

14
28.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
"ZARAGOZA II"

**"Efectos de la Inversión del Fotoperíodo
Normal sobre la Relación de la Actividad
Cíclica del Ovario y la Glándula
Suprarrenal y su Vinculación con el
Sistema Adrenérgico".**

T E S I S

Que para Obtener el Título de:

B I O L O G O

Presenta:

Víctor Manuel Lujambio Arias



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE:

RESUMEN	PAG. 1
INTRODUCCION	3
HIPOTESIS	18
OBJETIVOS	18
METODOLOGIA	19
RESULTADOS	21
DISCUSION	37
CONCLUSIONES	43
BIBLIOGRAFIA	44

RESUMEN

En ratas hembra adultas mantenidas en condiciones de iluminación invertida respecto a la luz habitual, se estudió los efectos del bloqueo catecolaminérgico provocado por la administración de reserpina en diferentes horas del D1, D2, P y E sobre la ovulación, la función de la glándula suprarrenal y la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) en el hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados.

En general, la reserpina no modificó el peso de los ovarios, del útero, de las suprarrenales y de la hipófisis en los diferentes grupos experimentales.

El tratamiento con vehículo provocó el bloqueo de la ovulación entre el 12% y el 38% de los animales tratados en las diferentes horas y días del ciclo estudiados. Por el contrario, la reserpina bloqueó la ovulación del 100% de los animales tratados desde las 06:00 h del D1 hasta las 06:00 h del D2 y fue inefectiva cuando se administró a las 10:00 h del E o del D2.

La actividad de la enzima AChE en el hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados, disminuyó en los animales tratados con vehículo a las 22:00 h del E, D1, D2 o P y en aquellos en que el vehículo se administró a las 06:00 h del D1 y D2.

El tratamiento con reserpina eliminó los efectos de la administración del vehículo sobre la actividad AChE en E y D2.

En los animales tratados con vehículo se observó aumento de la concentración de ácido ascórbico de la glándula suprarrenal

y de corticoides en suero, sin que se modificaran las concentraciones de colesterol.

La reserpina provocó los mismos efectos que el vehículo sobre la función de la suprarrenal.

Estos resultados sugieren que la inversión del fotoperiodo aumenta el periodo en que la administración de una única dosis de reserpina es capaz de bloquear la ovulación. Los efectos de la reserpina sobre la ovulación se desplazan en el mismo sentido que el ciclo luz-obscuridad. Los efectos del bloqueo catecolaminérgico sobre la ovulación no parecen depender de modificaciones de la función suprarrenal en el día del estro.

INTRODUCCION

El aparato reproductor de los mamíferos está constituido por los ovarios, el útero, las trompas ováricas, la vagina, la vulva y las glándulas mamarias.

El ovario es una glándula endócrina cuyas funciones son la secreción de hormonas y la producción de gametos. Está constituido por los folículos ováricos, los cuerpos lúteos, la glándula intersticial y el estroma.

El folículo ovárico está formado por el ovocito (ovocito I en la mayoría de los folículos y ovocito II 4 a 6 horas antes de que se produzca la ovulación), el que está rodeado por una o varias capas de células de la granulosa, por la membrana basal, que aísla al ovocito y a las células de la granulosa y por las tecas interna y externa (15).

El folículo ovárico es la unidad anatómo-funcional del ovario; una vez iniciado su crecimiento, éste no se detiene y culmina en la ovulación o la atresia. La mayoría de los folículos van a la atresia (proceso que implica la degeneración del mismo), la que puede presentarse en cualquier etapa del desarrollo folicular.

En el folículo en crecimiento, las células de la granulosa se dividen activamente por efecto de la hormona folículo estimulante (FSH) y de los estrógenos, los que actúan sinérgicamente. En la célula folicular, ambas hormonas estimulan la síntesis de receptores a LH (15).

Una vez que las células foliculares forman de 7 a 8

capas alrededor del ovocito, comienzan a secretar el licor folicular, lo que provoca la formación del antro.

En la etapa de folículo preantral, las células de la granulosa inducen la diferenciación de las células mesenquimáticas del estroma ovárico a células de la teca interna, en cuya membrana aparecen receptores a LH. Esta estimula la síntesis de andrógenos en la teca interna, los que sirven de sustrato a las células de la granulosa en la síntesis de estrógenos, proceso estimulado tanto por la FSH como por la LH (15).

El cuerpo lúteo es una estructura glandular que se desarrolla después de la ovulación a partir de las células tecales y de la granulosa. El cuerpo lúteo secreta progesterona y estrógenos. En la rata, esta estructura persiste durante varios ciclos (15).

La glándula intersticial está constituida por las células tecales de los folículos con antro que sufren atresia, así como por células del estroma ovárico. Secreta andrógenos y progesterona (15).

El estroma ovárico está formado por el tejido conectivo que se encuentra entre las células del ovario (44).

El ovario de la rata está inervado por fibras simpáticas que provienen del plexo ovárico, que a su vez derivan del plexo aórtico y del renal. En el plexo ovárico se encuentran fibras postganglionares del nervio esplácnico y preganglionares del vago. La inervación parasimpática del ovario proviene del nervio

vago y del plexo útero-vaginal; así mismo, este plexo está constituido por fibras provenientes del plexo hipogástrico (3).

La inervación que llega al ovario actúa sobre sus diferentes compartimentos, o modulando su respuesta a las gonadotropinas. Así mismo, sería una vía eferente que lleva información desde el ovario hacia el sistema nervioso central acerca de cambios funcionales que ocurren en dicho órgano (39).

Las funciones del ovario son reguladas por las hormonas gonadotrópicas secretadas por la adenohipófisis: la hormona foliculo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH) y la prolactina (PRL) (20). La secreción de FSH y LH es regulada por una neurohormona secretada por el hipotálamo, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que es transportada hacia la adenohipófisis a través del sistema porta-hipotalámico-hipofisiario (44).

Según Barraclough, (4) la secreción de GnRH es modulada por dos centros hipotalámicos, uno localizado en el área de los núcleos arcuato y ventromedial del hipotálamo medio, cuya actividad neuronal estimula la descarga tónica de las gonadotropinas; el otro, localizado en el área preóptica medial del hipotálamo y que estimula la descarga cíclica de las gonadotropinas.

La actividad cíclica de estos centros hipotalámicos regula las variaciones periódicas observadas en la concentración sanguínea de las gonadotropinas. Estas actúan sobre el folículo ovárico, donde estimulan su crecimiento y desarrollo y la

síntesis de hormonas esteroideas, cuyas concentraciones plasmáticas también fluctúan a lo largo del ciclo estral o menstrual de los mamíferos (4).

En la mayoría de las ratas mantenidas en condiciones controladas de iluminación y oscuridad, el ciclo estral dura cuatro o cinco días (27). Clásicamente, este ciclo estral se divide en diestro (diestro 1 [metaestro], diestro 2, diestro 3) proestro y estro.

El periodo de diestro (D) dura dos a tres días, durante el cual ocurre el desarrollo y el crecimiento de los folículos que van a ovular en ese ciclo. Los niveles sanguíneos de LH, FSH y estrógenos se mantienen bajos respecto al día del proestro y en el frotis vaginal se observan leucocitos y células nucleadas.

En el día del proestro (P), la concentración plasmática de estrógenos aumenta entre las 09:00-11:00 h y luego disminuye bruscamente. En la tarde del P, como consecuencia del "pico de estrógenos", aumenta la secreción de LH y FSH ("pico de LH y de FSH"). La LH estimula la secreción de progesterona por las células foliculares de los folículos preovulatorios. En el frotis vaginal se observan células nucleadas (44).

La ovulación ocurre en el día del estro (E), doce horas después del "pico de LH". Durante este día los niveles de LH y estrógenos son más bajos que en el día anterior, mientras que se observa nuevo aumento en la concentración plasmática de FSH (19). En el frotis vaginal se observan células cornificadas (4,20).

La secreción de GnRH está regulada por los estrógenos y

por fibras nerviosas catecolaminérgicas, colinérgicas o peptidérgicas de origen intra y extrahipotalámico. La participación de estos sistemas en la modulación de la secreción de la GnRH y las gonadotropinas es diferente y depende del momento del ciclo estral que se estudie (14).

Según Sawyer y Clifton (41), en el día del Proestro la noradrenalina ejerce un papel estimulante de la liberación de LH, y que el de la serotonina sería inhibitorio, mientras que la dopamina no tendría participación. Sin embargo, otros autores han mostrado que el bloqueo del sistema dopaminérgico puede modificar la secreción de LH y FSH, resultados que dependen del modelo de animal y del día del ciclo estral en estudio (14).

Se ha sugerido que las acciones que cada sistema de neurotransmisores ejerce sobre la secreción de gonadotropinas depende del ambiente hormonal del animal (14). Esta hipótesis está apoyada por el hecho que la cantidad de noradrenalina en el hipotálamo anterior de la rata varía a lo largo del ciclo estral, siendo mínima en D1 y máxima en P y E (47). Al igual que Sawyer y Clifton (41), Barraclough (5) sostiene que la noradrenalina y no la dopamina, estimula la secreción de GnRH previa a la secreción preovulatoria de gonadotropinas.

En el ovario, la concentración de noradrenalina folicular disminuye al aumentar los niveles circulantes de FSH. Además, la concentración de noradrenalina en el licor folicular alcanza sus niveles mayores durante la mañana y tarde del P y disminuye después del aumento brusco en los niveles plasmáticos de FSH y

LH (3). Por otra parte, el número de receptores B-adrenérgicos de las células foliculares varía durante el ciclo estrol, alcanzando su máximo durante el F y su mínimo en el E (31).

También se ha mostrado que el sistema colinérgico modula de manera estimulante la secreción de gonadotropinas. Domínguez y col. (14a.) mostraron que la administración de atropina (antagonista colinérgico) bloquea la ovulación cuando se administra en los diferentes días del ciclo estrol. Sin embargo, la dosis necesaria para lograr dicho efecto, varía según el día del ciclo estrol en estudio, por lo que los autores proponen que: A) la producción de acetilcolina sería mayor en F, B) el "ambiente hormonal" del animal (niveles de estrógenos) modifican la receptividad del sistema al efecto bloqueador de la atropina, o C) ambos factores funcionan en forma simultánea.

Es aceptado por todos que a lo largo de la evolución, los fenómenos medioambientales han influido en los procesos fisiológicos y conductuales de los seres vivos. Por ejemplo, los cambios diarios o estacionales de la relación luz-obscuridad y de temperatura modifican la actividad motora, alimentaria, sueño-vigilia, de apareamiento y otras. Los seres vivos presentan, además, ritmos intrínsecos que están programados genéticamente (29, 43). Según el periodo en el cual se repiten, este tipo de oscilaciones rítmicas se clasifican en:

- 1) Ciclos ultradianos: cuya duración es menor de 24 horas.
- 2) Ciclos circadianos: su periodicidad es aproximadamente de 24 horas.

- 3) Ciclos infradianos: cuya periodicidad es mayor de 24 horas.
- 4) Ciclos circaceptanos: cuya periodicidad es aproximadamente de una semana.
- 5) Ciclos circatrigentanos o, circamensuales o circalunares: su duración es cercana al mes.
- 6) Circanual o estacional: su duración es cercana al año.

Estos ritmos se caracterizan porque su oscilación biológica endógena o intrínseca es continua y no dependen de la ciclicidad medioambiental, aunque pueden ser reguladas por ésta (43,48).

Dado que algunos estímulos endógenos están acoplados al ciclo de luz-obscuridad del medio ambiente, cualquier desplazamiento o cambio de éste causará modificación del ritmo endógeno en el mismo sentido (48).

Un importante oscilador circádico es el núcleo supraquiasmático (NSCh). Este es un núcleo bilateral, simétrico, localizado en el hipotálamo anterior, que se encuentra justo arriba del quiasma óptico. Este núcleo regula los ritmos endógenos de diferentes glándulas endócrinas como las suprarrenales, la pineal y los ovarios (29).

La señal de los periodos de luz-obscuridad es transmitida hasta el hipotálamo por la siguiente vía nerviosa: la retina, el haz retinohipotalámico, el NSCh, y el ganglio cervical superior. Desde este se proyectan fibras nerviosas hacia la glándula pineal. La pineal no es un órgano sensorial fótico, sino un modulador neuroendócrino con funciones

adaptativas a los cambios de luz-obscuridad circádicos, circanuales o ambos (37).

Se ha mostrado que la actividad de la pineal es estimulada por la reducción del fotoperiodo o en condiciones de obscuridad constante (49). La noradrenalina es uno de los neurotransmisores que participa en la regulación de la actividad de esta glándula, donde activa la síntesis de melatonina al estimular los receptores B-adrenérgicos de los pinealocitos (?). De la pineal han sido extraídos diferentes compuestos que modifican la fisiología gonadal de los cuales la melatonina es el más conocido.

En diferentes modelos experimentales la administración de extractos de pineal ha producido:

- a) inhibición del proceso de hipertrofia compensadora de las gónadas,
- b) reducción de los niveles plasmáticos de LH,
- c) disminución del peso gonadal y de los órganos sexuales accesorios,
- d) esterilidad (?).

También se ha demostrado que la melatonina actúa a nivel de hipotálamo donde inhibe la secreción de GnRH (49).

En condiciones naturales, la duración del fotoperiodo varía según la época del año, excepto en las regiones ecuatoriales. Estudios realizados en diversas especies de mamíferos, han mostrado que el fotoperiodo regula la duración del ciclo reproductivo, la maduración sexual, el momento en que

ocurre la ovulación y el comportamiento sexual (27). Así, los mamíferos con periodos de gestación cortos, (el gato, el castor, el coatí) o prolongados (de aproximadamente un año, como la vaca) inician su actividad reproductora durante la primavera, cuando los días comienzan a ser más largos (27). Aquellos con periodos de gestación intermedios (de dos a nueve meses) (ej. la oveja) el desarrollo gonadal y el apareamiento ocurren en el otoño (cuando los días son más cortos) (13).. También puede ocurrir el apareamiento en el verano y por implantación retardada (diapausa) la gestación se inicia más adelante, como ocurre en ciertas especies de venados (27). Si estos animales son expuestos a un fotoperiodo contrario al de una época específica del año, su actividad reproductiva se adapta a dicho fotoperiodo (27).

En la rata, la actividad sexual no es un evento estacional, sino que se presenta durante todo el año. Sin embargo, esta puede alterarse dependiendo del número de horas de luz a las que es expuesto el animal, así como la cepa de que se trate (26).

Varios autores han mostrado que cuando ratas de la cepa Sprague Dawley expuestas a fotoperiodos de doce horas o menos, presentan ciclos estrales de cuatro días de duración. Cuando el fotoperiodo es de 14 o 16 horas, la mayoría de los animales muestran ciclos de cinco días. Mientras que, si el fotoperiodo es de 20 o 22 horas predominan ciclos de cinco días o de mayor duración (26, 27). En cambio, ratas de la cepa Blue Spruce mantenidas en fotoperiodos largos presentan ciclos estrales

irregulares (26). También se ha mostrado que el ritmo luz-obscuridad sincroniza el momento de la liberación de la LH (33).

La ausencia de periodos de luz-obscuridad altera el ritmo neural que regula la secreción de gonadotropinas. Algunas cepas de ratas mantenidas en condiciones de iluminación constante pierden su ciclo estral, sus ovarios se vuelven poliquísticos, su receptividad sexual es continua, presentan estro vaginal persistente y se adelanta el momento de la apertura vaginal. Si los animales son colocados en obscuridad constante o son cegados, desarrollan un síndrome de anestro persistente y se provoca retardo de la maduración sexual. Cuando los animales que fueron mantenidos en condiciones de obscuridad o luz constantes, vuelven a un ambiente cíclico de luz-obscuridad, sus ciclos estrales se reinician (7,26,27).

El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal es otro de los sistemas regulado por el ritmo de luz-obscuridad. Las suprarrenales se encuentran situadas en la parte superior de cada riñón y están formadas por la médula y la corteza. La médula suprarrenal secreta adrenalina y noradrenalina. En la corteza se describen tres zonas: la glomerular, donde se secretan los mineralocorticoides, principalmente aldosterona; la fascicular, cuyas células producen glucocorticoides, como el cortisol, la cortisona y la corticosterona y la zona reticular donde se secretan esteroides sexuales (andrógenos y progesterona) (21).

La corticotropina (ACTH) (secretada por la

adenohipófisis) estimula la secreción de glucocorticoides (cortisol y corticosterona) y parcialmente la de mineralocorticoides (aldosterona) y de esteroides sexuales. La secreción de ACTH es activada por la hormona liberadora de corticotropina (CRH) secretada por el hipotálamo, en respuesta a ciertos estímulos fisiológicos (21).

Se ha mostrado que la administración de ACTH disminuye la concentración de ácido ascórbico y de colesterol en la suprarrenal, por lo que su cuantificación es utilizada como un índice indirecto de la secreción de ACTH (18).

La velocidad de secreción de cortisol y corticosterona, la concentración de ACTH en plasma, la velocidad de secreción de CRH, así como su concentración en el hipotálamo, presentan variaciones cíclicas. Estos ritmos están vinculados a los de luz-obscuridad y de actividad reposo (10,38).

En la rata hembra mantenida en condiciones de 14 h de luz - 10 h de obscuridad (luces encendidas a las 05:00 h), la concentración plasmática de corticoides presenta un patrón circádico cuya concentración más elevada ocurre entre las 20:00 y 24:00 horas, modelo que se conserva en cada día del ciclo estral. Sin embargo, en el día del P, la concentración de glucocorticoides es más elevada que en los otros días del ciclo estral (38).

El ritmo de secreción de glucocorticoides también está modulado por los sistemas colinérgico y catecolaminérgico. Estudios *in vitro* han mostrado que la acetilcolina estimula

la secreción de CRH en el hipotálamo, fenómeno que es bloqueado por la administración de atropina (24). Del mismo modo, si se aumentan los niveles de acetilcolina en el hipotálamo, por la administración de un bloqueador de la enzima acetilcolinesterasa, se provoca el aumento de los niveles de corticoides en plasma (35). La liberación de ACTH provocada por el estrés, es bloqueada por la microinyección de atropina en el hipotálamo (24).

Aún no es claro el papel que juega el sistema catecolaminérgico en la regulación de la CRH y ACTH. Estudios *in vitro* han mostrado que la noradrenalina inhibe la secreción de CRH, mientras que la dopamina parece no tener efectos sobre la misma (30).

La inhibición de sistema catecolaminérgico por la administración de neurofármacos no modifica la secreción de ACTH aún en condiciones de estrés (24,30,45). Naumenko (35) sugiere que existen estructuras adrenergicas periféricas que modifican la secreción de corticoides, ya que los antagonistas simpáticos de acción periférica, o periférica y central, aumentan los niveles plasmáticos de corticoides, mientras que los antagonistas de acción exclusivamente central no tienen efecto.

El patrón circádico de la secreción de corticoides se puede modificar si se mantiene al animal en condiciones restringidas y cíclicas de acceso al alimento o al agua. Si se restringe el alimento al comienzo de la fase de luz, los niveles de corticosterona aumentan, mientras que el mismo estímulo, aplicado al comienzo de la fase oscura, sólo provoca un ligero

aumento de estos niveles (2,12,46).

En la rata hembra, la privación cíclica de agua durante 23 horas altera el patrón del ritmo de secreción de glucocorticoides y modifica la regulación de la función reproductiva, así como del comportamiento sexual. Estos efectos se manifiestan en el alargamiento de la duración del ciclo estral, adelanto en la receptividad sexual en el día del proestro, mayor sensibilidad del sistema hipotálamo-hipófisis al efecto de barbitúricos, aumento de la duración del ciclo estral (de 4 a 5 días), prolongación del proestro y disminución de la concentración de LH en plasma a las 15:00 horas del día del P. (46).

Para el estudio de la participación del sistema catecolaminérgico en la regulación de la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada se han utilizado fármacos que actúan tanto a nivel de sistema nervioso central como a nivel periférico. Uno de estos fármacos es la reserpina (RSP).

La reserpina (3,4,5, -trimetoxibenzoilmetil reserpato) es un alcaloide que actúa sobre la neurona y provoca:

- 1) liberación brusca de las catecolaminas o la serotonina en la sinapsis,
- 2) bloqueo de la síntesis del neurotransmisor,
- 3) bloqueo del sistema de transporte granular y
- 4) bloqueo de la recaptura e interferencia con la entrada de las monoaminas a los depósitos intracelulares, inhibiendo el mecanismo de captación dependiente de ATP y Mg.

A nivel central disminuye los depósitos de noradrenalina, dopamina y serotonina, mientras que a nivel periférico sólo afecta el de noradrenalina (23). Como resultado de la disminución de noradrenalina en las terminales nerviosas, hay inhibición de la transmisión de impulsos a ese nivel. Se ha mostrado que la reserpina inhibe algunas funciones hipotálamicas relacionadas con la liberación de hormonas hipofisiarias y que aumenta la secreción de ACTH y prolactina (23, 45).

La administración de reserpina a lo largo del ciclo estral de la rata provoca inhibición de la ovulación que depende de la dosis del fármaco y la hora y día del ciclo estral en que se administra. Una única dosis de 125 ug de reserpina inhibió la ovulación cuando se administró durante el D 1, mientras que se necesitó llegar a la dosis de 2.0 mg en P y 500 ug en E para obtener el mismo efecto. Así mismo, el mecanismo ovulatorio pudo ser reestablecido mediante la administración secuencial de gonadotropinas, hCG o FSH + hCG. Además, los efectos de la administración de una única dosis de 125 ug/Kg de reserpina, dependieron del día del ciclo estral en que se realizó (14).

Como se ha señalado, la participación de los sistemas catecolaminérgico y colinérgico en la regulación del ciclo estral y la ovulación, varían a lo largo del ciclo estral. Además, los osciladores endógenos que regulan estos mismos parámetros varían su actividad en función del fotoperíodo en que se mantiene a los animales.

Una pregunta que aún no ha recibido respuesta es cuál o

cuales de los sistemas de neurotransmisores que se sabe están vinculados a la regulación de la función hipofisiaria y gonadal, participan en los fenómenos de modulación de la actividad de los osciladores endógenos en función del fotoperiodo.

Con base a los resultados antes mencionados, se decidió estudiar los efectos de la inversión del fotoperiodo en que se mantiene a los animales, sobre los efectos de la administración de una única dosis de 125 µg/Kg de reserpina realizada a diferentes horas del día, a lo largo del ciclo estral sobre la ovulación, la función de la suprarrenal y la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en varias regiones del sistema nervioso central.

HIPOTESIS

En una rata con ciclos estrales de cuatro días de duración, a la cual se le bloquea el sistema catecolaminérgico por la administración de reserpina en los distintos días del ciclo estral, cuando se toma como parámetro de comparación el periodo entre el tratamiento y el fotoperíodo, la inversión de este respecto al solar no modifica la respuesta ovulatoria y adrenal a dicho bloqueo.

OBJETIVOS

Estudiar los efectos de la administración de una única dosis de 125 µg/kg de reserpina administrada en uno de los diferentes días del ciclo estral y en distintas horas, sobre la ovulación en el día esperado del estro.

Correlacionar estos efectos con la función suprarrenal, estudiada por las concentraciones de ácido ascórbico y colesterol en la glándula y los niveles de plasmáticos de glucocorticoides.

Correlacionar los hallazgos en la ovulación y la función suprarrenal con la actividad colinérgica del hipotálamo medida por la actividad de la enzima acetilcolinesterasa.

METODOLOGIA

Se utilizaron ratas hembra adultas (90-120 días de edad) de la cepa CII 2-V que nacieron en condiciones de iluminación de 14 h de luz/10 h de obscuridad, con luces de 05:00 a 19:00 h (condiciones habituales o "normales") y con libre acceso al alimento y al agua. A los 60 días de edad los animales fueron transferidos a un cubículo con las mismas condiciones cíclicas de luz/obscuridad pero con luces encendidas de 16:00 a 06:00 horas, es decir que los animales fueron mantenidos en un fotoperiodo con 11 horas de desplazamiento respecto a las condiciones estandar de iluminación (fotoperiodo invertido).

Treinta días más tarde a todos los animales se les tomaron frotis vaginales diariamente (16:00 a 17:00 h) y sólo se utilizaron aquellos que presentaron tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración.

A grupos de ocho animales se les administró una sola dosis de reserpina (125 µg/kg de peso corporal) o vehículo, por vía subcutánea a las 09:00, 17:00 y 21:00 horas de cada uno de los días del ciclo estral, que correspondió a las 06:00, 10:00 y 22:00 h del fotoperiodo invertido.

Los animales fueron sacrificados por decapitación en el siguiente día del estro esperado entre las 20:00 y 22:00 horas. Se colectó la sangre del tronco, la cual se mantuvo a temperatura ambiente durante una hora, se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min. El suero obtenido se guardó a -20°C hasta la cuantificación de glucocorticoides por el método de Glik y col. (22).

Se diseccionaron y pesaron los ovarios, el útero, las glándulas suprarrenales, la hipófisis, el hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados. En cada trompa ovárica se contó el número de ovocitos presentes.

Ambas suprarrenales se mantuvieron a -20°C hasta el momento en que se midió la concentración de ácido ascórbico (42) y colesterol (1).

En el hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados se cuantificó la actividad de la enzima acetilcolinesterasa por el método de Maletta y Timiras (34) y la concentración de proteínas por el método de Bradford (6). La actividad de la enzima fue expresada como nanomoles (nM) de sustrato hidrolizado por minuto por mg de proteína por mg de tejido.

Un grupo de ocho animales sin tratamiento, fue autopsiado en el día del estro a las mismas horas que los grupos tratados y se realizaron las mismas cuantificaciones (grupo testigo absoluto).

Los resultados se analizaron por la prueba Analisis de Varianza de una sola vía, la prueba de Scheffe, la prueba "t" de Student y la de "Chi" cuadrada, con un nivel de significación del 5 %.

RESULTADOS

PESO DE ORGANOS

OVARIOS

En la mañana del estro esperado, el peso de ambos ovarios disminuyó respecto al testigo absoluto cuando se administró el vehículo a las 22:00 h del D2 o a las 06:00 h del P. La reserpina provocó disminución de la masa ovárica cuando fue administrada a las 10 h del E (tabla 1).

UTERO

El peso del útero disminuyó en los animales tratados con reserpina a las 06:00 del E y 10:00 h del D2 y aumentó en los tratados a las 10:00 h del D1 respecto al grupo tratado con vehículo (tabla 1).

HIPOFISIS

El peso de la hipófisis de los animales tratados con vehículo a las 22 h de E o del D 2 disminuyó significativamente (tabla 2).

SUPRARRENALES

La administración del vehículo a las 22:00 h del D2 provocó disminución del peso de las suprarrenales en el día del estro del ciclo inmediato.

La administración de reserpina no modificó el peso de la hipófisis y de las suprarrenales en ninguna de las horas y días del ciclo estudiados respecto al grupo testigo absoluto o al vehículo (tabla 2).

TABLA No. 1:

Media \pm e.e.m. del peso de los ovarios y del útero (mg/100 g peso corporal) de ratas adultas mantenidas en regimenes de luz invertida, tratadas una sola vez con reserpina (RSP) o vehiculo (V) a distintas horas (H) en uno de los días del ciclo estral (D) autopsiadas en el día del estro esperado.

Trat.	D	H	OVARIOS	UTERO
Testigo Absoluto			27.50 \pm 1.40	189.48 \pm 13.43
V	E	06:00	27.64 \pm 1.99	203.51 \pm 7.37
RSP			27.17 \pm 1.40	179.29 \pm 10.08
V	E	10:00	24.00 \pm 1.50	184.40 \pm 9.90
RSP			22.90 \pm 1.70 *	171.00 \pm 10.10
V	E	22:00	26.22 \pm 1.44	177.16 \pm 12.74
RSP			29.48 \pm 1.64	182.43 \pm 10.28
V	D1	06:00	26.68 \pm 1.26	183.86 \pm 7.19
RSP			27.04 \pm 0.97	193.70 \pm 8.96
V	D1	10:00	26.10 \pm 1.60	178.60 \pm 5.20
RSP			24.40 \pm 0.70	208.60 \pm 9.20
V	D1	22:00	27.98 \pm 1.43	188.07 \pm 8.52
RSP			26.24 \pm 1.46	174.45 \pm 10.90
V	D2	06:00	25.54 \pm 1.57	201.35 \pm 9.98
RSP			28.39 \pm 1.78	206.77 \pm 11.30
V	D2	10:00	26.70 \pm 0.75	171.70 \pm 11.10
RSP			24.80 \pm 1.90	148.10 \pm 8.70 *
V	D2	22:00	22.90 \pm 1.58 *	180.73 \pm 7.87
RSP			27.58 \pm 2.29	174.84 \pm 12.53
V	P	06:00	22.97 \pm 1.28 *	184.27 \pm 6.76
RSP			27.79 \pm 1.77	202.80 \pm 13.39
V	P	10:00	25.20 \pm 1.60	175.60 \pm 10.50
RSP			27.00 \pm 1.80	178.00 \pm 9.30
V	P	22:00	26.10 \pm 1.54	187.79 \pm 9.29
RSP			28.10 \pm 1.06	184.54 \pm 7.97

* P < 0.05 vs. testigo absoluto.

TABLA No.2:

Media \pm e.e.m. del peso de las suprarrenales y la hipófisis (mg/100 g peso corporal) de ratas adultas mantenidas en regímenes de luz invertida y tratadas una sola vez con reserpina (RSP) o vehículo (V), a distintas horas (H), en uno de los días del ciclo estral (D) y autopsiadas en el día del estro esperado.

Trat.	D	H	SUPRARRENAL	HIPOFISIS
Testigo absoluto			25.28 \pm 1.18	6.60 \pm 0.30
V RSP	E	06:00	25.74 \pm 0.80 24.61 \pm 1.49	6.78 \pm 0.58 6.16 \pm 0.36
V RSP	E	10:00	23.37 \pm 1.38 23.10 \pm 1.10	5.60 \pm 0.70 6.40 \pm 0.50
V RSP	E	22:00	24.46 \pm 1.57 26.72 \pm 1.26	5.52 \pm 0.26 * 6.40 \pm 0.41
V RSP	D1	06:00	24.56 \pm 0.81 25.95 \pm 1.73	6.04 \pm 0.34 6.10 \pm 0.32
V RSP	D1	10:00	26.40 \pm 0.70 24.30 \pm 0.90	6.30 \pm 0.50 5.40 \pm 0.40
V RSP	D1	22:00	26.34 \pm 1.50 23.61 \pm 1.29	5.77 \pm 0.44 6.08 \pm 0.24
V RSP	D2	06:00	23.36 \pm 1.07 25.19 \pm 1.18	7.29 \pm 0.39 6.62 \pm 0.41
V RSP	D2	10:00	23.50 \pm 0.50 25.40 \pm 1.70	7.00 \pm 0.40 6.10 \pm 0.50
V RSP	D2	22:00	19.66 \pm 0.87 * 24.77 \pm 1.05	4.38 \pm 0.24 * 7.21 \pm 0.40
V RSP	P	06:00	28.11 \pm 1.81 27.88 \pm 1.03	5.92 \pm 0.30 7.12 \pm 0.79
V RSP	P	10:00	23.40 \pm 1.40 26.60 \pm 1.90	6.30 \pm 0.60 7.30 \pm 0.70
V RSP	P	22:00	24.44 \pm 1.26 23.89 \pm 1.15	6.12 \pm 0.23 6.24 \pm 0.35

* P < 0.05 vs Testigo Abs.

PORCIENTO DEL BLOQUEO DE LA OVULACION

La gráfica 1 muestra las curvas del bloqueo de la ovulación inducida por la reserpina, en los animales mantenidos en luz invertida y normal. Como se puede apreciar, la inversión del fotoperiodo provocó un desplazamiento de 12 h en la capacidad del fármaco para alterar la ovulación.

La administración del vehículo bloqueó la ovulación en el 12% al 38% de los animales tratados, resultado que dependió de la hora y día del ciclo estudiados (gráfica 1).

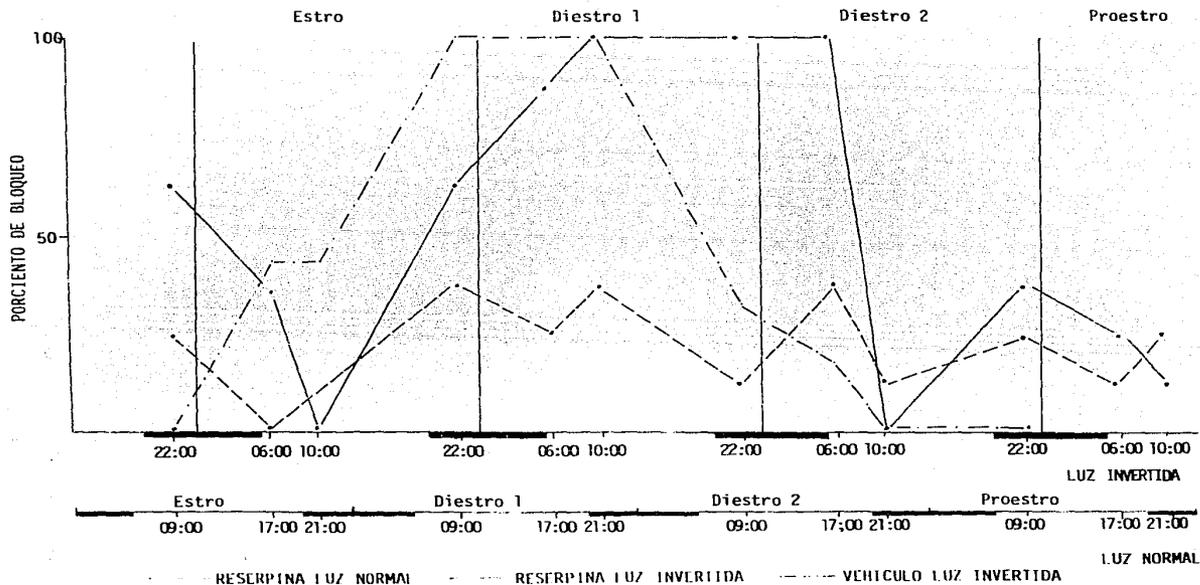
Los efectos de la reserpina sobre la ovulación también dependieron de la hora y día del ciclo estudiados. Su administración a las 22:00 h del P provocó bloqueo de la ovulación en el 62% de los animales, efecto que disminuyó en los tratados a las 06:00 h del día del E (37%) y no se observó en los animales tratados a las 10:00 h. La inyección de reserpina a las 22:00 h del E provocó el bloqueo ovulatorio en el (62%) de los animales y alcanzó el 100% desde las 10:00 h del D 1, hasta las 06:00 h del D2. No se observaron diferencias con el grupo tratado con vehículo, cuando la reserpina se administró a partir de las 10:00 h del D 2 o en el P (gráfica 1).

NUMERO DE OVOCITOS

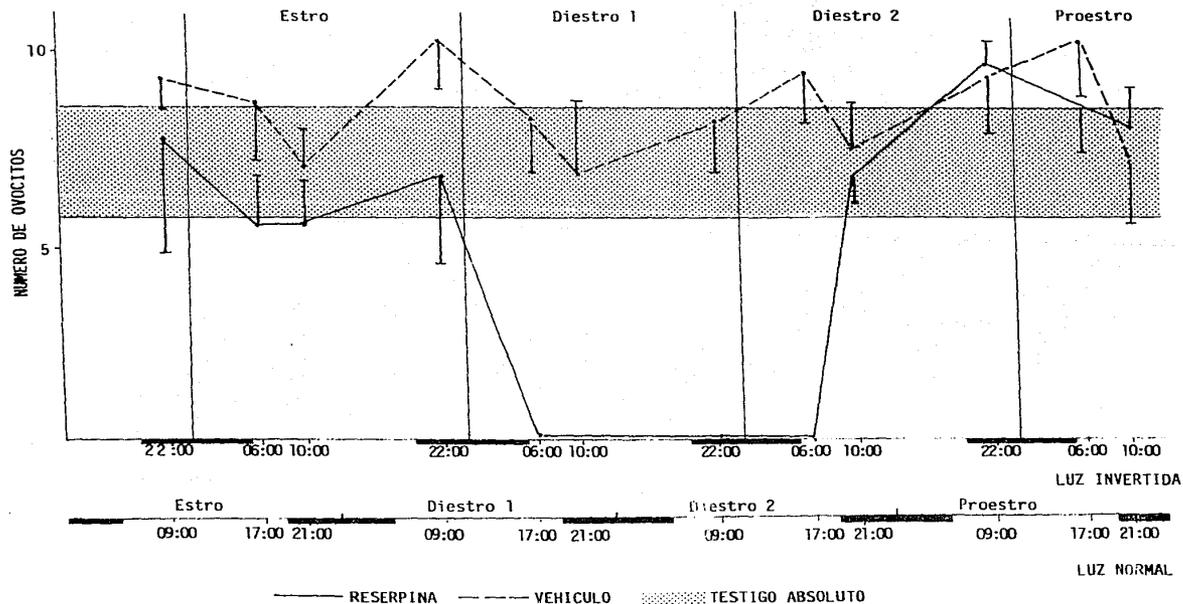
Los efectos de la reserpina sobre el número de ovocitos liberado por animal ovulante, también dependieron de la hora y el día del ciclo estral en los que se realizó el tratamiento (gráfica 2).

Comparado con el testigo absoluto, el número de ovocitos

GRAFICA No. 1: PORCIENTO DEL BLOQUEO DE LA OVULACION EN RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y NORMAL Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



GRAFICA No. 2. NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (media \pm e.e.m.) POR RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



liberados no se modificó en los animales tratados con vehiculo.

En los animales tratados con reserpina que ovularon, el número de ovocitos liberados fué semejante al de los grupos testigo (gráfica 2).

ACTIVIDAD DE LA AChE

HIPOITALAMO

La actividad de la AChE en el hipotálamo aumentó de manera significativa cuando se administró el vehiculo durante el periodo escotópico de cada día del ciclo estral (Gráfica No. 3).

La reserpina tuvo un efecto similar al ejercido por el vehiculo, excepto que la actividad AChE tendió a normalizarse cuando el fármaco se administró en la fase oscura del E y D2.

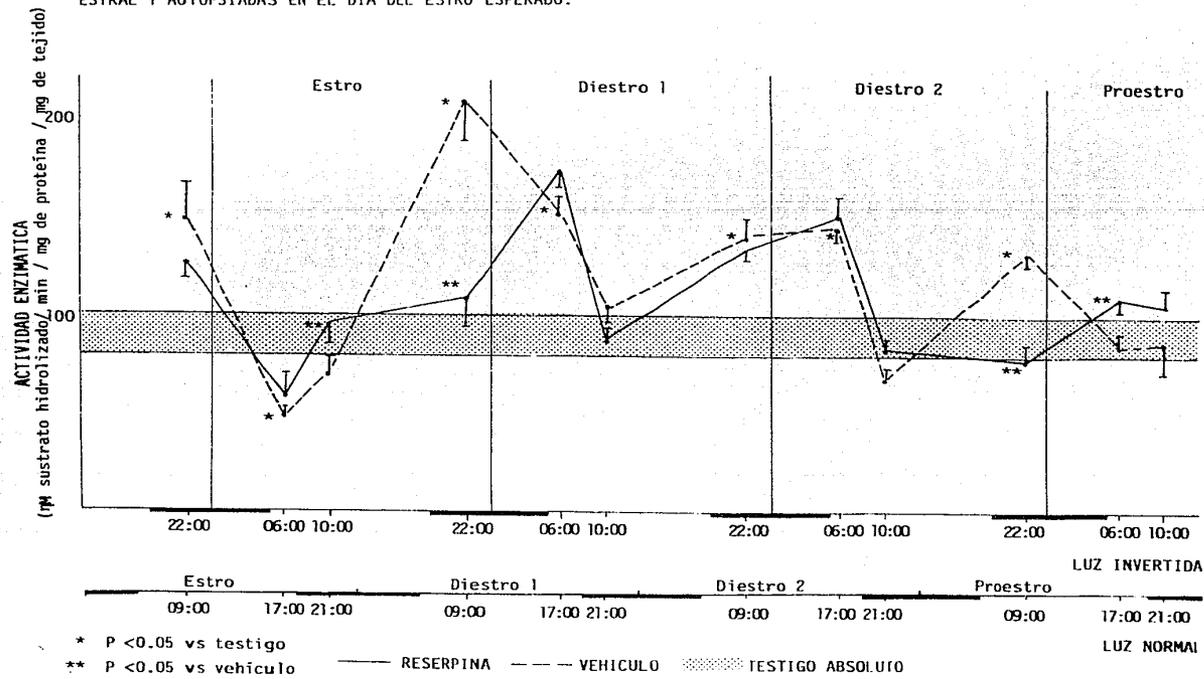
La administración del vehiculo o la reserpina no modificó la actividad AChE respecto al grupo testigo en ninguna de las otras horas y días del ciclo.

CEREBELO:

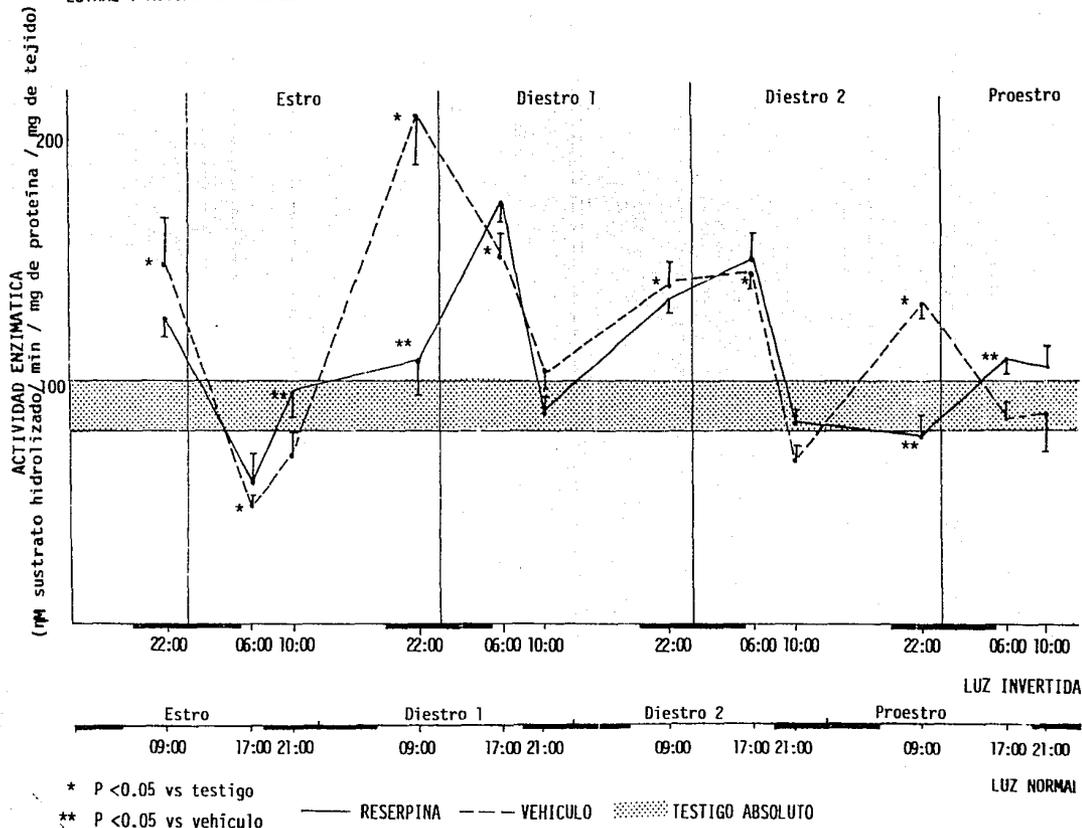
En el cerebelo, la administración del vehiculo tuvo el mismo efecto sobre la actividad AChE que en el caso del hipotálamo, excepto que cuando se administró en la fase oscura del P, la actividad enzimática en el día del estro esperado fué semejante al testigo (Gráfica No. 4).

La reserpina provocó aumento de la actividad enzimática cuando se administró a las 10:00 h del P respecto al vehiculo (86.1 ± 1.3 vs 69.0 ± 4.1 , $P < 0.05$). La reserpina bloqueó el incremento en la actividad AChE que provocó la inyección del

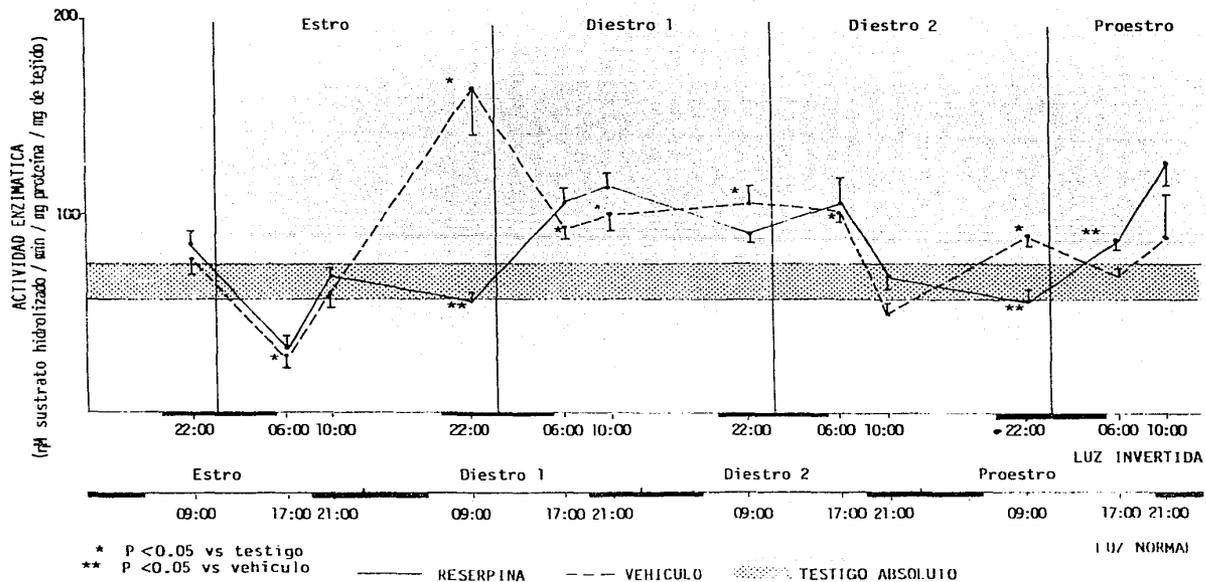
GRAFICA No 3: ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (media + e.e.m.) EN EL HIPOTALAMO DE RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



GRAFICA No 3: ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (media + e.e.m.) EN EL HIPOTALAMO DE RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



GRAFICA No. 4: ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (media \pm e.e.m.) EN EL CEREBELO DE RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



vehículo en la fase escotópica del E y el D2.
CUERPOS ESTRIADOS:

La administración del vehículo o la reserpina modificó la actividad de la AChE de los cuerpos estriados en forma semejante a la observada que el hipotálamo y el cerebelo (Gráfica No. 5).

Cuando se inyectó en la fase oscura del E, D1, D2 y P y en las primeras horas del D1 y D2, el vehículo aumentó la actividad de la enzima respecto al grupo testigo absoluto.

La actividad enzimática disminuyó en los animales tratados con vehículo a las 06:00 h del E y a las 10:00 del D2.

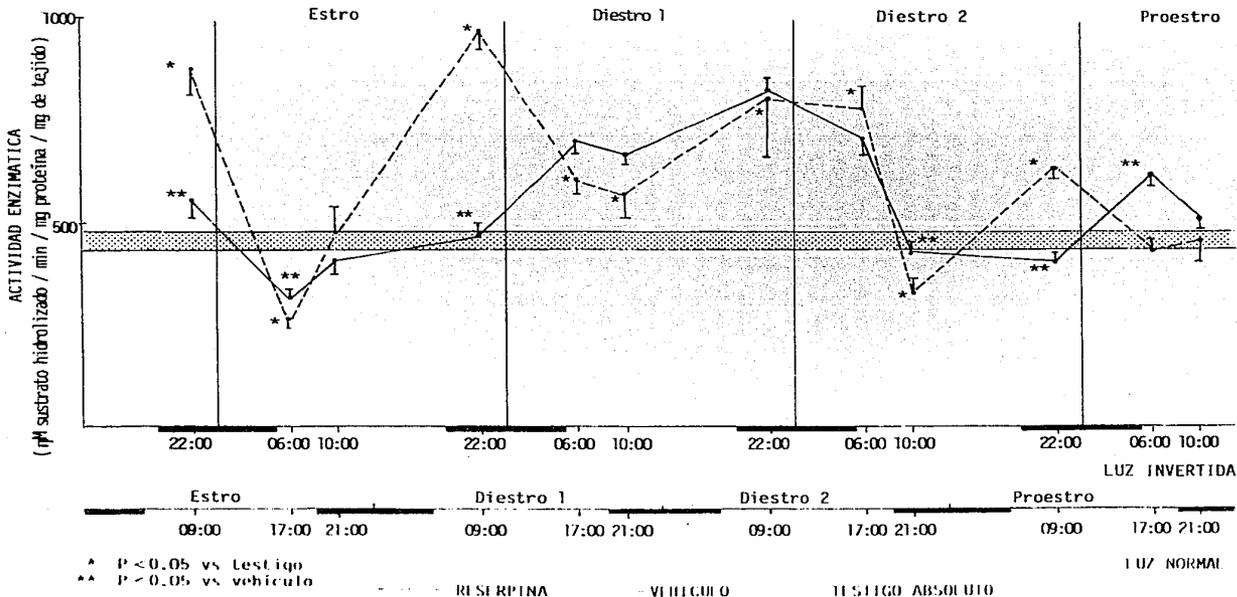
La reserpina bloqueó el aumento de la actividad de la enzima provocado por el vehículo a las 22:00 h del E, D1 y P. La administración del fármaco a las 06:00 h del E disminuyó la actividad de la enzima respecto al grupo testigo.

EFECTOS DEL TRATAMIENTO SOBRE LAS SUPRARREALES

Tomados en conjunto, los resultados muestran que el tratamiento con reserpina indujo disminución de la concentración de ácido ascórbico en las suprarrenales, comparado con el grupo testigo absoluto y el tratado con vehículo (3.03 ± 0.13 vs 3.8 ± 0.25 o 3.43 ± 0.12 , $P < 0.01$).

No se observaron diferencias en las concentraciones de colesterol. La concentración plasmática de corticoides fue significativamente mayor en los animales tratados con vehículo o reserpina, comparados con el grupo testigo absoluto (102.81 ± 6.19 o 85.8 ± 4.25 vs 49.98 ± 5.7 , $P < 0.01$).

GRAFICA No. 5: ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (media + e.e.m.) EN LOS CUERPOS ESTRIADOS DE RATAS ADULTAS MANTENIDAS EN REGIMEN DE LUZ INVERTIDO Y TRATADAS UNA VEZ CON RESERPINA O VEHICULO EN UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO.



Sin embargo, los valores observados en los animales tratados con reserpina fueron significativamente menores que los tratados con vehiculo (85.8 ± 4.25 vs 102.81 ± 6.19 , $P < 0.01$) (tabla 6).

En las tablas 3, 4 y 5 se muestran los valores de ácido ascórbico, colesterol y corticoides obtenidos en los grupos experimentales tratados con vehiculo o reserpina adistintas horas del ciclo estral, autopsiadas en el día del estro esperado.

TABLA No. 3:

Media \pm e.e.m. de las concentraciones de colesterol y ácido ascórbico en suprarrenales y corticoides en suero de ratas adultas tratadas con reserpina (RSP) o vehículo (V) a diferentes horas de los días del ciclo estral y autopsiadas en el día del siguiente estro esperado.

	COLESTEROL (μ g/mg)	ACIDO ASCORBICO (μ g/mg)	CORTICOIDES (ng/ml)
V	3.68 \pm 0.19 *	3.43 \pm 0.12	102.81 \pm 6.19 *
RSP	3.49 \pm 0.17	3.03 \pm 0.13 **	85.80 \pm 4.25 **
Testigo	2.74 \pm 0.43	3.80 \pm 0.25	49.98 \pm 5.70

* P < 0.05 vs testigo absoluto

** P < 0.05 vs vehículo.

TABLA No. 4:

Media \pm e.e.m. de la concentración de ácido ascórbico en suprarrenales de ratas adultas mantenidas en régimen de luz invertido y tratadas una sola vez con reserpina (RSP) o vehículo (V), a distintas horas (H), en uno de los días del ciclo estral (D) y autopsiadas en el día del estro esperado.

Trat.	D	H	ACIDO ASCORBICO ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tejido)
Control absoluto			3.80 \pm 0.25
V RSP	E	06:00	2.81 \pm 0.27 * 3.27 \pm 0.50
V RSP	E	10:00	4.58 \pm 1.07 4.17 \pm 0.49
V RSP	E	22:00	3.04 \pm 0.21 * 2.18 \pm 0.23 **
V RSP	D1	06:00	3.08 \pm 0.21 * 3.15 \pm 0.40
V RSP	D1	10:00	3.54 \pm 0.27 1.80 \pm 0.22 **
V RSP	D1	22:00	3.81 \pm 0.12 3.07 \pm 0.17 **
V RSP	D2	06:00	2.93 \pm 0.15 * 4.19 \pm 0.34 **
V RSP	D2	10:00	2.99 \pm 0.21 * 3.85 \pm 0.11
V RSP	D2	22:00	4.97 \pm 0.45 * 3.04 \pm 0.42 **
V RSP	F	06:00	4.03 \pm 0.20 3.50 \pm 0.37
V RSP	F	10:00	2.99 \pm 0.20 * 2.57 \pm 0.28
V RSP	F	06:00	2.60 \pm 0.33 * 1.13 \pm 0.29 **

* P < 0.05 vs Control

** P < 0.05 vs vehículo.

TABLA No.5:

Media \pm e.e.m. de la concentración de colesterol en suprarrenales de ratas adultas mantenidas en régimen de luz invertido y tratadas una sola vez con reserpina (RSP) o vehículo (V), a distintas horas (H), en uno de los días del ciclo estral (D) y autopsiadas en el día del estro esperado.

Trat.	D	H	COLESTEROL ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tejido)
Control absoluto			2.74 \pm 0.43
V	E	06:00	3.02 \pm 0.38
RSP			3.58 \pm 0.25
V	E	10:00	3.68 \pm 0.97
RSP			3.26 \pm 0.70
V	E	22:00	3.98 \pm 0.48 *
RSP			2.97 \pm 0.36
V	D1	06:00	3.36 \pm 0.36
RSP			3.29 \pm 0.31
V	D1	10:00	2.39 \pm 0.58
RSP			6.44 \pm 0.51 **
V	D1	22:00	3.29 \pm 0.44
RSP			2.15 \pm 0.44
V	D2	06:00	3.41 \pm 0.22
RSP			2.99 \pm 0.24
V	D2	10:00	3.67 \pm 0.50
RSP			3.00 \pm 0.56
V	D2	22:00	2.47 \pm 0.33
RSP			2.21 \pm 0.23
V	P	06:00	3.17 \pm 0.23
RSP			3.32 \pm 0.23
V	P	10:00	7.08 \pm 0.93 *
RSP			8.22 \pm 0.52
V	P	22:00	4.01 \pm 0.41 *
RSP			3.66 \pm 0.62

* P < 0.05 vs control

** P < 0.05 vs vehículo

TABLA No. 6:

Media \pm e.e.m. de la concentración de corticoides en suero de ratas adultas mantenidas en régimen de luz invertido y tratadas una sola vez con reserpina (RSP) o vehículo, a distintas horas (H), en uno de los días del ciclo estral y autopsiadas en el día del estro esperado.

Trat.	D	H	CORTICOIDES (ng/ml)
Control absoluto			49.98 \pm 5.70
V RSP	E	06:00	98.70 \pm 14.35 * 83.87 \pm 17.34
V RSP	E	10:00	44.91 \pm 4.35 69.25 \pm 2.83
V RSP	E	22:00	89.82 \pm 19.37 * 64.63 \pm 9.45
V RSP	D1	06:00	135.77 \pm 29.01 * 126.43 \pm 12.36
V RSP	D1	10:00	69.00 \pm 13.30 74.25 \pm 11.23
V RSP	D1	22:00	80.95 \pm 25.35 66.70 \pm 11.63
V RSP	D2	06:00	99.17 \pm 17.60 * 101.59 \pm 4.78
V RSP	D2	10:00	96.57 \pm 16.13 * 120.25 \pm 10.86
V RSP	D2	22:00	146.16 \pm 15.95 * 80.45 \pm 12.23 **
V RSP	F	06:00	168.44 \pm 23.29 * 73.62 \pm 16.7 **
V RSP	F	10:00	66.71 \pm 9.99 * 55.00 \pm 6.10
V RSP	p	22:00	93.60 \pm 19.32 * 95.50 \pm 17.30

* P < 0.05 vs control
** P < 0.05 vs vehículo.

DISCUSION

Estudios de diversos autores han mostrado que el bloqueo de la síntesis o la liberación de catecolaminas estimulan o inhiben la secreción de gonadotropinas y la ovulación, resultados que dependen del sistema catecolaminérgico en estudio (11,14,16,19). Los resultados de estos estudios derivan de modelos experimentales en los que se mantienen a los animales en condiciones de luz-obscuridad semejantes al ritmo diurno natural. Sin embargo, se ha observado que el bloqueo de la secreción de LH y la ovulación por la administración de neurofármacos, presenta un periodo crítico que depende del ciclo luz-obscuridad (14,14a,33,41).

En el presente estudio la administración de reserpina en animales mantenidos en condiciones de luz invertida provocó efectos diferentes sobre la ovulación en el día del estro esperado. Las modificaciones inducidas por el bloqueo catecolaminérgico dependieron de la hora y del día del ciclo estral en que se estudió al animal. Estos resultados indican que el desplazamiento del fotoperiodo modifica la secreción de las

gonadotropinas, la respuesta del ovario a las mismas, o ambas, en el mismo sentido del desplazamiento del ciclo luz-obscuridad.

El efecto del bloqueo de la ovulación provocado por la reserpina en los animales mantenidos en luz invertida, respecto a aquellos mantenidos en luz normal, muestra un desplazamiento aproximado de 12 h. En los animales mantenidos en luz normal, la reserpina bloquea la ovulación esperada en el día del estro cuando se administró en la tarde o la noche del D1. En condiciones de luz invertida, este mismo efecto ocurre desde las primeras horas del D1 hasta las 10:00 h del D2; es decir, que el animal mantenido en condiciones de luz invertida puede ser más sensible al efecto del fármaco, ya que es posible bloquear la ovulación durante 8 horas más que en el animal sujeto a iluminación habitual.

En ambas condiciones de iluminación, la reserpina no bloquea la ovulación en el siguiente estro esperado cuando se administra en la mañana del E del ciclo anterior. Este mismo efecto se observa cuando se tratan a los animales en la noche del D2 (condiciones de luz normal) o mañana del D2 (condiciones de luz invertida) o en el proestro, independientemente del ciclo de luz-obscuridad.

Estudios del ciclo vaginal en cobayas mantenidas en condiciones de iluminación habitual e invertida, mostraron el mismo tipo de desplazamiento observado en el presente estudio (17).

La regulación de la síntesis y la liberación de gonadotropinas es estimulada por la coparticipación de la

noradrenalina y los estrógenos. Stefano y Donoso (46) mostraron que la concentración de noradrenalina en el hipotálamo anterior de la rata varía a lo largo del ciclo estral. Tomando en cuenta estos resultados podemos suponer que en el periodo en que el contenido de noradrenalina hipotalámica es menor, el sistema hipotálamo-hipófisis-ovario es mucho más sensible a cualquier manipulación experimental que en los otros días del ciclo. Es decir, que la falta del estímulo de la noradrenalina altera diferentes mecanismos neuroendócrinos que en condiciones normales culminan en la ovulación. Es como si el sistema necesitara de ese periodo de estimulación noradrenérgica para desencadenar la serie de mecanismos que ocurren durante el día del proestro. Domínguez y col. (16) mostraron que en la rata mantenida en condiciones "normales" de iluminación es posible recuperar la ovulación en el animal tratado con reserpina, por el tratamiento secuencial con gonadotropinas.

Además de la inhibición de la secreción de gonadotropinas, es posible que la reserpina haya provocado aumento de la secreción de prolactina, la cual al actuar sobre el cuerpo lúteo del ovario, estimuló la secreción de progesterona y de esta forma se bloqueó la ovulación ya que se conoce que la administración de 1.5 mg de progesterona en el D1 retrasa la ovulación por 24 h. (18a).

La concentración de noradrenalina en el folículo ovárico disminuye al aumentar la FSH plasmática, lo que sugiere que la noradrenalina a nivel de ovario ejerce un papel inhibitorio sobre la unión de la FSH a su receptor en las células de la granulosa.

Esta idea no se contrapone a los resultados de este estudio si se toma en consideración que la falta de noradrenalina a nivel central inhibió la liberación de gonadotropinas y por lo tanto, aún cuando la concentración del neurotransmisor disminuyó en el ovario, no existió suficiente hormona que indujera el desarrollo folicular, la síntesis de estrógenos y la ovulación.

En la rata adulta, el bloqueo catecolaminérgico previo a la administración de FSH induce el aumento del número de ovocitos liberados, lo que apoya la idea que las catecolaminas modulan de manera inhibitoria los receptores a FSH (11).

Diversos estudios sugieren que en el NSCh se localiza el reloj endógeno que controla la función de varias glándulas, entre ellas el ovario. El punto de equilibrio de este reloj biológico puede ser desplazado por diferentes factores. A partir de los resultados del presente estudio, se podría proponer que la función del reloj depende del momento en que se inicia la fase de luz o la de oscuridad. A su vez, el efecto de la depleción de las catecolaminas provocada por la reserpina sobre la ovulación, se desplaza en la misma forma que lo hace la relación luz-oscuridad, por lo que las modificaciones neuroendócrinas que provoca la reserpina dependen del punto de equilibrio del reloj endógeno.

En animales mantenidos en condiciones de iluminación de 08:00 a 20:00 h, Owasoy y col. (36) mostraron que la actividad de la AChE disminuye durante la fase oscura, fenómeno que fué relacionado con el ciclo actividad-reposo de la rata. En nuestro caso, los animales mantenidos en condiciones de iluminación

invertida (16:00 a 06:00 h) muestran que el tratamiento con vehículo, a las 3 horas de iniciarse la fase obscura, en el E, D1 D2 y P aumenta la actividad AChE en el hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados en el día del siguiente estro esperado. Este efecto se repite al inyectar a los animales una hora después de iniciada la fase de luz en el D1 y D2, mientras que la administración de vehículo en cada día del ciclo estral 5 h después de iniciada la fase de luz no modificó la actividad de la enzima.

La reserpina administrada en la fase escotópica del E o D2 eliminó el aumento de la actividad de la AChE observada en los animales tratados con vehículo. Estos resultados sugieren que el control de los sistemas catecolaminérgico y colinérgico del sistema nervioso central, en esa hora de los días del ciclo, son dependientes.

Existe una relación directamente proporcional entre el aumento de la actividad AChE del hipotálamo y el porcentaje de animales que no ovulan en el día del E esperado, lo que sugiere que el sistema colinérgico en animales mantenidos en iluminación invertida, juega un papel inhibitorio sobre la respuesta del ovario a las gonadotropinas.

Los resultados obtenidos del estudio de la concentración de colesterol y ácido ascórbico en la suprarrenal y de corticoides circulantes, permiten suponer que en el modelo en estudio la simple administración del vehículo provocó un fenómeno de estrés, el cual no fué potenciado por la reserpina. Resultados de diferentes autores han mostrado que la

administración aguda de reserpina provoca hipersecreción de ACTH (22, 25). Dado que la reserpina no sólo actúa a nivel de sistema nervioso central, sino también a nivel periférico, es posible pensar que el fármaco al actuar sobre la suprarrenal afecta la síntesis o la secreción de corticoides.

CONCLUSIONES

- La modificación del fotoperiodo en el que se mantuvo a los animales desplazó los efectos del bloqueo catecolaminérgico provocado por la reserpina sobre la secreción de gonadotropinas, la respuesta del ovario a las mismas, o ambas, en el mismo sentido del desplazamiento del ciclo luz-obscuridad.
- Existe una relación directamente proporcional entre el aumento de la actividad AChE en el hipotálamo y el número de animales que no ovulan en respuesta al bloqueo de las catecolaminas.
- Los efectos provocados por el estrés sobre la actividad AChE del hipotálamo, el cerebelo y los cuerpos estriados y sobre la concentración de glucocorticoides son neutralizados por el tratamiento con reserpina y los efectos de ésta dependen de la hora y del día del ciclo en el que los animales fueron tratados.
- Existe una interdependencia en la participación de los sistemas catecolaminérgico y colinérgico en la modulación de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del ovario.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ABELL, L.L., (1952). "Simplifical method for estimation of cholesterol total in serum and demonstration his especificity". J. Biol. Chem. 195: 357-366.
- 2.- AHLERS, I., SMAJDA, B., y AHLERSOVA, E. (1980). "Circadian rhythm of plasma adrenal corticosteroids in rats: effects of restricted feeding". *Endocrinologia Experimentalis*. 14:183-189.
- 3.- BAHAR, J. y BEN-JONATAN, N. (1981). "Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat". *Endocrinology* 108 (5):1815-1820.
- 4.- BARRACLOUGH, Ch.A. (1973). "Sex steroid regulation of reproduction neuroendocrine processes". *Handbook of Physiology*. Sec. 7, Vol. II, Part 1, chap. 2. American Physiological Society, Washington, D.C. p.29-56.
- 5.- BARRACLOUGH, Ch.A. (1983). "The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion". *Acta Morphologia Hungara*, 31: 101-116.
- 6.- BRADFORD, M.M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantiting of protein utilizing the principle of 'protein dye binding'". *Analytical Biochem.* 72:248-254.
- 7.- BROWN-GRANT, K., DAVIDSON, J. y GREIG, F. (1973). "Induced ovulation in albino rats exposed to constant light". *J. Endocrinology*. 57:7-22.
- 8.- BURDEN, H.W. (1978). "Ovarian innervation". *The vertebrate Ovary, Comparative Biology*. Ed. R.E. Jones. Plenum Press. N.Y. Chap. 18:615-630.
- 9.- CARDINALI, D. VACAS, M. LOWEINSTEIN, P. ESTEVEZ, B. (1979). "Control neurohumoral de la glandula pineal". *Acta Fisiol. Latinoam.* 29:291-304.
- 10.- COHEN, I.R. y MANN, D.R. (1981). "Influence of corticosterone on the response to gonadotropine-release hormone rats". *Neuroendocrinology*. 32:1-6.
- 11.- CHAVEZ, R. CRUZ, E. y DOMINGUEZ, R. (1987). "Modifications of the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats". *La Rev. Invest. Clin.* 39. En prensa.

- 12.- DAVIS, H., MEMMOT, J., MCFADDEN, L. y LEVINE, S. (1976). "Pituitary adrenal activity under different appetitive extinction procedures". *Physiology and Behavior*. 17:687-690.
- 13.- D'OCCHIO, N., SCHANBACHER, B. y KINDER, S. (1984). "Profiles of LH, FSH, testosterone y prolactin in rams of diverse breeds. Effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods". *Biology of Reprod.* 30:1039-1054.
- 14.- DOMINGUEZ, R., ZIPITRIA, D., RIBONI, L. y REVILLA, R. (1982). "Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the estrous cycle of the rat". *J. Interdiscipl. Cycle Res.* 16:63-72.
- 14a.- DOMINGUEZ, R., RIBONI, L., ZIPITRIA, D. y REVILLA, R. (1982). "Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat?". *J. Endocr.* 95: 175-180.
- 15.- DOMINGUEZ, R., CHAVEZ, R. y CRUZ, M. A. E. (1987). "Regulación del crecimiento y el desarrollo folicular". *Lab. de Biol. de la Rep.* ENEP Zaragoza UNAM. En prensa.
- 16.- DOMINGUEZ, R., GAITAN, C., MENDEZ, S. A. y ULLOA-AGUIRRE, A. (1987). "Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol throughout estrous cycle, on ovulation and gonadotropine levels in the rat". *J. of Endocrinology*. 113: 37-44.
- 17.- DONOVAN, R. T. y LOCKHART, A. M. (1972). "Light and timing of ovulation in the guinea pig". *J. Reprod. Fert.* 30:207-211.
- 18.- EISENSTEIN, A. B. (1967). "The adrenal cortex". Ed. Little, Brown and Co. Boston, USA. p.685.
- 18a.- EVERETT, J. M. (1948). "Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat". *Endocrinology*. 43:389-405.
- 19.- EVERETT, J., SAWYER, C. y MARKEE, J. (1949). "A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat". *Endocrinology*. 44:234-250.
- 20.- FEDER, H. H. (1981). "Estrous cyclicality in mammals". *Neuroendocrinology of reproduction, physiology and behavior*. Chap. 10. Ed, Adler N.T. Plenum Press. N.Y. p.279-333.
- 21.- GUYTON, A. C. (1971). "Tratado de fisiología médica". 4a. ed. Ed. Interamericana, Mexico D.F. p.920-950.

- 12.- DAVIS,H.,MEMMOT,J.,McFADDEN,L. y LEVINE,S. (1976). "Pituitary adrenal activity under different appetitive extinction procedures". *Physiology and Behavior*. 17:687-690.
- 13.- D'OCCHIO,N.,SCHANBACHER,B. y KINDER,S. (1984). "Profiles of LH, FSH, testosterone y prolactine in rams of diverse breeds. Effects of contrasting short (8L:16D) and long (16L:8D) photoperiods". *Biology o f Reprod*. 30:1039-1054.
- 14.- DOMINGUEZ,R. ZIPITRIA,D. RIBONI,L. y REVILLA,R. (1982). "Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the estrous cycle of the rat". *J. Interdiscipl.Cycle Res*. 16:63-72.
- 14a.-DOMINGUEZ,R. RIBONI,L. ZIPITRIA,D Y REVILLA,R. (1982). "Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat?". *J. Endocr*. 75: 175-180.
- 15.- DOMINGUEZ,R. CHAVEZ,R. y CRUZ,Ma.E. (1987). "Regulacion del crecimiento y el desarrollo folicular". *Lab. de Biol. de la Rep. ENEP Zaragoza UNAM*. En prensa.
- 16.- DOMINGUEZ,R. GAITAN,C., MENDEZ,S.A. y ULLDA-AGUIRRE,A.(1987). "Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol troughout estrous cycle, on ovulation and gonadotropine levels in the rat". *J. of Endocrinology*. 113. 37-44.
- 17.- DONOVAN,R.T. y LOCKHART,A.M. (1972). "Light and timing of ovulation in the guinea pig". *J. Reprod.Fert*. 30:207-211.
- 18.- EINSENSTEIN,A.B. (1967). "The adrenal cortex". ED. Little, Brown and Co. Boston, USA. p.685.
- 18a.-EVERETT,J.M. (1948). "Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat". *Endocrinology*. 43:389-405.
- 19.- EVERETT,J. SAWYER,C. y MARKEE,J. (1949). "A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat". *Endocrinology*. 44:234-250.
- 20.- FEDER,H.H. (1981). "Estrous cyclicity in mammals ". *Neuroendocrinology of reproduction, physiology and behavior*". Chap. 10. Ed, Adler N.T. Fleum Press. N.Y. p.279-333.
- 21.- GUYTON,A.C. (1971). "Tratado de fisiologia medica". 4a.ed. Ed. Interamericana, Mexico D.F. p.920-950.

- 22.- GLIK,D., LEDLICH,D. y LEVINE,S. (1964). "Fluorometric determination of corticosterone and cortisol in 0.02-0.05 ml of plasma or submilligrams samples of adrenal tissue". *Endocrinology*. 74:653-655.
- 23.- GOODMAN,J. y GILMAN,G.(1980). "Pharmacological bases of therapeutic". Chap.4 sec. II. 6a.ed. McMillan Pub.Co.Inc. New York.USA. p.56-90
- 24.- HEDGE,A.G. y SMELIK,G.P. (1968). "Corticotropine release: inhibition by intrahypotalamic implantation of atropin". *Science* . 159:891-892.
- 25.- HILLHOUSE,E.,BURDEN,J. y JONES,M. (1975). "The effects of various putative neurotransmitters on the release of CRH from the hypothalamus of the rat 'in vitro'. I. The effect of acetylcholine and noradrenaline". *Neuroendocrinology*. 17: 1-11.
- 26.- HOFFMANN,C.J. (1970). "Light and reproduction in the rat". *Biology of reproduction*. 8:473-480.
- 27.- HOFFMANN,C.J., (1973). "The influence of photoperiods on reproductive functions in female rats". *Handbook of Physiology*. Sec. 7. Vol. II. Part.1. Chap. 3. American Physiological Society. Washington, D.C. p.57-77.
- 28.- HOFFMANN,J., KORDON,C. y BONOIT,S. (1968). "Effects of diferernts photoperiods and blinding on ovarian and testicular functions in normal and testosterone treated rats". *General and Comparative Endocrinology*. 10:109-118.
- 29.- JACKLET, J.W. (1981). "Circadian timing by endogenous oscillators in the nervous system toward cellular mechanisms". *Reference Biol. Bull.* 160:199-227.
- 30.- JONES,M., HILLHAM,B. y HILLHOUSE,E. (1977). "The nature of corticotropine releasing factors from rat hypothalamus 'in vitro'". *Federation Proceedings*. 36:2104-2109.
- 31.- JORDAN,A.W. (1981). "Changes in ovarian B-adrernergic receptors during the estrous cycle of the rat". *Biology of Reproduction*. 24:245-248.
- 32.- KING,B.A. (1969). "The effects of exogenous dopamine on ACTH secretion". *P.S.E.B.M.* 130:445-447.
- 33.- LAWTON,E.I. (1972). "Facilitory feedback effects of adrenal and ovarian hormones on LH secretion". *Endocrinology*. 90: 575-579.

- 34.- MALETTA,S. y TIMIRAS,E. (1966). "Acetyl and d- butiril-cholinesterasa activity of selected brain areas in developing rats after neonatal X-irradiation". *Journal of Neurochemistry*. 13:75-84.
- 35.- NAUMENKO,E.V. (1966). "Role of adrenergic and cholinergic structures in the control of the pituitary-adrenal system". *Endocrinology* . 80:69-76.
- 36.- OWASOYO,J. OKONMAH,A. SOLIMAN,K. y WALKER,C. (1980). "Circadian variation in the acetylcholinesterase activity of specific rat brain areas". *J. Interdiscipl. Cycle Res.* 11:251-256.
- 37.- QUAY,W.B. (1984). "Pineal function in mammals: a reconsideration". *Pineal Research Review*. 2:187-112.
- 38.- RAPS,D. BARTHE,P. y DESAULLES,P. (1971). "Plasma and adrenal corticosterone levels during the different phases of the sexual cycle in normal female rats". *Experientia*. 27:339-340.
- 39.- RIBONI,L. y DOMINGUEZ, R. (1983). "La inervacion del ovario y su influencia en los mecanismos de control de su funcion". *Memorias de la VIII Reunion Anual de la A.I.B.I.R., A.C. Gro.Mexico*. 344-369.
- 40.- RINGSTROM,J. y SCHWARTS,N. (1984). "Examination of prolactin and pituitary-adrenal axis components and intervening variables in the adrenalectomy-induced inhibition of gonadotropin response to castration". *Endocrinology*. 114:880-887.
- 41.- SAWYER, C. Y CLIFTON,D. (1980). "Aminergic innervation of the hypothalamus". *Fed. Proc.* 39:2889-2895.
- 42.- SCHAFFERT,R. y KINGLEY,R. (1955). "A rapid, simple method for the determination of reduced, dyhydro, and total asorbic acid in biological material". *J.Biol.Chem.* 212:59-68.
- 43.- SCOTT, M.B. (1986). "Chronobiology".Ed. Earl Bakken,Royer Publications. Minn. USA. pp.
- 44.- SERRA, G.B. (1983). "The ovary". Raven Press. New York. USA.p.59-111.
- 45.- SMELIK, G.P. (1967). "ACTH secretion after depletion of hypothalamic monoamines by reserpine implants". *Neuroendocrinology* 12:247-254.

- 46.- SMITH,E.R. DOMINGUEZ,R. y LEVINE,S. (1973). "Effects of water restriction on reproductive function in female rats". Neuroendocrinology. 12:41-51.
- 47.- STEFANO,F. y DONOSO,A. (1967). "Norepinephrine levels in the rat hypothalamus during the estrous cycle". Endocrinology. 81:1405-1406.
- 48.- TAKAHASHI,J. y MENAKER,M. (1984). "Circadian rhythmicity". Vol. 3 b. Chap. 8 .Plenum Publishing Corp. pp.285-303.
- 49.- VAUGHAN, N.K. (1981). "The pineal gland. A survey of its antigonadotropic substances and their actions". Inter. Rev. of Physiology. 24:41-95.