

2
2g.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Escuela Nacional de Estudios Profesionales
Zaragoza.

INFLUENCIA DE LA INERVACION NORADRENERGICA
DEL OVARIO SOBRE LA PUBERTAD ESPONTANEA E
INDUCIDA EN EL RATON NORMAL e HIPOTIMICO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

Miguel Soledad Arguello Cornejo

Directores de Tesis:

Dr. Roberto Dominguez Casala

M. en C. Patricia Rosas Saucedo

MEXICO, D. F.

1987



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.

I N D I C E

RESUMEN	i
INTRODUCCION	1
HIPOTESIS	9
OBJETIVOS	9
METODOLOGIA	10
RESULTADOS	12
DISCUSION	23
CONCLUSIONES	28
BIBLIOGRAFIA	29

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la posible participación de la inervación noradrenérgica del ovario y del timo sobre la pubertad del ratón. Como modelos experimentales se utilizaron animales normales (et/+) y desnudos atímicos (et/et).

La desnervación noradrenérgica periférica provocada por la administración de 20 mg/kg peso de guanetidina desde el nacimiento, provocó el adelanto de la pubertad en las hembras atímicas y no la modificó en las normales. La administración de gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG) indujo el adelanto de la pubertad y del primer estro vaginal tanto en los animales normales como en los atímicos. En los animales normales de 16 días de edad, el tratamiento con PMSG indujo apertura vaginal adelantada pero no la ovulación. En cambio, los animales desnervados de igual edad y tratamiento sí lo hicieron. En los animales atímicos de 30 días de edad también desnervados, la inyección de PMSG adelantó la edad de la apertura vaginal pero los animales no ovularon. El tratamiento con benzoato de estradiol adelantó la edad de la apertura vaginal en ambos modelos animales, pero retrasó la edad del primer estro vaginal y no modificó la capacidad ovulatoria, tanto de los animales enteros como de los desnervados.

Estos resultados sugieren que la reactividad normal del ovario del animal prepúber es modulada tanto por la inervación noradrenérgica del órgano, como por sustancias liberadas por el timo.

INTRODUCCION

La pubertad es la fase biológica del individuo en la cual se presentan una serie de eventos neuroendocrinos y fenotípicos que enlazan la inmadurez con la madurez sexual. En los roedores el inicio de la pubertad se caracteriza por la canalización vaginal y la hinchazón y el cambio de color de la membrana vaginal antes de su ruptura (Blandau y Money, 1943).

El inicio del proceso puberal es modulado por varios factores tanto internos como externos. Así, la herencia parece tener un papel fundamental en la regulación del inicio de los eventos que culminan con la pubertad (Stone y Barker, 1940) y se ha observado que la nutrición, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales como el fotoperíodo en el que se desarrollan los animales, pueden modificar el inicio de este proceso (Brackman y Hoffman, 1977; Vanderbergh, 1983; Evans, 1986; Rosas y col., 1987a).

El hipotálamo es el centro regulador de las funciones reproductivas, aunque existen estructuras extrahipotalámicas como la amígdala y el hipocampo, que también participan en dicho proceso (Gorski, 1974).

La regulación de las funciones de los ovarios depende de los mecanismos de homeostasis que existen entre el SNC (hipotálamo y

regiones extrahipotalámicas), la hipófisis y los propios ovarios (Malven, 1970).

La pubertad está regulada por diversos mecanismos neuroendocrinos, en los que participan tanto las gonadas como el sistema hipotálamo-hipófisis. Durante este periodo hay un aumento de la sensibilidad de las gonadas a las gonadotropinas, factor que para algunos autores es primordial en la prosecución de la misma (Odell y Swerdloff, 1974).

En el animal prepúber disminuye el efecto inhibitorio que normalmente ejercen los estrógenos sobre la secreción de las gonadotropinas. A medida que el animal crece, aumentan las dosis de estrógenos o andrógenos necesarios para impedir el incremento de los niveles sanguíneos de gonadotropinas que siguen a la castración (Ramírez y McCann, 1963). Además, durante la pubertad espontánea aumentan los niveles plasmáticos de gonadotropinas y disminuyen la concentración de la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropinas [GnRH] y en la hipófisis la de gonadotropinas, eventos que también se observan en los animales prepúberes tratados con estrógenos (Ramírez y Sawyer, 1965; Corbin y Daniels, 1969; Eldridge y col. 1974). Estos y otros resultados llevaron a Goldman (1981) y Ojeda y col. (1983) a sostener que un animal inmaduro es muy sensible al efecto inhibitorio de los esteroides gonadales, lo que provoca que los niveles plasmáticos de gonadotropinas sean bajos. Durante la pubertad, los estrógenos secretados por el ovario activan el componente central estimulador de la secreción de las

gonadotropinas, lo que resulta en el aumento de los niveles plasmáticos de las mismas. Este incremento se acompaña de la aceleración del crecimiento y la maduración folicular que culmina con la primera ovulación.

La acción bifásica de los estrógenos se ejerce a nivel de Sistema Nervioso Central (SNC), específicamente en el hipotálamo (Malven, 1970), y a nivel de la hipófisis (Davidson y col.1970). Resultados obtenidos por Davidson (1969), quien realizó implantes de estrógenos en el hipotálamo, sugieren que su efecto estimulador sobre la pubertad se ejercería en la región preóptica y la eminencia media. Los resultados de los estudios de Donovan y Van der Werff ten Bosch (1965) y Kato y col (1967, 1970, 1971) apoyan la hipótesis anterior. Las lesiones en el hipotálamo anterior de ratas prepúberes de 14-15 días de edad, inducen el adelanto en la edad de la apertura vaginal respecto a los animales testigo (Donovan y Van der Werff ten Bosch, 1965). A su vez, la incorporación de estradiol marcado en los animales de 25 días de edad aumenta significativamente en el hipotálamo anterior y la eminencia media, lo que no se observa en otras regiones hipotalámicas ni en el cerebelo (Kato y col.1967, 1970, 1971).

El ovario es un órgano constituido por tres compartimientos:

- a- el folicular, formado por los folículos en todas las etapas de desarrollo, desde primordiales hasta preovulatorios
- b- el luteal o cuerpo lúteo que es una estructura glandular que se forma a partir de las células de la granulosa y de la teca interna de los folículos que han liberado al ovocito

c- el intersticial o glándula intersticial que está formado por células de la teca interna de los folículos con antro atrésicos (Feder, 1981).

La periodicidad que se observa en los cambios funcionales y estructurales de los ovarios depende del ritmo de secreción de las hormonas foliculoestimulante (FSH), la luteinizante (LH) y la luteotrópica o prolactina secretadas por la adenohipófisis, a las que se les denomina Gonadotropinas (Guyton, 1971).

El desarrollo de los folículos es estimulado por la FSH y la LH. Se inicia con el crecimiento del ovocito, seguido de la proliferación de las células de la granulosa o foliculares. Alrededor de éstas se encuentran las células tecales, cuyo número aumenta hasta conformar la teca interna y la teca externa. Las células foliculares y el ovocito carecen de vascularización directa, mientras que las células de la teca interna están ricamente irrigadas.

Por efectos de la trasvasación de agua, sales y algunas proteínas plasmáticas desde los capilares hacia el interior del folículo, además de la secreción de las propias células foliculares, éstas son separadas y se forma una cavidad denominada antro folicular, la cual contiene el líquido folicular. El tamaño del antro folicular aumenta a medida que el folículo se desarrolla y cuando alcanza su máximo se le denomina folículo de de Graff o preovulatorio. Estas etapas del desarrollo son reguladas por la FSH, la LH y la prolactina. En algunos folículos su crecimiento y maduración culminan con la expulsión

del ovocito II (ovulación), proceso que es precedido por el aumento brusco de los niveles circulantes de FSH, LH y prolactina (Guyton, 1971).

En las células de la teca interna se sintetizan andrógenos a partir de acetato o colesterol, los cuales pasan al interior del folículo donde son aromatizados a estrógenos por las células foliculares (Feder, 1981).

En el ovario también se han observado terminales nerviosas adrenérgicas y colinérgicas (Koelle, 1978). De estas últimas no se conoce exactamente su origen, ni su participación en los mecanismos de regulación de la función del órgano. Los nervios adrenérgicos que llegan al ovario provienen del plexo ovárico y del nervio ovárico superior que corre a través del ligamento suspensorio. Las fibras del plexo ovárico siguen el trayecto de la arteria ovárica y juntas penetran por el hilo del ovario (Neilson y col., 1970; Burden, 1978; Lawrence y Burden, 1980).

Los resultados de los estudios de sección de los nervios ovárico superior realizados en animales prepúberes, sugieren que las fibras noradrenérgicas que llegan al ovario por esta vía, regulan de manera estimulante la capacidad de síntesis de hormonas esteroideas, mientras que las modificaciones en la cantidad de receptores adrenérgicos que se presentan en el ovario del animal prepúber, facilitarían su respuesta a las gonadotropinas (Aguado y col. 1982; Aguado y Ojeda, 1984).

Uno de los métodos más ampliamente utilizado en el estudio de la regulación central o periférica de la función del ovario es

la administración de fármacos que pueden potenciar o bloquear el estímulo del neurotransmisor en la sinapsis. La guanetidina es un bloqueador de tipo adrenérgico exclusivamente periférico, ya que no atraviesa la barrera hemato-encefálica. Actúa a nivel de los gránulos de almacenamiento intraneuronales desplazando y substituyendo a la noradrenalina. Dado que la guanetidina puede ser liberada por el estímulo nervioso se le clasifica como "transmisor falso". Las respuestas globales después de su administración son: la disminución de la liberación del neurotransmisor en las terminales nerviosas adrenérgicas y el aumento de la sensibilidad de las células efectoras al mismo (Koelle, 1978; Nickerson y Collier, 1978; Rodriguez, 1984).

La administración crónica de guanetidina a ratas adultas provoca alteración del ciclo estral y disminución del número de ovocitos liberados en forma espontánea (Dominguez y Zipitria, 1980; Ayala y col., 1986). En estos animales, la respuesta ovulatoria y de aumento del peso del ovario al estímulo secuencial con FSH y LH fue semejante al de los animales testigo (Ayala y col. 1986), mientras que en aquellos estimulados con hormona del suero de yegua preñada (PMSG) y 56 horas más tarde con gonadotropina coriónica humana (hCG), los resultados dependieron del tiempo transcurrido entre la finalización del tratamiento con guanetidina y la prueba ovulatoria (Dominguez y Zipitria, 1980).

En la regulación del proceso reproductor de los mamíferos, además de las gonadotropinas, las hormonas esteroideas y algunos

neurotransmisores también participarían polipéptidos de origen extragonadal, algunos de los cuales se originan en el timo. Esta interpretación se apoya en los siguientes hechos:

a- el timo involuciona después de la pubertad o por la administración de progesterona, testosterona, estrógenos o corticoides (Ham, 1975; Janardana y Sirsi, 1961; Chambers y Clarke, 1979; Grossman y col., 1983). En cambio en los animales adrenalectomizados, castrados o ambos se observa hipertrofia del timo (Ishidate y Metcalf, 1963).

b- la administración *in vitro* de polipéptidos tímicos a cultivos de hipotálamo-hipófisis, estimula la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de gonadotropinas (Rebar y col., 1981a; Romano y Mendoza, 1987).

c- la timectomía en ratones hembra recién nacidos retarda la maduración sexual (Besedovsky y Sorkin, 1974), induce disgénesis ovárica, foliculogénesis anormal y reduce o nulifica la fertilidad (Sakakura y Nishizuka, 1972; Lintern-Moore, 1977). En los machos, el mismo tratamiento reduce los niveles circulantes de testosterona cuando el animal es adulto (Besedovsky y Sorkin, 1974; Pierpaoli y Besedovsky, 1975)

En la ENEP Zaragoza se tiene un mutante de la cepa de ratón blanco CDI denominado et/et, que presenta características reproductivas similares a las del ratón normal como son la fertilidad, el periodo de gestación y el número de crías por camada. Mientras que la pubertad, medida por la edad de la apertura vaginal, está retrasada en comparación con sus hermanas

normales. En la región tímica, el macho presenta un rudimento tímico mientras que en las hembras se observa un nódulo linfático (Rosas y col. 1987b). Este mutante comparte algunas de las características fenotípicas de la cepa de ratones "nu/nu" descrita por Flanagan (1966), pero a diferencia de éstos los et/et viven y se reproducen en las condiciones convencionales de un bioterio, presentan mayor fertilidad y longevidad, aún que la que se obtiene en los nu/nu mantenidos en condiciones de esterilidad (Rosas y col., 1987b).

Dado que la inervación catecolaminérgica en el ovario modula su reactividad a la acción de las gonadotropinas, que esta inervación parece participar de manera diferente en un animal prepúber y en un animal adulto y además que la ausencia del timo retarda la pubertad, se decidió estudiar la participación tanto del sistema adrenérgico como del timo en este proceso.

HIPOTESIS

La respuesta del ovario del animal prepùber desnervado a las gonadotropinas endògenas y exògenas serà diferente dependiendo de la presencia o ausencia del timo.

OBJETIVOS

-- Analizar la reactividad del ovario al estímulo gonadotrópico en ratones prepùberes normales y atímicos.

-- Analizar los efectos de las gonadotropinas endògenas o exògenas en animales prepùberes normales y atímicos con desnervación noradrenérgica crónica.

METODOLOGIA

Se utilizaron ratones hembra normales et/+ y desnudos atímicos et/et mantenidos en fotoperiodo controlado de 14 h de luz y 10 h de obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), que tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

A todos los grupos de animales tratados y testigos sin tratamiento, se les registró el día de la apertura vaginal y se tomaron frotis vaginales diarios. Grupos de animales testigos fueron sacrificados al primer estro y a las edades correspondientes a las que fueron tratados los animales experimentales. Todos los fármacos fueron inyectados por vía subcutánea entre las 09.00 y 10.00, excepto que se indique otra hora. A la autopsia se diseccionaron y pesaron los ovarios, el útero, las adrenales y el timo. En los oviductos se buscó la presencia de ovocitos con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Grupos experimentales:

1. Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la pubertad espontánea

Ratones normales y desnudos atímicos recién nacidos fueron tratados diariamente con guanetidina (Ciba-Geigy de México) [20 mg/kg peso corporal] hasta la presencia del primer estro vaginal, momento en el cual se realizó la autopsia.

2. Estudio de la pubertad inducida por la administración de

hormona del suero de yegua preñada (PMSG)¹ y la respuesta ovulatoria de hembras prepúberes et/+ y et/et

Hembras et/+ de 20 y 25 días y hembras et/et de 30 y 35 días de edad fueron tratadas con 5 u.i. PMSG (Sigma Chemical Co., San Luis, Missouri). Las diferencias en las edades del tratamiento de los animales et/+ y et/et se basan en los resultados de la apertura vaginal espontánea [figura 1]. Todos los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal.

Figura 1

Días a la apertura espontánea	previos vaginal					A.V.	
-----	-----	/ 10 /	-----	/ 5 /	-----	/ 0 /	
edad del et/+ (días)		-----	/ 20 /	-----	/ 25 /	-----	/ 29 /
edad del et/et (días)		-----	/ 30 /	-----	/ 35 /	-----	/ 39 /

3. Estudio de la respuesta del ovario de ratones et/+ y et/et a la administración secuencial de gonadotropinas

Un grupo de ratones et/+ fueron inyectados con 5 u.i de PMSG a los 16 días y otro fue tratado con PMSG a los 16 días y con 3 u.i. de gonadotropina coriónica humana (hCG, Sigma Chemical Co., San Luis, Missouri) 54 h después. Un grupo de hembras de et/et 30 días recibió el mismo tratamiento. Todos los animales fueron autopsiados en el día del primer estro vaginal.

* PMSG = pregnant mare serum gonadotrophin

** hCG = human chorionic gonadotrophin

4. Estudio de los efectos de la administración de estrógenos sobre la pubertad y la ovulación en ratones et/+ y et/et.

Lotes de hembras et/+ y et/et de 16 y 30 días de edad respectivamente, fueron inyectadas con 50 ng de benzoato de estradiol (BE) (Syntex de México). Los animales se autopsiaron en el primer día del estro vaginal.

5. Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la pubertad inducida y la respuesta ovulatoria a las gonadotropinas o a los estrógenos.

Grupos de animales et/+ de 16 días de edad y grupos de ratones et/et de 30 días, tratados con guanetidina desde el nacimiento, fueron inyectados con PMSG o BE en las mismas dosis que en los experimentos 1 y 3. Los animales fueron autopsiados en el día del primer estro vaginal.

Los resultados obtenidos fueron analizados por la prueba de análisis de varianza seguida de la prueba de "t" de Student o la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue igual o menor al 5% (Meredith, 1977).

RESULTADOS

Efectos de la desnervación noradrenérgica periférica crónica sobre la pubertad espontánea.

La desnervación periférica inducida por la administración de

guanetidina, provocó el adelanto significativo de la pubertad en las hembras et/et y no la modificó en los et/+. En cambio, la edad del primer estro fue significativamente retardado en ambos grupos. La ovulación espontánea no se modificó por la desnervación tanto en los animales et/+ como en los et/et (Tabla I).

TABLA I. EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV), EL PRIMER ESTRO VAGINAL*, EL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (media±e.e.m.) Y LA TASA DE ANIMALES OVULANTES DE RATONES et/+ Y et/et DESNERVADOS POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO Y SIN TRATAMIENTO, AUTOPSIADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL.

GRUPO	EDAD AV	PRIMER ESTRO	NUMERO DE OVOCITOS	TASA DE ANIMALES OVULANTES
et/+	28.7±0.7	6.3±0.9	14	1/22
et/+ desnervado	28.4±1.3	10.7±1.4 ^a	9.0±1.4	4/25
et/et	39.5±0.7 ^a	4.0±2.0	9, 11	2/18
et/et desnervado	32.6±2.4 ^b	16.6±3.8 ^b	0	0/17

* días posteriores a la AV

a P<0.01 vs et/+

b P<0.001 vs et/et

No se observaron diferencias significativas en el peso de los ovarios, el útero y las adrenales de los animales con desnervación periférica respecto a su testigo (Tabla II).

TABLA II. MEDIA \pm e.e.m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES (mg/10g P.C.) DE RATONES et/+ Y et/et DESNERVADOS [inyectados con guanetidina desde el nacimiento] Y SIN TRATAMIENTO, AUTOPSIADOS EN EL DÍA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL.

GRUPO	N	OVARIOS	ÚTERO	ADRENALES
et/+	22	3.6 \pm 0.3	37.0 \pm 3.3	5.0 \pm 0.2
et/+ desnervado	25	4.1 \pm 0.3	36.3 \pm 2.6	4.9 \pm 0.2
et/et	18	3.7 \pm 0.2	27.6 \pm 2.4	4.8 \pm 0.3
et/et desnervado	17	4.3 \pm 0.6	30.4 \pm 3.9	5.5 \pm 0.5

Efectos de la administración de gonadotropinas sobre la pubertad y la ovulación

La administración de PMSG provocó el adelanto de la pubertad y del primer estro vaginal tanto en los animales et/+ de 20 y 25 días como en los et/et de 30 y 35 días de edad. En todos los animales tratados, la apertura vaginal se observó alrededor de las 72 horas luego de la administración de la PMSG (tabla III).

En el grupo de hembras et/+ de 20 días de edad, la administración de PMSG indujo la ovulación en 2 de 9 animales,

mientras que en los ratones tratados a los 25 días, 9 de 9 lo hicieron [P< 0.05]. En los animales et/et de 30 días, el mismo tratamiento no indujo ovulación y en los de 35 días 4 de 11 lo hicieron [P< 0.01 comparado con los et/+ de 25 días]. El número de ovocitos liberados por las hembras et/et y et/+ no fue significativamente diferente (tabla III).

TABLA III. EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV)*, EL PRIMER ESTRO VAGINAL**, EL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (media ± e.e.m.) Y LA TASA DE ANIMALES OVULANTES EN RATONES et/+ DE 20 Y 25 DIAS Y et/et DE 30 Y 35 DIAS DE EDAD TRATADOS CON 5 u.i. de PMSG.

GRUPO	AV	PRIMER ESTRO	NUMERO DE OVOCITOS	TASA DE ANIMALES OVULANTES
et/+ 20 d +PMSG	2.4±0.2	1.4±0.2	6, 11	2/9
et/et 30 d +PMSG	2.4±0.3	1.4±0.2	0	0/9
et/+ 25 d +PMSG	1.8±0.2	1.2±0.2	10.3±1.9	9/9
et/et 35 d +PMSG	2.8±0.3	0.5±0.2	8.0±1.4	4/11 ^a

* días posteriores a la administración de PMSG

** días posteriores a la AV

a P<0.001 vs et/+ de 25 d

El tratamiento con PMSG provocó el aumento significativo del peso de los ovarios en los animales et/+ de 25 y et/et de 30 días

de edad, lo cual no se observó en los animales tratados a los 20 o 35 días de edad. El peso de los úteros incrementó significativamente en todos los grupos de animales tratados excepto en los et/et de 35 días (Tabla IV).

TABLA IV. MEDIA \pm e.e.m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES (mg/10 g P.C) DE RATONES et/+ DE 20 Y 25 DÍAS Y et/et DE 30 Y 35 DÍAS DE EDAD TRATADOS CON 5 u.i. DE PMSG Y SIN TRATAMIENTO.

GRUPO	N	OVARIOS	ÚTERO	ADRENALES
et/+ 20 d	9	7.0 \pm 1.1	13.1 \pm 1.1	6.7 \pm 0.7
et/+ 20 d +PMSG	9	8.3 \pm 0.9	33.0 \pm 3.7 ^b	5.3 \pm 0.6
et/et 30 d	8	3.0 \pm 0.4	6.3 \pm 1.0	4.4 \pm 0.5
et/et 30 d +PMSG	9	5.1 \pm 0.5 ^c	34.2 \pm 1.4 ^c	4.4 \pm 0.4
et/+ 25 d	9	5.0 \pm 0.4	10.7 \pm 1.0	5.5 \pm 0.4
et/+ 25 d +PMSG	9	6.6 \pm 0.5 ^a	31.8 \pm 2.6 ^a	5.5 \pm 0.4
et/et 35 d	7	6.7 \pm 1.2	21.9 \pm 2.4	10.2 \pm 1.6
et/et 35 d +PMSG	11	4.9 \pm 0.6	29.2 \pm 2.9	6.6 \pm 0.7

a P<0.05 vs et/+ de 25 d

b P<0.001 vs et/+ de 20 d

c P<0.001 vs et/et de 30 d

En los animales et/+ de 16 días, la administración de PMSG

provocó el adelanto de la edad de la apertura vaginal y del primer estro, pero ninguno de los animales tratados ovuló, respuesta semejante a la de los animales et/et de 30 días de edad. En cambio, el tratamiento secuencial con PMSG y hCG indujo la ovulación en el 65% de los animales. Sin embargo, el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue significativamente mayor en los animales et/+ (tabla V).

TABLA V. EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV)*, EL PRIMER ESTRO VAGINAL** , EL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (media±e.e.m.) Y LA TASA DE ANIMALES OVULANTES DE RATONES et/+ DE 16 DIAS Y et/et DE 30 DIAS DE EDAD TRATADOS CON 5 u.i. DE PMSG + 3 u.i. DE hCG.

GRUPO	AV	PRIMER ESTRO	NUMERO DE OVOCITOS	TASA DE ANIMALES OVULANTES
et/+ 16 d +PMSG	3.0±0.0	1.0±0.0	0	0/9
et/et 30 d +PMSG	2.4±0.3	1.4±0.2	0	0/9
et/+ 16 d +PMSG+hCG	3.0±0.0	0.3±0.2	18.4±2.2	5/8
et/et 30 d +PMSG+hCG	2.9±0.3	0.5±0.2	8.0±1.2 ^a	7/11

* días posteriores a la administración de PMSG

** días posteriores a la AV

a P<0.001 vs et/+ con PMSG+hCG

En todos los animales que recibieron la administración secuencial de gonadotropinas se observó aumento del peso de los ovarios, del útero y de las adrenales en los et/et (tabla VI).

TABLA VI. MEDIA \pm e.e.m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES (mg/10 g P.C) DE RATONES et/+ DE 16 DÍAS Y et/et DE 30 DÍAS DE EDAD TRATADOS CON 5 u.i. DE PMSG O CON 5 u.i. DE PMSG + 3 u.i. DE hCG Y SIN TRATAMIENTO.

GRUPO	N	OVARIOS	ÚTERO	ADRENALES
et/+ 16 d	9	5.4 \pm 0.5	11.1 \pm 0.9	5.3 \pm 0.5
et/+ 16 d +PMSG	9	10.5 \pm 0.8 ^a	56.2 \pm 3.9 ^a	6.8 \pm 0.6
et/+ 16 d +PMSG+hCG	8	10.1 \pm 0.6 ^a	37.9 \pm 4.8 ^{ab}	6.8 \pm 0.4
et/et 30 d	8	3.0 \pm 0.4	6.3 \pm 1.0	4.4 \pm 0.5
et/et 30 d +PMSG	9	5.1 \pm 0.5 ^c	34.2 \pm 1.4 ^c	4.4 \pm 0.4
et/et 30 d +PMSG+hCG	11	6.7 \pm 1.1 ^c	23.5 \pm 1.6 ^{cd}	7.1 \pm 0.7 ^{cd}

a P<0.001 vs et/+ de 16 d

b P<0.001 vs et/+ de 16 d tratado con PMSG

c P<0.001 vs et/et de 30 d

d P<0.001 vs et/et de 30 d tratado con PMSG

Efectos de la desnervación noradrenérgica por GID sobre la pubertad inducida por la administración de PMSG.

La desnervación periférica crónica desde el nacimiento no

modificó el adelanto de la apertura vaginal inducida por la administración de PMSG en ninguno de los grupos estudiados. Todos los animales et/+ abrieron vagina en estro, mientras que los et/et presentaron el estro vaginal 48 horas después de la apertura.

El peso de los ovarios, del útero y de las adrenales fue significativamente mayor en los animales tratados con guanetidina que en sus testigos de igual edad (tabla VII).

TABLA VII. MEDIA \pm e. e. m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES (mg/10 g P.C) DE RATONES et/+ DE 16 DÍAS Y et/et DE 30 DÍAS DE EDAD DESNERVADOS [inyectados con guanetidina desde el nacimiento] Y SIN TRATAMIENTO.

GRUPO	N	OVARIOS	ÚTERO	ADRENALES
et/+ 16 d	9	5.4 \pm 0.5	11.1 \pm 0.9	5.3 \pm 0.5
et/+ 16 d desnervado	9	8.0 \pm 0.4 ^a	16.6 \pm 0.6 ^a	8.1 \pm 0.5 ^a
et/et 30 d	8	3.0 \pm 0.4	6.3 \pm 0.1	4.4 \pm 0.5
et/et 30 d desnervado	9	7.2 \pm 0.6 ^b	12.5 \pm 1.0 ^b	8.8 \pm 0.3 ^b

a P < 0.001 vs et/+ de 16 d

b P < 0.001 vs et/et de 30 d

El 75% de los animales et/+ desnervados que fueron tratados con PMSG a los 16 días de edad ovularon. Este hecho no se observó

en los animales et/et tratados con guanetidina y sometidos al mismo tratamiento a los 30 días (Tabla VIII).

TABLA VIII. EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV)*, EL PRIMER ESTRO VAGINAL**, EL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (mediate.e.m.) Y LA TASA DE ANIMALES OVULANTES EN RATONES et/+ DE 16 DIAS Y et/et DE 30 DIAS DE EDAD TRATADOS CON 5 u.i. DE PMSG QUE FUERON DESNERVADOS DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA

GRUPO	AV	PRIMER ESTRO	NUMERO DE OVOCITOS	TASA DE ANIMALES OVULANTES
et/+ 16 d +PMSG	3.0±0.0	1.0±0.0	0	0/9
et/et 30 d +PMSG	2.4±0.3	1.4±0.2	0	0/9
et/+ 16 d desnervado + PMSG	2.9±0.1	0	10.8±2.3 ^a	6/8 ^a
et/et 30 d desnervado + PMSG	2.2±0.4	1.8±0.2	0 ^b	0/9 ^b

* días posteriores a la administración de PMSG

** días posteriores a la AV

a P<0.001 vs et/+ de 16 d

b P<0.001 vs et/+ de 16 d desnervado y tratado con PMSG

No se observaron diferencias significativas en el peso de los ovarios y adrenales de los animales et/+ o et/et. Sin

embargo, el peso del útero disminuyó en los animales tratados con guanetidina y PMSG (tabla IX).

TABLA IX. MEDIA \pm e.e.m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES (mg/10g P.C) DE RATONES et/+ DE 16 DIAS Y et/et DE 30 DIAS DE EDAD DESNERVADOS DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA Y NO TRATADOS, INYECTADOS CON 5 u.i. DE PMSG.

GRUPO	N	OVARIOS	UTERO	ADRENALES
et/+ 16 d +PMSG	9	10.5 \pm 0.8	56.2 \pm 3.9	6.8 \pm 0.6
et/+ 16 d desnervado + PMSG	8	10.4 \pm 0.7	39.5 \pm 2.3 ^a	6.8 \pm 0.5
et/et 30 d +PMSG	9	5.1 \pm 0.5	34.2 \pm 1.4	4.4 \pm 0.4
et/et 30 d desnervado + PMSG	9	5.8 \pm 0.9	28.3 \pm 3.7	5.8 \pm 1.0

a P<0.001 vs et/+ tratado con PMSG

Efectos de la desnervación noradrenérgica provocada por la administración de guanetidina en la pubertad inducida por BE.

La administración de BE adelantó la edad de la apertura vaginal en todos los animales tratados, aunque en todos los grupos se observó el retraso de la aparición del primer estro vaginal. La tasa de animales ovulantes en los animales tratados con BE fue similar a la de los ratones que presentaron pubertad

espontánea (tabla X).

TABLA X. EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV)*, EL PRIMER ESTRO VAGINAL**, EL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS (media±e.e.m.) Y LA TASA DE ANIMALES OVULANTES EN RATONES et/+ DE 16 DIAS Y et/et DE 30 DIAS DESNERVADOS DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE BUANETIDINA Y SIN TRATAMIENTO, INYECTADOS CON 50 ng DE BENZOATO DE ESTRADIOL (BE).

GRUPO	AV	PRIMER ESTRO	NUMERO DE OVOCITOS	TASA DE ANIMALES OVULANTES
et/+ 16 d +BE	6.4±2.2	20.9±5.1	3, 12	2/9
et/et 30 d +BE	3.8±0.3	11.0±4.4	4, 9	2/8
et/+ 16 d desnervado + BE	2.4±0.2	13.8±5.4	10, 10	2/9
et/et 30 d desnervado + BE	2.8±0.2	18.5±3.3	0	0/8

* días posteriores a la administración de BE

** días posteriores a la AV

La desnervación periférica no modificó de manera significativa los efectos de la administración de BE sobre la pubertad, la ovulación y el peso de órganos (tablas X y XI).

TABLA XI. MEDIA \pm e.e.m. DEL PESO DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES (mg/10 g P.C) DE RATONES et/+ DE 16 DIAS Y et/et DE 30 DIAS DE EDAD DESNERVADOS DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA Y SIN TRATAMIENTO, INYECTADOS CON 50 ng DE BENZOATO DE ESTRADIOL (BE).

GRUPO	N	OVARIOS	UTERO	ADRENALES
et/+ 16 d +BE	9	4.6 \pm 1.0	35.7 \pm 4.8	6.2 \pm 0.6
et/+ 16 d desnervado + BE	9	5.7 \pm 0.7	36.1 \pm 2.9	5.5 \pm 0.4
et/et 30 d +BE	8	5.1 \pm 0.9	24.6 \pm 4.6	6.6 \pm 1.0
et/et 30 d. desnervado + BE	8	3.3 \pm 0.4	31.4 \pm 5.6	4.3 \pm 0.4

DISCUSION.

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman lo observado previamente sobre el retraso en la edad de la apertura vaginal en los animales atimicos et/et respecto a los et/+ (Rosas y col.1987b). El retardo en la pubertad también ha sido descrito en las hembras de la cepa de ratones mutantes atimicos o hipotimicos nu/nu (Besedovsky y Sorkin, 1974; Rebar y col. 1981b). La posibilidad que el timo participe en los mecanismos que regulan la pubertad es apoyada por el hecho que la timectomia en los animales recién nacidos la misma esta retrasada y que el injerto de timo en los animales congénitamente atimicos la

normaliza (Besedovsky y Sorkin, 1974; Pierpaoli y Besedovski, 1975; Rebar y col.1980, 1981b)

Diversos autores han mostrado que la inervación catecolaminérgica que recibe el ovario, modula la capacidad esteroidogénica del órgano (Aguado y col.1982; Ojeda y col.1983; Aguado y Ojeda, 1984) y su respuesta ovulatoria tanto a las gonadotropinas endógenas como exógenas (Dominguez y Zipitria, 1980; Ayala y col.1986; Chávez y col.1987).

Los resultados de este estudio muestran que la desnervación noradrenérgica periférica desde el nacimiento, provocada por la administración de guanetidina, indujo el adelanto de la pubertad en los animales atímicos, lo cual no se observó en los normales. Este adelanto en la edad de la canalización vaginal puede indicar aumento en la síntesis y secreción de estrógenos. Según Aguado y Ojeda (1984), la desnervación catecolaminérgica del ovario provoca la hipersensibilización del órgano debido al aumento en el número de receptores adrenérgicos, por lo que las catecolaminas circulantes cualquiera sea su origen, modularían de manera estimulante la reactividad del ovario a las gonadotropinas, independientemente que sus niveles plasmáticos sean bajos. Dado que el adelanto de la pubertad por la desnervación noradrenérgica sólo se observó en los animales atímicos, es posible suponer que la influencia del timo y la noradrenalina sobre la capacidad secretora del ovario prepúber sean inversas. Sin embargo, el retardo en la aparición del primer estro vaginal tanto en los animales et/+ como en los et/et

desnervados, sugiere que la falta de inervación catecolaminérgica periférica impidió el cierre del circuito neuroendocrino necesario para la secreción esteroidogénica. El hecho que los animales tratados con PMSG adelantaron la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal, lo que no sucedió en los animales tratados con benzoato de estradiol, apoya esta interpretación. En ratas adultas la administración de guanetidina altera la ciclicidad y los animales presentan etapas prolongadas de diestro (Ayala y col., 1986).

Diversos estudios realizados en ratones prepúberes de 20 y 25 días de edad han mostrado que la administración de PMSG induce el adelanto de la pubertad (Sasamoto, 1969, 1972). Nuestros resultados concuerdan con esos datos, ya que se observó que el tratamiento de los animales normales con PMSG a los 16, 20 o 25 días provocó el adelanto de la apertura vaginal y del primer estro vaginal. Una respuesta semejante se obtuvo cuando los animales atímicos de 30 o 35 días de edad, recibieron un tratamiento similar, lo que significaría que la capacidad esteroidogénica del ovario del animal atímico en respuesta a las gonadotropinas exógenas es semejante a la de los animales normales. Rebar y col. (1980) sugieren que el retraso en la edad de la apertura vaginal en los animales hipotímicos nu/nu se debe a los bajos niveles de gonadotropinas circulantes en el periodo prepupal. Nuestros resultados apoyan en parte esta interpretación.

En la rata prepúber de 28 a 30 días de edad, el tratamiento

con PMSG o BE, además de provocar el adelanto de la apertura vaginal, también lo hace con la ovulación. Tanto en los efectos de la PMSG como de los estrógenos, existe un componente neuroendocrino propio del animal, ya que estos pueden ser bloqueados por la inyección de barbitúricos en el periodo crítico del proestro que antecede al estro vaginal (Ramírez, 1973).

El tratamiento con PMSG indujo el adelanto de la edad de la ovulación en los animales et/+ de 20 o 25 días de edad y en los atímicos (et/et) de 35 días. En cambio, los ratones normales de 16 días y los atímicos de 30 no ovularon espontáneamente luego del estímulo con PMSG. Sin embargo, tanto los animales de 16 como de 30 días de edad fueron capaces de ovular cuando se les administró hCG luego del estímulo con PMSG. Este hecho sugiere que a las edades antes mencionadas, el circuito neuroendocrino responsable de regular la liberación pulsátil de gonadotropinas que induce la ovulación no ha alcanzado su maduración, aunque el ovario ya lo ha hecho.

La capacidad ovulatoria de los animales atímicos [medida por la tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número de animales tratados) y por el número de ovocitos liberados por animal ovulante] es menor que la de los animales normales. Estos resultados podrían explicarse por la alteración en el proceso de foliculogénesis descrito en el animal atímico nu/nu y en los animales timectomizados al nacimiento (Sakakura y Nishizuka, 1972; Pierpaoli y Besedovsky, 1975). Sin embargo, el número de crías por parición espontánea es semejante en los

animales et/+ y et/et (Rosas y col.1987b). Resultados obtenidos in vitro indican que ciertos polipeptidos producidos por el timo pueden estimular la secreción del factor liberador de gonadotropinas o potenciar su acción (Rebar y col.1981a; Romano y Mendoza, 1987) lo cual se traduciría en una mayor liberación de gonadotropinas por la hipófisis. Con base a nuestros resultados, esta explicación podría aplicarse al animal prepúber, pero no al adulto.

En los animales et/+ de 16 días con desnervación noradrenérgica crónica desde el nacimiento, el estímulo del ovario con PMSG se tradujo en la ovulación espontánea en el 75% de los animales tratados, hecho que no se presentó en los ratones atímicos de 30 días con desnervación y estímulo gonadotrópico. En los animales normales "desnervados" y tratados con PMSG, la tasa de animales ovulantes fue similar a la de los animales de la misma edad tratados con PMSG y hCG, aunque el número de ovocitos liberados fue significativamente mayor en estos últimos. En cambio, los animales atímicos "desnervados" no responden con ovulación espontánea al estímulo con PMSG, aunque los que no fueron tratados con guanetidina si lo hicieron cuando recibieron el tratamiento secuencial con PMSG y hCG. Estos hechos podrían ser interpretados como una falla en el cierre del circuito neuroendocrino responsable de la ovulación en los animales sin timo, ya que el ovario parece responder normalmente a las gonadotropinas. Lo anterior pone nuevamente de manifiesto la interrelación que existe entre el timo, la inervación

noradrenérgica del ovario y los mecanismos que regulan la función de este último tanto en su capacidad secretora de hormonas, como en su capacidad ovulatoria.

CONCLUSIONES

- Las hembras desnudas atímicas et/et presentan retardo de la pubertad espontánea respecto a las normales.
- La capacidad esteroidogénica del ovario del animal atímico et/et prepúber es similar a la del prepúber normal.
- La capacidad ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) de las hembras atímicas prepúberes en respuesta al estímulo gonadotrópico es menor y al parecer se encuentra retardada respecto a las hembras et/+ prepúberes.
- El timo participa en la regulación de la respuesta ovárica a la acción de las gonadotropinas en el ratón normal prepúber.
- Al parecer las terminaciones nerviosas noradrenérgicas del ovario en el animal normal prepúber regulan de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas.

BIBLIOGRAFIA

- AGUADO, L. I. y OJEDA, S. R. 1984. Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*, 114; 1845-1853.
- AGUADO, L. I., PETROVIC, S. L. y OJEDA, S. R. 1982. Ovarian β -adrenergic receptors during the onset of puberty: Characterization, distribution and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology*, 110; 1124-1132.
- AYALA, M. E., RIBONI, I. y DOMINGUEZ, R. 1986. Papel de la innervación noradrenérgica en la regulación del crecimiento folicular en la rata adulta entera o hemicastrada con autoinjerto de ovario. *Memorias de la XI Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Pto. Vallarta Jal. Méx.*; 224-248.
- BESEDOVSKY, H. O. y SORKIN, E. 1974. Thymus involvement in female sexual maturation. *Nature*, 249; 356-358.
- BLANDAU, R. J. y MONEY, W.L. 1943. The attainment of sexual maturity in the female albino rat as determined by the copulatory response. *Anat. Record.*, 86; 215.
- BRACKMAN, M. y HOFFMAN, K. 1977. Pinealectomy and photoperiod influence testicular development in the Djungarian hamster. *Naturwissenschaften*, 64; 431-432.
- BURDEN, H. W. 1978. Ovarian innervation. En: *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology and Evolution*. R. J. Jones ed. Plenum Press, N. Y. London; Chap. 18; 615-638.
- CORBIN, A. y DANIELS, E. L. 1969. Induction of puberty in immature female rat: Effect of estrogen on pituitary FSH and Stalk-Median-Eminence FSH-Releasing Factor. *Neuroendocrinology*, 4; 65-74.
- CHAMBERS, S. P. y CLARKE, A. G. 1979. Measurement of thymus weight, lumbar node weight and progesterone levels in syngeneically pregnant, and pseudopregnant mice. *J. Reprod. Fert.* 55; 309-315.
- CHAVEZ, R., CRUZ, M. E. y DOMINGUEZ, R. 1987. Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats. *La Rev. Inv. Clin.*, 39; 149-153.

- DAVIDSON, J. M. 1969. Feedback control of gonadotrophin secretion. En: *Frontiers in Neuroendocrinology*; ed. W. E. Ganong y L. Martini, N. Y. Oxford Univ. Press; 343-388.
- DAVIDSON, J. M., WEICK, R. F., SMITH, E. R. y DOMINGUEZ, R. 1970. Feedback mechanisms in relation to ovulation. (Symposium on control of ovulation). *Fed. Proc.*, 29; 1900.
- DOMINGUEZ, R. y ZIPITRIA, D. 1980. Longterm effects of Guanethidine administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS Medical Science*, 8; 352.
- DONOVAN, B. T. y VAN DER WERFF TEN BOSCH, J. J. 1965. *Physiology of Puberty*; London. Arnold.
- ELDRIDGE, J. Ch., Mc PHERSON III, J. C. y MAHESH, V. B. 1974. Maturation of the negative feed back control of gonadotrophin secretion in the female rat. *Endocrinology*, 94; 1536-1540.
- EVANS, A. L. 1986. Age at puberty and first litter size in early and late paired rats. *Biol. of Rep.*, 34; 322-326.
- FEDER, H. H. 1981. Estrous cyclicity in mammals. En: *Neuroendocrinology of Reproduction*. N. T. Adler ed. Cap. 10. Plenum Press; N. Y.; 279-333.
- FLANAGAN, S. P. 1966. "Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet. Res.* 8; 295-309.
- GOLDMAN, B. D. 1981. Puberty. En: *Neuroendocrinology of Reproduction*. Adler, N. T. Plenum Press. N. Y. y London; 229-239.
- GORSKI, R. A. 1974. Extrahypothalamic influences on gonadotrophin regulation. En: *Control of the onset of Puberty*; John Wiley and Sons, N. Y.; 182-207.
- GROSSMAN, C. J., SHOLITON, I. J. y ROSELLE, G. A. 1983. Dihydrotestosterone regulation of thymocyte function in the rat mediation by serum factors. *J. Steroid. Biochem.* 11; 1459-1467.
- GUYTON, A. C. 1971. *Tratado de Fisiología Médica*; 4a ed.; Ed. Interamericana; México; 1084.
- HAM, A. W. 1975. *Tratado de Histología*; 6a ed.; Ed. Interamericana; México; 935.

- ISHIDATE, M. y METCALF, D. 1963. The pattern of lymphopoiesis in the mouse thymus after cortisone administration or adrenalectomy. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 41; 637-649.
- JANARDANA, S. T. y SIRSI, M. 1961. Comparison of the effect of ovariectomy and adrenalectomy on the thymus in young female rats, and a study of the part played by the thymus in body growth. *J. Endocrin.*, 22; 177-182.
- KATO, J. 1970. Estrogen receptors in the hypothalamus and hypophysis in relation to reproduction. *Proceedings of the third International Congress, Hamburg. Excerpta Medica International Congress Series No. 219; 764-773.*
- KATO, J., SUGIMURA, N. y KOBAYASHI, T. 1971. Changing pattern of the uptake of estradiol by the anterior hypothalamus, the median eminence and the hypophysis in the developing female rat. En: *Hormones in Development, Proceedings, Conference Nottingham, Sept. 1968. Ed. Hamburg y Barrington N. Y.; 689.*
- KATO, J. y VILLE, C. A. 1967. Preferential uptake of estradiol the anterior hypothalamus of the rat. *Endocrinology*, 80; 567.
- KOELLE, G. B. 1978. Transmisión neurohumoral y Sistema Nervioso Autónomo. En: *Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman y Gilman eds.; 4a ed; Ed. Interamericana; México; 1412.*
- LAWRENCE, I. E. y BURDEN, H. W. 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record*, 196; 51-59.
- LINTERN-MOORE, S. 1977. Effect of athymia on the initiation of follicular growth in the rat ovary. *Biol. of Rep.*, 17; 155-161.
- MALVEN, P. V. 1970. Interaction between endocrine and nervous system. *Bioscience*, 20; 595-601.
- MEREDITH, W. M. 1977. *Manual de Tablas Estadísticas. Ed. Trillas; México; 345.*
- NEILSON, D., SEEGAR-JONES, G., WOODRUF, J. D. y GOLDBERG, B. 1970. The innervation of the ovary. *Obst. and Gynecol. Surv.*, 25; 889-904.

- NICKERSON, M. y COLLIER, B. 1978. Fármacos que inhiben los nervios adrenérgicos y los órganos que éstos inervan. En: Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Goodman y Gilman; 5a. ed; Ed. Interamericana; México; 447-473.
- ODELL, W. D. y SWERDLOFF, R. S. 1974. The role of the gonads in sexual maturation. En: Control of the Onset of Puberty. John Wiley and Sons, N. Y.; 313-332.
- OJEDA, S. R., AGUADO, L. I. y SMITH, S. 1983. Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rat as a model. Neuroendocrinology, 37; 306-313.
- PIERPADI, W. y BESEDOVSKY, H. O. 1975. Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions. Clin. Exp. Immunol., 20; 323-338.
- RAMIREZ, V. D. 1973. Endocrinology of Puberty. En: Handbook of Physiology. American Physiological Society. Vol. II. Cap. 1; Washington; 1-28.
- RAMIREZ, V. y Mc CANN. 1963. A comparison of the regulation of luteinizing hormone(LH) secretion in immature and adult rats. Endocrinology, 72; 452-464.
- RAMIREZ, V. D. y SAWYER, C. H. 1965. Advancement of puberty in the female rat by estrogen. Endocrinology, 76; 1158-1168.
- REBAR, R. W., MORANDINI, I. C., BENIRSCHKE, K. y PETZE, J. E. 1980. Reduced gonadotropins in athymic mice: Prevention by thymic transplantation. Endocrinology, 107 (6); 2130-2132.
- REBAR, R. W. MIYAKE, A., LOW, T. y GOLDSTEIN, A. I. 1981a. Thymosin stimulate secretion of Luteinizing Hormone-Releasing Factor. Science. Vol. 214; 669-671.
- REBAR, R. W., MORANDINI, I. C. ERIKSON, G. F. y PETZE, J. E. 1981b. The hormonal basis of reproductive defects in athymic mice: Diminished Gonadotropin concentrations in prepubertal females. Endocrinology, 108 (1); 120-126.
- RODRIGUEZ, C. R. 1984. Vamedicum Académico de Medicamentos. Tomo I; UNAM; México; 418.
- ROMANO, M. C. y MENDOZA, M. E. 1987. Influencia del timo sobre la liberación de gonadotropinas por células cultivadas de adenohipófisis de rata. En: Memorias de la XII Reunión Anual de AIBIR, Sto. México; 137-155.

- ROSAS, P., ARGÜELLO, M. y DOMINGUEZ, R. 1987a. Respuesta del ovario de ratones desnudos atímicos prepúberes a la administración de gonadotropinas. Memorias de la XII Reunión Anual de AIBIR, Gto., México; 298-314.
- ROSAS, P., CASTELLANOS, P. y DOMINGUEZ, R. 1987b. On the existence of an spontaneous hairless ("nude") hypothalamic mutant mice from the CD1 strain, reared on conventional house animal conditions. Medical Science Research, 15; 553-554.
- SAKAKURA, T. y NISHIZUKA, Y. 1972. Thymic control mechanism in ovarian development: Reconstitution of ovarian dysgenesis in thymectomized mice by replacement with thymic and other lymphoid tissues. Endocrinology, 90; 431-437.
- SASAMOTO, S. 1969. Inhibition of hCG-induced ovulation by anti-hCG serum in immature mice pre-treated with PMSG. J. Reprod. Fert., 20; 271-277.
- SASAMOTO, S. 1972. Blood levels of PMS after a single injection into mice. Endocrinol. Japon., 19; 303-307.
- SMITH, E. R. y DAVIDSON, J. H. 1968. Role of estrogen in the cerebral control of puberty in female rats. Endocrinology, 82; 100-108.
- STONE, C. P. y BARKER, R. G. 1940. Change of the age of puberty in albino rats by selecting mating. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 44; 48-50.
- VANDERBERGH, J. G. 1983. Social factors controlling puberty in the female mouse. En: Hormones and Behaviour in Higher Vertebrates; Balthazart, Pröve y Gilles eds.; USA; 342-349.