

Discussió

5.1. Efectes de la diabetis i el seu tractament amb tungstat sòdic sobre el sistema reproductor masculí

El seguiment d'alguns paràmetres corporals dels mascles durant tot el període experimental mostra clarament que el tractament amb tungstat sòdic provoca un pèrdua de pes, sent aquest efecte més marcat en els animals diabètics. Així mateix s'ha comprovat com el tungstat normalitza quasi completament la glicèmia en els animals diabètics. Curiosament, estudiant la insulinèmia s'observa com en els animals DT hi ha una recuperació d'aquesta fins a valors lleugerament inferiors als dels animals sans. Totes aquestes observacions ja van ser constatades per Barberà (1998) i Muñoz (2001) sense poder aclarir els mecanismes d'acció responsables d'aquests canvis, si bé aquests resultats semblen indicar que l'efecte normalitzador de la glucèmia induït pel tractament a llarg termini amb tungstat pot ser degut, al menys parcialment, a un efecte recuperador de la funció pancreàtica endocrina.

Centrant-se en la funció reproductiva masculina, els nostres resultats indiquen que l'administració de tungstat sòdic pot tenir algun efecte sobre la producció espermàtica en animals model STZ de diabetis tipus I. Aquest efecte, manifestat per una aturada zonal de l'espermioogènesi, sembla no ser causat únicament pel tungstat, doncs no s'observen alteracions en els animals sans tractats amb el fàrmac. Així, el grup de rates sanes tractades amb tungstat no mostra cap alteració evident ja que la llum dels túbuls seminífers té una aparença idèntica a la dels controls i en l'epidídim s'observen una elevada quantitat d'espermatozoides. La diferència entre els grups d'animals ST i els DT està en l'STZ, un fàrmac que endemés de destruir les cèl·lules del pàncreas té efectes sobre cèl·lules de creixement ràpid i poc diferenciades, com són les cèl·lules germinals. Aquest fet provoca que la STZ *per se* pugui causar diferents graus d'aturada de l'espermatogènesi (Oksanen, 1975; Orth *et al*, 1979; Sanguinetti *et al*, 1995). L'aturada de l'espermatogènesi es fa evident amb la disminució del diàmetre dels túbuls seminífers. Aquesta disminució, d'altra banda, provoca un augment de la densitat d'aquests per àrea, ja que n'hi caben

més en la mateixa unitat de superfície, sent-ne aquests els resultats observats en el nostre estudi.

En resum, la hipòtesi per a explicar l'aturada parcial de l'espermatogènesi en rates DT seria l'existència d'una interacció entre el tungstat sòdic i la STZ, on el tungstat estaria potenciant els efectes tòxics, més o menys específics, de la STZ. Per confirmar aquesta hipòtesi es tindrien que realitzar estudis amb altres models animals, com animals diabètics espontanis on es realitzaria el mateix protocol de tractament amb tungstat.

D'altra banda, l'aturada de l'espermatogènesi, és una alteració relativament freqüent davant de processos patològics que afectin al testicle, com criptorquídies o hipoplàsies, així com per l'administració de certs fàrmacs corticoesteroids (Antich *et al*, 1995; Flores *et al*, 1998; Viveiros i Liptrap, 1999). Freqüentment, aquests processos que causen l'aturada de l'espermatogènesi van associats a una disminució de l'expressió d'IGF-I i del seu receptor (Antich *et al*, 1995; Flores *et al*, 1998; Viveiros i Liptrap, 1999). Igualment, processos més genèrics, com situacions d'estrès crònic, com els que podria causar una malaltia crònica com la diabetis també poden provocar l'aturada de l'espermatogènesi (Fernández-Tresguerres *et al*, 1998). L'estrès podria estar causat sobretot per les complicacions secundàries de la diabetis. L'efecte el desencadenaria un augment sostingut dels nivells sèrics de cortisol. Els nivells elevats de cortisol inhibeixen la secreció de GnRH per part de l'hipotàlam, fet que es tradueix en una disminució de la secreció de les hormones gonadotropes LH i FSH. L'efecte més immediat de la caiguda dels nivells d'LH que es detecta en el testicle es una disminució en la secreció de testosterona per part de les cèl·lules de Leydig (Fernández-Tresguerres *et al*, 1998). D'aquesta manera, aquesta cadena d'efectes sumen un altre factor que altera l'espermatogènesi, juntament amb d'altres de causats directa o indirectament per la diabetis.

L'expressió del receptor d'andrògens en el testicle mostra un lleu augment d'expressió en els animals diabètics STZ. En la immunohistoquímica només s'observa clarament aquest efecte sobre les cèl·lules de Leydig, les quals perden molt marcatge. Aquest efecte no es detecta pel Western Blot, ja que les cèl·lules afectades representen un petit percentatge del total de cèl·lules del testicle, i els Western Blot s'han realitzat a partir d'homogenats totals de testicle. Així doncs, estem observant un efecte sobre les cèl·lules de Leydig causat per la diabetis. En el mateix sentit, també s'observa una alteració lligada a la diabetis en els resultats d'expressió del SCF i d'intensitat de fosforilació en residus de tirosina. Per tant, podríem afirmar que la cèl·lula que està essent més alterada de manera directa en el nostre model de diabetis és la cèl·lula de Leydig, la qual cosa afecta doncs la producció d'andrògens, ja que és la principal tasca que se li atorga a aquestes cèl·lules (Skinner, 1991). Mirant l'expressió dels receptors d'andrògens en les cèl·lules de Leydig i els nivells sèrics de testosterona dels animals diabètics, es pot inferir que la producció de testosterona, i en conseqüència, la concentració de testosterona testicular en aquests animals és molt baixa, ja que hi ha una relació directa entre l'expressió dels receptors d'andrògens i els nivells de testosterona en el testicle (Shan *et al*, 1995). Tot això és a la base de les alteracions de la libido i, en menor mesura, de la fertilitat, observades en les rates DC.

De fet, no és estrany que la cèl·lula de Leydig sigui la més afectada per la diabetis, ja que és una cèl·lula on estan relacionats el complex insulina-receptor d'insulina amb la testosterona (Oksanen, 1975; Tesone *et al*, 1980). Si es disminueix la síntesi d'andrògens, els precursors lipídics s'acumulen dins la cèl·lula de forma gradual provocant la mort cel·lular (Sanguinetti *et al*, 1995). D'aquesta manera es podria explicar la disminució del nombre de cèl·lules de Leydig que s'observa amb la diabetis causat per un augment en l'apoptosi d'aquestes cèl·lules (Paz i Homonnai, 1979; Orth *et al* 1979). Aquesta apoptosi podria estar potenciada per la disminució en l'expressió de l'SCF, observada en aquest treball, ja que aquest factor està relacionat amb la protecció de les cèl·lules front l'apoptosi (Packer *et al*, 1995; Feng *et al*, 1999).

Malgrat aquesta alteració en el metabolisme dels andrògens, podríem afirmar que la diabetis induïda amb STZ no ha produït cap alteració suficientment gran per a aturar l'espermatogènesi. Això ho podem confirmar observant espermatozoides en la llum de l'epidídim amb microscopia òptica i per microscopia electrònica. La raó per la qual es manté l'espermatogènesi la podríem fonamentar en que les cèl·lules de Sertoli són les principals cèl·lules diana pels andrògens (Skinner, 1991) i les encarregades del control i manteniment de l'espermioogènesi i l'espermatogènesi mitjançant la secreció de múltiples proteïnes i factors de creixement (Bardin *et al*, 1988). Així mateix, l'expressió normal del receptor d'andrògens observada en les cèl·lules germinals i en les de Sertoli ens estaria igualment confirmant que l'espermioogènesi i l'espermatogènesi segueixen funcionant. En el testicle, el fet de que els nivells de testosterona estiguin normalitzats en els animals DT per efecte del tungstat i a més, correlacionats amb la glicèmia, es podria indicar que hi ha un efecte directe sobre les diferents cèl·lules del testicle i un efecte indirecte degut als nivells elevats de glucosa en sang causats per la diabetis. Així mateix, hi hauria una participació molt important de l'eix hipòfisi-testicle on, gràcies al tractament amb tungstat, es recuperen els valors normals d'LH i pràcticament es normalitzen els d'FSH. Tornant a les cèl·lules testiculars, aquests efectes coincideixen amb la recuperació que s'observa en el Western Blot i l'ARNm del receptor d'FSH el qual contribuiria igualment al manteniment de l'espermatogènesi. Els resultats d'expressió del receptor d'FSH mostren l'existència d'un efecte directe sobre les cèl·lules del testicle per part de la diabetis. En quant als receptors de l'LH no s'observa cap canvi, tret d'un augment per sobre dels valors normals en el grup DT. Això indicaria que els efectes sobre les cèl·lules de Leydig i, per tant, sobre la producció d'andrògens estan més relacionats amb la hipòfisi que no pas amb el testicle. D'aquesta manera, els nivells sèrics d'LH seran els que més afectaran a la síntesi dels andrògens.

Per tant, tot i que en els animals DT hi hagi una acció tòxica a nivell testicular de l'STZ potenciada pel tractament amb tungstat, la recuperació dels nivells normals de les hormones hipofisàries en aquests animals permet tenir

una espermatogènesi activa, si bé que reduïda. Així mateix, hi han efectes sobre alguns receptors hormonals de les cèl·lules testiculars i en d'altres no. Això ens indica l'existència d'efectes directes sobre el testicle i d'efectes indirectes, principalment a nivell d'hipòfisi. Aquests resultats queden corroborats amb els creuaments, on s'observa com els animals DT tenen descendència i major libido que els DC, degut principalment, a la normalització dels nivells hormonals d'LH, d'FSH i de testosterona. Els problemes d'aturada d'espermatogènesi es fan evidents amb els efectes sobre la fertilitat i la prolificitat, les quals estan clarament disminuïdes respecte als altres grups experimentals.

En el nostre model experimental, l'expressió del receptor d'IGF-I en el testicle no presenta cap diferència entre els grups de les rates sanes, però disminueix marcadament amb la diabetis. Aquest resultat s'havia descrit anteriorment (Olchovsky *et al*, 1991; Chernicky *et al*, 1994). D'altra banda, el tractament amb tungstat no ha pogut recuperar l'expressió d'aquest receptor. Aquest resultat es confirma amb l'immunohistoquímica dels testicles d'aquests animals on el resultat és el mateix. En canvi, els nivells testiculars del pèptid IGF-I no varien en els quatre grups d'animals, la qual cosa sembla indicar que la seva producció testicular no està afectada. Aquest resultat no coincideix, aparentment, amb els estudis d'Olchovsky *et al* (1991) i Chandrashekar *et al* (1999), que descriuen una important disminució de l'expressió de l'ARNm d'IGF-I en el testicle de rates STZ. Donat que la cèl·lula testicular on es produeix majoritàriament l'IGF-I és la cèl·lula de Sertoli (Forti *et al*, 1989), es podria afirmar que la diabetis no està afectant a les cèl·lules de Sertoli, com a mínim, no el suficient per alterar la formació d'IGF-I. Amb aquesta afirmació es tindria que buscar una explicació pel manteniment dels nivells normals d'IGF-I amb la diabetis, ja que l'FSH, responsable en principi de l'estimulació de la secreció d'IGF-I per part de les cèl·lules de Sertoli, està disminuïda (Chandrashekar *et al*, 1999). Igualment passa amb l'efecte de l'LH sobre les cèl·lules de Leydig (Chandrashekar *et al*, 1999). L'explicació la podria donar el fet de que l'estudi de Chandrashekar s'ha realitzat amb cèl·lules sanes i en cultiu cel·lular. També

podríem estar davant de nivells d'IGF-I circulant disminuïts causats per un problema de secreció del pèptid, que és el que realment demostra Chandrashekar *et al* (1999), però el pèptid es podria acumular dins les cèl·lules, la qual cosa explicaria l'expressió normal del Western blot en els grups d'animals diabètics, ja que el Western Blot s'ha realitzat d'homogenat total de testicle.

Cal dir que un dels principals papers de l'IGF-I a nivell testicular és el de participar en el control de la síntesi de testosterona per part de les cèl·lules de Leydig. En el nostre model de diabetes, els nivells de testosterona estan significativament disminuïts, la qual cosa coincideix amb els resultats d'estudis anteriors que s'han realitzat amb el mateix model animal (Hutson *et al*, 1983; Benítez i Pérez Díaz, 1985; Tremblay *et al*, 1985; Hassan *et al*, 1993). Podríem assumir que la testosterona, dins del túbul seminífer, està intervenint directament per un bon funcionament, tant de l'espermioogènesi com de l'espermatogènesi (McLachlan *et al*, 1996). Així, la testosterona, juntament amb altres factors de les cèl·lules de Leydig, ajuden a la proliferació de les espermatogònies A. Més endavant, prevé la degeneració dels espermatòcits davant d'un agent citotòxic contra les cèl·lules de Leydig. Finalment, la testosterona és essencial per l'elongació de les espermàtides mitjançant el manteniment d'una zona d'unió especialitzada de les cèl·lules de Sertoli amb les espermàtides que estan al seu voltant, just quan aquestes comencen el procés d'elongació (McLachlan *et al*, 1996). Cal remarcar que aquest procés d'elongació l'hem observat per microscopia electrònica en les rates sanes control i tractades. En canvi, en les rates diabètiques controls, i sobretot en les tractades amb tungstat, aquest procés es trobat alterat en segments significativament extensos de les mostres que s'han analitzat. En aquestes zones s'ha pogut constatar un domini de les espermàtides secundàries, aturades davant del procés d'elongació. El procés de formació de l'acrosoma està en diferent grau de desenvolupament sobre un nucli rodó i molt laxe. Aquestes espermàtides, endemés, són cèl·lules grans, que per microscopia òptica s'ha pogut comprovar com en les diabètiques tractades dominen molts

campos del túbul seminífer. Així doncs, l'aturada parcial de l'espermatogènesi, especialment manifesta en les rates DT, podria ser conseqüència de l'alteració en el metabolisme testicular dels andrògens que pateixen aquests animals.

Amb tot, podríem afirmar que les alteracions en la síntesi i secreció de testosterona juntament a les alteracions en el metabolisme de l'IGF-I estan causades per una menor expressió del seu receptor i no del pèptid, ja que la cèl·lula més afectada seria la cèl·lula de Leydig, que és la principal cèl·lula diana de l'IGF-I per estimular l'esteroidogènesi (Skinner, 1991). També contribuirà a aquest efecte el fet que el receptor d'IGF-I modula els efectes de la insulina i d'IGF-I en la formació d'andrògens en les cèl·lules de Leydig (Lin et al, 1986). En aquest mateix tipus cel·lular, l'IGF-I potencia l'acció de gonadotropines, augmentant la sensibilitat a l'LH (Chattelain *et al*, 1991), una acció que seria molt interessant en la diabetis, ja que l'LH està marcadament disminuïda (Hutson et al, 1983; Benítez i Pérez Díaz, 1985).

Les cèl·lules de Leydig també produeixen IGF-I (Benahmed *et al*, 1987). En aquest cas però, l'IGF-I realitza una funció d'estímul de la proliferació de les propies cèl·lules de Leydig sota el control de l'LH (Lin *et al*, 1986). En la diabetis, al disminuir la concentració d'LH circulant i mantenir alhora els nivells sèrics d'IGF-I es podria esperar un augment del nombre de cèl·lules de Leydig. El resultat però, és totalment el contrari, ja que la diabetis provoca una disminució significativa en el nombre de cèl·lules de Leydig (Paz i Homonnai, 1979; Orth *et al*, 1979). Les causes de l'alteració del nombre de cèl·lules de Leydig les hauríem d'associar, segurament, a problemes en l'expressió dels receptors d'andrògens i del SCF.

Front una disminució d'IGF-I en el testicle, les cèl·lules de Sertoli augmenten l'expressió de receptors d'IGF-I (Antich *et al*, 1995), però, en el nostre cas, amb la diabetis STZ, al mantenir-se els nivells d'IGF-I en el testicle no es dona aquest efecte compensatori. No obstant, com hem hipotetitzat anteriorment, aquests nivells normals d'IGF-I podrien ser relatius, ja que també

podria produir-se una acumulació del pèptid dins la cèl lula de Sertoli degut a problemes de secreció causats per la baixa concentració de FSH (Chandrashekar *et al*, 1999). Per tant, aquest IGF-I no seria funcional, i la seva acumulació dins la cèl lula faria de "feed-back" negatiu sobre l'expressió del receptor d'IGF-I.

L'estudi de l'expressió del receptor d'insulina no mostra diferències entre els grups d'animals no tractats. En canvi, els grups tractats amb tungstat sòdic tenen un lleuger augment de l'expressió. Aquest augment podria estar relacionat amb l'augment que també experimenten les rates ST i DT en l'expressió dels residus de tirosines fosforilats així com en l'augment en els nivells de proteïna estudiats en gels d'acrilamida tenyits amb Blau de Coomassie. En conjunt, els resultats ens podrien estar indicant un possible augment de l'activitat cel lular causada pel tractament amb tungstat, concretament augmentant el metabolisme d'hexoses (Mita *et al*, 1985; Seedorf, 1995), juntament amb la síntesi proteica, la síntesi de DNA i la producció de lactat, sobretot en les cèl lules de Sertoli (Mita *et al*, 1985). De fet, sembla que el tungstat estigui protegint els receptors d'insulina o estimuli la seva síntesi. Així, encara que hagi poca insulina, la poca que hagi tindrà més receptors on unir-se, situació que no sembla donar-se amb els animals DC.

En canvi, el resultat del Western Blot del receptor d'insulina no es correspon amb el de la immunohistoquímica, on el grup de les rates diabètiques control tenen un menor marcatge que la resta de grups d'animals. La raó podria estar en un artefacte metodològic o bé, la disminució del marcatge no seria prou significativa per a que el Western Blot l'expressés, ja que comparant amb els Western Blot realitzats amb altres anticossos, el del receptor d'insulina i el d'insulina són els que tenen un marcatge més feble.

Si bé l'SCF està present en la majoria de tipus cel lulars del testicle, el seu receptor, *c-kit*, és més important en les cèl lules de Leydig i espermatogònies (Feng *et al*, 1999). La immunohistoquímica de l'SCF només mostra diferències en el marcatge de les cèl lules de Leydig. Aquest efecte, que

alterarà els nivells de testosterona per l'augment de la mort cel·lular, no afecta a les cèl·lules germinals, ja que el seu marcatge és normal. Així, es mantindrà un grau d'espermioogènesi suficient per una producció espermàtica, segurament inferior a la dels animals sans, degut a les alteracions en els nivells de testosterona. No obstant, els resultats més sorprenents són els observats en el seu receptor, el *c-kit*. El tractament amb tungstat sembla que afecti negativament a l'expressió d'aquest receptor. Amb tot, però, s'ha de remarcar que els nivells d'expressió dels animals tractats no són molt diferents dels controls. Per a intentar esbrinar on podria estar la clau d'aquest efecte es van estudiar els nivells de fosforilació d'aquest receptor. Aquest resultat no van ajudar a aclarir les causes, ja que va mostrar com els animals DC tenen uns nivells d'expressió molt més elevats que la resta de grups experimentals. Així mateix, l'estudi immunohistoquímic del *c-kit* mostra com la diabetis STZ manté els nivells d'expressió, però solament en alguns tipus cel·lulars, com cèl·lules linfoitàries presents en l'espai intersticial, cèl·lules en divisió, etc.

Els diferents tipus cel·lulars més importants del testicle tenen una elevada activitat de fosforilació en residus de tirosines. Aquesta activitat sol afectar a molts receptors de factors de creixement i hormones, endemés dels estudiats per nosaltres, com per exemple el factor de creixement epidèrmic (EGF) i el factor de creixement secretat per plaquetes (PDGF; Ashcroft i Ashcroft, 1992). Alguns d'aquests factors hi són igualment relacionats amb el testicle i els diferents tipus cel·lulars, com el receptor d'EGF (Suarez-Quian *et al*, 1989; Stubbs *et al*, 1990). Amb la diabetis, l'activitat fosforiladora es perd bàsicament en les cèl·lules de Leydig, ratificant l'alteració que està causant la diabetis en aquestes cèl·lules, citada anteriorment al parlar de l'expressió del receptors d'andrògens i del SCF, juntament amb les seves possibles causes i posteriors conseqüències.

En el Western Blot del transportador d'hexoses Glut 3 no s'han observat diferències causades per la diabetis, com ja havia comprovat Burant i Davison (1994). En canvi, l'estudi immunohistoquímic torna a fer palès un altre cop els

importants efectes sobre la cèl·lula de Leydig, la qual perd el marcatge del Glut 3 degut a la diabetis sense que el tractament amb tungstat sòdic el pugui recuperar.

En l'epidídim no hi ha alteracions evidents causades per la diabetis en l'expressió dels diferents receptors observats. Amb aquests resultats es podria afirmar que les principals funcions de l'epidídim es realitzaran de manera normal, tant en les rates DC com en les DT. D'aquesta manera, els espermatozoides immadurs que arribin a l'epidídim, segurament maduraran sense problemes associats a la diabetis, ja que l'absorció de líquid testicular, la secreció de substàncies a la llum i el transport i magatzem d'espermatozoides depenen directament dels andrògens (Goyal *et al*, 1997). D'altra banda, la normal expressió del receptor d'andrògens en l'epidídim també ens garanteix una correcta diferenciació de les cèl·lules de l'epiteli epididimari (Carballada i Saling, 1997) com es pot comprovar amb l'histologia, on no hi ha alteracions en aquest epiteli.

5.2. Efectes de la diabetis i el seu tractament amb tungstat sòdic sobre el sistema reproductor femení

En una primera lectura, els resultats obtinguts sobre la funció reproductiva en femelles amb diabetis induïda amb STZ s'assemblen als obtinguts en els mascles. Així, els canvis en els paràmetres físics i en els valors de glucèmia són similars. A més a més, la diabetis causa una disminució dels nivells normals de totes les hormones avaluades en aquest treball: la insulina, l'LH, l'FSH i la progesterona. La disminució de l'LH i l'FSH podria derivar-se d'una alteració de l'hipotàlam, degut a una afectació de la síntesi i/o secreció de GnRH, tal i com ja ha sigut descrit en la diabetis (Bestetti *et al*, 1985). Es podria especular que la glucèmia tan elevada és la responsable d'aquesta acció, si bé estudis *in vitro* han demostrat que la secreció d'LH i FSH per part de les cèl·lules gonadotropes és independent dels nivells de glucosa (Adashi *et al*,

1981). També es podria pensar que la insulina és la responsable, ja que el tractament amb aquesta hormona normalitza els nivells hormonals (Davoren i Hsueh, 1984). Aquest raonament no es pot confirmar amb el nostre estudi, ja que la recuperació de la insulinèmia que experimenten els animals DT no arriba als nivells normals. En canvi, la recuperació de l'LH i l'FSH sí que és completa. D'altra banda, tampoc s'ha trobat cap correlació entre la glicèmia i els nivells sèrics d'ambdues hormones. Per tant, és probable que l'etiologia d'aquests efectes es desencadenen a altres nivells, com en canvis en l'activitat de l'enzim fosfodiesterasa del monofosfat d'adenosina cíclic, la qual està augmentada en els animals diabètics (Stein, 1996).

L'FSH i l'LH són imprescindibles per la síntesi d'esteroides. L'FSH per la síntesi d'estrògens per part de les cèl·lules de la granulosa (Baird, 1984) i l'LH per la síntesi de progesterona per part dels cossos lútics (Baird, 1984; Ganong, 1992). Els resultats ens mostren com la recuperació dels nivells d'LH en els animals DT no va acompanyada de la recuperació dels valors normals de progesterona. Això ens podria estar indicant que, tot i que el tungstat recupera part de les alteracions produïdes a nivell d'hipotàlam-hipòfisi, hi ha uns efectes directes sobre l'ovari als quals el tungstat no pot recuperar. La disminució de la síntesi de progesterona podria ser la responsable dels acúmul·ls lipídics que s'observen en alguns tipus cel·lulars dels animals DC, com en les cèl·lules dels cossos lútics. Aquestes vacuoles lipídiques serien acúmul·ls de colesterol, precursor de la progesterona (Baird, 1984; Ganong, 1992), els quals, al no poder ser utilitzats per a la síntesi de progesterona, s'acumulen dins el citoplasma d'aquestes cèl·lules.

Totes aquestes alteracions en els nivells de les hormones gonadotropes afectaran als cicles estrals. En primer lloc, calen nivells suficientment alts d'FSH per tenir un correcte creixement fol·licular. En aquesta situació, i en presència d'estrògens, es desencadena el pic d'LH que donarà lloc a l'ovulació (Baird, 1984). En el nostre experiment, on els nivells d'LH i d'FSH estan alterats per causa de la diabetis, és lògic esperar que hi hauran problemes en la ciclicitat d'aquests animals, la qual cosa col·laboraria en la pèrdua de fertilitat observada en rates DC.

Juntament amb els nivells baixos d'FSH en sang hi ha una disminució dels nivells d'expressió del seu receptor en l'ovari. Igualment estan disminuïts els nivells d'ARNm per al receptor. Aquest fet podria deure's a un dany directe sobre les cèl·lules que expressen aquest receptor, o per una disminució del nombre de receptors a causa d'una menor estimulació de la mateixa FSH, ja que la seva presència està marcadament disminuïda. En el cas dels nivells d'ARNm per al receptor d'LH, el tractament amb tungstat no pot recuperar els nivells normals alterats per la diabetis. Això indicaria que mentre el tungstat restableix la normalitat a nivell hipofisari, es mantenen uns efectes directes sobre les cèl·lules de l'ovari que expressen aquest receptor. Aquests resultats demostren com la diabetis afecta a la funció reproductiva femenina mitjançant alteracions en el metabolisme de l'FSH i l'LH, alteracions que es produeixen tant a nivell ovàric com a nivell hipofisari, tal i com ja va descriure Valdes *et al* (1990). D'altra banda, l'augment en l'expressió del receptor d'estrògens en els animals DC podria estar causada per un efecte compensatori, en resposta a la probable disminució dels nivells d'estrògens en sang causada per la disminució dels nivells d'FSH. D'aquesta manera s'augmentaria la sensibilitat als nivells baixos d'estrògens augmentant el nombre de receptors.

Cal remarcar que no s'ha observat cap alteració rellevant en el receptor de PRL. Així, els problemes de gestació estaran motivats per altres efectes sobre altres hormones (Heap i Flint, 1984). En el cas d'haver problemes en el receptor de PRL, la fertilitat de les femelles estaria sèriament afectada, amb problemes de desenvolupament i funcionalitat dels fol·licles, i sent pràcticament impossible la gestació (Telleria *et al*, 1997; Baran *et al*, 2002). Així mateix, si la femella aconseguís quedar gestant, tindria greus dificultats per a desenvolupar el fetus, ja que la PRL juga un paper molt important durant la implantació dels embrions i tota la primera part de la gestació (Baran *et al*, 2002). Malgrat aquest resultat, s'hauria d'estudiar els nivells sèrics de PRL, ja que, com hem demostrat en aquest treball, la diabetis i el tractament amb tungstat, tenen al mateix temps efectes directes sobre la gònada i sobre l'eix hipòfisi-hipotàlam. D'altra banda, podríem tenir nivells normals d'expressió del receptor de PRL i

nivells sèrics de PRL anormalment baixos, els quals podrien contribuir als problemes de fertilitat dels animals DC i DT.

L'efecte de la diabetis sobre els receptors de progesterona és similar a l'observat sobre els receptors d'estrògens. El grup DC té una major expressió que la resta de grups experimentals, possiblement per compensar la disminució dels nivells sèrics de l'hormona. En canvi, el tungstat causa una disminució de l'expressió del receptor. D'aquesta manera, els DT haurien de tenir un augment d'expressió igual que els controls, ja que els nivells sèrics de l'hormona es mantenen baixos com en el grup control. En els animals sans s'observa la mateixa situació, on amb nivells sèrics normals de l'hormona els tractats tenen menor expressió. Això ens indica l'existència d'un sistema de control molt eficient de l'expressió del receptor de progesterona pel seu propi efector, tal i com ja ha sigut observat anteriorment a nivell d'hipòfisi i hipotàlam (Funabashi *et al*, 2001). El fet de que els resultats siguin similars als del receptor d'estrògens podria estar indicant una correlació entre ambdós receptors. Scott *et al* (2002) han trobat evidències d'una interacció positiva dels nivells d'expressió d'estrògens i els nivells d'expressió del receptor de progesterona. D'altra banda, les alteracions del receptor de progesterona podran afectar al control de l'ovulació i a la formació dels cossos lútics (Vermerish *et al*, 2001). Així mateix, els problemes causats pels baixos nivells de progesterona dels animals diabètics es fan evidents en els problemes que tenen aquests animals per mantenir una gestació normal, donat que aquesta depèn, en gran mesura, dels nivells de progesteronèmia (Liggins, 1982; Heap i Flint, 1984).

Totes aquestes alteracions dels nivells hormonals determinen les alteracions més marcades que s'han observat en les femelles en aquest treball, les quals comprenen la fertilitat i la prolificitat. És important destacar que aquests tres paràmetres són molt constants en les rates, podent-se afirmar que l'eficiència reproductiva de les rates és màxima (Kohn i Barthold, 1984). Comparant amb els resultats obtingut en els mascles es podria dir que les femelles són més sensibles en aquest aspecte als efectes de la diabetis. En el

cas de les DC no s'ha obtingut cap descendència. El tractament amb tungstat aconsegueix millorar molt la libido comparant amb els DC, però la prolificitat està marcadament disminuïda. Aquesta caiguda de la prolificitat estarà causada per la suma de diferents etiologies, sobretot de tipus hormonal, sense oblidar que aquests animals estan perdent pes, un paràmetre molt important a tenir en compte en reproducció.

Els altres indicadors de la funcionalitat reproductiva no han mostrat grans diferències entre els diferents grups experimentals. Mentre que el receptor d'IGF-I no mostra diferències, l'expressió del pèptid d'IGF-I està lleument disminuïda en els animals tractats amb tungstat, tant sans com diabètics. Aquesta pèrdua d'expressió podria estar localitzada en els fol·licles, la qual cosa estaria afectant la síntesi d'esteroides a aquest nivell, ja que l'IGF-I juga un paper important en el control de la síntesi d'aquestes hormones (Duleba *et al*, 1997). També, el nivell de fosforilació en residus de tirosines en ovari està augmentat amb la diabetis. Aquest augment de la fosforilació no coincideix amb cap dels receptors amb activitat tirosina-quinasa estudiats en aquest treball. Treballs en ovaris de rata han demostrat com es pot incrementar la fosforilació en tirosines mitjançant una estimulació simultània amb GH/LH i IGF-I, els quals actuen sobre el substrat I del receptor d'insulina (IRS-I; Talavera *et al*, 1996). Aquests efectes en la fosforilació en tirosines on està implicat el IRS-I també s'ha demostrat en cèl·lules de hàmmster xinès (CHO), estimulant amb la mateixa insulina sobre el seu receptor (Sun *et al*, 1992) i estimulant amb GH (Moller *et al*, 1992). Amb les proves que s'han utilitzat en aquest treball experimental no ens permet treure conclusions, només remarcar que de cara a estudis propers es s'hauria de mesurar els nivells sèrics d'GH i d'IGF-I, així com estudiar els efectes de la diabetis i el tractament amb tungstat sòdic sobre l'IRS-I.

El manteniment dels nivells normals d'expressió del receptor *c-kit* té importància, ja que és necessari per al creixement i desenvolupament de l'òocit (Packer *et al*, 1994), així com per a la formació dels fol·licles (Driancourt *et al*,

2000). Igualment important és el seu paper en la protecció front l'apoptosi (Driancourt *et al*, 2000). En aquest punt, és interessant ressaltar que a nivell estructural no s'han apreciat grans diferències entre els quatre grups experimentals. Aquests resultats recorden als observats en túbuls seminífers, indicant-ne, doncs, que la diabetis i el seu tractament amb tungstat tenen un efecte específic sobre l'expressió del *c-kit* en aquestes cèl·lules.

El Glut 3 ovàric és important sobretot durant l'ovulació, observant-se com augmenta la seva expressió (Kol *et al*, 1997). Els canvis que mostren l'estudi són un augment amb la diabetis i, comparant entre sans i entre diabètics, els animals control tenen major expressió que els tractats amb tungstat. Aquests resultats es podrien comparar amb estudis anteriors, els qual demostren que la diabetis no causa una disminució en l'expressió del Glut 3 (Atkins *et al*, 1994; Kainulainen *et al*, 1997; Moley *et al*, 1998). On hi ha una marcada disminució en l'expressió del Glut 3 és en el fetus, juntament amb el Glut 2 (Moley *et al*, 1998). Així mateix, no es relaciona la Glut 3 amb els problemes reproductius que es presenten durant la gestació, com són els desordres de creixement del fetus, etc (Atkins *et al*, 1994; Kainulainen *et al*, 1997). El fet que en el nostre estudi hi hagi un augment de l'expressió del Glut 3 en els animals DC podria estar motivat per un efecte compensatori respecte als diversos trastorns metabòlics causats per la diabetis.

Finalment, els resultats sobre l'acumulació del tungstat en les cries nounates de mares que havien estat tractades durant tota la gestació eren, si més no, previsibles a la llum d'anteriors treballs (Wide *et al*, 1986). S'ha de tenir en compte que la placenta de les rates és del tipus hemocorial, la qual cosa permet un íntim contacte entre la sang de la mare i la del fetus (Heap i Flint, 1984). Amb aquests resultats es desaconsellaria l'ús del tungstat en femelles en estat de gestació, ja que l'acumulació de tungstè en fetus podria tenir efectes greus no desitjats. Així mateix, seria molt interessant realitzar el seguiment d'aquestes cries que han acumulat tungstat durant la seva etapa fetal fins l'edat adulta, per tal de determinar les possibles conseqüències que

tindria l'acumulació fetal de tungstat en la fisiologia i desenvolupament postnatal d'aquests animals.

Conclusions

1. El tungstat, *per se*, no causa canvis evidents en la funció reproductiva dels animals sans.
2. El grup que presenta més canvis en els mascles és el grup de les rates DT. El tungstat, al no causar lesions de *per se*, segurament està potenciant els efectes tòxics de l'estreptozotocina, aturant de manera zonal l'espermatogènesi. Amb aquest resultat es planteja l'ús de models animals diferents als diabètics STZ, per a l'estudi dels efectes d'aquesta malaltia i el seu tractament sobre la funció testicular.
3. La cèl lula de Leydig és la més afectada per la diabetes, per tant, els nivells de testosterona també es veuen afectats, influint en les relacions entre les cèl lules de Leydig i les cèl lules de Sertoli. També afectarà negativament a la libido, a la fertilitat i a la prolificitat.
4. Els resultats en els mascles ens indiquen que la diabetes afecta a nivell d'hipotàlam-hipòfisi, alterant els nivells sèrics d'LH i d'FSH i, directament sobre el testicle, afectant als seus receptors. El tractament amb tungstat aconsegueix recuperar els valors normals d'aquestes hormones.
5. L'epiteli epididimari s'ha mostrat, en general, resistent a qualsevol canvi causat per la diabetes amb els paràmetres avaluats en aquest treball de recerca.
6. En les femelles la diabetes causa alteracions a nivell d'hipotàlam (GnRH) i/o d'hipòfisi (LH i FSH) que es tradueixen en una disminució dels nivells sèrics d'LH i d'FSH, així com alteracions directes sobre els seus receptors en l'ovari. Les alteracions de totes aquestes hormones afecten als cicles estrals, a la libido i a la gestació, causant una caiguda de la fertilitat i la prolificitat. El tractament amb tungstat recupera parcialment aquests paràmetres.

7. El tractament amb tungstat sòdic estaria desaconsellat en femelles gestants degut al demostrat pas d'aquest de la mare al fetus, on s'acumula de manera molt significativa.

Bibliografia

A

Adashi EY, Hsueh AJW i Yen SSC. 1981. Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone by cultured pituitary cells. *Endocrinology*, **108:8**, 1441-1449

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K i Watson JD. Células germinales y fecundación. 1990. *Biología Molecular de la Célula*. 2ª edició. *Ediciones Omega, S.A.*. **Capítol 14**, 823-869

Anderson JE i Thliveris JA. 1986. Testicular histology in streptozotocin-induced diabetes. *Anat Rec*, **214:4**, 378-382

Antich M, Fabian E, Sarquella J i Bassas L. 1995. Effect of testicular damage induced by cryptorchidism on insulin-like growth factor I receptors in rat Sertoli cells. *J Reprod Fertil*, **104**, 267-275

Arad-Dann H, Beller U, Haimovitch R, Gavrieli Y i Ben-Sasson SA. 1993. Immunohistochemistry of phosphotyrosine residues: Identification of distinct intracellular patterns in epithelial and steroidogenic tissues. *J Histochem Cytochem*, **41:4**, 513-519

Asano T, Katagiri H, Takata K, Tsukuda K, Lin JL, Ishihara H, Inukai K, Hirano H, Yazaki Y i Oka Y. 1992. Characterization of GLUT3 protein expressed in Chinese hamster ovary cells. *Biochem J*, **288**, 189-193

Ashcroft FM i Ashcroft SJH. 1992. *Insulin, Molecular Biology to Pathology*. *IRL Press – Oxford University Press*, **Capítol 6**, 199-210

Atkins V, Flozak AS, Ogata ES i Simmons RA. 1994. The effects of severe maternal diabetes on glucose transport in the fetal rat. *Endocrinology*, **135:1**, 409-415

B

Baird DT. 1984. The ovary. Reproduction in mammals. Hormonal control of reproduction. Austin CR i Short RV. *Cambridge University Press*, **volum 3**, **capítol 5**, 91-114

Baran N, Kelly PA i Binart N. 2002. Characterization of a prolactin-regulated gene in reproductive tissues using the prolactin receptor knockout mouse model. *Biol Reprod*, **66:4**, 1210-1218

Barberà, A. 1998. El tungstat: Una nova aproximació a la terapèutica de la diabetis. *Tesi doctoral*. Universitat de Barcelona.

- Barberà A, Fernandez-Alvarez J, Truc A, Gomis R i Guinovart JJ. 1997. Effects of tungstate in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats: Mechanism leading to normalization of glycaemia. *Diabetologia*, **40**, 143-149
- Barberà A, Rodríguez-Gil JE i Guinovart JJ. 1994. Insulin-like actions of tungstate in diabetic rats. *J Biol Chem*, **269:31**, 20047-20053
- Bardin CW, Cheng CY, Musto NA i Gunsalus GL. 1988. The Sertoli Cell. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 21**, 933-974
- Becker DJ, Reul B, Ozcelikay AT, Buchet JP, Henquin JC i Brichard SM. 1996. Oral selenate improves glucose homeostasis and partly reverses abnormal expression of liver glycolytic and gluconeogenic enzymes in diabetic rats. *Diabetologia*, **39:1**, 3-11
- Bellvé AR i Zheng W. 1989. Growth factors as autocrine and paracrine modulators of male gonadal functions. *J Reprod Fertil*, **85**, 771-793
- Benahmed M, Morera AH, Chauvin MC i de Peretti E. 1987. Somatomedin C/insulin-like growth factor 1 as a possible intratesticular regulator of Leydig cell activity. *Mol Cell Endocrin*, **50**, 69-77
- Benítez A i Pérez Diaz J. 1985. Effect of streptozotocin-diabetes and insulin treatment on regulation of Leydig cell function in the rat. *Horm Metabol Res*, **17**, 5-7
- Bestetti GE, Junker U, Locatelli V, Rossi GL. 1987. Continuous subtherapeutic insulin counteracts hypothalamopituitary-gonadal alterations in diabetic rats. *Diabetes*, **36:11**, 1315-1319
- Bestetti GE, Locatelli V, Tirone F, Rossi GL, Muller EE. 1985. One month of streptozotocin-diabetes induces different neuroendocrine and morphological alterations in the hypothalamo-pituitary axis of male and female rats. *Endocrinology*, **117:1**, 208-216
- Bokemeyer C, Kuczyk MA, Dunn T, Serth J, Hartmann K, Jonasson J, Pietsch T, Jonas U i Schmoll HJ. 1996. Expression of stem-cell factor and its receptor *c-kit* protein in normal testicular tissue and malignant germ-cell tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*, **122**, 301-306
- Borland K, Mita M, Oppenheimer CL, Blinderman LA, Massague J, PF Hall i Czech MP. 1984. The actions of insulin-like growth factor-I and II on cultured Sertoli cells. *Endocrinology*, **114:1**, 240-246
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein using the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, **72**, 248-254

Bremner WJ, Millar MR, Sharpe RM i Saunders PTK. 1994. Immunohistochemical localization of androgen receptor in the rat testis: Evidence for stage-dependent expression and regulation by androgens. *Endocrinology*, **135:3**, 1227-1234

Burant CF i Davidson NO. 1994. GLUT3 glucose transporter isoform in rat testis: Localization, effect of diabetes mellitus, and comparison to human testis. *Am J Physiol*, **267:6Pt2**, R1488-R1495

Burnett WN. 1981. Western blotting: Electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated proteins. *J Anal Biochem*, **112**, 195-203

C

Cameron DF i Griffin FC. 1998. Ultrastructure of Sertoli-germ cell interactions in the normal and pathologic testis. Martínez-García F i Regadera J. Male reproduction, a multidisciplinary overview. *Churchill Communications Europe España*, **capítol 18**, 229-242

Cameron DF, Snyder F i Smith LC. 1981. Induced varicocele in the rabbit. *Anat Rec*, **199**, 42 A

Carballada R i Saling PM. 1997. Regulation of mouse epididymal epithelium *in vitro* by androgens, temperature and fibroblasts. *J Reprod Fertil*, **110**, 171-181

Chandrashekar V, Bartke A, Coschigano KT i Kopchick JJ. 1999. Pituitary and testicular function in growth hormone receptor gene knockout mice. *Endocrinology*, **140:3**, 1082-1088

Chatelain PG, Sanchez P i Saez JM. 1991. Growth hormone and insulin-like growth factor I treatment increase testicular luteinizing hormone receptors and steroidogenic responsiveness of growth hormone-deficient dwarf mice. *Endocrinology*, **128:4**, 1857-1862

Chernicky CL, Redline RW, Tan HQ, Gwatkin RBL, Johnson TR, Ilan J i Ilan J. 1994. Expression of insulin-like growth factors I and II in conceptuses from normal and diabetic mice. *Mol Reprod Develop*, **37**, 382-390

Choi I, Ko C, Park-Sarge OK, Nie R, Hess RA, Graves C i Katzenellenbogen BS. 2001. Human estrogen receptor beta-specific monoclonal antibodies: Characterization and use in studies of estrogen receptor beta protein expression in reproductive tissues. *Mol Cell Endocrinol*, **181:1-2**, 139-150

Clermont Y. 1972. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*, **52:1**, 198-236

Cros G, Mongold JJ, Serrano JJ, Ramanadham S i McNeill JH. 1992. Effects of vanadyl derivates on animal models of diabetes. *Mol Cell Biochem*, **109**, 163-166

D

Davoren JB i Hsueh AJW. 1984. Insulin enhances FSH-stimulated steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Moll cell endocrinol*, **35**, 97-105

De Hertogh R, Vanderheyden I, Pampfer S, Robin D i Delcourt J. 1992. Maternal insulin treatment improves pre-implantation embryo development in diabetic rats. *Diabetologia*, **35**, 406-408

deMoura MD, Choi D, Adashi EY i Payne DW. 1997. Insulin-like growth factor-I-mediated amplification of follicle-stimulating hormone-supported progesterone accumulation by cultured rat granulosa cells: Enhancement of steroidogenic enzyme activity and expression. *Biol Reprod*, **56:4**, 946-953

Diamond MP, Moley KH, Pellicer A, Vaughn WK i DeCherney AH. 1989. Effects of streptozotocin- and alloxan-induced diabetes mellitus on mouse follicular and early embryo development. *J Reprod Fertil*, **86:1**, 1-10

Di Fiore M. 1986. Diagnóstico histológico, 9ª edición. *El Ateneo*, **Tomo 1, capítulo 1**, pp. 23-24

Domingo JL. 1996. Vanadium: a review of the reproductive and developmental toxicity. *Reprod Toxicol*, **10:3**, 175-182

Domingo JL, Gomez M, Sanchez DJ, Llobet JM i Keen CL. 1995. Toxicology of vanadium compounds in diabetic rats: The action of chelating agents on vanadium accumulation. *Mol Cell Biochem*, **153**, 233-240

Driancourt MA, Reynaud K, Cortvrindt R i Smitz J. 2000. Roles of KIT and KIT LIGAND in ovarian function. *Reviews of Reproduction*, **5**, 143-152

Duleba AJ, Spaczynski RZ, Olive DL i Behrman HR. 1997. Effects of insulin and insulin-like growth factors on proliferation of rat ovarian theca-interstitial cells. *Biol Reprod*, **56**, 891-897

E

Eckert R, Randall D i Augustine G. 1992. Mensajeros químicos y reguladores. Fisiología animal, mecanismos y adaptaciones, 3ª edición. *Interamericana · McGraw-Hill*, **Capítulo 9**, 314-316

Edwards JL, Hughey TC, Moore AB i Cox NM. 1996. Depletion of insulin in streptozocin-induced-diabetic pigs alters estradiol, insulin-like growth factor (IGF-)-I, and IGF binding proteins in cultured ovarian follicles. *Biol Reprod*, **55**, 775-781

Ekoe JM. 1988. Epidemiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Diabetes Res Clin Pract*, **Suppl 1**:66-70

F

Feng HL, Jay PD, Sandlow JI, Sparks AET, Sandra A i Zheng LJ. 1999. Decreased expression of the *c-kit* receptor is associated with increased apoptosis in subfertile human testes. *Fertil Steril*, **71:1**, 85-89

Fernández-Tresguerres JA, Martín AI i López-Calderon A. 1998. Stress and the hypothalamic-pituitary testicular axis. Martínez-García F i Regadera J. Male Reproduction, a multidisciplinary overview. *Churchill Communications Europe España*, **8**, 81-96

Fillat C, Rodríguez-Gil JE i Guinovart JJ. 1992. Molybdate and tungstate act like vanadate on glucose metabolism in isolated hepatocytes. *Biochem J*, **282**, 659-663

Fitzpatrick SL, Funkhouser JM, Sindoni DM, Stevis PE, Deecher DC, Bapat AR, Merchenthaler I i Frail DE. 1999. Expression of estrogen receptor-beta protein in rodent ovary. *Endocrinology*, **140:6**, 2581-2591

Flores JM, Sánchez MA, González M i Pizarro M. 1998. Caprine testicular hypoplasia associated with sexual reversion decreases the expression of insulin-like growth factor II (IGF-II) mRNA in testes. *An Reprod Sci*, **52**, 279-288

Foulis AK i Stewart JA. 1984. The pancreas in recent-onset Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus: insulin content islets, insulinitis and associated changes in exocrine acinar tissue. *Diabetologia*, **26:6**, 456-461

Forti G, Barni T, Vannelli BG, Balboni GC, Orlando C i Serio M. 1989. Sertoli cell proteins in the human seminiferous tubule. *J Steroid Biochem*, **32:1B**, 135-144

Funabashi T, Kawaguchi M i Kimura F. 2001. The endocrine disrupters butyl benzyl phthalate and bisphenol A increase the expression of progesterone receptor messenger ribonucleic acid in the preoptic area of adult ovariectomized rats. *Neuroendocrinology*, **74:2**, 77-81

G

Ganong WF. 1998. Fisiología médica. 16ª edición. *El Manual Moderno, S.A. Capítulo 23*, p. 484

Gepts W. 1965. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*, **14:10**, 619-633

Goyal HO, Bartol FF, Wiley AA i Neff CW. 1997. Immunolocalization of receptors for androgen and estrogen in male caprine reproductive tissues: Unique distribution of estrogen receptors in efferent ductule epithelium. *Biol Reprod*, **56**, 90-101

Gronborg M, Wulff BS, Rasmussen JS, Kjeldsen T i Gammeltoft S. 1993. Structure-function relationship of the insulin-like growth factor I receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem*, **268:31**, 23435-23440

Grünewald-Janho S, Keesey J, Leous M, van Miltenburg R i Schroeder C. 1996. Nonradioactive In Situ Hybridization, Application Manual. Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica. **Capítol 5**, 126-140

Guyton AC i Hall JE. 1997. Tratado de fisiología médica. 9º edición. *Interamericana · McGraw-Hill*, **Capítols 75, 80 i 81**, 1019-1031, 1099-1130

H

Haber RS, Weinstein SP, O'Boyle E i Morgello S. 1993. Tissue distribution of the human GLUT3 glucose transporter. *Endocrinology*, **132:6**, 2538-2543

Hall PF. 1988. Testicular steroid synthesis: Organization and regulation. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 22**, 975-998

Hanks SK, Quinn AM i Hunter T. 1988. The protein kinase family: Conserved features and deduced phylogeny of the catalytic domains. *Science*, **241**, 42-52

Hansson HA, Nilsson A, Isgaard J, Billig H, Isaksson O, Skottner A, Andersson IK i Rozell B. 1988. Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor I in the adult rat. *Histochemistry*, **89**, 403-410

Hassan AA, Hassouna MM, Taketo T, Gagnon C i Elhilali MM. 1993. The effect of diabetes on sexual behavior and reproductive tract function in male rats. *J Urol*, **149**, 148-154

Heap RB i Flint AP. 1984. Pregnancy. Reproduction in mammals. Hormonal control of reproduction. Austin CR i Short RV. *Cambridge University Press*, **volum 3, capítol 7**, 153-194

Henricks DM, Kouba AJ, Lackey BR, Boone WR i Gray SL. 1998. Identification of insulin-like growth factor-I in bovine seminal plasma and its receptor on spermatozoa: Influence on sperm motility. *Biol Reprod*, **59**, 330-337

Heyliger CE, Tahiliani AG, McNeill JH. 1985. Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats. *Science*, **227:4693**, 1474-1477

Hondo E, Kurohmaru M, Sakai S, Ogawa K i Hayashi Y. 1995. Prolactin receptor expression in rat spermatogenic cells. *Biol Reprod*, **52:6**, 1284-1290

Howard HJ i Ford JJ. 1992. Relationships among concentrations of steroids, inhibin, insulin-like growth factor-1 (IGF-1), and IGF-binding proteins during follicular development in weaned sows. *Biol Reprod*, **47**, 193-201

Howell-Skalla L, Bunick D, Bleck G, Nelson RA i Bahr JM. 2000. Cloning and sequence analysis of the extracellular region of the polar bear (*Ursus maritimus*) luteinizing hormone receptor (LHR), follicle stimulating hormone receptor (FSHR), and prolactin receptor (PRLr) genes and their expression in the testis of the black bear (*Ursus americanus*). *Mol Reprod Dev*, **55:2**, 136-145

Huang H, Rajikumar i Murphy LJ. 1997. Reduced fecundity in insulin-like growth factor-binding protein-1 transgenic mice. *Biol Reprod*, **56**, 284-289

Hull KL i Harvey S. 2000. Growth hormone: A reproductive endocrine-paracrine regulator?. *Reviews of Reproduction*, **5**, 175-182

Hunter T. 1987. A thousand and one protein kinases. *Cell*, **50**, 823-829

Hutson JC, Stocco DM, Campbell GT i Wagoner J. 1983. Sertoli cell function in diabetic, insulin-treated diabetic, and semi-starved rats. *Diabetes*, **32**, 112-116

I

Inaba Y, Fujisawa M, Okada H, Arakawa S i Kamidono S. 1998. The apoptotic changes of testicular germ cells in the obstructive azoospermia models of prepubertal and adult rats. *J Urol*, **160:2**, 540-544

Iwai T, Fujii S, Nanbu Y, Nonogaki H, Konishi I, Mori T i Okamura H. 1991. Effect of human chorionic gonadotropin on the expression of progesterone receptors and estrogen receptors in rabbit ovarian granulosa cells and the uterus. *Endocrinology*, **129:4**, 1840-1848

J

Johnson MP, Young CY, Rowley DR i Tindall DJ. 1987. A common molecular weight of the androgen receptor monomer in different target tissues. *Biochemistry*, **26:11**, 3174-3182

K

Kahn CR. 1994. Banting lecture. Insulin action, diabetogenes and the cause of type II diabetes. *Diabetes*, **43**, 1066-1084

Kainulainen H, Jarvinen T i Heinonen PK. 1997. Placental glucose transporters in fetal intrauterine growth retardation and macrosomia. *Gynecol Obstet Invest*, **44:2**, 89-92

Katayama S, Brownschidle CM, Wootten V, Lee JB, Shimaoka K. 1984. Absent or delayed preovulatory luteinizing hormone surge in experimental diabetes mellitus. *Diabetes*, **33:4**, 324-327

Khan S., Teerds K. i Dorrington J. 1992. Growth factor requirements for DNA syntesis by Leydig cells from the immature rat. *Biol Reprod*, **46**, 335-341

Kohn DF i Barthold SW. 1984. Biology and diseases of rats. Fox JG, Cohen BJ i Loew FM. Laboratory animal medicine. *Academic Press*, **capítol 4**, 91-123

Kol S, Ben-Shlomo I, Ruutiainen K, Ando M, Davies-Hill TM, Rohan RM, Simpson A i Adashi EY. 1997. The midcycle increase in ovarian glucose uptake is associated with enhanced expression of glucose transporter 3. *J Clin Invest*, **99:9**, 2274-2283

Konrad L, Weber MA, Groos S, Albresht M i Aumuller G. 1998. Paracrine interaction in testicular somatic cells. *Ital J Anat Embryol*, **103 (4 suppl 1)**, 139-152

Kretser DM i Kerr JB. 1988. The cytology of the testis. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 20**, 837-932

L

Lackey BR, Gray SL i Henricks DM. 1999. The insulin-like growth factor (IGF) system and gonadotropin regulation: actions and interactions. *Cytokine Growth Factor Rev*, **10:3-4**, 201-217

Laemmli U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**, 680-685

Lea OA, Wilson EM i French FS. 1979. Characterization of different forms of the androgen receptor. *Endocrinology*, **105:6**, 1350-1360

Lee J i Pilch PF. 1994. The insulin receptor: Structure, function and signaling. *Am J Physiol*, **266:35**, 319-334

Le Lamer S, Poucheret P, Cross G, Kiesgen de Richter R, Bonnet PA i Bressolle F. 2000. Pharmacokinetics of Sodium Tungstate in rat and dog: A population approach. *J Pharmacol Exp Ther*, **294**, 714-721

LeRoith D, Kavsan VM, Koval AP i Roberts CT. 1993. Phylogeny of the Insulin-like growth factors (IGFs) and receptors: A molecular approach. *Mol Reprod Develop*, **35**, 332-338

Liggins GC. 1982. The fetus and birth. Reproduction in mammals. Embryonic and fetal development. Austin CR i Short RV. *Cambridge University Press*, **volum 2, capítol 4**, 114-141

Lin T, Haskell J, Vinson N i Terracio L. 1986. Characterization of insulin-like growth factor I receptors of purified Leydig cells and their role in steroidogenesis in primary culture: A comparative study. *Endocrinology*, **119:4**, 1641-1647

M

Mauduit C, Hamamah S i Benahmed M. 1999. Stem cell factor/c-kit system in spermatogenesis. *Hum Reprod*, **5:5**, 535-545

Mattson DL, Bellehumeur TG. 1996. Comparison of three chemiluminescent horseradish peroxidase substrates for immunoblotting. *Anal Biochem*, **240:2**, 306-308

McLachlan RI, Wreford NG, O'Donnell L, de Kretser DM i Robertson DM. 1996. The endocrine regulation of spermatogenesis: Independent roles for testosterone and FSH. *J Endocrinol*, **148**, 1-9

McLean MP, Warden KJ, Sandhoff TW, Irby RB i Hales DB. 1996. Altered ovarian sterol carrier protein expression in the pregnant streptozotocin-treated diabetic rat. *Biol Reprod*, **55:1**, 38-46

Misrahi M, Beau I, Ghinea N, Vannier B, Loosfelt H, Meduri G, Vu Hai MT i Milgrom E. 1996. The LH/CG and FSH receptors: different molecular forms and intracellular traffic. *Mol Cell Endocrinol*, **125:1-2**, 161-167

Mita M, Borland K, Price JM i Hall PF. 1985. The influence of insulin and insulin-like growth factor-I on hexose transport by Sertoli cells. *Endocrinology*, **116:3**, 987-992

Moilanen AM, Karvonen U, Poukka H, Yan W, Toppari J, Jänne OA i Palvimo JJ. 1999. A testis-specific androgen receptor coregulator that belongs to a novel family of nuclear proteins. *J Biol Chem*, **274:6**, 3700-3704

Moley KH, Chi MM i Mueckler MM. 1998. Maternal hyperglycemia alters glucose transport and utilization in mouse preimplantation embryos. *Am J Physiol*, **275:1 Pt 1**, E38-E47

Moller C, Hansson A, Enberg B, Lobie PE i Norstedt G. 1992. Growth hormone (GH) induction of tyrosine phosphorylation and activation of mitogen-activated protein kinases in cells transfected with rat GH receptor cDNA. *J Biol Chem*, **267:32**, 23403-23408

Mori H, Kadota A, Fukunishi R, Kukita H, Takeuchi N i Matsumoto K. 1980. Effects of a cholesterol-rich-diet and a hypolipidemic drug (Clofibrate, CP1B) on Leydig cells in rats: stereological and biochemical analysis. *Andrologia*, **12**, 271-291

Muñoz MC. 2001. Efectes antidiabètics de l'administració oral del tungstat de sodi. *Tesi doctoral*. Universitat de Barcelona.

Muñoz MC, Barberà A, Domínguez J, Fernández-Alvarez J, Gomis R i Guinovart JJ. 2001. Effects of tungstate, a new potential oral antidiabetic agent, in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes*, **50**, 131-138

Murray FT, Cameron DF i Orth JM. 1983. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rat. *Metabolism*, **32(7 Suppl 1)**, 141-147

N

Nagano M i Kelly PA. 1994. Tissue distribution and regulation of rat prolactin receptor gene expression. Quantitative analysis by polymerase chain reaction. *J Biol Chem*, **269:18**, 13337-13345

Nagpal ML, Wang D, Calkins JH, Chang WW i Lin T. 1991. Human chorionic gonadotropin up-regulates insulin-like growth factor-I receptor gene expression of Leydig cells. *Endocrinology*, **129:6**, 2820-2826

Naville D, Chatelain P, Avallet O i Saez J. 1990. Control of production of insulin-like growth factor-I by pig Leydig cells cultured alone or together: Cell-cell interactions. *Mol Cell Endocrinol*, **70**, 217-224

Nemenoff RA, Kwok YC, Shulman GI, Blackshear PJ, Osathanondh R i Avruch J. 1984. Insulin-stimulated tyrosine protein kinase. Characterization and relation to the insulin receptor. *J Biol Chem*, **259:8**, 5058-5065

Niswender GD i Nett TM. 1988. The Corpus Luteum and its control. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 13**, 489-525

Norman AW i Litwack G. 1997. Hormones, 2^a edició. *Academic Press*. **Capítols 5, 12, 13**; 133-168, 341-359, 361-385

O

Oksanen A. 1975. Testicular lesions of streptozotocin diabetic rats. *Hormone Res.*, **6**, 138-144

Olchovsky D, Bruno JF, Gelato MC, Song J i Berelowitz M. 1991. Pituitary insulin-like growth factor-I content and gene expression in the streptozotocin-diabetic rat: Evidence for tissue-specific regulation. *Endocrinology*, **128:2**, 923-928

Ouhtit A, Morel G i Kelly PA. 1993. Visualization of gene expression of short and long forms of prolactin receptor in rat reproductive tissues. *Biol Reprod*, **49:3**, 528-536

Orth JM, Murray FT i Bardin CW. 1979. Ultrastructural changes in Leydig cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Anat Rec*, **195:3**, 415-430

Özcelikay AT, Becker DJ, Ongemba LN, Pottier AM, Henquin JC i Brichard SM. 1996. Improvement of glucose and lipid metabolism in diabetic rats treated with molybdate. *Am J Physiol*, **270**, E344-E352

P

Packer AI, Besmer P i Bachvarova RF. 1995. Kit ligand mediates survival of type A spermatogonia and dividing spermatocytes in postnatal mouse testes. *Mol Reprod Dev*, **42:3**, 303-310

Packer AI, Hsu YC, Besmer P i Bachvarova RF. 1994. The ligand of the *c-kit* receptor promotes oocyte growth. *Develop Biol*, **161**, 194-205

Paz G i Homonnai ZT. 1979. Leydig cell function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Experientia*, **35:10**, 1412-1413

Perks CM, Peters AR i Wathes DC. 1999. Follicular and luteal expression of insulin-like growth factors I and II and the type 1 IGF receptor in the bovine ovary. *J Reprod Fertil*, **116:1**, 157-165

Poretsky L i Kalin MF. 1987. The gonadotropic function of insulin. *Endocr Rev*, **8**, 132-141

Poucheret P, Verma S, Grynypas MD i McNeill JH. 1998. Vanadium and diabetes. *Mol Cell Biochem*, **188**, 73-80

R

Reichert LE Jr i Dattatreymurty B. 1989. The follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in testis: interaction with FSH, mechanism of signal transduction, and properties of the purified receptor. *Biol Reprod*, **40:1**, 13-26

Robaire B i Hermo L. 1988. Efferent ducts, epididymis, and vas deferents: Structure, functions, and their regulation. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 23**, 999-1080

Robinson LL, Gaskell TL, Saunders PT i Anderson RA. 2001. Germ cell specific expression of c-kit in the human fetal gonad. *Mol Hum Reprod*, **7:9**, 845-852

Rodrigues B, Poucheret P, Battell ML i McNeill JH. 1999. Streptozotocin-induced diabetes: induction, mechanism(s) and dose dependency. McNeill JH. Experimental models of diabetes. *CRC Press*. **Capítol 1**, 3-14

Rouiller-Fabre V, Lecref L, Gautier C, Saez JM i Habert R. 1998. Expression and effect of insulin-like growth factor I on rat fetal Leydig cell function and differentiation. *Endocrinology*, **139:6**, 2926-34

Rubin RJ, Altman WM i Mendelson DN. 1994. Health care expenditures for people with diabetes mellitus, 1992. *J Clin Endocrinol Metab*, **78:4**, 809A-809F

Rusell LD. 1980. Sertoli-germ cell interrelations: A review. *Gamete Res*, **3**, 179-202

Rusell LD, Ettlin RA, Sinha hikim AP i Clegg ED. 1990. Histological and histopathological evaluation of the testis. *Cache River Press*, **capítol 1 i 2**, 1-57

Russell LD, Kershaw M, Borg KE, Shennawy AE, Rulli SS, Gates RJ i Calandra RS. 1998. Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: FSH maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. *J Androl*, **19:3**, 308-319

S

Sandlow JI, Feng HL i Sandra A. 1997. Localization and expression of the c-kit receptor protein in human and rodent testis and sperm. *Urology*, **49:3**, 494-499

Sanguinetti RE, Ogawa K, Kurohmaru M i Hayashi. 1995. Ultrastructural changes in mouse Leydig cells after streptozotocin administration. *Exp Anim*, **44:1**, 71-73

Sar M, Lubahn DB, French FS i Wilson EM. 1990. Immunohistochemical localization of the androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology*, **127:6**, 3180-3186

- Sar M i Welsch F. 1999. Differential expression of estrogen receptor-beta and estrogen receptor-alpha in the rat ovary. *Endocrinology*, **140:2**, 963-971
- Scott RE, Wu-Peng XS i Pfaff DW. 2002. Regulation and expression of progesterone receptor mRNA isoforms A and B in the male and female rat hypothalamus and pituitary following oestrogen treatment. *J Neuroendocrinol*, **14:3**, 175-183
- Seedorf K. 1995. Intracellular signaling by growth factors. *Metabolism*, **44:10**, suppl 4, 24-32
- Shan L, Hardy DO, Catterall JF i Hardy MP. 1995. Effects of luteinizing hormone (LH) and androgen receptor on steady state levels of messenger ribonucleic acid for LH receptors, androgen receptors, and steroidogenic enzymes in rat Leydig cell progenitors *in vivo*. *Endocrinology*, **136:4**, 1686-1693
- Sharma SC, Clemens JW, Pisarska MD i Richards JS. 1999. Expression and function of estrogen receptor subtypes in granulosa cells: Regulation by estradiol and forskolin. *Endocrinology*, **140:9**, 4320-4334
- Sherwood OD. 1988. Relaxin. Knobil E i Neill J. The Physiology of Reproduction. *Raven Press, Ltd*, **capítol 16**, 585-673
- Short RV. 1984. Oestrous and menstrual cycles. Reproduction in mammals. Hormonal control of reproduction. Austin CR i Short RV. *Cambridge University Press*, **volum 3**, **capítol 6**, 115-152
- Skinner MK. 1991. Cell-cell interactions in the testis. *Endocrine Rev*, **12:1**, 45-77
- Smith CL. 1998. Cross-talk between peptide growth factor and estrogen receptor signaling pathways. *Biol Reprod*, **58**, 627-632
- Söder O, Bang P, Wahab A i Parvinen M. 1992. Insulin-like growth factors selectively stimulate spermatogonial, but not meiotic, deoxyribonucleic acid syntesis during rat spermatogenesis. *Endocrinology*, **131:5**, 2344-2350
- Sprengel R, Braun T, Nikolics K, Segaloff DL i Seeburg PH. 1990. The testicular receptor for follicle stimulating hormone: structure and functional expression of cloned cDNA. *Mol Endocrinol*, **4:4**, 525-530
- Spurr A. R. 1969. A low-viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *J Ultrastruc Res*, **26:1** 31-43
- Steele-Perkins G, Turner J, Edman JC, Hari J, Pierce SB, Stover C, Rutter WJ i Roth RA. 1988. Expression and characterization of a functional human intratesticular insulin-like growth factor-I receptor. *J Biol Chem*, **263:23**, 11486-11492

Stubbs SC, Hargreave TB i Habib FK. 1990. Localization and characterization of epidermal growth factor receptors on human testicular tissue by biochemical and immunohistochemical techniques. *J Endocrinol*, **125**, 485-492

Suarez-Quian CA, Dai M, Onoda M, Kriss RM i Dym M. 1989. Epidermal growth factor localization in the rat and monkey testes. *Biol Reprod*, **41**, 921-932

Sun XJ, Miralpeix M, Myers MG Jr, Glasheen EM, Backer JM, Kahn CR i White MF. 1992. Expression and function of IRS-1 in insulin signal transmission. *J Biol Chem*, **267:31**, 22662-22672

Suzuki T, Sasano H, Kimura N, Tamura M, Fukaya T, Yajima A i Nagura H. 1994. Immunohistochemical distribution of progesterone, androgen and oestrogen receptors in the human ovary during the menstrual cycle: relationship to expression of steroidogenic enzymes. *Hum Reprod*, **9:9**, 1589-1595

T

Tai PK, Maeda Y, Nakao K, Wakim NG, Duhring JL i Faber LE. 1986. A 59-kilodalton protein associated with progestin, estrogen, androgen, and glucocorticoid receptors. *Biochemistry*, **25:18**, 5269-5275

Talavera F, Chen Z i Menon KM. 1996. IRS-I expression on the luteinized rat ovary: IGF-I and cyclic AMP effects on IRS-I tyrosine phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*, **1310:1**, 10-18

Talavera F i Menon KM. 1991. Studies on rat luteal cell response to insulin-like growth factor I (IGF-I): identification of a specific cell membrane receptor for IGF-I in the luteinized rat ovary. *Endocrinology*, **129:3**, 1340-1346

Tbakhi A, Totos G, Hauser-Kronberger C, Pettay J, Baunoch D, Hacker GW i Tubbs RR. 1998. Fixation conditions for DNA and RNA in situ hybridization: a reassessment of molecular morphology dogma. *Am J Pathol*, **152:1**, 35-41

Telleria CM, Parmer TG, Zhong L, Clarke DL, Albarracin CT, Duan WR, Linzer DI i Gibori G. 1997. The different forms of the prolactin receptor in the rat corpus luteum: developmental expression and hormonal regulation in pregnancy. *Endocrinology*, **138:11**, 4812-4820

Tesone M, Oliveira-Filho RM, Biella de Souza Valle L, Calvo JC, Baraño JLS, Foglia VG i Charreau EH. 1980. Androgen receptor in the diabetic rat. *Diabetologia*, **18**, 385-390

Tremblay RR, Trottier L, Abele V, Nadeau A i Gagnon P. 1985. Effect of streptozotocin-induced diabetes on insulin binding parameters in adult rat testis. *Andrologia*, **17:6**, 587-591

Tsuura Y, Hiraki H, Watanabe K, Igarashi S, Shimamura K, Fukuda T, Suzuki T i Seito T. 1994. Preferential localization of *c-kit* product in tissue mast cells, basal cells of skin, epithelial cells of breast, small cell lung carcinoma and seminoma/dysgerminoma in human: Immunohistochemical study on formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Virchows Archiv*, **424**, 135-141

U

Ullrich A, Gray A, Tam AW, Yang-Feng T, Tsubokawa M, Collins C, Henzel W, Le Bon T, Kathuria S, Chen E, Jacobs S, Francke U, Ramachandran J i Fujita-Yamaguchi Y. 1986. IGF I receptor primary structure: Comparison with insulin receptor suggests structural determinants that define functional specificity. *EMBO J*, **5:10**, 2503-2512

Ullrich A i Schlessinger J. 1990. Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*, **61:2**, 203-212

V

Valdes CT, Elkind-Hirsch KE i Rogers DG. 1990. Diabetes-induced alterations of reproductive and adrenal function in the female rat. *Neuroendocrinology*, **51:4**, 406-412

Vannelli BG, Barni T, Orlando C, Natali A, Serio M i Balboni GC.. 1988. Insulin-like growth factor I and IGF-I receptor in human testis: An immunocytochemical study. *Fertil Steril*, **49:4**, 666-669

Verlinden M. 1982. Acid decomposition of human blood and plasma for determination of selenium. *Talanta*, **29**, 875.

Vermeirsch H, Simoens P, Coryn M i Van den Broeck. 2001. Immunolocalization of progesterone receptors in the canine ovary and their relation to sex steroid hormone concentrations. *Reproduction*, **122**, 73-83

Viveiros MM i Litrap RM. 1999. Glucocorticoid influence on porcine granulosa cell IGF-I and steroid hormone production in vitro. *Theriogenology*, **51**, 1027-1043

Vornberger W, Prins G, Musto NA i Suarez-Quian CA. 1994. Androgen receptor distribution in rat testis: New implications for androgen regulation of spermatogenesis. *Endocrinology*, **134:5**, 2307-2316

W

Wide M, Danielsson BRG i Dencker L. 1986. Distribution of tungstate in pregnant mice and effects on embrionic cells in vitro. *Environ Res*, **40:2**, 487-498

Wright WW i Frankel AI. 1979. Characterization of the androgen receptor in nuclei of seminiferous tubules of the mature male rat based upon radioimmunoassay of endogenous levels of bound testosterone. *Endocrinology*, **104:6**, 1580-1587

Y

Yan W, Linderborg J, Suominen J i Toppari J. 1999. Stage-specific regulation of stem cell factor gene expression in the rat seminiferous epithelium. *Endocrinology*, **140:3**, 1499-1504

Yoon JW, Austin M, Onodera T i Notkins AL. 1979. Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med*, **300:21**, 1173-1179

Yoon JW. 1997. Environmental factors in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. Pickup J i Williams G. *Texbook of diabetes*, 2^a edició. *Blackell Scientific Publications*. **Capítol 14**, 14.1-14.14

Yoshinaga K, Nishikawa S, Ogawa M, Hayashi SI, Kunisada T, Fujimoto T i Nishikawa SI. 1991. Role of *c-kit* in mouse spermatogenesis: Identification of spermatogonia as a specific site of *c-kit* expression and function. *Development*, **113**, 689-699

Z

Zhang FP, Markkula M, Toppari J i Huhtaniemi I. 1995. Novel expression of luteinizing hormone subunit genes in the rat testis. *Endocrinology*, **136:7**, 2904-2912

Zhou J i Bondy C. 1993. Anatomy of the human ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod*, **48**, 467-482

Adreces Web

American Type Culture Collection (ATCC)©

<http://www.atcc.org>

Amersham Pharmacia Biotech, Inc.

<http://www.apbiotech.com>

Applied Biosystems, Inc.

<http://home.appliedbiosystems.com>

Bio-Rad Laboratories, S.A.

<http://www.bio-rad.com>

CARLO ERBA REAGENTI, Inc.

<http://www.csrsrc.mi.cnr.it/dip/schede/carloerba/ITCH0387.HTM>

Chemicon International, Inc.

<http://www.chemicon.com>

Crystal Chem, Inc.

<http://www.crystalchem.com>

Diagnostic Systems Laboratories, Inc.

<http://www.dslabs.com>

DRG International, Inc.

<http://www.drgintl.com>

GENSET, Inc.

<http://www.gensetoligos.com>

HITACHI, Inc.

<http://www.hitachi.com>

ICN Pharmaceuticals, Inc.

<http://www.icnpharm.com>

Life Technologies S.A.

<http://www.gibcobrl.com>

MICROSOFT, Inc.

<http://www.microsoft.com>

NIKON, Inc.

<http://www.nikon.com>

OLYMPUS, Inc.

<http://www.olympus-europa.com/home.htm>

Perkin Elmer™ Instruments

<http://instruments.perkinelmer.com/index.asp>

PIERCE, Inc.

<http://www.piercenet.com>

PROMEGA, Inc.

<http://www.promega.com>

Roche Molecular Biochemicals, Inc.

<http://www.biochem.roche.com>

Santa Cruz Biotechnology, Inc.

<http://www.scbt.com>

SERVEI de MICROARRAYS i SEQÜENCIACIÓ de DNA de la UAB

http://quiro.uab.es/v_bioq_bio_mol

SERVEI DE MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA de la UAB

<http://sme.uab.es>

Serveis Científico-Tècnics de la UB

<http://www.sct.ub.es/index.htm>

SIGMA-ALDRICH, Inc.

<http://www.sigma-aldrich.com>

Soft Imaging System GmbH, Inc

<http://www.soft-imaging.de>

SONY, Inc.

<http://www.sony.com>

STRATAGENE, Inc.

<http://www.stratagene.com>

Transduction Laboratories, Inc.

<http://www.translab.com>

Bases de dades:

- **Altavista**
<http://www.altavista.digital.com>
- **BioMedNet**
<http://www.bmn.com>
- **Genbank: Nucleotide sequence database**
<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide>

- **PubMed: The biomedical literature**
<http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed>
- **Servei de Biblioteques de la Universitat Autònoma de Barcelona**
<http://www.bib.uab.es>
- **Yahoo**
<http://www.yahoo.com>