

114  
2es.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EL EFECTO DE LA NALOXONA SOBRE LA SECRECIÓN  
PULSATIL DE PROLACTINA EN LA BORREGA CRIOLLA  
EN LA EPOCA DE ANESTRO

Tesis presentada ante la  
División de Estudios Profesionales de la  
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México  
para la obtención del título de  
Médico Veterinario Zootecnista

por

HUMBERTO GONZALEZ RUIZ

Asesor: M.V.Z VICTOR O. FUENTES HERNANDEZ.

México, D.F.

1995



FALLA DE ORIGEN



## **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.

## **DEDICATORIA**

**A MIS PADRES Y HERMANOS QUE  
ME HAN BRINDADO GRAN PARTE DE  
SU VIDA SIN CONDICIONES**

**A VICTOR, AL DR FUENTES Y A GUSTAVO CELIS  
QUIENES ME HAN BRINDADO LA  
OPORTUNIDAD DE DESARROLLARME  
COMO HE DESEADO**

**HAY HOMBRES QUE LUCHAN  
UN DIA Y SON BUENOS  
HAY HOMBRES QUE LUCHAN  
UN AÑO Y SON MEJORES  
HAY HOMBRES QUE LUCHAN  
MUCHOS AÑOS Y SON MUY BUENOS  
HAY HOMBRES QUE LUCHAN  
TODA LA VIDA ESOS SON LOS IMPRESCINDIBLES**

**BERTOLT BRECHT**

**NUNCA PERMITAS QUE TE QUITEN  
LO MAS VALIOSO QUE TIENES**

## CONTENIDO

	<u>página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS.....	10
DISCUSION.....	11
LITERATURA CITADA.....	15
GRAFICAS.....	19

## RESUMEN

GONZALEZ RUIZ HUMBERTO. El efecto de la naloxona sobre la secreción pulsátil de prolactina en la borrega criolla en la época de anestro. ( bajo la asesoría de : M.V.Z. Victor O. Fuentes Hernández).

El presente trabajo se realizó en el pueblo de Sto. Tomás Ajusco, con el objetivo de investigar el efecto de la naloxona sobre la secreción pulsátil de Prl, para determinar si se encontraba bajo el control de los opioides endógenos. Para esto se utilizaron 9 borregas criollas durante el anestro estacional; éstas fueron distribuidas al azar en grupos de 3 animales, a los que se les aplicaron 40µg de GnRH, 0.5 mg de naloxona y SSF respectivamente, repitiendo el tratamiento a las 12 horas. Se realizó una recolección de muestras sanguíneas cada 20 minutos durante 4 horas, mediante el RIA en fase sólida se determinaron las concentraciones plasmáticas de Prl. Con la aplicación de naloxona se logró una disminución de las concentraciones plasmáticas de Prl. Al someter los resultados a un análisis de Varianza con repeticiones se encontró una significancia  $P < .05$  entre grupos a partir de los 60 minutos posteriores a la aplicación del fármaco. Se concluye que la secreción de prolactina está controlada de alguna forma por los opioides endógenos, además la utilización de naloxona a dosis bajas puede ser selectiva hacia los receptores por los que tiene afinidad intrínseca

## INTRODUCCION

Entre las especies domésticas existen diferencias en cuanto a sus mecanismos de control reproductivos, los que en un momento dado son determinantes para su sobrevivencia. Muchas son las condiciones requeridas para mantener el equilibrio necesario para que cada especie animal pueda desarrollar el comportamiento adecuado de estro, y consecuentemente de apareamiento y reproducción. Entre los requerimientos más importantes se encuentran la nutrición y ambiente, entre otros. Cuando el animal capta, a través de sus receptores internos y externos los estímulos adecuados que indiquen que las condiciones son las más apropiadas, es cuando tienen la mayor capacidad de expresar su potencial reproductivo. Esto sucede cuando el sistema nervioso central (SNC) hace acopio de toda la información que recibe a través de sus receptores. De esta manera puede modular la secreción de las hormonas relacionadas con la reproducción; sobre todo las gonadotropinas<sup>1</sup>.

La secreción de las gonadotropinas puede ser modulada por hormonas producidas en el SNC y en el ovario mismo<sup>13</sup>.

Es de todos conocido después de múltiples observaciones experimentales, que la  $\beta$ -endorfina es un opioide endógeno secretado en el hipotálamo y que tiene la capacidad de inhibir la secreción de la hormona luteinizante (LH). Sin embargo, su

**FALTA PAGINA**

**No. 3 a la.....**



en los niveles de prolactina de duración ultracorta, esto posiblemente se deba al control de liberación anteriormente citado<sup>6</sup>.

En el caso específico de la oveja, y debido a sus características de ser una especie poliéstrica estacional, se ha demostrado que existe una disminución estacional en la concentración de Prl plasmática, como respuesta al acortamiento del periodo de luz del día, justo antes de que se inicie la época de empadre<sup>1,6,8,9</sup>.

Asimismo se ha propuesto que la hiperprolactinemia es un estado importante que puede suprimir la secreción de gonadotropinas durante el anestro estacional de esta especie<sup>4,9,12,15</sup>. Inclusive se han realizado estudios clínicos donde la hiperprolactinemia en la mujer se encuentra asociada a la ausencia de la menstruación, de la ovulación y de los episodios secretores de LH<sup>2,7</sup>. En estos casos la supresión farmacológica de la hiperprolactinemia ha permitido la reanudación de los ciclos normales de reproducción<sup>2,8,10</sup>.

Como se mencionó anteriormente es posible que la Prl sea de importancia en el establecimiento de los estados de anestro en la oveja, posiblemente aumente la sensibilidad del eje hipotálamo-hipofisiario al mecanismo de retroalimentación

negativa de los esteroides gonadales durante la época no reproductiva<sup>8</sup>. Se ha observado que durante el aumento de los niveles plasmáticos de prolactina disminuye la secreción pulsátil de LH, esto posiblemente como consecuencia de una disminución en la liberación de GnRH<sup>6,7,8,10</sup>. Esta disminución se ha correlacionado con la hiperprolactinemia, donde existe un aumento en la actividad de los opioides endógenos a nivel hipotalámico, alcanzando niveles elevados de  $\beta$ -endorfina. La  $\beta$ -endorfina al parecer promueve la liberación de prolactina activando los receptores opioides y se piensa que el sitio de acción de esos péptidos puede ser la región mediobasal del hipotálamo y que el tracto dopaminérgico del núcleo arcuato de la eminencia media del hipotálamo tiene participación en el control de la secreción de prolactina, hecho que se basa en que al ser inhibido farmacológicamente no se logra la supresión de los niveles de prolactina mediante el uso de antagonistas opioides<sup>2,4,5,10</sup>.

También se ha observado que en los casos de amenorrea asociada con hiperprolactinemia en la mujer, la aplicación de un agonista dopaminérgico como la bromocriptina, que es un inhibidor de la secreción de prolactina, ha logrado el reinicio de la actividad reproductiva<sup>8</sup>. Asimismo, Se ha logrado disminuir los niveles plasmáticos de Prl en la oveja durante la lactación temprana (26 días posparto), la utilización de grandes dosis (1.0mg/kg) de un antagonista opioide

como la naloxona, ha provocado una disminución de los niveles plasmáticos de prolactina, aumentando la liberación de GnRH<sup>3</sup>; el autor postula que ésto se debe a una disminución en la actividad de los opioides endógenos a nivel hipotalámico<sup>3</sup>. Ahora bien el GnRH ha sido relacionado con el control de la secreción de prolactina, ya que durante el estro se encuentran elevados los niveles de esta hormona, además se ha logrado disminuir los niveles de esta mediante el uso de antagonistas de GnRH, lo que sirve como soporte a esta propuesta<sup>4</sup>.

Los antagonistas opioides a dosis elevadas pueden presentar una actividad de agonista opioide produciendo efectos secundarios indeseables como malestar, vómito o inquietud entre otros síntomas, por lo tanto en humanos se usa 0.4mg como dosis total via intramuscular, con lo que, se logran resultados positivos y sin efectos secundarios en los pacientes<sup>5,8</sup>. Además en experimentos previos se ha observado que utilizando dosis bajas totales de naloxona(0.5mg) por via intramuscular se puede interferir con la presentación y duración del estro y con la libido<sup>1</sup>. Por este motivo consideramos de interés estudiar el efecto de la aplicación de dosis bajas de naloxona sobre la secreción pulsátil de Prolactina.

## HIPOTESIS.

El uso de dosis totales mínimas (0.5mg) de naloxona aplicadas por la vía intramuscular modificará la secreción pulsátil de Prolactina en la oveja durante su anestro estacional.

## OBJETIVO

Tratar de conocer el papel que desempeñan los opioides endógenos en el control de la secreción pulsátil de prolactina en la oveja criolla durante el anestro estacional.

## MATERIAL Y METODOS.

La investigación se realizó en el pueblo de Sto. Tomás Ajusco, en la delegación Tlalpan, D.F., ubicado a una altitud de 2760 m sobre el nivel del mar, con una latitud de 19° 13', longitud oeste de 99° 1' con una precipitación pluvial de 800 a 1200mm anuales y una temperatura de 13.7° C promedio. El lugar cuenta con

un clima semifrío-subhúmedo con lluvias en verano. El experimento se realizó en el mes de mayo, durante el anestro estacional.

Se utilizaron 9 ovejas criollas en la época de descanso reproductivo, las mismas que fueron distribuidas al azar en tres grupos. Los animales se mantuvieron en estabulación, entrapados en los comederos durante la experimentación, para tratar de evitar estrés por el manejo durante la obtención de las muestras sanguíneas.

Los animales fueron canulados utilizando un cateter intravenoso en vena yugular, el cual se colocó desde el dorso del animal para la obtención de las muestras sanguíneas. La canulación fue hecha 3 horas antes de la administración de la naloxona para tratar de evitar modificaciones ajenas a las producidas por la aplicación del fármaco. La cánula en todo momento contuvo solución salina heparinizada (100 U.I./ml), para evitar obstrucciones.

El grupo 1 fue medicado con 40 µg de GnRH por vía intravenosa. El grupo 2 se medicó con naloxona por vía intramuscular (0.5mg dosis total repitiéndola a las 12 horas). El grupo 3 sirvió como control aplicando solución salina fisiológica (vía intravenosa) ya que no produce ninguna modificación si es aplicada con gran

rapidez.. Todos fueron medicados tratando de hacerlo con la mínima variación de tiempo.

La toma de muestras de sangre fué por espacio de 4 horas . Se procedió a tomar muestras con un intervalo de 20 minutos iniciando una hora antes de la administración de los fármacos. Para observar los efectos de la segunda dosis los animales se medicaron de la misma forma que en la primera administración. Antes de cada muestreo se proporcionó una pequeña porción de alimento concentrado para tratar de disminuir los efectos negativos del estrés al que estuvieron sometidos . Los recipientes donde se contuvieron las muestras(4ml) estaban adicionados con 200 U.I. de heparina. Las muestras sanguíneas inmediatamente se sometieron a centrifugación a una velocidad de 2500rpm durante 15 minutos para la obtención del plasma. Las muestras se mantuvieron en congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  ( aproximadamente un mes)hasta su procesamiento. La detección de prolactina plasmática fué realizada con la técnica de RIA en fase sólida utilizando un "kit" comercial para prolactina procesando la muestra por duplicado para obtener mayor confiabilidad en los resultados.

## RESULTADOS

Las concentraciones plasmáticas de prolactina detectadas mediante el RIA se sometieron a un análisis de varianza con repeticiones con una confiabilidad de 95%,

Como se puede observar en la figura 1, la concentración plasmática de Prl en las ovejas que fueron medicadas con SSF, se mantuvo sin un cambio drástico

durante la duración de todo el experimento. Mientras que la Prl plasmática de las ovejas medicadas con naloxona se mantuvo sin cambio durante los primeros 100 minutos de muestreo, pero de allí en adelante se obtuvieron cambios con una tendencia a disminuir por debajo de los niveles controles y los medidos en las ovejas medicadas con GnRH. Esta baja se hace evidente y significativa a los 120, 180, 200, 220 y 240 minutos de observación.

En la figura 2 donde se ilustran los efectos de la naloxona a 2a dosis se observa más o menos un patrón similar al obtenido en ovejas que recibieron la primera dosis de naloxona y asimismo de GnRH; es decir, se aprecia una disminución en los niveles de Prl que empieza a hacerse significativa en el caso del

grupo medicado con naloxona a los 60 minutos posteriores a la aplicación del medicamento.

En cuanto al grupo que recibió GnRH se obtuvo una elevación de los niveles de Prl sin que lograrán significancia estadística.

## DISCUSION

Los datos obtenidos de las concentraciones plasmáticas de prolactina en los diferentes grupos experimentales, nos permiten observar que existe una tendencia a la disminución en los animales medicados con naloxona, este efecto es similar a hallazgos de otros investigadores, aún cuando en los experimentos reportados se utilizan dosis mucho mayores de naloxona (0.5-1.0mg/kg) a las empleadas en este trabajo (0.5mg dosis total, repetida a las 12 horas)<sup>5,7</sup>.

En todos los grupos se puede apreciar niveles hormonales de prolactina, los cuales inclusive se encuentran por encima de los valores reportados en anestro estacional(5-50ng/ml)<sup>6</sup>.



Ahora bien, se observa, que la aplicación de GnRH, logra un ligero aumento en los niveles de prolactina, lo que nos indica una posible interacción del GnRH en el control de la secreción de gonadotropinas hipofisarias, tomando en cuenta que cuando existen niveles elevados de dopamina; que es el inhibidor de la secreción de prolactina, los niveles de LH periféricos se encuentran disminuidos; Esto es observable durante la etapa de estro en el cual, en determinado momento de éste, cerca del pico preovulatorio de LH, los niveles sanguíneos de prolactina están elevados, lo que presupone que en un ciclo ultracorto de control en la secreción hormonal, el GnRH está también relacionado con la secreción de Prl<sup>6,8</sup>.

El inicio de la disminución de Prl observada en este trabajo a los 60 minutos resulta congruente con el momento de máximo efecto de la naloxona reportado al aplicarla en humanos por vía intramuscular<sup>2</sup>.

La acción de naloxona en dosis bajas puede ser explicada por una unión selectiva a los receptores  $\mu$  endorfinérgicos hipotalámicos dada su mayor afinidad.

La aplicación de la segunda dosis de naloxona se efectuó durante la noche, encontrando los niveles de Prl aumentados con respecto a los registrados durante la

primera aplicación, lo que coincide con hallazgos de otros investigadores que señalan que hay un aumento en los niveles de la hormona durante la noche<sup>1</sup>. Aunque muestran un comportamiento similar a la primera fase de experimentación en cuanto a los patrones de liberación.

La utilización de dosis bajas de naloxona podría tener efectos más cercanos a lo fisiológico y evita efectos secundarios indeseables<sup>2,3</sup>. Estas dosis podrían ejercer sus efectos modulando las reacciones endocrinas finas, como aquellas que se generan en el seno del Sistema Nervioso Central, y de esta forma jugar un papel importante en la fisiología reproductiva

## CONCLUSIONES.

Considerando los resultados obtenidos, se concluye que el control de la secreción de prolactina está influida por los opioides endógenos.

El uso de dosis bajas de naloxona logra disminuir los niveles plasmáticos de Prolactina, además de evitar efectos secundarios.

Los opioides endógenos, a través de la  $\beta$ -endorfina ejercen una acción sobre los aspectos reproductivos de los animales domésticos más importante de lo que se creía.

## LITERATURA CITADA.

1.-Brown, W. B. and Forbes, J. M: Diurnal variations of prolactin in growing sheep under two lighting regimes and the effect of pinealectomy. J. Endocr., 84: 91-99 (1980).

2.-Cook, C. B., Nippoldt, T. B., Kletter, G. B., Kelch, R. P. and Marshall, J. C: Naloxone increases the frequency of pulsatile luteinizing hormone secretion in women with hyperprolactinemia. JCE&M., 73: 1099-1105 (1991).

3.-Gómez, G. J. L: Efecto de la Naloxona sobre el Comportamiento Sexual de las Borregas Criollas con Estro inducido durante su Epoca de descanso Reproductivo. Tesis de Licenciatura. Fac de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1992.

4.-Grandison, L. and Guidotti, A Regulation of prolactin release by endogenous opiates. Nature., 270: 357-359 (1977).

5.-Gregg, D. W., Moss, G. E., Hudgens, R. E. and Malven, P. V: endogenous opioid modulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in postpartum ewes and cows. J. Anim. Sci., 63: 838-847 (1986).

6.-Lamming, G. E., Moseley, S. R. and Mc Neilly, J. R: Prolactin release in the sheep. J. Reprod. Fert., 40: 151-168 (1974).

7.-Mattioli, F. C. Galeati, G. and Seren, E: Effect of naloxone on plasma concentrations of prolactin and LH in lactating sows. J. Reprod. Fert., 76: 167-173 (1986).

8.-Mc Neilly, A. S: Prolactin and the control of gonadotrophin secretion in the female. J. Reprod. Fert., 58: 537-549 (1980).

9.-Munro, C.J., Mc Natty, K. P. and Renshaw, L: Circa-annual rhythms of prolactin secretion in ewes and the effect of pinealectomy. J. Endocr., 84: 83-89 (1980).

10.-Panerai, A. E., Sawynok, J., Labella, F. S. and Friesen, H. G: prolonged hyperprolactinemia influences  $\beta$ -endorphin and met-enkephalin in the brain. Endo., 106: 1804-1808 (1980).

11.-Pau, K. F. and Jackson, G. L: effect of frontal deafferentation on photoperiod-induced changes in the secretion of prolactin in the ewe. Endo., 115: 1663-1671 (1984).

12.-Rhind, S. M., Robinson, J.J., Chesworth, J.M. and Crofts, R.M: Effects of season, lactation and plane of nutrition on prolactin concentrations in ovine plasma and the role of prolactin in the control ewe fertility. . J. Reprod. Fert., 58: 145-152.(1980).

13.-Rozell, T. G. and Keisler, D. H: effects of oestradiol on LH, FSH and prolactin in ovariectomized ewes. J. Reprod. Fert., 88: 645- 653 (1990).

14.-Smith, M.S: Effect of pulsatile gonadotropin-releasing hormone on the release of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in vitro by pituitaries from lactating and cycling rats. Endo., 110: 882 (1982)

15.- Webster, G.M. and Haresing, W: Seasonal changes in LH and prolactin concentrations in ewes of two breeds. J. Reprod. Fert., 67: 465-471. (1983).

16.-Wiesenfeld-Hasllin, Z and Sodersten, P: Spinal opiates affect sexual behaviour in rats. Nature., 307: 257-258 (1984).

# GRAFICA 1

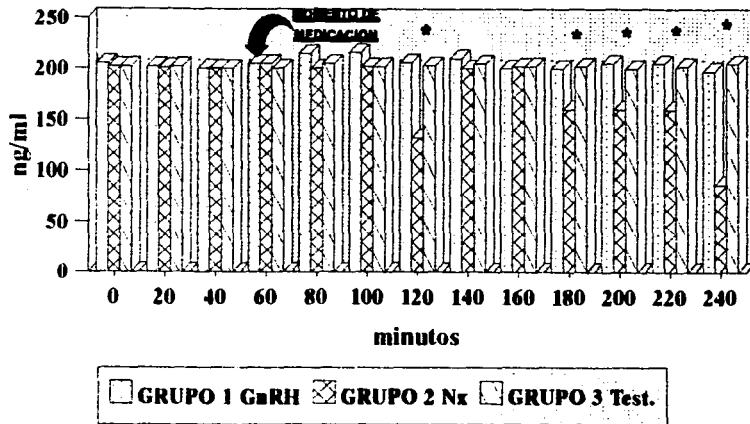
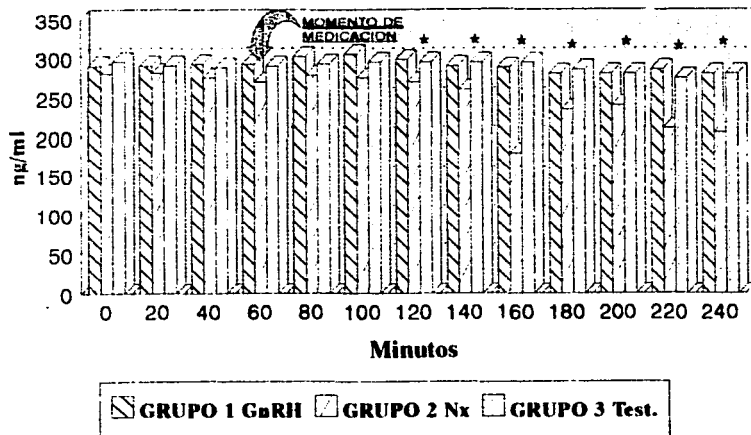


Fig.1 El efecto de la 1a. dosis de Nx sobre la secreción pulsátil de Prl.

\* Denota diferencia significativa entre grupo control y Nx.



## GRAFICA 2



20

Fig.2 El efecto de la segunda dosis de Nx sobre la secreción pulsátil de Prl.  
\* Denota diferencia significativa entre grupo testigo y Nx.