

948

51262

1
205



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

* ZARAGOZA *

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE LA TIMULINA
EN LOS MECANISMOS QUE REGULAN EL INICIO DE
LA PUBERTAD Y LA OVULACIÓN EN LOS RATONES
HEMBRA NORMAL E HIPOTÍMICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA
(SISTEMAS HUMANOS)

PRESENTA

LORENA HINOJOSA BACA

Directora de tesis

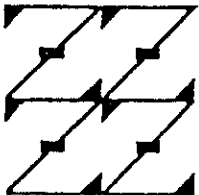
DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO
DE ESTUDIOS



DIVISION DE ESTUDIOS
DE POSGRADO

MÉXICO, D.F.

ENERO, 1998



LO HUMANO
EJE
DE NUESTRA REFLEXION

2-7531



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

* ZARAGOZA *

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE LA TIMULINA
EN LOS MECANISMOS QUE REGULAN EL INICIO DE
LA PUBERTAD Y LA OVULACIÓN EN LOS RATONES
HEMBRA NORMAL E HIPOTÍMICO**

Autor: **Lorena Hinojosa Baca**

Directora: Dra. Patricia Rosas Saucedo

La tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Neuroinmuno-endocrinología de la Reproducción de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción. FES-Zaragoza, UNAM.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo de DGAPA clave IN212394, el programa de becas de DGAPA y el Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM.

A mi madre Bertha

Por su apoyo, confianza y sobre todo por su cariño inmenso.

A mis hermanos Lourdes, Verónica, Jesús y Mariano

Porque su apoyo incondicional, amistad y cariño.

A mis sobrinos Irving, Daniel, Sheila Mariana y María Fernanda

Porque sus travesuras y ocurrencias hacen que me olvide de las cosas triviales y por el amor que les tengo.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. *Patricia Rosas Saucedo* por su amistad incondicional y apoyo constante.

Al Dr. *Roberto Domínguez Casalá* por su valiosa ayuda en todo momento.

A los miembros del jurado:

Dra. *Patricia Rosas Saucedo*
Dra. *Margarita González del Pliego*
Dra. *María Catalina Romano Pardo*
Dr. *Roberto Domínguez Casalá*
Dr. *Rubén Marroquín Segura*

Por sus atinadas sugerencias e interés mostrado para la realización de este trabajo.

Al Laboratorio de Hormonas Esteroides del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" y al Biol. Roberto Chavira por su colaboración en la realización del RIA.

A la M.en C. Lourdes Castillo Granada del Laboratorio de Espectroscopia y a la Biol. Maricela Arteaga Mejía del Laboratorio de Investigación y Desarrollo Tecnológico de la FES Zaragoza, por su colaboración en la medición de la concentración sérica de zinc.

A cada uno mis compañeros de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción por su amistad y contribución para la realización de esta tesis.

A Ma. Luisa Illescas Vera por su cooperación técnica y al personal del Bioterio de la FES Zaragoza por el cuidado brindado a los animales empleados en esta tesis

A los ratones que fueron el objeto de este estudio.

A mis amigos

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	i
INTRODUCCION	1
I. Pubertad	3
II. Desarrollo folicular y ovulación	8
III. Características del timo	15
IV. Relaciones neuroendócrinas entre el timo y el sistema reproductor	19
a) Efectos de la timectomía o la atimia congénita sobre el desarrollo del ovario	20
b) Características del ratón alopecico e hipotímico	22
c) Efectos de los polipéptidos tímicos sobre la función del eje hipotálamo hipófisis-gónada	24
V. Características de la timulina	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
HIPÓTESIS	29
OBJETIVOS	29
MÉTODO	30
RESULTADOS	35
Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la pubertad espontánea en los ratones normales	36
Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la pubertad espontánea en los ratones hipotímicos	40

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones normales estimulados con gonadotropinas	44
Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones hipotímicos estimulados con gonadotropinas	49
Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones hipotímicos estimulados con gonadotropinas	54
DISCUSIÓN	56
CONCLUSIONES	65
PERSPECTIVAS	66
BIBLIOGRAFÍA	67

RESUMEN

Existen evidencias que muestran que las hormonas tímicas participan en el control neuroendócrino de la secreción de las gonadotropinas y en la regulación de la esteroidogénesis. Sin embargo, la mayoría de las timosinas sintetizadas por el epitelio tímico, también son sintetizadas por otros órganos e incluso en el Sistema Nervioso Central. Por lo que en el presente trabajo se estudió si la timulina, que tiene un origen exclusivamente tímico, participa en la regulación del proceso de pubertad y la ovulación en los ratones normales y alopecicos-hipotímicos prepúberes.

Se utilizaron ratones hembra normales (eutímicos) y alopecicos-hipotímicos tratados diariamente por vía sistémica con timulina o solución salina, desde los 19 ó 24 días de edad hasta el día en que presentaron el primer estro vaginal y se analizaron sus efectos sobre la pubertad y la ovulación espontáneas, así como la respuesta del ovario a la estimulación gonadotrópica en presencia de la timosina.

Los resultados confirman que los ratones mutantes hipotímicos se caracterizan por presentar alteraciones en varios de los parámetros reproductivos. Las diferencias observadas respecto a los animales normales fueron las siguientes: retraso en la edad de la apertura vaginal (34.7 ± 0.7 vs 27.7 ± 0.4 días, $p < 0.05$) y en la presencia del primer estro (2.2 ± 0.7 vs 0.6 ± 0.1 días, $p < 0.05$), menor peso de los ovarios (5.7 ± 0.3 vs 8.2 ± 0.4 mg, $p < 0.05$), del útero (30.2 ± 3.7 vs 50.6 ± 4.3 mg, $p < 0.05$) y del timo (76.6 ± 4.7 vs 90.5 ± 4.4 mg, $p < 0.05$) y mayor concentración sérica de progesterona (6.2 ± 1.8 vs 0.9 ± 0.0 ng/ml, $p < 0.05$). La concentración de estradiol fue similar a la del ratón normal (19.1 ± 4.2 vs 13.2 ± 2.9 pg/ml, NS).

En los animales normales, el estrés que representa la inyección diaria de solución salina partir de los 19 días de edad, ocasionó la disminución de la masa ovárica (6.8 ± 0.3 vs 8.2 ± 0.4 mg, $p < 0.05$) y el incremento en la concentración sérica de progesterona (3.6 ± 0.7 vs 0.9 ± 0.0 ng/ml, $p < 0.05$). La administración de salina desde el día 24 de edad, no provoca cambios en ninguno de los parámetros analizados. La administración diaria de timulina (100 ng) no modificó los efectos observados por el estrés en los ratones normales de 19 días. El tratamiento con timulina desde los 24 días de vida, provocó retraso en la edad de la apertura vaginal (29.5 ± 0.5 vs 27.5 ± 0.4 días, $p < 0.05$), incremento en el peso del timo (99.5 ± 5.0 vs 86.2 ± 3.6 mg, $p < 0.05$) y aumento en la concentración sérica de progesterona (6.5 ± 1.3 vs 1.0 ± 0.2 ng/ml, $p < 0.05$). Al parecer la timulina participa en la regulación de la esteroidogénesis.

En los ratones hipotímicos la inyección diaria de solución salina a partir de los 19 días de edad, indujo aumento en el peso de los ovarios (7.0 ± 0.3 vs 5.7 ± 0.3 mg, $p < 0.05$). La administración de solución salina desde los 24 días de edad, provocó adelanto en la edad en que se presentó la canalización vaginal (30.4 ± 0.6 vs 34.7 ± 0.7 días, $p < 0.05$) y disminución en la concentración sérica de progesterona (1.0 ± 0.2 vs 6.2 ± 1.8 ng/ml, $p < 0.05$). La administración diaria de timulina (100 ng) a las hembras hipotímicas desde el día 19 de edad, en comparación

con lo observado con salina, resultó en la disminución del peso del timo (71.9 ± 4.2 vs 85.5 ± 4.0 mg, $p < 0.05$) y de la concentración sérica de progesterona (3.9 ± 1.3 vs 8.9 ± 0.8 ng/ml, $p < 0.05$). El grupo de animales tratados con timulina a partir del día 24 de edad, presentó retraso en la pubertad (33.0 ± 0.8 vs 30.4 ± 0.6 días, $p < 0.05$) y aumento en la concentración de progesterona (6.3 ± 0.2 vs 1.0 ± 0.2 ng/ml, $p < 0.05$). Estos resultados indican que los efectos de la timulina en este modelo, dependen de su respuesta al estrés.

La respuesta ovulatoria en los ratones normales tratados con PMSG en el día 20 de edad, se incrementó por la administración previa de 100 ng de timulina, siendo estos valores estadísticamente significativos al aumentar a 200 ng la concentración de timulina (tasa de animales ovulantes: 1/11 vs 7/14, $p < 0.05$; número de ovocitos liberados: 5 vs 32.1 ± 4.1 , $p < 0.05$), efecto que se acompañó del aumento en el peso de los ovarios (15.4 ± 0.8 vs 12.1 ± 0.8 mg, $p < 0.05$). En estos animales se observó un mayor peso del timo sólo con la concentración de 100 ng de timulina (73.4 ± 4.3 vs 57.4 ± 3.5 mg, $p < 0.05$). En las hembras normales el tratamiento con solución salina y PMSG a los 25 días de edad indujo la ovulación en el 92% de los animales. La administración de timulina desde el día 24 más la gonadotropina, no modificó esta respuesta. Con ambas concentraciones de timulina se observó el aumento significativo en el peso de los ovarios estimulados con PMSG (timulina 100 ng: 14.3 ± 1.2 vs 11.3 ± 0.6 mg, $p < 0.05$; timulina 200 ng, 13.7 ± 0.8 vs 11.3 ± 0.6 mg, $p < 0.05$). El análisis de estos resultados indica que la timulina amplifica el efecto estimulante de la PMSG y nos permite sugerir que la hormona tímica favorece la liberación de la LH.

En los ratones alopecicos, la inyección diaria de 100 ó 200 ng de timulina desde el día 19 de edad y PMSG en el día 20, no indujo la ovulación. Con ambas dosis se observó aumento en la masa ovárica, siendo significativo con la mayor concentración (12.5 ± 0.6 vs 9.6 ± 0.6 mg, $p < 0.05$). El ratón mutante de 25 días de edad es capaz de ovular en respuesta a la PMSG, efecto que no se modifica al administrar desde los 24 días de edad 100 ng de timulina. Sin embargo cuando se incrementó la concentración de timulina a 200 ng, se observó disminución en el número de ovocitos liberados (7.5 ± 1.8 vs 16.2 ± 2.5 , $p < 0.05$), lo que se acompañó de una menor concentración sérica de progesterona (2.3 ± 0.5 vs 5.0 ± 0.8 ng/ml, $p < 0.05$). El tratamiento secuencial con PMSG+hCG incrementó considerablemente la respuesta ovulatoria, aún en los animales inyectados con 200 ng timulina (tasa de animales ovulantes: 7/7 vs 7/7, NS; número de ovocitos liberados: 35.4 ± 5.2 vs 29.6 ± 4.0 , NS). Lo anterior muestra que la timulina no altera la receptividad de los ovarios al estímulo gonadotrópico exógeno. Los resultados podrían estar vinculados con la inmadurez neuroendócrina que caracteriza al mutante.

Los resultados obtenidos en este trabajo nos permiten sugerir que el incremento en la concentración de timulina durante la etapa peripuberal modifica los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad. Su acción depende del estado de madurez del individuo (edad) y del ambiente neurohormonal que prevalezca en función de su condición eutímica o hipotímica.

INTRODUCCIÓN

Las funciones del timo no sólo están restringidas al sistema inmune. Los experimentos realizados en animales congénita o quirúrgicamente atímicos e hipotímicos, así como los estudios sobre los efectos de las hormonas tímicas, muestran que existe una relación funcional bidireccional entre el timo y el sistema reproductor.

Las primeras evidencias que sugieren esta interacción funcional, son las aportadas por Calzolari en 1898, quien describe que la castración en conejo ocasiona hipertrofia del timo.

Varias décadas después, Nishizuka y Sakakura (1969), observaron que la extirpación del timo en la fase neonatal del ratón hembra, inducía en la etapa adulta, alteraciones en la función reproductora. Más tarde, Michael (1983), mostró que el animal timectomizado a los 3 días de edad, presenta una respuesta de tipo autoinmune sobre los folículos ováricos y una pérdida progresiva de los mismos (disgénesis ovárica)

Otro de los modelos utilizados para el estudio de la relación del timo con el sistema reproductor es el ratón alopécico y congénitamente atímico (nu/nu), en el cual se ha observado disgénesis ovárica, que a diferencia del ratón timectomizado a los 3 días, no es de origen autoinmune, ya que este mutante carece de respuesta inmunológica (Rebar y col , 1981b)

En la década de los ochentas, en una colonia de ratones CD1 apareció un mutante alopecico con alteraciones en el desarrollo del timo, al que se le llamó hipotímico (et/et). Este animal, al igual que los modelos anteriores, presenta una serie de alteraciones en el sistema reproductor, como son, pubertad retardada, menor población folicular ovárica y menor respuesta ovulatoria frente a un estímulo gonadotrópico (Rosas, 1990, Rosas e Hinojosa, 1993).

Se ha descrito que el timo sintetiza hormonas, a las cuales se les ha denominado timosinas. Para algunas de estas timosinas se ha mostrado que tienen un efecto sobre el sistema reproductor, tanto a nivel central como en el ovario (Goldstein y col., 1981; Rebar y col., 1981a; Michael, 1983; Hall y col., 1992; Uzumcu y col., 1992).

Con base en lo anterior, se puede sugerir que la ausencia del timo altera la función reproductora de la hembra, al parecer por intermedio de las hormonas que sintetiza este órgano. Sin embargo, algunos de los péptidos tímicos que actúan sobre el sistema reproductor, también son sintetizados por otros órganos y aún en el Sistema Nervioso Central (SNC), lo que dificulta la interpretación sobre la participación hormonal del timo en la regulación de la función ovárica (Dalakas y col., 1984; Horecker, 1984).

Debido a lo anterior en este trabajo se analizaron los efectos de la timulina, que es una hormona sintetizada exclusivamente por el epitelio tímico, sobre el proceso de pubertad y ovulación, utilizando como modelos a los ratones hembra normales e hipotímicos prepúberes.

MARCO TEÓRICO

I. *Pubertad.*

La pubertad es la fase biológica que marca el inicio de la madurez sexual y en la cual ocurren una serie de cambios neuroendócrinos y fenotípicos. En la regulación de estos eventos participan la información genética del individuo, la nutrición, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales como el fotoperíodo (Ramírez, 1973).

En la hembra de los roedores, el inicio de la pubertad se caracteriza, entre otros eventos, por la canalización espontánea de la vagina, la cual es dependiente de los estrógenos. Uno o dos días después de haberse producido la apertura vaginal, se presenta el primer estro vaginal y la primera ovulación (Ramírez, 1973; Goldman, 1981).

Con base en parámetros morfológicos y fisiológicos, Ojeda y colaboradores (1986) dividen la etapa previa a la pubertad de la rata hembra en cuatro fases (Esquema 1).

Neonatal. Se inicia al nacimiento y termina a los siete días de vida postnatal. Esta etapa se caracteriza porque durante los primeros cuatro o cinco días de edad, el ovario de la rata es relativamente insensible a las gonadotropinas exógenas, debido a que los folículos aún no presentan receptores a estas hormonas. Por lo que en esta etapa, el inicio del proceso de foliculogénesis es independiente de las gonadotropinas. En los ovarios de ratones de dos días de edad se han observado folículos primordiales y en el día cuatro de vida ya se

presentan folículos en desarrollo (primarios) (Peters, 1978; Peters, 1979; Smith-White y Ojeda, 1981; Ojeda y Urbanski, 1994).

Durante esta fase no funciona el mecanismo de retroalimentación inhibitorio que ejercen los estrógenos sobre la secreción de las gonadotropinas. La falta de respuesta se explica por la presencia de la concentración elevada de la α -fetoproteína en el plasma (molécula que enlaza ávidamente a los estrógenos e impide su unión al receptor) (Ojeda y col., 1983, 1986; Ojeda y Urbanski, 1994).

Infantil. Se extiende desde el día ocho al 21 de edad. En el eje hipotálamo-hipófisis ocurren una serie de cambios que representan los primeros eventos neuroendócrinos que regulan el momento en el cual se iniciará la pubertad. En la hipófisis el número de receptores a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) aumenta desde el día cinco y alcanza su máximo alrededor del día 20 de edad. La GnRH es liberada por pulsos poco frecuentes, mismos que mantienen elevada la concentración plasmática de la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés), así como los pulsos esporádicos de la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés) (Ojeda y col., 1986; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994).

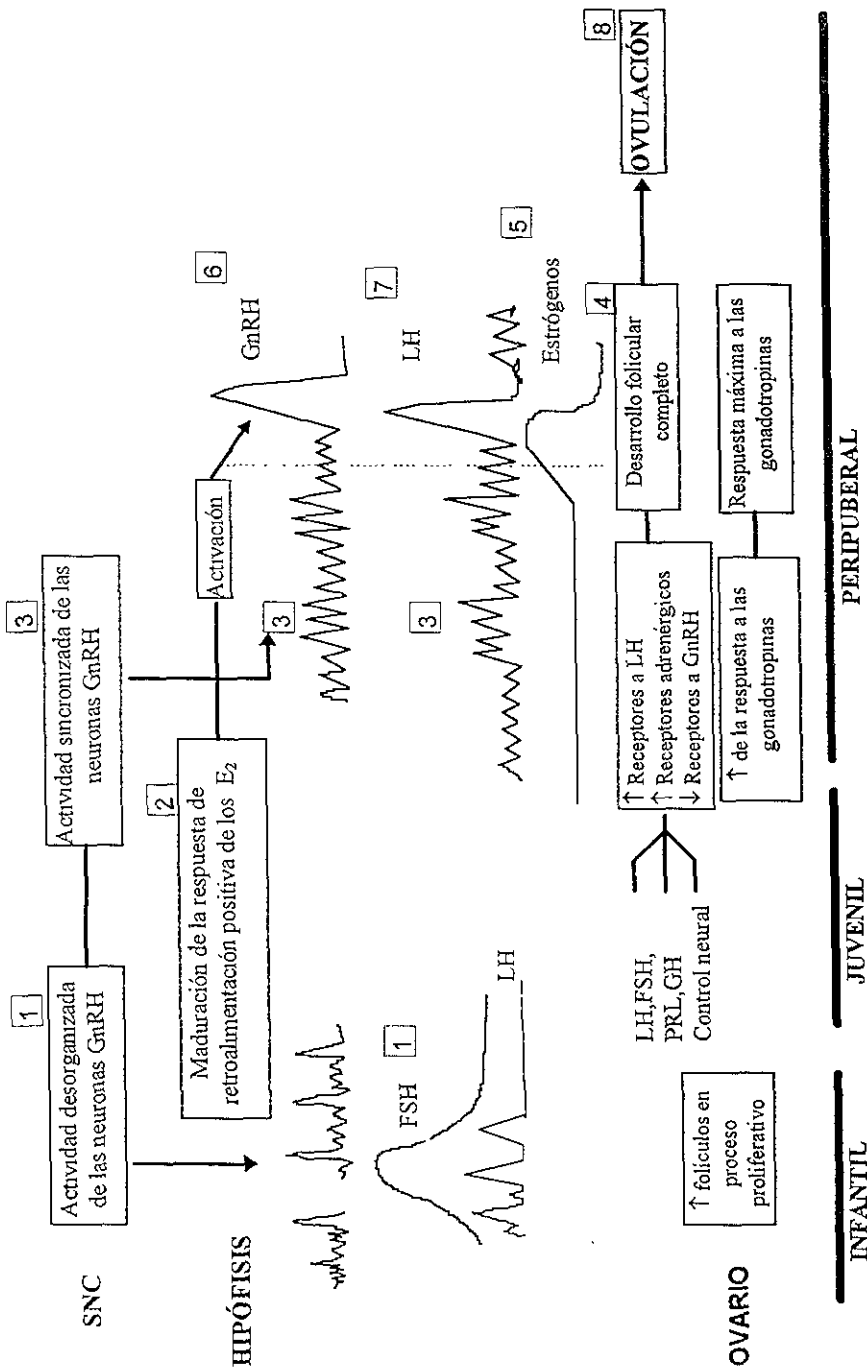
La concentración sérica de la FSH presenta un incremento que alcanza valores máximos alrededor de los días 12 al 15 de vida, momento en el que comienza a disminuir progresivamente hasta llegar a valores muy bajos poco antes del primer proestro. Se ha descrito que este pico de FSH es fundamental para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad. A partir del día 16 de edad la concentración de la α -fetoproteína disminuye y por

lo tanto aumentan los estrógenos libres (Ojeda y col., 1980, 1983, 1986; Ojeda y Urbanski, 1994).

En el ovario de ratón, entre los días 14 y 21 de edad, se encuentran folículos pequeños, medianos y grandes con anro, pero aún no hay folículos preovulatorios (Peters, 1969, 1979).

Juvenil o prepuberal. Se inicia en el día 21 de vida y termina alrededor de los 30-32 días de edad. La concentración de la FSH disminuye y la de la LH, que mostraba liberación brusca y esporádica, se transforma en una secreción de tipo pulsátil. En el ovario se presentan ondas de crecimiento folicular y atresia, pero los folículos aún no alcanzan el estado preovulatorio. En esta fase se incrementa en plasma las concentraciones de la prolactina y de la hormona de crecimiento o somatotropina (GH, por sus siglas en inglés) Ambas hormonas participan en la maduración del ovario juvenil, estimulan el desarrollo folicular y la formación de los receptores a la LH en las células de la granulosa (Pedersen, 1969; Peters, 1969; Andrews y Ojeda, 1981; Ojeda y col., 1986; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994).

Esta etapa termina cuando se pone de manifiesto el aumento en la actividad estrogénica, observada por la presencia de líquido en la luz del útero (Ojeda y col., 1983).



Esquema 1. Secuencia de eventos que se suceden en el Sistema Nervioso Central (SNC), la hipófisis y el ovario previos al pico preovulatorio de las gonadotropinas en la rata hembra. Los números indican la secuencia en la cual se producen estos eventos. La línea discontinua representa las 12 00 h del primer proestro. GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona estimulante del folículo, PRL: prolactina, GH: hormona de crecimiento (Tomado de Ojeda y Urbanski, 1994)

Peripuberal. Incluye los días que preceden a la primera ovulación. En esta fase se lleva a cabo una cascada de eventos que culminan con el primer incremento preovulatorio de gonadotropinas y la primera ovulación (Ojeda y col., 1986; Ojeda y Urbansky, 1994).

Los ovarios aumentan la capacidad de secretar estrógenos en respuesta a la estimulación gonadotrópica. Este incremento es debido a la aparición de un mayor número de receptores a la LH en las células de la teca y por ende una mayor producción de andrógenos, mismos que son aromatizados a estrógenos en las células de la granulosa. Además, en el ovario el número de receptores a la GnRH disminuye y con ello la influencia inhibitoria que este péptido tiene sobre el desarrollo de la gónada. Durante esta etapa las concentraciones plasmáticas de la prolactina y de la GH incrementan aún más que las observadas en la fase juvenil (Dalkin y col., 1981; Ojeda y col., 1986; Ojeda y Urbanski, 1994).

La concentración de la LH presenta ligero incremento durante la mañana y por la tarde se observa un aumento en magnitud y amplitud, como resultado de la acción de la GnRH en la hipófisis. Bajo este ambiente hormonal los folículos destinados a ovular en la pubertad entran en la etapa final de maduración. Este patrón de secreción hormonal induce la primera liberación brusca de la concentración de estradiol (pico de estrógenos), lo que estimula la primera liberación preovulatoria de gonadotropinas y por ende la primera ovulación (Ojeda y col., 1986).

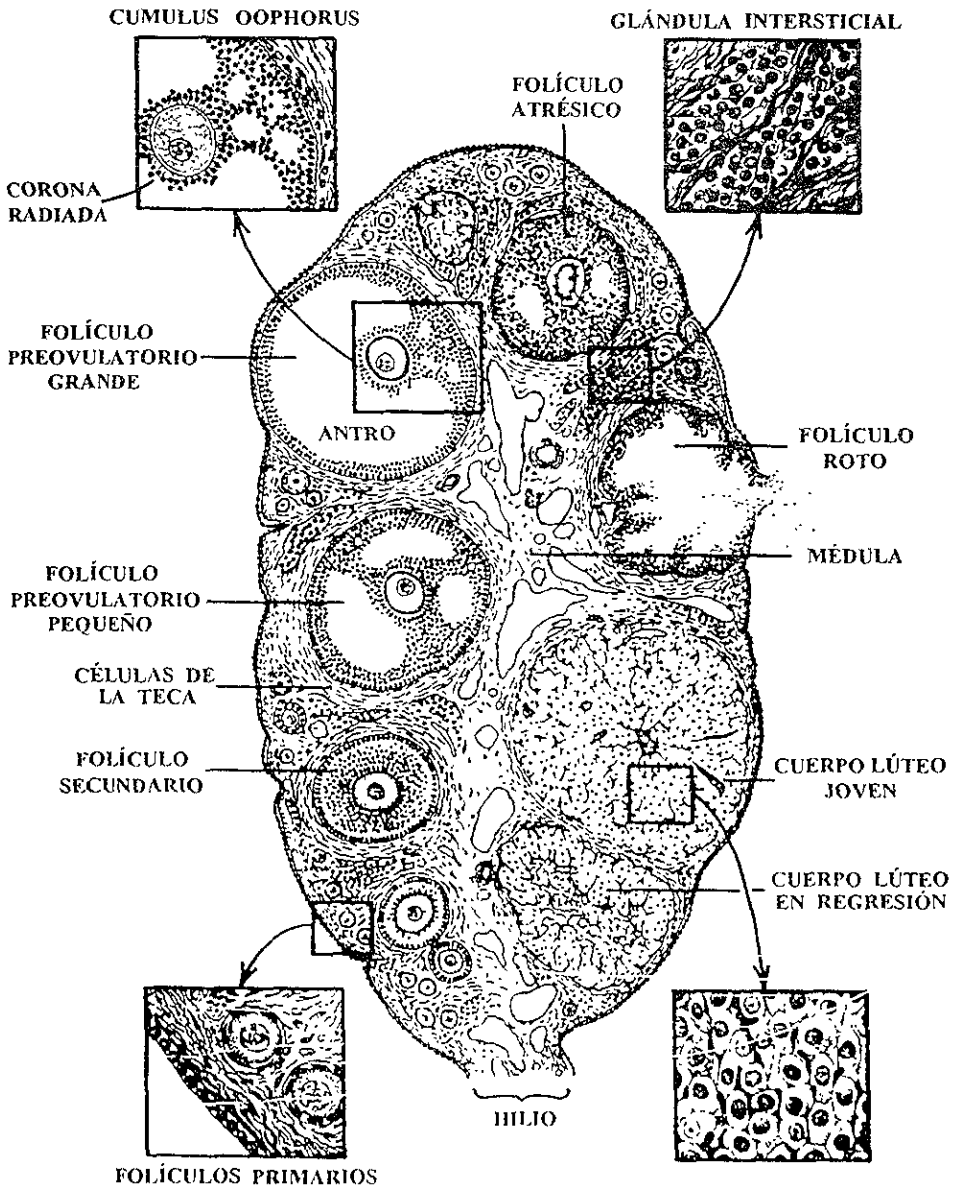
II. *Desarrollo folicular y ovulación.*

El ovario es el órgano reproductor femenino primario cuyas funciones principales son la producción de gametos y secreción de hormonas de naturaleza esteroidea y polipeptídica, que actúan sobre el propio ovario y los órganos reproductores secundarios (las trompas, el útero, la vagina, la vulva y las glándulas mamarias) (Ham, 1975; Guyton, 1984).

En el ovario se distinguen tres compartimientos (Feder, 1981) (Esquema 2):

- 1) *Folicular*: formado por los folículos en diferentes estados de desarrollo.
- 2) *Luteal o cuerpo lúteo*: 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.
- 3) *Intersticial o glándula intersticial*: formada por células con actividad secretora, llamadas células intersticiales primarias en el ovario fetal y por las células de la teca interna de los folículos antrales que presentaron receptores a LH y que experimentan el proceso de atresia, denominadas células intersticiales secundarias (Harrison y Weir, 1977).

El folículo es la unidad anatómica y funcional del ovario. Está formado por el ovocito, las células de la granulosa, la teca interna, la membrana basal y la teca externa. La teca externa está formada por un complejo sistema de fibras de colágena, células del tejido conectivo, sustancia fundamental y fibras musculares lisas. Estos elementos forman una vaina fibrosa que al disgregarse en un punto cercano a la superficie del ovario, dan lugar a un orificio (estigma ovárico) por el cual saldrá el ovocito. El ovocito y las células de la granulosa no reciben riego



Esquema 2. Corte transversal del ovario de rata que muestra los diferentes compartimentos del ovario, el folicular, el luteal y el intersticial (Tomado de: Freeman, 1994).

sanguíneo ni inervación en forma directa (Feder, 1981; Aguado y Ojeda, 1984; Ahmed y col., 1986; Domínguez y col., 1991).

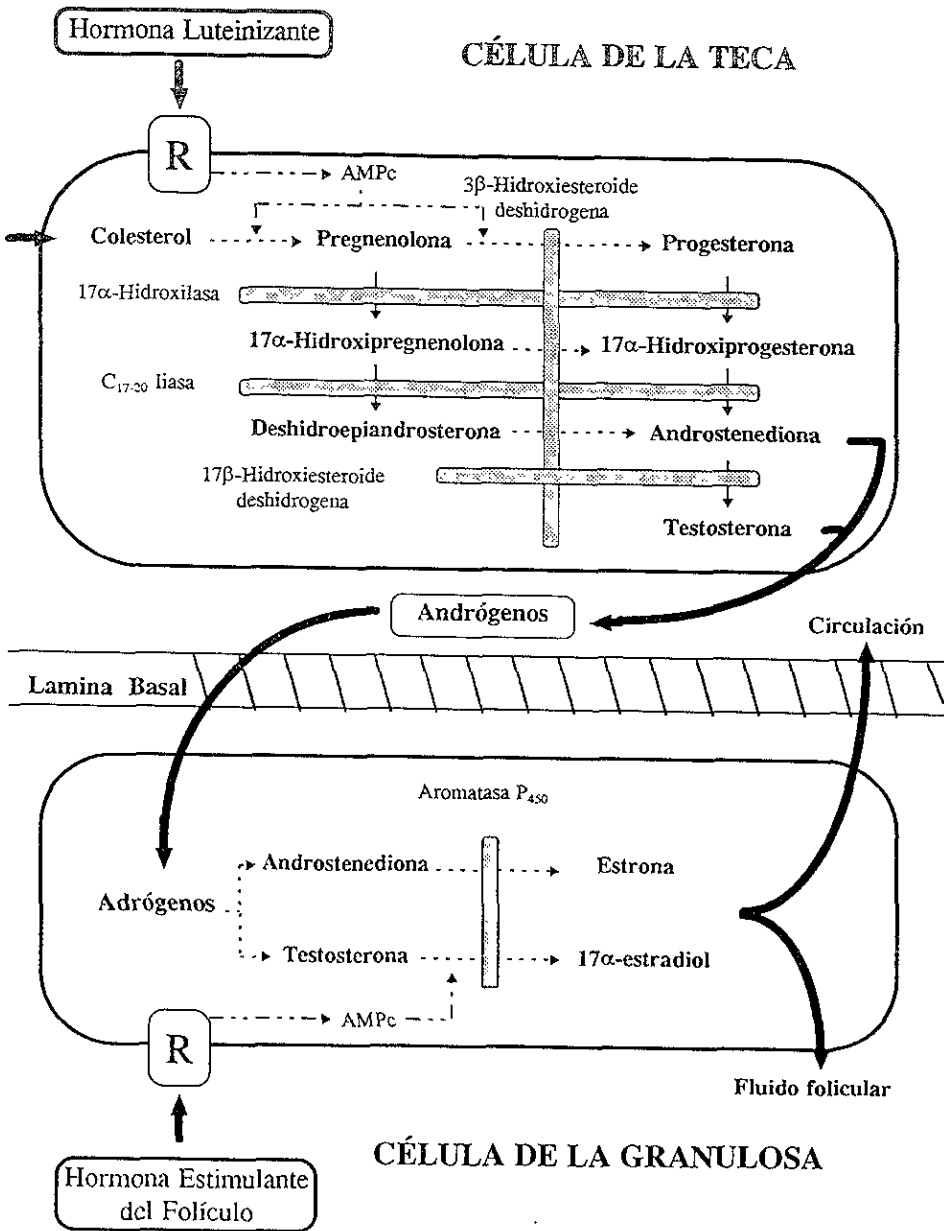
Poco se sabe sobre la señal que promueve el inicio del crecimiento de los folículos primordiales, pero una vez que este comienza, continúa hasta que los folículos ovulan o van a la atresia. El primer signo de crecimiento folicular es el aumento de tamaño del ovocito, seguido por el crecimiento y la proliferación de las células de la granulosa. En el folículo en crecimiento, las células de la granulosa proliferan rápidamente por estímulo de la FSH y los estrógenos (efecto mitogénico). Una vez que las células de la granulosa forman 7 u 8 capas alrededor del ovocito, comienza a observarse la presencia de licor folicular, que se origina por extravasación de componentes plasmáticos y por secreción de las células de la granulosa. En el licor folicular se encuentran proteínas, polipéptidos, FSH, LH, prolactina, estrógenos, progesterona, gonadocrinina, noradrenalina, etc. La acumulación de líquido forma el antro, mismo que aumenta de tamaño conforme se desarrolla el folículo (Feder, 1981; Domínguez y col., 1991; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

En la esteroidogénesis ovárica, participan las células de la teca y las células de la granulosa. El precursor inicial en la ruta biosintética es el colesterol que se obtiene de la sangre a partir de lipoproteínas, del almacenado bajo la forma de ésteres o de la síntesis de *novo* a partir de acetato. En las células de la teca la LH induce la transformación de colesterol en pregnenolona. La pregnenolona sigue dos vías diferentes de biosíntesis, la delta ⁵ (Δ^5) y la delta ⁴ (Δ^4). En la Δ^4 es transformada a progesterona con la participación de un complejo enzimático

microsomal, la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa y la Δ^5 - Δ^4 isomerasa (3 β -HSD) (Pedrera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994) (Esquema 3).

En la Δ^5 la pregnenolona por efecto del complejo 17 α -hidroxilasa y C₁₇₋₂₀ liasa (citocromo P₄₅₀ C17) da como productos a la 17 α -hidroxipregnenolona y posteriormente a la deshidroepiandrosterona. La progesterona en la Δ^4 , es transformada a 17 α -hidroxiprogesterona por la participación de la enzima 17 α -hidroxilasa. Posteriormente la enzima C₁₇₋₂₀ liasa lleva a la formación de la androstenediona misma que por acción de la enzima 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa se convierte en testosterona. Ambos andrógenos (androstenediona y testosterona) atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa. En estas células la FSH incrementa la actividad del complejo enzimático aromatasa, lo que provoca que los andrógenos sean aromatizados a estrógenos (Pedrera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Conforme el foliculo madura, las células de la granulosa adquieren receptores a la LH por la acción sinérgica de la FSH y los estrógenos. El incremento en las concentraciones séricas de los estrógenos sensibilizan a la hipófisis al efecto de la GnRH, provocando el pico preovulatorio de las gonadotropinas y por ende la ovulación (Fink, 1986; Domínguez y col., 1991; Gore-Langton y Armstrong, 1994).



Esquema 3. Acción de las gonadotropinas en las células del folículo ovárico. Rutas biosíntesis de los estrógenos.

La ovulación es la liberación del ovocito, que se da como resultado de un proceso inflamatorio localizado, el cual es regulado por la oleada preovulatoria de las gonadotropinas. La ovulación ocurre entre 8 y 10 horas después del pico preovulatorio de la LH (Domínguez y col., 1991; Franchimont y col., 1991). Durante este lapso se suceden algunos eventos en el folículo tales como:

- a) Actividad de enzimas proteolíticas estimulada por la LH.
- b) Cambios en la densidad e interconexión celular en el cumulus oophorus y corona radiada.
- c) Reinicio de la meiosis en el ovocito (continuación de la división reduccional).
- d) Reducción de los componentes que participan en la síntesis de tejido conectivo.
- e) El comienzo de la luteinización de las células de la granulosa.

Todo lo anterior provoca la degradación de la colágena del tejido conectivo que mantiene unidas a las células de la granulosa, que coadyuvan a la ruptura de la pared del folículo y liberación del ovocito (Fink, 1986; Franchimont y col., 1991).

Durante el desarrollo folicular se presenta el proceso denominado atresia. La atresia es el fenómeno más frecuente, en el cual los folículos pierden la capacidad para continuar su diferenciación y no alcanzan la etapa de ovulación. Los signos que caracterizan al folículo atrésico se muestran en el cuadro 1 (Byskov, 1978; Centola, 1983; Hsueh y col., 1994).

Cuadro 1. Características morfológicas y bioquímicas que se presentan en la atresia folicular.

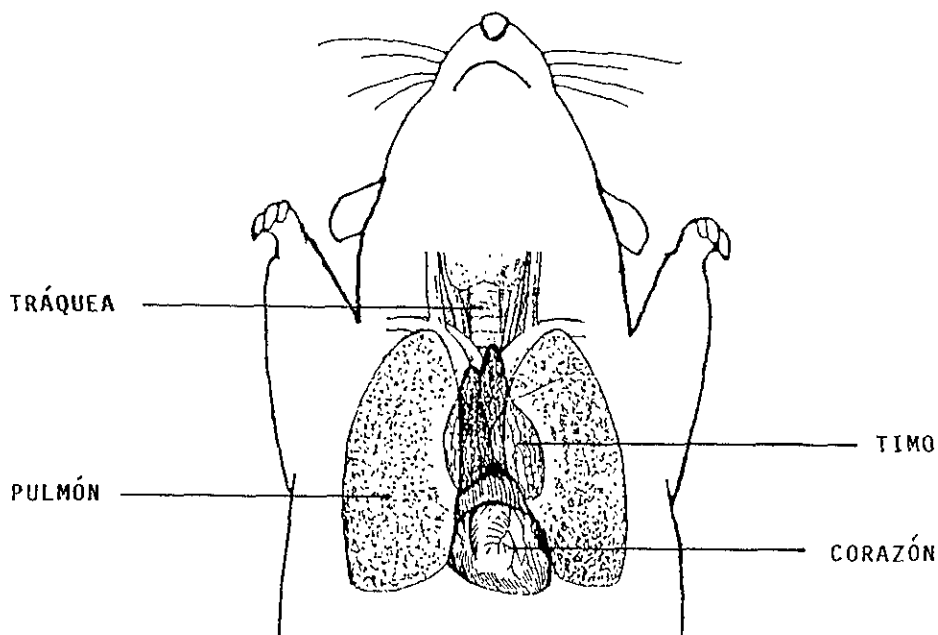
MORFOLÓGICAS	BIOQUÍMICAS
<p>Células de la granulosa</p> <p>Picnosis nuclear</p> <p>Detención del proceso mitótico (disminución del índice mitótico)</p> <p>Pérdida de las uniones gap, de los desmosomas y los nexos. Las células de la granulosa se observan aisladas en la cavidad antral (descamación)</p>	<p>Células de la granulosa</p> <p>Condensación del ácido desoxirribonucleico (ADN) por la activación de endonucleasas</p> <p>Alteración de la membrana nuclear y fragmentación posterior</p> <p>Disminución en el número de receptores a las gonatropinas</p> <p>Disminución en la secreción de estrógenos</p> <p>Incremento en la secreción de progesterona (disminución de 17α- hidroxilasa)</p>
<p>Células de la teca</p> <p>Hipertrofia (engrosamiento de la teca) y formación de células intersticiales secundarias</p>	<p>Células de la teca</p> <p>Condensación del ADN por la activación de endonucleasas</p>
<p>Ovocito</p> <p>Alteración del ovocito (ausencia o cambio en la forma de la membrana nuclear o fragmentación del ovocito)</p>	<p>Ovocito</p> <p>Condensación del ADN por la activación de endonucleasas</p>

(Tomado de. Byskov, 1978, Centola, 1983; Hsuch y col . 1994).

III. Características del timo.

El timo es el órgano responsable de la inmunogénesis del individuo, ya que en él se lleva a cabo la maduración y diferenciación de los linfocitos T (Ham, 1975; Roitt y col., 1993).

En los mamíferos, el timo es un órgano de forma triangular, bilobulado y de color gris rosáceo. Está ubicado en el tórax, inmediatamente por detrás de la parte superior del esternón, con la base apoyada en el corazón, el ápice dirigido hacia el cuello y delante de las venas tiroideas inferiores, la tráquea y los grandes vasos incluyendo el cayado aórtico (Ham, 1975; Bellanti, 1986) (Esquema 4).

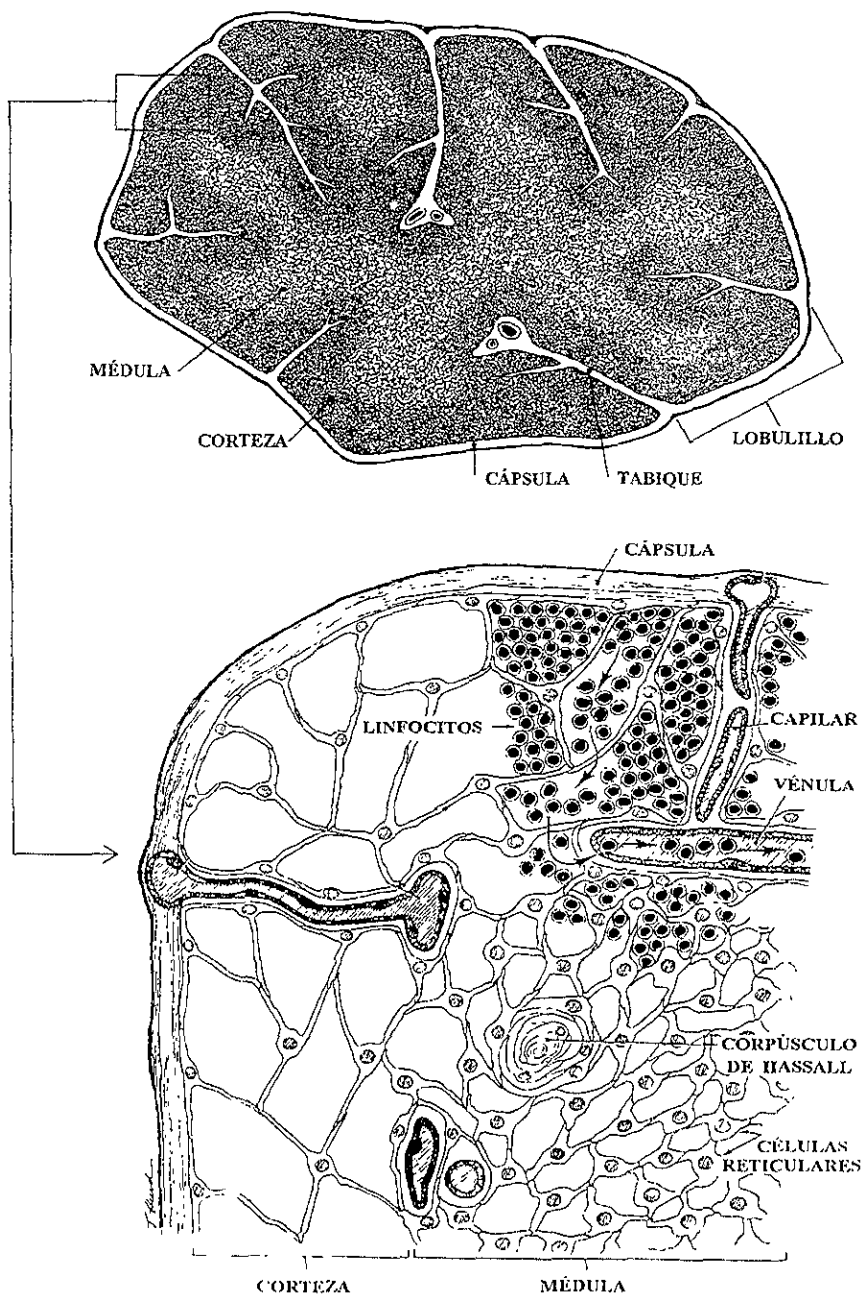


Esquema 4. Ubicación anatómica del timo en el ratón.

El timo se origina de un tubo de células epiteliales del tercer par de bolsas faríngeas que crece hacia el mesénquima. Los tubos epiteliales se vuelven cordones sólidos que sufren tracción hacia el interior del tórax y pierden su conexión con los puntos de origen. Los cordones proliferan y envían ramas laterales hacia el interior de los lóbulos. Otras células de estos cordones se distribuyen de manera menos densa hacia la periferia del órgano y tienden a separarse, pero siempre se mantienen unidas entre sí por proyecciones citoplasmáticas que forman una red (Ham, 1975; Langman, 1976).

El otro componente del timo son las células T indiferenciadas o prelinfocitos, que se originan en el saco vitelino y migran al timo donde se depositan entre la red de células epiteliales. Ahí proliferan, crecen y se diferencian en linfocitos (Ham, 1975).

El timo presenta una organización cortico-medular. Cada uno de los lóbulos está rodeado por una cápsula de tejido conectivo derivado del mesénquima, la cual se extiende hacia el interior del lóbulo formando tabiques que lo dividen en lobulillos. Cada lobulillo presenta una corteza rica en linfocitos y una médula con menor densidad de éstos. En la médula se encuentra un elemento estructural llamado corpúsculo de Hassall que es un agrupamiento de células retículo-epiteliales engrosadas y dispuestas concéntricamente (Ham, 1975; Bellanti, 1986; Ross y col., 1992; Roitt y col., 1993) (Esquema 5).



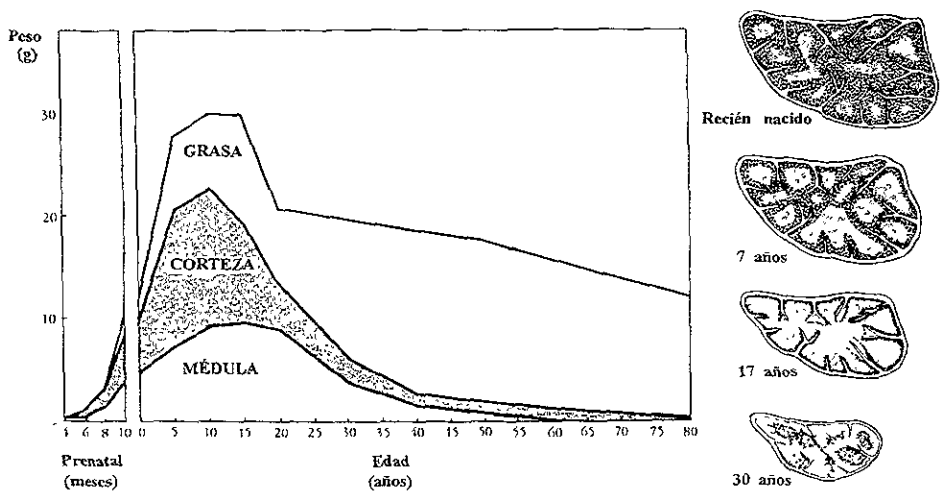
Esquema 5. Organización cortico-medular del timo (Tomado de: Bellanti, 1986)

En la corteza externa se encuentran células linfocíticas de núcleos grandes, mientras que en la corteza interna, los núcleos de éstas células son más pequeños. Los linfocitos T son transportados de la corteza hacia la médula a través de los intersticios del retículo epitelial o por los espacios perivasculares de la corteza que llegan a la médula. De ahí migran por el torrente sanguíneo hacia los ganglios linfáticos y el bazo para ubicarse en las denominadas zonas timo dependientes en las cuales entrarán en contacto con los linfocitos B (Bellanti, 1986; Ross y col., 1992; Roitt y col., 1993).

El timo se caracteriza por presentar un proceso de involución que depende de la edad, denominado “involución fisiológica”. El timo crece desde el nacimiento hasta la pubertad, momento en el que comienza su involución. Esta disminución se debe principalmente al decremento en la proliferación de linfocitos en la corteza, en respuesta al incremento de las concentraciones plasmáticas de las hormonas sexuales. A medida que avanza el proceso de involución, el tejido adiposo comienza a predominar, presentándose un pequeño cúmulo de grasa en la vejez (Ham, 1975; Aboussaouira y col., 1989; Roitt y col., 1993) (Esquema 6).

Las células retículo-epiteliales sintetizan hormonas polipeptídicas llamadas timosinas, que estimulan la maduración y diferenciación de los linfocitos T (Goldstein, 1984).

De las hormonas tímicas, la timosina fracción 5 (timosina F-5), está compuesta por una familia de péptidos clasificados como: timosina α_1 , timosina α_5 , timosina α_7 , timosina β_1 , timosina β_3 , timosina β_4 , timosina β_7 , timosina β_8 , timosina β_9 , timosina β_{10} y timosina γ (Goldstein y col., 1981; Low y Goldstein, 1984).



Esquema 6. Representación gráfica y esquemática que muestra los cambios en peso y composición del timo humano durante el proceso de involución (Tomado de: Bellanti, 1986).

Otras de las hormonas sintetizadas por el timo son el factor humoral tímico (THF, por sus siglas en inglés), la timulina o factor tímico del suero (FTS, por sus siglas en francés), la timoestimulina, la timopoiatina y el factor tímico X (TFX, por sus siglas en inglés) (Goldstein y col., 1981; Low y Goldstein, 1984).

IV. Relaciones neuroendócrinas entre el timo y el sistema reproductor.

Existen evidencias que muestran que el timo participa en los mecanismos que regulan al sistema reproductor.

1. La involución del timo se acelera durante la preñez, lo que se atribuye al aumento de las concentraciones plasmáticas de progesterona y corticosterona durante este periodo (Carter, 1976; Chambers y Clarke 1979, Grossman, 1984)

2. El timo comienza a involucionar durante la pubertad como respuesta al incremento de las concentraciones plasmáticas de las hormonas sexuales que ocurren en esta etapa. También se ha descrito que cuando se administra progesterona, estrógenos o testosterona se provoca la involución del órgano (Ham, 1975; Grossman, 1984; Fitzpatrick y col., 1985; Roitt y col., 1993).

3. La castración antes de la pubertad, retarda el proceso de involución del timo, mientras que en el animal adulto la extirpación de las gónadas induce su hipertrofia (Janardana y Sirsi, 1961; Grossman, 1984, 1985; Fitzpatrick y col., 1985; Rosas y col., 1992).

4 En las células retículo-epiteliales del timo existen receptores específicos a las hormonas sexuales y a la GnRH (Sholiton y col., 1980; Grossman, 1984; Morgan y Grossman, 1985; Marchetti y col., 1989a).

5. La inyección de antagonistas de la GnRH promueve la involución del timo. Al parecer esta hormona estimula el desarrollo y mantenimiento del epitelio tímico (Marchetti y col., 1989b, 1990)

a) Efectos de la timentomía o la atimia congénita sobre el desarrollo del ovario.

La rata y el ratón timentomizados al nacimiento, han sido los modelos biológicos más utilizados en el estudio de la vinculación del timo con los mecanismos que regulan la función reproductora.

Se ha observado que la timentomía neonatal provoca, en la etapa adulta (130 días), disgénesis ovárica caracterizada por infiltración linfocítica en los

folículos, disminución del número de ovocitos, hipertrofia e hiperplasia de las células intersticiales, proliferación del tejido conectivo, ausencia de cuerpos lúteos o destrucción de los mismos por la proliferación del tejido conectivo y presencia de quistes. Estos cambios en la morfología del ovario se acompañan de la disminución en las concentraciones plasmáticas de la FSH, la LH, la GH, la prolactina y los estrógenos. También se presenta retardo en la edad de la apertura vaginal (pubertad) e infertilidad (Nishizuka y Sakakura, 1969; Besedovsky y Sorkin, 1974; Hattori y Brandon, 1979; Michael y col., 1980, 1981; Grossman, 1984).

Las alteraciones antes mencionadas sólo se observan cuando el timo se extirpa en la etapa perinatal (1-4 días de edad) y se ha descrito que son el resultado de una respuesta autoinmune que da origen a la formación de anticuerpos antiovocitos (Nishizuka y Sakakura, 1969, 1971; Michael y col., 1980; Kosiewicz y Michael, 1990).

En los animales timectomizados al nacimiento, el trasplante inmediato de timo normaliza la función reproductora (Sakakura y Nishizuka, 1972).

Estudios recientes que utilizan como modelo al ratón timectomizado, han mostrado que la extirpación del timo al día 10 de vida postnatal trae como resultado retraso de la edad de la apertura vaginal (pubertad), así como disminución en el desarrollo del ovario y en la respuesta de este al estímulo gonadotrópico (García y Rosas, 1994a,b; Rosas y col., 1995).

Otro modelo biológico utilizado en el estudio de la vinculación del timo con el sistema reproductor, es el ratón mutante alopecico y congénitamente atímico

(nu/nu). Este ratón presenta características semejantes a las descritas en los animales con timectomía neonatal como son: infertilidad, foliculogénesis anormal, reducción del número de folículos ováricos, menor desarrollo del ovario y del útero, retardo en la pubertad y concentraciones plasmáticas de GnRH, FSH, LH, GH, estradiol, progesterona y testosterona menores que las del animal normal (Flanagan, 1966; Besedovsky y Sorkin, 1974; Shire y Pantelouris, 1974; Eaton y col., 1975; Pierpaoli y Besedovsky, 1975; Lintern-Moore y col., 1976; Lintern-Moore, 1977; Rebar y col., 1981b; Chesnokova y col., 1983). Sin embargo, en este mutante el origen de las alteraciones no se explica por la presencia de anticuerpos anti-ovocitos, como en el animal timectomizado, ya que carecen de respuesta inmune celular.

En el ratón congénitamente atímico (nu/nu) el injerto de timo al nacimiento, previene la disminución en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas, normaliza la función endocrina de las gónadas y los animales son fértiles (Rebar y col., 1980; Chesnokova y col., 1983).

b) Características del ratón alopécico e hipotímico.

En la FES-Zaragoza se cuenta con una colonia de ratones alopécicos denominados et/et, portadores de una mutación autosómica recesiva para el gen que regula el crecimiento normal del pelo (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

El mutante et/et presenta alteraciones en el desarrollo normal del timo que se manifiestan después de los 10 días de vida postnatal. En la etapa adulta, el peso del timo es aproximadamente la mitad del peso de un timo normal. Además, en las

hembras *et/et* el timo no presenta la organización corticomedular que lo caracteriza. Dado lo anterior a estos mutantes alopecicos se les ha considerado hipotímicos (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

Las hembras hipotímicas presentan retardo en la aparición de la pubertad. En la etapa adulta, el peso corporal y de los ovarios son menores que el de las hembras normales, mientras que el de las adrenales y el bazo son mayores. La tasa de fertilidad es similar a la de los animales normales, aunque decrece prematuramente. Sus ciclos estrales son irregulares con fases prolongadas de diestro. El período de gestación, el crecimiento ponderal durante la preñez y el número de crías por parición son semejantes a la de los animales normales (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

La capacidad esteroideogénica de los ovarios de las hembras hipotímicas parece ser normal, ya que con el tratamiento con la hormona del suero de la yegua preñada (PMSG, por sus siglas en inglés), la canalización vaginal y el aumento en el peso del útero son similares a las de las hembras normales, lo que permite sugerir que la secreción de estrógenos por el ovario está retrasada. En cambio la capacidad ovulatoria en respuesta al estímulo secuencial con PMSG y la gonadotropina coriónica humana (hCG, por sus siglas en inglés) está disminuida. El análisis de la población folicular de los ovarios de estos animales muestra que en el ratón *et/et* el número de folículos es menor que en el normal. Aunque los folículos crecen con la estimulación gonadotrópica, el 75% de éstos son atrésicos. En estos animales, el injerto de un timo normal al nacimiento previene el retardo en la pubertad y las alteraciones ocasionadas por el decremento del timo frente al

estrés (Argüello, 1987; Rosas y col., 1989a; Rosas e Hinojosa, 1993; Hinojosa, 1994; Hinojosa y Rosas, 1994).

A diferencia de otras cepas de ratones con alteraciones del timo, estos animales se caracterizan por mantenerse y reproducirse en las condiciones convencionales del bioterio, la mayoría rebasa el año de vida y presentan signos y síntomas de envejecimiento prematuro hasta después de esta edad (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

Las características de este modelo biológico espontáneo lo hacen una herramienta útil en el estudio sistematizado de la participación del timo en diversos mecanismos de regulación de la función gonadal.

c) *Efectos de los polipéptidos tímicos sobre la función hipotálamo-hipófisis-gónada.*

Diversos estudios *in vivo* e *in vitro* han mostrado que algunas de las hormonas sintetizadas por el timo presentan actividad biológica sobre el sistema reproductor.

Se ha descrito que la administración de timosina F-5 ó timosina β_4 a ratas prepúberes aumenta la concentración plasmática de estradiol y adelanta la edad de la apertura vaginal (Michael, 1983).

El agregado de timosina F-5 o timosina β_4 al sistema de perfusión de hipotálamo e hipófisis, incrementa la secreción de GnRH, lo que se refleja en el aumento de la síntesis de gonadotropinas por la hipófisis (Rebar y col., 1981a).

Se ha observado en cerdas que la concentración plasmática de timosina β_4 varía durante el ciclo estral, aumentan en la fase folicular y disminuyen en la luteal, en forma paralela con la concentración plasmática de progesterona (Ford y col., 1990).

Del timo de rata también se ha aislado un factor de 28 kD que incrementa el efecto estimulante de la GnRH sobre la síntesis in vitro de gonadotropinas por la hipófisis. En cultivo de células foliculares del ovario o de células de Leydig del testículo, este factor compite con la hCG por su receptor, lo que resulta en la inhibición de la producción de esteroides (Hiriart y Romano, 1986; Pedernera y col., 1986; Aguilera y Romano, 1989).

Estudios in vitro muestran que las células retículo-epiteliales del timo provenientes de animales castrados, liberan mayor cantidad del factor tímico de 28 kD que las de los animales enteros. Si los animales castrados fueron tratados con testosterona antes de la obtención del cultivo del timo, las células retículo-epiteliales liberan menor cantidad del factor tímico al medio de cultivo (Reyes y Romano, 1989).

El medio de incubación de timo y el medio condicionado de células retículo-epiteliales del mismo contienen un factor que estimula la secreción in vitro de la LH por las células de la hipófisis de rata (Romano y col., 1993; Mendoza y col., 1995).

V. *Características de la timulina.*

La timulina es un nonapéptido (pyro-Glu-Ala-Lys-Ser-Gln-Gly-Gly-Ser-Asn-OH) que induce la diferenciación de las células T y es producido exclusivamente por el epitelio tímico. En animales timectomizados, se ha mostrado que esta hormona desaparece de la circulación después de realizar la operación, mientras que en el ratón congénitamente atímico nu/nu dicho péptido está ausente. En ambos modelos experimentales, cuando se realiza un injerto de timo o de células epiteliales tímicas, la timulina es detectada en el suero (Dardenne y col., 1974).

Estudios de inmunofluorescencia realizados en el timo del ratón y en el del humano mostraron la existencia de una unión específica del anticuerpo anti-timulina (producido por la inmunización de conejo con timulina sintética) con las células retículo epiteliales de este órgano, presentándose en mayor cantidad en los Corpúsculos de Hassall (Monier y col., 1980; Jambon y col., 1981; Savino y col., 1982).

En el ratón, la timulina se ha detectado desde los 14 días de vida intrauterina y su concentración en plasma se mantiene estable hasta los 5 ó 7 meses de edad, posteriormente disminuye llegando a valores mínimos hacia los 12 meses de edad. Esta baja es paralela a la involución del timo y se ha mostrado que se debe al decremento en la síntesis del péptido y a la presencia en sangre de inhibidores del mismo. En el hombre, esta timosina está presente a partir de la sexta semana del desarrollo embrionario y la concentración en suero se mantiene estable hasta los 15 ó 20 años de edad, seguida de una progresiva disminución (Dardenne y Bach, 1981, Jambon y col., 1981).

Se ha descrito que los efectos de la timulina sobre la función de las células T dependen de las condiciones inmunológicas del individuo y de la concentración de la propia hormona. En el ratón normal, la administración de concentraciones altas de la hormona tímica incrementa la función de las células T-supresoras, mientras que las concentraciones bajas estimulan la función de las células T-cooperadoras. En animales inmunodeficientes o viejos, tanto las concentraciones altas como las bajas de timulina, restauran la repuesta inmune mediada por células ya que estimulan la función de las células T-cooperadoras e inducen la producción de anticuerpos (Bach y Dardenne, 1984).

Se ha propuesto que la timulina es regulada por los esteroides sexuales, ya que la castración en el ratón adulto provoca disminución de la concentración plasmática de la timosina e incremento en el número de células epiteliales del timo que contienen dicha hormona y la administración de progesterona inmediatamente después de la intervención quirúrgica previene estos efectos (Dardenne y col., 1986). Prepin (1991) mostró que la timulina estimula la proliferación in vitro de las células germinales de los ovarios de feto de rata.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El animal prepúber es un buen modelo para el estudio de las relaciones funcionales entre el timo y el sistema reproductor. Las alteraciones observadas en los ovarios, tanto de los ratones timectomizados a los 10 días de edad como de los hipotímicos prepúberes, indican que el timo participa de manera estimulante en el desarrollo del ovario y en la regulación de la pubertad. Estos resultados, aunados a los obtenidos in vitro, nos sugieren que las hormonas sintetizadas por el timo están involucradas en dichos procesos. Sin embargo, se ha descrito que algunos de los péptidos tímicos, también son sintetizados por otros órganos, aún en el Sistema Nervioso Central, mientras que la timulina es sintetizada exclusivamente por el epitelio tímico.

Debido a lo anterior, en el presente proyecto se estudiaron los efectos de la administración sistémica de la timulina sobre la maduración sexual y la ovulación en ratones prepúberes normales y alopecicos-hipotímicos y la respuesta del ovario a la estimulación gonadotrópica en presencia de la timosina.

HIPÓTESIS

Durante la maduración sexual, los péptidos sintetizados en el timo participan en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, por lo que el aumento de la concentración plasmática de la timulina, modulará de manera estimuladora la respuesta del ovario del animal prepúber a las gonadotropinas, modificando así el inicio de la pubertad y la ovulación.

OBJETIVOS

Estudiar los efectos de la administración sistémica de la timulina sobre el proceso de pubertad espontánea de los ratones normales e hipotímicos.

Analizar si la timulina participa en la respuesta del ovario de los ratones normales e hipotímicos prepúberes a la administración de gonadotropinas.

Analizar si la administración sistémica de la timulina previene las alteraciones que el ratón hipotímico presenta en el proceso de pubertad.

HIPOTESIS

Durante la maduración sexual, los péptidos sintetizados en el timo participan en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, por lo que el aumento de la concentración plasmática de la timulina, modulará de manera estimuladora la respuesta del ovario del animal prepúber a las gonadotropinas, modificando así el inicio de la pubertad y la ovulación.

OBJETIVOS

Estudiar los efectos de la administración sistémica de la timulina sobre el proceso de pubertad espontánea de los ratones normales e hipotímicos.

Analizar si la timulina participa en la respuesta del ovario de los ratones normales e hipotímicos prepúberes a la administración de gonadotropinas.

Analizar si la administración sistémica de la timulina previene las alteraciones que el ratón hipotímico presenta en el proceso de pubertad.

MÉTODO

Animales.

Se utilizaron ratones hembra normales (símbolo genético et/+) y alopécicos-hipotímicos (símbolo genético et/et), mantenidos desde el nacimiento en condiciones controladas de luz-obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y alimento. Los animales se distribuyeron en camadas de 7 crías (alopécicas o con pelo) por madre que tuvieron libre acceso a ella hasta el momento del destete (21 días de edad).

Procedimientos de autopsia.

Los animales fueron sacrificados por decapitación. A la autopsia se colectó la sangre del tronco, se dejó coagular a 0°C durante 24 h, se centrifugó a 1000 g durante 15 min. a 4°C. El suero se almacenó a -20°C para la posterior determinación de las concentraciones de estrógenos y progesterona por radioinmunoanálisis de fase sólida (Coat-A-Count, Los Angeles, California, EE.UU.) (Kubasik y col., 1984).

Se disecaron y pesaron en balanza de precisión los ovarios, el útero y el timo. En los oviductos se buscó la presencia de ovocitos y se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Diseño experimental.

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina, sobre la pubertad espontánea en los ratones prepúberes normales e hipotímicos.

Con base en los antecedentes que muestran que la timulina es regulada por esteroides gonadales, se decidió comprobar si esta timosina participa en la regulación de los mecanismos involucrados en el proceso de pubertad. Para lo cual a ratones prepúberes normales e hipotímicos de 19 ó 24 días de edad, se les inyectó diariamente por vía subcutánea solución salina o 100 ng de timulina (Sigma Chemical Co., St. Louis, Ms, EE.UU.) hasta el día del sacrificio. Como grupo de comparación se contó con animales intactos (testigos).

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina, sobre la respuesta de los ovarios de ratones prepúberes normales e hipotímicos estimulados con gonadotropinas.

Con el fin de analizar si la timulina modula la respuesta del ovario del animal prepúber a las gonadotropinas, se utilizaron ratones prepúberes normales e hipotímicos de 19 ó 24 días de edad, a los cuales se les inyectó diariamente por vía s.c. timulina en dosis de 100 ó 200 ng disuelta en solución salina, hasta el momento del sacrificio. En el día 20 ó 25 de edad (respectivamente) los animales fueron sometidos a una prueba de ovulación inducida administrando por vía s.c. 5 u.i. PMSG (Sigma Chemical Co., St. Louis, Ms, EE.UU.).

Dado que en el ratón hipotímico de 24 días de edad, se observó la disminución en el número de ovocitos liberados con la administración de 200 ng de timulina, se decidió administrar PMSG y hCG, para analizar si la timulina tiene un efecto inhibitorio sobre la acción estimulante de las gonadotropinas en el ovario o sobre la secreción de la LH en la hipófisis. Para lo cual se utilizaron hembras hipotímicas de 24 días de edad, a las que se les administró diariamente solución salina o 200 ng de timulina y en el día 25 se les inyectaron 5 u.i. de PMSG y 54 h después 3 u.i. de hCG (Sigma Chemical Co., St. Louis, Ms, EE.UU.).

Todos los ratones fueron revisados diariamente para registrar el día de la canalización vaginal (pubertad), momento en el cual se inició la toma diaria de frotis vaginales. Los animales se sacrificaron el día del primer estro vaginal, entre las 9:00 y 11:00 h.

Diseño estadístico.

Los resultados fueron analizados de la siguiente manera:

Los datos de edad de apertura vaginal, primer estro y número de ovocitos liberados por animal ovulante fueron analizados por la prueba de Kruskal Wallis, seguida de la prueba de U-de Mann Whitney.

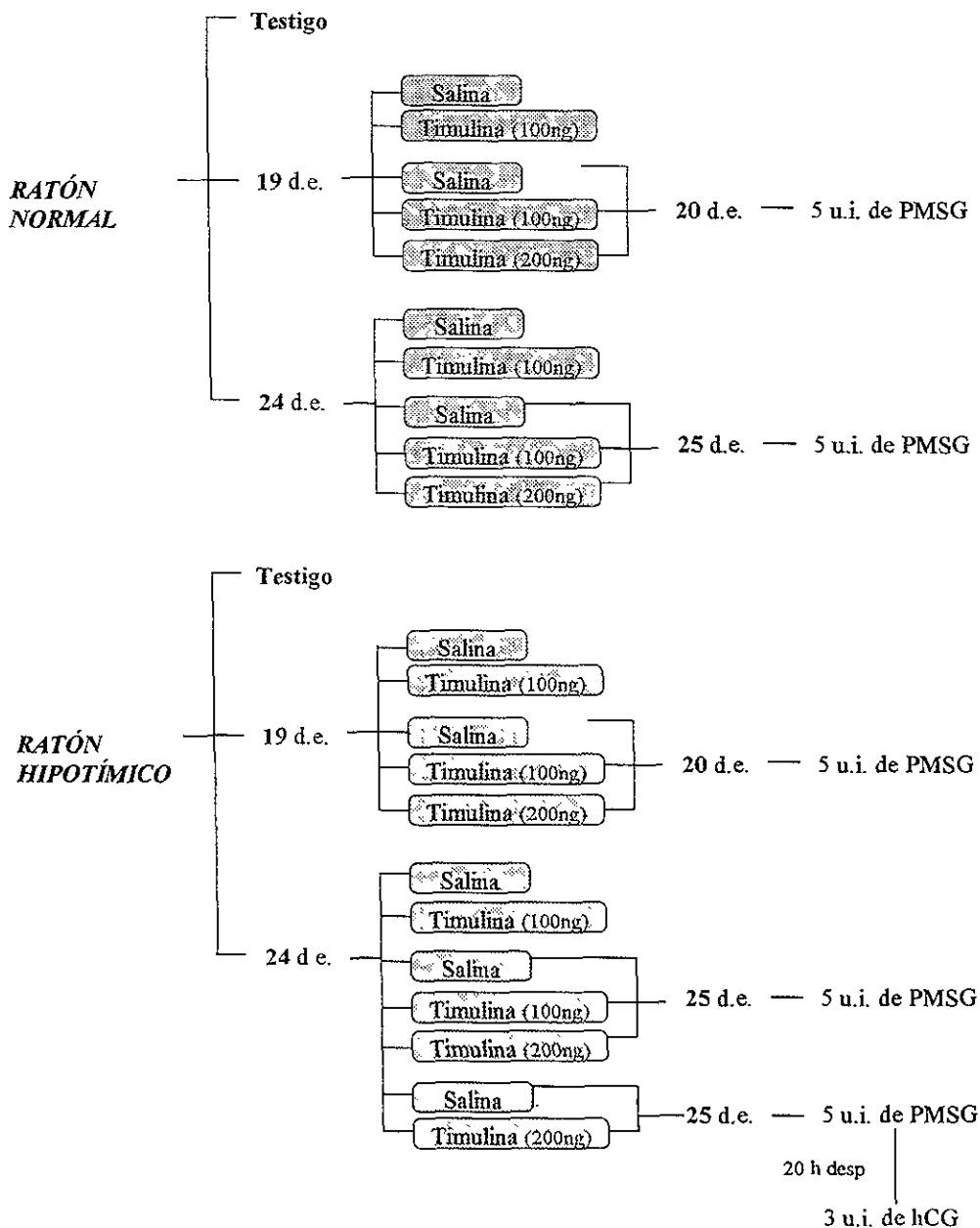
El peso corporal y de los órganos, así como las concentraciones de estrógenos y progesterona fueron sometidos a la prueba de análisis de varianza multivariado (ANDEVA), seguido de la prueba de Tukey.

Para comparar los resultados de la tasa ovulatoria se utilizó la prueba exacta de Fisher para proporciones o la prueba de chi cuadrada.

En los casos en que se comparan dos grupos se utilizó la prueba de "t" de Student.

En todos los casos, sólo se consideraron como significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor al 5%.

Diagrama de los diferentes grupos experimentales



RESULTADOS

El ratón hipotímico mostró la persistencia de los parámetros que lo caracterizan como son, retraso en la edad de la apertura vaginal y en la presencia del primer estro, así como menor peso de los ovarios, del útero y del timo. No obstante que la edad en la cual fueron sacrificados los ratones hipotímicos fue significativamente mayor que la de los animales normales, el peso corporal fue igual entre ambos grupos (Tabla 1).

La concentración sérica de estradiol en los ratones normales y los hipotímicos fue similar, mientras que la concentración de progesterona en los animales hipotímicos fue significativamente mayor que la de los ratones normales (Tabla 1).

Tabla 1. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones normales e hipotímicos, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>NORMAL</i>	<i>HIPOTÍMICO</i>
<i>No. de animales</i>	17	11
<i>AV (días)</i>	27.7 ± 0.4	34.7 ± 0.7 *
<i>Primer estro *</i>	0.6 ± 0.1	2.2 ± 0.7 *
<i>Peso corporal (g)</i>	21.4 ± 0.4	20.6 ± 0.6
<i>Ovarios (mg)</i>	8.2 ± 0.4	5.7 ± 0.3 *
<i>Útero (mg)</i>	50.6 ± 4.3	30.2 ± 3.7 *
<i>Timo (mg)</i>	90.5 ± 4.4	76.6 ± 4.7 *
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	13.2 ± 2.9 (6)	19.1 ± 4.2 (6)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	0.9 ± 0.0 (9)	6.2 ± 1.8 * (4)

* días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Normal

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

Estos resultados nos muestran que la colonia de ratones desnudos-hipotímicos se ha mantenido estable bajo las condiciones convencionales del bioterio, ya que las características que los distinguen se conservan similares a las previamente descritas (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

En el ratón hipotímico, la elevada concentración sérica de progesterona, aunada a la concentración de estradiol normal, permite suponer que la progesterona sea de origen adrenal. Sin embargo, no se puede descartar que existan alteraciones en la ruta biosintética de los esteroides a nivel ovárico, en las que probablemente esté involucrada la síntesis de la enzima 17 α -hidroxilasa responsable del paso de progesterona a 17 α -progesterona.

Se ha descrito que la progesterona inhibe la síntesis de los receptores a estrógenos en el útero (Freifeld y col., 1974), lo que podría explicar que el peso del útero de los ratones alopécicos sea significativamente menor que el de los animales normales.

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la pubertad espontánea en los ratones normales.

En los animales normales inyectados diariamente con solución salina desde los 19 días de edad y sacrificados el día del primer estro vaginal, sólo se observó la disminución de la masa ovárica y el incremento en la concentración sérica de progesterona. Sin embargo, en los ratones tratado desde los 24 días de edad, la inyección no indujo cambios estadísticamente significativos en ninguno de los parámetros evaluados (Tabla 2).

Tabla 2. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones normales testigo y tratados con solución salina desde los 19 ó 24 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>TESTIGO</i>	<i>SALINA</i> <i>19 días</i>	<i>SALINA</i> <i>24 días</i>
<i>No. de animales</i>	17	11	14
<i>AV (días)</i>	27.7 \pm 0.4	27.9 \pm 0.6	27.5 \pm 0.4
<i>Primer estro *</i>	0.6 \pm 0.1	1.3 \pm 0.5	1.6 \pm 0.5
<i>Peso corporal (g)</i>	21.4 \pm 0.4	20.8 \pm 0.8	21.3 \pm 0.6
<i>Ovarios (mg)</i>	8.2 \pm 0.4	6.8 \pm 0.3 *	7.3 \pm 0.4
<i>Útero (mg)</i>	50.6 \pm 4.3	41.3 \pm 3.7	44.3 \pm 5.9
<i>Timo (mg)</i>	90.5 \pm 4.4	90.1 \pm 3.7	86.2 \pm 3.6
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	13.2 \pm 2.9 (6)	10.7 \pm 2.9 (7)	13.2 \pm 1.8 (10)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	0.9 \pm 0.0 (9)	3.6 \pm 0.7 * (5)	1.0 \pm 0.2 (2)

* días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Testigo

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

En el ratón normal de 19 día de edad, el incremento en la concentración de progesterona y la disminución del peso de los ovarios, son interpretados como el resultado de la respuesta del animal frente al estrés que representa la inyección diaria. Las diferencias observadas entre el animal de 19 y 24 días tratados con solución salina, podrían ser explicadas con base en una mayor sensibilidad al estrés en el animal más joven.

El menor peso de los ovarios de los animales de 19 días de edad inyectados con solución salina, podría deberse al efecto inhibitorio que tiene la progesterona sobre la secreción de las gonadotropinas (Janovick y Conn, 1996)

Debido a que en los animales normales tratados con solución salina, se observaron diferencias estadísticamente significativas con el grupo testigo, las comparaciones de los resultados obtenidos en los ratones tratados con timulina se hacen sólo con las hembras con solución salina.

La administración diaria de timulina a ratones normales a partir de los 19 días de edad, no modificó ninguno de los parámetros analizados (Tabla 3).

Tabla 3. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones normales tratados con solución salina o 100 ng de timulina desde los 19 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>SALINA</i>	<i>TIMULINA</i>
<i>No. de animales</i>	11	12
<i>AV (días)</i>	27.9 \pm 0.6	28.7 \pm 0.5
<i>Primer estro *</i>	1.3 \pm 0.5	1.3 \pm 0.4
<i>Peso corporal (g)</i>	20.8 \pm 0.8	21.3 \pm 0.6
<i>Ovarios (mg)</i>	6.8 \pm 0.3	7.0 \pm 0.3
<i>Útero (mg)</i>	41.3 \pm 3.7	42.1 \pm 5.5
<i>Timo (mg)</i>	90.1 \pm 3.7	84.5 \pm 3.7
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	10.7 \pm 2.9 (7)	11.3 \pm 1.1 (8)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	3.6 \pm 0.7 (5)	4.0 \pm 1.5 (5)

* días posteriores a la apertura vaginal

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

En los ratones normales de 24 días de vida, el tratamiento diario con timulina, dio como resultado un retraso en la edad de la apertura vaginal, sin que se modificara la aparición del primer estro vaginal. Además, en estos animales se observó un incremento en el peso del timo y en la concentración sérica de progesterona. Los demás parámetros evaluados no mostraron diferencias estadísticamente significativas al administrar la timulina (Tabla 4).

Tabla 4. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones normales tratados con solución salina o 100 ng de timulina desde los 24 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>SALINA</i>	<i>TIMULINA</i>
<i>No. de animales</i>	14	11
<i>AV (días)</i>	27.5 \pm 0.4	29.5 \pm 0.5 *
<i>Primer estro *</i>	1.6 \pm 0.5	3.8 \pm 1.1
<i>Peso corporal (g)</i>	21.3 \pm 0.6	22.3 \pm 0.9
<i>Ovarios (mg)</i>	7.3 \pm 0.4	7.0 \pm 0.3
<i>Útero (mg)</i>	44.3 \pm 5.9	38.3 \pm 2.7
<i>Timo (mg)</i>	86.2 \pm 3.6	99.5 \pm 5.0 *
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	13.2 \pm 1.8 (10)	15.9 \pm 6.8 (7)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	1.0 \pm 0.2 (2)	6.5 \pm 1.3 * (4)

* días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Salina

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

El retraso de la pubertad y de la aparición del primer estro vaginal en los animales normales de 24 días de edad tratados con timulina, podrían ser

explicados por el aumento en la concentración de progesterona, ya que se ha descrito que este esteroide tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de las gonadotropinas (Janovick y Conn, 1996).

En el ratón normal el incremento en la concentración sérica de progesterona por la inyección de timulina, puede indicar que este péptido participaría en los mecanismos que regulan la esteroidogénesis. Al parecer, la timulina también tendría un efecto trófico sobre el timo, ya que su peso fue mayor a pesar del aumento en la concentración de progesterona.

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la pubertad espontánea en los ratones hipotímicos.

En los ratones hipotímicos tratados diariamente con solución salina desde los 19 días de edad y sacrificados el día del primer estro vaginal, se observó aumento en el peso de los ovarios. En los animales inyectados a partir de los 24 días de vida, se presentó adelanto en la edad en que ocurre la canalización vaginal y disminución en la concentración sérica de progesterona. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de los parámetros evaluados (Tabla 5).

Tabla 5. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones hipotímicos testigo y tratados con solución salina desde los 19 ó 24 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>TESTIGO</i>	<i>SALINA</i> <i>19 días</i>	<i>SALINA</i> <i>24 días</i>
<i>No. de animales</i>	11	11	11
<i>AV (días)</i>	34.7 \pm 0.7	32.1 \pm 1.0	30.4 \pm 0.6 *
<i>Primer estro *</i>	2.2 \pm 0.7	0.9 \pm 0.4	3.5 \pm 1.1
<i>Peso corporal (g)</i>	20.6 \pm 0.6	20.0 \pm 0.5	20.4 \pm 0.6
<i>Ovarios (mg)</i>	5.7 \pm 0.3	7.0 \pm 0.3 *	5.9 \pm 0.3
<i>Útero (mg)</i>	30.2 \pm 3.7	31.3 \pm 3.4	33.0 \pm 2.8
<i>Timo (mg)</i>	76.6 \pm 4.7	85.5 \pm 4.0	76.7 \pm 4.4
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	19.1 \pm 4.2 (6)	13.3 \pm 2.5 (9)	12.1 \pm 1.8 (7)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	6.2 \pm 1.8 (4)	8.9 \pm 0.8 (5)	1.0 \pm 0.2 * (3)

* días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Testigo

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

El aumento del peso de los ovarios y del timo de los ratones hipotímicos tratados con solución salina desde el días 19 de vida, nos permiten suponer que las altas concentraciones de glucocorticoides, que caracterizan a estos mutantes disminuyeron como resultado del estrés prolongado al cual se les sometió. El adelanto en la edad de la apertura vaginal que presentó el animal de 24 días, puede ser explicado por la disminución de la concentración de progesterona (Freifeld y col., 1974), resultado del mismo estrés.

Debido a que también los ratones hipotímicos presentaron cambios por la inyección de solución salina, la comparación de los resultados obtenidos en las hembras tratadas con timulina se realizó con los animales con solución salina.

En las hembras hipotímicas de 19 días de edad, la administración diaria de timulina, resultó en la disminución del peso del timo y de la concentración sérica de progesterona. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los demás parámetros analizados (Tabla 6).

Tabla 6. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones hipotímicos tratados con solución salina o 100 ng de timulina desde los 19 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>SALINA</i>	<i>TIMULINA</i>
<i>No. de animales</i>	11	12
<i>AV (días)</i>	32.1 \pm 1.0	33.4 \pm 0.7
<i>Primer estro †</i>	0.9 \pm 0.4	0.6 \pm 0.2
<i>Peso corporal (g)</i>	20.0 \pm 0.5	19.8 \pm 0.9
<i>Ovarios (mg)</i>	7.0 \pm 0.3	6.4 \pm 0.2
<i>Útero (mg)</i>	31.3 \pm 3.4	27.1 \pm 1.2
<i>Timo (mg)</i>	85.5 \pm 4.0	71.9 \pm 4.2 *
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	13.3 \pm 2.5 (9)	16.9 \pm 3.5 (12)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	8.9 \pm 0.8 (5)	3.9 \pm 1.3 * (5)

† días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Salina

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

En los ratones hipotímicos, la administración de timulina a partir de día 24 de edad, resultó en un retraso en la pubertad y un aumento en la concentración de progesterona. En estos animales la aparición del primer estro, el peso corporal y de los órganos, no mostraron diferencias estadísticamente significativas con los de los animales inyectados con solución salina (Tabla 7).

Tabla 7. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), presencia del primer estro vaginal y del peso corporal y de los órganos, y la concentración sérica de estradiol y progesterona de ratones hipotímicos tratados con solución salina o 100 ng de timulina desde los 24 días de edad, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>SALINA</i>	<i>TIMULINA</i>
<i>No. de animales</i>	11	12
<i>AV (días)</i>	30.4 \pm 0.6	33.0 \pm 0.8 *
<i>Primer estro †</i>	3.5 \pm 1.1	2.3 \pm 0.7
<i>Peso corporal (g)</i>	20.4 \pm 0.6	19.7 \pm 0.4
<i>Ovarios (mg)</i>	5.9 \pm 0.3	6.2 \pm 0.4
<i>Útero (mg)</i>	33.0 \pm 2.8	28.3 \pm 2.5
<i>Timo (mg)</i>	76.7 \pm 4.4	76.6 \pm 3.5
<i>Estradiol (pg/ml)</i>	12.1 \pm 1.8 (7)	7.0 \pm 3.3 (3)
<i>Progesterona (ng/ml)</i>	1.0 \pm 0.2 (3)	6.3 \pm 0.2 * (2)

† días posteriores a la apertura vaginal

* $p < 0.05$ vs Salina

() número de animales en los que se midió la concentración de hormonas

Las diferencias observadas en la concentración de progesterona entre los animales de 19 y 24 días de edad tratados con timulina, podrían estar vinculadas con el grado de maduración neuroendócrina del mutante.

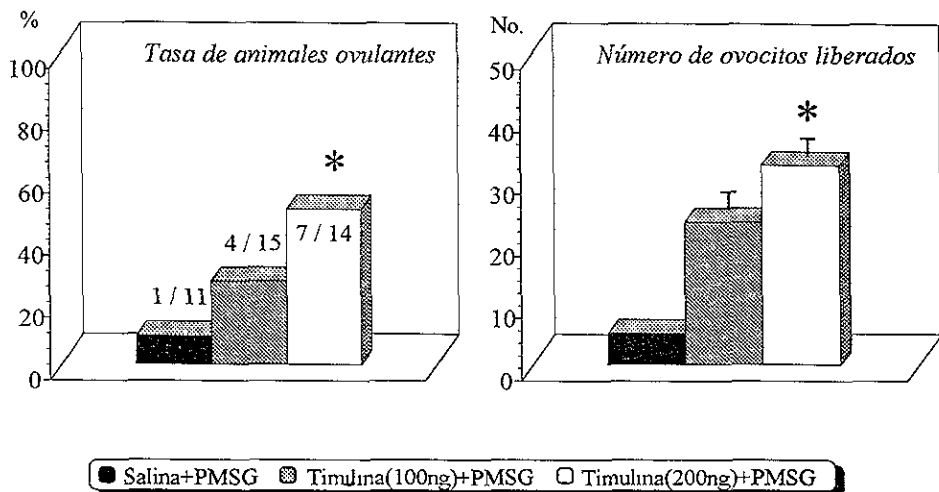
Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones normales estimulados con gonadotropinas.

En los animales normales, la inyección de PMSG a los 20 días de edad, indujo un adelanto de la edad de la apertura vaginal (22.6 ± 0.2 vs 27.7 ± 0.4 días, $p < 0.05$), efecto que no se modificó por la administración diaria de timulina (Tabla 8).

Tabla 8. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV) y presencia del primer estro vaginal (días posteriores a la AV) de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 19 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	11	15	14
<i>AV (días)</i>	22.6 ± 0.2	22.5 ± 0.1	22.2 ± 0.1
<i>Primer estro</i>	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.2

En las hembras normales inyectadas con solución salina desde el día 19 de edad y PMSG en el día 20, la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados fueron bajos. Ambos parámetros se incrementaron en los animales tratados con timulina, siendo las diferencias estadísticamente significativas en el grupo tratado con 200 ng de la timulina (Fig. 1).



* $p < 0.05$ vs Salina+PMSG

Figura 1. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 19 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

El peso corporal de los animales tratados con PMSG y timulina fue mayor que el de los animales inyectados con solución salina y la gonadotropina. El peso del timo también presentó un incremento que sólo fue estadísticamente significativo con la dosis diaria de 100 ng. La administración de 200 ng de timulina y PMSG resultó en un aumento significativo en el peso de los ovarios. No se observaron cambios en el peso del útero (Tabla 9).

Tabla 9. Media \pm e.e.m. del peso corporal y de los órganos de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 19 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	11	15	14
<i>Peso corporal (g)</i>	14.7 \pm 0.5	16.1 \pm 0.3 *	16.3 \pm 0.3 *
<i>Ovarios (mg)</i>	12.1 \pm 0.8	13.7 \pm 0.9	15.4 \pm 0.8 *
<i>Útero (mg)</i>	70.8 \pm 3.3	77.3 \pm 3.2	76.0 \pm 5.0
<i>Timo (mg)</i>	57.4 \pm 3.5	73.4 \pm 4.3 *	68.5 \pm 4.4

* p < 0.05 vs Salina+PMSG

El aumento en la tasa de animales ovulantes y en el número de ovocitos liberados nos llevan a sugerir que la timulina participa de manera estimulante en la regulación de la respuesta ovulatoria, probablemente favorece la liberación de la LH o incrementa la sensibilidad del folículo a la acción de las gonadotropinas, o ambas, lo que resultaría en el aceleramiento del crecimiento y desarrollo del folículo ovárico y de la ovulación.

El incremento del peso del timo en animales en los que la concentración de estradiol aumenta por efecto de la inyección de la PMSG, apoya la idea de que la timulina tiene un efecto trófico sobre el timo.

En los animales normales tratados con timulina desde los 24 días de edad y PMSG en el día 25, la edad de la apertura vaginal y la presencia del primer estro no se modificaron (Tabla 10).

Tabla 10. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV) y presencia del primer estro vaginal (días posteriores a la AV) de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng)+PMSG</i>	<i>Timulina(200ng)+PMSG</i>
No. de animales	13	15	14
AV (días)	27.3 \pm 0.1	27.2 \pm 0.1	26.5 \pm 0.2
Primer estro	0.8 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	1.5 \pm 0.2

La administración diaria de timulina a partir del día 24 de edad y la gonadotropina en el día 25, no modificó la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante (Fig. 2).

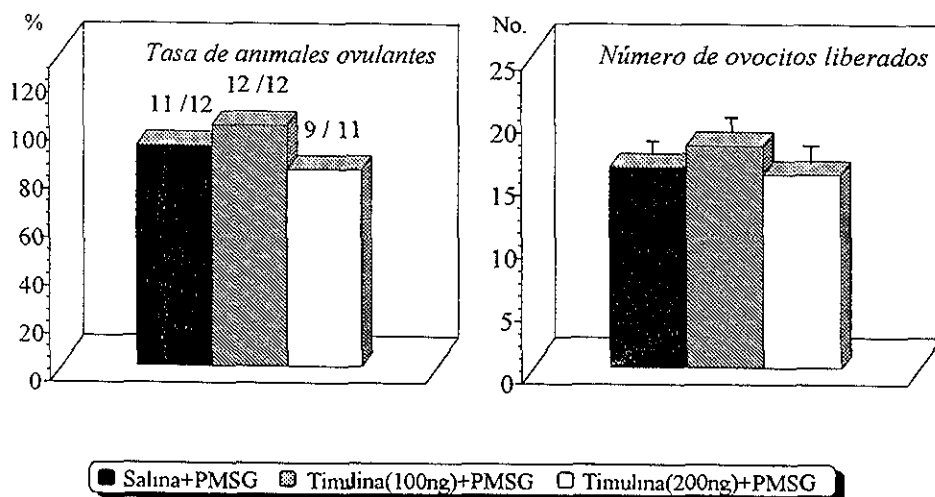


Figura 2. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal

En comparación con los animales inyectados con solución salina y PMSG, el tratamiento con timulina y la gonadotropina resultó en el aumento significativo del peso de los ovarios. No se observaron diferencias en el peso del útero y del timo (Tabla 11).

Tabla 11. Media \pm e.e.m. del peso corporal y de los órganos de ratones normales, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	12	12	11
<i>Peso corporal (g)</i>	21.0 \pm 0.4	19.3 \pm 0.8	21.3 \pm 0.5 b
<i>Ovarios (mg)</i>	11.3 \pm 0.6	14.3 \pm 1.2 a	13.7 \pm 0.8 a
<i>Útero (mg)</i>	81.5 \pm 3.6	82.3 \pm 4.4	81.8 \pm 2.6
<i>Timo (mg)</i>	81.7 \pm 3.1	76.0 \pm 4.3	84.8 \pm 3.6

a, $p < 0.05$ vs Salina+PMSG

b, $p < 0.05$ vs Timulina(100ng)+PMSG

Dado que todas las hembras estimuladas en el día 25 de edad con PMSG ovularon, no es posible evidenciar la participación de la timulina en la respuesta ovulatoria. Sin embargo, el incremento en el peso de los ovarios, indica que la timulina favorece el efecto estimulante de la PMSG sobre el desarrollo gonadal.

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 19 ó 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones hipotímicos estimulados con gonadotropinas.

En las hembras hipotímicas, el adelanto observado en la edad de la apertura vaginal por la administración de PMSG a los 20 días (23.0 ± 0.0 vs 34.7 ± 0.7 días, $p < 0.05$), no fue modificado por la inyección diaria de timulina y la gonadotropina (Tabla 12).

Tabla 12. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV) y presencia del primer estro vaginal (días posteriores a la AV) de ratones hipotímicos, tratados con solución salina o timulina desde los 19 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	12	13	12
<i>AV (días)</i>	23.0 ± 0.0	23.0 ± 0.0	22.3 ± 0.1
<i>Primer estro</i>	1.0 ± 0.0	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.2

El ratón alopécico inyectado diariamente con solución salina a partir del día 19 de edad y PMSG en el día 20 no ovuló. La administración de timulina no cambió esta respuesta.

En comparación con los animales hipotímicos tratados con solución salina y PMSG, el peso de los ovarios de los ratones tratados con 200 ng de timulina y la

gonadotropina, fue significativamente mayor. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los demás parámetros analizados (Tabla 13).

Tabla 13. Media \pm e.e.m. del peso corporal y de los órganos de ratones hipotímicos, tratados con solución salina o timulina desde los 19 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	11	13	12
<i>Peso corporal (g)</i>	12.3 \pm 0.6	11.9 \pm 0.4	12.2 \pm 0.4
<i>Ovarios (mg)</i>	9.6 \pm 0.6	10.8 \pm 0.6	12.5 \pm 0.6 *
<i>Útero (mg)</i>	61.9 \pm 4.9	59.8 \pm 2.4	58.5 \pm 1.4
<i>Timo (mg)</i>	44.7 \pm 5.5	43.3 \pm 2.3	35.9 \pm 4.3

* p < 0.05 vs Salina+PMSG

Con base en estos resultados podemos proponer que en el ratón hipotímico de 19 días de edad, el aumento brusco en la concentración de timulina incrementa la respuesta ponderal del ovario a la gonadotropina. El hecho que no ovulen permite sugerir que no se produjo la liberación preovulatoria de la LH.

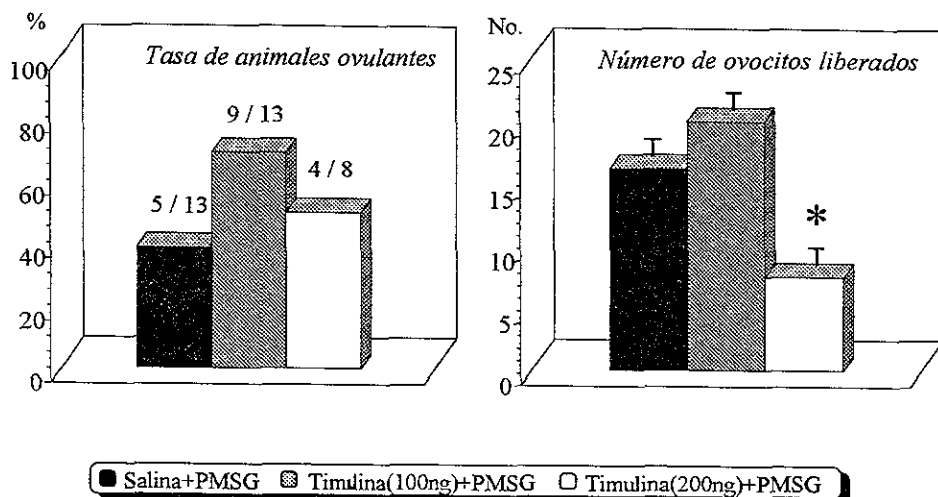
La edad de la canalización vaginal y la presencia del primer estro vaginal en los ratones hipotímicos de 24 días de edad, no se modificaron por la administración de timulina y PMSG (Tabla 14).

Tabla 14. Media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV) y presencia del primer estro vaginal (días posteriores a la AV) de ratones hipotímicos, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Salina+PMSG</i>	<i>Timulina(100ng) +PMSG</i>	<i>Timulina(200ng) +PMSG</i>
<i>No. de animales</i>	13	13	8
<i>AV (días)</i>	27.2 \pm 0.1	27.2 \pm 0.1	27.5 \pm 0.2
<i>Primer estro</i>	1.0 \pm 0.2	0.8 \pm 0.2	1.0 \pm 0.0

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tasa de animales ovulantes entre los diferentes grupos experimentales. El número de ovocitos liberados por los ratones hipotímicos tratados con 200 ng de timulina a partir del día 24 de edad y PMSG en el día 25, fue significativamente menor que el de los animales tratados con solución salina y PMSG ó el de 100 ng de timulina y la gonadotropina (Fig. 3).

En las hembras alopécicas de 24 días de edad, tratados diariamente con timulina y PMSG, no se observaron diferencias significativas en el peso corporal y de los órganos (Tabla 15).



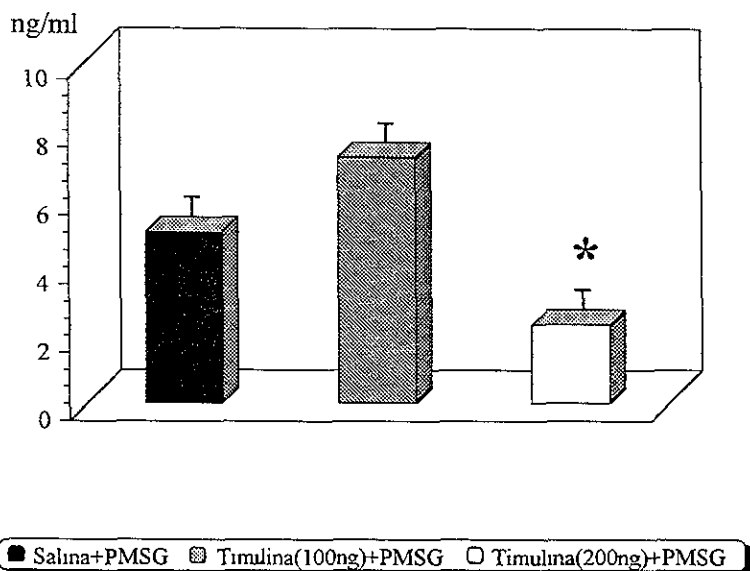
* $p < 0.05$ vs Salina+PMSG y Timulina(100ng)+PMSG

Figura 3. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos de ratones hipotímicos, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

Tabla 15. Media \pm e.e.m. del peso corporal y de los órganos de ratones hipotímicos, tratados con solución salina o timulina desde los 24 días de edad e inyectados 24 h después con 5 u.i. de PMSG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	Salina+PMSG	Timulina(100ng) +PMSG	Timulina(200ng) +PMSG
No. de animales	13	13	8
Peso corporal (g)	17.6 \pm 1.0	18.8 \pm 0.7	17.5 \pm 1.0
Ovarios (mg)	12.4 \pm 0.4	12.7 \pm 0.7	12.4 \pm 0.7
Útero (mg)	71.0 \pm 2.5	69.9 \pm 2.6	64.0 \pm 2.9
Timo (mg)	58.4 \pm 4.5	66.4 \pm 3.4	53.7 \pm 7.3

En estos ratones alopecicos la disminuci3n en la respuesta ovulatoria, se acompa1n3 de un decremento en la concentraci3n s3rica de progesterona (Fig. 4).



* $p < 0.05$ vs Salina+PMSG y Timulina(100ng)+ PMSG

Figura 4. Media \pm e.e.m. de la concentraci3n de progesterona en el suero de ratones hipot3micos tratados desde los 24 d3as de edad con soluci3n salina o timulina, inyectados con 5 u.i. de PMSG a los 25 d3as de edad, sacrificados el d3a del primer estro vaginal.

La ovulaci3n observada en el animal hipot3mico tratados con PMSG, indica que a esta edad, el sistema neuroend3crino del mutante ya es capaz de liberar el pico preovulatorio de LH, en respuesta al aumento en la concentraci3n de estr3genos producida por el tratamiento con PMSG. El menor n3mero de

ovocitos liberados en los animales tratados con 200 ng de timulina permite sugerir que en este modelo biológico la timulina en altas concentraciones actúa de manera inhibitoria sobre la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas o disminuye parcialmente la cantidad de LH que se libera o ambas.

Estudio de los efectos de la administración sistémica de la timulina desde los 24 días de edad, sobre la respuesta de los ovarios de ratones hipotímicos estimulados secuencialmente con gonadotropinas.

Con el fin de analizar si la disminución en la cuota ovulatoria observada en las hembras hipotímicas tratadas con 200 ng de timulina desde el día 24 de edad y estimulados con PMSG en el día 25, está relacionada con la liberación de la LH o con la sensibilidad del ovario a esta gonadotropina, se realizó un grupo de animales tratados con solución salina ó 200 ng de timulina a los que se les inyectó PMSG en el día 25 y 54 h después hCG.

Tanto en los animales tratados con solución salina como con timulina la respuesta del ovario (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) se incrementó significativamente al administrar ambas hormonas (Tabla 16).

Tabla 16. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (AV), de la presencia del primer estro vaginal, del número de ovocitos y del peso corporal y de los órganos de ratones hipotímicos, tratados a los 24 días de edad con solución salina o 200 ng de timulina y administración secuencial de 5 u.i. de PMSG y 3 u.i. de hCG, sacrificados el día del primer estro vaginal.

	<i>Timulina</i> <i>+PMSG</i>	<i>Salina+PMSG</i> <i>+hCG</i>	<i>Timulina</i> <i>+PMSG+hCG</i>
<i>No. de animales</i>	8	7	7
<i>AV (días)</i>	27.5 \pm 0.2	27.1 \pm 0.1	27.0 \pm 0.0
<i>Primer estro *</i>	1.0 \pm 0.0	0.9 \pm 0.1	1.0 \pm 0.0
<i>Tasa de ovulantes</i>	4 / 8	7 / 7	7 / 7
<i>No. de ovocitos</i>	7.5 \pm 1.8	35.4 \pm 5.2	29.6 \pm 4.0 a
<i>Peso corporal (g)</i>	17.5 \pm 1.0	14.4 \pm 0.5	16.0 \pm 0.5 b
<i>Ovarios (mg)</i>	12.4 \pm 0.7	13.4 \pm 0.9	11.5 \pm 0.6
<i>Útero (mg)</i>	64.0 \pm 2.9	47.3 \pm 2.2	51.7 \pm 2.9 a
<i>Timo (mg)</i>	53.7 \pm 7.3	49.1 \pm 5.3	61.5 \pm 2.3

* días posteriores a la apertura vaginal

a, $p < 0.05$ vs Timulina+PMSG

b, $p < 0.05$ vs Salina+PMSG+hCG

Los resultados de este experimento nos indican que la timulina no modifica la receptividad del ovario al estímulo gonadotrópico y permiten sugerir que la disminución en el número de ovocitos liberados por animal ovulante en respuesta a la PMSG se debería a una acción inhibitoria de la timulina sobre la regulación de la secreción de LH.

DISCUSION

Los resultados de este estudio muestran que la colonia de ratones alopécico-hipotímicos se ha mantenido estable bajo las condiciones convencionales de bioterio, ya que las características que distinguen a estos mutantes como son el retardo en la edad de la pubertad y en la aparición del primer estro vaginal, así como el menor peso de los ovarios, del útero y del timo, se conservan similares a las previamente descritas (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990).

Aunado a las características anteriores, el ratón hipotímico presenta alta concentración de corticosterona como reflejo del estrés constante al que está sometido por la falta de pelo y la hipotermia (Rosas y col., 1989b ; Rosas, 1990). Young y colaboradores (1990) describen que durante el estrés crónico no funciona el sistema inhibidor rápido de los glucocorticoides sobre la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, por sus siglas en inglés), debido a que la concentración elevada y constante de este esteroide, ocasiona una disminución en el número de sus receptores en el hipocampo. A diferencia del modelo anterior, en el ratón hembra hipotímico la concentración sérica de corticosterona aunque es elevada, presenta un ritmo circádico similar al del animal normal (Rosas y col., 1989b; Rosas, 1990).

Antes de la pubertad, la mayoría de la progesterona circulante es secretada por la adrenal (Ramaley y Bartosik, 1974; Cutler y Loriaux, 1980). Algunos investigadores han descrito que la administración crónica de ACTH a ratas y

ratones prepúberes, incrementa las concentraciones séricas de progesterona y glucocorticoides, lo que se acompaña de un retardo en la edad de la pubertad, disminución en el peso de los ovarios y del útero, ausencia de cuerpos lúteos y aumento en la atresia folicular ovárica (Christian, 1964; Pasley y Christian, 1972; Macfarland y Mann, 1977). Lo anterior apoya la idea de que en los ratones hipotímicos, la concentración plasmática de ACTH se encontraría elevada y permite sugerir que el aumento en la concentración de progesterona, hasta seis veces mayor que la de los ratones normales, probablemente sea de origen adrenal.

La tendencia al incremento en la concentración sérica de estradiol en el ratón alopecico, indica que la actividad del complejo enzimático aromatasas es funcional. Sin embargo, es posible que el ovario de estos ratones también contribuya en la elevación de la concentración de progesterona, ya que presentan alta incidencia de folículos atrésicos (Rosas e Hinojosa, 1993). En esta alteración podrían estar involucrados cambios enzimáticos como la disminución en la actividad del citocromo P-450 de 17 α -hidroxilasa/C17-C20 liasa (P-450_{17 α , liasa}), responsable del paso de progesterona a 17 α -progesterona, dando como resultado un incremento en la concentración de progesterona (Ishimura y col., 1990; Hsueh y col., 1994).

Freifeld y colaboradores (1974) han descrito que la progesterona inhibe la síntesis de los receptores a estrógenos en el útero, lo que podría explicar que en los ratones hipotímicos este órgano blanco de estrógenos sea de menor peso.

En los ratones normales tratados con timulina a partir de los 24 días de edad, se observó un incremento en la concentración sérica de progesterona, lo que

podría explicar el retraso en el inicio de la pubertad y la presencia del primer estro vaginal (Janovick y Conn, 1996). Lo anterior nos lleva a pensar que la timulina participa en la regulación de la esteroidogénesis actuando a diferentes niveles:

1. *En el Sistema Nervioso Central.* La timulina atraviesa la barrera hematoencefálica (Bach y Dardene, 1984), lo que le permitiría interactuar en la regulación de la secreción de la GnRH. Al parecer esta participación sería de manera inhibitoria, lo que traería como consecuencia alteraciones en el patrón de secreción de las gonadotropinas y por ende en la esteroidogénesis.
2. *En el ovario.* La timulina podría participar en los mecanismos que regulan el desarrollo ovárico. Se ha mostrado que la timulina estimula la proliferación de las células germinales del ovario de feto de ratón en cultivo (Prepin, 1991). Es probable que la timulina actúe durante el desarrollo postnatal, de manera similar a la descrita para diversos factores de crecimiento que participan en la regulación de las funciones del ovario y cuya acción depende de la presencia de las gonadotropinas (Hillier, 1994; Hsueh y col., 1994; Skinner y Parrott, 1994).
3. *En el timo.* Se ha mostrado que la timulina presenta un mecanismo de autorregulación (Savino y col., 1982; Dardenne y col., 1986), ya que la inyección de anticuerpos anti-timulina ocasiona un incremento en el contenido intracelular de la hormona tímica. También se ha descrito que la timulina administrada sistémicamente tiene una vida media de minutos (Bach y Dardenne, 1984; Davis y col., 1994) Es probable que el aumento brusco en la concentración de timulina por su administración esté seguido de la disminución en su secreción, por lo que el efecto inhibitorio observado sería por la falta de esta hormona

Con base en lo anterior, los resultados de la administración de timulina serían el reflejo de una de estas vías o una combinación de las mismas. Con los estudios que se tienen hasta ahora, no es posible definir el mecanismo.

No se ha descrito un efecto trófico de la timulina sobre el timo, sin embargo, el incremento en el peso de este órgano en los animales normales tratados con timulina desde los 24 días de edad, permite sugerir la existencia de este mecanismo.

En los ratones hipotímicos, la interpretación de los efectos de la timulina dependen en parte de su respuesta al estrés (inyección diaria). Como se ha mencionado anteriormente, en estos mutantes la alta concentración de corticosterona participa en el retardo de la pubertad (Rosas y col., 1989b). En los animales inyectados diariamente con solución salina desde el día 19 de edad se observó incremento en el peso de los ovarios y del timo, mientras que en los animales de 24 días, el mismo tratamiento ocasionó adelanto de la pubertad y reducción de la concentración sérica de progesterona. Lo anterior puede ser explicado por una disminución en la secreción de glucocorticoides (Macfarlan y Mann, 1977; D'agostino y col., 1990). La reversión de estos efectos por la inyección de timulina, hace pensar que esta hormona bloqueó los mecanismos que conducen al descenso en la concentración de glucocorticoides antes mencionada.

Lo anterior pone de manifiesto una vez más que ambos modelos biológicos son diferentes entre sí, ya que la respuesta del ratón hipotímico frente a un mismo tipo de estímulo (inyección diaria de solución salina) es inversa a la del animal normal.

En el ratón de la cepa CD1 y en el ratón hipotímico, el primer estro vaginal no se acompaña de la ovulación (Rosas y col., 1987; Rosas, 1990). Nuestros resultados muestran que la administración diaria de la timulina durante la etapa peripuberal, no modifica esta característica.

En el ratón de 20 días el eje hipotálamo-hipófisis-ovario no está totalmente maduro, ya que la administración de PMSG no induce la ovulación, resultado que confirma lo previamente descrito por Rosas y colaboradores (1989a). El aumento brusco de la concentración de timulina en presencia de PMSG incrementa la respuesta ovulatoria, lo que indica que la hormona tímica ejerce una acción estimulante sobre el eje hipotálamo-hipófisis. Este papel estimulante requeriría de que las condiciones neuroendócrinas fueran las de la etapa preovulatoria.

Una posible explicación a lo anterior sería que la timulina actuara a nivel hipotalámico estimulando la liberación de GnRH o bien sobre la hipófisis sensibilizando a los gonadotropos para la liberación de LH o ambas. Existen evidencias de que varios péptidos sintetizados por el timo como la timosina F-5 y la timosina β_4 actúan a nivel de SNC (estimulan la liberación de la GnRH) y en el ovario (Rebar y col., 1981a; Michael, 1983). En la figura 5 se muestra una propuesta del modelo de regulación de la timulina en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

El ratón timectomizado a los 10 días de edad presenta en la etapa puberal, disminución de la población folicular y del peso de los ovarios, así como menor respuesta ovulatoria ante el estímulo gonadotrópico (García y Rosas, 1994a,b; Rosas y col., 1995; García, 1996). Dado que el tratamiento diario con timulina desde el día 19 de edad y PMSG en el día 20, incrementó la masa ovárica, se

puede sugerir que la timulina es uno de los péptidos tímicos involucrados en la regulación del crecimiento y la maduración del folículo ovárico.

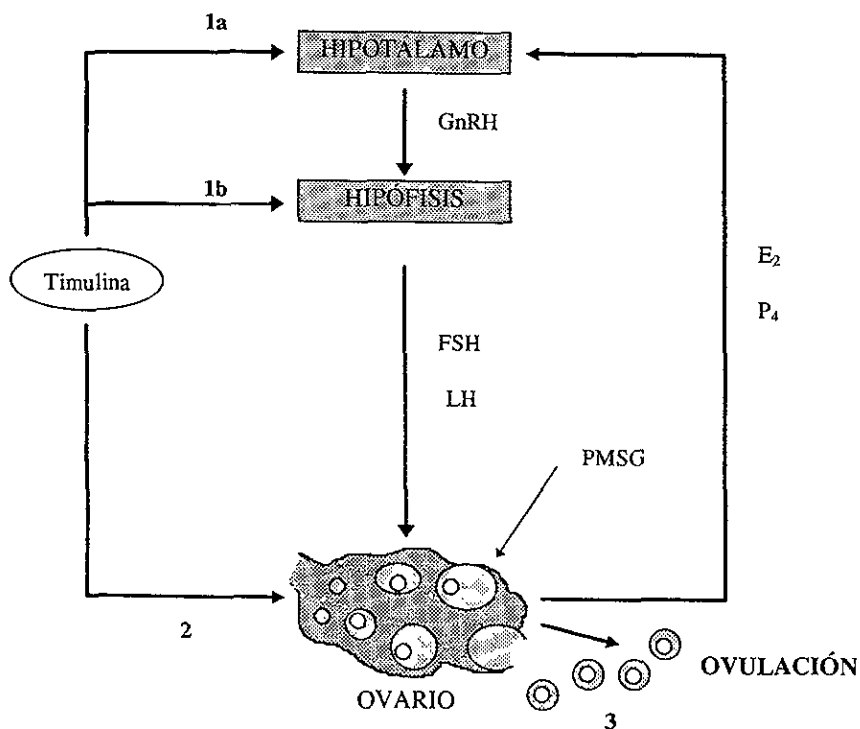


Figura 5. Modelo hipotético que explica la acción de la timulina desde los 19 días de edad sobre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario en el ratón normal estimulado con gonadotropinas. 1a. Acción de la timulina sobre el hipotálamo donde estimula la secreción de la GnRH. 1b. Acción de la timulina sobre la hipófisis estimulando la secreción preovulatoria de LH por la sensibilización de los gonadotropos a la GnRH. 2. Acción estimulante de la timulina sobre el crecimiento y desarrollo del folículo ovárico. 3. Respuesta ovulatoria. GnRH: hormona liberadora de las gonadotropinas; FSH: hormona estimulante del folículo; LH: hormona luteinizante; E₂: estradiol; P₄: Progesterona; PMSG: gonadotropina del suero de la yegüa preñada.

En los animales de 25 días de edad el eje hipotálamo-hipófisis-ovario está totalmente maduro, ya que la estimulación con PMSG provocó la ovulación en el 92% de los animales (similar a los descrito por Rosas y col., 1989a). Con base en estos resultados es probable que la acción estimulante de la timulina sobre la respuesta ovulatoria inducida, observada en el animal de 20 días de vida, haya quedado enmascarada. Sin embargo, el incremento en el peso de los ovarios apoya la interpretación de que la hormona tímica participa en el crecimiento y desarrollo del ovario.

En el animal hipotímico de 19 días de edad, al igual que en el ratón normal, la timulina incrementa la respuesta ponderal del ovario tratado con gonadotropinas. El hecho que estos animales no ovulen indica que la liberación preovulatoria de la LH no ocurre, lo que probablemente está relacionado con el retardo en la madurez neuroendócrina que caracteriza a este mutante (Rosas y col., 1987, 1989a; Rosas, 1990).

Aunque el ratón alopécico de 25 días es capaz de ovular al ser estimulado con PMSG, esta respuesta no se incrementa al administrar timulina (100 ng), más aun disminuye al aumentar la dosis. Estos efectos podrían ser el reflejo del considerable decremento de la población folicular y alta incidencia de atresia que presentan los ovarios de estos ratones (Rosas e Hinojosa, 1993). Dadas las condiciones fisiológicas de este mutante, parecería que la presencia de la timulina disminuiría la respuesta del ovario a las gonadotropinas o bien modificaría la liberación de las mismas. El hecho que los animales hipotímicos tratados con 200 ng de timulina ovularon al administrar de manera secuencial ambas gonadotropinas, nos indica que la timulina en el animal hipotímico participa de

manera inhibitoria en la regulación de la liberación de la LH y no modifica la receptividad del ovario al estímulo gonadotrópico.

Tanto el útero como el timo han sido considerados buenos indicadores de los cambios en la concentración de estradiol. Cuando la concentración de estradiol se encuentra elevada, el útero aumenta de peso, mientras que en el timo se favorece su involución (Grossman, 1984, Fitzpatrick y col., 1985; Roitt y col., 1993; Brenner y Slayden, 1994). Nuestros resultados muestran que tanto en el ratón normal como en el hipotímico, ambos órganos amplifican considerablemente su respuesta a la administración de PMSG, lo que indica un incremento en la esteroidogénesis. Sin embargo, en el animal alopécico la respuesta del útero y del hipotimo siempre fue de menor magnitud respecto al normal. Estos resultados podrían estar relacionados con una menor capacidad esteroidogénica en el mutante, o que el timo hipoplásico responde diferente al normal, o ambas.

Diversos estudios muestran que la atimia congénita o quirúrgica se acompaña de disminución en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas y alteraciones en la función hipotálamo-hipofisaria, mismas que sólo se normalizan al injertar un timo al nacimiento (Sakakura y Nishizuka, 1972; Pierpaoli y Besedovsky, 1975; Michael y col., 1980; Rebar y col., 1980, 1981b; Chesnokova y col., 1983). Por lo anterior no se puede descartar que en el ratón hipotímico, el efecto que se observa al administrar la timulina en la etapa peripuberal sea el resultado de una disfunción hipotálamo-hipofisaria previa, que no se normaliza con el reemplazo hormonal en esta etapa.

El ratón hipotímico se caracteriza por tener la concentración de corticosterona al doble de la de un animal normal (Rosas y col., 1989b). Se ha

descrito en el ratón, que la administración crónica de hidrocortisona provoca una disminución en la concentración plasmática de la timulina (Fabris y Mocchegiani, 1985), lo que permite sugerir que en el ratón hipotímico la concentración de timulina probablemente es menor a la del ratón normal.

En el plasma la timulina se encuentra unida a zinc, lo que incrementa su vida media así como su actividad biológica (Bach y Dardenne, 1984; Dardenne y col., 1984). En animales desnutridos o con deficiencia en zinc, así como en el ratón viejo (15 y 18 meses de edad), se presenta disminución en la concentración plasmática de la timulina y cuando se suplementa la dieta de estos animales con zinc, se restaura la concentración sérica de la timosina (Boukaiba y col., 1993; Dardenne y col., 1993). Aunque el ratón hipotímico presenta deshidratación, hipotermia y desnutrición, los resultados obtenidos en este estudio, no podrían ser explicados por este mecanismo, ya que estudios preliminares muestran que la concentración de zinc en el ratón hipotímico es similar a la del ratón normal.

Las características neuroendócrinas que presenta el ratón hipotímico, son diferentes a las del ratón normal. Por lo que no obstante que algunas respuestas a la timulina son similares entre ambos tipos de animales, no serían comparables hormonalmente, ya que se derivan de mecanismos diferentes.

CONCLUSIONES

- En el ratón normal la administración sistémica de la timulina durante la etapa peripuberal, inhibe el inicio de la pubertad, ya que induce retraso en la canalización espontánea de la vagina y alteraciones en la biosíntesis de esteroides sexuales.
- En el ratón normal prepúber tratado con PMSG, la timulina incrementa el efecto estimulante de las gonadotropinas sobre el crecimiento de los ovarios, e induce la ovulación al favorecer la liberación de la LH.
- El ratón hipotímico prepúber, responde de manera diferente al ratón normal frente al mismo tipo de estrés [inyección diaria de solución salina] (efecto estimulante).
- En el ratón hipotímico prepúber, el tratamiento con timulina provoca un respuesta antagónica (efecto inhibidor) a la observada por el estrés.
- En el ratón hipotímico prepúber tratado con PMSG, la timulina incrementa el efecto estimulante de las gonadotropinas sobre el crecimiento de los ovarios, pero disminuye la respuesta ovulatoria.

PERSPECTIVAS

De este estudio surgen varias interrogantes algunas de las cuales se plantean a continuación:

La estimulación que se observa con timulina en la respuesta ovulatoria del ratón normal prepúber tratado con PMSG, ¿se debe a la acción de la timulina a nivel de hipotálamo (secreción de GnRH) o hipófisis (secreción de LH)?

La falta de respuesta ovulatoria en el ratón hipotímico tratado con timulina y PMSG, ¿indica que la timulina tiene un papel diferente en el mutante o se debe a alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis?

El crecimiento de los ovarios que se observa por el tratamiento con timulina y la gonadotropina, ¿son el reflejo de cambios en el compartimento folicular o también están involucrados el luteal e intersticial?

Las diferencias que se observan entre el ratón normal y el hipotímico en respuesta al estrés, ¿son el resultado de alteraciones en la función del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal del mutante? ¿La timulina participa en la regulación de este eje?

BIBLIOGRAFÍA

- ABOUSSAOUIRA, T., MOUSTAFA, Y. e IDELMAN, S.** (1989). Image analysis of cell proliferation in rat thymus throughout development. *Thymus* **12**, 167-186.
- 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.
- AGUILERA, G. y ROMANO, M.** (1989). Influence of the thymus on steroidogenesis by rat ovarian cells *in vitro*. *J. Endocrinol.* **123**, 367-373.
- AHMED, E.E., DEES, W.L. y OJEDA, S.R.** (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* **118**, 1682-1688.
- ANDREWS, W.W. y OJEDA, S.R.** (1981). A detail analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology* **109**, 2032-2039.
- ARGÜELLO, M.S.** (1987). Influencia de la inervación noradrenérgica del ovario sobre la pubertad espontánea e inducida en el ratón normal e hipotímico. Tesis Licenciatura, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza, UNAM.
- BACH, J-F. y DARDENNE, M.** (1984). Clinical Aspects of thymulin (FTS). En: *Thymic Hormones and Lymphokines. Basic Chemistry and Clinical Application.* A.L. Goldstein Ed., Plenum Press, New York, p.p. 593-600.
- BECU-VILLALOBOS, D. y LACAU-MENGIDO, I.M.** (1990) Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Act. Physiol. Pharmacol. Latinoam.* **40**, 1-17.
- BELLANTI, J.A.** (1986). *Inmunología.* 3ª ed., Interamericana, México, p.p. 18-58.

- BESEDOVSKY, H.O. y SORKIN, E.** (1974). Thymus involvement in female sexual maturation. *Nature* **249**, 356-358.
- BOUKAIBA, N., FLAMENT, C., ACHER, S., CHAPPUIS, P., PIAU, A., FUSSELIER, M., DARDENNE, M. y LEMONNIER, D.** (1993). A physiological amount of zinc supplementation: Effects on nutritional, lipid, and thymic status in an elderly population. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**, 566-572.
- BRENNER, R.M. y SLAYDEN, D.** (1994). Cyclic changes in the primate oviduct and endometrium. En: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil y J.D. Neill Eds., 2ª ed., Vol. I, Raven Press, New York, p.p. 541-569.
- BYSKOV, A.G.** (1978). Follicular atresia. En: *The vertebrate ovary. Comparative Biology and Evolution*. R.E. Jones Ed., Plenum Press, New York, p.p. 533-562.
- CALZOLARI, A.** (1898). Recherches expérimentales sur un rapport probable entre la fonction du thymus celle des testicules. *Arch. Ital. Biol. Torino* **30**, 71-77.
- CARTER, J.** (1976). The effect of progesterone, oestradiol and hCG on cell-mediated immunity in pregnant mice. *J. Reprod. Fert.* **46**, 211-216.
- CENTOLA, G.M.** (1983). Structural changes: Atresia. En: *The ovary*. G.B. Serra Ed., Raven Press, New York, p.p. 95-111.
- CHAMBERS, S.P. y CLARKE, A.G.** (1979). Measurement of thymus weight, lumbar node weight and progesterone levels in syngeneically pregnant, allogeneically pregnant, and pseudopregnant mice. *J. Reprod. Fert.* **55**, 309-315.
- CHESNOKOVA, V.M., IVANOVA, L.N. y GRUNTENKO, E.V.** (1983). Effect of the thymus on endocrine functions of the gonads and adrenals in mice. *Byull. Eksp. Biol. Med.* **96**, 89-91.
- CHRISTIAN, J.J.** (1964) Actions of ACTH in intact and corticoid-maintained adrenalectomized female albino mice with emphasis on the reproductive tract. *Endocrinology* **75**, 653-669.

CUTLER, G.B. y LORIAUX, D.L. (1980). Adrenarcho and its relationship to the onset of puberty. *Federation Proceedings* **39**, 2384-2390.

D'AGOSTINO, D., VALADKA, R.J. y SCHWARTZ, N.B. (1990). Differential effects of *in vitro* glucocorticoids on luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion: Dependence on sex of pituitary donor. *Endocrinology* **127**, 891-899.

DALAKAS, M.C., HUBBARD, R., CUNNINGHAM, G., TRAPP, B., SEVER, J.L. y GOLDSTEIN, A.L. (1984). Thymosin β_4 is present in a subset of oligodendrocytes in the normal human brain. En: *Thymic Hormones and Lymphokines. Basic Chemistry and Clinical Application.* A.L. Goldstein Ed., Plenum Press, New York, p.p. 119-125.

DALKIN, A.C., BOWNE, G.A., PIEPER, D.R., REGIANI, S. y MARSHALL, J.C. (1981). Pituitary and gonadal gonadotropin-releasing hormone receptors during sexual maturation in the rat. *Endocrinology* **108**, 1658-1664.

DARDENNE, M. y BACH, J-F. (1981). Thymic hormones. En: *The thymus gland.* M. Kendall Ed., Academic Press, London, p.p. 113-131.

DARDENNE, M., BOUKAIBA, N., GAGNERAULT, M-C., HOMO-DELARCHE, F., CHAPPUIS, P., LEMONNIER, D. y SAVINO, W. (1993). Restoration of the thymus in aging mice by *in vivo* zinc supplementation. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **66**, 127-135.

DARDENNE, M., PAPIERNIK, M., BACH, J-F. y STUTMAN, O. (1974). Studies on thymus products. III. Epithelial origin of the serum thymic factor. *Immunology* **27**, 299-304.

DARDENNE, M., SAVINO, W., DUVAL, D., KAISERLIAN, D., HASSID, J. y BACH J-F. (1986). Thymic hormone-containing cells. VII Adrenals and gonads control the *in vivo* secretion of thymulin and its plasmatic inhibitor. *J. Immunol.* **136**, 1303-1308.

DARDENNE, M., SAVINO, W., GASTINEL, L. y BACH J-F. (1984). Thymulin. New Biochemical aspects. En: Thymic Hormones and Lymphokines. Basic Chemistry and Clinical Application. A.L. Goldstein Ed., Plenum Press, New York, p.p. 37-42.

DAVIS, S.L., SAFIEH-GARABEDIAN, B. y KHOSRAVIANI, M. (1994). Concentrations of thymulin in unextracted serum from pigs, sheep and cattle as measured by ELISA. *J. Immunology* **15**, 191-211.

DOMINGUEZ, R., CHAVEZ, R. y CRUZ, Ma.E. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. R. Domínguez Ed., M. A. Porrúa, México, p.p. 161-188.

EATON, G.J., OUTZEN, H.C., CUSTER, R.P. y JOHNSON, F.N. (1975). Husbandry of the "nude" mouse in conventional and germfree environments. *Lab. An. Sci.* **25**, 309-314.

FABRIS, N y MOCCHEGIANI, E. (1985). Endocrine control of thymic serum factor production in young-adult and old mice. *Cel. Immunol.* **91**, 325-335.

FEDER, H.H. (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: Neuroendocrinology of Reproduction Physiology and Behavior. N.T. Adler Ed., Plenum Press, New York, p.p. 279-333.

FINK, G. (1986). The endocrine control of ovulation. *Sci. Prog. Oxf.* **70**, 403-423.

FITZPATRICK, F.T.A., KENDALL, M.D., WHEELER, M.J., ADCOCK, I.M. y GREENSTEIN, B.D. (1985). Reappearance of thymus of ageing rats after orchidectomy. *J. Endocrinol.* **106**, R17-R19.

FLANAGAN, S.P. (1966). "Nude", a new hairless gene with pleiotropic effects in the mouse. *Genet. Res. Camb.* **8**, 295-309.

FORD, J., VAKHARIA, D., ANDERSON, L. y KLINDT, J. (1990). Thymosin- β 4 concentrations during the estrous cycle and after hypophyseal stalk transection of female pigs *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **193**, 185-189.

FRANCHIMONT, P.M., HAZEE-HAGELSTEIN, T.C., CHARLEST-RENAR, J., JASPAR, M. y HENNEN, G. (1991). Some basic mechanisms of ovulation. En: The study of ovulation. Y. Boutaleb y A. Gzouli Eds., Parthenon Publishing Group, New Jersey, p.p. 3-8.

FREEMAN, M.E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: The Physiology of Reproduction. E. Knobil y J.D. Neill Eds., 2ª ed., Vol. II, Raven Press, New York, p.p. 613-658.

FREIFELD, M.L., FEIL, P.D. y BARDIN, C.W. (1974). The *in vivo* regulation progesterone "receptor" in guinea pig uterus: Dependence of estrogen and progesterone. *Steroid* 23, 93-103.

GARCIA, L. (1996). Estudio de los efectos de la timentomía realizada en la etapa infantil sobre el proceso de pubertad y la ovulación en el ratón. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

GARCIA, L. y ROSAS, P. (1994a). Efectos de la timentomía realizada en la etapa infantil sobre la pubertad y la ovulación en el ratón prepuber. XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas, P6/6.

GARCIA, L. y ROSAS, P. (1994b). Estudio del crecimiento folicular de los ovarios de ratones timentomizados en la etapa infantil y su respuesta a la estimulación gonadotrópica. XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, C138.

GOLDMAN, B.D. (1981). Puberty. En: Neuroendocrinology of Reproduction. N.T. Adler Ed., Capítulo 8, Plenum Press, New York, Londres, p.p. 229-239.

GOLDSTEIN, A.L. (1984). Thymic hormones and lymphokines. Plenum Press, New York, p.p. 669.

GOLDSTEIN, A., LOW, T., THURMAN, G., ZATZ, M., HALL, N., CHEN, J., HU, S-K., NAYLOR, P. y McCLURE, J. (1981). Current status of thymosin and other hormones of the thymus gland. *Recent. Prog. Horm. Res.* 37, 369-415.

GORE-LANGTON, R.E. y ARMSTRONG, D.T. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: The Physiology of Reproduction. E. Knobil y J.D. Neill Eds., 2ª ed., Vol. I, Raven Press, New York, p.p. 571-627.

- GROSSMAN, C.J.** (1984). Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocrine Rev.* **5**, 435-455.
- GROSSMAN, C.J.** (1985). Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* **227**, 257-261.
- GUYTON, A.C.** (1984). *Tratado de Fisiología Médica*. 6ª ed., Interamericana, Barcelona, p.p. 1186-1204.
- HALL, N.R.S., O'GRADY, M.P. y MENZIES, R.A.** (1992). Thymic regulation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Int. J. Immunopharmac.* **14**, 353-359.
- HAM, A.W.** (1975). *Tratado de Histología*. 7ª ed., Interamericana, México, p.p. 303-312.
- HARRISON, R.J. y WEIR, B.J.** (1977). Structure of the mammalian ovary. En: *The Ovary*. L. Zuckerman y B.J. Weir Eds., Vol. I, Academic Press, New York, p.p. 113-217.
- HATTORI, M. y BRANDON, M.R.** (1979). Thymus and the endocrine system: Ovarian dysgenesis in neonatally thymectomized rats. *J. Endocrinol.* **83**, 101-111.
- HILLIER, S.G.** (1994). Hormonal control of folliculogenesis and luteinization. En: *Molecular biology of the female reproductive system*. J.K. Findlay Ed., Academic Press, San Diego, p.p.1-37.
- HINOJOSA, L.** (1994). Estudio de los efectos del injerto de timo sobre la pubertad espontánea e inducida en el ratón alopecico-hipotímico. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
- HINOJOSA, L. y ROSAS, P** (1994). Estudio de la respuesta del ratón hembra hipotímico al injerto de timo sobre la regulación de la pubertad espontánea. XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, O145.
- HIRIART, M. y ROMANO, M.C.** (1986). Human chorionic gonadotropin binding to rat testis receptors is inhibited by a thymus factor. *Life Sci* **38**, 789-795.

HORECKER, B.L. (1984). Thymosin. Distribution and Biosynthesis in vertebrate cell and tissues. En: Thymic Hormones and Lymphokines. Basic Chemistry and Clinical Application. A.L. Goldstein Ed., Plenum Press, New York, p.p. 77-88.

HSUEH, A.J.W., BILLIG, H. y TSAFRIRI, A. (1994). Ovarian Follicle: A hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine Rev.* **15**, 707-724.

ISHIMURA, K., YOSHINAGA-HIRABAYASHI, T., TSURI, H., KOMINAMI, S., TAKEMORI, S. y FUJITA, H. (1990). Immunocytochemical and biochemical studies on the localization and changes of 17 α -hydroxylase/C17-C20 lyase activity in immature rat ovary treated with PMSG and hCG. *Histochemistry* **94**, 225-229.

JAMBON, B., MONTAGNE, P., BENE, M-C., BRAYER, M-P., FAURE, G. y DUHEILLE, J. (1981). Immunohistologic localization of "facteur thymique serique" (FTS) in human thymic epithelium. *J. Immunol.* **127**, 2055-2059.

JANARDANA SARMA, 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. Endocrinol.* **22**, 177-182.

JANOVICK J.A. y COON, P.M. (1996). Progesterone diminishes the sensitivity of gonadotropin-releasing hormone-stimulated luteinizing hormone (LH) release and protects an LH pool from desensitization. actions opposed by cholera toxin. *Endocrinology* **135**, 1823-1827.

KOSIEWICZ, M.M. y MICHAEL, S.D. (1990). Neonatal thymectomy affects follicle populations before the onset of autoimmune oophoritis in B6A mice. *J. Reprod. Fert.* **88**, 427-440.

KUBASIK, N.P. HALLAUER, G.D. y BRODOWS, R.G. (1984). Evaluation of a direct solid-phase radioimmunoassay for progesterone, useful for monitoring luteal function. *Clin. Chem.* **30**, 284-286.

LANGMAN, J. (1976). *Embriología médica*. 3ª ed., Interamericana, México, p.p 242-244.

LINTERN-MOORE, S. (1977). Effect of athymia on the initiation of follicular growth in the rat ovary. *Biol. Reprod.* **17**, 155-161.

LINTERN-MOORE, S., MOORE, G.P.M. y PANTELOURIS, E.M. (1976). Abnormal nucleolar growth in the oocytes of athymic "nude" mice. *Exptl. Cell Res.* **97**, 430-432.

LOW, T. y GOLDSTEIN, A. (1984). Thymosins: Structure, function and therapeutic applications. *Thymus* **6**, 27-42.

MACFARLAND, L.A. y MANN, D.R. (1977). The inhibition effects of ACTH and adrenalectomy on reproductive maturation in female rats. *Biol. Reprod.* **16**, 306-314.

MARCHETTI, B., GUARCELLO, V., MORALE, M.C., BARTOLONI, G., FARINELLA, Z., CORDARO, S. y SCAPAGNINI, U. (1989a). Luteinizing hormone-releasing hormone-binding sites in the rat thymus: Characteristics and biological function. *Endocrinology* **125**, 1025-1036.

MARCHETTI, B., GUARCELLO, V., MORALE, M.C., BARTOLONI, G., PALUMBO, G., RAITI, F., CUTULLI, N., FARINELLA, Z. y SCAPAGNINI, U. (1990). A physiological role for the neuropeptide luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) during the maturation of thymus gland function. *Intern. J. Neuroscience* **51**, 287-289.

MARCHETTI, B., GUARCELLO, V., MORALE, M.C., BARTOLONI, G., RAITI, F., PALUMBO, G., FARINELLA, Z., CORDARO, S. y SCAPAGNINI, U. (1989b). Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) agonist restoration of age-associated decline of thymus weight, thymic LHRH receptors, and thymocyte proliferative capacity. *Endocrinology* **125**, 1037-1045.

MENDOZA, M.E., MARTIN, D., CANDELARIA, P.G. y ROMANO, M.C. (1995). Evidence that secretory products of the reticuloepithelial cells of rat thymus modulate the secretion of gonadotrophins by rat pituitary cells in culture. *J. Reprod. Immunol.* **28**, 203-215.

MICHAEL, S.D. (1983). Interactions of the thymus and the ovary. En: *Factors Regulating Ovarian Function*. G.S. Greenwald y P.F. Terranova Eds., Raven Press, New York, p p. 445-464

MICHAEL, S.D., TAGUCHI, O. y NISHIZUKA, Y. (1980). Effect of neonatal thymectomy on ovarian development and plasma LH, FSH, GH and PRL in the mouse. *Biol. Reprod.* **22**, 343-350.

MICHAEL, S.D., TAGUCHI, O., NISHIZUKA, Y., McCLURE, J.E., GOLDSTEIN, A.L. y BARKLEY, M.S. (1981). The effect of neonatal thymectomy on early follicular loss and circulating levels of corticosterone, progesterone, estradiol, and thymosin α_1 . En: *Dynamics of Ovarian Function*. N.B. Schwartz y M. Hunzicker-Dunn Eds., Raven Press, New York, p.p. 279-284.

MONIER, J.C., DARDENNE, M., PLEAU, J.M., SCHMITT, D., DESCHAUX, P. y BACH, J.F. (1980). Characterization of facteur thymique sérique (FTS) in the thymus. I. Fixation of anti-FTS antibodies on thymic reticulo-epithelial cells. *Clin. Exp. Immunol.* **42**, 470-476.

MORGAN, D.D. y GROSSMAN, C.J. (1985). Studies on the cytosolic estrogen receptor from rat thymus. *Thymus* **7**, 279-286.

NISHIZUKA, Y. y SAKAKURA, T. (1969). Thymus and reproduction: Sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* **166**, 753-755.

NISHIZUKA, Y. y SAKAKURA, T. (1971). Ovarian dysgenesis induced by neonatal thymectomy in the mouse. *Science* **89**, 886-893.

OJEDA, S.R., AGUADO, L.I. y SMITH-WHITE, S. (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rat as a model. *Neuroendocrinology* **37**, 306-313.

OJEDA, S.R., ANDREWS, W.W., ADVIS, J.P. y SMITH-WHITE, S. (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Rev.* **1**, 228-257.

OJEDA, S.R., y URBANSKI, H.F. (1994). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil y J.D. Neill Eds. 2^a ed., Vol. II, Raven Press, New York, p p. 363-409.

OJEDA, S.R., URBANSKI, H.F. y AHMED, C.E. (1986). The onset of female puberty: Studies in the rat. *Recent. Prog. Horm. Res.* **42**, 385-442.

PASLEY, J.N. y CHRISTIAN, J.J. (1972). The effect of ACTH, group caging, and adrenalectomy in *Peromyscus leucopus* with emphasis on suppression of reproductive function. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **139**, 921-925.

PEDERNERA, E. (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. En: *Comunicación Neuroendócrina Bases Celulares y Moleculares*. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México, p.p. 33-46.

PEDERNERA, E., DIAZ-OSUNA, J. y CALCAGNO, M. (1986). A thymus factor influences the *in vitro* testosterone secretion of Leydig cells in the rat. *Life Sci.* **38**, 779-787.

PEDERSEN, T. (1969). Follicle growth in the immature mouse ovary. *Act. Endocrinol.* **62**, 117-132.

PETERS, H. (1969). The development of the mouse ovary from birth to maturity. *Act. Endocrinol.* **62**, 98-116.

PETERS, H. (1978). Folliculogenesis in mammals. En: *The vertebrates ovary*. Comparative Biology. R.E. Jones Ed., New York, Plenum Press, p.p. 121-144.

PETERS, H. (1979). Some aspects of early follicular development. En: *Ovarian Follicular Development and Function*. A.R. Midgley y W.A. Sadler Eds., New York, Raven Press, p.p. 1-13.

PIERPAOLI, W. y BESEDOVSKY, H.O. (1975). Role of the thymus in programming of neuroendocrine functions. *Clin. Exp. Immunol.* **20**, 323-338.

PREPIN, J. (1991). Le thymus foetal et la thymuline stimulent la prolifération des ovogonies dans l'ovaire foetal de rat *in vitro*. *Comptes Rendus-Academie Sciences Paris* **313**, 407-411.

RAMALEY, J.A. y BARTOSIK, D. (1974). Rhythms of progesterone and corticosterone after PMSG-induced puberty: Effects of ovariectomy. *Endocrinology* **95**, 1719-1725.

RAMIREZ, V.D. (1973). Endocrinology of puberty. En: Handbook of Physiology. American Physiological Society, p.p 1-28.

REBAR, R.W., MIYAKE, A., LOW, T.L.K. y GOLDSTEIN, A.L. (1981a). Thymosin stimulates secretion of luteinizing hormone-releasing factor. *Science* **214**, 669-671.

REBAR, R.W., MORANDINI, I.C., BENIRSCHKE, K. y PETZE, J.E. (1980). Reduced gonadotropins in athymic mice: Prevention by athymic trasplantation. *Endocrinology* **107**, 2130-2132.

REBAR, R.W., MORANDINI, I.C., ERICKSON, G.F. y PETZE, J.E. (1981b). The hormonal basis of reproductive defects in athymic mice. Diminished gonadotropin concentrations in prepubertal females. *Endocrinology* **108**, 120-126.

REYES, J.A. y ROMANO, M.C. (1989). An age-dependent thymic secretion modulates testicular function. *J. Steroid Biochemistry* **34**, 541-545.

ROITT, I., BROSTOFF, J. y MALE, D. (1993). *Immunology*. 3ª ed., Consultant, London, England, p.p. 3.1-3.12.

ROMANO, M., MENDOZA, M.E., CANDELARIA, P. y PORRAS, M. (1993). Interacción neuroinmunoendócrina. En: *Comunicación Neuroendócrina Bases Celulares y Moleculares*. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México, p.p. 239-250.

ROSAS, P. (1990). Estudio de las características reproductoras de ratones desnudos hipotímicos y la vinculación del timo con la regulación neuroendócrina de la reproducción. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, UNAM.

ROSAS, P., ARGÜELLO, M.S. y DOMINGUEZ, R. (1989a). Effects of noradrenergic peripheral denervation on spontaneous or induced puberty in normal and hypothyimic hairless females mice. *Med. Sci. Res.* **17**, 285-286.

ROSAS, P., CASTELLANOS, P. y DOMINGUEZ, R. (1987). The existence of spontaneous hairless ("nude") hypothyimic mutant mice from the CD1 stain, reared under conventional animal house conditions. *Med. Sci. Res.* **15**, 553-554.

ROSAS, P., CHAVEZ, R., CRUZ, Ma.E. y DOMINGUEZ, R. (1989b). Sex differences in serum corticosterone levels and circadian rhythms between hairless *et/et* mutant and CD1 adult mice. *Med. Sci. Res.* **17**, 283-284.

ROSAS, P., DE PAZ, R., HERNANDEZ-EHLERS, V., QUIROZ, U. y DOMINGUEZ, R. (1992). Sex differences in the effects of gonadectomy and hemigonadectomy on the weight of the thymus in adult mice. *Med. Sci. Res.* **20**, 509-510.

ROSAS, P. e HINOJOSA, L. (1993). Efectos de la estimulación gonadotrópica sobre el crecimiento folicular en el ovario de ratones prepúberes normales e hipotímicos. XIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de Investigaciones en Reproducción Humana, L-44.

ROSAS, P., HINOJOSA, L. y GARCIA, L. (1995). Evidence for the participation of the thymus on the regulation of ovarian development in the prepubertal mouse. *Biol. Reprod.* **52.**, Suppl. 1 Abs 296.

ROSS, M.H., REITH, E.J. y ROMRELL, L.J. (1992). *Histología texto y Atlas color.* Médica Panamericana, México, p.p. 578-581.

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.

SAVINO, W., DARDENNE, M., PAPIERNIK, M. y BACH, J-F. (1982). Thymic hormone-containing cells. Characterization and localization of serum thymic factor in young mouse thymus studied by monoclonal antibodies. *J. Exp. Med.* **156**, 628-633.

SHIRE, J.G.M. y PANTELOURIS, E.M. (1974). Comparison of endocrine function in normal and genetically athymic mice. *Comp. Biochem. Physiol.* **47 A**, 93-100.

SHOLITON, L.J., GROSSMAN, C.J. y TAYLOR, B.B. (1980). Rat thymic homogenates convert testosterone to androgenic metabolites. *J. Steroid Biochem.* **13**, 1365-1369.

SKINNER, M.K. y PARROTT, J.A. (1994). Growth factor-mediated cell-cell interactions in the ovary. En: Molecular biology of the female reproductive system. J.K. Findlay Ed., Academic Press, San Diego, p.p. 67-81.

SMITH-WHITE, S. y OJEDA, S.R. (1981). Changes in luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of rat. *Endocrinology* **109**, 152-161.

UZUMCU, M., AKIRA, S. y LIN, Y.C. (1992). Stimulatory effect of thymic factor(s) on steroidogenesis in cultured rat granulosa cell. *Life Sciences* **51**, 1217-1228.

YOUNG, E.A., AKANA, S. y DALLMAN, M.F. (1990). Decreased sensitivity to glucocorticoid fast feedback in chronically stressed rats. *Neuroendocrinology* **51**, 536-542.