



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00087

Matrícula: 2183801838

Efecto de la administración postnatal de daidzeína sobre la conducta sexual en la rata macho Wistar

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 8:00 horas del día 29 del mes de enero del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

- DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS
- DR. JAVIER VELAZQUEZ MOCTEZUMA
- DR. JOSE LUIS TLACHI LOPEZ
- DRA. ADRIANA MARGARITA MORALES OTAL



Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL

DE: GUADALUPE LUISA JIMENEZ SANCHEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

GUADALUPE LUISA JIMENEZ SANCHEZ

ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO
CASTELLANOS

VOCAL

DR. JAVIER VELAZQUEZ MOCTEZUMA

VOCAL

DR. JOSE LUIS TLACHI LOPEZ

SECRETARIA

DRA. ADRIANA MARGARITA MORALES OTAL

Declaración de originalidad

El (La) que suscribe **Guadalupe Luisa Jiménez Sánchez**, alumno (a) del posgrado **Maestría en Biología de la Reproducción Animal**, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor(a) de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: **“Efecto de la administración postnatal de Daidzeína sobre la conducta sexual en la rata macho Wistar”**,

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante **La Comisión de la MBRA y ante el jurado asignado** para lo obtención del grado de **Maestra en Biología de la Reproducción Animal** es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el **8 de abril del 2021**.

Atentamente



Guadalupe Luisa Jiménez Sánchez

Nombre y firma del alumno

Este documento debe ser firmado con tinta azul y debe anexarse copia en la tesis o idónea comunicación de resultados (tesina, reporte, etc.), el documento original será conservado por el Coordinador del Posgrado.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Maestría en Biología de la Reproducción Animal

**“EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN POSTNATAL DE
DAIDZEÍNA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL EN LA
RATA MACHO WISTAR”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL**

PRESENTA

LIC. EN PSICOLOGÍA GUADALUPE LUISA JIMÉNEZ SÁNCHEZ

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTOR:

DR. MARIO GARCÍA LORENZANA

ASESORAS:

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGÓ CASTELLANOS

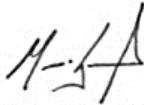
DRA. ADRIANA MARGARITA MORALES OTAL

Ciudad de México, Enero 2021

COMITÉ TUTORIAL

Director

Dr. Mario García Lorenzana
Profesor-Investigador Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
mglo@xanum.uam.mx



Asesoras

Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Profesora-Investigadora Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
mrtc@xanum.uam.mx



Dra. Adriana Margarita Morales Otal
Profesora-Investigadora Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
otal@xanum.uam.mx



Miembros del Jurado

Presidente

Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos
Profesora-Investigadora Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
mrtc@xanum.uam.mx



Secretaria

Dra. Adriana Margarita Morales Otal
Profesora-Investigadora Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
otal@xanum.uam.mx



Vocal

Dr. Javier Velázquez Moctezuma
Profesor-Investigador Titular Nivel "C"
Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Área de Neurociencias
Departamento de Biología de la Reproducción
jvm@xanum.uam.mx



Vocal

Dr. José Luis Tlachi López
Universidad Autónoma de Tlaxcala
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Metropolitana de Tlaxcala
Departamento de Biología de la Reproducción
tlachijl@yahoo.com



La Maestría en Biología de la Reproducción Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana, pertenece al Programa Nacional de Posgrado de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). Registro de la MBRA ante CONACyT: 868900

La alumna Guadalupe Luisa Jiménez Sánchez recibió el apoyo del CONACyT, mediante el otorgamiento de una beca económica durante todo el tiempo de duración de los estudios de posgrado. Número de registro CVU: 939942. Extiendo un cordial agradecimiento al CONACyT y a la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa que proporcionaron el apoyo para la realización del presente trabajo.

Cuando se cierra una etapa en la vida resulta inevitable mirar hacia atrás y hacer un balance. Sin duda, terminar mi tesis de maestría es uno de esos momentos y es este el único apartado en ella en el que se me permite expresar mi sentir. Las sensaciones que puedo destacar son de satisfacción y gratitud...

GRACIAS

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa por abrirme las puertas, ha sido una increíble oportunidad de crecimiento profesional.

A la Coordinación y Comisión de la MBRA por aceptarme y confiar en mí, gracias por recibirme.

Al Dr. Mario García Lorenzana por todo su apoyo en cada momento bueno y malo, por aceptarme en su laboratorio, por su tiempo y asesoría y por ser el primer docente de la UAM-I en abrirme las puertas.

A la Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos por todo, por su amistad, confianza, por salvarme de muchas situaciones, por sus palabras en los mejores y malos momentos. Siempre ha estado ahí y se lo agradezco, no lo voy a olvidar nunca.

A la Dra. Adriana Margarita Morales Otal por aceptar trabajar con nosotros, por su asesoría, por su tiempo y dedicación en la lectura de mi tesis, sus comentarios han enriquecido mucho este trabajo.

A mis sinodales: el Dr. Javier Velázquez Moctezuma y el Dr. José Luis Tlachi López por su tiempo, asesoría y observaciones que mejoraron este trabajo.

A mis compañeros de maestría por los buenos y estresantes momentos que vivimos juntos, pero en especial quiero agradecer a Rubí y a Daniel por su invaluable amistad. Más allá de los trabajos en equipo, siempre me daban razones para sonreír.

DEDICATORIA

A mi hermosa Mire

Te amo mucho amacita, no sé qué haría sin ti, soy muy afortunada de tener tu apoyo, amor, confianza. Gracias por tanto.

A mi papá

Esto definitivamente lo he logrado gracias a ti, porque me enseñaste el amor al estudio, a seguir aprendiendo siempre, gracias papá por tantos consejos que me has dado.

A mi hermana

Gracias de nuevo por cuidarme, por estar siempre ahí dándome una mano en las buenas y en las malas y por creer en mí. Estoy muy orgullosa de ver hasta dónde has llegado.

A mi compañero de vida

Gracias amor por tu apoyo, por respetar mis decisiones, por hacerme el desayuno y acompañarme al camión cada que iba a mis clases temprano. Gracias por cuidarme, por entender mi malos momentos y por todo lo que hemos vivido juntos. Te amo.

A mi tío Enrique Jiménez López †

Su esencia permanecerá en todas las personas que lo quisimos mucho. Gracias tío por brindarme su apoyo y protección siempre. Abrazos hasta el cielo.

A mis angelitos

Por enseñarme el amor más puro y sincero.

...Son la razón, mi esperanza, mi motivación y en cada paso que doy están presentes siempre. Hoy comparto con usted este logro, fruto de su constante apoyo. Los amo.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	9
RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	11
CAPÍTULO I. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA	13
1.1. Descripción de la conducta sexual de la rata macho.....	13
1.2. Parámetros para evaluar la conducta sexual masculina.....	14
1.3. Control neuronal de la conducta sexual masculina	16
1.3.1. Área preóptica medial (APM)	17
CAPÍTULO 2. DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL CEREBRO	19
2.1. Núcleo sexual dimórfico del área preóptica medial (NSD-APO)	20
2.2. Hormonas que influyen en el Dimorfismo Sexual Cerebral	21
2.2.1. Andrógenos.....	21
2.2.2. Enzima aromatasa y estrógenos	22
2.3. Mecanismo de acción del Estradiol	23
CAPÍTULO 3. FITOESTRÓGENOS	26
3.1. Definición y Clasificación	26
3.2. Isoflavonas: estructura química.....	27
3.2.1. Metabolismo.....	28
3.2.2. Daidzeína.....	29
3.3. Mecanismo de acción de las Isoflavonas	30
CAPÍTULO 4. ANTECEDENTES	32
4.1. Efecto de la administración perinatal de los Fitoestrógenos sobre la conducta sexual en la rata macho.....	32
CAPÍTULO 5. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	33
5.1. Planteamiento del problema.....	33
5.2. Justificación	33
5.3. Pregunta de Investigación.....	33
5.4. Hipótesis.....	33
5.5. Objetivo general.....	34
5.6. Material y método	34
5.6.1. Sujetos y reactivos.....	34
5.7. Diseño experimental	35
5.8. Análisis estadístico	36

CAPÍTULO 6. RESULTADOS	37
6.1. Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho después de la administración postnatal de Daidzeína en una Arena típica	37
6.1.1. Porcentaje de machos que Montaron, Intromitieron y Eyacularon	37
6.1.2. Número de Montas (NM).....	38
6.1.3. Número de Intromisiones (NI)	39
6.1.4. Frecuencia Eyaculatoria (FE)	40
6.1.5. Latencia de Monta (LM)	41
6.1.6. Latencia de Intromisión (LI).....	42
6.1.7. Latencia de Eyaculación (LE).....	42
6.1.8. Intervalo Post-Eyaculatorio (IPE)	43
6.1.9. Eficacia Copulatoria	44
CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN	46
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES	51
REFERENCIAS	52

ABREVIATURAS

AC	Comisura Anterior
AHR	Receptor de aril hidrocarburos
ARNT	Translocador nuclear de AHR
APO	Área Preóptica
APM	Área Preóptica Medial
ATD	1,4,6-androstatrieno-3,17-diona
AVPV	Núcleo Anteroventral Periventricular
BE	Benzoato de Estradiol
BOA	Bulbo Olfatorio Accesorio
BOP	Bulbo Olfatorio Principal
cAMP	Adenosín Monofosfato Cíclico
CC	Cuerpo Calloso
CPU	Caudado Putamen
DHT	Dihidrotestosterona
E.E.	Error Estándar
ERE	Elementos de Respuesta a Estrógenos
E₂	Estradiol
ET	Estría Terminal
FE	Frecuencia Eyaculatoria
Fes	Fitoestrógenos
GPR30	Receptor de estrógenos acoplado a proteína G
IPE	Intervalo Post-Eyaculatorio
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LI	Latencia de Intromisión
LM	Latencia de Monta
LE	Latencia de Eyaculación
MAPK	Proteína cinasa activada por mitógenos
MeApd	Amígdala Medial Posterodorsal
MPN	Núcleo Preóptico Medial
MPNc	División central del Núcleo Preóptico Medial
MPNm	División medial del Núcleo Preóptico Medial
MPNav	División anteroventral del Núcleo Preóptico Medial
NM	Número de Montas
NCET	Núcleo Cama de la Estría Terminal
NE	Número de Eyaculaciones
NI	Número de Intromisiones
NSD-APO	Núcleo Sexual Dimórfico del Área Preóptica
NSQ	Núcleo Supraquiasmático
NTS	Núcleo del Tracto Solitario
NVM	Núcleo Ventromedial
OC	Quiasma Óptico
OVN	Órgano Vomeronasal
PI3K	Fosfatidilinositol 3 cinasa
PPAR	Receptor activado por proliferación de peroxisomas
PT	Propionato de Testosterona
REs	Receptores Estrogénicos
REα	Receptor Estrogénico α
REβ	Receptor Estrogénico β
RXR	Receptor X de retinoides
s.c.	Subcutáneo
SNC	Sistema Nervioso Central
T	Testosterona
V	Vehículo

RESUMEN

Los Fes son compuestos polifenólicos no esteroides derivados del metabolismo de las plantas, los cuales poseen una estructura química similar a los estrógenos. La Daidzeína es un Fes del tipo de isoflavonas presente en la soya que induce alteraciones en la fisiología reproductiva de la rata macho, debido a su acción sobre los receptores estrogénicos y a su metabolito activo (el equol), que posee un efecto anti-androgénico. El objetivo de este trabajo fue determinar si la Daidzeína, administrada durante un periodo crítico de diferenciación sexual cerebral, modifica la expresión de la conducta sexual en la rata macho adulta Wistar.

Se utilizaron tres camadas de 10-14 animales cada una (mitad machos y mitad hembras). La Daidzeína fue disuelta en aceite de olivo (V) y administrada a los grupos experimentales durante los primeros cinco días postnatales (P1-P5) por vía subcutánea (s.c.). El grupo control recibió 10 $\mu\text{L/kg}$ de V y los grupos 2 y 3 recibieron las diferentes dosis de Daidzeína (123 y 12300 $\mu\text{g/kg}$) respectivamente. Las crías macho permanecieron en condiciones de bioterio (ciclo invertido, alimento libre de Fes y agua *ad libitum*) hasta que alcanzaron los tres meses de edad para iniciar las pruebas conductuales. Las ratas macho adultas recibieron tres sesiones de entrenamiento de 30 minutos cada una, con hembras sexualmente receptivas. Se dejó que machos y hembras interactuaran en una arena típica y cada cinco minutos se cambiaban a las hembras. La cuarta sesión fue de evaluación y se registraron: el NM, el NI y la FE, así como: la LM, LI y la LE, el IPE y la eficacia copulatoria. Además, se calculó el porcentaje de machos que montaron, intromitieron y eyacularon.

No se observaron diferencias significativas en los parámetros evaluados entre los machos tratados con 123 $\mu\text{g/kg}$ de Daidzeína y los machos controles. Sin embargo, si se observó una disminución significativa en la LI con respecto al grupo control. Por otro lado, en el grupo tratado con 12300 $\mu\text{g/kg}$ de Daidzeína disminuyó significativamente la FE en la primera serie copulatoria y aumentó la LE con respecto a los machos controles. Esto indica que la dosis alta de Daidzeína alteró la expresión de la conducta sexual de la rata macho adulta Wistar.

INTRODUCCIÓN

La Diferenciación Sexual del Cerebro es el proceso durante el cual las hembras y los machos experimentan transformaciones celulares y anatómicas que determinan diferencias en la fisiología cerebral en ambos sexos. Las diferencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y del comportamiento de machos y hembras se denominan en su conjunto “Dimorfismo Sexual” y dependen en gran medida de la acción organizacional de las hormonas esteroides, es decir, de los andrógenos y estrógenos presentes en zonas específicas del cerebro, durante un periodo crítico del desarrollo (Gorski, 1968; Arnold y Gorski, 1984; Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005).

Este periodo crítico de Diferenciación Sexual del Cerebro en roedores abarca, desde el día 18 gestacional hasta los primeros diez días postnatales (Gorski, 2002; Cooke *et al.*, 1998; Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005), la exposición a E₂ durante este periodo, es responsable del desarrollo de los diferentes circuitos neuroanatómicos, funciones neuroendocrinas y de los estereotipos de conducta en la rata macho (Arnold y Gorski, 1984; Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005). Así, cambios en el medio hormonal durante el periodo crítico de diferenciación sexual del cerebro, pueden afectar el desarrollo de los patrones reproductivos y provocar cambios en la organización cerebral durante la vida adulta (Arnold y Gorski, 1984).

Los compuestos ambientales con actividad estrogénica (xenoestrógenos y fitoestrógenos) administrados durante este periodo crítico de diferenciación, tienen el potencial de afectar irreversiblemente el desarrollo del sistema endocrino-reproductivo, lo cual resulta en una disfunción reproductiva en los adultos (Masutomi *et al.*, 2003). Se han caracterizado los efectos de estos compuestos ambientales (como algunos Fes, tales como la genisteína, coumestrol y resveratrol) en roedores, administrados durante el periodo crítico de diferenciación sexual del cerebro, resultando en una alteración en el volumen del núcleo sexual dimórfico del área preóptica (NSD-APO), en la respuesta de la hipófisis a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), así como alteraciones en la conducta sexual (Lephart *et al.*, 2002; Masutomi *et al.*, 2003; Barrita, 2005; Henry y Witt, 2006; Morales-Otal *et al.*, 2016). Estos datos aportan evidencia de que la exposición de las crías a los Fes, durante este periodo crítico,

puede alterar el desarrollo neuroendocrino en la rata macho y la conducta sexual en la etapa adulta.

La Daidzeína es un Fes natural del tipo de las isoflavonas cuya potencia estrogénica es de 0.08 en relación con el E₂ (Kalita y Milligan, 2010). Debido a su característica actividad biológica, la Daidzeína puede actuar directamente en los receptores estrogénicos (REs) y dependiendo de los niveles puede regular o desregular el eje neuroendocrino hipotálamo-hipófisis-gónada en los animales (Setchell y Cassidy, 1999). Dada la actividad estrogénica de esta isoflavona, este compuesto tiene efectos en el cerebro. En particular, la Daidzeína se ha relacionado con diversos mecanismos reguladores neurobiológicos como son: la cognición, el desarrollo y la reproducción, sus efectos los produce por la interacción con moléculas de señalización y con receptores, lo cual le confiere un efecto neuroprotector y/o neuropatológico (Ahmed *et al.*, 2017).

Actualmente no existen trabajos que evalúen el efecto de esta isoflavona sobre la conducta sexual en roedores cuando se administra durante el periodo crítico de Diferenciación Sexual Cerebral, por tal motivo; el objetivo de este trabajo es determinar si la Daidzeína, administrada en los primeros cinco días postnatales, altera la expresión de la conducta sexual en la rata macho adulta Wistar.

CAPÍTULO I. CONDUCTA SEXUAL MASCULINA

1.1. Descripción de la conducta sexual de la rata macho

La conducta sexual de la rata macho consiste en una serie de patrones motores de montas e intromisiones repetidas e intercaladas que finalizan con la eyaculación y son fácilmente identificables (Hull *et al.*, 2006). La conducta sexual puede dividirse para su estudio en tres fases: a) la precopulatoria, b) la copuladora y c) la posteyaculatoria (Meisel y Sach, 1994; Agmo, 1999).

Fase precopuladora: Durante esta fase, el macho persigue a la hembra sexualmente receptiva, incluye el olfateo, la exploración genital, el aseo y la persecución del compañero. Durante esta etapa la hembra despliega patrones de proceptividad, tales como saltitos, movimientos de las orejas y el desplazamiento en zig-zag (Beach, 1976; Paredes y Agmo, 1992).

Fase copuladora: Implica la ejecución de posturas y movimientos que permiten la introducción peneana y la expulsión seminal, estos patrones motores se presentan cuando el macho está en presencia de una hembra receptiva; para su estudio se dividen en tres patrones conductuales que son: monta, intromisión y eyaculación (Lucio *et al.*, 2009). En la figura 1, se muestran dichos patrones respectivamente.



Figura 1: Patrones estereotipados de la conducta sexual en la rata macho. **A.** Monta, **B.** Intromisión, **C.** Eyaculación (Lucio *et al.*, 2009).

Monta: Se reconoce porque las regiones pélvicas y perineales del macho quedan apoyadas sobre la grupa femenina (figura 1A). Con las extremidades delanteras la rata macho sujeta a la hembra y palpa los flancos. Al mismo tiempo realiza movimientos pélvicos rítmicos alternantes hacia adelante y hacia atrás. Después el macho se desmonta lentamente. La hembra por su parte realiza lordosis

(arqueamiento del dorso que se acompaña de la elevación de la cabeza), justo cuando el macho realiza la palpación de los flancos (Lucio *et al.*, 2009).

Intromisión: Implica la monta más la inserción del pene en la vagina (figura 1B). El macho realiza un movimiento pélvico de penetración con una durabilidad de 400 ms aproximadamente, se desmonta con rapidez y se acicala el pene (Lucio *et al.*, 2009).

Eyacuación: Después de una serie repetida de montas e intromisiones se da una intromisión que se caracteriza por presentar un movimiento pélvico profundo, acompañado de una serie de movimientos que coinciden con la expulsión de líquido seminal que se mantiene durante varios segundos, mientras se presenta una elevación de las extremidades superiores (figura 1C) y el desmonte de la hembra es lento (Paredes y Agmo, 1992).

Fase postcopulatoria. La eyacuación es seguida por un periodo refractario denominado intervalo posteyaculatorio, en el que el macho entra en una etapa de inactividad sexual y acicalamiento genital, donde comúnmente permanece alejado de la hembra. Este periodo dura de 4 a 6 minutos después de la primera eyacuación y se prolonga de 1-2 minutos más con cada eyacuación sucesiva. Después del periodo refractario el animal puede reiniciar la cópula (Larsson, 1956; Meisel y Sachs, 1994).

1.2. Parámetros para evaluar la conducta sexual masculina

De acuerdo con el manual de Lucio y cols. (2009), los parámetros para evaluar la conducta sexual masculina se clasifican en numéricos y temporales:

Numéricos:

- a) Montas: Número de montas (NM) que se presentan en una serie copulatoria antes de la eyacuación (figura 2).
- b) Intromisiones: Número de intromisiones (NI) que se presentan antes de la eyacuación.
- c) Eyacuaciones: Número de eyacuaciones (NE) que ocurren durante un tiempo determinado de registro de la conducta sexual.

d) Eficacia copulatoria (*Hit Rate*): Este parámetro indica que tan buen copulador es un macho y se calcula con la siguiente fórmula: $NI / NI + NM$. Este parámetro va de 0.5 a 1.

Temporales:

- a) Latencia de monta (LM): Tiempo que transcurre desde que el macho y la hembra entran en contacto hasta que se presenta la primera monta.
- b) Latencia de intromisión (LI): Tiempo que transcurre desde la introducción de la hembra, hasta que se presenta la primera intromisión.
- c) Latencia de Eyaculación (LE): Tiempo que transcurre desde la primera intromisión de la serie copulatoria hasta que se presenta la eyaculación.
- d) Intervalo posteyaculatorio (IPE): Tiempo que transcurre entre la última eyaculación y la primera monta o intromisión de la siguiente serie copulatoria (figura 2).

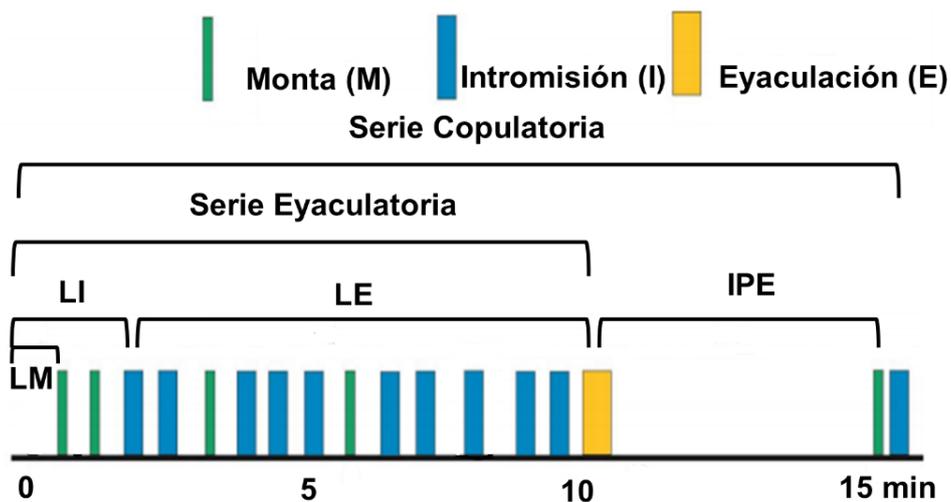


Figura 2: Parámetros conductuales de la cópula en la rata macho. Las montas se muestran en barras de color verde; las intromisiones en barras de color azul y la eyaculación en una barra de color amarillo en una serie copulatoria. **LM:** latencia de monta; **LI:** latencia de intromisión, **LE:** latencia de eyaculación e **IPE:** intervalo posteyaculatorio (modificado de Lucio *et al.*, 2009).

1.3. Control neuronal de la conducta sexual masculina

Se han descrito diferentes áreas del sistema nervioso central (SNC) con importancia funcional en la expresión esterotipada de la conducta sexual de la rata macho (Boehm, 2006). La activación de la red neuronal vinculada con la expresión de la conducta sexual de la rata macho requiere de la estimulación del órgano vomeronasal (OVN), mediante la detección de feromonas provenientes de una hembra receptiva. El OVN proyecta axones al bulbo olfatorio accesorio (BOA) y al bulbo olfatorio principal (BOP; figura 3). El BOA tiene proyecciones directas a la amígdala medial (AM). La AM a su vez, se comunica con el núcleo cama de la estría terminal (NCET) vía estratial y con el área preóptica medial (APM) a través de la vía amigdalofugal ventral. El APM del hipotálamo es una porción fundamental perteneciente a la vía de proyección del OVN, la cual está involucrada en el procesamiento de señales sexualmente relevantes (feromonas provenientes de una hembra receptiva) que facilitan la conducta reproductiva (Segovia y Guillamón, 1993).

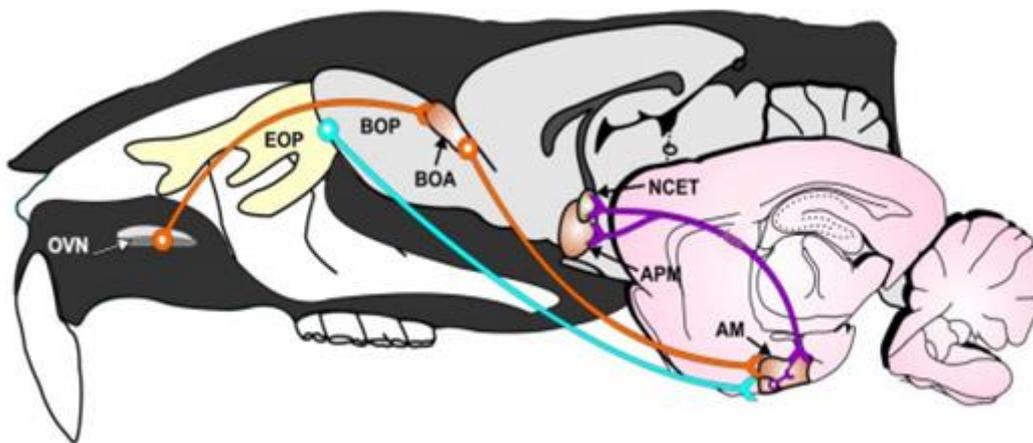


Figura 3. Esquema del circuito neuronal vinculado con la conducta sexual de la rata macho. Las señales sensoriales (feromonas de una hembra receptiva) son percibidas principalmente por el órgano vomeronasal (**OVN**), para transmitir esta información al epitelio olfatorio principal (**EOP**), bulbo olfatorio principal (**BOP**) y al bulbo olfatorio accesorio (**BOA**). El BOA y EOP mantienen una conexión directa con la amígdala medial (**AM**) y ésta a su vez proyecta hacia el núcleo cama de la estría terminal (**NCET**) y al área preóptica medial (**APM**; Boehm, 2006).

1.3.1. Área Preóptica Medial (APM)

El APM se localiza entre la porción caudal del quiasma óptico y la comisura anterior, tiene como límite anterior a la lámina terminal y su borde caudal es la división medial del NCET (Paredes, 2003). El APM forma conexiones con varias regiones cerebrales. Se han identificado conexiones recíprocas (tanto aferentes como eferentes) entre el APM y el septum lateral, el NCET y con varios núcleos hipotalámicos (incluidos el lateral, paraventricular, ventromedial y arcuato), el giro central, el núcleo de Rafe (dorsal y medio), el área tegmental ventral y el núcleo del tracto solitario (Conrad y Pfaff, 1976; Chiba y Murata, 1985; Simerly y Swanson, 1986).

Dado que el APM forma diversas conexiones neuronales con una gran cantidad de regiones del cerebro, se explica porque está implicada en diversas funciones como son: la liberación de gonadotropinas, la termorregulación, el control de la conducta materna y la conducta sexual masculina de la rata (Conrad y Pfaff, 1976; Chiba y Maruta, 1985; Paredes y Baum, 1997).

A pesar de que las lesiones de diferentes estructuras cerebrales pueden afectar de alguna manera la expresión del patrón copulatorio, los estudios demuestran que el APM es el centro integrador en los mamíferos para el comportamiento sexual (Hull *et al.*, 2006). Estudios previos demuestran que una lesión en el APM inhibe la cópula en la rata macho cuando se coloca con una hembra receptiva (Paredes y Agmo, 1992). En contraste, la estimulación eléctrica de esta zona facilita el comportamiento sexual, disminuyendo el NI necesarias para lograr la eyaculación (Paredes y Agmo, 1992). Efectos similares producidos por la lesión del APM se han descrito en diferentes especies como son: pollos, ranas, ratones, hásmters, cabras, gatos, perros y monos (Larsson, 1979; Hart y Leedy, 1985; Meisel y Sachs, 1994).

Se ha demostrado que los animales con lesiones en el APM muestran menor preferencia por interactuar con una hembra receptiva que los animales control (Edwards y Einhorn, 1986). Por otro lado, los animales con lesiones en el APM despliegan algunas montas e intromisiones pero no eyaculan (Ginton y Merari, 1977). Cuando se realizan lesiones en las fibras nerviosas que llevan información del o hacia el APM, se producen alteraciones relacionadas tanto con la ejecución como con el inicio de la conducta sexual (Szechteman *et al.*, 1978). Estos datos

en conjunto indican que, el APM es una región que está involucrada tanto en los aspectos motivacionales, como en la ejecución de la conducta sexual masculina (Paredes y Agmo, 1992).

CAPÍTULO 2. DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL SNC

En los mamíferos, las diferencias entre machos y hembras se establecen durante el proceso de diferenciación sexual, que inicia a nivel cromosómico durante la fertilización del ovocito, continúa a nivel gonadal durante la gestación y finalmente a nivel del SNC en etapas prenatales y postnatales. Además de las diferencias en el sistema reproductivo, también se establecen diferencias a nivel cerebral (Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005).

La diferenciación sexual es un proceso que involucra cambios morfológicos, fisiológicos, bioquímicos y conductuales, conocidos en su conjunto como “Dimorfismo Sexual” (Raisman y Field, 1973; Gorski, 1985) y determina los estereotipos de conducta característicos de cada sexo.

La Diferenciación Sexual Cerebral ocurre durante el desarrollo neural, en una etapa temprana conocida como “periodo crítico”. En el caso de la rata, este periodo ocurre en las etapas prenatal y postnatal, específicamente desde el día 18 de la vida gestacional hasta el día 10 posterior al nacimiento (Rhees *et al.*, 1990).

La rata se ha utilizado como un modelo para estudiar la diferenciación sexual cerebral. En el caso de los machos, al final de la vida gestacional y principalmente a las 2 horas posteriores al nacimiento, se elevan los niveles de testosterona (T), lo que desencadena el proceso de “Masculinización” y “Desfeminización” del hipotálamo (Konkle y McCarthy, 2011). El término “Masculinización” se refiere a la capacidad para exhibir características y patrones conductuales y hormonales propios de los machos. Tal es el caso de; la secreción tónica de gonadotropinas, conductas copulatorias (Gorski y Warner, 1965), marcaje de territorio, postura de micción (Beach, 1976), conducta social y reacción a los estímulos sensoriales (Beatty, 1976). Por otro lado, la “Desfeminización” es el término que se refiere a la pérdida del desarrollo de características femeninas como; el reflejo de lordosis, patrones cíclicos de ovulación y secreción de gonadotropinas (Christensen y Gorski, 1978).

Entre los núcleos dimórficos del SNC más estudiados relacionados con la reproducción se encuentran: el área preóptica (APO), el núcleo ventromedial (NVM), el núcleo supraquiasmático (NSQ) (todos éstos son subdivisiones del hipotálamo), la amígdala y la estra terminal (ET). Muchas especies muestran

diferencias sexuales en estructuras del SNC que participan en el control de las funciones neuroendocrinas y conductuales (Gorski, 1985; Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005).

2.1. Núcleo sexual dimórfico del Área preóptica (NSD-APO)

El área preóptica está densamente poblada de neuronas. Con base en esto, Gorski y cols. (1978) descubrieron en la rata, un núcleo ubicado en esta región que es entre tres y siete veces mayor en los machos que en las hembras. Esta área se denomina núcleo sexual dimórfico del área preóptica (NSD-APO; figura 4) y su tamaño está controlado por la cantidad de andrógenos y estrógenos presentes durante el periodo crítico de diferenciación sexual cerebral (Arnold y Gorski, 1984).

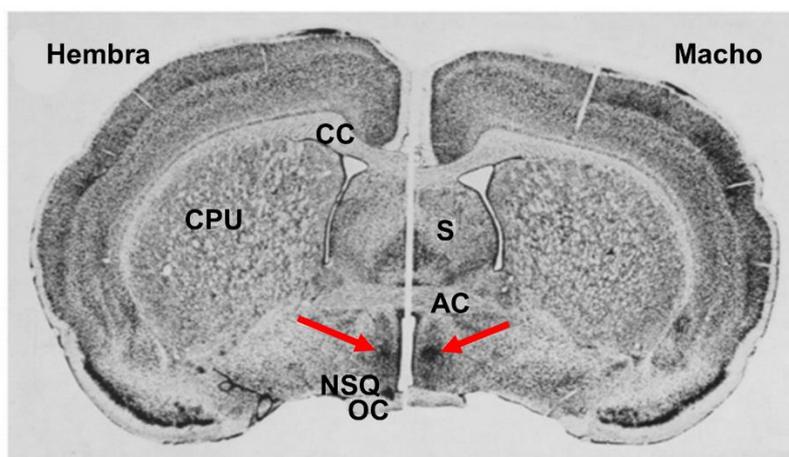


Figura 4. Microfotografía del NSD-APO. Secciones coronales del cerebro de ratas adultas teñidas con tiónina (60µm), las flechas indican el NSD-APO. **A.** Hembras. **B.** Machos. **AC**= comisura anterior; **OC**= quiasma óptico; **CC**=Cuerpo calloso; **CPU**= Caudado Putamen; **S**=Septum; **NSQ**= Núcleo supraquiasmático (Modificado de Gorski *et al.*, 1978).

Bloch y Gorski (1988) describieron la morfología del NSD-APO con respecto a su citoarquitectura. El NSD-APO es heterogéneo y está constituido por células pertenecientes a tres divisiones del núcleo preóptico medial (MPN): la división central (MPNc), la división medial (MPNm) y la división anteroventral (MPNav). Específicamente el NSD-APO se localiza dentro de la MPNm pero consta de

subcomponentes ubicados en la MPNc y parte de la MPNav. El porcentaje del NSD-APO total ubicado en el MPNc y en el MPNav es más grande en machos que en hembras, indicando que estas divisiones son las responsables del dimorfismo sexual observado en el volumen del NSD-APO (Davis y Popper, 1996).

Se ha observado que lesiones bilaterales en este núcleo alteran el comportamiento sexual masculino en ratas adultas, lo que sugiere que el NSD-APO está involucrado en la modulación del comportamiento sexual de la rata macho (Kato *et al.*, 2012).

La diferencia del volumen entre machos y hembras en este núcleo se debe a un mayor número de células en machos y se establece en los primeros cinco días postnatales (Gorski *et al.*, 1978). Se ha demostrado que el volumen del NSD-APO se puede ver afectado por el ambiente hormonal en los neonatos, su tamaño disminuye en machos castrados en el periodo postnatal (Gorski *et al.*, 1978). Por el contrario, en las ratas hembra tratadas con propionato de testosterona (PT) durante el periodo postnatal, se observa un aumento en el volumen del NSD-APO (Döhler *et al.*, 1984). Este mismo tratamiento en hembras adultas ya no es efectivo para modificar el tamaño del NSD-APO, mientras que la administración de E₂ en las ratas hembra durante el periodo postnatal, aumenta el tamaño de este núcleo (Patchev *et al.*, 2004), indicando que los efectos de los andrógenos aromatizados a estrógenos durante el periodo postnatal son importantes para el establecimiento del dimorfismo sexual del NSD-APO (Tsukahara *et al.*, 2009).

2.2. Hormonas que influyen en el Dimorfismo Sexual Cerebral

2.2.1. Andrógenos

Diversos estudios han permitido conocer y definir los periodos críticos para la diferenciación sexual cerebral, así como el tipo de esteroide y la manera en la que actúan para organizar las estructuras hipotalámicas y la función del SNC.

En 1959 surgió el trabajo clásico de Phoenix y cols., quienes demostraron que el tratamiento con PT en una cobaya gestante provocaba que sus crías hembra se masculinizaran conductualmente. Los resultados de este experimento indicaron

que las vías neuronales que regulan la conducta sexual se establecen durante el desarrollo prenatal y los autores sugirieron que la T tenía que actuar en el cerebro para inducir la diferenciación sexual de los machos, para que en la edad adulta manifestaran una conducta sexual masculina. Por otro lado, varios trabajos confirmaron que la inyección de T a la madre gestante inducía masculinización y desfeminización en las crías hembras (Stockman *et al.*, 1985), además de esterilidad, ausencia de cuerpos lúteos y presencia de estro persistente (Dörner, 1980).

Otros investigadores (Gorski, 1963) observaron que dosis elevadas de estrógenos (100 µg de BE), eran capaces de imitar los efectos fisiológicos de la T, ya que, al ser administrados prenatalmente, inducían en las hembras esterilidad, anovulación y estro persistente, así como un aumento en la actividad sexual masculina, mismas características que eran inducidas por la administración de T. Esto llevó a la sugerencia de que la T podría producir sus efectos a través de su conversión (aromatización) a E₂ (Baum, 1979; MacLusky *et al.*, 1985). Esta idea ha generado la hipótesis de que la aromatización durante la vida fetal masculiniza el cerebro en desarrollo, produciendo cambios durante la edad adulta.

2.2.2. Enzima aromatasa y estrógenos

Los niveles de actividad de la enzima aromatasa difieren en ambos sexos, (Negri-Cesi *et al.*, 2001) encontrándose más elevados en los machos que en las hembras durante los estadios pre y postnatal (estadios que se caracterizan por los altos niveles de T en los machos).

La importancia de la aromatización en la diferenciación sexual y en el control de la conducta sexual masculina, ha sido estudiada mediante la administración de fármacos que inhiben la actividad de la enzima aromatasa o analizando la conducta de los animales a los cuales se les ha eliminado el gen que codifica para dicha enzima. Cuando se administra neonatalmente un inhibidor de la aromatasa como el 1, 4, 6-androstatrieno-3,17-diona (ATD) en ratas macho, se incrementa la capacidad de los machos para ejecutar conductas sexuales femeninas (Bakker *et al.*, 1996). Además, las ratas macho tratadas neonatalmente con ATD presentan una secreción cíclica de gonadotropinas,

tienen una menor preferencia por las hembras en estro en comparación con los machos controles y no presentan eyaculaciones (Brand *et al.*, 1991).

Los ratones adultos sin el gen que codifica para la enzima aromatasa tienen un incremento en el peso de sus vesículas seminales, de la vejiga y de la próstata (Fisher *et al.*, 1998). Conductualmente estos ratones montan un menor número de veces y la latencia de monta es mayor en comparación con los animales controles (Bakker *et al.*, 2002). La enzima aromatasa se ha detectado en las principales áreas neuronales involucradas en el control de la conducta sexual masculina como son: el APM, el área preóptica periventricular, el NCTE y la AM (Roselli *et al.*, 1985).

En conjunto estos estudios demuestran que la conversión por medio de la enzima aromatasa de la T a E₂ es de suma importancia en la diferenciación sexual cerebral, ya que hace posible que las conductas sexuales típicas de cada sexo se puedan presentar en la edad adulta.

El E₂ actúa a su vez, en dos etapas diferentes: en una fase de “organización” durante el periodo prenatal y postnatal temprano y en una fase de “activación” en la edad adulta (Phoenix *et al.*, 1959). El efecto organizacional del E₂ es indispensable para el establecimiento del dimorfismo sexual en el hipotálamo y los circuitos neuronales que regulan la secreción de gonadotropinas y el comportamiento reproductivo característico de los machos (Lauber *et al.*, 1996).

2.3. Mecanismos de acción del Estradiol

La unión del E₂ con sus dos tipos de receptores: alfa (RE α) o beta (RE β), pueden inducir la transcripción de genes implicados en los mecanismos que establecen el dimorfismo sexual del cerebro, entre los que se encuentran: la sinaptogénesis, la neuroprotección o la apoptosis. A través de estos mecanismos el E₂ puede inducir la expresión de genes que modifican el número de neuronas y/o las conexiones sinápticas durante el desarrollo de los núcleos dimórficos hipotalámicos (Yonehara *et al.*, 2003; Herrera *et al.*, 2013).

El E₂ actúa a nivel nuclear produciendo efectos genómicos y a nivel membranal lo que da lugar a efectos no genómicos (figura 5). Los estrógenos atraviesan la membrana y actúan a través de mecanismos genómicos por unión con REs (RE α y RE β). Las dos variantes del receptor de estrógenos (α y β) son codificadas por

diferentes genes situados en el cromosoma 6 (6q25.1) y en el cromosoma 14 (14q23.2), respectivamente (Böttner *et al.*, 2014).

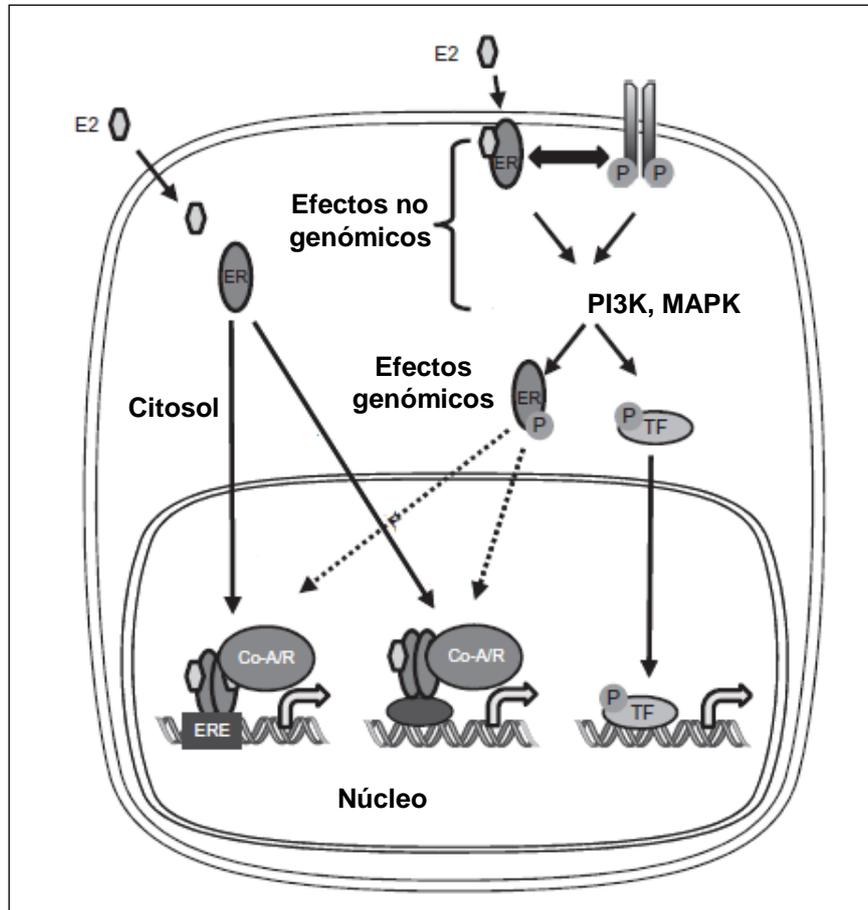


Figura 5. El E₂ se difunde a través de la membrana celular y se une a REs. El complejo hormona-receptor es transportado al núcleo donde se une a ERE del ADN y activa la transcripción del ARNm, modificando así la síntesis de proteínas y el ritmo de la función celular. Los mecanismos no genómicos se han asociado a efectos rápidos de las hormonas y se inicia en la membrana o en el citoplasma con la interacción de la hormona con receptores que activan rápidamente vías de señalización intracelular, incluyendo PI3K y MAPK. Estos efectos no genómicos modulan factores de transcripción (FT) y sus cofactores (Imagen modificada de Kerdivel *et al.*, 2013).

En el SNC ambos REs se expresan en el APM, amígdala medial posterodorsal (MeApd), núcleo del tracto solitario (NTS) y NCET. El RE α se expresa mayoritariamente en el núcleo arcuato y NVM. El RE β se expresa en el núcleo supraquiasmático, hipocampo, corteza y cerebelo (Böttner *et al.*, 2014). El complejo receptor-esteroide se une a fragmentos de ADN denominados elementos de respuesta a estrógenos (ERE) (figura 5). Esta unión afecta la

transcripción de genes que codifican una enorme variedad de proteínas: enzimas, transportadores y receptores para neurotransmisores o factores de crecimiento y proteínas de transducción de señales (Kerdivel *et al.*, 2013).

Los efectos de tipo no genómico de las hormonas esteroideas sexuales ocurren rápidamente a través de receptores membranales (figura 5; Rubinow *et al.*, 1998). Se ha observado que en segundos las hormonas alteran la actividad eléctrica de las neuronas, siendo esto mediado por receptores acoplados a proteínas G o modulando canales iónicos (Kelly *et al.*, 1976).

Mediante estos mecanismos de acción, el E₂ actúa sobre las neuronas de ciertas áreas dimórficas del hipotálamo provocando una reorganización y un reajuste en el número de células mediante apoptosis. Los cambios en los núcleos o circuitos cerebrales están asociados al desarrollo cognitivo y a la fisiología cerebral, lo que establece el patrón hormonal y la conducta reproductiva propia de cada sexo (Arnold y Gorski, 1984; Cooke *et al.*, 1998; Herrera-Gutiérrez *et al.*, 2005).

Los compuestos que imitan o antagonizan el efecto de los estrógenos y/o andrógenos son conocidos como disruptores endocrinos (DECs) (Wilson y Davies, 2007) y pueden ocasionar anomalías en la diferenciación sexual cerebral con efectos irreversibles. La presencia de DECs durante el periodo crítico de diferenciación sexual conlleva a repercusiones funcionales en el cerebro en la edad adulta (Abbott *et al.*, 2005). Algunos de estos DECs pueden ser encontrados en la naturaleza como Fes.

CAPÍTULO 3. FITOESTRÓGENOS

3.1. Definición y Clasificación

Los Fes son compuestos polifenólicos no esteroides derivados del metabolismo de las plantas por estrés ambiental (cambios en la temperatura, falta de nutrientes, invasión de bacterias y hongos) (Howitz y Sinclair, 2008).

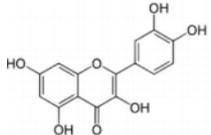
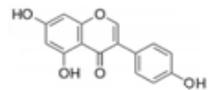
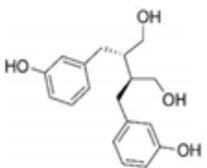
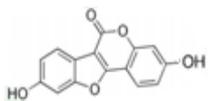
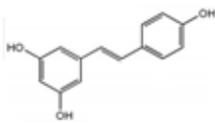
Los Fes tienen dos grupos hidroxilos que les confieren la capacidad de unirse a los REs, interfiriendo en la síntesis, secreción, transporte y metabolismo de hormonas esteroides sexuales, actuando como agonistas (totales o parciales) y/o como antagonistas, por esta razón son considerados como DEC's (Whitten y Patisaul, 2002).

Estas moléculas han atraído el interés debido a una serie de datos epidemiológicos que sugieren que poseen efectos benéficos sobre la salud, al prevenir el desarrollo de ciertos tipos de cáncer (mama, próstata), de enfermedades cardiovasculares, obesidad, osteoporosis y como una alternativa a la terapia de reemplazo hormonal en mujeres menopáusicas (Setchell y Cassidy, 1999; Rietjens *et al.*, 2016). Sin embargo, también se ha reportado que la exposición a los Fes repercute negativamente sobre la fisiología reproductiva de los animales que los consumen (Jefferson *et al.*, 2012).

Los efectos de los Fes en la reproducción se detectaron por primera vez en los años 40, cuando se describió en ovejas el "síndrome del trébol", el cual consistía en infertilidad, prolapso de útero y distocia. A principios de los años 50's se identificaron en el trébol dos isoflavonas con actividad estrogénica: la formononetina y la genisteína, lo cual dio pauta al estudio en la ganadería de estos compuestos sobre la biología reproductiva (Muñoz-Mendoza, 2002).

Se han reconocido cerca de 100 Fes y se categorizan por su estructura química en 5 clases: flavonoides, isoflavonas, lignanos, coumestanos y estilbenos (Tabla 1).

Tabla 1. Principales clases de Fes, fuentes y estructura química (Modificado de Torres y Herzberg, 2017).

Flavonoides	Isoflavonas	Lignan	Coumestanos	Estilbenos
Apigenina Quercetina Narigenina Catequina	Genisteína Biocanina A Daidzeína Formononetina	Enterodiol Enterolactona	Coumestrol	Resveratrol
Fuente	Fuente	Fuente	Fuente	Fuente
Frutas amarillas y rojas, vegetales y té.	Soya y vegetales	Linaza, granos enteros, frutas y vegetales.	Guisantes, frijoles, alfalfa y semillas de girasol.	Uvas, vino tinto, arándanos, frambuesas, moras, nueces.
Estructura de un miembro representativo (Quercetina)	Estructura de un miembro representativo (Genisteína)	Estructura de un miembro representativo (Enterodiol)	Estructura de un miembro representativo (Coumestrol)	Estructura de un miembro representativo (Resveratrol)
				

3.2. Isoflavonas: estructura química

Las isoflavonas son exclusivas de las legumbres, tales como las lentejas, las alubias, los garbanzos, los guisantes, etc. La concentración más alta de isoflavonas se encuentra en la soya. La soya (*Glycine max*) es una planta herbácea anual, proveniente de las regiones subtropicales y tropicales de Asia, perteneciente a la familia de las *Fabaceae*. La semilla de soya posee un alto contenido proteínico, importante para la alimentación humana y animal (Ávila, 2011).

La estructura básica que caracteriza a una isoflavona, como se ilustra en la figura 6, es su esqueleto 3-fenilcromen-4-ona. Tiene un núcleo flavona compuesto por dos anillos benceno (A y B) ligados a un anillo C heterocíclico. Las isoflavonas poseen grupos hidroxilos en los carbonos C₇ y C₄.

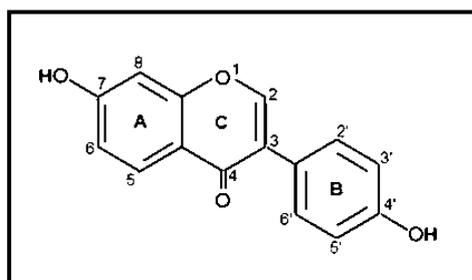


Figura 6: Estructura química básica de una Isoflavona (Quiñones *et al.*, 2012).

El nombre asignado por la IUPAC para la isoflavona es 3-fenilcromen-4-ona. Su fórmula molecular es $C_{15}H_{10}O_4$ y su peso molecular corresponde a 222.2 g/mol. Las isoflavonas se pueden presentar en su forma libre, llamadas agliconas o también conjugadas con glucosa y otros monosacáridos (forma glucosilada) (Quiñones *et al.*, 2012).

3.2.1. Metabolismo

En las plantas, las isoflavonas se encuentran en su mayoría (>80%) conjugadas con monosacáridos en forma de glucósidos, su forma biológicamente inactiva. Los glucósidos mayoritarios de la soya son la daidzina, genistina y glicitina. Estos glucósidos presentan pobre absorción y muy baja actividad estrogénica. Sin embargo, una vez consumidos, son rápidamente metabolizados y absorbidos. Para que los glucósidos sean biodisponibles es preciso liberar las agliconas, acción que realizan enzimas pertenecientes a la familia de las β -glucosidasas en el microbiota intestinal. Las agliconas liberadas (genisteína, daidzeína y gliciteína; formas biológicamente activas) atraviesan el epitelio y se incorporan al plasma. Aquí son conjugadas con ácido glucurónico o sulfato lo que aumenta su solubilidad y facilita su degradación en el hígado y su secreción en orina y bilis (Franke *et al.*, 2014).

Las agliconas (genisteína, daidzeína y gliciteína) pueden sufrir después reacciones de deshidroxilación, reducción, rotura del anillo pirona, desmetilación, etc. Mediante estas reacciones se forman compuestos con mayor actividad biológica y usualmente son transformadas en compuestos similares a las hormonas esteroides, con capacidad de unirse con baja afinidad a los REs (Patisaul, 2017). La genisteína se convierte en p-etilfenol y dihidrogenisteína,

mientras que la Daidzeína se convierte en o-desmetilangolesina y en equol (Ludueña *et al.*, 2007).

3.2.2. Daidzeína

La Daidzeína (4',7-dihidroxisoflavona) es la más sencilla de las isoflavonas. Su estructura química es muy similar a la genisteína, diferenciándose únicamente en que la daidzeína tiene un grupo hidroxilo menos en su composición (figura 7). Tiene las mismas funciones que la genisteína, tanto en vegetales como en animales, por lo que es usual que sean empleadas conjuntamente en ensayos realizados con isoflavonas. La Daidzeína es el principal ingrediente en la medicina tradicional China que se usa con frecuencia en el tratamiento de la fiebre, diarrea, diabetes, enfermedades cardíacas y daño hepático (Meng-Yao *et al.*, 2016). La Daidzeína ejerce un efecto protector contra algunas enfermedades como el cáncer de mama y la osteoporosis (Vitale *et al.*, 2013). También posee efectos antioxidantes y antiinflamatorios provocando con ello beneficios positivos sobre la salud. Estos efectos se deben principalmente a la regulación de la respuesta inmune, la eliminación de radicales libres y a una inhibición en la proliferación celular (Meng-Yao *et al.*, 2016).

La Daidzeína ha llamado la atención por su efecto en la fertilidad de los animales, al inducir un efecto estrogénico que mejora la tasa reproductiva en ratas hembra, además se ha observado que actúa como un agonista competitivo en los REs, mostrando mayor afinidad por el RE β e induciendo un efecto estrogénico débil cuando los niveles de estrógenos endógenos son altos (Setchell, 1998).

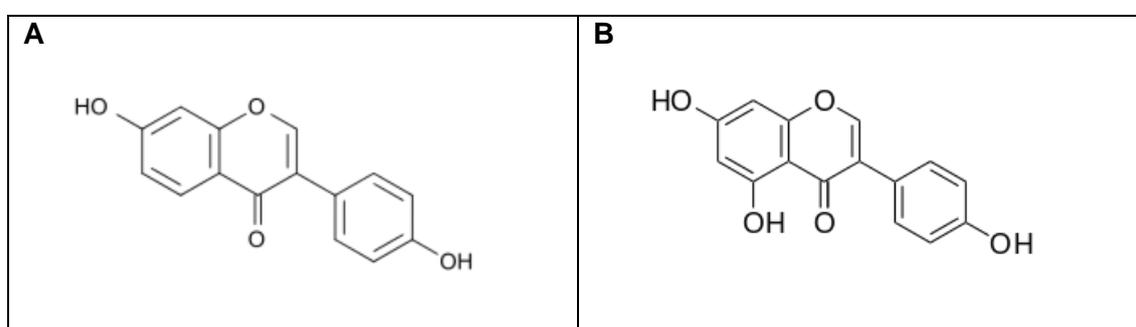


Figura 7: Estructura química de las isoflavonas. **A.** Daidzeína y **B.** Genisteína (Setchell, 1998).

Sin embargo, también se han reportado efectos adversos de la Daidzeína sobre la fisiología reproductiva en ratas macho. La Daidzeína es convertida a equol, un metabolito que posee un efecto anti-androgénico debido a que disminuye el tamaño de la próstata y del epidídimo en ratas adultas. El equol interfiere con la acción de la dihidrotestosterona (DHT) sobre su receptor androgénico en estos órganos (Lund *et al.*, 2004). También se ha observado que la administración perinatal de altas dosis de Daidzeína (12300 µg/kg/día) en combinación con otros Fes, disminuye la concentración de T en plasma en el día postnatal 13 e induce cambios en el epitelio de la glándula mamaria en las crías macho, causando hipertrofia y un aumento en la secreción alveolar (Boberg *et al.*, 2013). Por otro lado, Akinghemi y cols. (2007) reportaron una alteración en la esteroidogénesis testicular en ratas expuestas perinatalmente a una dieta alta en genisteína y daidzeína (1000 ppm). En conjunto, estos datos indican que la exposición a altas concentraciones de daidzeína, en un periodo perinatal, tiene repercusiones en la fisiología reproductiva masculina.

3.3. Mecanismo de acción de las Isoflavonas

El mecanismo principal por el cual las isoflavonas influyen en los sistemas sensibles a estrógenos es mediante su unión con los REs clásicos o vía genómica (figura 8).

La afinidad de las isoflavonas con los RE α y RE β es relativamente menor en comparación con el E₂ (Wu *et al.*, 2012) y como ya se ha mencionado, pueden actuar como agonistas o antagonistas en función de la dosis y de la presencia en el medio de estrógenos endógenos (Pérez-Rivero *et al.*, 2007). Las isoflavonas presentan una mayor afinidad por el RE β que por el RE α (Tabla 2; Patisaul, 2005).

Tabla 2. Afinidad de unión relativa de algunos Fes a RE α y a RE β . El E₂ es el valor considerado como 100 para los dos receptores. Los Fes coumestrol, genisteína y daidzeína presentan una mayor afinidad por el RE β (Modificado de Patisaul, 2005).

Compuesto	RE α	RE β
17 β -estradiol	100	100
17 α -estradiol	7	7
Coumestrol	20	40
Daidzeína	0.1	0.5
Genisteína	4	87

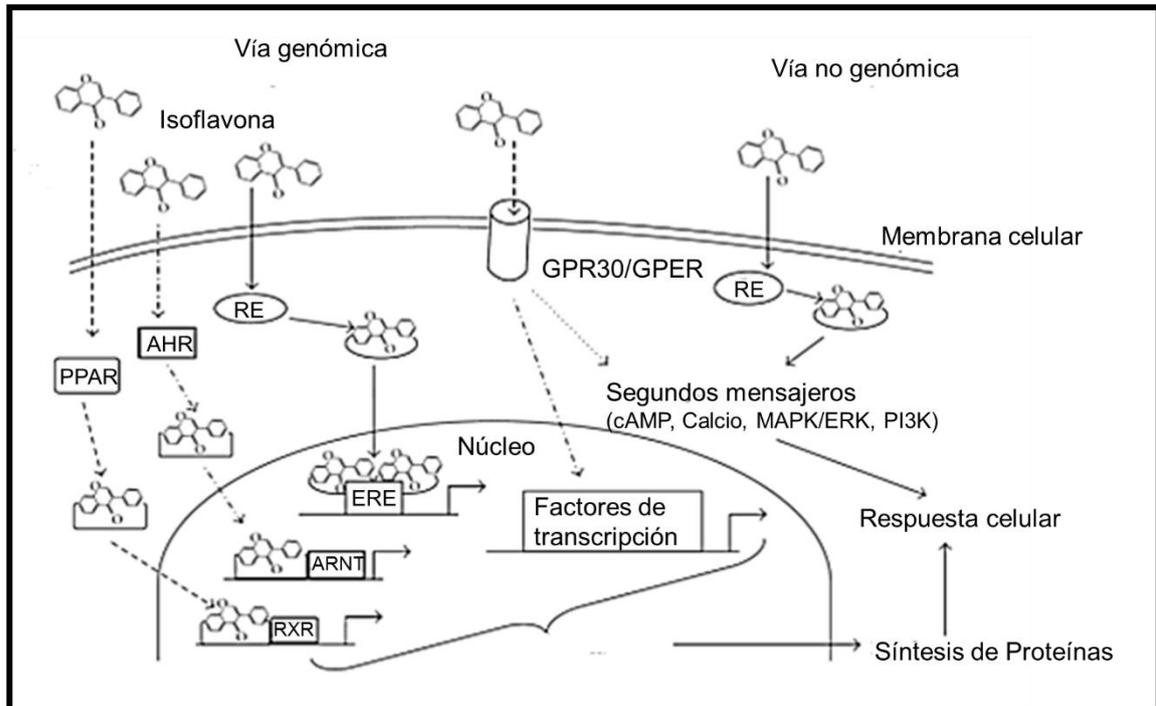


Figura 8: Modelo esquemático que ilustra los posibles mecanismos de acción de las isoflavonas. **AHR**- Receptor de aril hidrocarburos; **ARNT**- translocador nuclear de AHR; **RE**- receptor a estrógenos; **ERE**- elemento de respuesta a estrógenos; **PPAR**- receptor activado por proliferación de peroxisomas; **RXR**- Receptor X de retinoides; **cAMP**- Adenosin Monofosfato Cíclico; **GPER/GPR30**-Receptor de estrógenos acoplado a proteína G; **MAPK/ERK**-Proteína cinasa activada por mitógenos/Cinasas reguladas por señalización extracelular; **PI3K**- Fosfatidilinositol 3 cinasa (Imagen modificada de Woclawek-Potocka *et al.*, 2013).

Otro posible mecanismo de acción que se ha descrito para las isoflavonas se lleva a cabo mediante la vía no clásica o vía no genómica, a través de receptores acoplados a proteínas G (figura 8). Este tipo de acción activa diferentes vías de señalización, incluyendo cAMP, Calcio, PI3K y MAPK, éstos a su vez activan factores de transcripción, lo que conlleva a cambios en la función celular (Watson *et al.*, 2007).

CAPÍTULO 4. ANTECEDENTES

4.1. Efecto de la administración perinatal de los Fes sobre la conducta sexual en la rata macho.

El efecto de los Fes sobre la conducta sexual se examinó durante la exposición neonatal de las crías, a través de la leche materna de ratas alimentadas con coumestrol (100µg/kg) durante los primeros diez días postnatales y hasta los 21 días de lactancia (P1-P21). Cuando llegaron a la edad adulta se evaluó la conducta sexual de estas ratas macho y se reportó una disminución significativa en el NM y en la FE y un aumento significativo en la LM y en la LE (Whitten *et al.*, 1995).

Csaba y Karabélyos (2002) reportaron que la administración aguda de 5 µg/kg de Genisteína durante una etapa postnatal, facilitó la expresión de la conducta sexual en la rata macho Wistar. Whitten *et al.*, (2002) reportaron en la rata macho Sprague-Dawley, que una dieta alta en Coumestrol (100 ppm) durante los primeros diez días postnatales (P0-P10), disminuyó significativamente el NM en comparación con los machos controles. Henry y Witt, (2006) determinaron que diferentes concentraciones de Resveratrol en la dieta (5, 50 y 100 µM), desde la gestación hasta el día del destete (P21), disminuyeron significativamente el NM en la rata macho Long-Evans.

Wisniewski y cols. (2003) demostraron que dietas con diferentes concentraciones de Genisteína (5 y 300 mg/kg) desde la gestación hasta el día del destete (P21), disminuyeron el NM, el NI y la FE en la rata macho adulta Long-Evans. Así mismo, Morales-Otal y cols. (2016) demostraron el efecto de la administración postnatal (P1-P5) de la Genisteína y de Coumestrol sobre la conducta sexual de ratas macho. Observaron que la genisteína (150 µg/kg) provocó una disminución en la LI y en la LE y un aumento significativo en la FE. Mientras que el coumestrol aumentó la LM, la LI y los machos no eyacularon. Estos datos aportan evidencia de que la exposición de las crías a los Fes, durante el periodo crítico de diferenciación sexual cerebral, altera la expresión de la conducta sexual de la rata macho adulta.

CAPÍTULO 5. TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

5.1. Planteamiento del Problema

La Daidzeína es un compuesto de origen vegetal que está presente en la dieta humana y animal, por sus efectos benéficos sobre la salud es empleada para tratar y prevenir diferentes padecimientos. Ha llamado la atención debido a que posee un efecto neuroprotector y mejora la tasa reproductiva en ratas hembra. Sin embargo, la exposición a altas dosis de esta isoflavona en un periodo crítico de desarrollo tiene repercusiones sobre la fisiología reproductiva masculina. Hasta el momento, no se tienen datos de cuál es el efecto de la Daidzeína (si se administra durante una etapa postnatal) sobre la expresión de la conducta sexual en la rata macho Wistar.

5.2. Justificación

A pesar de que existen estudios que describen el efecto de los Fes sobre la conducta sexual en la rata macho, actualmente no existen trabajos que determinen el efecto de la Daidzeína sobre la expresión de la conducta sexual en la rata adulta. Los resultados del presente estudio permitirán tener una idea del efecto que tendría la administración de este compuesto en el periodo crítico de diferenciación sexual cerebral en la rata macho.

5.3. Pregunta de Investigación:

¿La administración postnatal de diferentes dosis de Daidzeína alterará la expresión de la conducta sexual en la rata macho adulta?

5.4. Hipótesis

Si la administración perinatal de Fes (Coumestrol, Genisteína y Resveratrol) altera la expresión de la conducta sexual masculina; es probable que la administración postnatal de diferentes dosis de Daidzeína modifique la conducta sexual de la rata macho adulta Wistar.

5.5. Objetivo General

Evaluar el efecto de la administración postnatal de diferentes dosis de Daidzeína sobre la conducta sexual de la rata macho adulta Wistar.

5.6. Material y método

5.6.1. Sujetos y reactivos

Para este estudio se utilizaron 5 hembras gestantes de la cepa Wistar del bioterio de la UAM-Iztapalapa, de las cuales se obtuvieron los animales neonatos. Los animales se mantuvieron de acuerdo con los lineamientos aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de Bioterio de la UAM y el “Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud” de la Secretaria de Salud Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). Los animales permanecieron dentro de un cuarto de bioterio con temperatura controlada entre los 18 y 26 °C, un fotoperiodo invertido de 12-h luz y 12-obscuridad (las luces se encendieron a las 8 pm y se apagaron a las 8 am), recibieron agua y alimento libre de Fes (Abene BDL-7100) *ad libitum*. El día del parto se consideró como el día postnatal cero (P0) y en este día se contabilizó el número de crías, las camadas se formaron manteniendo igual número de animales por hembra (mitad machos y mitad hembras). Las crías se dividieron al azar en los tres grupos, los cuales recibieron por vía s.c., cada 24 horas, los siguientes tratamientos durante los primeros cinco días postnatales (P1-P5):

- Grupo control: 10 µl de aceite de oliva (AO) (V)
- Grupo 2: 10 µl (123 µg/kg de Daidzeína)
- Grupo 3: 10 µl (12300 µg/kg de Daidzeína)

Las dosis empleadas en este estudio son equivalentes a una dieta humana alta en Fes, los datos fueron obtenidos del trabajo de Hedelin y cols. (2006), los cuales calcularon diariamente los niveles de exposición de Fes en pacientes con cáncer de próstata. Basándose en la frecuencia del consumo de Fes y combinado con el análisis del contenido de Fes en los productos, determinaron la concentración de diferentes Fes en la ingesta dietética por día, incluyendo la concentración de Daidzeína (tabla 3).

Tabla 3: Dosis de Daidzeína basada en una dieta humana alta en Fes (Modificado de Hedelin *et al.*, 2006).

	1 x ingesta dietética µg/kg/día	100 x ingesta dietética µg/kg/día
Daidzeína	123	12300

5.7. Diseño experimental

El diseño experimental se observa en la figura 9:

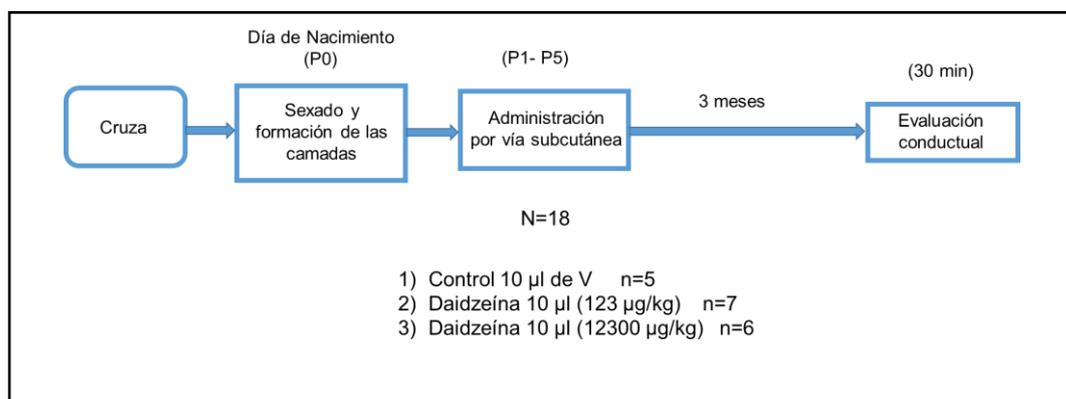


Figura 9. Diseño Experimental.

Evaluación del efecto de Daidzeína sobre la conducta sexual en la etapa adulta.

En el día del destete (P21) se llevó a cabo el sexado y separación de los grupos. Los machos permanecieron en condiciones de bioterio (ciclo invertido, alimento libre de Fes y agua *ad libitum*) hasta que alcanzaron los 3 meses de edad, momento en el que se llevaron a cabo las pruebas conductuales.

Para la evaluación de la conducta sexual se utilizaron 15 ratas hembra adultas (8-9 semanas de edad y 200-250 g), las cuales fueron tratadas con E₂ (10 µg/kg, a las 8:00 am), 24 y 48 horas previas al día de evaluación. En el día de prueba se les administró progesterona (1 mg/kg, a las 8:00 am) para inducir la receptividad sexual. Las pruebas se llevaron a cabo en el bioterio de la UAM-I, 4-5 horas después de la administración de progesterona (12:00 pm-13:00 pm). Se colocó una rata macho con una rata hembra receptiva dentro de un redondel acrílico (60 cm de diámetro X 40 cm de altura), el cual tenía en su base una cama

de aserrín. Las evaluaciones se realizaron en presencia de luz roja (40 Watts) y con un cronómetro se tomaron los tiempos de los diferentes parámetros. Las pruebas conductuales duraron 30 minutos cada una. Se dejó que machos y hembras interactuaran y se llevara a cabo la cópula durante este tiempo. Cada cinco minutos las hembras fueron cambiadas. Se registraron los siguientes parámetros: el NM, NI, la FE, la LM, LI, LE, el IPE y se calculó la eficacia copulatoria (*Hit Rate*).

5.8. Análisis Estadístico

Se utilizó la prueba no paramétrica χ^2 para determinar las diferencias entre los porcentajes de machos de montaron, intromitieron y que eyacularon.

Para determinar si los diferentes parámetros numéricos y temporales de la conducta sexual de la rata macho fueron alterados por la administración postnatal de diferentes dosis de Daidzeína, se empleó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y prueba *post hoc* de Dunn cuando los datos no cumplieron con el supuesto de normalidad. Cuando los datos cumplieron con el supuesto de normalidad se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y prueba *post hoc* Tukey. En todas las pruebas se empleó un nivel de significancia menor o igual a 0.05, con el software Sigma Plot Versión 14.0.

CAPÍTULO 6: RESULTADOS

6.1. Caracterización de la Conducta Sexual de la Rata Macho Adulta después de la administración postnatal de Daidzeína, en una arena típica.

6.1.1. Porcentaje de machos que Montaron, Intromitieron y Eyacularon

En la figura 10 se observa el porcentaje de machos que montaron, intromitieron y eyacularon durante las pruebas copulatorias con hembras sexualmente receptivas. Todos los animales del grupo control y del grupo que recibió la dosis baja de Daidzeína montaron, intromitieron y eyacularon (100 %). Sin embargo, del número total de machos que formaron el grupo que recibió la dosis alta de Daidzeína (n=6), cinco machos desplegaron montas (86%) e intromisiones (86%) y cuatro machos eyacularon (66.6%). El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, se observa una tendencia a la baja en el porcentaje de machos que eyacularon.

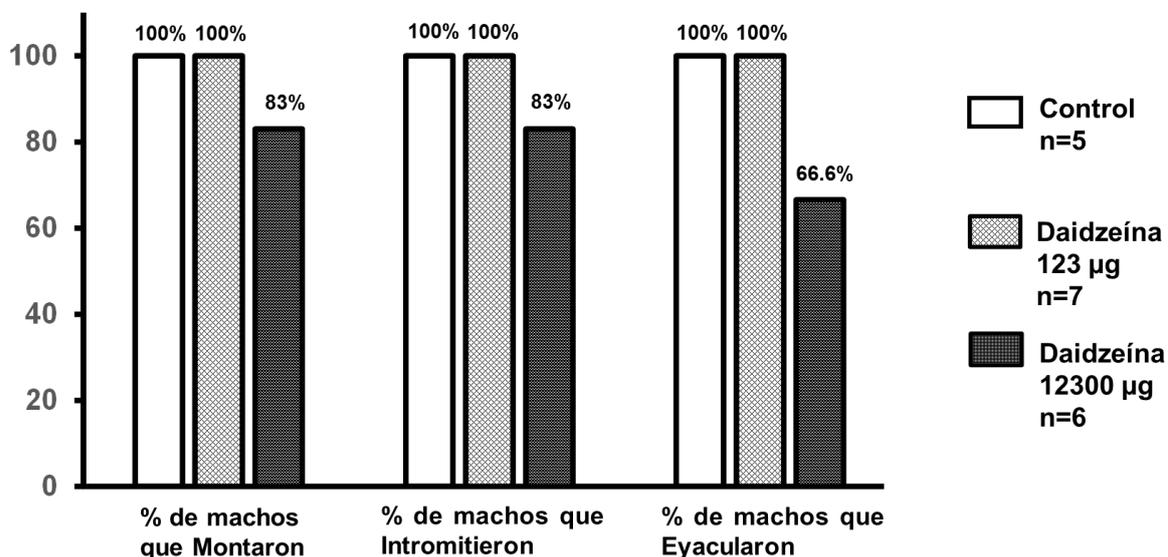


Figura 10: Porcentaje de machos que Montaron durante tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba χ^2 . $p=0.999$.

6.1.2. Número de Montas (NM)

En la figura 11 se observa el NM durante tres series copulatorias en una prueba de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. El análisis estadístico aplicado a los datos no mostró diferencias significativas entre los grupos (tabla 2).

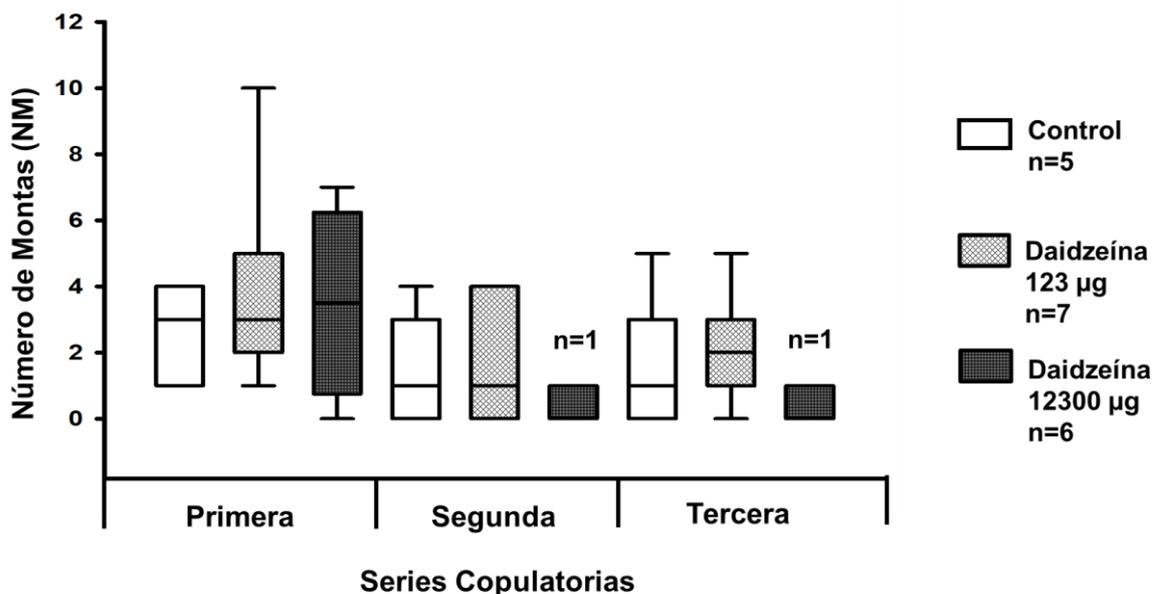


Figura 11: Gráficas de caja y bigotes para el NM durante tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba estadística Kruskal-Wallis.

	Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	<i>p</i>
1° Serie copulatoria (Mediana y R_{min}-R_{max})	3 (1-4)	3 (1-10)	3.5 (0-7)	<i>p</i> =0.757
2° Serie copulatoria (Mediana y R_{min}-R_{max})	1 (0-4)	1 (0-4)	0 (0-1)	<i>p</i> =0.461
3° Serie copulatoria (Mediana y R_{min}-R_{max})	1(0-5)	2(0-5)	0 (0-1)	<i>p</i> =0.263

Tabla 2. Medianas y Rangos del NM de los diferentes grupos en las tres series copulatorias.

6.1.3. Número de Intromisiones (NI)

En la figura 12 se observa el NI durante tres series copulatorias en una prueba de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. El análisis estadístico aplicado a los datos no mostró diferencias significativas entre los grupos (Tabla 3).

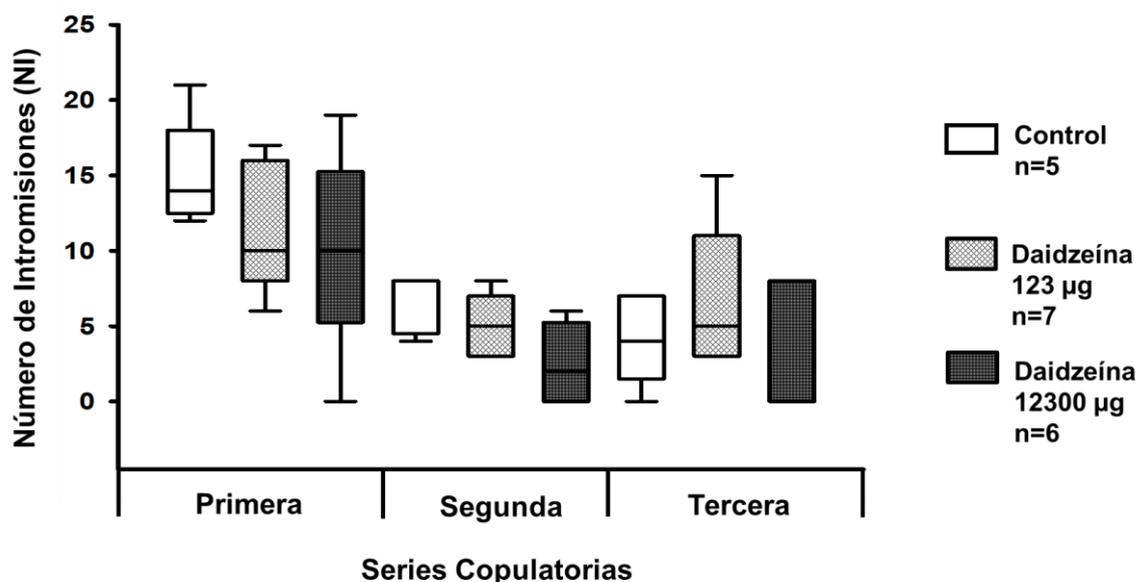


Figura 12: Gráficas de caja y bigotes para el NI durante tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba estadística Kruskal-Wallis.

	Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	<i>p</i>
1° Serie copulatoria (Mediana y R _{min} -R _{max})	14 (12-21)	10 (6-17)	10 (0-19)	<i>p</i> =0.171
2° Serie copulatoria (Mediana y R _{min} -R _{max})	8 (4-8)	5 (3-8)	2 (0-6)	<i>p</i> =0.076
3° Serie copulatoria (Mediana y R _{min} -R _{max})	4(0-7)	5(3-15)	0 (0-8)	<i>p</i> =0.252

Tabla 3. Medianas y Rangos del NI de los diferentes grupos en las tres series copulatorias.

6.1.4. Frecuencia Eyaculatoria (FE)

En la figura 13 se observa la FE de las ratas macho tratadas postnatalmente con diferentes dosis de Daidzeína. Debido a que los datos cumplieron con el supuesto de normalidad, se llevó a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y prueba *post hoc* Tukey. Se observó una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo tratado con la dosis alta de Daidzeína ($p \leq 0.009$), así como una diferencia estadísticamente significativa entre las dos dosis de Daidzeína ($p \leq 0.004$) ($\bar{x} \pm E.E.$; Control= 3 ± 0.3 , Daidzeína 123 μg = 3.1 ± 0.1 y Daidzeína 12300 μg = 1.3 ± 0.49). Es decir que, la administración postnatal de 12300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Daidzeína disminuyó significativamente la FE en comparación con el grupo control.

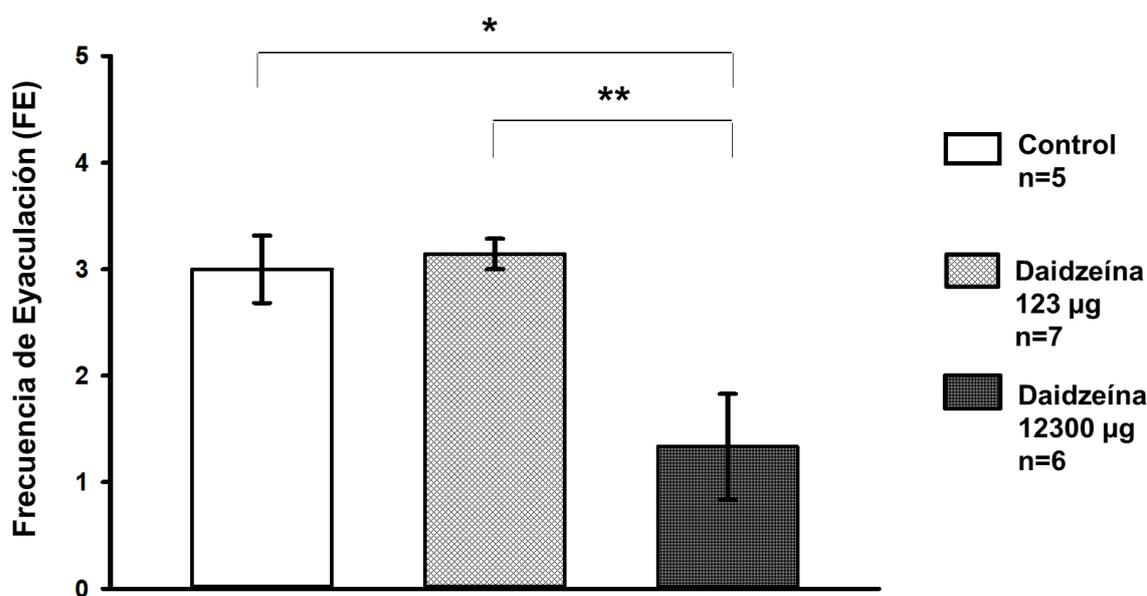


Figura 13: FE ($\bar{x} \pm E.E.$) durante 30 minutos de registro con hembras sexualmente receptivas. Prueba ANOVA y prueba *post hoc* Tukey. * $p \leq 0.009$, ** $p \leq 0.004$.

6.1.5. Latencia de Monta (LM)

En la figura 14 se muestran los resultados de la LM de los machos luego de ser evaluados en la arena típica con hembras sexualmente receptivas. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos (tabla 4).

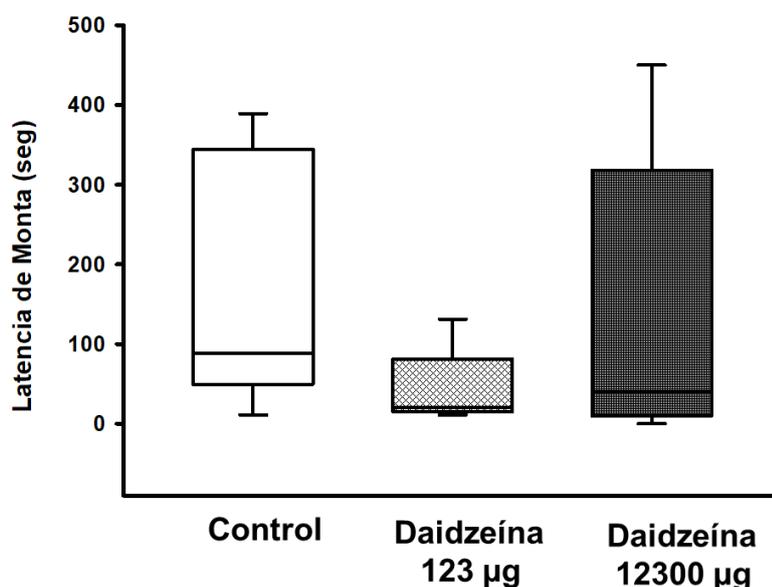


Figura 14: Gráficas de caja y bigote para la LM expresada en segundos durante la prueba conductual de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba Kruskal-Wallis $p=0.224$.

Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	<i>p</i>
Mediana (R_{\min} - R_{\max})	Mediana (R_{\min} - R_{\max})	Mediana (R_{\min} - R_{\max})	
88 (11-389)	20 (11-131)	58 (13-450)	$p=0.224$

Tabla 4. Medianas y Rangos de la LM de los diferentes grupos.

6.1.6. Latencia de Intromisión (LI)

En la figura 15 se muestran los resultados de la LI de los machos luego de ser evaluados en la arena típica con hembras sexualmente receptivas. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo que

fue tratado con la dosis baja de Daidzeína ($p=0.032$). La dosis baja de Daidzeína (123 $\mu\text{g}/\text{kg}$) disminuyó significativamente la LI en comparación con los machos controles.

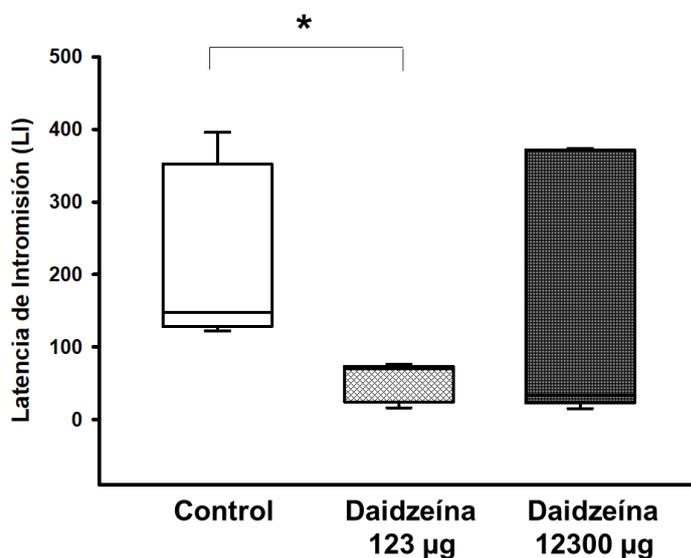


Figura 15: Gráficas de caja y bigote para la LI expresada en segundos durante la prueba conductual de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba Kruskal-Wallis y prueba *post hoc* Dunn. * $p=0.032$.

Control Mediana (R_{\min} - R_{\max})	123 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Mediana (R_{\min} - R_{\max})	12300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ Mediana (R_{\min} - R_{\max})	p
154 (120-396) *	67 (14-87) *	33 (16-374)	* $p=0.032$

Tabla 5. Medianas y Rangos de la LI de los diferentes grupos.

6.1.7. Latencia de Eyaculación (LE)

En la figura 16 se observa la LE durante tres series copulatorias. En la 1^o serie copulatoria se observó una diferencia significativa entre el grupo control y el grupo que recibió la dosis alta de Daidzeína ($p \leq 0.037$), así como entre los grupos que recibieron la dosis baja y alta de Daidzeína ($p \leq 0.022$). En la segunda y tercera serie copulatoria no se observaron diferencias significativas entre los grupos ($p=0.807$ y $p=0.675$ respectivamente). Es decir que, la administración postnatal de 12300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Daidzeína aumentó significativamente la LE en la primera serie copulatoria con respecto a los machos controles.

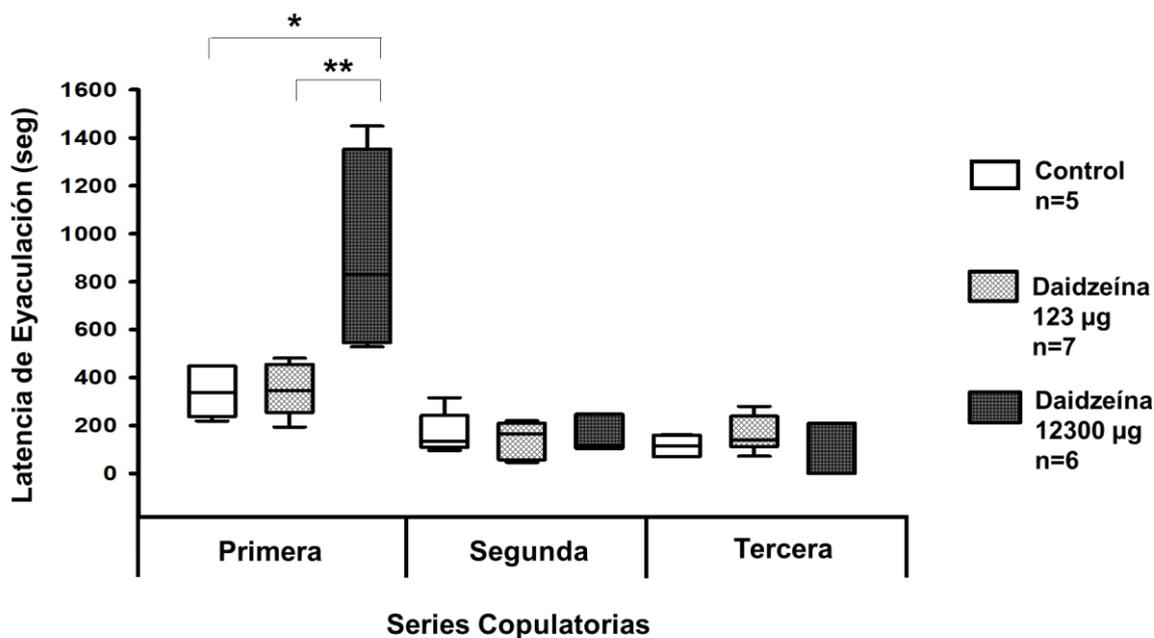


Figura 16: Gráficas de caja y bigote para la LE durante tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba Kruskal-Wallis y prueba *post hoc* Dunn. * $p \leq 0.037$, ** $p \leq 0.022$.

	Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	p
1° Serie copulatoria (Mediana y R_{\min} - R_{\max})	337(219-450) *	345 (194-481) **	830(528-1449) (*)(**)	* $p=0.037$ ** $p=0.022$
2° Serie copulatoria (Mediana y R_{\min} - R_{\max})	134 (96-316)	164 (47-220)	114 (105-248)	$p=0.807$
3° Serie copulatoria (Mediana y R_{\min} - R_{\max})	115 (70-161)	39 (72-280)	210 (0-210)	$p=0.675$

Tabla 6. Medianas y Rangos de la LE de los diferentes grupos en tres series copulatorias.

6.1.8. Intervalo Post-Eyaculatorio (IPE)

En la figura 17 se muestra el IPE durante las tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

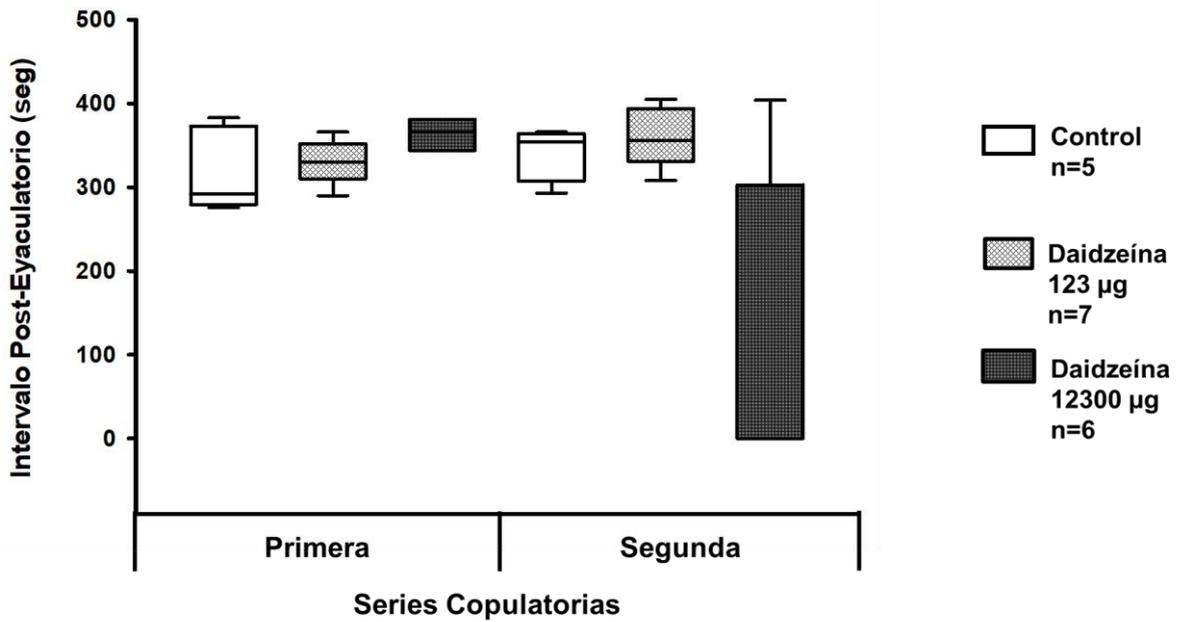


Figura 17: Gráficas de caja y bigote para el IPE durante tres series copulatorias en pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba Kruskal-Wallis.

	Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	<i>p</i>
1° Serie copulatoria (Mediana y R_{min}-R_{max})	292 (276-383)	330(290-366)	366 (344-381)	<i>p</i> =0.244
2° Serie copulatoria (Mediana y R_{min}-R_{max})	354 (293-366)	356 (308-405)	202 (0-404)	<i>p</i> =0.925

Tabla 7. Medianas y Rangos del IPE de los diferentes grupos en las tres series copulatorias.

6.1.9. Eficacia copulatoria (*Hit Rate*)

En la figura 18 se muestra el efecto de la administración postnatal de diferentes dosis de Daidzeína sobre la eficacia copulatoria de las ratas macho durante las pruebas conductuales. El análisis estadístico aplicado a los datos no mostró diferencias significativas entre los grupos (*p*=0.107).

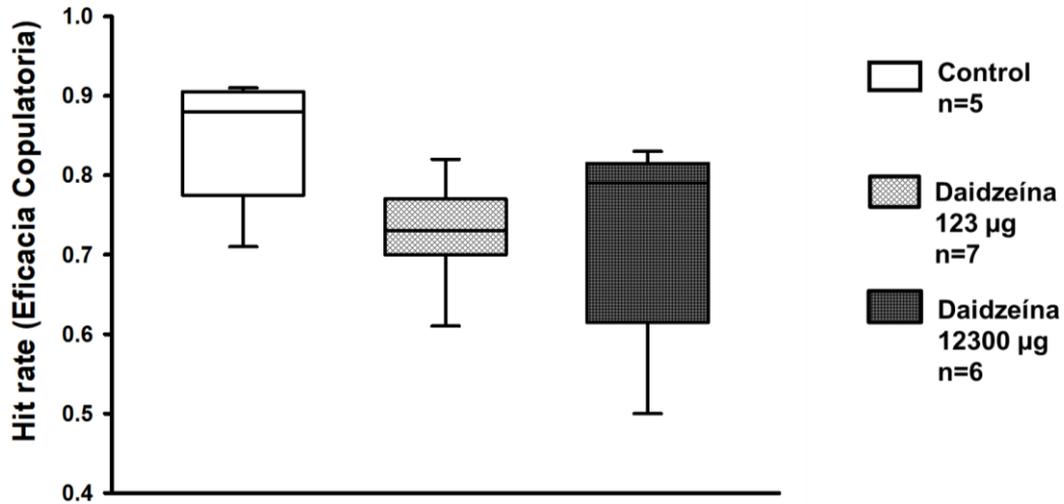


Figura 18: Gráficas de caja y bigote para la eficacia copulatoria de los machos durante pruebas de 30 minutos con hembras sexualmente receptivas. Prueba Kruskal-Wallis. $p=0.107$.

Control	123 µg/kg	12300 µg/kg	p
Mediana (R_{\min} - R_{\max})	Mediana (R_{\min} - R_{\max})	Mediana (R_{\min} - R_{\max})	
0.88 (0.71-0.91)	0.73 (0.61-0.82)	0.79 (0.5-0.83)	$p=0.107$

Tabla 8. Medianas y Rangos de la eficacia copulatoria de los diferentes grupos.

CAPÍTULO 7. DISCUSIÓN

Desde el trabajo pionero de Phoenix *et al.*, (1959) se ha establecido que las hormonas sexuales de origen gonadal (T y E₂) juegan un papel clave en el proceso de diferenciación sexual del cerebro en la rata. La aromatización de la T a E₂ masculiniza y desfeminiza el cerebro de la rata macho, lo que conlleva al desarrollo del circuito neuronal que subyace el comportamiento sexual masculino. Este proceso de Diferenciación Sexual Cerebral comienza en una etapa perinatal (al final de la gestación y durante la etapa postnatal) y es sensible a los cambios hormonales y a la exposición de compuestos exógenos que imitan la acción de las hormonas sexuales, tales como los Fes (Masutomi *et al.*, 2003). Estudios previos han demostrado que la administración de algunos Fes (Coumestrol, Genisteína y Resveratrol) durante un periodo perinatal, induce alteraciones en la expresión de la conducta sexual en la rata macho adulta (Whitten *et al.*, 1995; Csaba y Karabélyos, 2002; Whitten *et al.*, 2002; Wisniewski *et al.*, 2003; Henry y Witt, 2006 y Morales-Otal *et al.*, 2016). El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de la administración de diferentes dosis de Daidzeína (123 y 12300 µg/kg) durante la etapa postnatal, sobre la expresión de la conducta sexual en la rata macho adulta Wistar.

Los resultados de este trabajo indican que la Daidzeína en la dosis baja (123 µg/kg) disminuyó significativamente la LI (figura 15) comparado con los machos controles. Csaba y Karabélyos (2002) reportaron que la administración aguda de 5 µg/kg de Genisteína durante una etapa postnatal, no tuvo efecto sobre la conducta sexual en la rata macho Wistar. Mientras que Morales-Otal *et al.*, (2016) reportaron que la administración por vía s.c. de 150 µg/kg de Genisteína durante el día postnatal 1 al 5 (P1-P5) disminuyó significativamente la LI, la LE y aumentó la FE en comparación con el grupo control. Es decir, la dosis baja de Daidzeína tuvo en efecto similar al de la Genisteína, como lo reportan estos estudios.

Por otro lado, la Daidzeína en la dosis alta (12300 µg/kg) disminuyó significativamente la FE (figura 13) y aumentó la LE (figura 16). Estos datos coinciden con lo reportado por Wisniewski y cols. (2003), en el cual se demostró que dietas con diferentes concentraciones de Genisteína (5 y 300 mg/kg), desde

la gestación hasta el día del destete (P21), disminuyeron el número de eyaculaciones en la rata macho adulta Long-Evans. Por otro lado, Whitten *et al.*, (1995) reportaron que una dieta alta en Coumestrol (100 µg/kg) durante el periodo de lactancia (P0-P21), aumentó significativamente la LE con respecto al grupo control. Es decir que, el efecto de la administración postnatal de 12300 µg/kg de Daidzeína sobre la conducta sexual de la rata macho adulta es similar al de otros Fes, incluidos el Coumestrol y la Genisteína, los cuales también disminuyeron el número de eyaculaciones y aumentaron la LE (Whitten *et al.*, 1995; Wisniewski *et al.*, 2003).

Los Fes pueden ejercer sus efectos sobre la conducta sexual en la rata macho a través de dos vías: una vía indirecta y una vía directa (Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018). La vía indirecta implica cambios en los niveles de hormonas gonadales, los cuales a su vez afectan la organización y activación de las estructuras neuronales involucradas con la expresión de la conducta sexual masculina. Wisniewski *et al.*, (2003) reportaron que la exposición perinatal de dietas con diferentes dosis de Genisteína (5 y 300 mg/kg) disminuyeron significativamente los niveles de T en sangre (día postnatal 70) en la rata macho Long-Evans (control=3.72 ng/ml, 5 mg/kg= 1.76 ng/ml y 300 mg/kg= 2.23 ng/ml). De igual manera Henry y Witt (2006) reportaron que la exposición a dietas con diferentes concentraciones de Resveratrol (5, 50 y 100 µM), desde la gestación hasta el día del destete (P21), disminuyeron significativamente los niveles de T en sangre (día postnatal 134-140) en la rata macho Long-Evans (control= 5.1 ng/ml, 5 µM= 2.6 mg/kg, 50 µM= 2.0 mg/kg y 100 µM=1.1 mg/kg). La disminución en el número de montas, intromisiones y eyaculaciones reportado en estos estudios se asocia con un bajo nivel de T en sangre (Wisniewski y cols. 2003; Henry y Witt, 2006). Los Fes generan cambios a largo plazo en los niveles hormonales, particularmente si la exposición a ellos ocurre durante un periodo crítico del desarrollo (Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018). Estos cambios en los niveles circulantes de T se deben a que los Fes interfieren con la síntesis, secreción, transporte y metabolismo de hormonas esteroideas sexuales (Whitten y Patisaul, 2002). Los Fes también inducen alteraciones sobre la esteroidogénesis testicular, ya que se ha demostrado que inhiben la actividad de las enzimas clave involucradas en este proceso (5α-reductasa, aromatasa y 17β-hidroxiesteroide

deshidrogenasa) (Whitten *et al.*, 1994; Wang, 2002; Akinghemi *et al.*, 2007; Boberg *et al.*, 2013; Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018). Probablemente la dosis alta de Daidzeína (12300 µg/kg) está disminuyendo los niveles de T en sangre al alterar la esteroidogénesis testicular (Akinghemi *et al.*, 2007). Futuros estudios serán necesarios para determinar el efecto de la administración postnatal de las diferentes dosis de Daidzeína empleadas en este estudio, sobre los niveles de T en sangre en la rata macho adulta Wistar.

Los Fes también pueden alterar la expresión de la conducta sexual masculina a través de una vía directa que involucra cambios anatómicos en los núcleos sexualmente dimórficos del hipotálamo (Lephart *et al.*, 2002; Henry y Witt, 2006; Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018).

Lephart y cols. (2002) reportaron los efectos de las Fes sobre el dimorfismo sexual cerebral. Ratas macho y hembras de la cepa Long-Evans, fueron expuestas a dietas ricas (Phyto-rich) y libres (Phyto-free) de isoflavonas, bajo el siguiente esquema: durante los primeros 75 días de vida, todos los machos y hembras recibieron dietas ricas de isoflavonas, del día 75 al 120 (sacrificio) se dividieron en 4 grupos: machos y hembras que continuaron con la dieta rica en isoflavonas y machos y hembras que recibieron una dieta libre de isoflavonas. El volumen del NSD-APO de machos alimentados con dietas ricas en isoflavonas, fue significativamente más grande ($26 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$) que el de los machos a los cuales se les cambió de una dieta rica de isoflavonas a una dieta libre ($17.5 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$). Es decir, que la exposición a una dieta alta de isoflavona desde el día postnatal 1 hasta el día postnatal 120, aumentó significativamente el volumen del NSD-APO en la rata macho Long-Evans. Sin embargo, en este estudio no se realizó la evaluación de la conducta sexual masculina.

Barrita (2005) reportó que la administración de 100 µg/kg de Coumestrol (s.c.) en ratas macho Wistar, durante los primeros 5 días postnatales (P1-P5), aumentó significativamente el número de neuronas en el NSD-APO. Los resultados de este trabajo proponen un efecto masculinizante del coumestrol, ya que la tinción observada fue más intensa que en los animales control. Conductualmente, las ratas macho tratadas con coumestrol desplegaron montas e intromisiones, pero no eyacularon.

Henry y Witt (2006) reportaron que la exposición a dietas con diferentes concentraciones de Resveratrol (5, 50 y 100 μM) desde la gestación hasta el día del destete (P21), disminuyeron significativamente el volumen del NSD-APO en la rata macho en comparación con el grupo control (control= $62 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$, 5 μM = $50 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$, 50 μM de = $52 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$ y 100 μM = $52.5 \text{ mm}^3 \times 10^{-3}$) y aumentaron el volumen del núcleo anteroventral periventricular (AVPV; núcleo que regula la liberación de LH y es mayor en la rata hembra), lo que sugiere que el Resveratrol tuvo un efecto de desmasculinización y feminización en la rata macho Long-Evans. La disminución en el NM reportado en este último estudio se asocia con los cambios anatómicos inducidos por el Resveratrol en el NSD-APO (Henry y Witt, 2006; Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018). Estos datos sugieren que existe una relación entre el volumen del NSD-APO y la ejecución de la conducta sexual de la rata macho. Probablemente la administración postnatal de una dosis alta de Daidzeína (12300 $\mu\text{g}/\text{kg}$) está disminuyendo el volumen del NSD-APO. Futuros estudios serán necesarios para determinar el efecto de la administración postnatal de las diferentes dosis de Daidzeína empleadas en este trabajo sobre el volumen del NSD-APO del APM en la rata macho Wistar.

Los Fes ejercen sus efectos directos sobre la conducta sexual masculina a través de su interacción con los REs ($\text{RE}\alpha$ y $\text{RE}\beta$) (Kuiper *et al.*, 1997). Los Fes son considerados como moduladores selectivos de los REs (phytoSERM, por sus siglas en inglés) debido a que pueden tener tanto un efecto estrogénico como un efecto antiestrogénico (Garreau *et al.*, 1991).

En estudios previos se ha estudiado el papel del E_2 en el control de la conducta sexual masculina mediante técnicas de manipulación farmacológica con antiestrógenos y en ratones que no expresan los genes que codifican para sus receptores. En ratones en los que se ha eliminado el gen que codifica para el $\text{RE}\alpha$ ($\text{ER}\alpha\text{KO}$) presentan varias deficiencias conductuales. Estos animales no emiten vocalizaciones ultrasónicas (Ogawa y cols. 2000) y pasan menos tiempo con las hembras en estro en comparación con los machos controles (Rissman *et al.*, 1997). En cuanto a la ejecución de la conducta sexual, los machos $\text{ER}\alpha\text{KO}$ montan e intromiten, pero no eyaculan (Rissman *et al.*, 1999). En contraste, los ratones sin el gen para el $\text{RE}\beta$ ($\text{ER}\beta\text{KO}$) presentan patrones conductuales sexuales normales, son fértiles y las características fisiológicas de sus gónadas

y aparato reproductor son normales (Scordalakes *et al.*, 2002). Los reportes basados en la distribución específica de ambas isoformas de los REs y en los ratones *knockout* (KO) específicos para el RE α (ER α KO) y el RE β (ER β KO) sugieren que el RE α es necesario principalmente para el desarrollo normal de los órganos reproductivos, incluyendo las gónadas, así como para la expresión de la conducta sexual masculina. Por otra parte, también se ha sugerido que la isoforma β del RE es responsable del mantenimiento normal de los órganos no reproductivos, como el sistema cardiovascular o el óseo, y que regula los aspectos sociales y cognitivos de la conducta (Seredynski *et al.*, 2011). Las alteraciones del comportamiento sexual en ratones *knockout* (KO) específicos para el RE α (ER α KO) indican que este receptor modula la conducta sexual masculina.

Estudios previos han reportado que las deficiencias de la conducta sexual descritas en las ratas macho que se consideran como copuladores lentos (CL; aquellos que montan e intromiten, pero tardan más en eyacular), están asociadas con una reducción en la actividad enzimática de la aromatasa y con una disminución en el número de células inmunorreactivas para el RE α en el APM (García, 2011). Asimismo, Clark y cols. (1985) reportaron que las ratas macho con un bajo desempeño sexual tienen una disminución significativa en la concentración de receptores para estrógenos nucleares en el APM comparados con los machos sexualmente expertos. Además, existe evidencia en la literatura que sugiere que las alteraciones en la expresión y en la actividad funcional de la aromatasa y de los REs resulta en una disfunción eyaculatoria en ratas y ratones macho (Domínguez-Salazar y cols., 2002). Los Fes también pueden interferir con la aromatización de la T a E₂ en los núcleos dimórficos hipotalámicos durante el periodo crítico de diferenciación sexual cerebral (Mhaouty-Kodja *et al.*, 2018). Por estas razones, se sugiere determinar en estudios posteriores, si la disminución en la FE y aumento de la LE observada en las ratas macho que recibieron la dosis alta de Daidzeína (12300 μ g/kg), está asociada a una baja expresión en los niveles del ARN mensajero para el RE α , así como de la citocromo P450 aromatasa en el APM, proteínas que participan en el control de la conducta sexual masculina en los roedores y que su expresión probablemente resultó alterada por la administración de una alta dosis de Daidzeína durante el periodo crítico de diferenciación sexual cerebral.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

- 1) La administración postnatal de 123 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Daidzeína disminuyó significativamente la LI en la rata macho adulta Wistar.
- 2) La administración postnatal de 12300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de Daidzeína disminuyó la FE y aumentó significativamente la LE en la rata macho adulta Wistar.

REFERENCIAS

- Abbott, D.H., Barnett, D.K., Bruns, C.M. & Dumesic, D.A. (2005). Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental etiology for polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update*. 11(4): 357-374.
- Agmo, A. & Pfaff, D. W. (1999). Research on the neurobiology of sexual behavior at the turn of the millennium. *Behavioural Brain Research*, 105(1): 1–4.
- Ahmed, T., Javed, S., Tariq, A., Budzynsk, B., D`Onofrio, G., Daglia, M., Nabavi, S.F., & Nabavi, S.M. (2017). Daidzein and its effects on brain. *Curr Med Chem*, 24(4): 365-375.
- Akinghemi, B.T., Braden, T.D., Kempainen, B.W., Hancock, K.D., Sherrill, J.D., Cook, S.J., He, X., & Supko, J.G. (2007). Exposure to phytoestrogens in the perinatal period affects androgen secretion by testicular Leydig cells in the adult rat. *Endocrinology*. 148(9):4475– 4488.
- Arnold, A. & Gorski, R.A. (1984). Gonadal steroid induction of structural sex differences the central nervous system. *Annu Rev Neurosci*. 7:413-442.
- Avila, M. (2011) Determinación de las características agronómicas de varios cultivares de soya (*Glycine max* (L.) Merrill) evaluados en la zona de Pueblo Nuevo, provincia de lo Ríos. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guaraquil. Facultad de Ciencias Agrarias. 3-5.
- Bakker, J., Baum, M.J. & Slob, A.K. (1996). Neonatal inhibition of brain estrogen formation and later neural Fos responses to chemosensory stimulation in the male rat. *Neuroscience*. 74(1): 251-260.
- Bakker, J., Honda, S., Harada, N., Baltazar, J. (2002). Sexual partner preference requires a functional aromatase (Cyp 19) gene in male mice. *Horm Behav*. 42(2):158-171.
- Barrita, N.J. (2005). Efecto del coumestrol en la diferenciación del núcleo dimórfico sexual en ratas mahos Wistar. Servicio Social. UAM-I, Ciudad de México.
- Baum, M.J. (1979). A comparison of the effects of methyltrienolone (R 1881) and 5 alpha-dihydrotestosterone on sexual behavior of castrated male rats. *Horm Behav*. 13(2): 165-174.
- Beach, F.A., (1976). Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. *Horm Behav*. 7(1): 105-138.
- Beatty W. (1979). Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: Organizational and activational influences. *Horm Behav*. 979(12):112-118.

- Bloch, G.J. & Gorski, R.A. (1988). Cytoarchitectonic analysis of the SDN-POA of the intact and gonadectomized rat. *The Journal of Comparative Neurology*. 275(4):604-612.
- Boehm, U. (2006). The vomeronasal system in mice: From the nose to the hypothalamus- and back. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Academic Press, 17(4): 471–479.
- Boberg, J., Riiber, M., Rosenskjoeld J.P., Krag, L., Hadrup, N., Berthelsen, L., Elleby, A., Kiersgaard, M., Vinggaard, A.M., Hass, U., & Nellemann, C. (2013). Endocrine disrupting effects in rats perinatally exposed to a dietary relevant mixture of phytoestrogens. *Reproductive Toxicology*. 40: 41-51.
- Böttner, M., Thelen, P. & Jarry, H. (2014). Estrogen receptor beta: Tissue distribution and the still largely enigmatic physiological function. *Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology*. 139:245-251.
- Brand, T., Kroonen, J., Mos, J. & Slob, A. (1991). Adults partner preference behavior in male rats affected by perinatal endocrine manipulations. *Horm Behav*. 25(3): 323-341.
- Clark, A.S., Davis, L.A. & Roy, E.J. (1985). A possible physiological basis for the dud-stud phenomenon. *Horm Behav*. 19:227-230.
- Conrad, L.C. & Pfaff, D.W. (1976). Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat I. An autoradiographic study of the medial preoptic area. *J Comp Neural*. 169(2):185-219.
- Cooke, B., Hegstrom, C.D., Villeneuve, L.S. & Breedlove, S.M. (1998). Sexual differentiation of the vertebrate brain: principles and mechanisms. *Front. Neuroendocrinol*. 19:323-362.
- Chiba, T. & Maruta, Y. (1985). Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: a WGA-HRP study. *Brain Res Bull*. 14(3): 261-272.
- Christensen, L.W. & Gorski, R.A. (1978). Independent masculinization of neuroendocrine systems by intracerebral implants of testosterone or estradiol in the neonatal female rat. *Brain Res*. 146(2): 325-340.
- Csaba, G. & Karabélyos (2002). Effect of single neonatal treatment with the soy bean phytosteroid, genistein on the sexual behavior of adult rats. *Acta Physiologica Hungarica*. 89(4):463-470.
- Davis, E.C. & Popper, P. (1996). The role of apoptosis in sexual differentiation of the rat sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *Brain Res*. 734(1-2): 10-18.

- Domínguez-Salazar, E., Portillo, W., Baum, M.J., Bakker, J. & Paredes, R.G. (2002). Effect of prenatal androgen receptor antagonist or aromatase inhibitor on sexual behavior, partner preference and neuronal Fos responses to estrous female odors in the rat accessory olfactory system. *Physiol Behav.* 75: 337-346.
- Dörner, G. (1980). Sexual differentiation of the brain. *Vitam Horm.* 38: 325-381.
- Döhler, K.D., Coquelin, A., Davis, F., Hines, M., Shryne, J.E. & Gorski, R.A. (1984). Pre- and postnatal influence of testosterone propionate and diethylstilbestrol on differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Brain Res.* 302(2): 291-295.
- Edwards, D.A. & Einhorn, I.C. (1986). Preoptic and midbrain control of sexual motivation. *Physiol Behav.* 37(2): 329-335.
- Fisher, C.R., Graves, K.H., Parlow, A.F., Simpson, E.R. (1998). Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp 19 gene. *Proc Natl Acad Sci.* 95(12): 6965-6970.
- Franke, A.A., Lai, J.F. & Halm, B.M. (2014). Absorption, distribution, metabolism, and excretion of isoflavonoids after soy intake. *Arch. Biochem. Biophys.* 59: 24-28.
- García, U.C. (2011). Expresión diferencial de los genes de los receptores para estrógenos α y β y de la aromatasa en el área preóptica medial del ratón macho sexualmente expertos y copuladores lentos. Tesis de Maestría. UNAM. Campus Juriquilla Querétaro.
- Garreau, B., Vallette, G., Adlecreutz, H., Wahala, K., Makela, T., Benassayag, C., y Nunez, E.A. (1999). Phytoestrogens: New ligands for rat and human α -fetoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research.* 1094(3): 339-345.
- Ginton, A. & Merari, A. (1977). Long range effects of MPOA lesion on mating Behavior in the male rat. *Brain Research.* 120(1): 158-163.
- Gorski, R. A., Gordon, J.H., Shryne, J.E. & Southam, A.M. (1978). Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. *Brain Research.* Elsevier, 148(2), pp. 333–346.
- Gorski, R.A. (1963). Modification of ovulatory mechanisms by postnatal administration of estrogen to the rat. *Am J Physiol.* 205: 842-4.
- Gorski, R.A., & Warner, J. (1965). Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. *Endocrinology.* 76:226-239.
- Gorski, R.A. (1968). Influence of age on the response to perinatal administration of a low dose of androgen. *Endocrinol.* 82: 1001-1004.

- Gorski, R.A. (1985). Sexual dimorphism of the brain. *J. Anim. Sci.*, 61: 1001-1004.
- Gorski, R.A. (2002). Hypothalamic imprinting by gonadal steroid hormones. *Adv. Exp. Med. Biol.* 511, 57-70.
- Hart, B.I. & Leedy, M.G. (1985). Neurobiological bases of male sexual behavior. A comparative analysis. Handbook of behavioral neurobiology. N. Adler et al. (eds.). New York, Plenum Press, 2: 373-422.
- Hedelin, M., Klint, A., Chang, E.T., Bellocco, R., Johansson, J.E., Andersson, S.O., et al. (2006). Dietary phytoestrogen, serum enterolactone and risk of prostate cancer: the cancer prostate Sweden study (Sweden). *Cancer Causes and Control.* 17(2):169–80.
- Henry, L.A. & Witt, D.M. (2006). Effects of neonatal resveratrol exposure on adult male and female reproductive physiology and behavior. *Dev Neurosci.* 28(3):186-195.
- Heimer, L. & Larsson, K. (1964). Drastic changes in the mating behavior of male rats following lesions in the junction of diencephalon and mesencephalon. *Experientia.* 20(8): 460-1.
- Herrera, G.H., Rosado, G.A., Vergara, O.M., Salcedo, V.M., Miliar, G.A., Heuze de IY y col. (2013). Genetic expression associated to cell cycle, apoptosis, synaptogenesis and cell differentiation during sex differentiation in rats. *Rev Mex Cienc Pecu.*4(3): 289-304.
- Herrera-Gutiérrez, H., Vergara-Onofre, M., Rosado-García, A. y Rosales-Torres, A.M. (2005). Diferenciación sexual en el sistema nervioso central. *Vet Mexicana*, 36 (3): 339-360.
- Hofman, M.A. y Swaab, D.F. (1998). The sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in the human brain: a comparative morphometric study. *J. Anat.* , 164: 55-72.
- Howitz, K. T. and Sinclair, D. A., 2008. Xenohormesis: sensing the chemical cues of other species. *Cell.* 133: 387–391.
- Hull, E., Wood, R. & McKenna, K. (2006). Neurobiology of male sexual behavior. En: Neil, J. (Ed). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* Academic Press, San Diego, pp. 1729-1823.
- Jargin, S. V. (2014) 'Soy and phytoestrogens: possible side effects.', *GMS German Medical Science*, 12, pp. 1–5.
- Jefferson, W.N, Patisul, H.B. y Williams, C. J. (2012). Reproductive consequences of development phytoestrogen exposure. *Reproduction.* 143(3), pp. 247–259.

- Kalita, J.C. & Milligan, S.R. (2010). *In Vitro* estrogenic potency of phytoestrogen-glycosides and some plant flavonoids. *Indian Journal of Science and Technology*. 3(2):1142-1147.
- Kato, Y., Nakashima, S., Meakawa, F. & Tsukahara, S. (2012). Involvement of postnatal apoptosis on sex difference in number of cells generated during late fetal period in the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in rats. *Neurosci Lett*. 516: 290-295.
- Kelly, M.L. et al. (1976). Differential sensitivity of preoptic-septal neurons to microelectrophoresed estrogen during the estrous cycle. *Brain Res*, 114: 152-157.
- Kerdivel, G., Flouriot, G. y Rakdel, F. (2013). Modulation of estrogen receptor alpha activity and expression during breast cancer progression. *Vitamins and Hormones*, 93: 135-160.
- Konkle, M., & McCarthy, M. (2011). Developmental time course of estradiol, testosterone and dihydrotestosterone levels in discrete regions of male and female rat brain. *Endocrinol*. 152(1): 223-235.
- Kuiper, G.G., Lemmen, J.G., Carlsson, B., Corton, J.C., Safe, S.H., Vandersaag, P.T., Vander, B.B., & Gustafsson, J.A. (1998). Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology*, 139(10): 4252-4263.
- Larsson, K. (1956). Conditioning and Sexual behavior in the male albino rat. *Acta psychologica Gothoburgensia*. 1.
- Larsson, K. (1979). Features of the neuroendocrine regulation of masculine sexual behavior. In: Beyer, C. (Ed.). *Endocrine Control of sexual Behavior*. Raven Press, New York.
- Lauber, M. (1996). Ontogeny of 5 alpha-reductase (type 1) messenger ribonucleic acid expression in rat brain: early presence in germinal zones. *Endocrinology*; 137:2718-2730.
- Lephart, E.D., West, T.W., Weber, S., Rhees, R.W., Setchell, K., Adlercreutz, H. & Lund, T.D. (2002). Neurobehavioral effects of dietary soy phytoestrogens. *Neurotoxicology and Teratology*. 24: 5-16.
- Lucio, R. A., Tlachi, J. L., López, A. A., Zempoallera, R. y Velazquez-Moctezuma, J. (2009). Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica. *Veterinaria México*, 40(4), pp. 405–415.
- Ludueña, B., Mastandrea, C., Mastandrea, C., Chichizola, C., y Francon, M.C. (2007). Isoflavonas en soja, contenido de daidzeína y genisteína y su importancia biológica. *Bioquímica y Patología Clínica*. 71(1): 54-66.

- Lund, T. D., Munson, D. J., Haldy, M. E., Setchell, K. D., Lephart, E. D. & Handa, R. J. (2004). Equol is a novel anti-androgen that inhibits prostate growth and hormone feedback. *Biology of Reproduction*. 70(4):1188–95.
- Masutomi, N., Shibutani, M., Takagi, H., Uneyama, C., Takahashi, N. & Hirose, M. (2003). Impact of dietary exposure to methoxchlor, genistein, or disononyl phthalate during the perinatal period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life. *Toxicology*, 192, 149-170.
- MacLusky, N.J., Philip, A., Hurlburt, C., Naftolin, F. (1985). Estrogen formation in the developing rat brain: sex difference in aromatase activity during early post-natal life. *Psychoneuroendocrinology*. 10:355-361.
- Meisel, L. y Sach, B. (1994). The physiology of male sexual behavior. En K.E.D., *The physiology of reproduction* (pp. 3-105). New York: Raven Press.
- Meng-Yao, S., Ying, Y., Ling, X., Khalid, R., Wei, X & Hong, Z. (2016). Daidzein: A review of pharmacological effects. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 13(3): 117-132.
- Mhaouty-Kodja, S., Naulé, L. & Capela, D. (2018). Sexual Behavior: From hormonal regulation to endocrine disruption. *Neuroendocrinology*. 107:400-416.
- Morales-Otal, A., Ferreira-Nuño, A., Olayo-Lortia, J., Barrios-González, J & Tarragó-Castellanos, R. (2016). Effects of neonatal treatment with two phytoestrogens on male rat sexual behavior and partner preference. *Behavioural Pharmacology*. 27(7):570–578.
- Muñoz-Mendoza, R.A.L., Murillo-Medina, J.F. y Cordoba-Izquierdo, A. (2002). Parámetros reproductivos en vacas Holstein alimentadas con alfalfa alta en coumestrol. *Archivos de Zootecnia*. 51:373-376.
- Negri-Cesi, P., Colciago, A., Molta, I. & Celotti, M.L. (2001). Aromatase expression and activity in male and female cultures rat hypothalamic neurons: effects of androgens. *Mol Cell Endocrinol*. 178(1-2): 1-10.
- Ogawa, S., Chester, A.L., Ilewitt, S.C., Walter, V.R., Gustafsson, J.A., Smithies, O., Korach, K.S., & Pfaff, D.W. (2000). Abolition of male sexual behaviors in mice lacking estrogen receptors α and β ($\alpha\beta$ ERKO). *PNAS*. 97:14737-12741.
- Paredes, R. G & Baum, M.J. (1997). Role of the medial preoptic area/anterior hypothalamus in the control of masculine sexual behavior. *Annu Rev Sex Res*. 8:68-101.
- Paredes, R. G. (2003). Medial preoptic area/anterior hypothalamus and sexual motivation. *Scand J Psychol*, 44(3): 203–212.
- Paredes, R. G. & Agmo, A. (1992). Facilitation of sexual behavior shortly after electrolytic lesion of the medial preoptic area: what does it mean?. *Brain Research Bulletin*. Elsevier, 29(1), pp. 125–128.
- Patchev, A.V. Gotz, F. & Rohde, W. (2004). Differential role of estrogen receptor isoforms in sex-specific brain organization. *FASEB J*. 18: 1568-70.

- Patisaul, H.B. (2005). Phytoestrogen action in the adult and developing brain. *J Neuroendocrinol.* 17: 57-64.
- Patisaul, H.B. (2017). Endocrine disruption by dietary phyto-oestrogens: impact on dimorphic sexual systems and behaviours. *Proc Nutri Soc.* 76(2):130-144.
- Pérez- Rivero, J., Aguilar-Setien, A., Martínez- Maya, J., Pérez- Martínez, M. y Serrano, H. (2007). Los fitoestrógenos y el efecto de su consume en diferentes órganos y sistemas de animales domésticos. *Agricultura Técnica.* 67(3): 325-331.
- Phoenix, C.H., Goy, R.W., Gerall, A.A. & Young, W.C. (1959). Organizing action of prenatally administrated testosterone propionate on the tissue mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology.* 65: 369-382.
- Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria.* 27(1), 76-89.
- Raisman, G., & Field, P.M. (1973). Sexual dimorphism in the neuropil area of the rat and its dependence on neonatal androgen. *Brain Res.* 54:1-29.
- Rhees, R.W, Shryne, J.E. & Gorski, R.A. (1990). Termination of the hormone-sensitive period for differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Developmental Brain Research.* 52: 17-23.
- Rietjens, I. M. C. M., Lousse, J. and Beekmann, K. (2016).The potential health effects of dietary phytoestrogens. *British Journal of Pharmacology.* Wiley/Blackwell 174(11), pp. 1263–1280.
- Rissman, E.F, Wersinger, S.R. Taylor, J.A. & Lubahn D.B. (1997). Estrogen receptor function as revealed by knockout studies: neuroendocrine and behavioral aspects. *Hormonal Behavior.* 31:232-243.
- Rissman, E.F, Wersinger, S.R. Fugger, H.N. & Foster, T.C. (1999). Sex with knockout models: behavioral studies of estrogen receptor α . *Brain Res Int.* 835:80-90.
- Roselli, C.E., Hortobn, I.F. & Resko, J.A. (1985). Distribution and regulation of aromatase activity in the rat hypothalamus and limbic system. *Endocrinology.* 117:2471-2477.
- Rubinow, D.R., Schmidt, P.J. y Roca, C.A. (1998). Estrogen-Serotonin interactions: Implications for affective regulation. *Behavioral Endocrinology Branch,* 44:839-850.
- Scordalakes, E.M., Imwalle, D.B., & Rissman, E.F. (2002). Oestrogen's masculine side: meditation of mating in male mice. *Reproduction.* 124:331-338.
- Segovia, S. & Guillamón, A. (1993). Sexual dimorphism in the vomeronasal pathway and sex differences in reproductive behaviors., *Brain Research*

- Reviews*. Elsevier, 18(1):51–74.
- Setchell, K.D. (1998). Phytoestrogens: The biochemistry, Physiology, and implications for human health of soy isoflavonas. *Am. J. Clin. Nutr.* 68:1333-1346.
- Setchell, K.D. & Cassidy, A. (1999). Dietary isoflavonas: Biological effects and relevance to human health. *J. Nutr.*, 129: 758-767.
- Seredynski, A.L., Ball, G.F., Balthazart, J., Charlier, T.D. (2011). Specific activation of estrogen receptor alpha and beta enhances male sexual behavior and neuroplasticity in male japanese quail. *PLoS ONE*. 6:1-10.
- Simerly, R.B. & Swanson, L.W. (1986). The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *J Comp Neurol*. 246: 312-42.
- Stockman, E.R., Callaghan, R.S. & Baum, M.J. (1985). Effects of neonatal castration and testosterone treatment on sexual partner preference in the ferret. *Physiol Behav*. 34: 409-414.
- Szechteman, H., Caggiula, AA. & Wulkan, D. (1978). Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats. *Brain Res*. 150:569-595.
- Tsukahara, S. (2009). Sex differences and the roles of sex steroids in apoptosis of sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats. *J. Neuroendocrinol*. 21. 370-376.
- Torres, E.I. y Herzberg, A.Z. (2017). Mecanismos moleculares de los fitoestrógenos y su relación con el cáncer. *Revista de Educación Bioquímica*. 36(4): 101-110.
- Vitale, D.C., Piazza, C., Melilli, B., Drago, F., & Salomone, S. (2013). Isoflavones: estrogenic activity, biological effect, and bioavailability. *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet*. 38:15-25.
- Wang, L.Q. (2002). Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone. *J. Chromatogr. B Analyt Technol. Biomed. Life Sci*. 777:289-309.
- Watson, C.S., Alyea, R.A. Jeng, Y.J., & Kochukov, M.Y. (2007). Nongenomic actions on low concentration estrogens and xenoestrogen on multiple tissues. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 274:1-7.
- Whitten, P.P, Rusell, E., & Naftolin, F. (1994). Influence of phytoestrogen diets on estradiol action in the rat uterus. *Steroids*. 59(7): 443-449.
- Whitten, P.L., Lewis, C., Russell, E. & Naftolin, F. (1995). Phytoestrogen influences on the development of behavior and gonadotropin function. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*. 208(1):82-86.
- Whitten, P.L., Patisaul, H.B. y Young, L.J. (2002). Neurobehavioral actions of coumestrol and related isoflavonoids in rodents. *Neurotoxicology and Teratology*. Elsevier, 24:47-54.

- Wilson, C.A. & Davies, D.C. (2007). The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. *Reprod.* 133: 331-359.
- Wisniewski, A.B., Klein, S.L., Lakshmanan, Y. y Gearhart, J.P. (2003). Exposure to genistein during gestation and lactation demasculinizes the reproductive system in rats. *Journal of Urology.* 169(4):1582-1586.
- Woclawek-Potocka, I., Mannelli, C. Boruswska, D., Kowalcyk-Zieba, I, Wasniewski, T., & Skarzynski, D. (2013). Diverse effects of phytoestrogen on the Reproductive Performance: Cow as a model. *International Journal of endocrinology.* 1: 1-15.
- Wu, C., Tzeng, Lai, J., Tsan, S., & Wand, J. (2012). Prescription profile of Chinese herbal products contain coumestrol, genistein, and/or daidzein among female users: an analysis of national health insurance data in Taiwan between 1997 and 2007. *Chinese Medicine.* 7(22): 1-6.
- Yonehara, K., Suzuki, M., Yamanouchi, K., & Nishihara, M. (2003). Expression analyses of sex steroid-regulated genes in neonatal rata hypothalamus. *J Repro Dev.* 49:547-552.
- Yoshida, M., Katusda, S., Takenaka, A., Watanabe, G., Taya, K. & Meakawa, A. (2001). Effects of neonatal exposure to a high dose p-tert-octylphenol on the male reproductive tract in rats. *Toxicol Lett.*, 121:21-33.