retardo en el desarrollo (Yen y Jaffe, 1978).

Por otro lado el exceso de hormonas tiroideas resulta en una serie de anormalidades en varios aspectos de la fisiología reproductiva. En la mujer el hipertiroidismo suele estar asociado con oligomenorrea, amenorrea y en algunos casos reducción de la fertilidad; los niveles plasmáticos de estrógenos pueden encontrarse dos o tres veces más altos que en la mujer normal durante todas las fases del ciclo menstrual, además de presentarse un incremento en la proteína que une hormonas sexuales (Ruder y col, 1971; Akande y col 1972; Tulchinsky y col. 1973).

La poliquistosis ovárica es un síndrome relacionado con una heterogeneidad de desórdenes, donde se ha visto que el sistema tubero infundibular dopaminérgico (TIDA) se encuentra involucrado. La dopamina en condiciones normales inhibe la secreción tanto de prolactina (PRL) como de TSH. La reducción del sistema TIDA se manifiesta en elevados

niveles de TSH en pacientes con este síndrome debido a la acción moduladora que tiene la dopamina sobre TSH a nivel hipotalámico así como a la acción directa en las células tirotrópicas de la hipófisis (Velardo y col. 1991).

En pacientes con hipertiroidismo se ha visto alterado el patrón de excreción de metabolitos de estrógenos encontrándose disminuidos los hidroxiestrógenos urinarios. Específicamente se ha visto que esta condición afecta la hidroxilación del estradiol en los primeros sitios de oxidación C2 y C16 α elevando significativamente la oxidación en C2. También se encuentran reducidos los niveles de colesterol y lipoproteínas de baja densidad (Michnoviz y Galbraith, 1990).

En estudios realizados por Schoutens y col (1991) en mujeres pre y postmenopausicas se ha visto que los niveles normales de T₃ se correlacionan en la premenopausia tardía y en los tres primeros años de la menopausia con un buen recambio metabólico, la reducción de los niveles de T₃ está asociada con una reducción en el recambio metabólico. La baja en los niveles de T₃ se explica por medio de variaciones en los niveles de estrógenos los cuales ejercen un efecto inhibitorio en la 5'-deiodinación de T₄ y/o en la liberación de T₄ por la tiroides (Harris y col. 1979); se ha visto que la actividad estrogénica es responsable tanto de los cambios en T₃ como de los cambios metabólicos.

El caso de los anfibios

La evidencia de que las hormonas tiroideas están involucradas directamente en el desarrollo gonadal de los anfibios se limita a los trabajos en los que se muestra que la tiroidectomía química y/o quirúrgica prevé la ovulación en *Rana cyanophlyctia*, la administración de T₄ permite la ovulación *in vivo* pero no *in vitro* sugiriendo que las hormonas tiroideas interactúan con otro factor, probablemente gonadotropinas. Por otro lado T₄ parece alterar la sensibilidad de los oocitos de *Ambystoma tigrinum* a otras hormonas, se ha visto que la prolactina incrementa la LH o los cambios ováricos inducidos por progesterona (formación de cuerpo polar y ovulación) en preparaciones *in vitro*, cuando se administra T₄ a salamandras

antes de remover los oocitos para ser incubados *in vitro*, el efecto de la prolactina es eliminado, esto sugiere que T_4 reduce la sensibilidad del oocito a prolactina. Existen pocas evidencias que indiquen una correlación entre cambios tiroideos y función gonadal en urodelos a excepción de *A. tigrinum* en el cual los niveles mínimos de T_4 plasmáticos se correlacionan con el pico del índice gonadosomático tanto en hembras como en machos, este pico está asociado con altos niveles de esteroides gonadales. En relación a la vitelogénesis se sabe que las hormonas tiroideas son necesarias para actuar como cohormonas en la síntesis de vitelogenina en el hígado de *Xenopus laevis* (Leatherland, 1987).

De la revisión anterior podemos concluir que las hormonas tiroideas ejercen un efecto permisivo en la actividad reproductiva de los mamíferos, mucho más evidente en las hembras que en los machos. Sin embargo el número de trabajos al respecto en los anfibios es reducido y contradictorio para llegar a conclusiones valederas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la mayoría de las explicaciones que se dan en torno a la condición de neotenia del *Ambystoma mexicanum* se propone como una alternativa reproductiva frente a una deficiencia de Hormonas Tiroideas, ya sea por insuficiencia en cualquiera de los niveles del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides o por falta de yodo; elemento indispensable en la estructura de estas hormonas. Sin embargo y por otra parte, esta bien documentada la acción permisiva de las hormonas tiroideas en la actividad reproductiva, por lo que es nuestro interés determinar si la capacidad que tiene esta especie de alcanzar la madurez sexual en estado larvario se logra efectivamente en ausencia de hormonas tiroideas. Para lograr ésto, utilizaremos, el Propiltuiracilo (PTU), el cual inhibe la tiroperoxidasa evitando la oxidación I^- a I_2 y con ello la yodación de los residuos tirosilo, bloqueando la síntesis de HT. Otro efecto del PTU, es que inhibe la desiodinación periférica de T_4 a T_3 (Green, 1986), asegurándose de esta manera que los animales carezcan de HT.

HIPÓTESIS

La maduración gonadal en el ajolote es dependiente de las hormonas tiroideas, por lo tanto el bloqueo de la síntesis y activación de estas hormonas provocará modificaciones en la madurez gonadal del *A. mexicanum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES Y TRATAMIENTO

Se utilizaron 24 larvas de ajolote *A. mexicanum* de 20 días de edad nacidas en la colonia de la UAM-Iztapalapa las cuales se dividieron en 4 grupos de 6 individuos cada uno.

Los animales se mantuvieron inmersos en soluciones con diferentes concentraciones de PTU durante todo el tiempo que duró el experimento. Las soluciones se cambiaron semanalmente y los animales fueron alimentados con Tubifex cada tercer día y pesados semanalmente. Las concentraciones de las soluciones de PTU se indican abajo.

Grupo Control	0 mg de PTU / l de agua	GC
Grupo	5 mg de PTU / l de agua	G5
Grupo	10 mg de PTU / l de agua	G10
Grupo	20 mg de PTU / l de agua	G20

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Los animales se sacrificaron al llegar la estación reproductiva (333 días de edad). Previo al sacrificio se tomó el peso corporal (PC) y posteriormente los pesos del hígado (PH), de los conductos sexuales (Peso de Conductos Espermáticos, PCE; Peso de los Ovidictos, POv) y de las gonadas de cada animal. Una vez obtenidos estos parámetros se calculó el índice hepatosomático IHS (peso del hígado sobre peso corporal), índice testículo somático ITS (peso testicular sobre peso corporal) así como el índice ovarico somático IOS (peso ovarico sobre peso corporal).

Cada grupo fue dividido en subgrupos dependiendo del sexo de los animales :

Número de individuos por grupo

	Machos	Hembras
GC	4	3
G5	3	3
G10	3	3
G20	1	4

Una gonada de cada animal se fijó en Bouin para la realización de estudios histológicos utilizando las tinciones de Eosina-Hematoxilina y la Tricrómica de Masson.

Valoración histológica. Los pasos a seguir para la valoración histológica fueron los siguientes:

Una vez fijadas las gonadas en Bouin, se lavaron con alcohol de 70° hasta que quedaron limpias de excedentes de fijador. Posteriormente se procedió a incluir las muestras en parafina mediante los siguientes pasos.

- a. Deshidratación por medio de alcoholes.
- b. Aclaramiento de tejidos.
- c. Impregnación en parafina.
- d. Inclusión definitiva.

Una vez obtenidos los bloques se hicieron cortes finos de 5 micras y se tiñeron por las dos técnicas anteriormente mencionadas, con lo que se observa lo siguiente:

Técnica de Eosina Hematoxilina.

Estructura	Coloración
Núcleo	Azul
Citoplasma	Rojo o rosa pasando por anaranjado.

Técnica Tricrómica de Masson.

Estructura	Coloración
Núcleo	Negro
Fibras intercelulares	Rojo
Colágena y mucus	Azul
Citoplasma	Rosa.

Posteriormente se observaron al microscopio para identificar las diferentes fases de la ovogénesis y de la espermatogénesis (Gomez Rios, 1989).

Además de la descripción histológica general se determinó en los machos el número de células por lóbulo de espermatogonias, y espermatocitos, se contabilizaron ocho lóbulos por individuo (Vease la Figura 8).

Con base en estudios realizados en ratas hipotiroideas en las cuales se observaron modificaciones en el diámetro de los túbulos, del número de células dentro de los túbulos así como en el desarrollo de las células de Sertoli (Francavilla et al 1990) se decidió medir los siguientes parametros micrométricos:

En el caso de los machos se determinó el área de los lóbulos (lóbulos de espermátidas, espermatogonias, espermatocitos y espermatozoides) midiendose 6 lóbulos de cada tipo así como el diámetro mayor y número de los quistes dentro de los lóbulos anteriormente medidos; y los diámetros (mayor y menor) de las células de Sertoli. En la Figura, 8 se señalan en forma esquemática los parámetros arriba mencionados.

En el caso de las hembras, para determinar las características principales se hizo un análisis de cortes alternos en los ovarios del grupo control, con base en esto se estableció la clasificación de los ovocitos en previtelogénicos y vitelogénicos. Se contaron 100 ovocitos de cada animal y se clasificaron de acuerdo a las características establecidas anteriormente, en los ovocitos vitelogénicos se consideró además la cantidad de vitelo presente.

En un corte de cada animal (procurando que fuera a la mitad del ovario) se cuantificó el número total de ovocitos. En cuanto al epitelio folicular se midió la densidad de éste en ovocitos tanto previtelogénicos como vitelogénicos. Los parámetros analizados en las hembras se presentan en la Figura 9.

Análisis estadístico. Los resultados fueron analizados por medio de un análisis de varianza y en caso de encontrar diferencias significativas se utilizó la prueba de Duncan para determinar la diferencia mínima significativa (Daniel, 1985).

En el caso de las mediciones micrométricas y número de células por lóbulo se realizó primero un análisis por grupo para determinar las variaciones intergrupo y posteriormente se determinaron las variaciones entre tratamientos.

Se realizaron análisis de correlación lineal simple y múltiple entre el área de los lóbulos con el diámetro de los quistes, el diámetro de los lóbulos y el número de quistes por lóbulo así como el área de los lóbulos con el diámetro de los quistes por lóbulo.

En el caso de las hembras además de los análisis de varianza se realizaron análisis de correlación entre los tratamientos, peso de gonadas, peso corporal y número de ovocitos.

PARAMETROS MORFOMETRICOS EN TESTICULOS

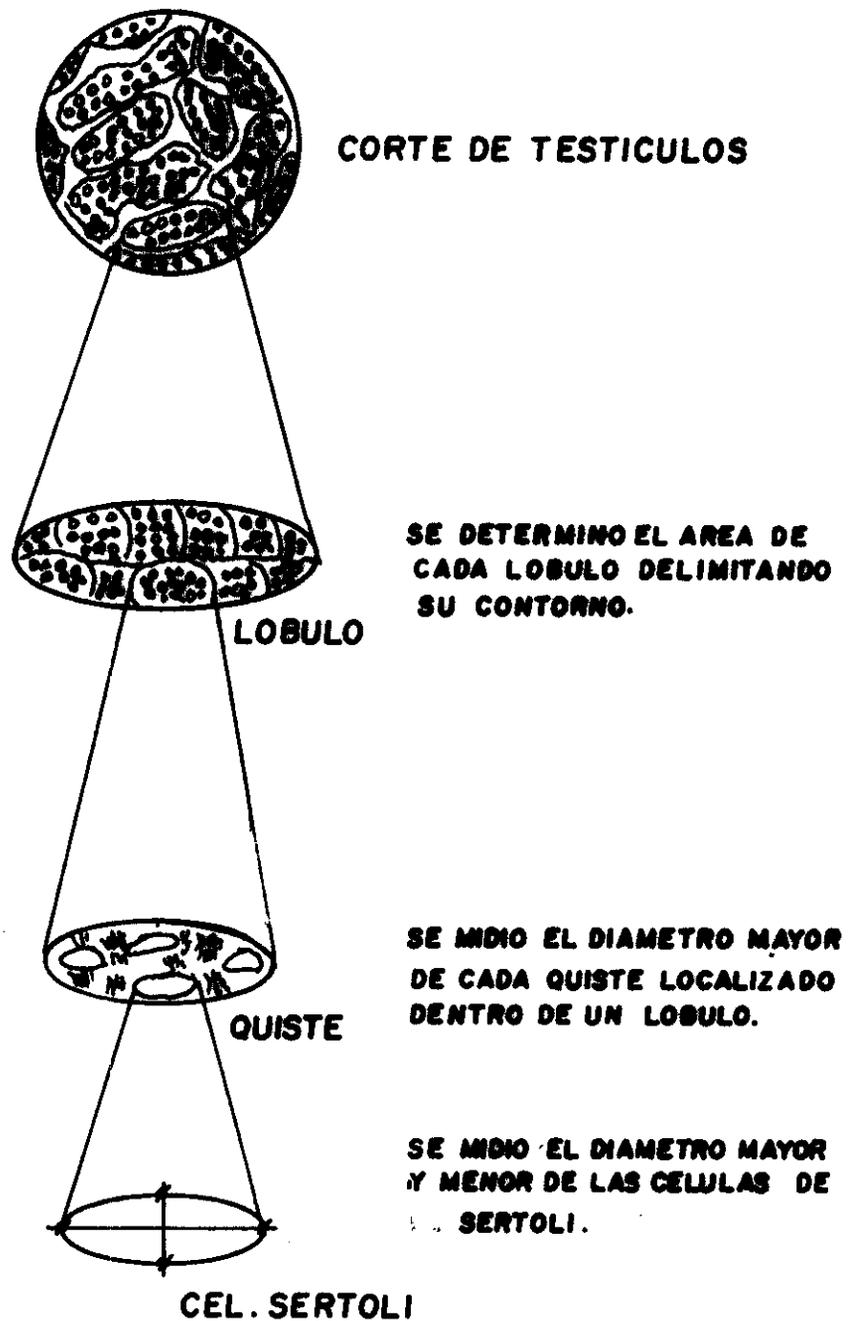
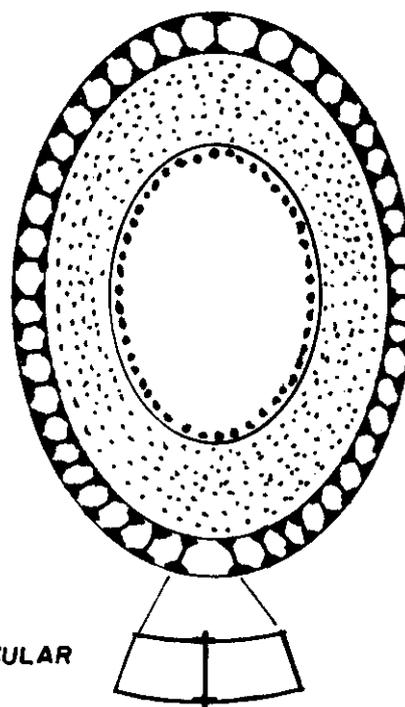
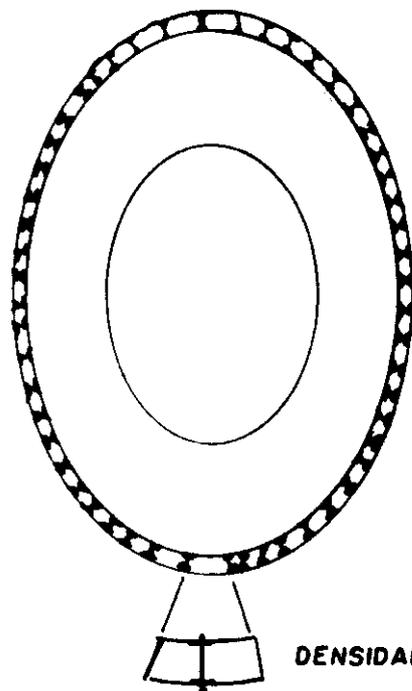


FIGURA No. 8

CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE LOS OVOCITOS

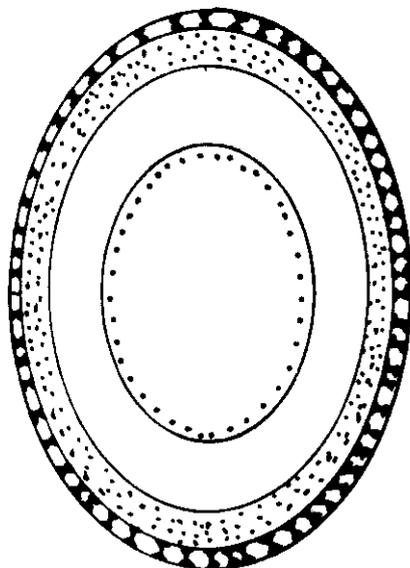
OVOCITO PREVITELOGENICO

OVOCITO VITELOGENICO

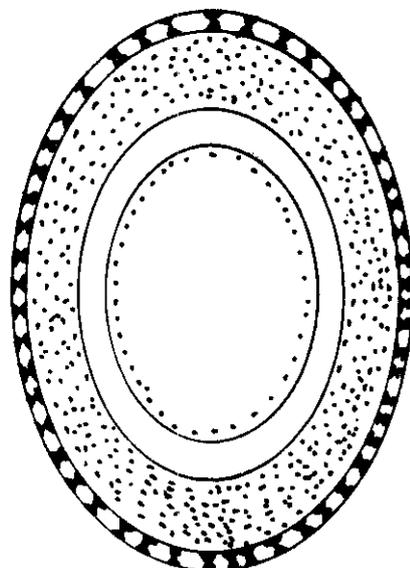


DENSIDAD DE EPITELIO FOLICULAR

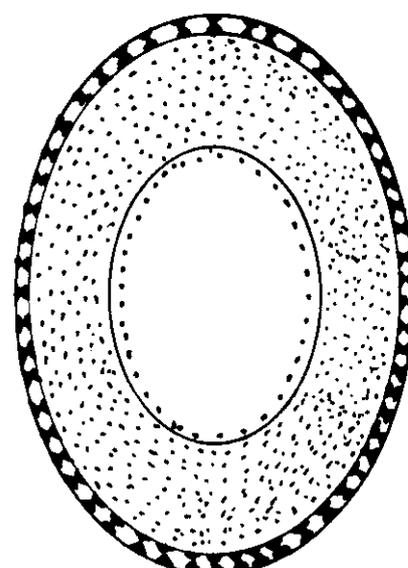
DISTRIBUCION DE PLAQUETAS VITELINAS



+



++



+++

+ 1/3 DE CITOPLASMA CUBIERTO POR VITELO
 ++ 2/3 DE CITOPLASMA CUBIERTO POR VITELO
 +++ TODO EL CITOPLASMA CUBIERTO POR VITELO

RESULTADOS

Parámetros somáticos

Efecto del PTU sobre el peso corporal y del hígado. Al comparar los pesos corporales finales entre los cuatro grupos se encontró que el del grupo tratado con 20 mg/l de PTU fue significativamente menor que los grupos control y tratados con 5 y 10 mg/l (Tabla 1). El peso del hígado mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos, siendo G5 y G10 los más altos seguidos por el grupo control y el G20 respectivamente (Tabla 1).

Con relación al IHS se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos; siendo GC menor que G5, G10 y G20 aunque entre G5 y G10 no se encontraron diferencias significativas (Tabla 1).

TABLA 1
Peso total y hepático de los ajolotes

	PC	PH	IHS
GC	47.9 ± 2.19 a	1.95 ± 0.06 a	0.041 ± 0.001 a
G5	46.3 ± 3.86 a	2.10 ± 0.20 b	0.045 ± 0.003 b
G10	45.8 ± 2.78 a	2.21 ± 0.16 b	0.048 ± 0.002 b
G20	39.9 ± 5.07 b	1.74 ± 0.41 c	0.043 ± 0.006 c

Promedio y desviación estandar expresados en gramos. Letras distintas indican diferencias significativas a $p < 0.05$.

Machos

Indices gonadales y de órganos accesorios: En lo que se refiere al ITS no se encontraron diferencias significativas entre los grupos. En la relación peso de los conductos espermáticos (PCE) con el PC tampoco se encontraron diferencias significativas entre los grupos (Tabla 2).

TABLA 2
Indices ponderales gonadal y de órganos accesorios en machos

	ITS	PCE/PC
GC	0.011 ± 0.001 a	0.0077 ± 0.0018 a
G5	0.011 ± 0 a	0.0083 ± 0.0028 a
G10	0.012 ± 0.002 a	0.0043 ± 0.0020 a
G20	0.016 * a	0.0030 * a

*Un solo individuo.

Promedio y desviación estandar expresados en gramos. Letras distintas indican diferencias significativas a $p < 0.05$.

Descripción histológica

a) GC: Se observó espermatogénesis completa (figura 10A y 10B). Los diferentes tipos celulares se encontraron agrupados en lóbulos y quistes, por lo cual se pudieron definir claramente quistes de espermatogonias (gonias), espermatoцитos (citos), espermátidas (tidas) y espermatozoides (zoides). En algunos lóbulos se apreciaron quistes de tidas y zoides aunque la mayoría presentaban quistes de zoides. Se observaron células de Sertoli (S1) con núcleo ligeramente triangular heterocromático no basal y citoplasma muy claro pobremente definido en los lóbulos de gonias y citos; en tanto que en los lóbulos de tidas y zoides se observan con núcleo ovoide, gránulos dispersos de heterocromatina y abundante eucromatina, en algunos casos se observan nucleolos (S2). Se observaron espacios intersticiales reducidos con células intersticiales con núcleo ovoide, en algunos casos ligeramente aplando y escaso citoplasma (Ia) (Figura 14A)

b) G 5 Se observa espermatogénesis completa (Figura 11A y 11B). En la zona caudal y/o lateral del testículo se observan únicamente lóbulos de zoides los cuales presentan una mayor tinción, lo que interpretamos como una región de mayor densidad celular (Fig 11C). Las células de Sertoli presentan las mismas características que en los correspondientes tipos de lóbulos del GC y aumento en el espacio intersticial en el que se aprecia un mayor número de células intersticiales (Figura 14B), ese aumento de tejido conectivo es mayor en la zona de zoides.

En esta zona las células intersticiales se encuentran modificadas: pasando de ser células con núcleo ovoide a ligeramente aplanado y escaso citoplasma (1a) a células de tipo globoso con núcleo ovoide vesiculoso que presenta numerosos nucleolos y abundantes gránulos de heterocromatina dispersos, citoplasma acidófilo con gotas de lípidos pequeños y abundantes (1b) (Figura 15A y 15B).

Conforme se avanza al extremo de esta región laterocaudal se observa mayor número de estas células intersticiales de tipo globoso formando agrupaciones en arcadas o en cordones arrollados (A). En esta zona se llegan a observar al gunos lóbulos con escasos zoides o vacíos lo cual sugiere la ocurrencia de espermiación o la proximidad de este proceso. A la región testicular que presenta estas características se le denominará zona de espermiación (Figura 15C y 15D)

c) **G 10** Se observó espermatogénesis completa (Figura 12A y 12B). La disposición de los lóbulos con los diferentes tipos de células gaméticas es igual a la de G5. La estructura de las células de Sertoli no presentan modificaciones con respecto a ese grupo. Se observa un aumento de tejido intersticial y conectivo de aspecto fibroso con respecto a GC (Figura 14C). En todos los ejemplares se observó zona de espermiación en forma idéntica que en G5 (Figura 16A, 16B y 16C).

d) **G 20** Se observa espermatogénesis completa (Figura 13A y 13B), al igual que en los otros grupos se observan zonas de actividad proliferativa (Figura 13C). La citología de las células de Sertoli coincide con la de los otros grupos. Se observa aumento de tejido intersticial y conectivo de aspecto fibroso (Figura 14D) con respecto al grupo control pero similar a G5 y G10. Se observa reducción de la zona de espermiación a una franja muy pequeña del testículo de la zona laterocaudal y sin las células globosas en arreglos en arcadas o en cordones arrollados.

Figura 10A.

Corte sagital de testículo. Grupo Control.

Técnica H-E. 100X.

G Espermatogonias

C Espermatocitos

T Espermátidas

Z Espermatozoides

S1 Célula de Sertoli

S2 Célula de Sertoli

L Lóbulo

Q Quiste

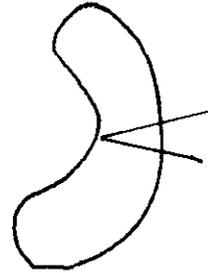


Figura 10B.

Corte Sagital de testículo. Grupo Control.

Técnica H-E. 100X.

T Espermátidas

Z Espermatozoides

S2 Célula de Sertoli

Ia Células Intersticiales



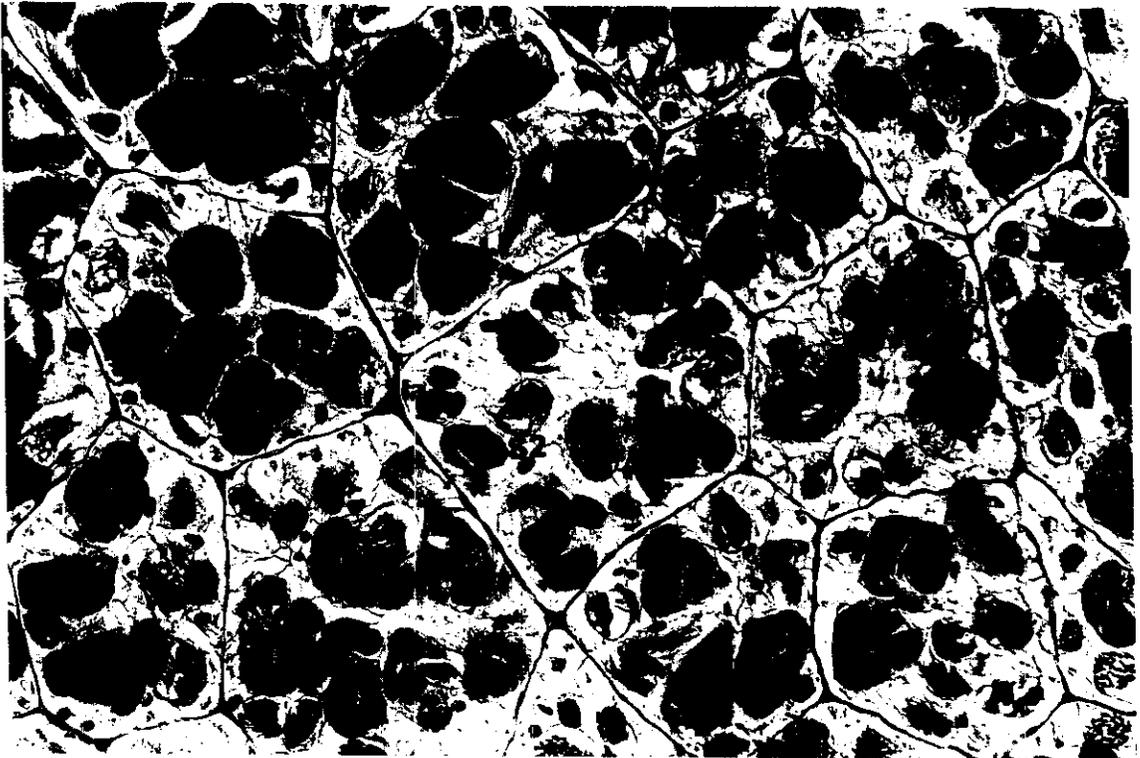
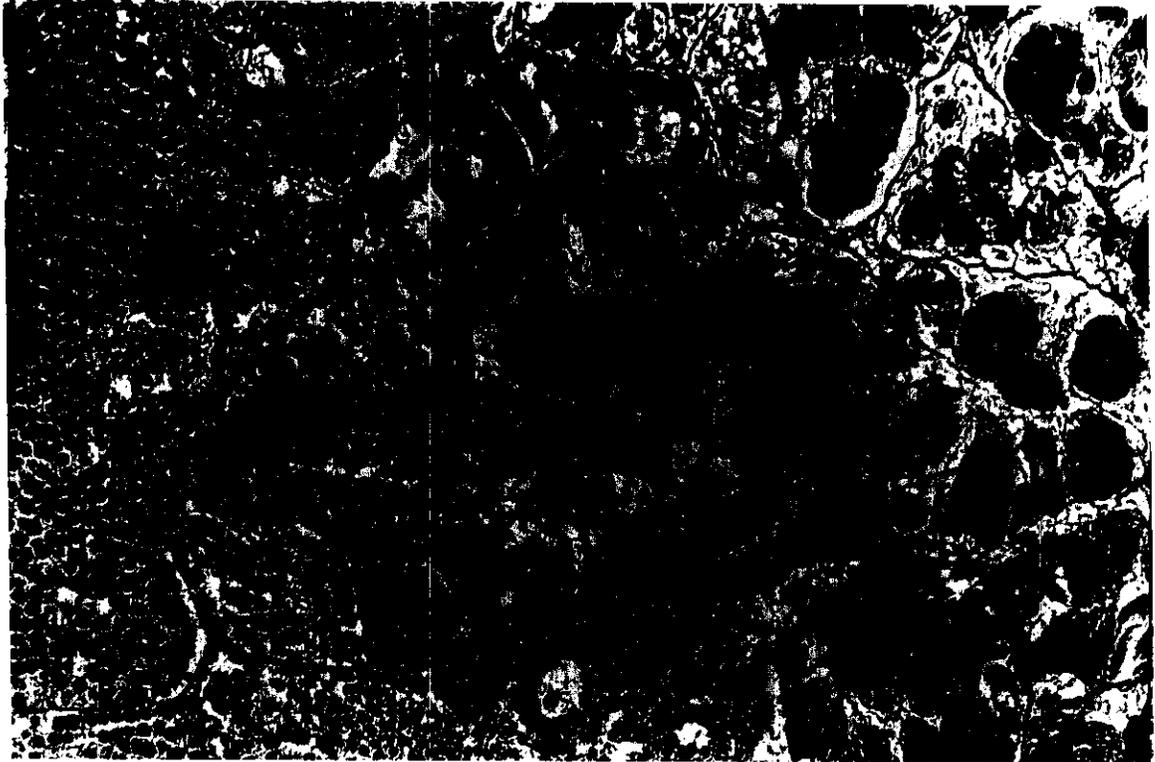


Figura 11A
Corte Sagital de testículo. G5.
Técnica H-E. 100X.
G Espermatozonias
C Espermatozitos
T Espermátidas
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
L Lóbulo
Q Quiste

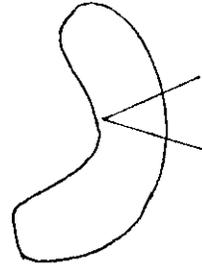
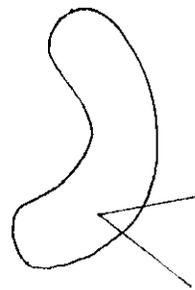


Figura 11B
Corte Sagital de testículo. G5.
Técnica H-E. 100X.
C Espermatozitos
T Espermátidas
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
Ia Célula Intersticiales



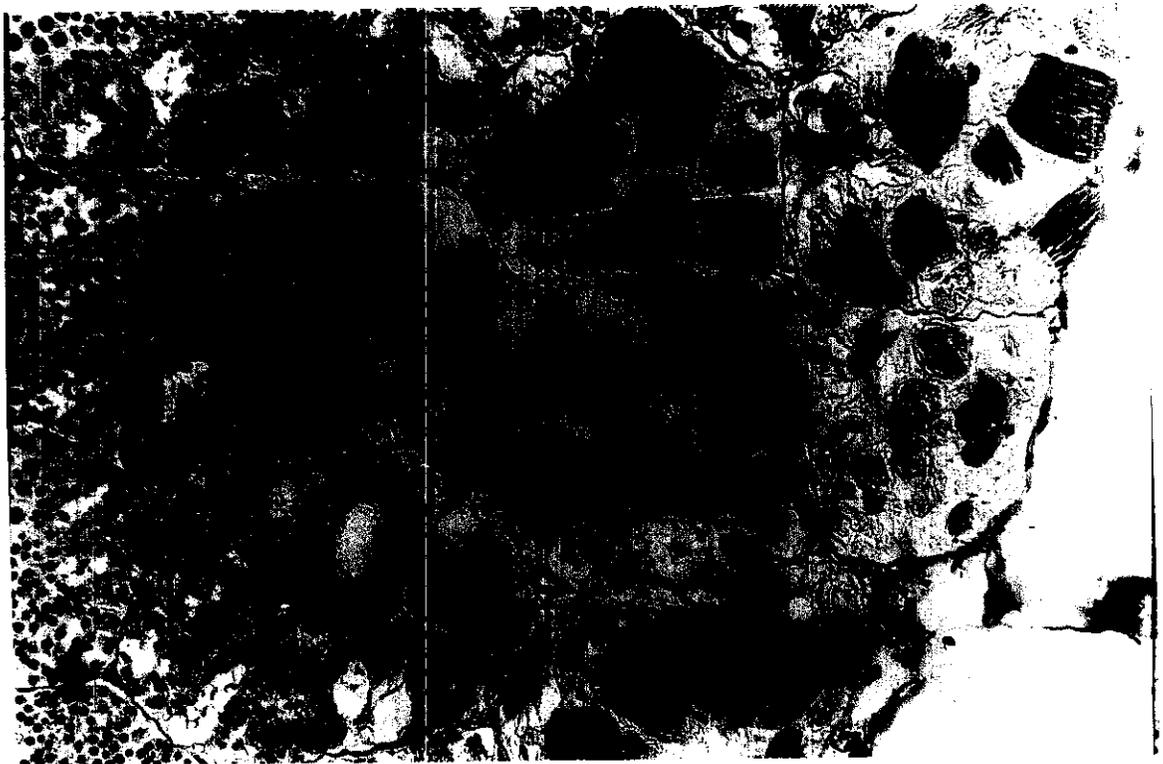
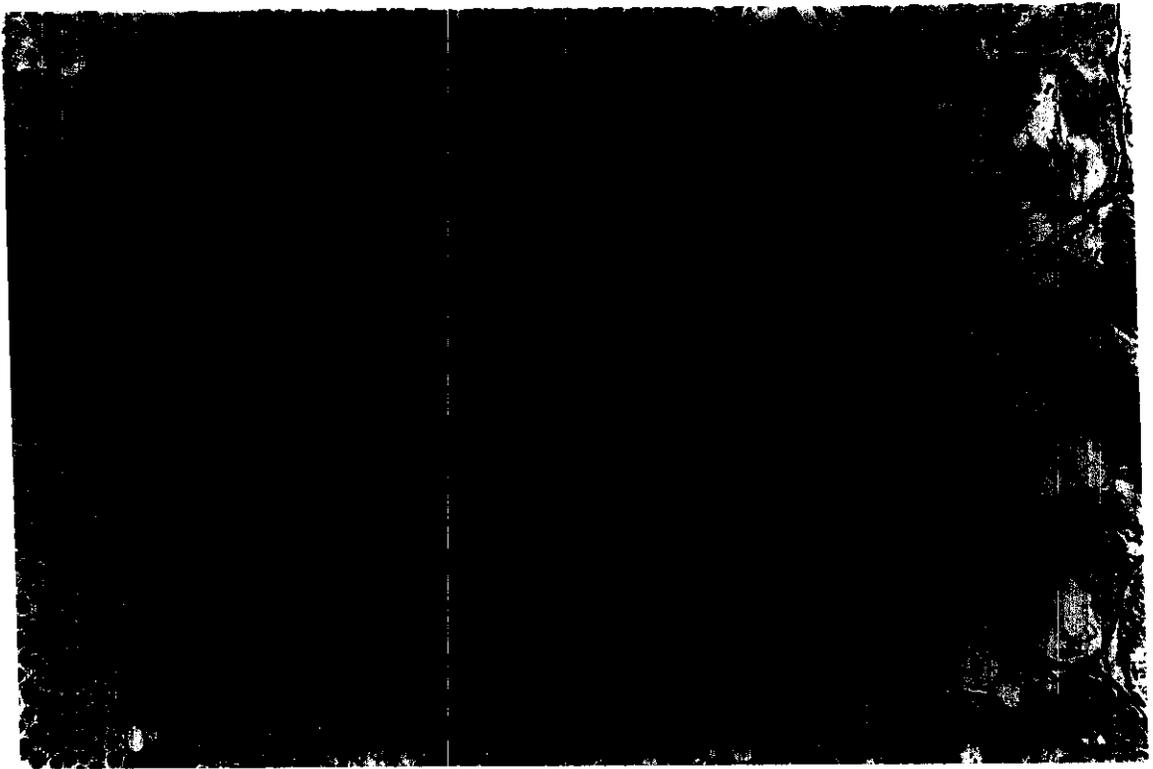
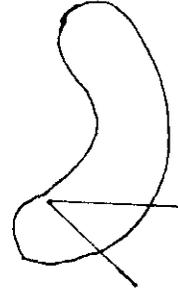


Figura 11C
Corte Sagital de testículo. G5
Técnica Tricrómica de Masson. 100X
Z Espermatozoides
S2 Células de Sertoli
Ib Células Intersticiales



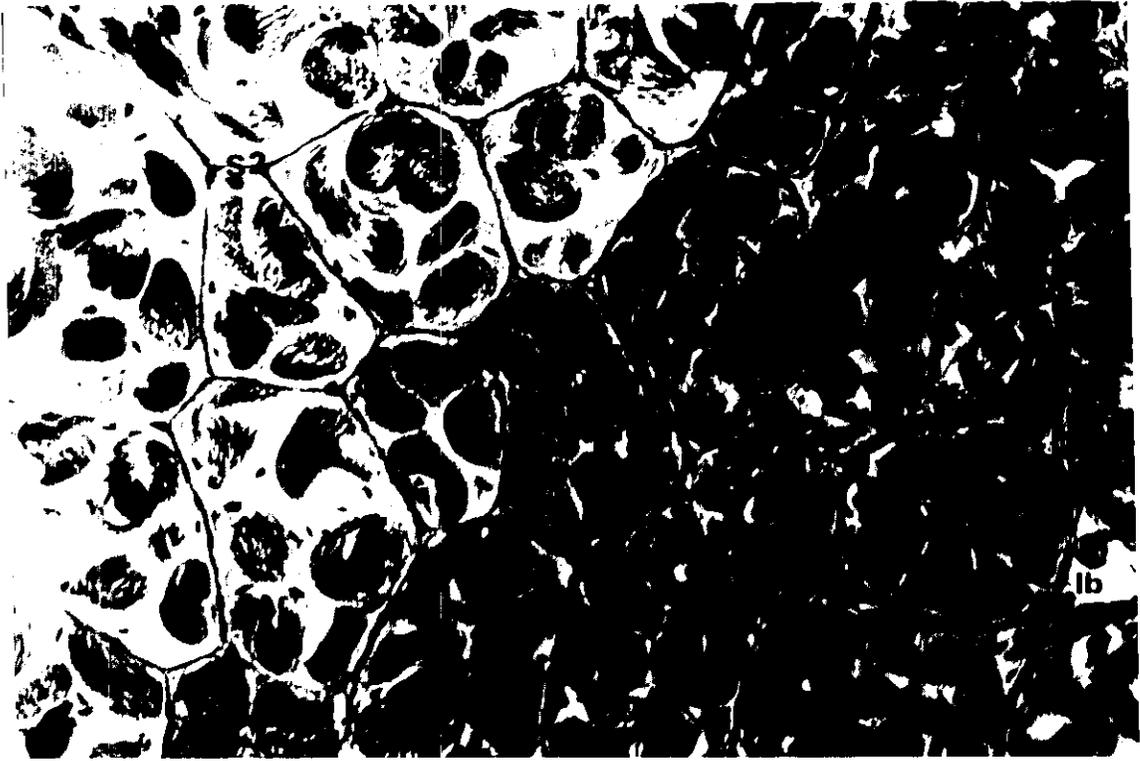


Figura 12A
Corte Sagital de testículo. G10
Técnica H-E. 100X
G Espermatogonias
C Espermatocitos
T Espermatidas
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
L Lóbulo
Q Quiste

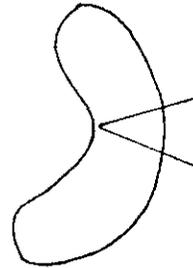


Figura 12B
Corte Sagital de Testículo. G10
Técnica H-E. 100X.
C Espermatocitos
T Espermatidas
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
Ia Células Intersticiales



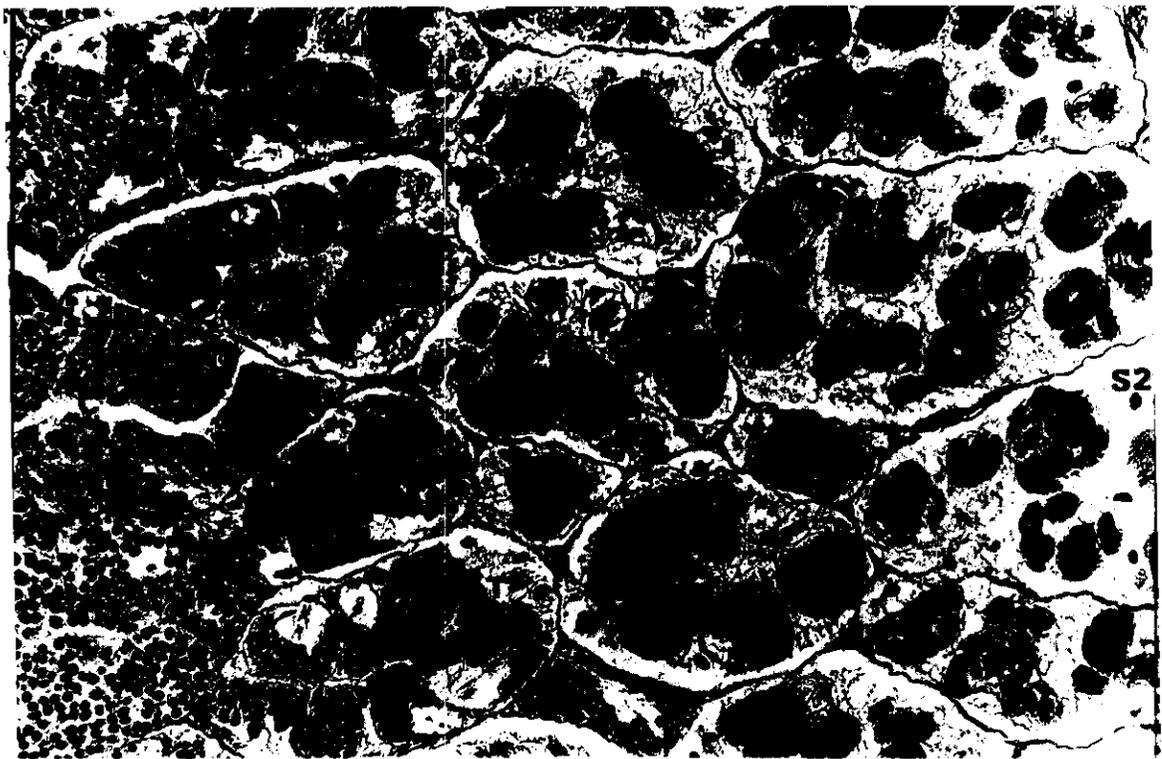
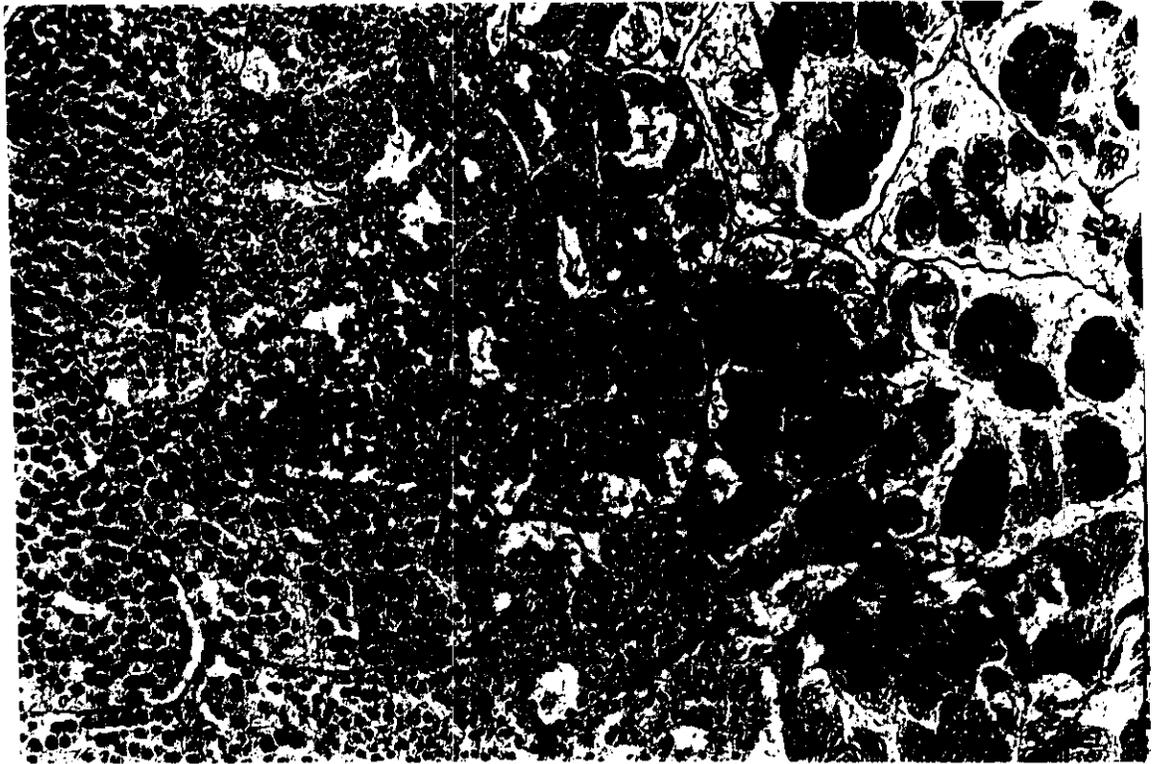


Figura 13A
Corte Sagital de testículo. G20
Técnica H-E. 100X
G Espermatogonias
C Espermatocitos
S1 Célula de Sertoli

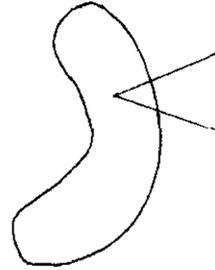
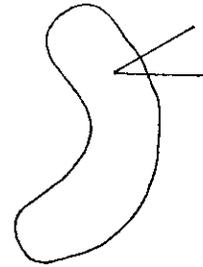


Figura 13B
Corte Sagital de Testículo. G20
Técnica H-E. 100X
C Espermatocitos
T Espermatidas
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
Ia Célula Intersticial





Figura 13C
Corte Sagital de testículo (Lóbulo de espermatogonias) G20
Técnica H-E. 630 X
G Gonias
S1 Célula de Sertoli
M Mitosis
I1 Célula Intersticial



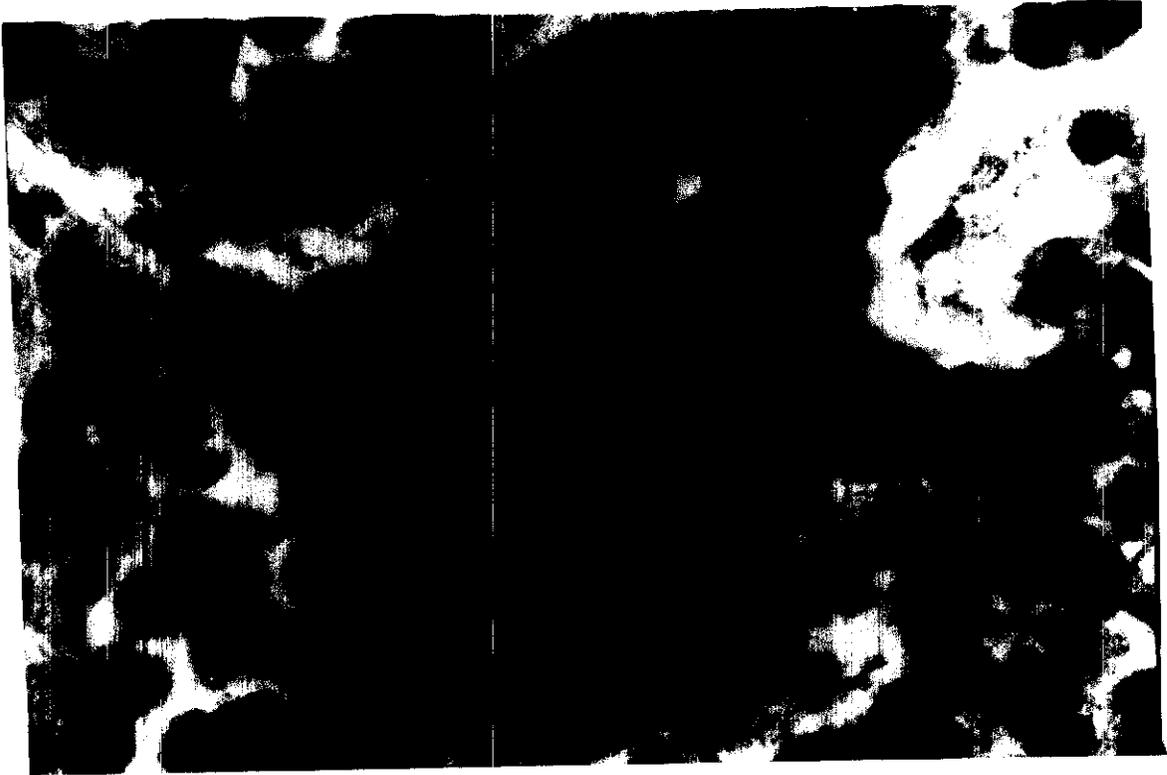


Figura 14 A
Tejido Intersticial. GC
Técnica Tricrómica de Masson. 630X
Z Espermatozoides
S1 Célula de Sertoli
S2 Célula de Sertoli
Ia Célula Intersticial
Ti Tejido Intersticial



Figura 14B.
Tejido Intersticial. G5
Técnica Tricrómica de Masson. 630X
Z Espermatozoides
Ti Tejido Intersticial
Ib Células Intersticiales

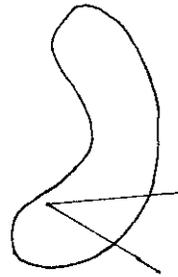




Figura 14C
Tejido Intersticial. G10.
Técnica Tricrómica de Masson. 630X
Z Espermatozoides
Ti Tejido intersticial
Ib Células Intersticiales

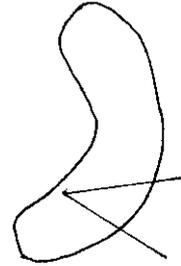


Figura 14 D
Tejido Intersticial. G20
Técnica Tricrómica de Masson. 630 X
Z Espermatozoides
Ti Tejido Intersticial
Ib Células ntersticiales

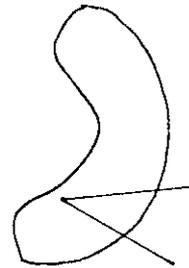




Figura 15 A.
Zona laterocaudal. Células intersticiales. G5.
Técnica H-E. 400x
Z Espermatozoides
Ib Células Intersticiales



Figura 15 B
Zona laterocaudal del testículo. G5
Técnica tricrómica de Masson. 100X
Z Espermatozoides
Ib Células Intersticiales
Ti Tejido Intersticial
A Arcadas





Figura 15 C
Zona laterocaudal del testículo. G5
Técnica Tricrómica de Masson. 200X
Z Espermatozoides
Ib Células Intersticiales
Ti Tejido Intersticial
A Arcadas
S2 Célula de Sertoli



Figura 15 D
Zona laterocaudal del testículo. G5
Técnica Tricrómica de Masson. 400X
Z Espermatozoides
Ib Células Intersticiales
S2 Célula de Sertoli

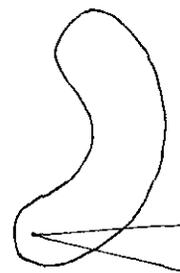




Figura 16A
Zona Laterocaudal del testículo. G10
Técnica Tricrómica de Masson. 100X
Z Espermatozoides
Ib Células Intersticiales

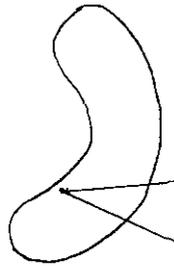
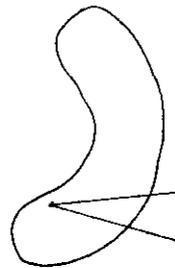


Figura 16B
Zona Laterocaudal del testículo. G10
Técnica Tricrómica de Masson. 200X
Z Espermatozoides
Ib Células intersticiales
A Arcadas



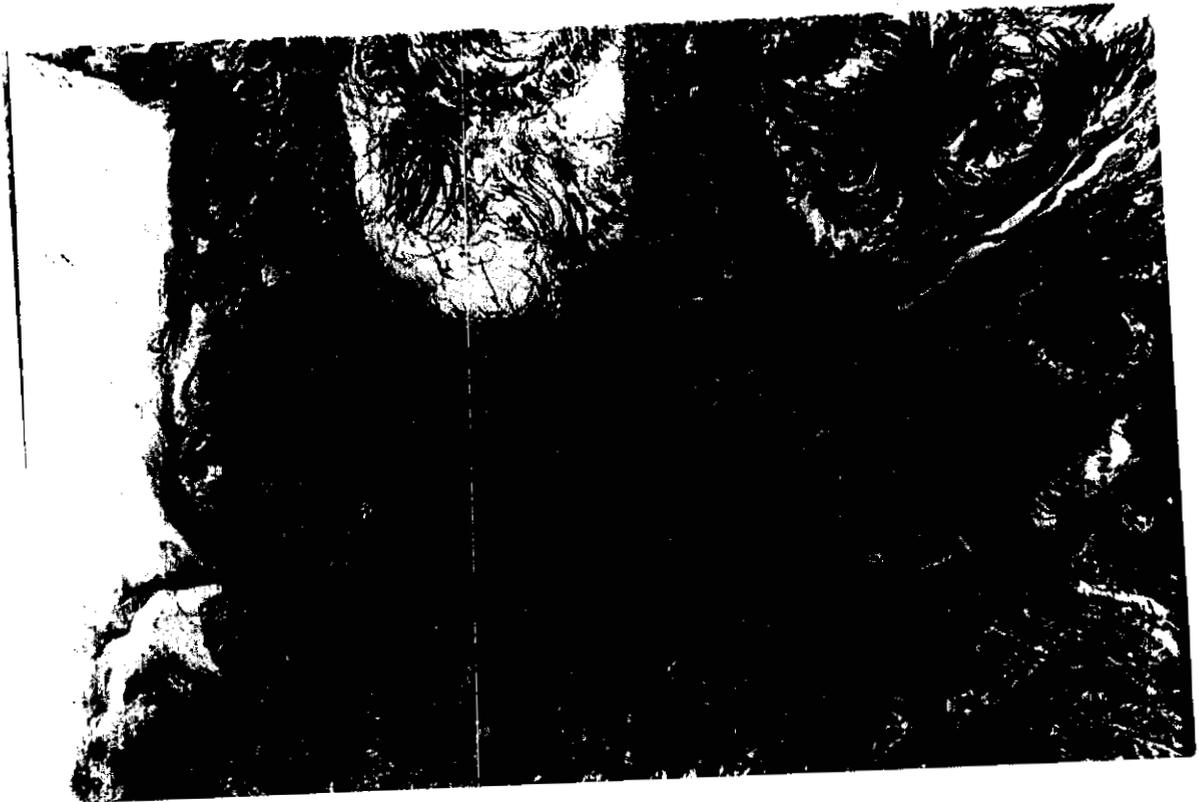
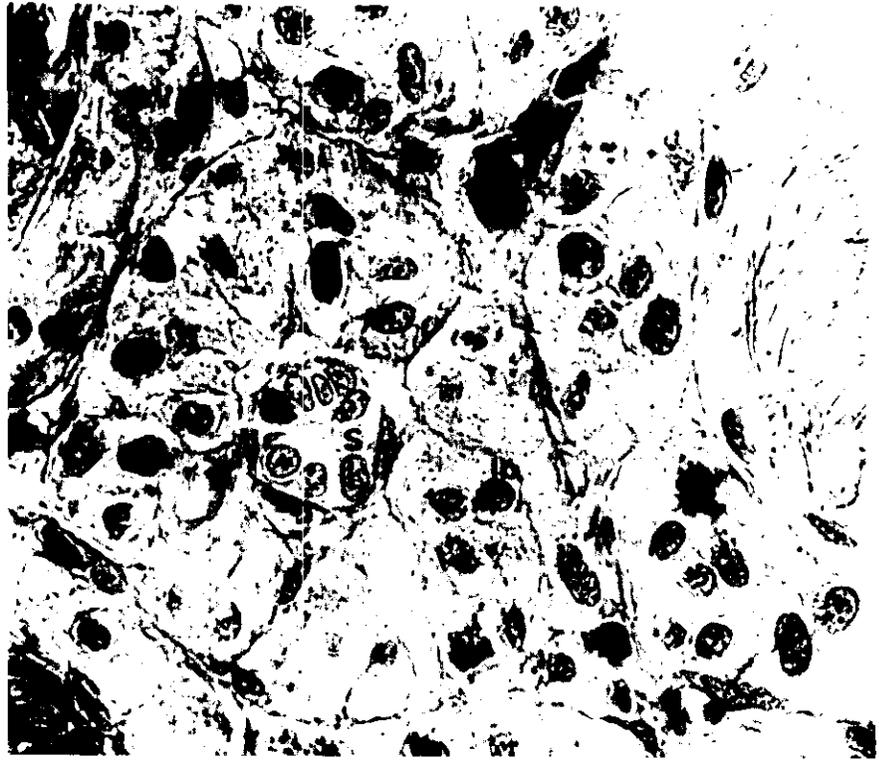


Figura 16C
Zona Laterocaudal del testículo. G10
Técnica Tricrómica de Masson. 400X
Z Espermatozoides
S2 Células de Setoli
Ib Células intersticiales
A Arcadas





Cuantificación de células

Número de espermatogonias por lóbulo. Al comparar el número de células por lóbulos de espermatogonias entre individuos de un mismo grupo se encontraron diferencias significativas entre los individuos del GC y G10. Por otra parte, el análisis de varianza reveló que no hay diferencias significativas entre los grupos a $p < 0.05$ (Tabla 4). De lo anterior se asume que la variación en el número de espermatogonias por lóbulo entre individuos, es mayor que entre tratamientos y que estos últimos no influyen en la variación de las medias (Tabla 3).

Número de espermatoцитos por lóbulo. Al comparar el número de espermatoцитos dentro de los grupos se encontró que hay una diferencia significativa entre individuos del mismo grupo a una $p < 0.05$. A pesar de que existe una variación intragrupo, al realizar el análisis entre grupos se encontró que el GC y el G10 son iguales entre sí pero diferentes del grupo G5 y G20 los cuales a su vez son iguales entre sí (Tabla 3).

Razón espermatogonias / espermatoцитos: Considerando que a partir de cada espermatogonia se obtienen dos espermatoцитos primarios se considero el incremento de este último tipo celular dividiendo el total de espermatoцитos contados entre el total de espermatogonias por individuo y posteriormente se sacó el promedio de grupos. No se observó ninguna alteración en la proliferación celular entre los grupos (Tabla 3).

Parámetros morfométricos.

Area de los lóbulos. Al comparar el área de los lóbulos entre tratamientos se encontró que en los lóbulos de espermatogonias y espermatoцитos el GC es mayor que en los grupos tratados con PTU ($p < 0.01$); para el caso del área de los lóbulos de espermatozoides se encontro un efecto detrimental dosis dependiente, que alcanzó significancia ($p < 0.05$) en G10 y G20 (Tabla 4).

TABLA 3

Número de células por lóbulo.

Grupo	Individuo	X gonias		X citos.		Razon gonias/citos
GC	1	244.37 ± 28.88	a	381 ± 50.10	g	1.56
	2	255.23 ± 23.73	a	543 ± 48.3	h	2.12
	4	334.87 ± 40.16	b	442.5 ± 36.36	g	1.32
	7	316.12 ± 25.93	b	583.75 ± 26.14	h	1.84
X Grupo		287.7 ± 48.62		487.5 ± 90.22	A	1.71 ± 0.34
G5	11	350.5 ± 60.27	c	478.5 ± 51.38	i	1.36
	12	245.75 ± 26.43	c	342 ± 28.03	j	1.39
	13	306.25 ± 44.58	c	752.25 ± 70.95	k	2.45
X Grupo		300.83 ± 62.84		524.25 ± 99.95	B	1.73 ± 0.62
G10	16	226.62 ± 38.39	d	447.12 ± 36.50	l	1.97
	18	348.75 ± 35.40	e	555.37 ± 77.67	m	1.59
	19	325.62 ± 39.77	f	364.25 ± 23.66	n	1.12
X Grupo		300.33 ± 65.12		455.58 ± 93.62	A	1.56 ± 0.42
G20	22	235.62 ± 22.18	*	543.12 ± 35.28	* B	2.31

*Un sólo individuo

Promedio y desviación estandar. Letras minúsculas indican diferencias significativas dentro del mismo grupo a una $p < 0.05$.

Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre los grupos.

Diámetro de los quistes. Al comparar el promedio del diámetro de los quistes entre los grupos se encontró que no hay diferencias significativas entre los mismos tipos celulares de los diferentes tratamientos (Tabla 4).

Número de quistes por lóbulos. Al comparar el número de quistes por lóbulo entre los diferentes tratamientos para cada tipo celular no se encontraron diferencias significativas (Tabla 4).

El análisis de correlación para los parámetros anteriores (área de lóbulos, diámetro de quistes y número de quistes) no mostró ninguna relación entre estos parámetros.

TABLA 4
Area de los lóbulos, quistes y número de quistes.

GRUPO	X Area lóbulo (X 10 ³ μm ²)	X Diámetro quistes μm	X No. quistes
Espermatogonias			
GC	90 ± 28.28 a	9.88 ± 3.02	6.04 ± 1.62
G5	62.77 ± 24.20 b	10.23 ± 3.12	6.22 ± 1.06
G10	57.22 ± 26.52 b	10.39 ± 2.31	5.44 ± 0.61
G20	63.33 ± 22.50 b	11.06 ± 2.68	5.66 ± 1.03
Espermatocitos			
GC	90 ± 29.48 c	10.43 ± 2.90	5.58 ± 1.10
G5	67.77 ± 26.24 d	10.94 ± 2.72	6.16 ± 0.98
G10	56.66 ± 20.57 d	10.20 ± 2.64	5.5 ± 1.91
G20	63.33 ± 17.57 d	10.74 ± 2.36	6 ± 0.89
Espermátidas y Espermatozoides			
GC	90 ± 23.21 e	9.58 ± 2.17	5.41 ± 1.10
G5	82.22 ± 27.34 e,g	10.37 ± 2.58	5.44 ± 0.61
G10	75.55 ± 23.31 f	10.25 ± 2.21	5.27 ± 0.89
G20	68.33 ± 11.69 f,h	11.04 ± 2.68	5.5 ± 1.04

Promedio y desviación estandar. Letras diferentes indican diferencias significativas a $p < 0.01$ entre los grupos.

Células de Sertoli: En relación a las células de Sertoli se tomó el diámetro mayor y menor en cada célula, posteriormente se realizó un análisis de varianza entre grupos para el

diámetro mayor y otro análisis para el diámetro menor. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos para ninguno de los dos diámetros (Tabla 5).

TABLA 5
Diámetro mayor y menor de Células de Sertoli

	X DIAMETRO > μm	X DIAMETRO < μm
GC	23.44 ± 4.87	15.44 ± 3.12
G5	23.32 ± 6.09	12.4 ± 3.97
G10	20 ± 4.61	16.4 ± 2.94
G20	21.2 ± 3.87	12.96 ± 3.87

Hembras

Índice ovárico somático y relación oviductos peso corporal. Al comparar los valores del IOS se encontró que el grupo control presentó un valor mayor ($p < 0.05$) en este índice con relación a los grupos restantes, sin embargo los valores promedio de la relación peso de oviductos (POv) con el PC no alcanzaron diferencias significativas $p < 0.05$ entre ellos (Tabla 6).

TABLA 6
Índices ponderales gonadico y de órganos accesorios en hembras.

	IOS	POv/PC
GC	0.0130 ± 0.002 a	0.0123 ± 0.013
G5	0.0083 ± 0.002 b	0.0106 ± 0.004
G10	0.0096 ± 0.006 b	0.0143 ± 0.0125
G20	0.006 ± 0.002 b	0.007 ± 0.0037

Promedios y desviación estandar expresados en gramos. Letras distintas indican diferencias significativas a $p < 0.05$

Pigmento. En los ovarios de las hembras del GC se observan ovocitos con pigmento variando de intensidad, en los grupos tratados en algunos ovarios se llegan a observar ovocitos con pigmento pero la mayoría no lo presentan (Figura 17A, 17B, 17C y 17D).

Descripción histológica:

Se hicieron observaciones en cortes alternados del grupo control. Con base en estas observaciones se estableció la siguiente clasificación.

Ovocitos previtelogénicos. son aquellos cuyas características más distintivas son tener epitelio folicular plano y ausencia de vitelo. En la mayoría de estos ovocitos los nucleolos no se distinguen. Se presentan en diversos tamaños, unos muy pequeños que generalmente se localizan en la periferia del ovario, otros de mayor tamaño que se encuentran indistintamente en cualquier zona del ovario. En algunos ovocitos el epitelio folicular se encuentra en una etapa de transición entre plano y cúbico, a este epitelio se le ha denominado intermedio. Los ovocitos que presentan este tipo de epitelio, al no tener vitelo se les ubicó dentro de los ovocitos denominados previtelogénicos .

Ovocitos vitelogénicos. Sus características distintivas son presentar epitelio folicular cúbico nucleolos y presencia de vitelo, el cual puede variar en cantidad. Para los fines de este trabajo, se consideró como ovocito vitelogénico el que cumpliera las características de epitelio folicular cúbico y gran número de nucleolos (de 15 a 26), los cuales se localizan en la periferia del núcleo lo cual es indicativo de intensa producción de RNA ribosomal. Por lo que respecta a la distribución de vitelo se observa claramente que se realiza de la periferia hacia el centro, así podemos observar que en los ovocitos con poco vitelo, éste se encuentra únicamente en la periferia, cubriendo aproximadamente 1/3 parte del citoplasma (Figura 18A); mientras que en los ovocitos con mayor cantidad de vitelo, cubre aproximadamente 2/3 partes del citoplasma (Figura 18B) y por último los ovocitos con gran cantidad de vitelo (Figura 18C), el cual cubre todo el citoplasma.

Con base en las características histológicas anteriores en cada grupo se observó lo siguiente:

GC: Una característica importante y distintiva del grupo control en relación a los grupos tratados con PTU es la presencia de vitelo en todos los ovocitos calificados como vitelogénicos por sus características histológicas. El 47% de los ovocitos fueron previtelogénicos y el 53% vitelogénicos, lo cual indica que se presenta tanto el proceso de proliferación como el de crecimiento y maduración.

Entre los ovocitos previtelogénicos se observó que la mayoría (57.44%) son pequeños, 29.07% de gran tamaño y 13.47% con epitelio folicular intermedio y diversos tamaños.

De los ovocitos vitelogénicos, el 100% presentan plaquetas vitelinas, de estos 29.55% presentaron vitelo en la periferia, 23.89% las 2/3 partes del citoplasma cubierto por vitelo y la mayoría (46.54%) presentó todo el citoplasma cubierto (Tabla 7, Figura 20).

G5: En este grupo el 37% de los ovocitos fueron previtelogénicos (Figura 19A) y 63% vitelogénicos. En cuanto a los ovocitos previtelogénicos el 75.67% corresponde a ovocitos de tamaño pequeño, 20.72% a ovocitos grandes y 3.6% con epitelio folicular intermedio.

En relación a los ovocitos vitelogénicos (figura 19A y 19B) el 34.39% presentan la característica de epitelio cúbico y gran número de nucleolos aunque no se observan plaquetas vitelinas, en el resto de los ovocitos vitelogénicos (65.61%) si se observa vitelo distribuido de la siguiente manera: el 42.74% de los ovocitos tienen poco vitelo ubicado sólo en la periferia, 22.92% con las 2/3 partes del citoplasma cubierto por vitelo y 34.86% con todo el citoplasma cubierto por vitelo (Tabla 7, Figura 20).

G10: En este grupo el 42% de los ovocitos se clasificaron como previtelogénicos de éstos el 64% son pequeños y el 36% ovocitos grandes.

Entre los ovocitos vitelogénicos (58%) se observa que más de la mitad de éstos (56.57%) carecen de vitelo, y el 43.43% sí presentan plaquetas vitelinas; de éstos últimos la distribución de vitelo se presenta de la siguiente manera: la mayoría (38.35%) tienen poco

vitelo, 26.02% corresponde a ovocitos en los cuales las 2/3 partes del citoplasma está cubierto por vitelo, por último 35.61% son ovocitos con gran cantidad de vitelo (Tabla 7, Figura 20).

G20: En este grupo es en el que se observaron menor número de ovocitos previtelogénicos (27%), de los cuales aproximadamente la mitad corresponden a ovocitos pequeños (50.99%) y la otra mitad a ovocitos grandes.

La mayoría de los ovocitos que se cuantificaron fueron vitelogénicos (73%) de los cuales el 68.36% tienen ausencia de vitelos y sólo el 31.64% lo presenta. En estos últimos se observa que la gran mayoría 87.23% tienen poco vitelo, sólo 4.25% tienen las 2/3 partes del citoplasma cubierto por plaquetas vitelinas y 8.51% presentan todo el citoplasma cubierto por vitelo (Tabla 7, Figura 20).

Tabla 7

Distribución de ovocitos

OVOCITOS PREVITELOGÉNICOS (%)

	TOTAL	PEQUEÑOS	GRANDES	INTEMEDIOS
GC	47 aa	57.44	29.07	13.47
G5	37 aa	75.67	20.72	3.60
G10	42 ab	62	36	
G20	27 bb	50.99	49.03	

OVOCITOS VITELOGENICOS (%)

	TOTAL	S/VIT.	C/VIT	CANTIDAD DE VITELO		
				1/3	2/3	3/3
GC	53 aa		100	29.55	23.89	46.54
G5	63 aa	34.39	65.61	42.74	22.92	34.86
G10	58 ab	56.57	43.43	38.35	26.02	35.61
G20	73 bb	68.36	31.64	87.23	4.25	8.51

Letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas dentro del mismo grupo

Número de ovocitos por corte: Al cuantificar el número de ovocitos en un corte transversal se observó que el grupo control tiene mayor número de ovocitos en promedio 138.3 ± 55.83 que los grupos G5, G10, G20 en los cuales se tienen valores de 56.3 ± 2.62 , 89.6 ± 27.47 y 68.75 ± 35.05 respectivamente. La diferencia entre el grupo control y los grupos tratados fue significativa a una $p < 0.05$. Entre los grupos tratados no se encontraron diferencias.

Grosor del epitelio folicular: El grosor del epitelio folicular en los ovocitos vitelogénicos fue de 17.3 ± 0.94 , 17.3 ± 1.88 , 14 ± 4.32 y 16 ± 0 (μm) en el GC, G5, G10 y G20 respectivamente. Los valores en los ovocitos previtelogénicos fueron para GC 8 ± 0 , G5 8 ± 0 , G10 8 ± 3.26 y en G20 8 ± 0 . No se encontraron diferencias significativas entre grupos en el grosor del epitelio folicular en ovocitos previtelogénicos ni en los vitelogénicos.

El análisis de correlación resaltó un efecto del tratamiento sobre el peso corporal (-0.555) y el peso gonadal (-0.607). En cuanto al número de ovocitos no se encontró que éste se correlacione ni con los diferentes tratamientos, ni con el peso gonadal.

Figura 17A
Disección de Ovario. GC
Se observan ovocitos con pigmento.

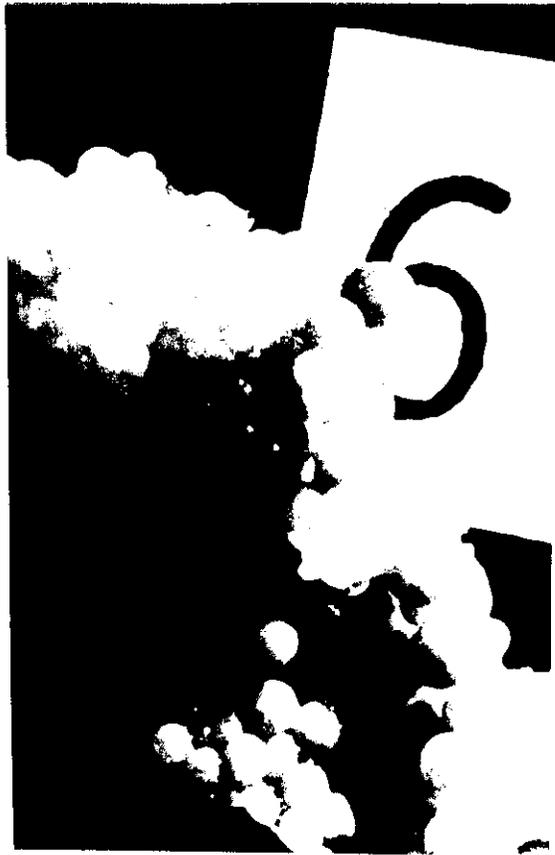
Figura 17B
Disección de Ovario. G5
Se observan pocos ovocitos con pigmento.

Figura 17C
Disección de Ovario. G10
Se observan ovocitos de tamaño pequeño y sin pigmento.

Figura 17D
Disección de Ovario. G20
Se observan ovocitos de tamaño pequeño y sin pigmento.



A



B



C



D

Figura 18A
Corte sagital de ovario. GC
Ovocito con 1/3 del citoplasma cubierto por vitelo
Técnica H-E. 100X
N Núcleo
Nu Nucleolo
Op Ovocito previtelogénico
Efp Epitelio Folicular plano
Efc Epitelio Folicular cúbico
Pv Plaquetas vitelinas

Figura 18B
Corte Sagital de Ovario. GC
Ovovito con 2/3 del citoplasma cubierto por vitelo.
Técnica H-E. 250X
N Núcleo
Nu Nucleolos
Efc Epitelio Folicular cúbico
Pv Plaquetas vitelinas

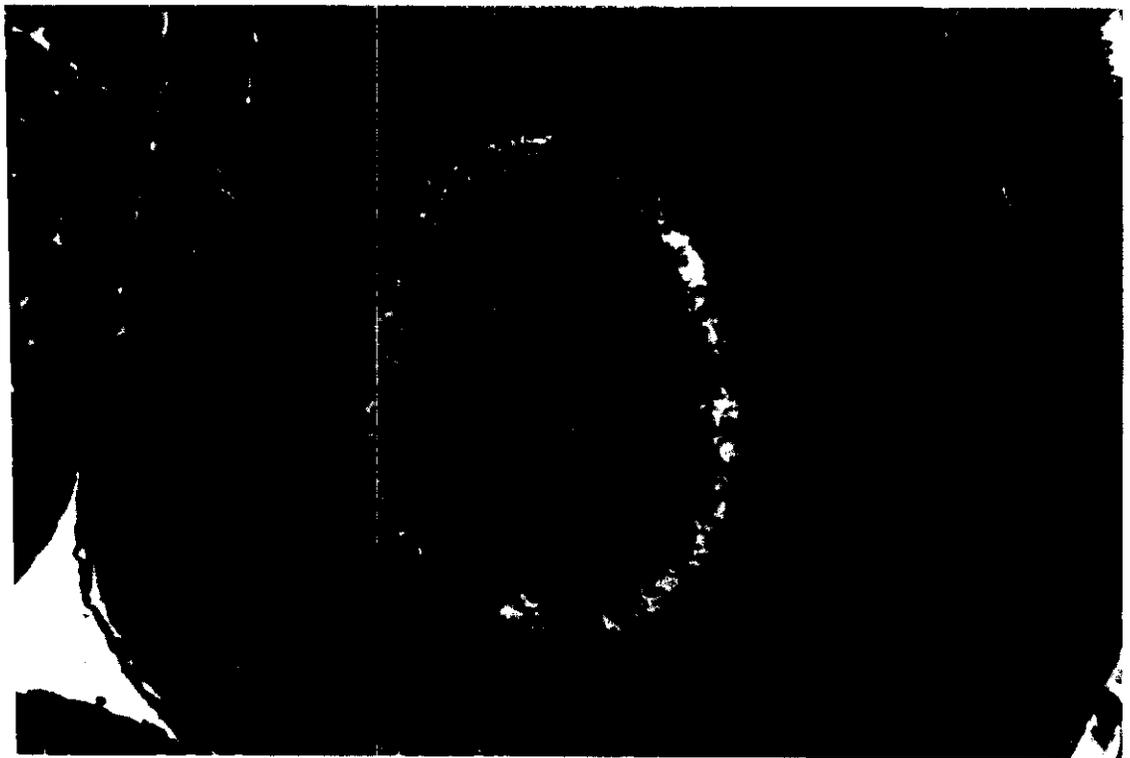
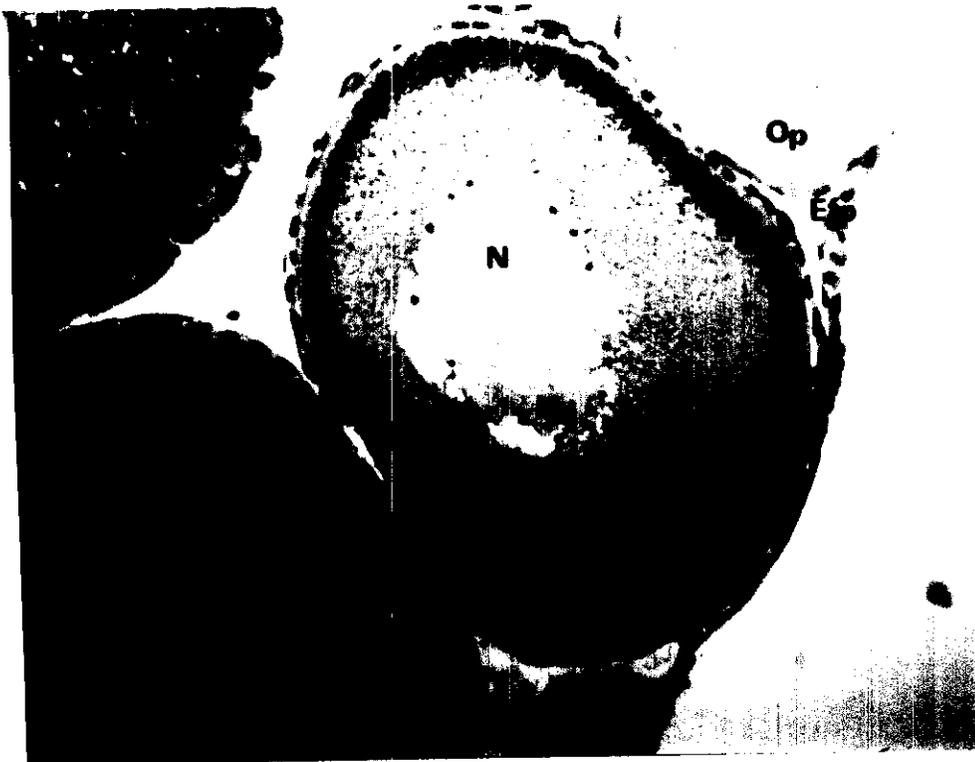


Figura 18C

Corte sagital de ovario. GC

Ovocito cubierto por citoplasma.

Técnica H-E. 100X

Op Ovocito previtelogénico

Efc Epitelio Folicular cúbico

Efp Epitelio folicular plano

Pv Plaquetas vitelinas



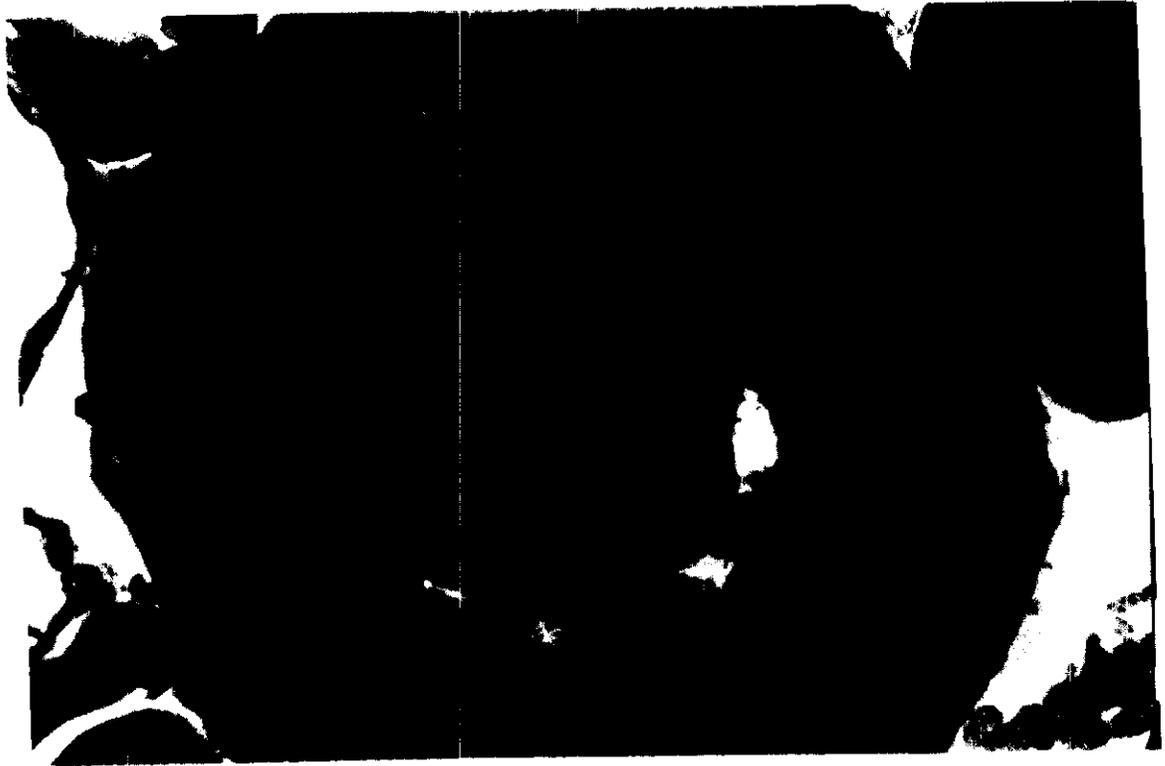
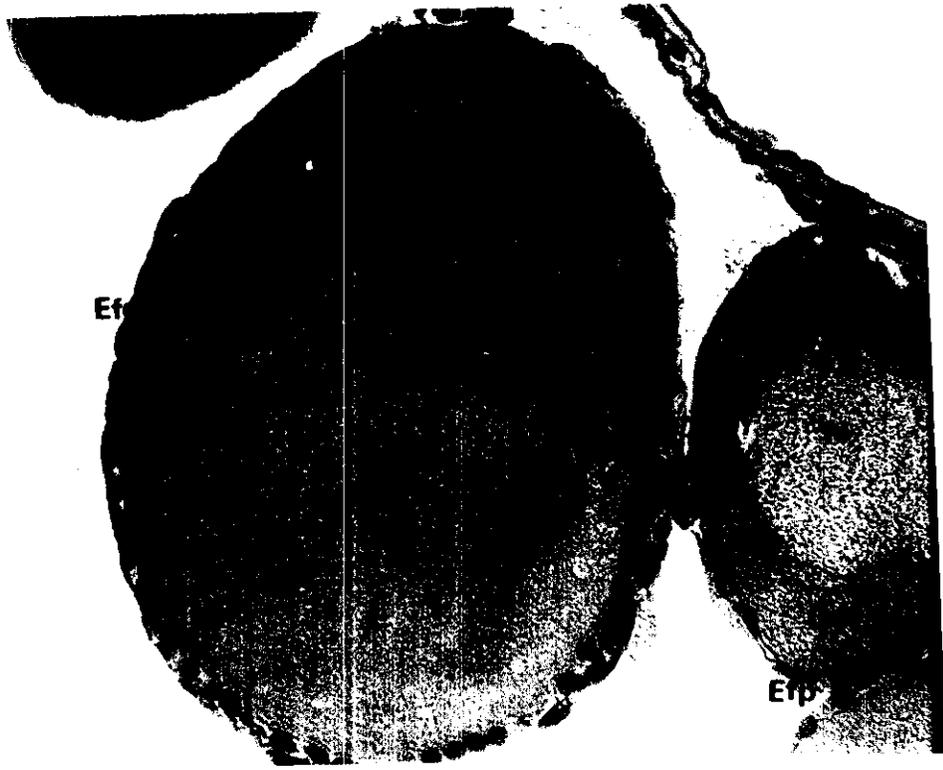


Figura 19A

Corte sagital de ovario. Hembra tratada.

Técnica H-E. 250X

Op Ovocito previtelogénico

Efp Epitelio folicular plano

Efc Epitelio folicular cúbico

N Núcleo

Ov Ovocito vitelogénico

Figura 19B

Corte sagital de ovario. Hembra tratada

Técnica H-E. 250 X

Efp Epitelio folicular plano

Efc Epitelio folicular cúbico

N Núcleo

Nu Nucleolos.

Ov Ovocito vitelogénico

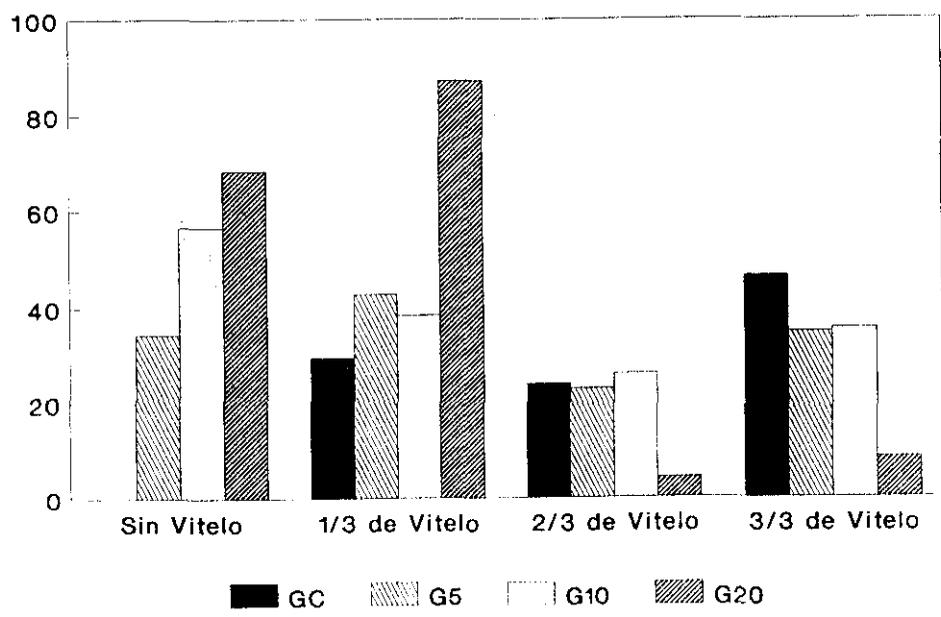
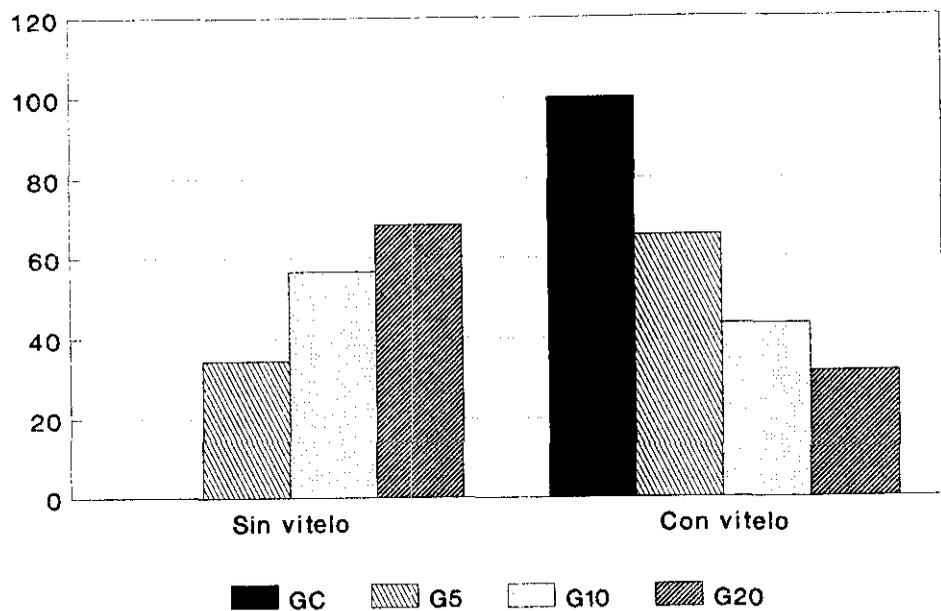


Figura 20 Distribución de ovocitos

DISCUSIÓN

Hasta donde conocemos este es el primer trabajo donde se analiza el efecto de la supresión de las hormonas tiroideas en el desarrollo gonadal de los urodelos.

El tratamiento con PTU provocó una disminución en el peso corporal de todos los animales; al mismo tiempo, sus efectos sobre la maduración gonadal en las hembras fueron disminución en el número de ovocitos por corte, en la proporción de ovocitos previtelogénicos y en la cantidad de vitelo. En el caso de los machos las modificaciones fueron sobre todo en la estructura, provocando una disminución en el área de los lóbulos y aumento en el tejido conectivo intersticial, así como mayor espermiación.

Una de las acciones de las hormonas tiroideas es un efecto estimulante sobre el crecimiento (Goodman, 1981), en este trabajo se encontró una tendencia del PTU a inhibir el crecimiento de forma dosis dependiente que alcanzó a ser significativa en el G20. Aunque no fue posible determinar la concentración de las hormonas tiroideas en el plasma de estos animales, la aplicación de un inhibidor de la síntesis y desyodación periférica de estas hormonas en el ajolote, produjo un retraso en el crecimiento, efecto bien demostrado en muchos mamíferos como la rata (Palmero y col. 1989); el hipotiroidismo en el hombre también produce falta de crecimiento (Ganong, 1988).

Uno de los parámetros que por considerarse importante, fue tomado en cuenta es el IHS, ya que el PTU en tratamientos prolongados tiene un efecto hepatotóxico que puede producir primeramente hepatitis y posteriormente atrofia hepática (Goodman y Gilman, 1981). En nuestros animales el efecto hepatotóxico se presentó asociado a la dosis así, G5 y G10 mostraron un IHS mayor que GC, el IHS de G20 mayor que GC pero menor que G5 y G10. Lo anterior sugiere que las dosis menores pudieron haber inducido hepatitis y a mayores dosis atrofia hepática, sin embargo no se hizo ningún estudio histopatológico que pudiera corroborar esta posibilidad.

Aquí el ITS no se modificó por el tratamiento con PTU; en la rata se ha mostrado que el hipotiroidismo inducido provoca un retraso en el crecimiento testicular (Palmero y col. 1989) y que el hipertiroidismo durante el desarrollo postnatal induce un incremento en el tamaño del testículo (Jannini y col. 1993), sin embargo, no se encontraron trabajos semejantes en anfibios que permitieran establecer comparaciones más cercanas. Aún así, en otro trabajo realizado, también en la rata, en el que se indujo el hipotiroidismo con PTU y I^{131} tampoco se encontraron diferencias en el peso testicular (Kallan y col. 1978).

En cuanto a la relación PCE/PC tampoco se observaron modificaciones en ninguno de los tratamientos con PTU. En contraste con nuestros resultados están los trabajos de Vilchez Martínez (1973) y Valle y col. (1986), en ambos casos observaron que la condición de hipotiroidismo se relaciona con un decremento en el peso de los órganos sexuales accesorios de la rata.

En otros estudios como los realizados por Francavilla y col. (1990) en ratas machos, en las que se indujo hipotiroidismo, pre y post natal, encontraron que el tratamiento con metimazol provocó un retraso en la maduración de las células germinales manifestándose en un desarrollo anormal de la gametogénesis, así como en modificaciones de diversos parámetros morfométricos tales como reducción del diámetro de los túbulos seminíferos, del número de células germinales por túbulo y malformación de las células de Sertoli, lo cual provoca alteraciones en el funcionamiento que afectan el desarrollo y la sobrevivencia de las células germinales.

Nosotros no encontramos afectado el desarrollo celular, ya que se observan lóbulos en los diferentes estadios de la espermatogénesis y en todos los grupos se mantienen las características estructurales descritas para Urodelos. De acuerdo a la descripción hecha por Lazar (1979) podemos asegurar que tenemos machos gonadalmente maduros en los cuales se observan estructuras definidas, con diferentes gradientes de maduración los cuales se presentan en forma longitudinal y en una dirección anteroposterior. Lo que coincide con otras descripciones en urodelos realizadas por Gómez Ríos (1989).

En todos los machos se observó que el PTU indujo un aumento de la superficie ocupada por el tejido conectivo; al presentar un incremento se esperaba que otras estructuras se encontraran modificadas, por lo cual se determinó el área de los lóbulos, en el caso de los lóbulos que contienen espermatogonias y espermatocitos se observó que el área fue menor en todos los grupos tratados en relación al grupo control (sin ser dosis/dependiente), en los lóbulos que presentan espermátidas y espermatozoides la disminución del área está en relación con el aumento de PTU.

Esto nos hace suponer que el tratamiento provocó alteraciones en las poblaciones celulares que se encuentran dentro de los lóbulos y al disminuir éstas disminuye el área dándose un aumento de tejido conjuntivo por sustitución (Bloom, 1987).

Para verificar que las modificaciones en el tejido conjuntivo fueron resultado de las alteraciones en las estructuras y poblaciones celulares encontradas en los lóbulos, se consideró el número de células en los lóbulos de espermatogonias y espermatocitos, la relación gonias/citos, y el diámetro y número de quistes por lóbulo.

Al analizar el número de células por lóbulo se encontró que la variabilidad intra grupos fue mayor que entre grupos lo cual no nos permite observar un efecto claro en los diferentes tratamientos. En el caso de los lóbulos con espermatogonias, la variabilidad intragrupos es tan grande que no se encuentran diferencias debidas al tratamiento; en los lóbulos con espermatocitos las diferencias encontradas son difíciles de explicar como consecuencia del tratamiento, ya que el GC y el G10 son iguales entre sí y menores a G5 y G20 que son a su vez iguales entre sí.

El análisis de la relación gonias/citos nos permite conocer si hay alteraciones en la proliferación celular, partiendo de la base de que en la espermatogénesis se espera obtener de cada espermatogonia un espermatocito primario y de éste dos espermatocitos secundarios (Gilbert, 1991), cuando se cuantificó el número de células en los diferentes tipos de lóbulos, se encontró para cada animal un número proporcional de células al crecimiento poblacional esperado hasta la primera división meiótica.

El diámetro y número de quistes por lóbulo tampoco mostraron diferencias significativas entre tratamientos en ningún tipo de lóbulo.

Si bien nuestros resultados nos inducen a pensar que no está alterada la gametogénesis, no hay que perder de vista que sólo lo podemos aseverar en cuanto a que se observa espermatogénesis completa por presencia de espermatogonias, espermatocitos, espermátides y espermatozoides. Sin embargo, la cuantificación de células y el crecimiento poblacional no se pudo realizar en los lóbulos de espermátides y espermatozoides debido a sus características morfológicas y el gran número en que se presentan, y fue en estos lóbulos en donde se observó que el área promedio disminuye de una manera dependiente de la dosis de PTU utilizada, por lo que se podría pensar de alteraciones en los últimos procesos de la espermatogénesis. Contrariamente a lo esperado, en los grupos tratados con PTU y principalmente en los tratamientos de 5 y 10 mg/l encontramos cambios característicos descritos en algunos anuros como zona de espermiación, estos mismos cambios se han encontrado en *A. tigrinum* (Uribe 1994, comunicación personal). Nuestros hallazgos indican un mayor avance en la maduración gonadal de los animales tratados.

Además, las células intersticiales de los grupos tratados muestran la citología característica de células con intensa actividad esteroideogénica descrita anteriormente. Lo cual, también es consistente con el acomodo de estas células en arcadas, tal como ocurre en la zona glomerular de la corteza suprarrenal.

Nuevamente surge la dificultad de comparar este hallazgo con trabajos similares realizados en anfibios. Sin embargo en otro tipo de trabajos Norris (1979) encontró en *A. tigrinum* que el índice gonadosomático mayor se encuentra cuando los niveles de hormonas tiroideas son más bajos, nosotros no encontramos diferencias en este parámetro entre los animales controles y los tratados pero sí en cuanto al avance de la espermiación.

Rastogli e Iela (1992) han sugerido que la tiroxina en anfibios tiene un papel estimulante de la proliferación de espermatogonias; en los animales tratados con PTU no se encontraron decrementos en este nivel.

Por el importante papel de las células de Sertoli como sostén del epitelio seminífero, transporte de proteínas y control del movimiento de las espermatídes (Vilar y col. 1979), además de tenerse evidencias sobre la existencia de receptores específicos a triyodotironina (T_3) en el núcleo de éstas células (Palmero y col. 1988) y pruebas de que el hipotiroidismo provoca alteraciones en su morfología y función (Francavilla y col. 1990), así como un retardo en la proliferación y diferenciación de las células de Sertoli (Van-Haaster y col. 1992), se consideró importante evaluar el diámetro mayor y menor de estas células, como indicadores de desarrollo y cambios morfológicos.

Para muchos investigadores en anfibios, la interacción entre el tejido intersticial (Células de Leydig) y el lóbulo en relación con estados específicos de la espermatogénesis permanece como una pregunta abierta. En trabajos realizados por Sing y Callard (1989) proponen que los andrógenos secretados por las células de Leydig pueden tener alguna influencia en la espermatogénesis vía células de Sertoli, además de que las secreciones de las células de Sertoli de sustancias difusibles pueden influir sobre las células de Leydig regulando la secreción de esteroides los cuales a su vez pueden actuar en la maquinaria sistémica vía hormonas hipofisarias.

Los resultados obtenidos nos indican que el PTU no provoco ningún tipo de modificaciones en cuanto a la morfología de las células de Sertoli ya que no se observaron diferencias significativas entre los grupos en relación al diámetro mayor y menor. Esto no nos asegura que pudieran existir algunas alteraciones en su funcionamiento, aunque si consideramos que en anfibios se sugiere la interacción entre células de Sertoli y de Leydig para la regulación hormonal y mantenimiento de la espermatogénesis, al no verse esta última afectada es probable que funcionalmente las células de Sertoli no presenten alteraciones lo cual no se pudo analizar en el presente trabajo.

El tratamiento con PTU produjo cambios más evidentes en las hembras, macroscópicamente los ovarios de los animales tratados eran mas pequeños y despigmentados. El IOS fue significativamente menor en los grupos tratados que en el GC, desde la dosis más

baja de PTU sin que se manifestara un efecto claro dosis-respuesta. La ausencia de datos relevantes publicados sobre este efecto nuevamente hace imposible comparar nuestros resultados con otros realizados en anfibios; sin embargo, los resultados concuerdan con los obtenidos en ratas adultas, a las que se les indujo hipotiroidismo con I^{131} ; en éstas se observó atrofia y disminución del peso de los ovarios el cual fue revertido con tratamiento de hormonas tiroideas (Ortega, 1990).

Las modificaciones en el peso ovárico pueden ser explicadas en los animales tratados por disminución en el número de células por corte y disminución en la cantidad de vitelo lo cual se pudo corroborar por medio del análisis histológico. Además es importante señalar que se encontró una correlación inversa entre el peso de los ovarios y el tratamiento.

Como se menciono anteriormente el peso del ovario puede estar influenciado por el número de ovocitos, en nuestros resultados es claro que el número de ovocitos en el grupo control es superior a los grupos tratados siendo en ocasiones hasta el doble de estos; lo cual nos hace suponer que el tratamiento está modificando la cantidad total de ovocitos por individuo, sin embargo, al realizar un análisis de correlación se encontró que el número de ovocitos es independiente del tratamiento.

Se ha visto que en la mayoría de los óvulos de los anfibios existe en la zona cortical del polo animal una cantidad de pigmento. Este se forma posterior a las plaquetas vitelinas en aquellos ovocitos que han alcanzado la mitad de su diámetro total (Balinsky, 1978).

En nuestras observaciones la disminución en el peso de los ovarios esta acompañada de un menor número de ovocitos por corte. Es decir, el tratamiento produjo una hipoplasia pero no una hipotrofia del ovario. Así nos encontramos con ovocitos por cuyas características son vitelogénicos, pero sin o con poco vitelo en los grupos tratados, la falta de vitelo puede ser la causa de la ausencia de pigmentación en estas estructuras.

En especies como el *A. mexicanum* es común encontrar en un ovario ovocitos en todos los estados de maduración (Gilbert, 1992). En este estudio encontramos ovocitos

previtelogénicos pequeños y grandes así como ovocitos vitelogénicos con diferente cantidad de vitelo, es decir, existen ovocitos en todas las etapas de la maduración.

Dentro de las características distintivas de los ovocitos vitelogénicos se encuentra la presencia de gran número de nucleolos localizados en la periferia del núcleo, se sabe que la formación de estos nucleolos es el resultado de un aumento del número de genes que codifican RNA ribosomal debido a la necesidad de éste durante el crecimiento del ovocito (Balinsky, 1978). Tanto en el GC como en los grupos tratados, los ovocitos vitelogénicos tenían esta característica; aún cuando en los grupos tratados muchos ovocitos no tuviesen vitelo.

En los ovocitos vitelogénicos la presencia de vitelo y la ubicación de éste se dio de acuerdo a lo descrito para anfibios (Houillon, 1978) en los cuales al iniciarse la vitelogénesis aparecen las plaquetas vitelinas en la periferia del ovocito y conforme avanza su madurez, por una fuerza centrípeta se dirigen hacia el centro, así mismo se observa un gradiente denominado citovitelino que crece del polo animal al vegetal.

En estudios realizados en *Xenopus* (Huber, 1979) y en aves (Sekimoto, 1990) se propone que la síntesis de vitelogenina es dependiente de estrógenos y hormonas tiroideas. En estudios realizados en *Xenopus* se ha propuesto que la T_3 funciona como una co-hormona con el estradiol en la inducción de la síntesis de vitelogenina (Wang, 1982) y que la regulación de los ejes hipotálamo-hipófisis-tiroideas e hipotálamo-hipófisis-gonada dependen de los niveles circulantes de estradiol (Jacobs, 1988), además se ha visto que en *Xenopus* la aparición de la síntesis de vitelogenina es un evento postmetamórfico, el hígado de la rana no adquiere competencia para responder a estrógenos hasta después de la metamorfosis por lo cual la capacidad de responder los hepatocitos a estrógenos es un evento dependiente de hormonas tiroideas (Ho, 1987). El hallazgo de ovocitos vitelogénicos sin vitelo en los grupos tratados con PTU pudo deberse a las siguientes dos causas. Una sería que al requerirse de la participación conjunta de hormonas tiroideas y estradiol para la síntesis de vitelogenina y no darse ésta se vea alterada la vitelogénesis. Otra causa podría deberse a modificaciones en la secreción de niveles adecuados de estradiol los cuales son requeridos para estimular la síntesis

de vitelo a nivel hepático o bien, a daño en el hígado causado por el tratamiento, esto último no se puede demostrar ya que no se realizó un estudio histopatológico del hígado.

En cuanto a la síntesis de estradiol, si bien, no se hicieron determinaciones hormonales sabemos que ésta hormona se sintetiza en las células foliculares y es requerida para el crecimiento y diferenciación de los ovocitos, proceso que se da en todos los grupos, además el cambio de epitelio folicular plano a cúbico nos indica actividad en cuanto a síntesis de hormonas por lo cual es difícil pensar que haya una deficiencia de estradiol.

En general podemos decir que el tratamiento con PTU presentó efectos más claros sobre la maduración gonadal en las hembras que en los machos, ya que en los ovocitos se vieron alterados los procesos de crecimiento y diferenciación; en los machos los cambios se manifestaron en relación a la estructura del testículo por aumento de la superficie ocupada de tejido conectivo y disminución del área de los lóbulos pero no en cuanto a la espermatogénesis.

BIBLIOGRAFIA

- Aceves V. C., y Valverde C. (1987) Lactación homeorresis y hormonas tiroideas. Vet. Mex. 18: 215-228.
- Akande E. O. and Hockady T. D. R. (1972) Plasma oestrogen and luteinizing hormone concentration in thyrotoxic menstrual disturbance. Proc. R. Soc. Med. 65: 789 Citado por: Yen S. C. and Jaffe R. B. (1978) Reproductive endocrinology. Physiology, pathophysiology and clinical management. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Altschuler L. R., Ceppi J. A., Ritta M. N., Calandra R. S., and Zaninovich A. A. (1988). Effects of thyroxine on oestrogen receptors concentrations in anterior pituitary and hypothalamus of hypothyroid rats. J. Endocrinol. 119: 383-387.
- Ando S., Panno, M. L., Beraldi E., Tarantino, G., Salerno M., Palmero S., Prati, M. and Fugassa E. (1990) Influence of hypothyroidism on *in-vitro* testicular steroidogenesis in adult rats. Exp. Clin. Endocrinol. 96: 149-156.
- Armstrong J. B. and George M. M. (1989) Developmental Biology of the axolotl. Oxford University Press. New York. 311 pp.
- Balisnky B.I. (1978) Oogénesis. En: Introducción a la embriología. Ed. Omega. Barcelona pp 32-66.
- Bennett G.W. and Whitehead S.A. (1983) Control of thyroid stimulating hormones. En Mammalian neuroendocrinology. Oxford University Press. New York. 139-153.
- Bern H. A., Nicoll, C. S. and Strohman R. C. (1967) Prolactin and tadpole Growth. Exp. Biol. Med. 126: 518-528.
- Bloom-Fawcett. (1987) Tratado de Histología. Ed. Interamericana. 11a ed. México. 1026 pp.
- Blount R.F. (1950) The effects of heteroplasic hypofisial grafts upon the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. J Exp. Zool. 113: 717-739.

- Brandon A. R. (1989) Natural history of the axolotl and its relationship to other ambystomatid salamanders. En Armstrong J.B. and George M. M: Developmental Biology of the Axolotl. Oxford University Press 13-22.
- Brachet J. I. (1975) En: Introducción a la embriología Molecular. Ediciones H. Blume. Madrid. p. 52
- Bruni J. F., Marshall S., Dibbert J. A., and Meites J. (1975) Effects of hyper and hypothyroidism on serum LH and FSH levels in intact and gonadectomized male and female. Endocrinol. 97: 558-563.
- Chieffi G. and Pierantoni R. (1987) Regulation on ovarian steroidogenesis en: Norris D.V. and Jones R.E. Hormones and Reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum Press New York-London 117-142.
- Chmielewski S., Kaleczyc J. and Lakomy M. (1988) Age, oestrus cycle, lactation and the AchE-positive innervation of the thyroid gland. Zool. Jb. Anat. 117: 91-99.
- Cockrum L. E (1982) Clase Amphibia: Los anfibios. Zoología. Ed. Interamericana. México pp 513-525.
- Cornell J. S. and Pierce J. G. (1973) The subunits of human pituitary thyroid-stimulating hormone. J. Biol. Chem. 248: 4327-4332
- Corrales-Hernández J. J., Miralles-García J. M., García-Diez L.C. (1990) Primary hypothyroidism and human spermatogenesis. Arch. Androl. 25: 21-27.
- Daniel W. W. (1985) Bioestadística, bases para el análisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa. México.
- Danilchik M. V., and Gerhart, J. C. (1987) Differentiation of the animal-vegetal axis in *Xenopus laevis* oocytes: Polarized intracellular translocation of platelets establishes the yolk gradient. Dev. Biol. 122: 101-112
- Darras V. M., and Kuhn E. R. (1983) Effects of TRH, bovine TSH, and pituitary extracts on thyroidal T₄ release in *Ambystoma mexicanum*. Gen. Comp. Endocrinol. 51: 286-291.

- Ducibella T. (1974) The occurrence of biochemical metamorphic events without anatomical metamorphosis in the axolotl. Dev. Biol. 38: 175-186.
- Dumont (1972) en: Zuckerman L. (1977) The ovary. Academic Press. New York. 517 pp
- Dyer R. G., and Dyball R. E. S. (1974) Evidence for a direct effect of LRF and TRF on single unit activity in the rostral hypothalamus. En Yen S. C. and Jaffe R. B. (1978) Reproductive endocrinology. Physiology, pathophysiology and clinical management. W. B. Saunders. Philadelphia.
- Dym M. and Fawcett D. W. (1971) Further observations on the number of spermatogonia, spermatocytes and spermatids connected by intercellular bridges in the mammalian testis. Biol. Reprod. 4: 195-215.
- Etkin W. (1966) Hypothalamic sensitivity to thyroid feedback in the tadpole. Neuroendocrinology 1: 293-302.
- Etkin W. and Gilbert L. F. (1968) Metamorphosis: a problem in developmental biology. "Survey of amphibian metamorphosis". North Holland. pp 272-311.
- Fleischmann T. (1951) Comparative physiology of the thyroid glands. Charles C. Thomas Publisher 78 pp.
- Francavilla S., Cordeschi G., Properzi G., DiCicco L., Jannini E. A., Palmero S., Fugassa E., Loras B., D'Armiento M. (1990) Effect of thyroid hormone on the pre and post natal development of the rat testis. J. Endocrinol. 129: 35-42
- Franklin J. A., Wood D. F., Balfour N. J., Ramsden D.B., Docherty K., and Sheppard M. C. (1987) Modulation by oestrogen of thyroid hormone effects on thyrotrophin gene expression J. Endocrinol. 115: 53-59.
- Galton V.A. (1989) The role of 3,5,3'-triiodothyronine in the physiological action of thyroxine in the premetamorphic tadpole. Endocrinol. 124: 2427-2433.
- Galton V.A. (1992) Thyroid hormone receptors and iodothyronine deiodinases in the developing mexican axolotl *Ambystoma mexicanum*. Gen. Comp. Endocrinol. 85: 62-70.

- Ganong F. W. (1988) La glándula tiroides. Fisiología Médica. El Manual Moderno. 11a. ed. México. pp 692.
- Gilbert S. F. (1991) "Cell interaction at a distance: hormone as mediators of development" Developmental Biology: Chapter 19. Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland. Massachusetts pp 685-713. 788-825.
- Gilbert S. F. (1991) The sage of the germ line. En: Developmental Biology. Ed. Sinauer Associates Inc. Sunderland Massachusetts pp 778-825.
- Gómez R. C., López A. C. y Uribe M. C. A. (1989) Espermatogénesis en el anfibio urodelo *Ambystoma dumerilii*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Oaxtepec Mor.
- Goodman A., Goodman L., y Gilman A. (1981) Las bases farmacológicas de la terapéutica. 6a. ed. Ed. Panamericana. Buenos Aires. pp 1365-1385.
- Gofni M., Sirkis N. and Gross J. (1975) Inhibition of the response of mouse thyroid to thyrotropin induced by chronic triiodothyronine treatment. Endocrinol. 97: 1256-1261
- Gorbman A. (1964) Endocrinology of the amphibian, Citado por: "Physiology of the amphibian". Academic Press. New York. pp 371-425.
- Green W. L. (1986) Antithyroid compounds. Citado por: Pekary y col. (1986) Thyroid hormones modulation of thyrotrophyn realign hormone (TRH) and TRH-Gly levels in the male reproductive system. J. Endocrinol. 114: 271-277.
- Greeman G. W., Gabrielson M. A., Howard-Flanders and Wessel M. A. (1962) Thyroid dysfunction in pregnancy, fetal loss and follow up evaluation of surviving infants. N. Engl. J. Med. 267: 426 in Yen S. C. and Jaffe R. B. (1978) Reproductive endocrinology. Physiology, pathophysiology and clinical management. W. B. Saunders. Philadelphia
- Hagino N. (1971) Influence of hipothyroid state on ovulation in rat. Endocrinol. 88: 1332-1337.

- Harris A. R. C., Vagenakis A. C., Braverman L. E. (1979) Sex related differences in outer ring monodeiodination of thyroxine and 3,3',5'triiodothyronine by rat liver homogenates. Endocrinol. 104: 645-652.
- Ham. R. G. and Veomett M. J. (1980) Control acting at the cytoplasmic level. Posttranslation modification of proteins. Mechanism of development. The C.V. Mosby Co. London pp 303-311.
- Hernández F. (1959) "Historia Natural de la Nueva España". Universidad Nacional Autónoma de México. Vol II. México. pp 390-391.
- Houillon, Ch. (1978) "Determinismo de la metamorfosis en los anfibios." En: Embriología. Ed. Omega. Barcelona. pp 43-54.
- Houillon, Ch. (1978) Sexualidad. Ed. Omega. Barcelona. pp 43-54
- Ho Shuk-mei (1987) Endocrinology of vitellogenesis. en: Norris D.O. and Jones R.E. Hormones and Reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum Press. New York-London. pp 145-169.
- Huber S., Ryffel G.V. and Weber R. (1979) Thyroid hormone induces competence for oestrogen dependent vitellogenin synthesis in developing *Xenopus laevis* liver. Nature 278: 65-67.
- Jacobs G. F. M., Goyvaerts M. P., Vandorpe G., Quaghebeur A. M. L. and Kühn E. R. (1988) Luteinizing hormone releasing hormone as a potent stimulator of the thyroidal axis in Ranid frogs. Gen. Comp. Endocrinol. 70: 274-283.
- Jannini E. A., Olivieri M., Francavilla S., Gulino A., Ziparo E. and D'Armiento M. (1990) Ontogenesis of the nuclear 3,5,3'triiodothyronine receptor in the rat testis. Endocrinol. 126: 2521-2526.
- Jannini E. A., Ulise S., Piersante D., Carosa E., Meyi P., Lazar J., D'Armiento M. (1990) Early thyroid hormone treatment in rats increases testis size and germ cell number. Endocrinol. 132: 2726-2728.

- Kalland G. K., Vera A., Peterson M., and Swderdloff R. (1978) Reproductive hormonal axis of the male rat in experimental hypothyroidism. Endocrinol. 102: 476-484.
- King J. A. and Millar R. P. (1981) TRH, GHRH, and LHRH in metamorphosis *Xenopus laevis*. Gen. Comp. Endoc. 44: 20-27.
- Krekels M. D., D'Wouters W. and De Coster R. (1990) Aromatase inhibitions by R76713: a kinetic analysis in rat ovarian homogenates. Steroids 55: 69-73.
- Kurtz D. T., Sippel A. E. and Feigelson P. (1976) Effect of thyroid hormones on the level of the hepatic mRNA for the alpha 2a. globulin. Biochem. 15: 1031-1038.
- Lamers W. H., Vink C., and Charles R. (1978) Role of thyroid hormones in the normal and glucocorticoid hormone induced evolution of carbamyl-phosphate synthase (ammonia) activity in axolotl liver. Comp. Biochem. Physiol. 59: 103-110.
- Lazard L. (1974) Etude histochimique comparée de la Delta 5-3beta HSDH du testicule de L'Axolotl normal ou transplanté dans un hôte mâle ou femelle. Gen. Comp. Endocrinol. 24: 314-325.
- Lazard L. (1976) Spermatogenesis and 3 beta HSDSH; activity in the testis of the Axolotl. Nature 264: 796-797.
- Leake L. (1975) An introduction to the microscopic structure of animals. Comparative histology. Academic Press. London 738 pp
- Leadtherland J.F. (1987) Thyroid hormones and reproduction. en: Norris D.O. and Jones R.E. Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum Press. New York-London pp 411-432.
- Lobo J. T., Bellino F. L. and Bankert L. (1985) Estrogen synthetase activity in human term placental cell monolayer culture. Endocrinol. 116: 889-895.
- Lofts B. (1987) Testicular function. en: Norris D.O. and Jones R.E. Hormones and reproduction in fishes, amphibians and reptiles. Plenum Press. New York-London- pp 283-326.

- Lynch M., Raphael S., Millor L., Spare P., and Inwood M. S. (1969) Medical laboratory technology and clinical pathology. 2a. ed. W.b. Saunders Co. Philadelphia pp. 1359.
- Lynn (1961) Biochemistry of amphibian metamorphosis en: More J. A. (1974) Phisiology of the amphibian Ed. Weber Rudolf.
- Maisterrena J. A., Tovar E. and Chávez A. (1969) Endemic Goiter in México and its changing pattern in a rural comunity. En Endemic Goiter. Ed. por John B Sarbury Panamerican Health Organization. Sci. Pub. 193. México. pp 397-410.
- Marcato P. S. (1990) Anatomía e histología patológica especial de los mamíferos domésticos. 2a. ed. Ed. McGraw Hill. pp 247.
- Maurer R. A. (1982) Thyroid hormones specifically inhibits prolactin synthesis and prolactin messenger ribonucleic acid levels in cultured pituitary cells. Endocrinol. 107: 1507-1514.
- Michnovicz J. J. and Galbraith R. A. (1990) Effects of exogenous thyronine on C-2 and C-16 α hydroxylations of estradiol in humans. Steroids 55: 22-26.
- Mulner Ol., Thibier C. adn Ozon R. (1978) Steroid biosynthesis by ovarian follicles of *Xenopus laevis in vitro* during oogenesis. Gen. Comp. Endocrinol. 48: 440-451.
- Norris D. O., Jones R. E., and Creley B. B. (1973) Pituitary prolactins levels in larval, neotenic and metamorphose salamandres (*Ambystoma tigrinum*). Gen. Comp. Endocrinol. 20: 437-442.
- Norris D. O. and Gern W. A. (1976) Thyroxine induced activation of hypotalamus axis in neotenic salamander larve. Science 194: 525-527.
- Norris D.O., Duval D., Greendale K. and Gern W.A. (1979) Thyroid function in pre and postspawning neotenic tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). Gen. Comp. Endocrinol 33:512-517.
- Ortega E., Rodriguez E., Ruiz E., Osorio C. (1990) Activity of the hypotalamus-pituitary ovarian axis in hypothyroid rats with or withouth triiodothyronine replacement. Life Sci. 46: 391-395.

- Palmero S., Maggiani S. and Fugassa E. (1988) Nuclear Triiodothyronine receptors in rat Sertoli cells. Molec. and cell. Endocrinol. 58: 235-256.
- Palmero S., Marchis M., Gallo G., and Fugassa F. (1989) Thyroid hormone affects the development of Sertoli Cell function in the rat. J. Endocrinol. 123: 105-111.
- Palmero S., Prati M., de Marco P., Trucchi P., and Fugassa E. (1992) Developmental regulation of Sertoli cell metabolism by thyroid hormones. 7th European Workshop on Molecular and celular Endocrinology of the testis Caste Elman Germany. May 5-10.
- Pan J.T., and Che Ch. W. (1990) Increased plasma prolactin levels in ovariectomized thyroidectomized rats treated with estrogen. Endocrinol. 126:3146-3152
- Paniagua R. y Nistal M. (1983) Introducción a la Histología animal comparada. Ed. Labor. Barcelona. pp 438.
- Peppler R. D., Hess M. and Dunn S. D. (1975) Compensatory ovulation after unilateral ovariectomy in thyroectomized rats. J. Endocrinol. 66: 137-141.
- Peyrot A., Vellano C., Andreoletti G. E., Pons G. and Bicotti M. (1971) On the activatin effect of prolactin on thyroid metabolism in the reseted new. Comparison between the effect of prolactin and methyltiouracil. Gen. Comp. Endocrinol. 16: 524-534.
- Prahlad K. V. and deLanney L. E. (1965) A study of induced metamorphosis in the axolotl. J. Exp. Zool. 160: 137-146.
- Rastogli R. K. and Iela L. (1992) Spermatogenesis in amphibia, dynamics and regulation. Sex origin and evolution 6: 231-249.
- Rolic T. (1927) Relative activity of thyroids of axolotl and amblystoma. En: Fleiscmann W (1951) Comparative Physiology of the thyroid and parathyroid glands. Charles C Thomas Publisher. . pp 78
- Ruder H. P., Corval J. A., Mahoudeau A. (1971) Effect of induced hyperthyroidism on steroid metabolism in man. J. Clin. Endocrinol. Metab. 33: 382-387
- Sanborn B. M., Wagle J. R., Steinberger A. and Greer-Emmert D. (1986) Maturational and hormonal influences on Sertoli cell. Endocrinol. 118: 1700-1709.

- Schoutens A., Laurent E., Markowicz E., Lisart J. and Maetelaer V. (1991) Serum triiodothyronine, bone turnover and bone mass changes in Euthyroid pre and postmenopausal women. Calcif. Tissue Int. 49: 95-100.
- Sekimoto K., Imai K., Kato Y. and Takikawa H. (1990) Acute decrease in vitellogenin synthesis by deprivation of food and water in laying hens. Endocrinol. Japon 37: 319-330.
- Shaffer H.B. (1989) Natural history, ecology and evolution of the Mexican "Axolotls". Axolotl newsletter pp.5-11
- Sing S y Callard G. V (1989) en Rastogli R. K. e Iela L. (1992) Spermatogenesis in amphibia: dynamics and regulation. Sex origin and evolution 6: 231-249
- Smith H.M. (1989) The axolotl in its native habitat. Axolotl newsletter. pp. 12-17
- Spaulding S.W. dand Burrow G.N. (1972). Several adenosine 3'-5' monophosphate dependent protein kinases in thyroid. Endocrinol 91: 1343-1349
- Tauroug A., Oliver Ch., Eskay R., Porter J. and McKenzie J.M. (1974) The role of TRH in the neoteny of the mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*) Gen. Comp. Endocrinol. 24: 267-279.
- Tata J. R. and Widnell C. C. (1963) Ribonucleic acid synthesis during the early action of thyroid hormones. Biochem. 98: 609-613
- Tompkins R. (1977) Metamorphic events in the axolotl. Axolotl newsletter) No. 18.
- Tulchinsky D., and Chopra I. J. (1973) Competitive ligand-binding assay for measurement of sex hormone binding globulin (SHBG). J. Clin. Endocrinol. Metab. 37: 873-881
- Valle L. B. S. Oliveira-Filho R. R., Romaidini J. H. and Lara P. F. (1985) Pituitary-testicular axis abnormalities in immature male hypothyroid rats. J. of Steroid 23: 253-257.
- Valverde R. C., Orozco R. A., Aceves R. C. y Romero R. C. (1989) Control y regulacion de la funcion tiroidea En Texto de Fisiología. Editado por Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiologicas y PRONFOPAB SEP.

- Van-Haaster L. H., De-Jong F. H., Docter R., Rooij D.J. (1992) The effect of hypothyroidism on Sertoli cell proliferation and differentiation and hormone levels during testicular development in the rat. Endocrinol 131: 1574-1576.
- Velardo M, Pantaleon M., Zironi C., Zizzo G. and Marrama P. (1991) Evidence of altered dopaminergic modulation of prolactin and thyrotropin secretion in patients with polycystic ovary syndrome. Horm. Res. 35: 4-7
- Vilar O., Pérez Lloret A. y Mancini R. (1979) Morfología testicular y espermatogénesis. En: Reproducción. Editado por Cobo E., López Escobar G. y Pérez Palacios G. CCRP. Bogotá. 243-270.
- Vilchez-Martínez J.A. (1973) A study of the pituitary testicular axis in hypothyroid adult male rats. J. Reprod. Fertil. 35: 123-128.
- Wang L. J. and Schnuder W. (1982) Thyroid hormones are corequisites for estradiol 17 β in vitro induction of *Xenopus* vitellogenin synthesis and secretion. Dev. Biol. 89: 287-293.
- Weber R. (1967) The biochemistry of animal development. "Biochemistry of amphibian metamorphosis". vol. 2 ed. A. Press New York. 227-295.
- Weiz P. B. (1974) Vertebrados: Tetrápoda. La ciencia de la Zoología. Ed. Omega. 2a. Ed. Barcelona. pp. 853-856.
- Yen S. C. and Jaffe R. B. (1978) The thyroid gland and reproduction. En: Reproductive endocrinology. Physiology, pathophysiology and clinical management. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
- Zaninovich A. A., Boado R., Degrossi O., Bromage U. and Matty A.J. (1979) Inhibition of thyroidal iodine release by estrogens in patients with hyperthyroidism J. Clin. Endocrinol. Metab. 49: 533-537.