

03068

1
19j



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y POSTGRADO
DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

PARTICIPACION DE HORMONAS ESTEROIDES EN
LA DIFERENCIACION SEXUAL HIPOTALAMICA
I. CAPACIDAD DE ALGUNOS PREGNANOS PARA
CONTRARRESTAR LA VIRILIZACION

Sección de Neuroendocrinología. Unidad de Investigación
Biomédica, Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano
del Seguro Social.

JOSE ALONSO FERNANDEZ GUSTI

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	Pag.
EFFECTO DE HORMONAS GONADALES SOBRE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL HIPOTALAMO	1
REGULACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GONADOTROFINAS	4
Regulación Neural	4
Regulación Hormonal	8
EL Fenómeno de Virilización Hipotalámica	11
Protección contra la virilización	16
Capacidad de algunos pringanos para contrarrestar la virilización	20
DISCUSIÓN	21
Acción de Hormonas Esteroides sobre Sistemas neuronales en desarrollo	23
APÉNDICE 1	30
ADDENDUM	32
REFERENCIAS	34

EFFECTO DE HORMONAS GONADALES SOBRE LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL HIPOTALAMO

Entendemos por diferenciación sexual cerebral el proceso durante el cual los cerebros de hembras y machos, experimentan transformaciones moleculares, celulares y anatómicas, que determinan diferencias en la actividad cerebral de ambos sexos. Como señalaremos más adelante, el establecimiento de dichas diferencias no es resultado directo de la expresión genómica, sino que depende en gran medida del medio hormonal al cual esté expuesto el cerebro durante un periodo crítico de su desarrollo. Es objetivo de este trabajo presentar una visión general sobre la diferenciación sexual del área preóptica (APO) - hipotálamo y proponer una secuencia de eventos celulares que pudieran mediar dicho proceso.

Phoenix, Goy, Gerall y Young propusieron en 1959 que las acciones de hormonas esteroides podían ser de dos tipos: activacionales u organizacionales. Consideraban dentro de las primeras a todos aquellos efectos que ejercían las hormonas sobre un órgano blanco-tejidos periféricos o sistema nervioso central, (SNC)- ya consolidado y que resultaban en la activación transitoria de algún mecanismo específico inherente al órgano mismo. Las acciones organizacionales, por el contrario, eran aquellas que ejercían las hormonas sobre un tejido en desarrollo. Su efecto consistía en dirigir permanentemente la organización de dicho tejido.

Sobre estos últimos efectos nos referiremos en el presente

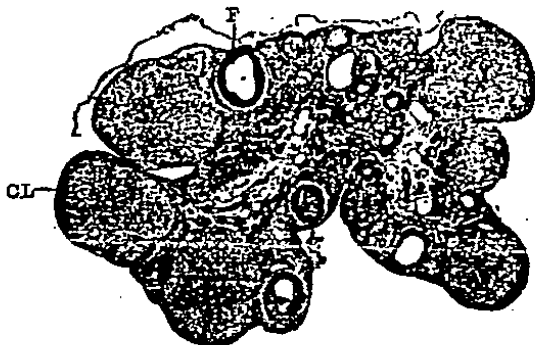
trabajo, ya que la diferenciación sexual del APO-hipotálamo es una consecuencia de la acción organizacional de hormonas esteroides. Es decir, las hormonas esteroides ejercen sobre el hipotálamo en desarrollo, efectos específicos que se manifiestan en el animal adulto como alteraciones permanentes de la fisiología reproductiva.

Pfeiffer, en 1936, ampliando lo observado por Goodman (1934) y por Clark (1935) investigó los efectos de la presencia de hormonas gonadales en el período neonatal sobre la fisiología reproductiva del adulto. Sus resultados establecieron: a) la orquidectomía neonatal en el macho permite que un ovario normal trasplantado al animal adulto se desarrolle como el de una hembra normal, i.e., con folículos y cuerpos lúteos, estos últimos indicadores de ovulación; b) la ovariectomía neonatal en la hembra no tiene ningún efecto sobre el desarrollo normal de un ovario trasplantado en el adulto, ni sobre el ciclo estral; c) la presencia del testículo en el macho, desde el nacimiento hasta la edad adulta, resulta en la incapacidad de un trasplante ovárico para ovular en el animal adulto, i.e., se observan en él solamente folículos y ningún cuerpo lúteo; d) la implantación neonatal de testículos a la hembra (androgenización) trae como consecuencia la supresión de la ovulación y la alteración del ciclo estral. Se observa cornificación vaginal persistente acompañada de falta de cuerpos lúteos en los ovarios (Ver Fig. 1). De estos datos Pfeiffer concluyó que la hipófisis se encontraba indiferenciada sexualmente al nacimiento y poseía de manera latente

la capacidad de secretar cíclicamente hormona luteinizante (LH). En presencia de alguna secreción testicular la glándula se diferenciaba sexualmente hacia macho, con lo cual perdía permanentemente su capacidad de secreción cíclica de gonadotrofinas (GTH). Posteriormente, otros investigadores (Mazer y Mazer, 1939; Bradbury, 1941; Huffman, 1941; Shay, 1939; Wilson y Young, 1941; Selye, 1940) realizando el mismo tipo de experimentos confirmaron los datos de Pfeiffer y aceptaron la explicación propuesta.

En 1952 Harris y Jacobsohn observaron que trasplantes de hipófisis de machos normales a hembras hipofisectomizadas, restauraban en ellas las funciones reproductivas. Lo mismo sucedía al trasplantar la hipófisis de una hembra androgenizada neonatalmente a una hembra normal. Estos resultados, confirmados posteriormente (Martínez y Bittner, 1956; Segal y Johnson, 1959), obligaron a reinterpretar los hallazgos de Pfeiffer. Así, Harris y Jacobsohn (1952) sugirieron que la acción de las hormonas gonadales durante el periodo neonatal, se ejercía sobre los centros neurales reguladores del funcionamiento hipofisario y no sobre la glándula misma o los ovarios; al ser éstos trasplantados a una hembra normal, se observaba en ellos un desarrollo adecuado de folículos y cuerpos lúteos. A continuación describiremos la regulación de la liberación de gonadotrofinas señalando las diferencias entre hembras y machos.

A.



B.

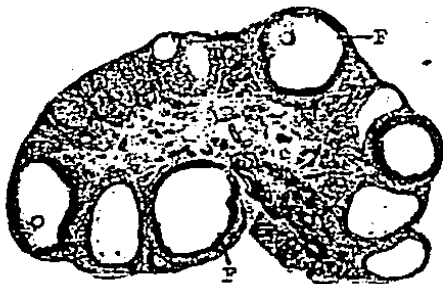


Fig. 1. Cortes de ovario de una rata normal (A) y de una rata androgenizada neonatalmente (B). Nótense la ausencia de cuerpos lúteos (CL) y la abundancia de folículos (F) en B.

REGULACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GONADOTROPINAS

La actividad reproductiva en la hembra presenta fluctuaciones cíclicas que se manifiestan como cambios en receptividad sexual, histología vaginal, actividad ovárica y niveles de gonadotropinas (Harris, 1964; Gorski, 1966, Flerkó, 1966).

Se ha demostrado que en la hembra, en contraste con lo que sucede en el macho, existe un sistema encargado de liberar cíclicamente hormona luteinizante (LH) de una manera brusca y en cantidad suficiente para producir la ovulación. Varios experimentos (Goodman, 1934; Pfeiffer, 1936 a, b; Kempf, 1950; Takewaki, 1962a, b) han demostrado, utilizando trasplantes ováricos al macho, que la secreción de gonadotropinas en este sexo es de tipo tónico. En estos ovarios trasplantados a machos se presentan desarrollo folicular y constante secreción de estrógenos pero nunca ovulación; debido a una falta de secreción brusca de LH. La inyección de la gonadotropina (LH) invariablemente induce la ovulación en dichos ovarios.

A continuación describiremos los dos mecanismos que participan en la regulación de la liberación de gonadotropinas.

Regulación Neural

Moore y Price en 1932 fueron los primeros en sugerir que las variaciones cíclicas, características de la hembra, podían explicarse como una interrelación entre ovario y adenohipófisis. Poco des-

pués Hohlweg y Junkmann (1932) propusieron que el hipotálamo estaba intercalado como un intermediario entre el ovario y la hipófisis. Esto quería decir que el ritmo de secreción de las hormonas de aquellas glándulas, no era intrínseco a las mismas sino que les era impuesto por el hipotálamo.

Con esta idea varios grupos (Harris, 1937; Haterius y Derbyshire, 1937; Marshall y Verney, 1936) estudiaron el efecto de la estimulación eléctrica del hipotálamo sobre la secreción de gonadotrofinas (GTH) y observaron que invariablemente ocurría la ovulación. Markee, Sawyer y Hollinshead (1946), Sawyer (1949), Kirotzu, Kurachi y Bau (1950, 1952), Everett (1961 a), Everett y Radford (1961) y Greep (1961) ampliaron la región de estimulación e incluyeron al área preóptica (APO), hipotálamo ventromedial (HVM), tuber cinereum, tallo hipofisiario e hipófisis. Notaron que ocurría la ovulación al estimular las tres primeras estructuras (APO, HVM y tuber cinereum), mas no cuando se estimulaba el tallo hipofisiario o la hipófisis.

Estudios posteriores, utilizando técnicas de estimulación y lesión, lograron delimitar dos regiones hipotalámicas relacionadas con la regulación de la liberación de GTH en la hembra: a) el área del hipotálamo anterior-área preóptica (HA-APO) y b) la región del hipotálamo ventromedial-núcleo arcuato (HVM-nARC). Los resultados obtenidos podemos resumirlos como sigue:

a) Hipotálamo anterior-área preóptica.

1. La estimulación de esta área provoca la ovulación (Everett y Radford, 1961; Flerkó, 1966).

2. Lesiones eléctricas o electrolíticas provocan la aparición del síndrome de estro persistente evidenciado por ovarios polifoliculares, cornificación vaginal continua y anovulación, consecuencia de una constante secreción de estrógenos ováricos, (Critchlow, 1958; Hillarp, 1949; Dey, 1941; Kobayashi, Sato, Maruyama, Arai y Takesawa, 1959; D'Angelo y Krawatz, 1960; Taleisnik y Cown, 1961; Takewaki, 1962 a, b; Van Dyke, Simpson, Lepkowsky, Koneff y Brobak, 1957).

3. La interrupción mecánica de las vías que conectan el APO con área hipofisiotrópica (nARC, porción ventral del núcleo periventricular anterior y regiones parvicelulares medias del área retroquiasmática) impide la ovulación (Halász y Pupp, 1965; Halász y Gorski, 1967, Halász, 1969).

4. El aislamiento mecánico del hipotálamo, dejando intactas las conexiones entre el APO y el HVM no altera la ovulación (Köves y Halász, 1970; Kaasjager, 1971).

b) Hipotálamo ventromedial-núcleo arcuato-eminencia mediana.

1. La estimulación eléctrica produce la ovulación en la hembra (Critchlow, 1958; Barraclough, 1966; Gorski, 1966).

2. Lesiones electrolíticas provocan atrofia gonadal tanto en

machos como en hembras. (Dey, 1940, 1941; Brookhart, 1941; Bogdanove y Halini, 1953; Flerkó, 1953; Laqueur, McCann, Schreiner, Rósemberg, Reich y Anderson, 1955; Cook, 1959; Davidson y Ganong, 1960; Bogdanove, 1964).

Si bien es difícil adscribir a alguna área del hipotálamo alguna función particular, dada la enorme riqueza de conexiones interneuronales existentes (Szentágothai, 1962), en base a los datos mencionados, Barraclough y Gorski (1961) sugirieron la teoría de un control hipotalámico dual sobre la secreción de gonadotrofinas. El primer nivel de control, representado por el área hipofisiotrópica, (Halász y Szentágothai, 1962) regularía la liberación tónica de GTH en cantidad suficiente para mantener una secreción constante de estrógenos ováricos, pero insuficiente para iniciar la ovulación. Funcionalmente, se considera área hipofisiotrópica al sitio donde se localizan las neuronas que sintetizan los factores liberadores de GTH. El funcionamiento de esta área promueve el desarrollo de gonadotropos en trasplantes de hipófisis (Halász y Szentágothai, 1962). El segundo nivel de control, regularía la liberación brusca y cíclica de GTH responsable de la ovulación. Incluiría al APO y a todas aquellas estructuras que modificaran la actividad del área hipofisiotrópica, tales como hipotálamo anterior, hipotálamo dorsal, Septum y amígdala. En ausencia de la actividad del APO, el área hipofisiotrópica seguiría funcionando e induciendo la liberación tónica de LH.

Resumiendo, podemos decir que actualmente se considera que en la hembra existen dos centros neurales responsables de la secreción de gonadotrofinas: el AFO-HA -responsable de la secreción cíclica- y el HVM-nARC encargado de la secreción tónica. En contraste, en el macho existe funcionalmente sólo un centro tónico de secreción de GTH representado por el HVM-nARC.

Regulación Hormonal

La participación de esteroides gonadales en la regulación de la liberación de GTH fue propuesta inicialmente por Hohlweg (Hohlweg y Junkmann, 1932; Hohlweg y Chamorro, 1937). Posteriormente Greep (1961) observó que cuando los niveles de esteroides se reducían -por castración- la secreción de GTH se incrementaba notablemente. A dosis adecuadas y bajo condiciones crónicas, el estrógeno disminuía la concentración de GTH en la hipófisis (Shipley, 1962). De manera aguda bloqueaba la liberación de LH (Meyer, Biddulph y Finerty, 1946; Taleisnik y Mc Cann, 1961) y de hormona folículo estimulante (FSH) (Gans, 1959; Gans, van Rees y de Jongh, 1960).

Estos datos sugerían que los estrógenos ejercían, sobre el SNC, efectos inhibitorios sobre la liberación de GTH en ambos sexos. Otros estudios, demostraron que dicho efecto se ejercía sobre el hipotálamo (Everett y Sawyer, 1949), concretamente sobre el hipotálamo medio basal (Smith y Davidson, 1974; Mc Ewen, Davis, Parsons y Pfaff, 1979).

En 1962 Mc Cann encontró que la combinación de estrógenos y progesterona inhibía la liberación de LH y de FSH (Mc Cann, 1962; Igarashi y Mc Cann, 1964). Esto lo llevó a sugerir que la progesterona podía actuar sólo después que el sistema hipotálamo-hipofisario hubiera sido sensibilizado con estrógenos. Los efectos sobre la liberación de GTH de la progesterona sola han sido estudiados en animales ovariectomizados por implantes intracerebrales de la hormona (Smith y Davidson, 1974) y por administración sistémica de la misma (Glemens, Shaar y Smalstig, 1972; Feder y Marrone, 1977). En ambos casos se ha encontrado que la progesterona disminuye los niveles de LH circulantes sin afectar la sensibilidad de la hipófisis a la acción del factor liberador de LH.

Se observó, en roedores, que la administración de estrógenos podía, bajo ciertas condiciones, estimular la secreción de GTH (Bradbury, 1947; Everett, 1961 b; Mardones, Bruzzone, Iglesias y Lipschutz, 1951). Esta observación se correlacionó con los eventos hormonales del ciclo sexual femenino, durante el cual la liberación de GTH es precedida de un incremento en esteroides ováricos. Esto llevó a proponer la retroalimentación positiva de esteroides en la hembra. En 1949, Sawyer (Sawyer, Everett y Markee, 1949; Everett y Sawyer, 1949) sugirió que la retroalimentación positiva de estrógenos se realizaba sobre el hipotálamo y no sobre la hipófisis. Estudios posteriores (Critchlow y Sawyer, 1955; Spies, Resko y Norman, 1974; Knobil, 1974; Krey, Butler y Knobil, 1975;

Goodman, 1978) han demostrado que es el área hipotálamo-anterior-APO-núcleo supraquiásmático donde se ejerce la retroalimentación positiva responsable de la liberación ovulatoria de LH. Los estrógenos también ejercen retroalimentación positiva para la liberación de FSH; el sitio neural donde se ejerce este efecto es el hipotálamo anterior (Chappel y Barraclough, 1976).

La progesterona es otro esteroide que ejerce retroalimentación positiva sobre la liberación de GTH (Barraclough e Yrarrazaval, 1961; Mess y Martini, 1968), evidenciado por: adelanto de la ovulación en ratas adultas normales (Everett, 1964); inducción de ovulación en la rata embarazada (Everett, 1947; Brown-Grant, 1969) e inducción de pubertad precoz (Meyer y McCormack, 1967; Greyburn y Brown-Grant, 1968; Rennels y O'Steen, 1967). Sin embargo, la administración secuencial de estrógenos y progesterona parece ser más efectiva (Mess y Martini, 1968; Kalra, Fawcett, Krulich y McCann, 1973; Tapper, Grieg y Brown-Grant, 1974). No se ha determinado con precisión el sitio neural donde la progesterona ejerce la retroalimentación positiva (Mc Ewen, Davis, Parsons y Pfaff, 1979).

Existe evidencia (Davidson, 1966, 1969; Dörner y Döcke, 1967; Wagner, 1968) de que la retroalimentación positiva de esteroides sobre la liberación ovulatoria de GTH existe sólo en la hembra. La habilidad del sistema hipotálamo-hipofisario para responder a la retroalimentación positiva de esteroides aparentemente se desarrolla durante el "período crítico" neonatal en ausencia de este-

roides gonadales. Así, no se observa luteinización por la administración de estrógenos a ratas androgenizadas neonatalmente, y sí ocurre en trasplantes ováricos a machos castrados neonatalmente.

EL FENÓMENO DE VIRILIZACIÓN HIPOTALÁMICA

La virilización hipotalámica resulta de la interacción entre hormonas esteroides y el SNC en desarrollo. A continuación describiremos los aspectos más característicos de este fenómeno, refiriéndonos exclusivamente a lo encontrado en roedores.

1. Existe un período crítico, comprendido entre los 25-35 días post-fertilización, durante el cual la presencia o ausencia de hormonas esteroides determina de manera irreversible el tipo de patrón de secreción de GTH (tónico o cíclico respectivamente). Más allá de dicho período, las manipulaciones hormonales no tienen efecto alguno. Esta observación ha sido confirmada por numerosos trabajos realizados en roedores (Pfeiffer, 1936; Wilson y Young, 1941; Segal y Johnson, 1959; Barraclough, 1961; Barraclough y Leatham, 1964; Harris y Levine, 1962, 1965; Alkint y Norgren, 1971; Alleva, Alleva y Umberg, 1969; Gorski, 1968; Gorski y Barraclough, 1963; Swanson y Van der Werff ten Bosch, 1964; Barraclough y Gorski, 1961; Harris, 1964; Swanson, 1970; Van der Schoot y Zeilmaker, 1972; Gorski y Wagner, 1965; Wilson, 1943; Phoenix, Goy, Gerall y Young, 1959; Goy, Bridson y Young, 1964; Goy y Phoenix, 1962).

2. La androgenización neonatal de la hembra se manifiesta en el animal adulto como: estro vaginal continuo, falta de ovulación espontánea, disminución del peso ovárico y aumento del peso corporal. (Segal y Johnson, 1959; Barraclough, 1961, 1966; Barraclough y Leatham, 1954; Harris y Levine, 1962, 1965; Alklint y Norgren, 1970, 1971; Brown-Grant, 1974; Gorski, 1968; Gorski y Barraclough, 1963; Kobayashi y Gorski, 1970; Lobl y Gorski, 1974; Swanson y Van der Werff ten Bosch, 1964 a; Thomas y Gerall, 1969; Barraclough y Gorski, 1961; Alleva, Alleva y Umberg, 1969; Sheridan, Zarrow y Goldman, 1973). En el macho, la orquidectomía neonatal impide la virilización de las estructuras cerebrales que determinan la secreción fásica de GTH. Se observan, en trasplantes de ovarios y vaginas, cambios cíclicos semejantes a los que ocurren durante el ciclo estral normal de la hembra (Yazaki, 1960; Van der Schoot y Zeilma-ker, 1972).

3. Barraclough ha sugerido, (Barraclough, 1966) que la falta de ovulación espontánea provocada por la androgenización neonatal, es debida a alteraciones en la sensibilidad del HVM-nARC y/o APO a los estímulos que normalmente provocan la ovulación. Sus resultados establecieron que en la hembra androgenizada neonatalmente, la estimulación eléctrica del HVM-nARC, o del APO no provoca ovulación.

4. La determinación del sitio neural donde se ejerce la acción virilizante de anarógenos, se ha estudiado con implantes de este-

roides en diversos sitios del cerebro. Los resultados son los siguientes: Gorski, Christensen y Nance (1979), Nadler (1972, 1973) y Christensen & Gorski (1978), indujeron anovulación permanente al implantar esteroides en HVM, pero no en APO, HA o formación reticular mesencefálica. Wagner, Erwin y Critchlow (1966) reportan que implantes de propionato de testosterona (PT) en hipotálamo basal inducen esterilidad. Hayashi & Gorski (1974) no encontraron diferencias en los efectos de implantes de PT en APO o en HVM-NARC. Lobl & Gorski (1974) señalaron al APO-HA como un sitio más adecuado que la amígdala o la corteza cerebral para inducir anovulación por implantes de PT. Estos resultados muestran que el ataque experimental empleado no ha esclarecido cuál es la región hipotalámica donde actúan los esteroides para inducir anovulación.

5. Hasta ahora hemos empleado indistintamente los términos "hormonas gonadales", "compuestos virilizantes" y "andrógenos" para referirnos a las sustancias que inducen virilización hipotalámica. Si bien los primeros trabajos emplearon el andrógeno testosterona (T) o su éster propionato de testosterona (PT) algunos otros (Wilson y Young, 1941; Harris, 1964; Wilson, 1943; Wilson y Wilson, 1943) indujeron virilización al administrar el estrógeno estradiol (E₂) o su éster benzoato de estradiol (BE). Estos datos llevaron a cuestionar cuál era el esteroide responsable de la virilización hipotalámica. Sin embargo, los siguientes datos sugieren que el compuesto virilizante es el estrógeno derivado de la aroma-

tización del andrógeno y no el andrógeno mismo:

a) Compuestos androgénicos no aromatizables (por estar reducidos en el carbono 5) no son virilizantes, en tanto que los aromatizables invariablemente virilizan (Gorski, 1966; Mc Donald y Doughty, 1972 a, b; 1974 a, b; Johnson, 1973; Korenbrot, Paup y Gorski, 1975; Whalen y Luttge, 1971).

b) Estrógenos naturales o sintéticos -aún en dosis mucho menores que las de andrógenos- inducen virilización (Brown-Grant, 1974; Gorski, 1966; Hendricks y Gerall, 1970; Gorski, Christensen y Nance, 1979; Whalen y Nadler, 1965; Doughty, Booth y Mc Donald, 1975; Christensen y Gorski, 1978; Arai y Kusama, 1968).

c) La administración simultánea de estrógenos y antiestrógenos, o de andrógenos e inhibidores de aromatización, bloquea la acción virilizante de los esteroides (Brown-Grant, 1974; Mc Donald y Doughty, 1972 b, 1974 b; Booth, 1977).

d) Durante la etapa perinatal existen en el hipotálamo y en el sistema límbico de ambos sexos las enzimas responsables de la aromatización de andrógenos (Reddy, Naftolin y Ryan, 1974; Lieberburg y Mc Ewen, 1975; Weisz y Gibbs, 1974 a, b; Naftolin, Ryan y Davies, 1975; Lieberburg, Wallach y Mc Ewen, 1977).

e) Existen en el citoplasma de las neuronas hipotalámicas de ambos sexos durante la etapa neonatal, receptores específicos que captan estradiol (Mc Donald y Doughty, 1974 a; Stumpf, 1968, 1970; Anderson y Greenwald, 1969; Attardi y Ohno, 1976; Barley, Ginsburg

y Greenstein, 1974; Maclusky, Chaptal, Lieberburg y Mc Ewen, 1976; Mc Ewen, 1975 a y b; Sheridan, 1974; Maurer, 1974; Maurer y Wooley, 1974).

6. Durante el período perinatal no existe una clara diferencia funcional entre las gónadas masculinas y femeninas. El testículo es capaz de producir andrógenos desde la etapa fetal (Yaginuma, Matsuda y Murasawa, 1969; Goldman, Grazia, Kamberi y Porter, 1971; Ortiz, Price y Zaaijer, 1966; Sholl y Goy, 1978; Pang, Caggiula, Gay, Goodman y Pang, 1979; Resko, Feder y Goy, 1968; Bloch, Lew y Klein, 1971; Ficher y Hienberg, 1971; Smeaton, Arcoudgulis y Steele, 1975; Miyachi, Nieschlag y Lipsett, 1973), probablemente por la actividad de una población de células de Leydig que desaparece después del 10o. día de vida extrauterina (Smeaton, Arcoudgulis y Steele, 1975; Niemi y Korman, 1964). Por su parte, la actividad esteroidogénica del ovario es detectable tanto en niveles plasmáticos de estradiol como en la capacidad biosintética de la glándula incubada en vitro (Sholl y Goy, 1978; Pang, Caggiula, Goy, Goodman y Pang, 1979; Smeaton, Arcoudgulis y Steele, 1975; Quattropiani y Weisz, 1973 a, b; Leung, Goldenberg y Armstrong, 1978).

Se ha detectado en el plasma de la hembra neonatal, una proteína específica (EBP) que atrapa estrógenos, mas no andrógenos, con muy alta afinidad (Barley, Ginsburg y Greenstein, 1974; Nunez, Saam y Engelmann, 1971; Raynaud, Mercier-Bodard y Baulieu, 1971; Flapinger, Mc Ewen y Clemens, 1973). Se ha sugerido (Doughty,

Booth y Mc Donald, 1975; Lieberburg y Mc Ewen, 1975; Mc Ewen, 1975 a, b) que en condiciones normales esta proteína secuestra los estrógenos ováricos de la hembra, impidiendo así que actúen en el cerebro. En el macho, los andrógenos testiculares, por no ser atrapados periféricamente, tienen libre acceso al cerebro donde son aromatizados in situ y ejercen su acción virilizante.

Protección contra la virilización

Los mecanismos celulares que participan en el proceso de virilización hipotalámica son poco conocidos. Sin embargo, la participación de ciertos eventos bioquímicos se ha establecido a partir del estudio del fenómeno llamado Protección contra la Virilización.

Kikuyama en 1961, 1962 fue el primero que puso de manifiesto la existencia del fenómeno. Administró, simultáneamente al andrógeno, clorpromacina o reserpina y observó que cuando adultas, las hembras no presentaban las alteraciones características de la virilización. Concluyó así que los fármacos administrados habían interferido con la acción virilizante del andrógeno. Otros investigadores (Gagnoni, Fantini, Morace y Ghetti, 1965; Kincl y Maqueo, 1965; Dorfman, 1967; Shipley y Meyer, 1965), reportaron el mismo fenómeno administrando progesterona.

Otros autores (Arai y Gorski, 1968 a, b y c; Shipley y Meyer, 1965; Ladosky, Kesikowski y Gaziri, 1970; Neumann y Kramer, 1967;

Wollman y Hamilton, 1967), ampliaron el número de compuestos protectores. Incluyeron, además de reserpina, clorpromacina y progesterona, a los barbitúricos pentobarbital y fenobarbital, al antiandrógeno acetato de ciproterona, al esteroide acetato de desoxicorticosterona y al pregnano 5 β -pregnandiona. Notaron que la administración simultánea del andrógeno y alguno de los compuestos mencionados, provocaba una disminución en el porcentaje de animales virilizados comparado con el grupo control.

Considerando que la androgenización provocara algún cambio bioquímico en la neurona, se iniciaron estudios que utilizaron como agentes protectores compuestos que interfieren con procesos sintéticos fundamentales. Se probaron:

a) Antiestrógenos

1. MER-25 (Brown-Grant, 1974; Mc Donald y Doughty, 1972 a y b, 1974 a y b).

b) Inhibidores de aromatización

1. androst-4-ene-3,6,17 -triona (Booth, 1977).

c) Inhibidores de síntesis de DNA:

1. sarcomicina (Gorski y Shryne, 1972)
2. hidroxiaurea (Salaman, 1974 a y b; Barnea y Lindner, 1972).

d) Inhibidores de síntesis de RNA:

1. actinomicina-D (Salaman, 1974 a; Kobayashi y Gorski, 1970).

2. rifampicina (Gorski y Shryne, 1972)

3. α -amanitina (Salaman, 1974 a y b).

e) Inhibidores de síntesis de proteínas:

1. Puromicina (Kobayashi y Gorski, 1970; Barnea y Lindner, 1972; Salaman, 1974 a y b).

2. 5-fluorouracilo (Kobayashi y Gorski, 1970; Barnea y Lindner, 1972; Salaman, 1974 a y b).

3. cicloheximida (Gorski y Shryne, 1972; Barnea y Lindner, 1972)

4. 5-bromo-desoxiuridina (Barnea y Lindner, 1972).

Resumiendo, los resultados mostraron que varios tipos de compuestos pueden interferir con la acción virilizante de un esteroide. La manera como esto se logra está relacionada con la acción de cada droga. Para algunas de ellas esto es bien conocido -inhibidores de aromatización, inhibidores de síntesis de proteínas, inhibidores de síntesis de DNA, RNA y antiestrógenos- lo que ha permitido proponer una secuencia de eventos moleculares involucrados en el proceso de virilización:

- a) Paso de la hormona a través de la membrana plasmática y entrada al citosol.
- b) Interacción con el sistema de aromatasas y formación de un estrógeno.
- c) Acoplamiento estérico hormona-receptor en citosol.
- d) Traslocación del complejo hormona-receptor al núcleo.

- e) Interacción del complejo hormona-receptor con la cromatina nuclear.
- f) Formación de un RNA mensajero específico.
- g) Salida del RNA mensajero e interacción con el sistema ribosomal.
- h) Síntesis de proteínas específicas.

Como mencionamos anteriormente, pregnanos, barbitúricos y tranquilizantes contrarrestan la virilización hipotalámica, aunque todavía no se ha propuesto la manera como dichos compuestos ejercen este efecto. Se sabe sin embargo, que barbitúricos (Bush, 1963; Brazier, 1963; Seeman, 1966a), tranquilizantes (Bovet, 1957; Seeman, 1963, 1966 a,b; Seeman, Kwant, Sauks y Argent, 1969) y algunos pregnanos (P'An y Laubach, 1964; Craig, 1966; Craig y Deason, 1968; Holzbauer, 1971; Atkinson, Davis, Pratt, Sharpe, Tomich y Tomich, 1965; Gyermek, Iriarte y Crabbé, 1968; Heuser, Ling y Buchwald, 1965; Selye, 1941, 1942 a,b) comparten la propiedad de inducir anestesia en el animal adulto. Esto nos ha llevado a proponer que la protección contra la virilización ofrecida por pregnanos, barbitúricos y tranquilizantes puede estar relacionada con su capacidad para inducir anestesia en el animal neonatal.

Así, planteamos como objetivo experimental determinar si existía una relación entre la capacidad anestésica de un pregnano y su capacidad para contrarrestar la virilización hipotalámica. Se utilizaron pregnanos reducidos en la posición β del carbono 5, que presentan

intensa actividad anestésica y pregnanos reducidos en posición, sin actividad anestésica (P'An y Laubach, 1964; Gyermek, Genther y Gleming, 1967; Selye, 1941). Se evaluaron, -en ratas neonatales- para cada pregnano:

Capacidad para inducir anestesia (González-Mariscal, 1982)

Capacidad de algunos pregnanos para contrarrestar la virilización.

La capacidad protectora de cada pregnano se evaluó comparando la proporción de animales anovulatorios (a los 60, 90 y 120 días de vida) entre los grupos experimentales y el grupo control de PT (Ver Apéndice 1).

Los resultados muestran que la progesterona y la mayoría de los 5 β -pregnanos, a algunas dosis, contrarrestan la virilización (Ver Tabla IA). La proporción de animales anovulatorios observada en dichos grupos fue significativamente menor que la observada en el grupo control de PT. Este efecto no se presentó con los 5 α -pregnanos, la 5 β ,3 β -pregnanolona o el acetato de clormadinona. La histología ovárica de los animales anovulatorios mostró ovarios polifoliculares con cuerpos lúteos escasos y atróficos.

La 5 β ,3 α -pregnanolona fue el pregnano más potente. Las dosis protectoras fueron alrededor de cinco veces menores que las requeridas para progesterona o 5 β -pregnandiona.

Ningún pregnano protegió a todos los animales de un grupo a

TABLA I

Efecto de la administración de algunos pregnanos simultáneamente con 60 µg PT sobre la proporción de animales anovulatorios

A. Datos a los 60 días.

Compuesto	Control de aceite 0/29										
	Control de PT 21/24										
	D O S I S (m g)										
	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1.25	1.5	2.25	2.5	3.75	4.0
Progesterona					10/10		11/17	7/15*		8/16*	L
5β-Pregnanolona					12/13		8/14*	7/13*	L		
5β,3α-Pregnanolona			11/15	11/20*	14/24*		L				
5β,3β-Pregnanolona			8/9		11/14	18/18		L			
5α-Pregnanolona			14/17		11/15					9/10	
5α,3β-Pregnanolona			11/12		13/18					15/16	
5α,3α-Pregnanolona					8/8					4/4	
Acetato de clormadinona	9/9	L									

L = letal

* Significativamente menor que el control de PT (Prueba de chi cuadrada, p = 0.05)

TABLA I

B. Datos a los 90 días.

Compuesto	Control de aceite 0/29										
	Control de PT 22/22										
	D O S I S (m g)										
	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1.25	1.5	2.25	2.5	3.75	4.0
Progesterona					10/10		15/17	12/15		11/16*	L
5 β -Pregnandiona					13/13		15/16	10/13*	L		
5 β , 3 α -Pregnanolona			13/15	13/20*	18/24*		L				
5 β , 3 β -Pregnanolona			9/9		17/20	18/18		L			
5 α -Pregnandiona			16/17		17/19				10/10		
5 α , 3 β -Pregnanolona			12/12		16/18				19/19		
5 α , 3 α -Pregnanolona					8/8				4/4		
Acetato de clormadinona	9/9	L									

L = letal

* Significativamente menor que el grupo control de PT. (Prueba de chi cuadrada, p = 0.05)

ninguna de las edades observadas. No se encontró una estricta relación dosis-respuesta. Al incrementar la dosis no se observó una consecuente disminución en la proporción de animales anovulatorios (Tabla IA). Las dosis mayores, sin embargo, ofrecieron protección por más tiempo (comparar tablas IA y IB, proporciones a 60 y a 90 días). A los 120 días sólo 5 β ,3 -pregnanolona ofreció protección significativa (5/19, con 0.5 mg. no mostrado en tabla I).

DISCUSIÓN

De acuerdo al objetivo experimental planteado intentaremos ahora determinar si existe una relación entre la capacidad protectora de un pregnano y su capacidad para inducir anestesia.

Los datos de González Mariscal (1982) muestran que la progesterona, la 5 β -pregnandiona y la 5 β ,3 α -pregnanolona fueron anestésicos; los 5 α -pregnanos, la 5 β ,3 β -pregnanolona y el acetato de clormadinona no lo fueron.

De los resultados mostrados en esta tesis y de los expuestos por González Mariscal (1982), pudimos observar que existe una clara relación entre la capacidad de un pregnano para inducir anestesia y su capacidad para contrarrestar la virilización.

Esto es, aquellos pregnanos que inujeron anestesia protegieron contra la virilización en tanto que los no anestésicos no lo hicieron. Para especular en torno a la protección a la virilización ofrecida por anestésicos, resulta importante analizar las bases moleculares de la anestesia que, a nivel celular, preceden a los cambios observados en el EEG y el ELG. (González Mariscal, 1982).

Numerosos estudios realizados tanto en células intactas como en membranas artificiales, han mostrado que la anestesia involucra interacciones complejas entre las moléculas de un anestésico y la capa bimolecular de fosfolípidos de las membranas biológicas (Lawrence y Gill, 1975; Miller y Miller, 1975; Seeman, 1972; Vanderkooi, Landesberg, Selick y McDonald, (1977). Se ha demostrado, tanto para los anestésicos volátiles como para los pregnanos (Lawrence y Gill, 1975; Seeman, 1972; Selye, 1941), que las interacciones entre anestésicos y membranas provocan fluidización de la bicapa lipídica a concentraciones similares a aquellas que producen anestesia "in vivo". (Ver figura 2, Seeman P., 1972 "The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. Pharmacol. Rev. 24: 583-655).

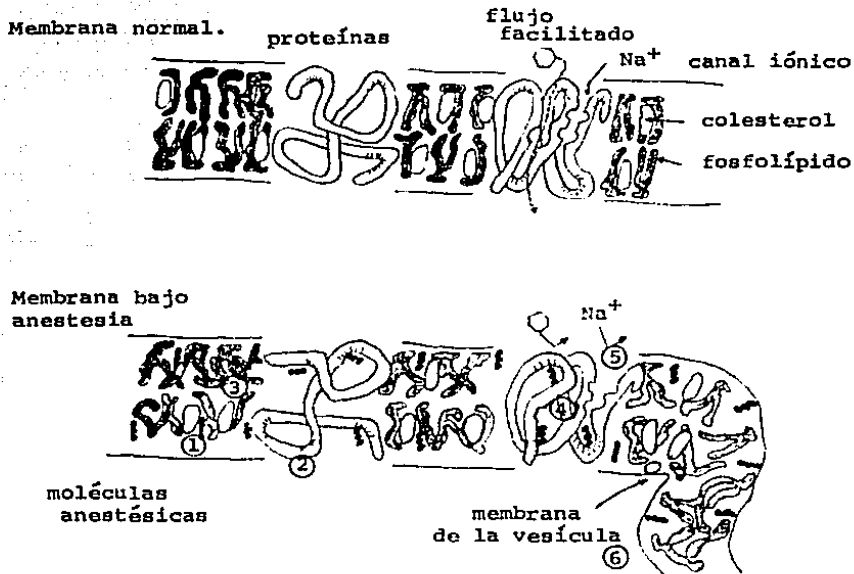


Figura 2. Efectos moleculares de anestésicos sobre la membrana plasmática. (1) Ocupación de la membrana por el anestésico; (2) Expansión membranar; (3) Incremento en la movilidad rotacional de las unidades de membrana (fluidización); (4) Disminución en flujos facilitados; (5) Disminución en la difusión facilitada de iones durante el impulso nervioso (Na^+ y K^+); (6) Incremento de la fusión membrana-membrana (i.e., incremento en neurosecreción).

Tomado de: Seeman, 1972. p. 633.

Como consecuencia de la fluidización membranal, los anestésicos modifican la permeabilidad de membrana en varios tipos celulares. Estas modificaciones se traducen en aumento o disminución de la secreción de sustancias vesiculadas (Seeman, 1972), mientras que la "secreción" mediada por acarreadores o los flujos facilitados, invariablemente se inhiben por efecto de anestésicos (Seeman, 1972; Bittman, Clejan, Jain, Deroo y Rosenthal, 1981). Así la protección contra la virilización ofrecida por pregnanos anestésicos (Arai y Gorski, 1968 c; Cagnoni, Fantini, Morace y Gheiti, 1965; González-Mariscal, Fernández-Guasti y Beyer, 1982; Kincl y Maqueo, 1965; Shipley y Meyer, 1965), barbitúricos (Arai y Gorski, 1968 b y c) y tranquilizantes (Kikuyama, 1961 y 1962; Arai y Gorski, 1968 a y c) sugiere que como parte de los mecanismos celulares involucrados en el proceso de virilización hipotámica, se incluye un mecanismo de secreción. Sin embargo, no conocemos aún cuál es el significado fisiológico de este evento. Nos parece importante analizar efectos inducidos por esteroides en el SN en desarrollo, ya que podrían ayudar a esclarecer el significado fisiológico de la secreción incluida en el proceso de virilización hipotalámica.

Acción de hormonas esteroides sobre sistemas neuronales en desarrollo

Se ha sugerido (Gorski, 1979) que la virilización hipotalámica, consecuencia de la acción organizacional de esteroides sobre un animal en desarrollo, puede explicarse como una modificación transito-

ria de algunos eventos celulares. Durante la ontogenia del SNC, la secuencia ordenada de pasos es un factor crítico para el establecimiento de núcleos neuronales y redes neuronales específicas. Así, es posible que aunque la acción del esteroide virilizante sea transitoria, por ocurrir durante una etapa crítica del SNC, resulta en alteraciones permanentes del sustrato neural regulador de la secreción de GTH. Existe evidencia de que las hormonas esteroides afectan la organización neural de algunas áreas cerebrales involucradas en la liberación de GTH.

Experimentos "in vivo" e "in vitro" (Toran-Allerand, 1976; Meyer, Ferras Torres y Mas, 1978) han mostrado que las hormonas esteroides aumentan el desarrollo de procesos neurales en neuronas del hipocampo, HA y APO. Greenough, Carte, Steerman y De Voogd (1977) han mostrado mayor densidad dendrítica del APO en el macho que en la hembra. La orquidectomía neonatal y la androgenización neonatal a la hembra, producen un patrón dendrítico intermedio (entre el masculino y el femenino normal). También se ha determinado en las neuronas del APO que envían axones al hipotálamo medio basal, mayor cantidad de fibras de origen amigdalino en el macho que en la hembra (Dyer, 1976). La orquidectomía neonatal provoca una disminución en el número de dichas fibras en el macho, mientras que la androgenización neonatal de la hembra produce un estado intermedio (Dyer, 1976; Dyer, Ellendorf y McLeod, 1976).

Finalmente, Raisman y Field (1971, 1973) han determinado más

sinapsis de fibras amigdalinas pero no provenientes de la *stria terminalis* sobre espinas dendríticas de neuronas del APO en la hembra que en el macho. La castración neonatal del macho incrementa el número de dichas sinapsis y la androgenización neonatal de la hembra lo disminuye (Raisman y Field, 1973).

La evidencia anterior nos permite sugerir que las alteraciones en la liberación de gonadotropinas provocadas por la androgenización neonatal, están precedidas de alteraciones anatómicas en substratos neurales específicos. Los eventos celulares, inducidos por andrógenos, responsables de las alteraciones anatómicas descritas, podrían explicarse en base a los mecanismos que regulan el establecimiento de redes neurales.

La formación de redes neurales en el SNC incluye: a) el crecimiento de procesos nerviosos y b) el establecimiento preciso de sinapsis.

a) Una vez que las neuronas se han agregado, constituyendo núcleos definidos, sus axones deben elegir un blanco post-sináptico específico. Esto ocurre hacia neuronas homotípicas (neuronas del mismo núcleo neuronal) o hacia neuronas de otros núcleos, estableciéndose así redes nerviosas (Kanerva, Hervonen y Tissari, 1978; Kanerva, Tissari, Suurhasko y Hervonen, 1978; Sperry, 1963; Szekely, 1966; Garber y Moscona, 1972 a; Jacobson, 1974).

Se han propuesto varias teorías para explicar la guía del axón hacia un blanco específico: (1) Contacto físico; se sugiere que los

axones crecen de manera no-selectiva hasta hacer contacto con otra neurona y una vez logrado el contacto físico entre las membranas de ambas neuronas, se determina una sinápsis o bien el axon en crecimiento se retrae y "busca" otra neurona blanco. (Rees, Bunge y Bunge, 1976; Pfenninger y Rees, 1976; Sidman, 1974); (2) Quimiotaxis: se supone la presencia de una substancia en la membrana de la neurona blanco, o bien, una mayor concentración de ella en la zona donde el axon debe "crecer" para hacer sinapsis. Varias substancias han sido propuestas con estas características (Jacobson, 1970; Chamley, Goller y Burnstock, 1973), entre ellas el factor de crecimiento nervioso (Nerve Growth Factor, NGF) en Sistema Nervioso Central (Shine y Pérez-Polo, 1976; Walker, Weichsel, Fisher, Gao y Fisher, 1979) y Periférico (Varon, Nomura y Shooter, 1967; Ludueña 1973; Schubert, La Corbière, Whitlock y Stallcup, 1978). Ishii y Shooter (1975) han observado que la testosterona incrementa la síntesis de esa molécula en la glándula submaxilar del ratón. Desafortunadamente, en el Sistema Nervioso Central no se ha demostrado ningún efecto de esteroides sobre la síntesis del NGF.

b) El establecimiento de sinapsis incluye complejos procesos de reconocimiento intercelular entre el axon y la neurona blanco. Se ha propuesto que en estos procesos están involucradas las glicoproteínas, pues se ha observado la presencia de polisacáridos en el espacio extracelular (Ness, 1955 a, b, 1958; Bunnnett, 1963; Bondareff, 1965; Rambourg y Leblond, 1967) y la existencia de moléculas

proteicas en el surco sináptico (Couteaux, 1963; Cotman y Taylor, 1972). Asimismo, se han detectado algunos carbohidratos (ácido N-acetil-neuramínico, fucosa, y Glucosamina) unidos a proteínas, en el surco sináptico (Dutton y Barondes, 1970; Breckenridge y Morgan, 1972; Langley y Kennedy, 1977; Rostas, Kelly, Pesin y Cotman, 1979; Tauc y Hinzen, 1974). Esto ha hecho pensar que las glicoproteínas son las moléculas que muy probablemente determinen el sitio exacto donde los axones deben hacer sinapsis (Keating, 1968; Bogoch, 1972; Grain y Peterson, 1974; Barondes, 1979; Barondes y Rosen, 1976; Morgan y Gombos, 1976; Krusius, Finne, Margolis y Margolis 1978; Van Nieu Amerongen y Koukema, 1975).

Se han observado (Denis-Domini, 1978; Barondes y Rosen, 1976; Federico y Dibenedetta, 1978) cambios en la composición de carbohidratos de la superficie celular relacionados con la maduración neuronal y el establecimiento de nuevas sinapsis. También se han demostrado cambios en la unión de glucosamina (Dutton y Barondes, 1970; Holian, Dill y Brunngraber, 1971; Dutton, Haywood y Barondes, 1973), ácido N-acetil-neuramínico (Carubelli, 1968, Holian, Dill y Brunngraber, 1971; Margolis y Gómez, 1974) y fucosa (Dutton y Barondes, 1970; Glasgow, Quarles y Grollman, 1972) a proteínas de la región sinaptosomal durante el desarrollo, así como modificaciones en la concentración de una proteína sinaptosomal específica (Jérgensen, 1976).

Finalmente se han detectado cambios en el transporte de glico-

proteínas (del soma a la región terminal del axon) relacionados con la edad. Se ha establecido (Dutton y Barondes, 1970; Barondes, 1968 a, b; LeBeux y Willemot, 1975; Zatz y Barondes, 1970, 1971) que el transporte de fucoglicoproteínas y glucosaminglicoproteínas es más rápido en animales jóvenes que en adultos.

Los datos presentados muestran que las glicoproteínas membranales juegan un papel importante en la regulación del establecimiento preciso de sinapsis que antecede a la organización de redes nerviosas específicas. Así, podemos sugerir que las modificaciones en la organización de redes neurales provocadas por la androgenización neonatal, estén mediadas por glicoproteínas membranales inducidas por andrógenos. (Ver Addendum). Esta sugerencia coincide con datos previos (Gorski y Shryne, 1972; Salaman, 1974 a, b; Barnea y Lindner, 1972; Kobayashi y Gorski, 1970), que proponen que la síntesis de proteínas está involucrada en el proceso de virilización.

La habilidad de dichas proteínas andrógeno-inducidas para actuar como "organizadores" de redes neuronales dependería de su inserción en la membrana plasmática -proteínas de membrana plasmática- o de su secreción al medio externo -proteínas de superficie celular-. Así, cualquier interferencia con estos procesos bloquearía la acción organizacional de las proteínas andrógeno-inducidas.

La secreción de proteínas al medio externo o su inserción en la membrana plasmática incluye varios pasos (Doyle y Baumann, 1979): síntesis de proteínas en polisomas; incorporación de protei-

nas a "unidades de membrana"; transporta de "unidades de membrana" hacia la membrana plasmática; interacción con lípidos membranales; inserción de proteínas en la membrana plasmática o, alternativamente, secreción al medio externo. Relacionando estos datos con los efectos de anestésicos y los fenómenos de secreción, proponemos que los anestésicos contrarrestan la virilización hipotalámica a través de modificar la secreción o inserción de proteínas andrógeno-inducidas que a su vez mediaran las alteraciones neurales provocadas por la virilización neonatal.

APÉNDICE 1

Se utilizaron ratas hembras Wistar de cinco días de edad (día de nacimiento = día 0) a las que se administró por vía subcutánea 60 µg de PT simultáneamente a alguno de los siguientes pregnanos:

Progesterona: pregn-4-en-3,20-diona

5β-pregnanolona: 5β-pregnan-3,20-diona

5β,3α-pregnanolona: 3α-hidroxi-5β-pregnan-20-ona

5β,3β-pregnanolona: 3β-hidroxi-5β-pregnan-20-ona

5α-pregnanolona: 5α-pregnan-3,20-diona.

5α,3β-pregnanolona: 3β-hidroxi-5α-pregnan-20-ona

5α,3α-pregnanolona: 3α-hidroxi-5α-pregnan-20-ona

acetato de clormadinona: 17-acetoxi-6-cloro-4,6-pregnandien-3,20-diona.

Ver tabla I para número de animales y dosis utilizados.

El acetato de clormadinona se obtuvo de Syntex; el resto de pregnanos y PT de Sigma Chemical Co.

Todos los esteroides se inyectaron en aceite comercial de girasol en volúmenes que variaron entre 0.01 y 0.35 ml.

Los animales se mantuvieron con sus madres hasta el destete en un ambiente de luz-obscuridad controlado (14:10 hrs.). A partir de entonces se agruparon en jaulas colectivas y se les proveyó de Purina y agua ad libitum. La apertura vaginal se determinó inspeccionando a los animales diariamente a partir del destete. Se tomaron frotis vaginales a partir de entonces hasta los 120

días de vida.

Los animales se clasificaron en normales o anovulatorios a los 60, 90 y 120 días de vida. Se determinó anovulación cuando los frotis vaginales mostraron imágenes de estro, i.e. células cornificadas, durante diez días consecutivos. La proporción de animales anovulatorios se estableció a las tres edades mencionadas. Los datos se compararon con el grupo control de PT usando la prueba de chi cuadrada (Siegel, 1956). A los 120 días de vida se extirparon los ovarios y fueron fijados en formol al 10%, incluidos en parafina, cortados y teñidos con hematoxilina-eosina. Se clasificaron en normales o polifoliculares de acuerdo al número y condición de los cuerpos lúteos.

ADDENDUM

Según propusimos anteriormente, el proceso de virilización hipotalámica podría incluir la síntesis de proteínas específicas que son incorporadas a la membrana plasmática. Como un ataque más directo a esta proposición intentamos investigar si la administración de pro-pionato de testosterona (PT) a ratas hembras neonatales induce la síntesis de alguna(s) proteína(s) en la membrana plasmática de neuronas hipotalámicas.

Se utilizaron ratas hembras Wistar de cinco días de edad a las que se administró por vía subcutánea, 0.5 mg PT en 0.05 ml. de aceite o el vehículo sólo. Ocho horas después, los animales fueron decapitados y el hipotálamo fue disecado (Barnea, Weinstein y Lindner, 1972) y congelado. Se prepararon a partir de dicho tejido fracciones de membrana plasmática (Hemminki, 1973) de ambas ratas controles y virilizadas. Dichas fracciones fueron sometidas a electroforesis en gel de poliacrilamida (Laemmli y Favre, 1973), lo cual permitió visualizar la composición de proteínas de cada muestra. Los datos obtenidos muestran que en la membrana plasmática de neuronas hipotalámicas de ratas virilizadas aparece una banda de proteínas de alto peso molecular que no existe en las ratas control (Ver figura 3).

Estos datos apoyan nuestra proposición que señala que el proceso de virilización hipotalámica incluye la síntesis de proteínas específicas en la membrana plasmática neuronal. Cabe ahora pre-

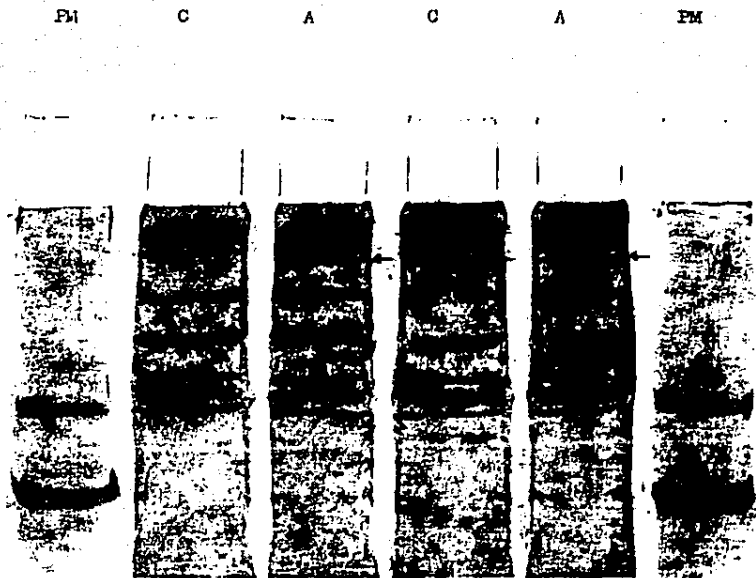


Fig. 3. Composición de proteínas de la membrana plasmática de neuronas hipotálamicas de ratas neonatales controlen (C) y androgenizadas (A). Nótese la aparición de una banda de alto peso molecular en A. Se muestra solamente la sección superior del gel. Marcadores de peso molecular.

guntarse si dichas proteínas son glicoproteínas; si juegan algún papel en la organización de redes neurales; si son exclusivas de la membrana plasmática; si aparecen en otras áreas cerebrales; si se mantienen hasta la edad adulta y, acaso lo más importante, si existen en el macho. La investigación de estas y otras interrogantes es objeto de futuras investigaciones.

REFERENCIAS

- Alkint, T & A. Norgren. (1970); Studies on the minimal exposure time for androgen to evoke sterility in female. Acta Physiol. Scand. 80: 5A.
- Alkint, T & A. Norgren, (1971); Effects of neonatally injected nonsterified testosterone on reproductive function in female rats. Acta Endocr. (Kbh) 66: 720-6.
- Alleva, F. R., J. J. Alleva & E. J. Umberger. (1969): Effect of a single injection of testosterone propionate on later reproductive functions of the female golden hamster. Endocrinology 85: 312-8.
- Anderson C. H. & G. S. Greenwald. (1969): Autoradiographic analysis of estradiol uptake in the brain and pituitary of the female rat. Endocrinology 85: 1160-5.
- Arai, Y & R. A. Gorski. (1968. a): Critical exposure time for androgenization of the rat hypothalamus determined by anti-androgen injection. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 127: 590-3.
- Arai, Y & R. A. Gorski. (1968. b): Critical exposure time for androgenization of the development hypothalamus in the female rat. Endocrinology. 82: 1010-4.
- Arai, Y & R. A. Gorski. (1968. c): Protection against the neural organizing effect of exogenous androgen in the neonatal female rat. Endocrinology 82: 1005-9
- Arai, Y & T. Kusama. (1968): Effect of neonatal treatment with estrone on hypothalamic neurons and regulation of gonadotropic secretion. Neuroendocrinol. 3: 107-14.
- Attardi, B. & S. Ohno. (1976): Androgen and estrogen receptors in the developing mouse brain. Endocrinology 99: 1279-90.
- Atkinson, R. M., B. Davis, M.A. Pratt, H. M. Sharpe & B.G. Tomich. (1965): Action of some steroids on the central nervous system of the mouse. II. Pharmacology. J. Med. Chem. 8: 426-32.
- Barley, J., N. Ginsburg & B. Greenstein. (1974): A receptor mediating sexual differentiation, Nature 252: 259-60.
- Barnea, A. & H. R. Lindner (1972); Short-term inhibition of macromolecular synthesis and androgen-induced sexual differentiation of the brain. Brain Res. 45: 479-87.

Barnea, A., A. Weinstein y H. R. Lindner (1972): Uptake of androgens by the brain of the neonatal female rat. Brain Res. 46: 391-402.

Barondes, S. H. (1968. a): Further studies on the transport of protein to nerve endings. J. Neurochem. 15: 343-50.

Barondes, S. H. (1968. b): Incorporation of radioactive glucosamine into macromolecules at nerve endings. J. Neurochem. 15: 699-706.

Barondes, S. H. (1979): Brain glycomacromolecules and interneuronal recognition pp. 747-70. In: Smitt, P. O. (Ed.) The Neurosciences. Second Study Program. Rockefeller University Press, New York.

Barondes, S. H. & S. D. Rosen (1976): Cell surface carbohydrate-binding proteins: role in cell recognition. pp. 331-56. In: Barondes S. H. (Ed.) Neuronal Recognition Plenum Press, New York.

Barraclough, C. A. (1961): Production of anovulatory sterile rats by single injections of testosterone propionate. Endocrinol. 68: 62-7.

Barraclough, C. A. (1966): Modification in the central nervous system regulation of reproduction after exposure of prepubertals rats to steroid hormones. Prog. Horm. Res. 22: 503-39.

Barraclough, C. A. & R. A. Gorski (1961): Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. Endocrinol. 68: 68-79.

Barraclough, C. A. & J. H. Leatham. (1954). Infertility induced in mice by a single injection of TP. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 85: 673-7.

Barraclough, C. A. & S. Yarrarazaval. (1961): Specific hypothalamic sites at which progesterone acts to facilitate ovulation in the rat. Program. 43th. Meeting Endocrine Soc., New York.

Bittman, R.; S. Clejan; M. K. Jain, P. W. Jeroo & A. F. Rosenthal (1981): Effect of steroids on permeability and phase transitions of bilayers from phosphatidylcholines lacking acyl groups. Biochemistry 20: 2790-5.

Bloch, E., M. Lew & E. Klein. (1971): Studies on the inhibition of fetal androgen formation: testosterone synthesis by fetal and newborn mouse testis in vitro Endocrinol. 88: 41-6.

Bogdanove, E. M. (1964): The role of the brain in the regulation of pituitary gonadotropin secretion. Vit. Horm. 22: 205-60.

Bogoch, S. (1972): Brain glycoprotein 10 B: further induces of the

ring part role of brain glycoproteins in cell recognition, its chance in brain tumor and the presence of a distant factor. Adv. Exp. Med. Biol. 11: 39-57.

Bundareff, W. (1965): The extracellular compartment of the cerebral cortex. Anat. Rec. 152: 119-28.

Booth, J. A. (1977): Effects of the aromatization inhibitor, androst-4-ene, 3, 6, 17-trione on sexual differentiation induced by testosterone in the neonatally castrated rat. J. Endocr. 72: 53-4.

Bovet, D., V. G. Longo & Silvestrin; (1957): Electrophysiological methods of research in the study of tranquilizers. Contribution to the pharmacology on reticular formation. In: Garattini, S. & Ghetti V. (Eds.). Psychotropic Drugs. Elsevier, Amsterdam.

Bradbury, J. T. (1941): Permanent after effects following masculinization of the infantile female rat. Endocrinol. 28: 101-6.

Bradbury, J. T. (1947): Ovarian influence on the response of the anterior pituitary to estrogens. Endocrinol. 41: 501-13.

Brazier, K.A.B. (1963): The electrophysiological effects of barbiturates on the brain. pp. 219-38 In: Root W.S. & Hoffman, F. G. (Eds.): Physiological Pharmacology, Vol. 1, The Nervous System - Part A: Central Nervous System Drugs. Academic Press, New, York.

Breckenridge, W. C. & I. G. Morgan (1972): Common glycoproteins of synaptic vesicles and the synaptosomal plasma membrane. P.E.B.S. Lett. 22: 253-6.

Brookhart, J. K. P. L. Dey & S. W. Ranson (1941): The abolition of mating behavior by hypothalamic lesions in guinea pigs. Endocrinol. 28: 561-5.

Brown-Grant, K (1969): The induction of ovulation by ovarian steroids in the adult rat J. Endocrinol. 43: 533-62.

Brown-Grant, K. (1974). Failure of ovulation after administration of steroid hormones and hormone antagonists to female rats during the neonatal period. J. Endocr. 62: 683-4.

Bunnett, H. S. (1963): Morphological aspects of extracellular polysaccharids. J. Histochem. Cytochem. 11: 14-23.

Bush, H.T. (1963): Sedatives and hypnotics I. Absorption, fate and excretion. p.p. 185-218. In: Root, W.S. & Hoffman, F.G. (Eds.):

Physiological Pharmacology, Vol. 1, The Nervous System - Part 2: Central Nervous System Drugs. Academic Press, New York.

Cagnoni, M. Fantini, P. G. Morace & A. Ghetti (1965): Failure of testosterone propionate to induce the "Early Androgen" syndrome in rats previously injected with progesterone. J. Endocr. 33: 525.

Carubelli, R. (1968): Changes in rat brain neuraminidase during development. Nature 219: 955-6.

Chamley, J. H., I. Goller & G. Burnstock. (1973): Selective growth of sympathetic nerve fibers to explants of normally densely innervated autonomic effector organs in tissue culture. Dev. Biol. 31: 362-80.

Chappel, S.C. & C.A. Barraclough. (1976): Hypothalamic regulation of pituitary FSH secretion Endocrinology 98: 927.

Christensen, L. W & R. A. Gorski. (1978): Independent masculinization of neuroendocrine systems by intracerebral implants of testosterone or estradiol in the neonatal female rat. Brain Res. 146: 375-40.

Clark, H. K. (1935): A sex difference in the change in potency of the anterior hypophysis following bilateral castration in newborn rats. Anat. Rec. 61: 193.

Clemens, J. A., C. J. Shaar E.B. Smalstig (1972): Effects of electrical stimulation of the hypothalamus on LH release in steroid-treated rats. Neuroendocrinology 10: 175-82.

Cook, A. R. (1959): Effects of hypothalamic lesions on endocrine activity in female rats. Texas Rept. Biol. Med. 17: 512-36.

Corner, M. A. & P. Ewee. (1976): Cyclic EEG and motility patterns during sleep in restrained infant rats. Electroencephl. Clin. Neurophysiol. 41: 64-72.

Couteaux, E. (1963): The differentiation of synaptic areas. Proc Roy. Soc. London B. 158: 457-80.

Craig, C. R. (1966): Anticonvulsant activity of steroids; separability of anticonvulsant from hormonal effects. J. Pharmacol. Exp. Ther. 153 (2): 337-43.

Craig, C. R. & J. R. Deason. (1968): Anticonvulsant activity of steroids, specificity of structure. Arch. Int. Pharmacodyn. 172 (2):

366-72.

Crain, S. M. (1952): Development of electrical activity in the cerebral cortex of the albino rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81: 49-51.

Crain, S. M. & E. R. Peterson. (1974): Development of neural connections in culture. Ann. N. Y. Acad. Sci. 228: 6-34.

Critchlow, V. (1958): Ovulation induced by hypothalamic stimulation in the anesthetized rat. Am. J. Physiol. 195: 171.

Critchlow, V & C. H. Sawyer. (1955): Electrical activity of the rat brain correlated with neurogenic stimulation of the adenohypophysis. Federation Proc. 14: 32-33.

D'Aneglo, S. A. & A. S. Krawatz (1960): Gonadotrophic hormone function in persistent estrous rats with hypothalamic lesions. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104: 130-3.

Davidson J. M. (1966): Control of gonadotrophin secretion in the male. In: Martini L. & W. F. Ganong (Eds.) pp. 565-611. Neuroendocrinology I. Academic press, New York.

Davidson, J. M. (1969): Feedback control of gonadotrophin secretion. In: W. F. Ganong & L. Martini (Eds.) pp. 343-88. Frontiers in Neuroendocrinology. Oxford University Press.

Davidson, J. M. & W. F. Ganong; (1960): The effect of hypothalamic lesions on the testis and prostate of male dogs. Endocrinol. 66: 480-8.

Denis-Domini, S. (1978): Cell surface modifications in neuronal maturation. Cell Differ. 7: 193-201.

Dey, F. L. (1941): Changes in ovaries and uteri in guinea pigs with hypothalamic lesions. Am. J. Anat. 69: 61-87.

Dey, F. L. C. M. Fisher, C. M. Berry & S. W. Ranson (1940): Disturbances in reproductive functions caused by hypothalamic lesions in female guinea pigs. Am. J. Physiol. 129: 39-46.

Deza, L. & E. Eidelberg, (1967): Development of cortical activity in the rat. Experimental Neurol. 17: 425-38.

Dorfman, R. I. (1967): The antiestrogenic and antiandrogenic activities of progesterone in the defense of a normal fetus. Anat. Rec.

157: 547-58.

Dörner, G & P. Dücke (1967): the influence of intrahypothalamic and intrahypophyseal implantation of estrogen or progestogen on gonadotrophin release. Endocrinologia Exp. 2: 65-71

Doyle, D. & H. Baumann. (1979): Turnover of the plasma membrane of mammalian cells. Life Sci. 24: 951-66.

Doughty, C., S. E. Booth & P. G. McDonald. (1975): Effects of estradiol 17 β , estradiol benzoate and the synthetic oestrogen on sexual differentiation in the neonatal female rat. J. Endocr. 67: 419-24.

Dutton, G. H. & S. H. Barondes. (1970): Glycoprotein metabolism in developing mouse brain. J. Neurochem. 17: 913-20.

Dutton, G. R., P. Baywood and S. H. Barondes. (1973): 14C glucosamine incorporation into specific products in the nerve ending fraction in vivo and in vitro. Brain Res. 57: 397-408.

Dyer, R. G. (1976): Electrophysiological evidence for sexual dimorphism and synaptic convergence in the preoptic and anterior hypothalamic areas of rat. Proc. Roy. Soc. (London B) 193: 421-40.

Dyer, R. G., F. Ellendorf & N. R., McLeod. (1976): Non random distribution of cell types in the preoptic and anterior hypothalamic areas. J. Physiol. 261: 495-504.

Everett, J. W. (1947): hormonal factors responsible for depositions of cholesterol in the corpus luteum in the rat. Endocrinology 41: 364-77.

Everett, J. W. (1961a): The preoptic region of the brain and its relation to ovulation Velle, C. (Ed.) pp. 101-12. In: Velle, C. (Ed.). Control of ovulation, Pergamon Press, N. Y.

Everett, J. W. (1961b): The mammalian female reproductive cycle and its controlling mechanisms. In: Young, W. C. (Ed.) pp. 497-555. Sex and Internal Secretions. Williams & W. Kins, Baltimore.

Everett J. W. (1964): Central neural control of reproductive function of the adenohipophysis, Physiol. Rev. 44: 373-431.

Everett, J. W. & H. M. Radford. (1961): Irritative deposits from stainless steel electrodes in the preoptic rat brain causing release of pituitary gonadotrophin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 108: 604.

Everett, J. W. & C. H. Sawyer (1949): A neural timing factor in the mechanism by which progesterone advances ovulation in the cyclic rat. Endocrinology 45: 581-95.

Feder, H. H. & B. L. Marrone (1977): Progesterone: its role in the central nervous system as a facilitator and inhibitor of sexual behavior and gonadotropin release. Ann. N.Y. Acad. Sci. 286: 331-54.

Federico, A & C. Di Benedetta. (1978): Glycoprotein changes during the development of human brain, J. Neurochem. 31: 797-800.

Ficher, N. & E. Hienberger. (1971): In vitro progesterone metabolism by rat testicular tissue at different stages of development. Acta Endocr. 68: 285-92.

Flerkó, B. (1953): Einfluss experimenteller Hypothalamus lésionan auf die Funktion des Sekretionapparates in weiblichen Genitaltrakt. Acta Morphol. Acad. Sci. Hung. 3: 65-86.

Flerkó, B. (1966): Control of gonadotropin secretion in the female. pp. 613-68. In: Martini, L & Ganoug, W. F., (Eds.) Neuroendocrinology I. Academic Press, New York.

Gans, E. (1959): The F.S.H. Content of serum of intact and gonadectomized rats and of rats treated with sex hormones Acta endocrinol. 32: 362-372.

Gans, E., G. P. van Rees & S. E. de Jongh (1960): Decreased pituitary contents in gonadotrophins caused by threshold doses of oestriadiol benzoate. Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. C63: 151-4.

Garber, B. B. & A. A. Moscona. (1972): Reconstruction of brain tissue from cell suspensions I. Aggregation patterns of cells dissociated from different regions of the developing brain. Dev. Biol. 27: 217-34.

Garma, L., P. Henry & W. Dament. (1969): Le sommeil paradoxal chez le rat nouveau-né. J. Physiol. (Paris) 60, Supp. 1: 250.

Glasgow, M. S., R. H. Quarles and S. Grollman. (1972): Metabolism of fuoglycoproteins in the developing rat brain. Brain Res. 43: 129-37.

Goldman, B. D., Y. R. Grazia, S. A. Kamberi & J. C. Porter, (1971): Serum gonadotropin concentrations in the intact and castrated neonatal rats. Endocrinol. 88: 771.

González-Mariscal, G. (1982): Participación de hormonas esteroides en la diferenciación sexual hipotalámica II. Capacidad de algunos

pregnanos para inaucir anestesia. tesis de maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.

González-Mariscal, G., Fernández-Guasti, A. and Beyer, C. (1982): Anesthetic pregnanos counteract androgen induced defeminization. Neuroendocrinology, 34: 357-62.

Goodman, L. (1934): Observations on transplanted immature ovaries in the ovaries of adult male and female rats. Anat. Rec. 59: 223-52.

Goodman, R. L. (1978): The site of the positive feedback action of estradiol in the rat. Endocrinology 102: 151-9.

Gorski, R. A. (1966): Localization and sexual differentiation of the nervous structures which regulate ovulation. J. Reprod. Fertil. Suppl. 1: 67.

Gorski, R. A. (1968): Influence of age on the response to paranatal administration of a low dose of androgen. Endocrinol. 82: 1001-4.

Gorski, R. A. (1979): The neuroendocrinology of reproduction: an overview. Biol. Rep. 20: 111-27.

Gorski, R. A. & Barraclough G. A. (1963): Effects of low dosages of androgen on the differentiation of hypothalamic regulatory control of ovulation in the rat. Endocrinol. 73: 210-6.

Gorski, R. A., L. W. Christensen and D. M. Nance. (1979): The induction of heterotypical sexual behavior in the rat. Psychoneuroendocrinol. 4: 311-28.

Gorski, R. A. & J. Shryne. (1972): Intracerebral antibiotics and androgenization of the neonatal female rat. Neuroendocrinol. 10: 109-20.

Gorski, R. A. & J. W. Wagner. (1965): Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. Endocrinol. 76: 226-39.

Goy, R. W. W. L. Bridson and W. C. Young. (1964): Period of maximal susceptibility of the prenatal female guinea pig to masculinizing action of testosterone propionate J. Comp. Physiol. Psychol. 57: 166-74.

Goy, R. W. & C. H. Phoenix. (1962): A critical period for the suppression of behavioral receptivity in adult female rats by early treatment with androgen. Proc. Am. Assoc. Anat. Anat. Rec. 142: 307 (abstract).

Gramsbergen, A. (1976 a): The development of the EEG in the rat.

Dev. Psychobiol. 9: 501-15.

Gramsbergen, A. (1976 b): EEG development in normal and undernourished rats. Brain Res. 105: 287-308.

Grayburn, G. A. & K. Brown-Grant (1968): The role of estrogen in the induction of ovulation in the gonadotrophin-treated immature rat. J. Endocr. 42: 409-16.

Greenough, W. T., C. S. Carte, C. Steerman and T. J. De Voogd. (1977): Sex differences in dendritic patterns in hamster preoptic area. Brain Res. 126: 63-72.

Greep, R. O. (1961): Physiology of the anterior hypophysis in relation to reproduction. pp. 240-301. In: Young, W. C. (Ed.) Sex Internal Secretions, Vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore, Maryland. Third ed.

Gyermek, L., Genter, G. & N. Fleming. (1967): Some effects of progesterone and related steroids on the central nervous system. Int. J. Neuropharmacol. 6: 191-8.

Gyermek, L., J. Iriarte & P. Grabbé. (1968): Structure-activity relationship of some steroidal hypnotic agents. J. Med. Chem. 11: 117-25.

Halász, B. (1969): The endocrine effects of isolation of the hypothalamus from the rest of the brain. pp. 307-42. In: Martini, L. & Ganong, W. P. (Eds). Frontiers in Neuroendocrinology. Oxford. Univ. Press.

Halász, B. & R. A. Gorski. (1967): Gonadotrophic hormone secretion in female rats after partial or total basal hypothalamus Isolation. Endocrinol. 80: 608-22.

Halász, B. & L. Pupp. (1965): Secretion of the anterior pituitary after physical interruption of all nervous pathways to the hypothysotropic aerea. Endocrinol. 77: 553.

Halász, B. & J. Szentágothai. (1962): The trophic dependence of the anterior pituitary on the hypothalamus. pp. 266-76. In: Szentágothai, J. (Ed) Hypothalamic control of the anterior pituitary. Publ. House Hung. Acad. Sci., Budapest.

Harris, G. W. (1937): The induction of ovulation in the rabbit by electrical stimulation of the hypothalamo-hypophyseal mechanism. Proc. Roy. Soc. (Biol.) 122: 274.

Harris, G. W. (1964): Sex Hormones, brain development and brain

function. Endocrinol. 75: 627-48.

Harris, G. W. & D. Jacobsohn. (1952): Functional grafts of the anterior pituitary gland. Proc. Roy. Soc. London B. 139: 263-76.

Harris, G. W. & S. Levine. (1962): Sexual differentiation of the brain and its experimental control. J. Physiol. (London) 163: 42-43.

Harris, G. W. & S. Devine (1965): Sexual differentiation of the brain and its experimental control. J. Physiol (London) 181: 379-400.

Haterius, H. O. & A. J. Derbyshire. (1937): Ovulation in the rabbit following upon stimulation of the hypothalamus. Am. J. Physiol. 119: 329.

Hayashi, S. & R. A. Gorski. (1974): Critical exposure time for androgenization by intracranial crystals of testosterone propionate in neonatal female rats. Endocrinology 94: 1161-7.

Hemminki, K. (1973): Purification of plasma membranes from immature rat brain FEBS Lett. 38: 79-82.

Hendricks, S. E. & A. A. Gerall. (1970): Effects of neonatally administered estrogen on development of male and female rats. Endocrinol. 87: 435-9.

Hess A. (1955 a): The ground substance of the developing central nervous system. J. Comp. Neurol. 102: 65-76.

Hess, A. (1955 b): Blood-brain barrier and ground substance of central nervous system. A. M. A. Arch. Neurol. Psychiat. 73: 380.

Hess, A. (1958): Further histochemical studies on the presence and nature of the ground substance of the central nervous system, J. Anat. (London) 92: 298-303.

Heuser, G., G. M. Ling, & N. A. Buchwald. (1965): Sedation or seizures as dose-dependent effects of steroids. Arch. Neurol. 13: 195-203.

Hillarp, N. A. (1949): Studies on the localization of hypothalamic centres controlling the gonadotrophic function of the hypophysis. Acta Endocr. (Kbh) 2: 11-23.

Hohlweg, W. & K. Junkmann. (1932): Die Hormonalnervöse Regulierung der Funktion des Hypophysenvorderlappens. Klin. Wschr. 11: 321-3.

Hohlweg, W. & A. Chamorro. (1937): Über die luteinisierende Wirkung

des Follikelhormons durch Beeinflussung der luteogenen Hypophysenvorderlappensekretion. Klin. Wochr. 16: 196-7.

Holian, O. D. Dill & E. G. Brunngraber. (1971): Incorporation of radioactivity of D-glucosamine-1-14C into heteropolysaccharide chains of glycoproteins in adult and developing rat brain. Arch. Biochem. Biophys. 142: 111-21.

Holzbauer, E. (1971): In vivo production of steroids with central depressant actions by the ovary of the rat. Br. J. Pharmacol. 43: 560-9.

Huffman, J. W. (1941): Effect of testosterone propionate upon the reproduction in the female. Endocrinol. 29: 77-81.

Igarashi, M. & S. M. McCann. (1964): A hypothalamic follicle stimulating hormone releasing factor. Endocrinology 74: 446-52.

Ishii, D. N. & E. M. Shooter. (1975): Regulation of Nerve growth factor synthesis in mouse submaxillary glands by testosterone. J. Neurochem. 25: 843-51.

Jacobson, M. (1970): Developmental Neurobiology, Holt, Rinehart and Winston, New York.

Jacobson, M. (1974): Trophic functions of the neuron. I Development of neural connections. Through the jungle of the brain: neuronal specificity and typology revised. Ann. N. Y. Acad. Sci. 228: 63-7.

Johnson, D. C. (1973): Androgenization of the female rat with androstenediol. J. Reprod. Fertil. 32: 159-61.

Jørgensen, O. S. (1976): Localization of the antigens D1, D2 and D3 in the rat brain synaptic membrane. J. Neurochem. 27: 1223-1227.

Kaasjager, W. A. (1971): The role played by the preoptic region of the hypothalamus on spontaneous ovulation and ovulation induced by progesterone. Neuroendocr. 7: 54-64.

Kalra, P.S., C.P. Fawcett, L. Krulich & S.M. McCann. (1973): The effects of gonadal steroids on plasma gonadotrophins and prolactin in the rat. Endocrinology 92: 1256-68.

Kanerva, L. A. Hervonen and A. H. Tissari. (1978): Ultrastructure of synaptosomes from fetal rat brain. Acta Physiol. Scand. 102: 50-63.

Kanerva, L., A. H. Tissari B. V. Al. Suurhasko and A. Hervonen.

(1977): Ultrastructural characterization of synaptosomes from neonatal and adult rats with especial reference to monoamines. J. Comp. Neurol. 174: 631-58.

Keating, M. J. (1968): Functional interaction in the development of specific nerve connections. J. Physiol. (London) 198: 75-77.

Kempf, R. (1950): Contribution a l'etude des mecanismes de liberation des hormones gonadotropes hypophysaires chez le rat. Arch. Biol. (Liege): 61: 501-94.

Kikuyama, S. (1961): Inhibitory effect of reserpine on the induction of persistent estrus by sex steroids in the rat. Annot. Zool. Jpn. 34: 111-6.

Kikuyama, S. (1962): Inhibition of induction of persistent estrus by chlorpromazine in the rat. Annot. Zool. Jpn. 35: 6-11.

Kincl, F. A. & M. Maqueo. (1965): Prevention by progesterone of steroid induced sterility in neonatal male and female rats. Endocrinol. 77: 859.

Kirotzu, T. K., Kurachi & T., Bau. (1950): Experimental studies on ovulation by the electrical stimulation of the hypothalamus of rabbits. Med. J. Osaka Univ. 2: 1-12.

Kirotzu, T. K., Kurachi, C. Tobayashi & T. Bau. (1952). Experimental studies on ovulation by the electrical stimulation of the hypothalamus in hypophysectomized rabbits. Med. J. Osaka Univ. 3: 139-50.

Knobil, E. (1974): On the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey. Rec. Prog. Horm. Res. 30: 1

Kobayashi, F. H., Sato, M. Maruyama, K. Arai & S., Takesawa, (1959): Persistence estrous produced in rats by hypothalamic lesions. Endocr. Jap. 6: 107-12.

Kobayashi, F. & R. A. Gorski. (1970): Effects of antibiotics on androgenization of the neonatal female rat. Endocrinol. 86: 285-9.

Korenbrot, C. C., D. C. Paup and K. A. Gorski. (1975): Effects of testosterone propionate or dihydrotestosterone propionate on plasma FSH and LH levels in neonatal rats and on sexual differentiation of the brain. Endocrinol. 97: 709-17.

Köves, E. & B. Halász. (1970): Location of the neural structures triggering ovulation in the rat. Neuroendocr. 6: 180-93.

- Krey, C.G., R. W. Butler & E. Knobil. (1975). Surgical disconnection of the medial basal hypothalamus and pituitary function in the rhesus monkey. I. Gonadotropin secretion. Endocrinology 96: 1073.
- Krusius, T. J. Finne, R. U. Margolis and R. K. Margolis. (1978): Structural features of microsomal, synaptosomal, mitochondrial and soluble glycoproteins of brain. Biochemistry 17: 3849-54.
- Ladosky, W. Kesikowski W. M. and I. F. Gaziri. (1970): Effect of a single injection of chlorpromazine into infant male rats on subsequent gonadotrophin secretion. J. Endocr. 48: 151-6.
- Laemmlli, U. K. y M. Favre (1973): Maturation of the head of bacteriophage T 4. J. Mol. Biol. 80: 575-599.
- Langley O. K. & P. Kennedy, (1977): The metabolism of nerve terminal glycoproteins in the rat brain. Brain Res. 130: 109-20.
- Laqueur, G. L., S. M. McCann, L. H. Sehreiner, E. Rosenberg, D. M. Rioch & E. Anderson. (1955): Alterations of adrenal cortical and ovarian activity following hypothalamic lesions. Endocrinol. 57: 44-54.
- Lawrence, D. K. & E. W. Gill (1975): Structural specific effects of some steroid anesthetics on spin-labelled liposomes. Mol. Pharmacol. 11: 280-6.
- Lebeux, Y. J. and J. Willemot. (1975): An ultrastructural study of the microfilaments in rat brain by means of heavy meromyosin labeling I. The perikaryon the dendrites and the axon. Cell Tissue Res. 160: 1-36.
- Leung, P. C. K. S. R. Goldenberg and D. T. Armstrong. (1978): Changes with age of aromatization of testosterone in the immature female rats. Biol. Rep. 19: 1036-9.
- Lieberburg, I. & B. S. Mc Ewen. (1975): Estradiol 17 β . A metabolite of testosterone recovered in cell nuclei from limbic areas of neonatal rat brain. Brain Res. 85: 167-70.
- Lieberburg, I. Wallach C. and B. S. Mc Ewen. (1977): The effects of an inhibitor of aromatization (1, 4, 6-androstatriene-17, 20-dione) and an antiestrogen (CI-628) on in vivo formed testosterone metabolites recovered from neonatal rat brain tissues and purified cell nuclei. Implications for sexual differentiation of the rat brain. Brain Res. 128: 176-81.
- Lobl, R. T. & R. A. Gorski. (1974): Neonatal intrahypothalamic androgen administration: The influence of dose and age on androgenization of female rats. Endocrinol. 94: 1325-30.

Ludueña, M. A. (1973): Nerve cell differentiation in vitro. Dev. Biol. 32: 268-84.

Maclusky, N. J., Chaptal, C., I. Lieberburg & B. S. Mc Ewen, (1976): Properties and subcellular interrelationships of presumptive estrogen receptor macromolecules in brains of neonatal and prepubertal female rats. Brain Res. 114: 158-65.

Kardones, E., S. Bruzzone, R. Iglesias & A. Lipschutz. (1951): The nonconcomitancy of the progestational and antiluteinizing actions of steroids. Endocrinol. 49: 817-25.

Margolis, K. K. & Z. Gómez. (1974): Structural changes in brain glycoproteins during development. Brain Res. 74: 370-2

Markee, J. E., C. H., Sawyer & W. H. Hollinshead. (1946): Activation of the anterior hypophysis by electrical stimulation in the rabbit. Endocrinol. 38: 345-57.

Marshall, F. H. A. & E. B. Verney. (1936): The occurrence of ovulation and pseudopregnancy in the rabbit as a result of central nervous stimulation. J. Physiol. (London) 86: 327-36.

Martínez, C. & J. J. Bittner. (1956): A non-hypophyseal sex difference in oestrus behavior of micebearing pituitary grafts. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 91: 506.

Maurer, R. A. (1974): 3H-estradiol binding macromolecules in the hypothalamus and anterior pituitary of normal female, androgenized female and male rats. Brain Res. 67: 175-7.

Maurer, R. A. & E. D. Wooley. (1974): Demonstration of nuclear 3H-estradiol binding in hypothalamus and amygdala of female, androgenized female and male rats. Neuroendocrinol. 16: 137-47.

Mazer, M & G. Mazer. (1939); the effect of prolonged testosterone propionate administration on the immature and adult female rat. Endocrinology. 24: 175-81.

McCann, S. M. (1962): Effect of progesterone on plasma luteinizing hormone activity. Am. J. Physiol. 202: 601-4.

McDonald, P. G. & C. Doughty. (1972 a): Comparison of the effect of the neonatal administration of testosterone and dihydrotestosterone in the female rat. J. Reprod. Fertil. 30: 55-62.

Mc. Donald, P. G. & C. Doughty. (1972 b): Inhibition of androgen

sterilization in the female rat by administration of an antiestrogen. J. Endocr. 55: 455-6.

Mc. Donald, P. G. & C. Doughty. (1974 a): Effect of neonatal administration of different androgens in the female rat: correlation between aromatization and the induction of sterilization. J. Endocr. 61: 95-103.

Mc. Donald, P. G. & C. Doughty. (1974b): Androgen sterilization in the neonatal female rat and its inhibition by an estrogen antagonist. Neuroendocrinol. 13: 182-8.

McEwen, B. S. (1975 a): Role of feto-neonatal estrogen binding protein in the association of estrogen with neonatal brain cell nuclear receptors. Brain Res. 96: 400-6.

Mc Ewen, B. S. (1975 b): Steroid receptors in neuroendocrine tissues: topography, subcellular distribution and functional implications. In: International Symposium on Subcellular Mechanisms in Reproductive Neuroendocrinology, Boston, Mass.

Mc Ewen, B. S., P. G. Davis, B. Parsons & D. W. Pfaff (1979): The brain as a target for steroid hormone action. Ann. Rev. Neurosci. 2: 65-112.

Mess, B. & L. Martini (1968): The central nervous system and the secretion of anterior pituitary trophic hormones p.p. 1-49. In: James, V. H. T. (Ed.): Recent Advances in Endocrinology, Churchill, London.

Meyer, R. K., C. Biddulph & J. C. Finerty (1946): Pituitary-gonad interaction in immature female parabiotic rats. Endocrinology 39: 23-31.

Meyer, G., R. Ferrer-Torres & M. Mas. (1978): The effects of puberty and castration on hippocampal dendritic spines of mice. A Golgi study. Brain Res. 155: 108-12

Meyer, R. K. & C. E. McCormack (1967): Ovulation in immature rats treated with ovine FSH: facilitation by progesterone and inhibition by continuous light. J. Endocr. 38: 187-94.

Miller, J. C. & K. W. Miller (1975): Approaches to the mechanism of action of general anesthetics. pp. 33-76. In: Blaschko, H. K. F. (Ed.): HTP International Review of Science. Physiological and Pharmacological Biochemistry. Biochemistry Series One Vol. 12. Butterworths-University Park Press, London-Baltimore.

Kiyachi, Y., E. Nieschlag & M. Lipsett. (1972): The secretion of gonadotropins and testosterone by the neonatal male rat. Endocrinol. 92: 1-5.

Moore, C. R. & D. Price (1932): Gonad hormone functions and the reciprocal influence between gonads and hypophysis with its bearing on the problem of sex hormone antagonism. Am. J. Anat. 50: 13.

Morgan, I. G. & G. Gombos. (1976): Biochemical studies of synaptic macromolecules. pp. 179-202 In: S. H. Barondes, (Ed) Neuronal Recognition. Plenum Press New York.

Nadler, R. D. (1972); Intrahypothalamic locus for induction of androgen sterilization in neonatal female rats. Neuroendocr. 9: 349-57.

Nadler, R. D. (1973): Further evidence on the intrahypothalamic locus for androgenization of female rats. Neuroendocr. 12: 110-9.

Naftolin, F., K. J. Ryan & I. J. Davies, (1975): The formation of estrogens by central neuroendocrine tissues. Rec. Prog. Horm. Res. 31: 295-319.

Neumann, P. & M. Kramer. (1967): Female brain differentiation of male rats as a result of early treatment with an androgen antagonist. pp. 932-41 In: L. Martini & M. Motta, (Eds.) Hormonal Steroids. Excerpta Medica. Amsterdam.

Niemi, M. & M. Kormanio. (1964): Cell renewal in the interstitial tissue of postnatal prepuberal rat testis. Endocrinol. 74: 996-1000.

Nuñez, E., L. Savu & F. Engelmann. (1971): Origine embryonnaire de la protéine serique fixante l'oestrone et l'oestradiol chez le ratte impubère. C. R. Acad. Sci. (Paris) 273: 242-5.

Ortiz, E., D., Price & J. P. Zaaizer. (1966): Organ culture studies of hormone secretion in endocrine glands of fetal guinea pigs. II. Secretion of androgenic hormones in adrenals and testis during early stages of development. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc. Ser. C. 69: 400-8.

P'An, S. Y & G. P. Laubach, (1964): Steroid Central Depressants. pp. 415-75. In: R. I. Dorfman (Ed). Methods in Hormone Research. III. Steroid Activity in Experimental Animals and Man. Part A. Academic Press. New York, N. Y.

PANG, S. F., A. R. Cassinola, V. L. Gay, R. L. Goodman and C. S. Pang. (1979): Serum concentrations of testosterone, estrogens, LH and FSH in male and female rats during the critical period of neural sexual differentiation. J. Endocr. 80: 103-10.

Pfeiffer, C. A. (1936): Sexual differences of the hypophysis and their determination by the gonads. Am. J. Anat. 58: 195-225.

Pfenninger, K. H. & R. P. Rees. (1976): From the growth cone to the synapse pp. 131-78 In: Barondes, S. H. (Ed.) Neuronal Recognition. Plenum Press, New York.

Phoenix, C. H., R. W. Goy, A. A. Gerall & W. C. Young. (1959): Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pigs. Endocrinol. 65: 369-82.

Flapinger, L., B. S. Mc Ewen & L. E. Clemens. (1973): Ontogeny of estradiol binding sites in rat brain. II Characteristics of a neonatal binding macromolecule. Endocrinol. 93: 1129-39.

Quattropani, S. & J. Weisz. (1973 a): Conversion of progesterone and estradiol in vitro by the ovary of the infantile rat in relation to the development of its interstitial tissue. Endocrinology 93: 1269-76.

Quattropani, S. & Weisz J. (1973 b): In vitro steroidogenesis by the infantile rat ovary. pp. 49-50 In: Peters, H., (Ed): The Development and Maturation of the Ovary and its Functions. Excerpta Medica, Amsterdam.

Raisman, G. & P. M. Field, (1971): Sexual dimorphism in the preoptic area of the rat. Science 173: 731-3.

Raisman, G. & P. M. Field. (1973): Sexual dimorphism in the neuropil of the preoptic area of the rat and its dependence on neonatal androgen. Brain Res. 54: 129.

Rambourg, A. & C. P. Leblond. (1967): Electron microscope observation on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. J. Cell Biol. 32: 27-53.

Raynaud, J., P. C. Mercier-Bodard & E. E. Baulieu. (1971): Rat estrogen binding protein. Steroids 18: 767-88.

Reddy, V. V., R. F. Naftolin & K. J. Ryan. (1974): Conversion of androstenedione to estrone by neural tissues from fetal and neonatal rats. Endocrinology 94: 117-21.

Rees, R. P., M. B. Bunge & R. P. Bunge. (1976): Morphological changes in the neuritic growth cone and target neuron during synaptic junction development in culture. J. Cell Biol. 68: 240.

Rennels, E. G. & W. K. O'Steen (1967): Alterations in LH and FSH content and weight of the anterior pituitary gland of immature female rats treated with PMS. Endocrinology 80: 82-8.

Resko, J. A., H. H. Feder and R. W. Goy. (1968): Androgen concentration in plasma and testis of developing rats. J. Endocr. 40: 485-91.

Rostas, J. A., P. P. T. Kelly, R. H. Pesin & K. W. Cotman. (1979): Protein and glycoprotein composition of synaptic junctions prepared from discrete synaptic regions and different species. Brain Res. 168 (1): 151-68.

Salaman, D. F. (1974 a): The role of DNA, RNA and protein synthesis in sexual differentiation of the brain. Prog. Brain Res 41: 349-62.

Salaman, D. F. (1974 b): Androgen-induced sexual differentiation of the brain blocked by inhibitors of DNA and RNA synthesis. Nature 247: 109-12.

Sawyer, C. H. (1949): A neural factor in the mechanism by which oestrogen induces the release of LH in the rat. Endocrinol. 44: 218-33.

Sawyer, C. H., J. W. Everett & J. E. Markee (1949): A neural factor in the mechanism by which estrogen induces the release of luteinizing hormone in the rat. Endocrinology 44: 218-33.

Schubert, D. M. LaCorbiers, C. Whitlock & W. Stallcup. (1978): Alterations in the surface properties of cell responsive to nerve growth factor. Nature 273 (5665): 718-23.

Seeman, P. (1963): The surface activity of tranquilizers. Biochem. Pharmacol. 12: 1181-91.

Seeman, P. (1966 a): Membrane stabilization by drugs: tranquilizers, steroids and anesthetics. Int. Rev. Neurobiol. 9: 145-221.

Seeman, P. (1966 b): Erythrocyte membrane stabilization by local anesthetics and tranquilizers. Biochem. Pharmacol. 15: 1753-66.

Seeman, P. (1972): The membrane actions of anesthetics and tranquilizers. Pharmacol. Rev. 24: 583-655.

Seeman, P., W. O. Kwant, T. Sauks & W. Argent. (1969): Membrane

- expansion of intact erythrocytes by anesthetics. Biochim Biophys. Acta **183**: 490-8.
- Segal, S. J. & D. C. Johnson. (1959): Inductive influence of steroid hormones on the ovary. Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. **48**: 261-74.
- Selye, H. (1940): Production of persistent changes in the genital organs of immature female rats treated with testosterone. Endocrinology **27**: 657-60.
- Selye, H. (1941): Anesthetic effect of steroid hormones. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **46**: 116-21.
- Selye, H. (1942 a): Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. Endocrinol. **30**: 437-53.
- Selye, H. (1942 b): The antagonism between anesthetic steroid hormones and pentamethyl tetrazol (metrazol). J. Lab. Clin. Med. **27**: 1051-3.
- Shay, H., J. H. Kohen, K. E. Paschkis & S. Fels. (1939): The effect of large doses of testosterone propionate (Oreton) on the female genital tract of the very young. Production of ovarian cysts. Endocrinology **25**: 933.
- Sheridan, P. J. (1974): Autoradiographic localization of 3H-estradiol or its metabolites in the central nervous system of the developing rat. Endocrinol. **94**: 1386-90.
- Sheridan, P. J., M. K. Zarrow & B. D. Goldman. (1973): Androgenization of the neonatal female rat with very low doses of androgen. J. Endocr. **57**: 33-45.
- Shine, H. D. & J. R. Pérez-Polo (1976): 7S Nerve Growth Factor protein in the golden hamster. J. Neurochem. **27**: 1315-8.
- Shipley E. (1962): Anti-gonadotropic steroids, inhibition of ovulation and mating. pp. 179-274 In: Dorfman R. I. (Ed.) Methods in Hormone Research. Vol. II Academic Press. New York and London.
- Shipley, E. G. & Meyer, R. K. (1965): Effect of corticoids and progestins on pituitary gonadotropic functions in immature rats. pp. 293-300 In: L. Martini & A. Peçile, (Eds.) Hormonal Steroids. Academic Press. New York, N. Y.
- Sholl, S. A. & R. W. Goy. (1978): Androgen and estrogen synthesis in the fetal guinea pig gonads. Biol. Rep. **18**: 160-9.
- Sidman, R. L. (1974): Contact interaction among developing mammalian brain cells. pp. 221-53. In: Moscona, A. R. (Ed.): The Cell Surface

in Development. Wiley, New York.

Siegel, S. (1957): Non parametric statistics for the behavioral Sciences, Mc Graw Hill, New York.

Smeaton, T. C., D. E. Arcoudgulis & P. A. Steele. (1975): Synthesis of testosterone and estradiol-17B by the gonads of neonatal rats in vitro. Steroids 26: 181-92.

Smith E. R. & J. M. Davidson (1974) Localization of feedback receptors: effect of intracranially implanted steroids on plasma LH and LRF release. Endocrinology 95: 1566-73.

Sperry, R. W. (1962): Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 50: 703-10.

Spies, H., J. A. Resko & R. L. Norman (1974): Evidence of preoptic hypothalamic influence on ovulation in the rhesus monkey. Federation Proc. 33: 222.

Staudacherová, D., P. Larcis & S. Trojan. (1979): Ontogenetic Development of Pentobarbital-induced EEG Pattern and Sleeping time in Rats. Dev. Psychobiol. 12 (1): 11-25.

Stumpf, W. E. (1968): Estradiol-concentrating neurons: topography in the hypothalamus by dry-mount autorradiography. Science 162: 1001-3.

Stumpf, W. E. (1970): Estrogen-neurons systems in the periventricular brain. Am. J. Anat. 129: 207-18.

Swanson, H. H. (1970): Effects of castration at birth in hamsters of both sexes on luteinization of ovarian implants, oestrus cycles and sexual behavior. J. Reprod. Fertil. 21: 183-6.

Swanson, H. H. & J. J. Van der Werff ten Bosch. (1964): The "early androgen" syndrome; differences in response to prenatal and postnatal administration of various doses of testosterone propionate in female and male rats. Acta Endocr. 47: 37-50.

Szekeley, G. (1966): Embryonic determination of neural connections. Adv. Morph. 5: 181-219.

Szentágothai, J. (1962): Hypothalamic control of the anterior pituitary. Publ. House Hung. Acad. Sci., Budapest.

- Takewaki, K. (1962 a): Some aspects of hormonal mechanism involved in persistent oestrus in the rat. Experientia **18**: 1-6.
- Takewaki, K. (1962.b): Some experiments on the control of hypophyseal gonadal system in the rat. Gen. Comp. Endocrinol. Suppl. **1**: 309-15.
- Taleisnik, S. & S. M. Mc Cann. (1961): Effect of hypothalamic lesions on the secretion and storage of hypophysial LH. Endocrinol. **68**: 263.
- Tapper, C. M., F. Grieg & K. Brown, Grant. (1974): Effect of steroid hormones on gonadotrophin secretion in female rat after ovariectomy during the oestrus cycle. J. Endocr. **62**: 511-25.
- Tauc, L. & D. H. Hinzen. (1974): Neuraminidase: its effects on synaptic transmission. Brain Res. **80**: 340-4.
- Thomas, T. R. & A. A. Gerall. (1969): Dissociation of reproductive physiology and behavior induced by neonatal treatment with steroids Endocrinol. **85**: 781-4.
- Toran-Allerand, CD. (1976): Sex steroids and the development of the newborn mouse hypothalamus and preoptic area in vitro: implications for sexual differentiation. Brain Res. **106**: 407-12.
- Tuge, H., Y. Kanayama & C. H. Yueh. (1960): Comparative Studies on the Development of EEG. Jap. J. Physiol. **10**: 211-20.
- Vanderkooi, J. M., R. Landesberg, H. Selick II & G. G. Mc Donald. (1977): Interaction of general anesthetics with phospholipid vesicles and biological membranes. Biochim. Biophys. Acta **464**: 1-16.
- Van der Schoot, P. & G. H. Zeilmaker. (1972): Aspects of the function of ovarian grafts in neonatally castrated male rats. Endocrinol. **91**: 389-95.
- Van Dyke, D. C., M. E. Simpson, S. Lepkowsky, A. A. Koneff & J. R., Brobek. (1957): Hypothalamic control of pituitary function and corpus luteum formation in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **95**: 1.
- Van Niew Amerongen, A. & P. A. Koukema. (1975). The appearance of the soluble and the membrane-bound factors of the nervous tissue specificialoglycoproteins GP-350 in the developing rat brain. Brain Res. **89** (2): 358-62.
- Veron, S., J. Nomura & E. M. Shooter. (1967): The isolation of the mouse nerve growth factor protein in a high molecular weight form.

Biochemistry 6: 2202-9.

Wagner, J. W. (1968): Luteinizing of ovarian transplant in PMS primed immature male rats. Am. Assoc. Anatomists p. 445.

Wagner, J. W., W. Erwin & V. Critchow. (1966): Androgen sterilization produced by intracerebral implants of testosterone in neonatal female rats. Endocrinol. 79: 1135-42.

Walker, P., M. E Weichsel Jr., D. A. Fisher, S. L. Guo y D. A. Fisher (1979): Thyroxine increases Nerve Growth Factor in adult mouse rain. Science 204: 427-9.

Weisz, J. & C. Gibbs. (1974 a): Conversion of testosterone and androstenedione to estrogens in vitro by the brain of female rats. Endocrinol. 94: 616.

Weisz, J. & C. Gibbs. (1974 b): Metabolism of testosterone in the brain of the newborn female rat after an injection of 3H-testosterone. Neuroendocrinol. 14: 72-86.

Whalen, R. E. & W. E. Luttge. (1971): Perinatal administration of dihydrotestosterone to female rats and the development of reproductive function. Endocrinol. 89: 1320-2.

Whalen, R. E. & R. D. Nadler (1965): Modification of spontaneous and hormone-induced sexual behaviour by estrogen administration to neonatal female rats. J. Comp. Physiol. Psychol. 60: 150-2.

Wilson, J. G. (1943): Reproductive capacity of adult female rats treated prepuberally with estrogenic hormone. Anat. Rec. 86: 341-59.

Wilson, J. G. & H. C. Wilson. (1943): Reproductive capacity in adult male rats treated prepuberally with androgenic hormone. Endocrinol. 33: 353.

Wilson, J. G. & W. C. Young. (1941): Sensitivity to estrogen studied by means of experimentally induced mating responses in the female guinea pig and rat. Endocrinol. 29: 779-83.

Wollman, A. L. & J. B. Hamilton. (1967): Prevention by cyproterone acetate of androgenic but not of gonadotropic elicitation of persistent estrus in rats. Endocrinol. 81: 350.

Yaginuma A. Matsuda & Y. Murasawa. (1969): Presence of hypothalamopituitary-testicular axis in the early postnatal period. Endocr. Jap. 16: 5-10.

Yazaki, I. (1960): Further studies on endocrine activity of sub-

cutaneous ovarian grafts in male rats by daily examination of smears from vaginal grafts. Anat. Zool. Jan. 33: 217-25.

Yoshii, N. & K. Tsukiyama. (1951): Normal EEG and its development in the white rat. Jan. J. Physiol. 2: 34-38.

Zatz, L. & S. H. Barondes. (1970): Fucose incorporation into glycoproteins of mouse brain. J. Neurochem 17: 157-63.

Zatz, L. & S. H. Barondes. (1971): Rapid transport of fucose glycoproteins to nerve endings in mouse brain. J. Neurochem. 18: 1125-33.