

Localización del daño ocasionado por la Diabetes Mellitus en el eje Hipotálamo-Hipofisiario-Gonadal en ratas con diabetes inducida

MARÍA LORENA RODRÍGUEZ, GIOVANNY VIVAS*

*Laboratorio de Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela.
e-mail: giovanny@ula.ve*

RESUMEN

Debido a la controversia que existe con relación a la zona específica del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada donde la diabetes produce la alteración, el presente estudio se realizó con el propósito de localizar el daño ocasionado por esta patología en el mencionado eje, en ratas con diabetes inducida, mediante la determinación de las concentraciones séricas de testosterona, posterior a la administración de Hormona Liberadora de Gonadotropinas, (LHRH), Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH). Para ello, se estudiaron 10 ratas a las cuales se les indujo la diabetes con estreptozotocina (ETZ), como grupo control se estudiaron 5 ratas sin diabetes inducida. El grupo de ratas diabéticas se dividió en dos grupos grupos: A y B, después de las determinaciones basales de testosterona (Electroluminiscencia), glucosa (método enzimático) y el peso corporal de los animales. Al primero se le administró LHRH y al segundo FSH-LH. En las ratas con diabetes inducida se encontraron disminuidos el peso corporal y el volumen testicular, así como los niveles de testosterona, este último patrámetro aumentó de manera significativa después de administrar el tratamiento hormonal. Estos resultados sugieren que la lesión ocasionada por la Diabetes Mellitus es a nivel hipotálamico.

ABSTRACT

There is a controversy relate to a specific zone of the hypothalamous-pituitary-gonad axis in which the diabetes produces an alteration. This work was done with induced diabetes, through the determination of the testosterone serum levels after the administration of the gonadotropin releasing hormone (LHRH), follicle-stimulating hormone (FSH) and luteinizing

hormone (LH). We study 10 rats in which the diabetes was induce using Streptozotocin (STZ). We also study 5 rats without induce diabetes as controls. The diabetic were divided into two groups: A and B after the basal determinations of testoterone (electroluminicens), glucose (enzimatic method) and corporal weight. Gonadotropin releasing hormone (LHRH) was given to group A rats while the group B received FSH-LH. We found a decrease in the corporal weight and the testicular volumen as well as testosterone levels in the induce diabetics rats the latest was increased in a significant way after the hormonal treatment. These resultas suggest that the lession due to Diabetes Mellitus is in the hypothalamic level.

PALABRAS CLAVE

GnRH, LH, FSH, Testosterona, Diabetes Mellitus.

AGRADECIMIENTO

Al Licenciado Jesús Peña, por el análisis estadístico del presente trabajo.

A la Dra. Morella Guillén, por la realización del Abstract.

INTRODUCCIÓN

Los cambios funcionales de las células de Leydig en relación con el envejecimiento normal o acelerado por procesos patológicos, como la Diabetes Mellitus, han sido estudiados ampliamente, pero los resultados de estas investigaciones son contradictorios [Tabatabaie y Col., 2003; Stitt y Col., 2002; Cederberg y Col., 2001; Keegan y Col., 1999; Meites y Col., 1980].

Los estudios de prevalencia refieren que no menos del 50% de todos los hombres diabéticos son impotentes o tienen otra dificultad sexual [Tabatabaie

y Col., 2003; Stitt y Col., 2002; Cederberg y Col., 2001; Keegan y Col., 1999; Viana y Col., 1996; Karacan y Col., 1978]. La disfunción sexual es una consecuencia bien reconocida en la Diabetes Mellitus. La impotencia, infertilidad y eyaculación retrograda han sido descritas en hombres diabéticos tratados, pero aún su etiología no está bien determinada [Seethalakshymi y Col., 1987].

La disfunción sexual está presente en pacientes con una larga o corta duración de la Diabetes [Dinulovic y Radonjic, 1990]. Dos mecanismos se han sugerido para explicar la impotencia en diabéticos: Un hipogonadismo hipogonadotrópico y una lesión neurológica de los nervios o los centros nerviosos de erección, lo que se traduce en infertilidad e impotencia [Faerman y Col., 1974; Licea y Col., 1988; Bhasin y Col., 1997; Rosmond y Col., 2003].

Con relación a la alteración a nivel hipotalámico, los mecanismos específicos que explican la acumulación de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) no se conocen aún; podría ser debida a una alteración en las funciones intrínsecas neuronales o en la liberación de GnRH. Se cree, que la insulina podría influir en los circuitos hipotalámicos regulando el balance energético y la función hipofisiaria [Rossi y Bestetti, 1981].

Por otra parte, numerosas investigaciones han demostrado que el eje neuroendocrino - testicular está alterado en la Diabetes Mellitus en el hombre, así como también en modelos de ratas diabéticas. Estas sugieren que la lesión neuroendocrina en la Diabetes Mellitus es a nivel del hipotálamo. Sin embargo, la deficiencia de Hormona Luteinizante (LH) y Hormona Folículo estimulante (FSH) en ratas con Diabetes Mellitus inducida puede ser debida a una lesión hipotalámica o hipofisiaria [Betancourt-Albrecht y Col., 2003; Rosmond y Col., 2003; Bhasin y Col., 1997; Licea y Col., 1988; Seethalakshymi y Col., 1987;].

Además, la fertilidad masculina es críticamente dependiente de la concentración intratesticular normal de testosterona, ya que es el soporte cualitativo y cuantitativo de la espermatogénesis. Existen varias vías por las cuales la diabetes puede afectar al eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal [Kuhn y Col., 1984; Bridges y Col., 1993; Jonathan, J., 2003]. Una de ellas es el efecto directo de la diabetes sobre las células de Leydig con el intersticio testicular, donde puede producir una falla testicular primaria, la cual es detectada por la disminución de niveles de testosterona en suero y altos niveles de gonadotropinas [Sexton y Jarow, 1997].

Al respecto, Fairburn y col. (1982) sugieren que la falla eréctil y la atrofia testicular son comunes en hombres diabéticos no tratados. Además, observaron la reducción en la producción de andrógenos, el

número de células de Leydig y los receptores de LH, que fue proporcional a la duración y severidad de la hiperglicemia y reversible con la administración de insulina.

En este sentido, los hallazgos de Murray y col (1987) revelaron que los niveles de LH fueron inicialmente bajos en ratas BB - Wistar con diabetes espontánea, posteriormente, presentaron niveles altos de LH sérica con respecto a los controles. Esta observación coexiste con el aumento progresivo de la concentración de lípidos dentro de las células intersticiales de Leydig de ratas diabéticas que sugiere deterioro de la esteroidogénesis y falla de las células de Leydig [Sexton y Jarow, 1997].

Debido a la controversia que existe con relación a la zona específica del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada donde la diabetes produce la alteración, el presente estudio se realizó con el propósito de localizar el daño ocasionado por la Diabetes Mellitus en el eje Hipotálamo-Hipofisiario-Gonadal en ratas con diabetes inducida, mediante la determinación de las concentraciones séricas de testosterona, posterior a la administración de Hormona Liberadora de Gonadotropinas, Hormona Folículo Estimulante y Hormona Luteinizante.

MATERIALES Y METODOS:

1.- ANIMALES:

El estudio se realizó en 15 ratas Wistar machos, de 290 a 300 g, procedentes del Bioterio Central de la Universidad de los Andes. Durante el estudio, los animales fueron mantenidos en ciclos de doce horas luz y doce horas de oscuridad. Igualmente, todos los animales se sometieron a la misma dieta, la cual se basó en un alimento que les proporcionó los requerimientos necesarios de proteínas, lípidos y carbohidratos (ratarina comercial) y como bebida, agua ad libitum [Simán y Eriksson, 1997]

Las ratas se dividieron en dos grupos, un grupo control constituido por 5 ratas y un grupo experimental conformado por 10 ratas, al cual se le indujo la Diabetes con estreptozotocina (ETZ). A ambos grupos, tanto el control como el experimental se dividieron en dos subgrupos A y B para la administración de LHRH y FSH - LH, respectivamente.

2.- METODOLOGIA:

Con la finalidad de inducir la diabetes, al grupo experimental se le administró estreptozotocina (ETZ) (N- Methylnitrosocarbamoyl - D - glucosamine, Sigma], por vía subcutánea, a una dosis de 45 mg/Kg de peso, [Cederberg y Col., 2001; Stitt y Col., 2002]. Al grupo control se les administró simultáneamente, un

volumen equivalente a 1 ml/Kg de peso, de solución salina fisiológica con la finalidad de que ambos grupos estuvieran sometidos a las mismas condiciones de estrés. Los valores de glicemia superiores a 120 mg/dl, la determinación del peso y la medición del volumen de agua consumida, fueron los parámetros utilizados para determinar el estado diabético de los animales.

Transcurrida una semana de la inducción, se determinó el estado diabético del grupo experimental, mediante la determinación de los niveles séricos de glucosa. Inmediatamente después, al subgrupo A se le administró LHRH y al B FSH-LH (SERONO ANDINA S.A.), por vía subcutánea en una dosis de 0,3 mg/ml y 11,25 UI/ml, respectivamente [De Jesús, 1998; Licea y Col., 1988; Hauache y Col., 1993].

3.- DETERMINACIONES:

A la población de ratas se les realizaron las determinaciones de los niveles de glucosa y testosterona total. Las muestras se obtuvieron mediante la técnica de sangrado por punción retroorbital y en algunas ratas se empleo la técnica de sangrado por punción cardiaca [De Jesús, 1998]. Para ambos métodos de recolección, se utilizó Éter dietílico como anestésico. Las muestras obtenidas se centrifugaron durante 20 min a 3000 r.p.m. y luego se separó el suero para realizar las determinaciones basales, una semana después de la inducción de la Diabetes y 72 horas después de la administración de la LHRH, FSH y LH. Los analitos evaluados en cada caso fueron glucosa por el método de glucosa-oxidasa (Human) y testosterona total (Tt) por el método de Electroluminiscencia (CIENVAR), [Pasquali y Col., 2000].

4.- DISECCIÓN:

Con la finalidad de observar, comparar y fotografiar los cambios morfológicos de los testículos de las ratas en estudio, se realizó la disección a todos los animales pertenecientes a ambos grupos de ratas [De Jesús, 1998].

5.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se realizaron análisis comparativos entre el grupo control y el grupo experimental relacionados con los niveles de testosterona total medidos antes y después de la inducción de la Diabetes y después de la administración de la LHRH, FSH y LH.

El análisis de los resultados se realizó mediante una prueba no paramétrica para muestras independientes e ideal para un tamaño de muestras pequeñas, conocida como la prueba U de Mann-Whitney. El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el software estadístico SPSS versión 11 en español.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se presenta el análisis estadístico t-student para el parámetro glucosa sérica, observándose diferencias significativas ($P < 0,001$) entre los grupos estudiados, con niveles aumentados para el grupo experimental. El valor promedio fue de 88,10 mg/dl para el grupo control y de 216,39 mg/dl para el grupo de ratas diabéticas, lo que indica que la inducción de la diabetes en el grupo experimental fue todo un éxito al comparar los niveles de glucosa en ambos grupos. Los resultados obtenidos en la presente investigación coinciden con los obtenidos por otros autores, cuando utilizaron la ETZ para inducir la diabetes [Tabatabaie y Col., 2003; Stitt y Col., 2002; Cederberg y Col., 2001; Keegan y Col., 1999; Simán y Eriksson, 1997; Viana y Col., 1996].

Tabla 1. Valores promedios de la concentración de glucosa (mg/dl) en ratas controles y diabéticas.

Ratas	Intervalo (mg/dl)	\bar{X}	S
I Control n = 5	79 - 91	88,10	5,13
II Diabéticas n = 10	121 - 328	216,39*	69,28

\bar{X} = valor promedio; S= Desviación estándar, $P < 0,001$ (altamente significativo)*

En la tabla 2 se muestra el parámetro testosterona total, evidenciándose diferencias altamente significativas ($P < 0,001$) entre los grupos analizados con niveles disminuidos para el grupo experimental.

Tabla 2. Valores promedios de los niveles de testosterona total (ng/dl) determinados después de la inducción de la diabetes.

Ratas	Intervalo (ng/dl)	\bar{X}	S
I Control n = 5	0,686-2,34	1,17	0,70
II Diabéticas n = 10	0,020-2,18	0,59*	0,65

\bar{X} = valor promedio; S= Desviación estándar, $P < 0,001$ (altamente significativo)*

Tan y Pu (2002), Barrett-Connor y Col. (1999) encontraron niveles disminuidos de testosterona total en hombres diabéticos, al compararlos con un grupo control, ambos grupos de investigadores atribuyen esta disminución a niveles bajos de globulina

Transportadora de hormonas sexuales (GTHS).

De igual forma, Sexton y Jarow, 1997 realizaron un estudio sobre el efecto de la Diabetes Mellitus en la función del aparato reproductor masculino y encontraron que los niveles de testosterona total sérica en ratas diabéticas estaban más bajos de lo normal, lo que se correlaciona con este estudio. Los autores señalan además, que la fertilidad es críticamente dependiente de la concentración intratesticular normal de testosterona ya que es el soporte cualitativo y cuantitativo de la espermatogénesis. Señalan además que existen diversas vías por las cuales la diabetes puede afectar al eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal; una de ellas es el efecto directo sobre las células de Leydig con el intersticio testicular pudiendo producir una falla testicular primaria, la cual es detectada por la presencia de bajos niveles de testosterona en suero y altos niveles de gonadotropinas.

En la tabla 3 se evidencia que existen diferencias significativas ($P < 0,001$) en el volumen de agua (ml) consumido por los grupos de ratas después de la inducción de la diabetes. Esto se explica por la elevada concentración de glucosa en la sangre, lo que origina un aumento de la osmolaridad plasmática y se estimulan entonces los receptores hipotalámicos, produciéndose polidipsia. Por otra parte, un medio hiperosmolar produce glucosuria y cuando se excreta el exceso de glucosa por la orina, también hay pérdida excesiva de líquidos y electrolitos, como consecuencia se produce poliuria y polidipsia [Thier, 1993].

Tabla 3. Volumen de agua (ml) consumido por los grupos de ratas después de la inducción de la diabetes.

Ratas	Intervalo (ml)	\bar{X}	S
I Control n = 5	120-150	150	14,14
II Diabéticas n = 10	155-800	390*	189,21

\bar{X} = valor promedio; S= Desviación estándar, $P < 0,001$ (altamente significativo)*

En la tabla 4 se muestra el peso de las ratas, se observa que existen diferencias significativas ($P < 0,001$) en los grupos estudiados. Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores [Tabatabaie y Col., 2003; Stütt y Col., 2002; Cederberg y Col., 2001; Keegan y Col., 199].

Tabla 4. Valores promedios del peso corporal (gr) en ratas controles y diabéticas.

Ratas	Intervalo (gr)	\bar{X}	S
I Control n = 5	315-410	370	17,98
II Diabéticas n = 10	285-380	321*	23,07

\bar{X} = valor promedio; S= Desviación estándar, $P < 0,001$ (altamente significativo)*

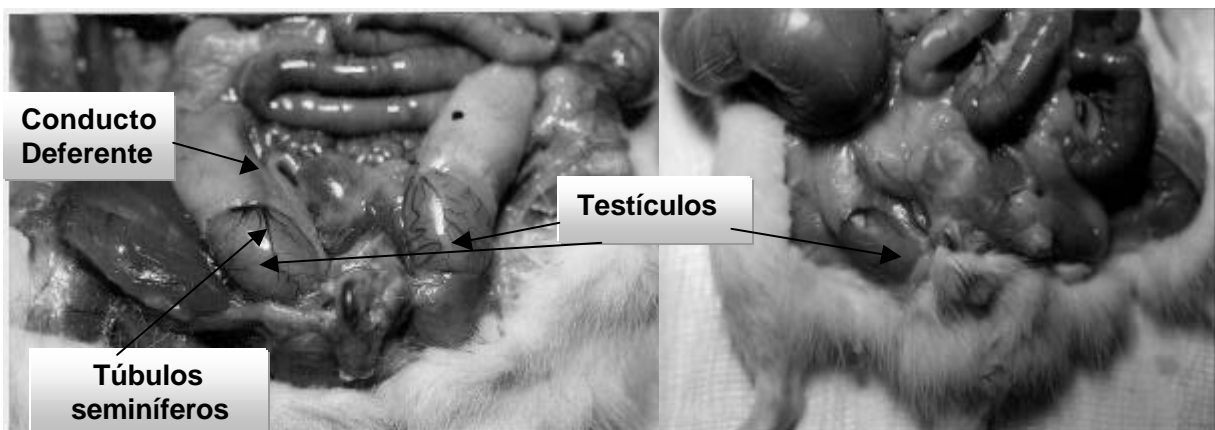


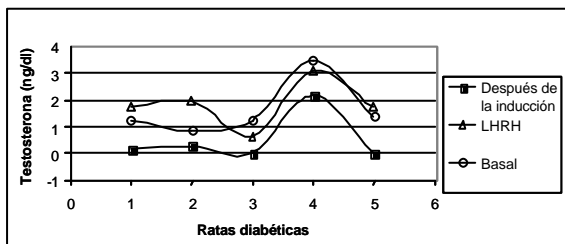
Figura 1. Se puede observar (izquierda), los órganos sexuales de la ratona control y los órganos sexuales de la ratona diabética (derecha), en donde se puede observar la notable diferencia en cuanto al volumen de los testículos principalmente.

En el presente trabajo, el volumen y aspecto de los testículos, se encontraban disminuidos en las ratas a las cuales se les indujo la diabetes con respecto a los controles (Figura 1), hallazgos que se correlacionan con los resultados reportados por Seethalakshymi y Col. (1987), Simán y Eriksson (1987)

En este sentido, Jackson y Hutson, 1984, suponen que la disminución del peso de los órganos sexuales accesorios y de los niveles de gonadotropinas observados en animales diabéticos, resulta de la alteración en la habilidad de los tejidos blancos para responder a la testosterona. Pero al comprobar que los niveles de testosterona se encuentran disminuidos en la Diabetes, el problema no es del todo en la respuesta de los órganos blancos, ya que, si no se produce testosterona, como es debido, por un problema del eje, entonces la testosterona no puede cumplir sus funciones en lo que se refiere al correcto funcionamiento de los órganos sexuales dependientes de esta hormona.

En el gráfico 1 se muestra que los niveles de testosterona total medidos después de la inducción de la diabetes con un valor promedio de $0,53 \pm 0,92$ ($P < 0,001$), que están disminuidos en relación con los niveles basales ($1,64 \pm 1,06$), lo que indica que en un estado diabético, sí hay disminución de los niveles de testosterona en sangre. Muestra además, los niveles aumentados de testosterona después del tratamiento con LHRH, lo cual fue estadísticamente significativo con relación a los valores obtenidos después de la inducción.

Gráfico 1. Niveles de Testosterona Total basal, después de la inducción de la diabetes y después del tratamiento con LHRH en ratas diabéticas.



Estudios en hombres y modelos de ratas diabéticas, entre ellos los de Seethalakshymi y Col., (1987), sugieren que la disfunción sexual en estos puede resultar de las alteraciones que provoca la diabetes sobre el eje neuroendocrino y diversas investigaciones sugieren que la lesión neuroendocrina en la Diabetes Mellitus se encuentra a nivel del hipotálamo [Elmlinger y Col., 2003; Guay y Col., 1995; Bridges y Col., 1993; Kuhn y Col., 1984].

Después de administrado el tratamiento con LHRH ($1,84 \pm 0,86$) se observó un aumento de los niveles de

testosterona con relación a los niveles medidos de la inducción ($0,53 \pm 0,92$), lo que indica que el daño ocasionado por la diabetes puede estar a nivel hipotalámico.

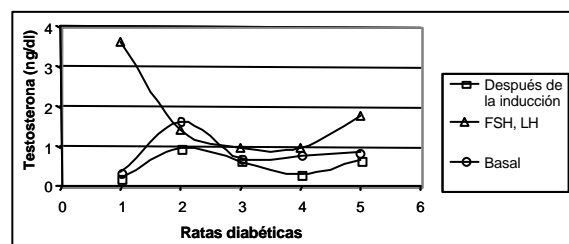
En este sentido, Rossy y Bestetti en 1981 realizaron un estudio a nivel del hipotálamo en animales diabéticos por técnicas inmunohistoquímicas, en donde encontraron numerosas estructuras axonales que contenían gránulos neurosecretores con anti-GnRH positiva. Lo que a su vez puede explicar la posible falla en la interacción de ésta con la hipófisis, llevando a la disminución en los niveles de LH, afectando con ellos los niveles de testosterona. En el presente estudio, al administrar la LHRH, la hipófisis respondió al estímulo y esto se pudo observar indirectamente al medir los niveles de testosterona y apreciar que estaban aumentando después de la estimulación hormonal con LHRH.

Estos resultados contrastan con los hallazgos de Licea y Col., (1988), los cuales no obtuvieron incremento en los niveles de testosterona cuando estudiaron la respuesta hipofisiaria a la LHRH en individuos diabéticos y postulan que la disminución de la respuesta de la LH a la LHRH, está relacionada con un daño microangiopático y/o hipofisiario o que posiblemente se debe al trastorno metabólico *per se*.

En este sentido, Bacetti y Col. (2002) encontraron un incremento de los niveles de testosterona en hombres con diabetes controlada pero no obtuvieron similares resultados en el grupo de hombres con diabetes no controlada, cuando a ambos grupos le administraron LHRH. Sin embargo, ellos concluyen que el daño puede estar localizado en cualquier nivel del eje hipotálamo-pituitario-gonadal. Igualmente, López-Alvarenga y Col. (2002), encontraron los mismos resultados en hombres jóvenes con diabetes controlada, al compararlo con un grupo control y un grupo con diabetes no controlada.

En el gráfico 2 se observa el valor basal ($0,743 \pm 0,54$) de testosterona, después de la inducción del estado diabético ($0,64 \pm 0,29$) y luego la administración del tratamiento FSH y LH ($1,73 \pm 1,09$).

Gráfico 2. Niveles de Testosterona basales, después de la inducción de la diabetes y después del tratamiento con FSH y LH en ratas diabéticas.



Se puede apreciar que después de administrado el tratamiento con FSH y LH ($1,73 \pm 1,09$), hubo un aumento estadísticamente significativo ($P < 0,001$) de los niveles de testosterona, lo que indica que el daño ocasionado por la diabetes pudiera estar ubicado a nivel hipofisiario, debido a una falla de esta glándula en la liberación de estas hormonas, a la liberación en cantidades muy bajas incapaces de provocar una respuesta a nivel gonadal normal o por una falta de estimulación hipotalámica, entre otras causas probables.

En el estudio realizado por Sexton y Jarow en 1997, encontraron los niveles de testosterona sérica en ratas diabéticas más bajos de lo normal, posiblemente debido a bajos niveles en suero de la LH y FSH. Estos hallazgos se correlacionan con este estudio, encontrándose niveles disminuidos de testosterona después de la inducción de la diabetes en comparación con las determinaciones basales de la hormona y se cree que la Hormona Luteinizante estaba disminuida o no se estaba produciendo como es debido, porque al estimular la gónada mediante la administración de LH y FSH, hubo un aumento de testosterona. Sexton y Jarow, 1997, afirman que las anomalías en el metabolismo de carbohidratos debido a la diabetes afecta la glicoproteína componente del límite de la membrana gonadal. Sin embargo, en este ensayo no existió un problema de este tipo ya que al administrar la LH y FSH las gónadas respondieron efectivamente produciendo testosterona.

Finalmente, es importante destacar que el presente trabajo se realizó en animales de experimentación y que los resultados obtenidos no se pueden extrapolar a los seres humanos, debido a la variabilidad genética. Sin embargo, la problemática planteada, continúa siendo un tema controversial en diversos trabajos donde se emplean hombres diabéticos o animales de experimentación. Además, se debe resaltar que aun cuando el número de animales utilizados en el presente trabajo, fue de cinco por grupo y en otras investigaciones utilizan hasta 15 por grupo, los resultados obtenidos son estadísticamente significativos.

CONCLUSIONES

La Diabetes Mellitus ejerce un efecto negativo y perjudicial sobre el Hipotálamo-Hipofisiario-Gonadal alterando los niveles séricos de testosterona; los cuales se incrementaron de manera significativa después del tratamiento hormonal, sugiriendo que la lesión ocasionada por esta patología es a nivel hipotalámico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Baccetti, B.; La Marca, A.; Piomboni, P.; Capitán, S.; Bruni, E.; Petraglia, F. y De Leo, V. 2002. **Insulin-dependent diabetes in men is associate with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality.** Human Reproduction. Vol. 17:2673-2677.

Barret-Connor, E.; Khaw, K. y Yen, S. 1999. **Endogenous sex hormones levels in older adult men with diabetes mellitus.** American Journal of Epidemiology. Vol. 132:895-901.

Betancourt-Albrecht, M. y Cunningham, G. 2003. **Hypogonadism and diabetes.** Nature Publishing Group. Vol. 15:S14-S20.

Bhasin, S.; Stober, T. y Berman, N. 1997. **Testosterone Replacement Increases Fat-Free Mass and Muscle Size in Hypogonadal Men.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. Vol. 82:407-413.

Bridges, N.; Hindmarsh, P.; Pringle, P.; Matthews, D. y Brook, C. 1993. **The relationship between endogenous testosterone and gonadotrophin secretion.** Clinical Endocrinology. Vol. 38:373-378.

Cederberg, J.; Simán, M. y Eriksson, U. 2001. **Combined Treatment with Vitamin E and Vitamin C Decreases Oxidative Stress and Improves Fetal Outcome in Experimental Diabetic Pregnancy.** Pediatric Research. Vol. 49:755-762.

De Jesús R., 1998. **Introducción a la ciencia de los animales de laboratorio.** Mérida-Venezuela. Consejo de Publicaciones, Universidad de Los Andes.

Dinulovic, D. y Radonjic, G. 1990. **Diabetes mellitus/male infertility.** Archives of Andrology. Vol. 25: 277-293.

Elmlinger, M.; Dengler, T., Weinstock, C. y Kuehnel, W. 2003. **Endocrine Alterations in the aging Male.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Vol. 41:934-941.

Faerman, I.; Glocer, L.; Fox, D.; Jadzinsky, M. y Rapaport, M. 1974. **Impotence and diabetes.** Diabetes. Vol. 23: 971-976.

Fairburn, C.; McCulloch, D. y Wu, F. 1982. **The effects of diabetes on male sexual function.** Clinics in Endocrinology and Metabolism. Vol.11: 749-766.

Guay, A.; Bansal, S. y Heatley, G. 1995. **Effect of raising Endogenous Testosterone Levels in Impotent Men with Secondary Hypogonadism: Double Blind Placebo-Controlled Trial with Clomiphene Citrate.** Journal of Endocrinology and Metabolism. Vol. 80:3546-3552.

Hauache, O.; Pardini, V.; Moisés, R. y Dib, S. 1993. **Werner's syndrome: clinical and endocrinological aspects.** Brazilian Endocrinology and Metabolism. Vol. 37:187-195.

Jonathan, J. 2003. **Male infertility.** American Urological Association. Vol.170:2125-2128.

Keegan, A.; Cotter, M. y Cameron, N. 1999. **Effects of diabetes and treatment with the antioxidant α -lipoic acid on endothelial and neurogenic responses of corpus cavernosum in rats.** Diabetología. Vol. 42: 343-350.

Kuhn, J.; Rieu, M.; Laudat, M.; Forest, M.; Pugeat, M.; Bricaire, H. y Luton, J. 1984. **Effects of 10 Days Administration of Percutaneous Dihydrotestosterone on the Pituitary-Testicular Axis in Normal Men.** Journal of clinical Endocrinology and Metabolism. Vol. 54:231-235.

Licea, M.; Santiago, M.; Padrón, R.; Navaroli, F. y Collado, A. 1988. **Hypophyseal response to LH-Rh in insulin-dependent diabetic patients with and without sexual dysfunction.** Revista cubana de Medicina. Vol. 27:95-102.

Meites, J.; Steger, R. y Huang, H. 1980. **Relation of neuroendocrine system to the reproductive decline in aging rats and human subjects.** Diabetes. Vol. 39: 3168 - 3171.

Murray, R.; Granner, D.; Mayes, P. y Rodwell, V. 1994. **Bioquímica de Harper.** (13^{ra}). México D.F.-Santafé de Bogotá. El Manual Moderno. Pp. 55-64.

Pasquali, R.; Gambineri, A.; Biscotti, D.; Vicennati, V.; Gagliardi, L.; Colitta, D.; Fiorini, S.; Cognini, G.; Filicori, M. y Morselli-Labate, M. 2000. **Effect of long-term treatment with metformin added to hypocaloric diet on body composition, fat distribution, and androgen and insulin levels in abdominally obese women with and without the polycystic ovary syndrome.** Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. Vol. 85:2767-2774.

Rosmond, R.; Wallerius, S.; Wanger, P.; Martín, L.; Holm, G. y Björntorp, P. 2003. **A 5-year follow-up study of disease incidence in men with an abnormal hormone pattern.** Blackwell Science Ltd. Vol. 254:386-390.

Rossi, G. y Bestetti, G. 1981. **Morphological Changes in the Hypothalamic - Hypophyseal - Gonadal Axis of Male Rats After Twelve Months of Streptozotocin - Induced Diabetes.** Diabetología. Vol. 21:476-481.

Seethalakshmi, L.; Menon, M. y Diamond, D. 1987. **The Effect of streptozotocin - induced diabetes on the neuroendocrine - male reproductive tract axis of the adult rat.** Urology. Vol. 138:190-194.

Sexton, W. y Jarow, J. 1997. **Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function.** Urology. Vol. 49:508-513.

Simán, C. y Eriksson, U. 1997. **Vitamin C supplementation of the maternal diet reduces the rate of malformation in the offspring of diabetic rats.** Diabetología. Vol. 40:1416-1424.

Stitt, A.; Gardiner, T.; Anderson, N.; Canning, P.; Frizzell, N.; Duffy, N.; Boyle, C.; Januszewski, A.; Chachichi, M.; Baynes, J. y Thorpe, S. 2002. **The AGE Inhibitor Pyridoxamine Inhibits Development of Retinopathy in Experimental Diabetes.** Diabetes Vol. 51:2826-2832.

Tabatabaie, T.; Vasquez-Weldon, A.; Moore, D. y Kotake, Y. 2003. **Free radicals and Pathogenesis of Type 1 Diabetes: [beta]-Cell Cytokine-Mediate Free Radical Generation Via Cyclooxygenase-2.** American Urological Association. Vol. 52:1994-1999.

Tan, R. y Pu, S. 2002. **Impact of obesity on hypogonadism in the andropause.** International Journal of Andrology. Vol. 25:912-918.

Thier, S. 1993. **Fisiopatología. Principios Biológicos de la enfermedad.** Buenos Aires - Argentina. Editorial Médica Panamericana. Pp. 102-112.

Viana, M.; Herrera, E. Y Bonet, B. 1996. **Teratogenic effects of diabetes mellitus in the rat. Prevention by vitamin E.** Diabetología. Vol. 39:1041-1046.