

Efectos de la castración perinatal y prepuberal sobre la amígdala cerebral

Emilia M^a Carmona-Calero^{1,2*}, Juan M. Gonzalez-Toledo¹, Paula Soberón-Rodríguez¹, Rosa J. Tejera-Pérez¹, Bárbara Agostina-Valenzuela¹, Leandro Castañeyra-Ruiz¹, Luis G Hernandez-Abad², Ibrahim González-Marrero¹, Agustín Castañeyra-Perdomo¹,

1. Unidad de Anatomía, Departamento de Ciencias Médicas Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Laguna. Tenerife, Islas Canarias, España

2. Instituto de Investigación y Ciencias, Puerto del Rosario, Fuerteventura, Islas Canarias. España.

*Correspondencia: ecarmona@ull.es

Recibido: 17-marzo-2017, revisado: 07-abril-2017, aceptado 10-abril-2017

Resumen

Efectos de la castración perinatal y prepuberal sobre la amígdala cerebral

La amígdala es considerada como el centro de las emociones y regulador de reacciones de agresividad, miedo y ansiedad. En humanos la amígdala se asocia con el aprendizaje emocional y la conducta social. La amígdala también juega un rol importante en la conducta sexual. En nuestro estudio, hemos empleado como animal experimental ratones machos divididos en: un grupo control y dos grupos experimentales formado por ratones castrados recién nacidos y ratones castrados prepuberales de 5, 35 y 85 días de edad. Las técnicas histológicas empleadas fueron Klüver-Barrera y inmuno-histoquímica con anti- NeuN. Nuestros resultados indican que la castración prepuberal presenta escasas variaciones en los distintos núcleos del complejo amigdalino, en cambio la castración neonatal produjo cambios en las neuronas del núcleo medial de la amígdala donde el número de neuronas presenta una marcada disminución en los ratones castrados recién nacidos y un descenso en el tamaño de los núcleos de las neuronas de la amígdala medial a los 35 y 85 días de edad.

Podemos concluir que la castración prepuberal (20 días) afecta muy poco a la morfología global y neuronal de las diferentes partes del complejo amigdalino. En cambio la castración en recién nacidos induce variaciones en los núcleos amigdalinos mediales que son los que están más relacionados con la maduración sexual del encéfalo que se describe produce en el ratón en los primeros días postnatales.

Palabras clave: Amígdala, castración prepuberal y neonatal, ratón macho.

Summary

Effects of perinatal and prepuberal castration on the cerebral amygdala

The amygdala is considered as the center of the emotions and regulator of reactions of aggressiveness, fear and anxiety. In humans the amygdala is associated with emotional learning and social behavior. The amygdala also plays an important role in sexual behavior.

In our study, we used as experimental animal male mice divided into: a control group and two experimental groups formed by newborn castrated mice and pre-puberty castrated mice. They were sacrificed at 5, 35 and 85 days of age. The histological techniques used were Klüver-Barrera and immunohistochemistry with anti-NeuN.

Pre-puberty castration affected very little the parts of the amygdala complex. In contrast, neonatal castration produced changes in the neurons of the medial nucleus of the amygdala showed different density and neuronal nuclear area as they are: the number of neurons presents a marked decrease in castrated mice Neonates and a decrease in the size of most nuclei of medial amygdala neurons at 35 and 85 days of age. We can conclude that pre-puberty castration (20 days) affects very little the global and neural morphology of the different parts of the tonsillar complex. In contrast, castration in neonates induces variations in the medial tonsillar nuclei that are most related to the sexual maturation of the brain described in the mouse in the first postnatal days

Keywords: Amygdala, prepuberal and neonatal castration, male mouse.

Introducción

La amígdala es una estructura subcortical que forma parte del sistema límbico, junto a la corteza cingular anterior, el septum y el hipotálamo, además de otras estructuras y cuya función predominante se relaciona con el procesamiento de las emociones [29].

En todos los mamíferos es una estructura anatómicamente compleja, integrada por numerosos núcleos [23]. La amígdala ha sido dividida tradicionalmente en dos grandes grupos, el grupo cortico-medial y el grupo baso-lateral. En la especie humana, los núcleos cortical y medial están poco desarrollados y juntos conforman el grupo córtico-medial de la amígdala. En animales como las ratas, la amígdala está muy desarrollada, pues al contrario que los seres humanos, que dependen especialmente de su visión, las ratas son seres macrosmáticos. Sin embargo, el grupo baso-lateral de la amígdala es significativamente mayor en los seres humanos [16].

Grupo-medial de la amígdala (Fig. 1,2,3)

La amígdala medial es el área del cerebro donde las vías olfativas centrales convergen y es crítica para el comportamiento de apareamiento. Las proyecciones del bulbo olfativo accesorio a la parte medial de la amígdala y a algunas otras áreas, que envían conexiones eferentes a zonas del cerebro anterior, son importantes para los comportamientos reproductivos y defensivos. Las conexiones a lo largo de la vía olfatoria accesorio, especialmente hacia la amígdala medial, son ricas en receptores de esteroides. Las lesiones de estas áreas provocan severos déficits en el apareamiento y otros comportamientos sociales, también se ha señalado que las inyecciones locales de testosterona pueden sostener el apareamiento en los animales castrados. Por lo tanto, estas áreas, especialmente las que conforman la amígdala medial, integran las señales necesarias para el apareamiento endocrino y quimio-sensorial entre otros comportamientos sociales [3].

A su vez, la vía olfatoria accesorio envía proyecciones a la amígdala medial anterior que proyecta, en gran medida, a la amígdala medial posterior. Estas áreas se proyectan directa e indirectamente a la zona preóptica medial y al hipotálamo, que son áreas importantes para la organización de la reproducción y el comportamiento social. Estímulos quimio-sensoriales activan a las neuronas de la amígdala medial en ratones machos y hembras. Debido a la destrucción de estas conexiones en ratones castrados, la conducta de apareamiento se ve seriamente deteriorada y la activación de la amígdala medial por estímulos quimio-sensoriales, completamente perdida [3].

No obstante, el núcleo central recibe su aferencia mayoritaria del sistema autónomo central integrado por hipotálamo, sustancia gris periacueductal, núcleo dorsal del rafe, núcleo para-braquial, locus coeruleus, núcleo solitario, área reticular pontobulbar y sus proyecciones aferentes y eferentes [25].

Fig.1

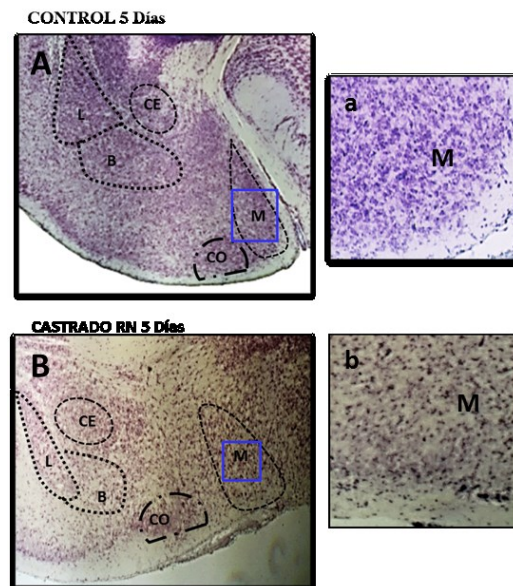


Figura 1: Sección coronal de cerebro de ratón de 5 días: control (A) y castrado recién nacido (B), teñidos con Klüver -barrera, donde se señalan los núcleos de la amígdala, utilizando como referencia el atlas de cerebro de ratón Paxinos y Franklin 2004). a: detalle del núcleo medial en el control; b: detalle del núcleo medial en el castrado.

Abreviaturas: L: núcleo lateral de la amígdala; B: núcleo basal de la amígdala; CE: núcleo central de la amígdala; CO: núcleo cortical de la amígdala; M: núcleo medial.

La eferencia amigdalina se proyecta entonces principalmente al hipotálamo, desde el núcleo central, alcanzando fundamentalmente el hipotálamo lateral y el núcleo paraventricular (vía amigdalófuga ventral y vía amigdalófuga dorsal o estricta terminal) y el propio sistema autónomo central (conexión directa por el fascículo longitudinal dorsal), todo ello con conexiones de ida y vuelta con otras regiones encefálicas como el núcleo estriado adyacente o el mesencéfalo rostral, dando paso a la expresión somática correspondiente [25]. En este sentido, la estimulación directa del núcleo central de la amígdala en animales de experimentación produce una serie de cambios conductuales y somáticos congruentes como la reacción de lucha o huida descrita por previamente [1].

Fig.2

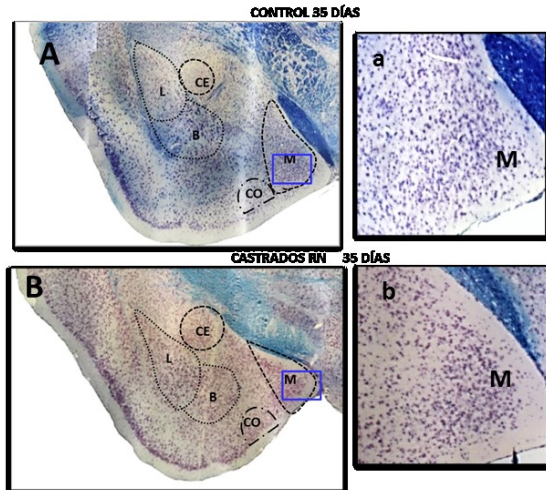


Figura 2: Sección coronal de cerebro de ratón de 35 días: control (A) y castrado recién nacido (B), teñidos con Klüver – barrera. a: detalle del núcleo medial en el control; b: detalle del núcleo medial en el castrado

Giantonio y cols. [15], fueron los primeros en demostrar que la lesión de la amígdala córtico-medial puede alterar la copulación en las ratas machos. Los machos con esta área lesionada tienen latencias de eyaculación muy largas y pocas eyaculaciones. Sin embargo, se ha visto que los efectos sobre la conducta copulatoria de los machos lesionados están en función de las condiciones hormonales de las ratas hembras. Si las hembras son tratadas únicamente con estradiol, se observa un aumento de la latencia de eyaculación. Sin embargo, cuando se usan hembras tratadas con estradiol y progesterona, no se observan diferencias de la conducta sexual de las ratas lesionadas con respecto a las ratas controles sin alteración [15].

Fig.3

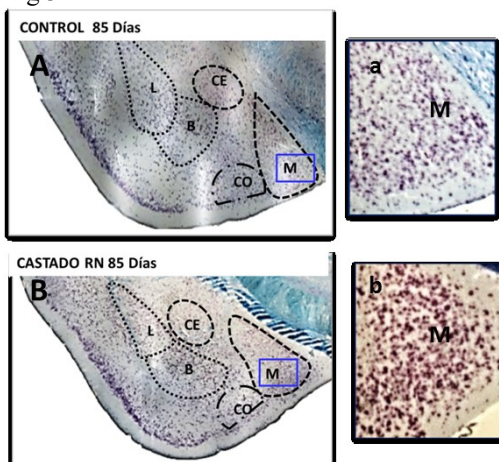


Figura 2: Sección coronal de cerebro de ratón de 85 días: control (A) y castrado recién nacido (B), teñidos con Klüver – barrera. a: detalle del núcleo medial en el control; b: detalle del núcleo medial en el castrado

Grupo-lateral de la amígdala (Fig.1,2,3)

El núcleo baso-lateral de la amígdala recibe aferencias de algunos núcleos talámicos y de

algunas áreas de la corteza de asociación. Así mismo, presenta conexiones con la corteza prefrontal, en especial con la corteza orbito-frontal y el hipocampo y en particular, con el área CA1 del mismo [27]. La amígdala y especialmente el complejo baso-lateral, están implicados en la mediación de los efectos de la activación emocional y de la memoria para este evento, McGaugh y cols. [23, 24]. A este respecto, Balleine y cols. [2], en una serie de experimentos lesionando la amígdala baso-lateral en ratas, encontraron que estos animales eran incapaces de discriminar entre dos estímulos, uno asociado a una recompensa devaluada y otro asociado a una recompensa no devaluada. [2].

El núcleo lateral en los primates y en el hombre recibe aferencias importantes de diversas áreas isocorticales, que globalmente pueden ser consideradas como áreas asociativas sensoriales unimodales de tercer grado, particularmente aquellas que se ocupan de identificar qué percibimos con cada sentido [30]. Las lesiones en la amígdala baso-lateral no tienen efectos sobre la conducta copulatoria en ratas machos ni en hámsteres [1].

La amígdala es considerada como el centro de las emociones y regulador de reacciones de agresividad, miedo y ansiedad. Recientemente se ha demostrado que en humanos la amígdala está asociada con el aprendizaje emocional y la conducta social. La amígdala también juega un rol importante en la conducta sexual. En el caso del Síndrome Klüver-Bucy tanto humanos como monos, expresan hipersexualidad, lo cual incluye interés sexual por objetos inanimados. Este síndrome está asociado con la pérdida de función de la amígdala. La amígdala es también un centro de integración de información olfativa, lo cual juega un rol bien importante en la expresión de conducta sexual [29-31].

Teniendo en cuenta que la amígdala contribuye a la motivación o excitación sexual tanto en las hembras como en los machos, y que la maduración sexual del encéfalo acontece, en roedores, en los primeras semanas postnatales. El objetivo del presente trabajo es analizar las diferencias de los distintos núcleos del complejo amigdalino entre ratones castrados recién nacidos y prepuberalmente.

Material y métodos

En nuestro estudio, hemos empleado como animal experimental ratones machos cepa Swiss, divididos en tres grupos: un primer grupo control formado por 15 ratones controles sacrificados a los 5, 35 y 85 días de edad, un segundo grupo formado por 15 ratones castrados recién nacidos (Cas RN) sacrificados a los 5, 35 y 85 días de edad, y un tercer grupo formado por 10 ratones castrados

prepuberales (Cas PP) sacrificados a los 35 y 85 días de edad.

El cuidado y tratamiento de los animales se realizó siguiendo la legislación española en “Protección de los Animales Utilizados para Experimentos y Otros Propósitos Científicos” según la Directiva Comunitaria del 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC) y el posterior Real Decreto RD 1201/2005 del 10 de octubre de 2005.

Los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con hidrato de cloral (160mg/ml) a razón de 40mg/g de peso. Una vez anestesiado el animal, se procedió a la fijación mediante la perfusión intracardiaca de Bouin. Se extrajeron los encéfalos, se postfijaron en bouin se deshidrataron se incluyeron en parafina. Por último se cortaron en dos series coronales paralelas (A, B) de 10 µm de espesor.

Posteriormente los cortes de la serie B se incubaron durante 18 horas en el anticuerpo primario anti-NeuN 1/1000 (abcam). Como anticuerpo secundario se utilizó el kit RTU Vectastain Universal Elite ABC (Vector Laboratories). Para visualizar los resultados se reveló con DAB (3,3diaminobencidina tetraclorhidrato, Sigma-Aldrich) y peróxido de hidrógeno. El control de la técnica inmunohistoquímica se llevó a cabo mediante un control negativo, donde se procesaron simultáneamente secciones en las que se omitió la incubación en el Anticuerpo primario.

Las muestras fueron visualizadas en un microscopio NIKON OPTIPHOT, con cámara CANON-EOS 600D. La edición de las imágenes se realizó con el programa Adobe Photoshop y la medición del área y la densidad celular con el programa ImageJ. Los resultados estadísticos fueron obtenidos mediante IBMS-SPSS-Statistics y los gráficos con Microsoft Excel.

Resultados

Se realizó el análisis del área y densidad celular de los principales núcleos de la amígdala. Para ello se utilizaron secciones de 10 micras teñidas con Klüver-Barrera y anti-NeuN. El número total de neuronas se estimó con el programa ImageJ. Este método permite una estimación del número de células que es independiente de las estimaciones del volumen.

En el núcleo medial de la amígdala, se midió un promedio de 250 neuronas. Todos los cerebros se cortaron en el plano coronal, por lo tanto, aunque las estimaciones del tamaño de las células podrían estar afectadas por la orientación de las neuronas en los diferentes núcleos de la amígdala, que podrían conducir a una sobre o subestimación sistemática del tamaño de la estructura, las comparaciones de las dimensiones en las distintas edades no debe verse afectada.

El número total de células gliales en los principales núcleos de la amígdala no se estimó ya que la toma de muestras utilizada para el recuento de neuronas fue la teñida con anti-NeuN.

Estadística

Se realizaron Análisis de la varianza (ANOVA) del área y densidad de neuronas. La presencia de $P < 0,05$ permite afirmar que existen diferencias significativas entre los ratones controles y los ratones castrados recién nacidos en el núcleo medial de la amígdala. También se realizaron Análisis de homogeneidad de varianzas estadístico de Levene, resultando un valor $P > 0,05$, lo que permite afirmar que las varianzas no son distintas y, por lo tanto, pueden ser comparadas.

Análisis cuantitativo (Tablas 1 y 2, Figuras 4-8)

El área nuclear de las neuronas del núcleo medial de la amígdala presenta diferencias tanto entre los grupos de edad como entre los grupos controles y castrados a las distintas edades analizadas, mientras que la densidad sólo presenta diferencias significativas en los ratones de 35 días.

5 días de edad (Tablas 1 y 2, Figuras 4-9)

A los 5 días no se encontraron diferencias relacionadas con la edad en el tamaño medio del núcleo neuronal en cinco de los principales núcleos de la amígdala: núcleo lateral, núcleo basal, núcleo basal accesorio, núcleo central. Sin embargo, sí fueron encontradas en el núcleo medial de la amígdala.

El área nuclear (AN) de las neuronas del núcleo medial fue diferente entre los castrados recién nacidos de 5 días, que presentaban un mayor tamaño ($P < 0,000$) que los del grupo control. Se presentaron unos valores medios de 4,14 micras cuadradas en los controles y 5,93 micras cuadradas en los castrados recién nacidos.

La densidad nuclear (DN) fue similar en ambos grupos, presentando unos valores medios de 57,49 micras en los controles y 63,19 micras en los castrados recién nacidos.

35 días de edad (Tablas 1 y 2, Figuras 4-8)

A los 35 días, no se encuentran variaciones relacionadas con la edad en el tamaño medio de los núcleos neuronales en cinco de los principales núcleos de la amígdala: núcleo lateral, núcleo basal, núcleo basal accesorio, núcleo central y núcleo paralaminar. Tampoco al realizar el estudio comparativo entre los controles y los castrados prepuberales se obtuvieron diferencias significativas en los dos parámetros analizados, por lo que los datos estadísticos no se representan.

Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas en el núcleo medial de la amígdala. El área nuclear (AN) de las neuronas del núcleo medial fue menor en los animales castrados recién nacido que en los controles ($P < 0,000$), presentando unos valores medios de 2,19 micras cuadradas los castrados recién nacidos y 8,55micras

cuadradas los controles. La densidad nuclear (DN) también fue mayor en el grupo control ($P < 0,022$), que en los castrados recién nacidos. Se obtuvieron unos valores medios de 67,41 micras en los controles y 41,57 micras en los castrados recién nacidos.

85 días de Edad (Tablas 1 y 2. Figuras 4-8)

Al igual que sucede con los animales de 5 y 35 días, no se encuentran variaciones relacionadas con la edad en el tamaño medio del núcleo neuronal en cinco de los principales núcleos de la amígdala: núcleo lateral, núcleo basal, núcleo basal accesorio,

núcleo central y núcleo paralaminar. Tampoco al realizar el estudio comparativo entre los controles y los castrados prepuberales. Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas en el núcleo medial de la amígdala (Tablas 1 y 2).

El análisis de las secciones coronales de la amígdala de los ratones reveló que el anticuerpo NeuN se expresa en todos los núcleos de la amígdala. El patrón de expresión y la intensidad de la tinción fue similar en ratones controles y castrados prepuberales aunque ligeramente menos intensa en los castrados.

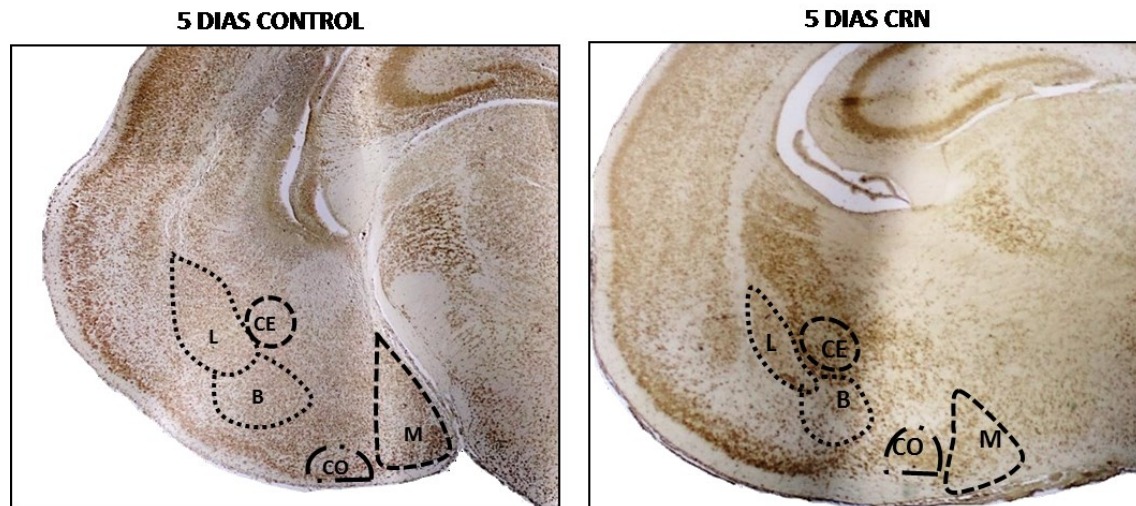


Fig 4: Sección coronal de cerebro de ratón de 5 días: control (A) y castrado recién nacido (B), teñidos con el anticuerpo anti -Neu

El área nuclear (AN) del soma neuronal del núcleo medial fue diferente entre los dos grupos de edad; los castrados recién nacidos de 85 días, tenían neuronas de mayor tamaño que los controles, mostrando unos valores medios de 2,79 micras cuadradas en los controles y 9,72 micras cuadradas en los castrados recién nacidos.

La densidad nuclear (DN) de las neuronas del núcleo medial de la amígdala fue similar. Los valores medios registrados fueron de 67,08 micras en los controles y 65,72 micras en los castrados recién nacidos.

Discusión

La diferenciación sexual del cerebro se establece durante un período muy preciso del desarrollo. Este periodo crítico para la diferenciación sexual del cerebro varía según las especies. En los primates, incluido el ser humano, corresponde a la época entre el tercer y el cuarto mes de vida fetal. Durante este periodo crítico, el testículo fabrica grandes cantidades de testosterona que se vierten a la sangre alcanzando al cerebro, entre otros órganos. La testosterona provoca toda una serie de cambios en el cerebro en desarrollo cuyo resultado es su

masculinización. Por tanto, el sexo gonadal determina el sexo fenotípico del cerebro. La presencia de testículos y, por tanto, la posibilidad de fabricar testosterona durante el período crítico de diferenciación sexual del cerebro tiene como consecuencia el desarrollo de una estructura cerebral de tipo masculino. Así, por ejemplo, la extirpación de los testículos antes del periodo crítico altera el proceso normal de diferenciación sexual del cerebro. También las diferencias sexuales en la conectividad neuronal de la rata no dependen del sexo genético, sino de la secreción perinatal de testosterona por el testículo del macho. Esto se ha demostrado extirpando los testículos a ratas recién nacidas. El patrón de conexiones en estos machos castrados desde el nacimiento es idéntico al de las hembras [18-22,32]. En cuanto a la diferencias, el núcleo medial de amígdala, entre ratas machos y hembras [20], informaron que el volumen del núcleo medial en la rata macho adulto fue significativamente mayor que el de la rata hembra. Aunque no hubo diferencias significativas en el volumen de este núcleo entre ratas machos y hembras desde el día 1 (día de nacimiento) al día

11, la diferencia se hizo evidente al día 21 y después persistió.

Los distintos núcleos de la amígdala en la rata según Chareyron y cols. [11], exhiben diferentes patrones de desarrollo postnatal. El volumen de los núcleos basolaterales: lateral, basal y basal-accesorio aumentaron un 113% de 1 a 3 semanas de edad y un 33% adicional a los 7 meses de edad. El volumen del núcleo central aumentó sólo el 37% a partir de 1 a 2 semanas de la edad y el 38% a partir de 2 semanas a 7 meses. En la primera semana de edad, el núcleo medial era el 77% del volumen de los 7 meses de edad y presentó un constante aumento hasta los 7 meses [11].

En nuestro estudio realizado en ratones, el patrón de desarrollo del área nuclear de las neuronas del

núcleo medial de la amígdala también presenta diferencias, entre la primera semana (5 días) y el primer mes en ratones controles, donde observamos un aumento del área nuclear de las neuronas a los 35 días. Sin embargo, este aumento no se observa a los 85 días, lo que no parece coincidir con lo descrito por Chareyron y cols., 2012 [11], aunque este autor analiza animales de más edad (7 meses) también señala que el número de neuronas no difiere en la amígdala de la rata de 1 semana a 7 meses de edad. En cambio, en nuestro caso no observamos diferencias en el número de neuronas en las distintas edades estudiadas lo que coincide con lo señalado por Chareyron y cols., 2012 [11] para las ratas.

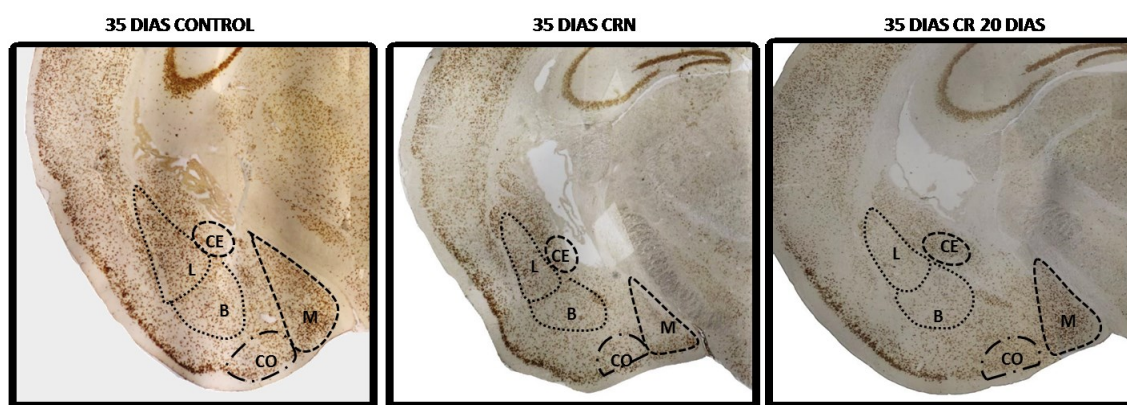


Fig 5: Sección coronal de cerebro de ratón de 35 días: control, castrado recién nacido y castrados a los 20 días, teñidos con el anticuerpo anti -Neu

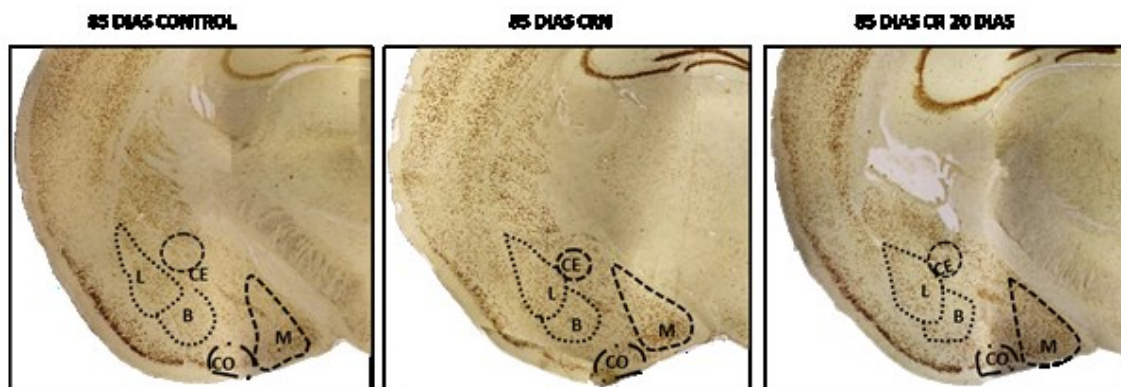


Fig 6: Sección coronal de cerebro de ratón de 85 días: control, castrado recién nacido y castrados a los 20 días, teñidos con el anticuerpo anti -Neu

La amígdala medial (AMe) feromonal procesa información y regula la función neuroendocrina y el comportamiento socio-sexual. Anatómicamente, la porción posterior de la AMe se divide en dorsal (núcleo medial posterodorsal (AMePD)) y ventral (núcleo medial posteroventral (AMePV)), que a través de sus proyecciones a distintos núcleos hipotalámicos regulan los comportamientos reproductivos y defensivos, respectivamente [5].

El fenotipo típico del macho se determina durante el desarrollo embrionario por la región determinante del gen Y (SRY) que se encuentra en

el cromosoma Y. Alrededor de la sexta semana de gestación, esta región del cromosoma activa el factor testicular determinante (TDF) que inicia la diferenciación testicular. Además, ambos fetos femeninos y masculinos están expuestos a altos niveles de estrógenos que produce la placenta. Aunque las diferencias de género parecen ser importantes entre las 8-24 semanas de gestación, este no es el único período para la diferenciación [5-8,17-19].

Otros estudios han descrito que las diferencias sexuales en el sistema nervioso central aparecen

antes de la aparición de liberación de las hormonas gonadales durante el desarrollo embrionario. Acontecimientos genéticos tempranos, tales como la migración celular, pueden desencadenar el inicio de la diferenciación sexual del encéfalo, independiente de la acción hormonal [31]. Posteriormente, las hormonas sexuales esteroideas y sus receptores se vuelven sensibles a la influencia de los esteroides gonadales que será cuando se hace patente la diferenciación sexual del encéfalo. Diferenciación sexual del cerebro que acontecería de forma muy importante durante los primeros días postnatales en los roedores y primeros meses postnatales en humanos la llamada “mini-pubertad” [4-10,17-21, 26].

En este sentido, los resultados del presente trabajo, en los animales castrados a los 20 días postnatales, muestran escasas o indetectables variaciones en los núcleos del complejo amigdalinos a los 35 días de edad, que podría explicarse por el hecho de que ya habría acontecido la maduración sexual del encéfalo “mini-pubertad”[17-18,26]. Por el contrario, los resultados del presente trabajo muestran que la castración perinatal a los ratones a los 5 días les causó modificaciones en el área nuclear de las neuronas del núcleo medial de la amígdala, que se expresó por un aumento del área nuclear sin modificación del número de neuronas lo que estaría en concordancia con los descrito previamente para para otra estructuras cerebrales [6,17,18].

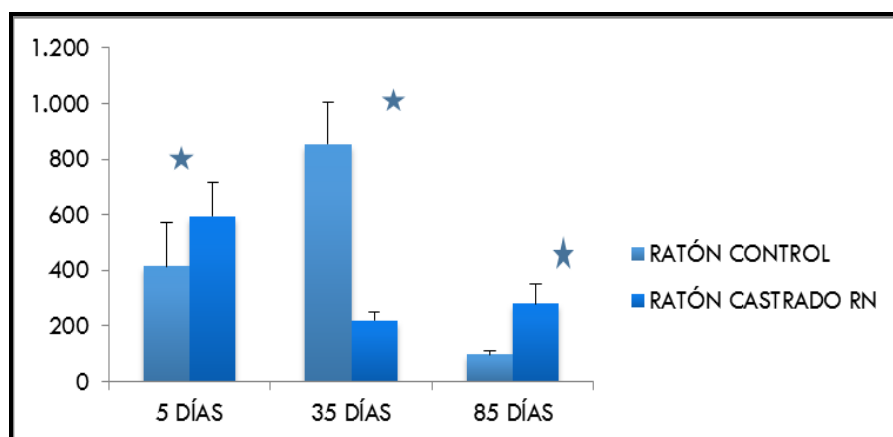


Fig.7 Grafico del área nuclear de las neuronas del núcleo Medial de la amígdala. Comparación entre las áreas de los núcleos neuronales entre ratones controles y castrados recién nacidos a los 5, 35 y 85 días de edad.

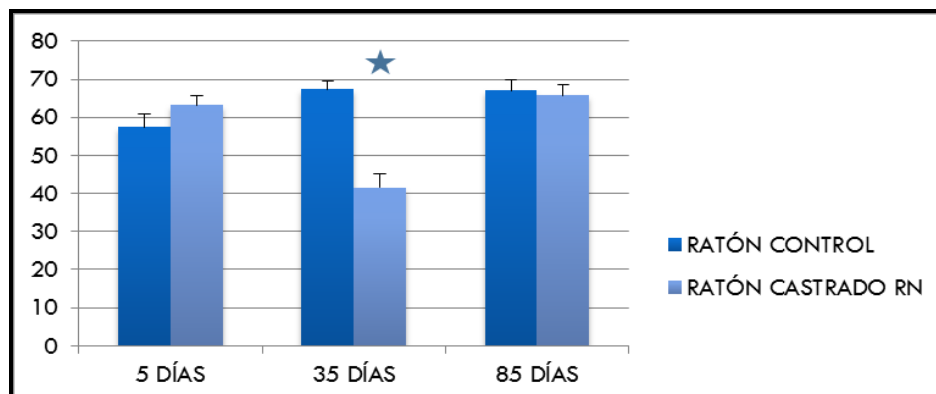


Fig.8 Grafico de la densidad nuclear de las neuronas del núcleo Medial de la amígdala. Comparación entre las áreas de los núcleos celulares entre ratones controles y castrados recién nacidos a los 5, 35 y 85 días de edad.

En la etapa de la pubertad (35 días) nuestros resultados muestran una disminución del área nuclear en los castrados recién nacidos pero no en los controles y castrados prepuberales, lo que relacionado con la ausencia del incremento de los niveles de testosterona circulante durante los periodos prepuberales y puberales de los animales castrados en el momento del nacimiento. Ya que se

ha descrito que la amígdala medial es un lugar importante para la regulación de las hormonas esteroideas gonadales y es sensible a los cambios en el nivel de esteroides gonadales [12-14]. Además apoyando lo anteriormente descrito, tenemos que de la orquidectomía neonatal resultó una disminución significativa en el número de espinas sinápticas en la amígdala medial [32].

Conclusiones

Podemos concluir que la castración prepuberal (20 días) afecta muy poco a la morfología global y neuronal de las diferentes partes del complejo amigdalino, que podría ser debido al hecho de que a los 20 días edad la maduración sexual del encéfalo ya habría acontecido. En cambio la castración perinatal (recién nacidos) produce cambios en los núcleos amigdalinos mediales que son los que están más relacionados con la maduración sexual del

encéfalo, maduración que se produciría durante la mini-pubertad y la conducta sexual y el comportamiento reproductivo. Así, las neuronas del núcleo medial de la amígdala mostraron diferente densidad y área nuclear neuronal como son: el número de neuronas presenta una marcada disminución en los ratones castrados recién nacidos y un descenso en el tamaño de la mayoría de los núcleos de las neuronas de la amígdala medial a los 35 y 85 días de edad.

Tabla 1

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máxim.
						Límite inferior	Límite superior		
Área	Control 5 d	250	414,9575	2,45961E+06	155,5594	108,5774	721,3375	32.283,00	3,77E+0
	Castr. RN 5 d	432	593,8360	2,57033E+06	123,6650	350,7744	836,8976	40.007,0	4,96E+07
	Control 35 d	468	855,4279	3,27525E+06	151,39859	557,9211	1,1529E+03	54.546,0	6,14E+07
	Castr. RN 35 d	205	219,7030	436.097,75598	30,45839	159,6497	279,7570	38.127,0	3,47E+06
	Control 85 días	322	97,2560	190.705,69910	10,62761	76,3474	118,1646	15.488,0	1,86E+06
	Castr. RN 85 d	290	279,1770	1,24395E+06	73,04751	135,4044	422,9496	18.724,0	1,48E+07
	Total	1967	466,6669	2,25601E+06	50,86741	366,9071	566,4266	15.488,0	6,14E+07

Tabla 2

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máxim.
						Límite inferior	Límite superior		
Densidad	Control 5 Días	250	57,4913	53,45942	3,38107	50,8322	64,1505	74,00	119.500
	Castr. RN 5 d.	432	63,1985	51,28300	2,46735	58,3490	68,0481	77,00	119.500
	Control 35 Días	468	67,4108	47,07787	2,17618	63,1345	71,6871	79,00	119.500
	Castr. RN 35 d	205	41,5738	53,67870	3,74908	34,1818	48,9657	79,00	119.50
	Control 85 días	322	67,0821	52,62296	2,93256	61,3126	72,8515	95,00	119.50
	Castr. RN 85 d	290	65,7264	50,49106	2,96494	59,8908	71,5620	74,00	119.50
	Total	1967	62,2301	51,48259	1,16080	59,9535	64,5066	74,00	119.50

5 Días	Área	Densidad
Chi-cuadrado	66,946	,008
gl	1	1
Sig. asintót.	,000	,928

CONTROL/ CASTRADO RN - 5 DIAS			
ANOVA			Estadístico de Levene
AREA DENSIDAD	F	Sig.	Sig.
	2,387	,124	,007
	,127	,722	,097

Bibliografía

- Adolphs R. Emoción y conocimiento: La evolución del cerebro y la inteligencia. Barcelona: Tusquets Editores; 2002.
- Balleine BW, Simon-Killcross A, Dickinson A. The effect of lesions of the Basolateral Amígdala on Instrumental Conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 2003;23: 666-675.
- Blake CB, Meredith M. Selective enhancement of main olfactory input to the medial amygdala by GnRH. *Brain Res.* 2010;1317:46-59
- Cahill L, Babinsky R, Markowitsch HJ, McGaugh JL. The amygdala and emotional memory. *Nature*, Volumen 377(6547), 1995, 295-296.
- Canteras NS. The medial hypothalamic defensive system: hodological organization and functional implications. *Pharmacol. Biochem*, 2002, 71:481491.
- Carmona-Calero E, Perez-Delgado MM, Castañeyra-Perdomo A et al. Development of the median eminence in the male mouse. Karyometric effect of neonatal and prepuberal castration. *Journal fur Hirnforschung* 31 (3), 315-322
- Castañeyra-Perdomo A, Castañeyra-Ruiz L, González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz A, Gonzalez-Toledo JM, Castañeyra-Ruiz M, Carmona-Calero EM Early treatment of Kallmann syndrome may prevent eunuchoid appearance and behavior. *Med Hypotheses*. 2014; 82(1):74-6.
- Castañeyra-Perdomo A, Castañeyra-Ruiz L, González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz A, González-Toledo JM, de Paz-Carmona H, Castañeyra-Ruiz M, Carmona-Calero EM. What is relationship between the medial preoptic area, the organum vasculosum of the lamina terminalis and Kallmann syndrome? *Med Hypotheses* 2013;81(2):219-21
- Castañeyra-Ruiz L, González-Marrero I, Castañeyra-Ruiz A, González-Toledo JM, Castañeyra-Ruiz M, de Paz-Carmona H, Castañeyra-Perdomo A, Carmona-Calero EM. Luteinizing hormone-releasing hormone distribution in the anterior hypothalamus of the female rats. *ISRN Anat.* 2013; 2013:870721
- Castañeyra-Ruiz L, Carmona-Calero EM, González-Marrero I, González-Toledo JM, Castañeyra-Perdomo A, Perez-Molto FJ. Brain sexual development in Kallmann syndrome. *Eur J Anat*, 2016; 20 (2): 113-120.
- Chareyron LJ, Lavenex PB, Amaral DG, Lavenex P. Stereological analysis of the rat and monkey amygdala. *Comp. Neurol.* 519(16):3218-39. 2011.
- Cooke BM, Woolley CS. Gonadal hormone modulation of dendrites in the mammalian CNS. *J Neurobiol.* 2005;64:34-46.
- Cooke BM1, Woolley CS. Effects of prepubertal gonadectomy on a male-typical behavior and excitatory synaptic transmission in the amygdala *Dev Neurobiol.* 2009 Feb 1-15;69(2-3):141-52.
- Cooke, BM., Woolley, CS. Effects of prepuberal gonadectomy on a males typical behaviors an excitatory synaptic transmission in the amygdala. *Dev. Neurobiol.*, 2009 69(2-3):141-152.
- Giantonio GW, Lund, NL, Gerall, AA. Effect of diencephalic and rhinencephalic lesions on the male rat's sexual behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, Volumen 73. 1970.
- G-Rubin E-Safdieh, J., Netter, F. *Neuroanatomía esencial*. 5ta Edición, Barcelona, España. Editorial Elsevier. 2008.
- Hines, M. Sex-related variation in human behavior and the brain. *Trends Cogn. Sci*; 14: 448-56, 2010.
- Hines, M., Allen, L., Gorski, R. Sex differences in subregions of the medial nucleus of the amígdala and the bed nucleus of the stria terminalis of the rat. *Brain Research Volume* 579, Issue 2, Pages 321-326, 1992.
- Hirata, T., Li, P., Lanuza, GM., Cocas, LA., Huntsman, MM., Corbin, JG. Identification of distinct telencephalic progenitor pools for neuronal diversity in the amygdala. *Nat Neurosci*, 12:141-149. 2009.
- Jean-Faucher C, Berger M, de Turckheim M, Veyssiere G, Jean C. Developmental patterns of plasma and testicular testosterone in mice from birth to adulthood. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1978; 89 (4): 780-788
- Jean-Faucher C, el Watik N, Berger M, de Turckheim M, Veyssière G, Jean C. Regulation of gonadotrophin secretion in male mice from birth to adulthood. Response to LRH injection, castration and testosterone replacement therapy. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1985;110 (2):193-199
- McDonald AJ Cortical pathways to the mammalian amygdala. *Prog Neurobiol.* 1998 Jun;55(3):257-332..
- McGaugh JL, Cahill L, Roozendaal B. Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(24):13508-14
- Mizukami, S., Nishizuka, M., Arai y. Sexual difference in nuclear volume and its ontogeny in the rat amygdala. *Experimental Neurology Volume* 79, Issue 2, Pages 569-575. 1983.

25. Nieuwenhuys, Voogd, van Huijzen. El Sistema Nervioso Central Humano. 4ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, 2009.
26. Pasterski V, Acerini CL, Dunger DB, Ong KK, Hughes IA, Thankamony A, Hines M Postnatal penile growth concurrent with mini-puberty predicts later sex-typed play behavior: Evidence for neurobehavioral effects of the postnatal androgen surge in typically developing boys. *Horm Behav.* 2015 Mar;69:98-105
27. Pardo-Bellver C, Cádiz-Moretti B, Novejarque A, Martínez-García F, Lanuza E. Differential efferent projections of the anterior, posteroventral, and posterodorsal subdivisions of the medial amygdala in mice. *Front Neuroanat.* 2012 Aug 21;6:33..
28. Pitkänen A, Savander V, LeDoux JE. Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci.* 1997 Nov;20(11):517-23..
29. Pretelin-Ricardez, JA. Correlación cortico-amigdalina durante el sueño paradójico y su relación con las experiencias sexuales de la vigilia previa en la rata macho. 2006. Web: biblioteca.cucba.udg.mx
30. Puellas-López L, Martínez-Pérez S, Martínez de la Torre M. Neuroanatomía. Editorial Panamericana, 2008.
31. Wilson CA1, Davies DC. The control of sexual differentiation of the reproductive system and brain. *Reproduction.* 2007 Feb;133(2):331-59
32. Zancan M, Dall'Oglio A, Quagliotto E, Rasia-Filho AA. Castration alters the number and structure of dendritic spines in the male posterodorsal medial amygdala. *Eur J Neurosci.* 2009 Feb 1-15;69(2-3):141-52.