



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**EFFECTO DE LA INHIBICIÓN DEL SISTEMA  
SEROTONINÉRGICO SOBRE LA SECRECIÓN  
DE TESTOSTERONA EN LA RATA MACHO  
PREPÚBER**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**B I Ó L O G A**  
P R E S E N T A :  
YUTSIL ANDREA LEYVA PÉREZ

**DIRECTORA: DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR**



**MÉXICO, D. F.**

**OCTUBRE 2009**



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 esta 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**

**EFECTO DE LA INHIBICIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO  
SOBRE LA SECRECIÓN DE TESTOSTERONA  
EN LA RATA MACHO PREPÚBER**

**Tesis que para obtener el título de Bióloga presenta:  
Yutsil Andrea Leyva Pérez**

**Directora de Tesis: Dra. María Elena Ayala Escobar**

**Realizada en el Laboratorio de Pubertad de la Unidad de  
Investigación en Biología de la Reproducción**

**Durante la realización de esta Tesis se contó con el apoyo financiero  
de DAGAPA-PAPIIT Convenio IN-219408**

## ***Agradecimientos:***

**De manera muy especial a mi Directora de Tesis la Dra. María Elena Ayala Escobar por su paciencia y todo el apoyo brindado durante la realización de esta Tesis.**

### **Al jurado:**

**Dra. María Elena Ayala Escobar**

**Dra. Patricia Rosas Saucedo**

**Dra. Leticia Morales Ledesma**

**M. C. Raúl Zavala Chavero**

**M. en B. E. Enrique Mendieta Márquez**

**Por sus valiosas aportaciones en la revisión y elaboración de esta Tesis.**

**A la Dra. Juana Monroy Moreno por siempre resolver mis dudas y enseñarme.**

**A mis compañeros de Laboratorio: Daniel Bahena, Diana Elizabeth Velázquez, Eloir Gallegos, Jessica Romero, Maritza García y Omar Cortés, personas exitosas de las cuales aprendí mucho.**

**Al personal del Bioterio de la FES Zaragoza por el valioso trabajo que realizan.**

## *Dedicatorias:*

### *A mi mami preciosa:*

**Por ser mi soporte, mi amiga, por siempre tener un remedio casero para los dolores del alma y el corazón roto, con dulzura, amor y paciencia inagotable.  
I'm everything I am because you loved me!.**

### *A mi papi:*

**Por darme todo lo necesario para cumplir mis sueños, por estar siempre para mí, siempre será el hombre más importante en toda mi vida, lo juro.**

### *A mi hermana Tzitzí Juliana:*

**Por ser mi compañera y amiga de toda la vida, una mujer única y hermosa, por alentarme a ser fuerte, te adoro hermanita preciosa.**

### *A mi hermano Nisín Alonso:*

**Por ser un niño dulce y de hermosa alma, por hacerme reír tanto, siempre serás mi pequeño hermanito, gracias por existir monito capuchino!.**

### *A mi sobrina Giselle G:*

**Por llegar a nuestras vidas y colorearlas, bienvenida preciosa gigi.**

**Los amo, ustedes son mi vida!**

*Muy muy muy especialmente a Maritza García:*

**Por permitirme conocerte, confiar en mí y llamarme AMIGA. Tu sabes lo que significas para mí y todo lo que me ayudaste a superar, por llenar mis días de risas, por secar mis lágrimas, por tus palabras de aliento y por tener fé en mí... simplemente por ser quién eres!, te quiero mucho!.**

*A las cuatreras:*

**Beatriz Vilchis, Erika Cortéz, Karina Jiménez, Nahiely Castorena, Susana Flores y Viviana Ulloa, por ser mis amigas en las buenas, las malas y las peores jajaja, tenerlas a mi lado es una bendición, las quiero mucho!.**

*A Eduardo Jaramillo (ericto bb):*

**Por ser el vino que llena mi copa, mi dualidad.  
Life is the never-ending surprise of knowing you exist, I really think so.  
I love u little cat.**

*A la banda:*

**César Alonso Gallardo, Eder, Guillermo Vega, Julio César Moncayo, Karla Florín, Martha Patricia Rosas, Miguel Hernández y Néstor Adrián Romero, por las salidas imprevistas jajaja, por enseñarme que existen los extraordinarios para pasar las materias (no, no es cierto jajaja), por las fiestas, las acampadas y todos los lugares que conocí a su lado, en resumen por hacer de la Universidad un lugar sumamente divertido! Jajaja, los quiero!.**

*A Mónica Espínola:*

**Por ser mi mejor amiga desde la niñez, te adoro preciosa kikis!!!, ya alcancé la hojita!!!.**

*A Felipe de Jesús Pintor:*

**Por ser mi amigo y por la valiosísima ayuda en los momentos de mi vida, gracias cosa!.**

*A mi alma máter:*

**La UNAM, por TODO, en serio quiero decir POR TODO!!!.**

---

---

## ÍNDICE

RESUMEN.....	i
INTRODUCCIÓN.....	1
Serotonina.....	1
Aparato Reproductor del Macho.....	6
Esteroidogénesis.....	10
Espermatogénesis.....	13
Eje Hipotálamo-Hipófisis.....	15
Serotonina y Regulación de las Funciones del Testículo.....	16
Pubertad.....	20
Etapa Neonatal.....	20
Etapa Infantil.....	21
Etapa Juvenil.....	21
Etapa Peripuberal.....	22
Anfetaminas.....	23
JUSTIFICACIÓN.....	27
HIPÓTESIS.....	28
OBJETIVOS.....	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
Administración del fármaco.....	30
Sacrificio.....	30
Cuantificación de Gonadotropinas y esteroides en el Suero.....	32
Cuantificación de Serotonina, Noradrenalina, Dopamina y Metabolitos.....	33
Análisis estadístico de los resultado.....	33

<b>RESULTADOS.....</b>	<b>35</b>
<b>Concentración de Serotonina, NA y DA</b>	
<b>en el Hipotálamo.....</b>	<b>39</b>
<b>Concentración de serotonina, NA y DA</b>	
<b>en la Hipófisis.....</b>	<b>43</b>
<b>Concentración de Gonadotropinas.....</b>	<b>46</b>
<b>Concentración de serotonina, NA y DA</b>	
<b>en Cápsula y Tejido Testicular.....</b>	<b>46</b>
<b>Concentración de Hormonas Esteroides en Suero.....</b>	<b>47</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>65</b>



## **RESUMEN**

La serotonina (5-HT) es un amina biogénica que se encuentra en diferentes regiones del cerebro, como el hipotálamo. También se ha identificado en tejidos periféricos como el testículo. Este neurotransmisor participa con los mecanismos que regulan la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas y por ende la secreción de testosterona. Sin embargo, hasta el momento no existen evidencias claras que muestren que la amina actúa directamente en la hipófisis y en el testículo y como consecuencia regule la secreción de gonadotropinas o testosterona respectivamente.

En el presente trabajo se decidió analizar los efectos de la administración de la pCA, inhibidor de la síntesis de 5-HT, en el sistema serotoninérgico del hipotálamo, de la hipófisis y del testículo en la secreción de las gonadotropinas y la testosterona. Para ello, se utilizaron ratas macho de la cepa CII-ZV de 30 días de edad, a las cuales se les administró la pCA en una dosis de 10mg/kg de p.c. Otro grupo de animales recibió solución salina al 0.9% (vh) y como grupo de comparación se utilizaron animales sin ningún tratamiento (TA). Animales de los diferentes grupos se sacrificaron a las 24, 48, 72, 96, 120 ó 144 horas después del tratamiento. Al momento del sacrificio se realizó la disección del HA, HM y HP, la hipófisis y el testículo (cápsula y tejido testicular) en donde se realizó la cuantificación de serotonina y catecolaminas por cromatografía de líquidos de alta resolución. En el suero se realizó la cuantificación de hormonas esteroides y gonadotropinas (FSH y LH) por la técnica de radioinmunoanálisis.

En los animales tratados con pCA, en comparación con el grupo con vh, se observó la disminución significativa en la concentración de serotonina en el HA a partir de las 48 horas postratamiento, este comportamiento se observó a partir de las 24 horas en el HM y en el HP únicamente a las 48, 72, 96 ó 120 horas postratamiento.

En los animales que se administró la anfetamina no se observaron cambios significativos en la concentración de serotonina en la hipófisis o en la cápsula testicular. En el tejido testicular la concentración de serotonina fue menor a las 144 horas postratamiento ( $0.03 \pm 0.01$  vs.  $0.08 \pm 0.009$ ,  $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo tratado con vh.

No se observaron cambios en la concentración de gonadotropinas en ninguno de los periodos estudiados, mientras que la concentración de testosterona fue significativamente menor en todos los periodos de estudio excepto a las 48 horas (24 horas:  $33.4 \pm 20.9$  vs.  $129.0 \pm 46.6$ ; 72 horas:  $78.8 \pm 31.7$  vs.  $161.7 \pm 21.9$ ; 96 horas:  $79.1 \pm 28.4$  vs.  $279.1 \pm 40.2$ ; 120 horas:  $59.4 \pm 13.2$  vs.  $159.6 \pm 39.1$ ; 144 horas:  $96.5 \pm 30.1$  vs.  $314.7 \pm 79.9$ ,  $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo que recibió vh. La concentración de progesterona disminuyó significativamente a las 48 y 120 horas y aumentó a las 24 y 144 horas después de la administración del fármaco y la concentración de estradiol no se modificó en ninguno de los periodos estudiados.

Los resultados obtenidos en este estudio nos permiten sugerir que la serotonina modula directamente en el testículo la secreción de testosterona por un mecanismo que es independiente de la secreción de LH.

## INTRODUCCIÓN

### Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una amina biogénica que se ha identificado en el sistema nervioso central, es una sustancia hidrofílica que no atraviesa la barrera hematoencefálica. Es producida en neuronas especializadas denominadas serotoninérgicas (Frazer y Hensler, 1999; Walther y Bader, 2003).

La mayoría de los somas de las neuronas serotoninérgicas se ubican en el núcleo del rafé, a este núcleo lo conforman nueve paquetes celulares que se designan del B<sub>1</sub> al B<sub>9</sub>. Con base en la distribución de estos grupos celulares el núcleo del rafé se divide en: núcleo dorsal del rafé (NDR), núcleo medial del rafé (NMR) y núcleo del rafé del puente (NPR). Los NDR y NMR envían sus proyecciones a diferentes regiones del encéfalo, como la corteza, el hipocampo, la amígdala, el locus coeruleus, el cerebelo y el hipotálamo (Frazer y Hensler, 1999). En el hipotálamo, el NMR inerva principalmente al núcleo supraquiasmático, el área del hipotálamo anterior y el área preóptica media, mientras que el núcleo arcuato recibe casi la misma inervación tanto del NMR como del NDR (Van de Kar y Lorens, 1979; Lechin y col., 2006). También el hipotálamo envía inervación al NDR y NMR (Lechin y col., 2006). Se ha mostrado que el NDR tiene 5 veces más neuronas serotoninérgicas que el NMR, además de que el NDR recibe axones dopaminérgicos del núcleo subcortical (Lechin y col., 2006) (**figura 1**).

La serotonina también se encuentra en la glándula pineal, en la hipófisis y en células y tejidos de órganos periféricos como las células cromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas y los mastocitos, así como los órganos del sistema cardiovascular, el páncreas, el pulmón, el timo, la tiroides, el epidídimo, el útero, el oviducto y las gónadas (Crowley y Zemlan, 1981; Payette y col., 1985; Takeuchi, 1988; Tinajero y col., 1993; Azmitia, 2001; Hoyer y col., 2002).

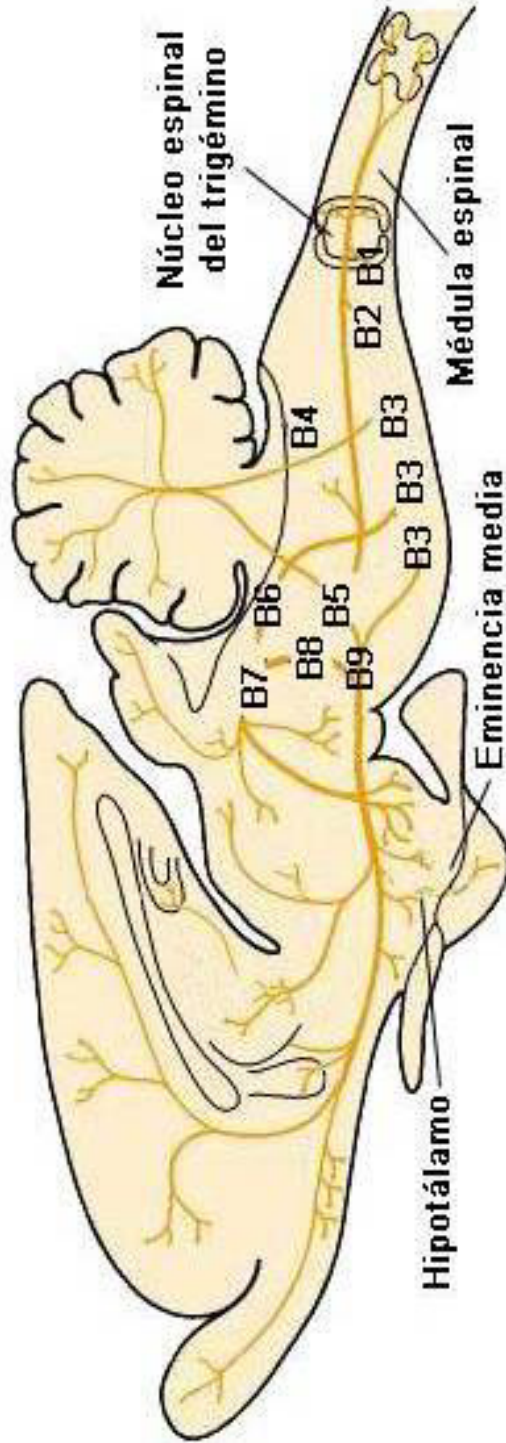


Figura 1. Corte sagital del cerebro de la rata en donde se muestra la localización de los grupos celulares serotoninérgicos (B1 al B9) y sus principales proyecciones a distintas regiones del cerebro (Modificado de Frazer y Hensler, 1999).

La fuente de serotonina de la gónada son las plaquetas y los mastocitos, así como la que se sintetiza *de novo* en la células de la granulosa (ovario) o de Leydig (testículo) (Tinajero y col., 1993). Además de las plaquetas que acumulan la amina del plasma por un mecanismo de transporte activo que se encuentra en su membrana, las células neuroendocrinas del epidídimo (células derivadas del neuroectodermo) tienen la capacidad de almacenar y liberar la amina pero no la sintetizan (Ibrahim y Koshayan, 1981; Walther y Bader, 1999).

La serotonina se sintetiza a partir del aminoácido, triptofano, este aminoácido es transportado por un acarreador desde la sangre al cerebro y es incorporado por las neuronas serotoninérgicas, en donde se lleva a cabo su hidroxilación por acción de la enzima triptofano hidroxilasa (TPH) y forma el 5-hidroxitriptofano (5-HTP), paso-limitante en la síntesis de serotonina (Frazer y Hensler, 1999). Posteriormente la enzima L-aminoácido descarboxilasa, transforma el 5-HTP a serotonina (Walther y Bader, 1999; Frazer y Hensler, 1999) (**figura 2**). Además del cerebro y la glándula pineal, la TPH se localiza en las neuronas entéricas, en embriones preimplantados (en la masa celular interna del blastocisto), mastocitos y células enterocromafines del tracto gastrointestinal (Weber y Horita, 1965; Finocchiaro y col., 1988; Walther y Bader, 1999; Fiorica-Howells y col., 2000; Amireault y Dubé, 2005). La terminal serotoninérgica libera la serotonina a la hendidura sináptica y se une a sus receptores en las células postsinápticas.

Se han caracterizado diferentes tipos de receptores a serotonina que pertenecen a la superfamilia de receptores asociados a proteínas G y cuentan con al menos 14 tipos que se identifican con las siglas 5-HT seguidos del subíndice marcado con un número arábigo que indica la familia a la que pertenece y en ocasiones se acompaña de una letra, que indica el subtipo del receptor (Hoyer y col., 2002).

La serotonina que no se une a su receptor es recapturada por la terminal serotoninérgica y es metabolizada por la enzima monoamino oxidasa (MAO). Ésta enzima se encuentra ampliamente distribuida en el cerebro y se cree que es la principal ruta de metabolismo de la serotonina (Saura y col., 1996; Shih y col., 1999; Mickey y col., 2008). La MAO convierte a la serotonina en el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), que es su metabolito primario. Existen dos isoformas de esta enzima, la MAO-A y B. Estas isoformas se diferencian en su especificidad y sensibilidad a inhibidores. Serotonina y norepinefrina (NE) son metabolizados preferencialmente por la MAO-A. En el cerebro de la rata se expresa en mayor proporción la MAO-A que la B (Benmansour y Brunswick, 1994; Frazer y Hensler, 1999).

Se sugiere que en el sistema nervioso existen dos sistemas serotoninérgicos, uno que se origina en el NDR y el otro en el NMR, que se diferencian entre sí en aspectos morfológicos de las neuronas que los constituyen, en la trayectoria de estos axones y en áreas del encéfalo que inervan, así como en la susceptibilidad de las neuronas a los agentes farmacológicos (Mamounas y Molliver 1988; Mamounas y col., 1991; Lechin y col., 2006). Los axones serotoninérgicos del NMR, tipo M, tienen un aspecto grueso con varicosidades esféricas grandes; por el contrario, los axones del NDR, tipo D, son finos y tienen varicosidades pleomórficas pequeñas (Lidov y Molliver, 1982; Frazer y Hensler, 1999; Cordes, 2005). Los axones del NDR son más vulnerables a ciertos derivados de las anfetaminas como la p-cloroanfetamina (pCA) en comparación con los que se originan del NMR (Frazer y Hensler, 1999).

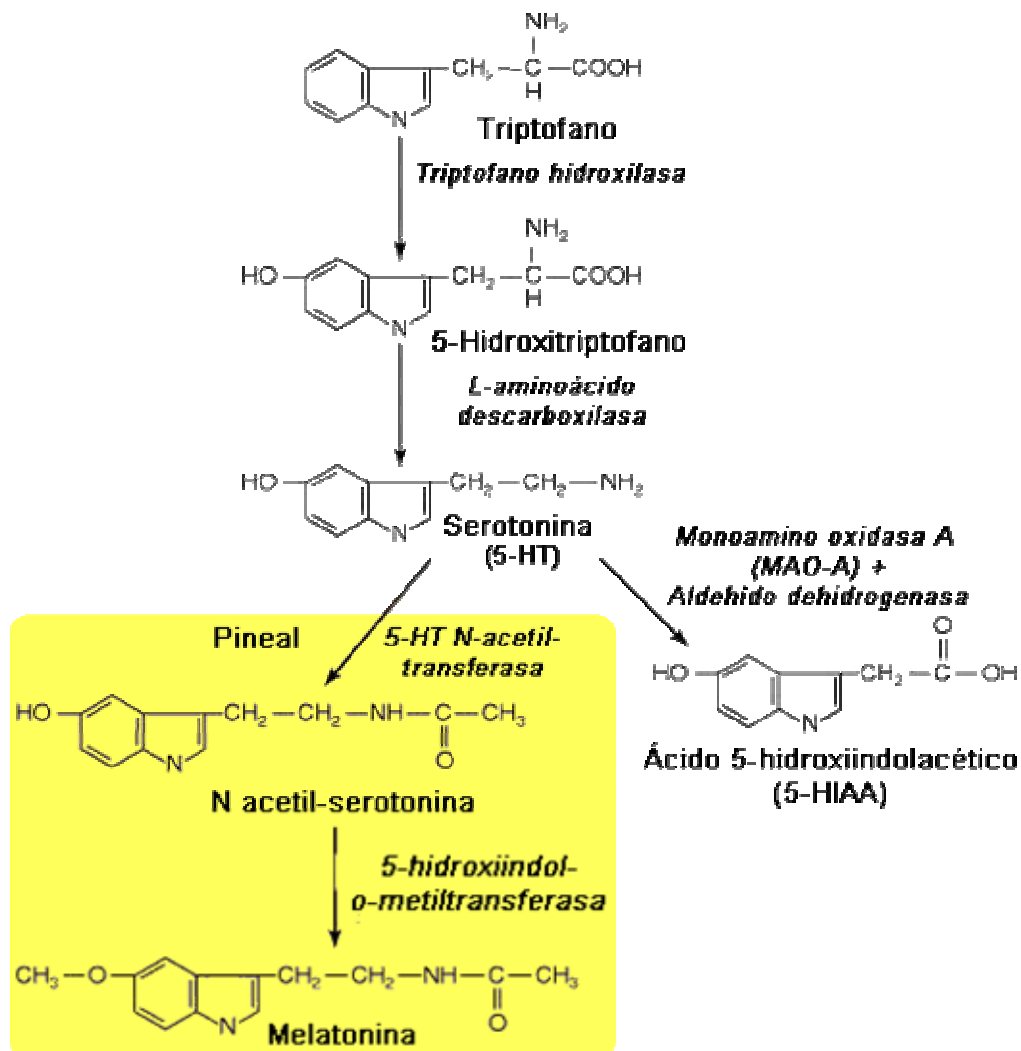


Figura 2. Biosíntesis y Metabolismo de la Serotonina (Modificada de Frazer y Hensler, 1999).

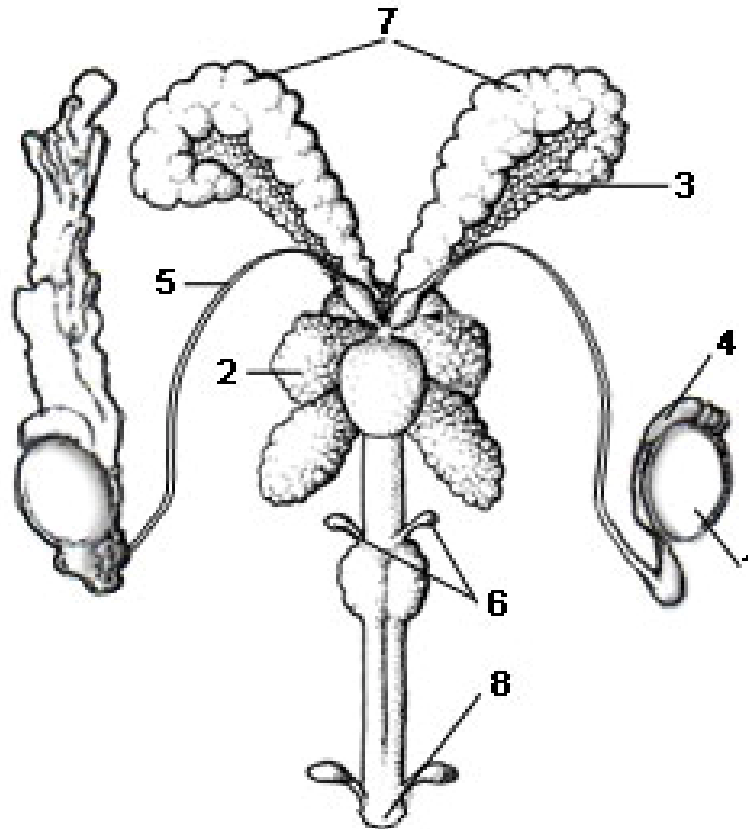
También se ha sugerido la existencia de dos sistemas serotoninérgicos debido a que existen dos isoformas de la enzima limitante en la síntesis de serotonina, la TPH<sub>1</sub> y TPH<sub>2</sub>. La primera isoforma se encuentra principalmente en la glándula pineal y en diferentes tejidos periféricos como el timo, bazo, intestino y el ovario. La TPH<sub>2</sub> es específica del cerebro (Walther y col., 2003). Al parecer estos dos sistemas se regulan de manera independiente, cumplen diferentes funciones y son afectados de forma diferencial por los agentes farmacológicos (Walther y Bader, 2003).

La serotonina actúa como vasoconstrictor y estimula la contracción de la pared intestinal, participa en el funcionamiento del sistema cardiovascular, modula el estado de ánimo, sueño, alimentación, la temperatura corporal, la homeostasis, el control de la respuesta inmune, así como la secreción de algunas glándulas endocrinas como la hipófisis, tiroides y suprarrenal (Crowley y Zemlan, 1981; Walther y Bader, 1999). A la disminución en la concentración de la serotonina se le asocia con la etiología de distintas enfermedades, como depresión, desordenes obsesivos compulsivos, migraña, ansiedad, fobia social, esquizofrenia y de pánico (Hoyer y col., 2002). También participa en la modulación del comportamiento sexual y del funcionamiento de los componentes del aparato reproductor del macho, como lo es el testículo (Csaba y col., 1998; Hull y col., 2004; Yonezawa y col., 2005; Aragón y col., 2005).

### **Aparato Reproductor del Macho**

El aparato reproductor del macho está constituido por los testículos, sistema de conductos excretores (epidídimo, conducto deferente y eyaculador), las glándulas sexuales anexas (vesícula seminal, próstata y glándulas bulbouretrales) y el pene (**figura 3**) (Tresguerres, 1999; Ross y col., 2006).





**Figura 3.** Esquema en donde se representan los distintos componentes del aparato reproductor del macho. 1) Testículo, 2) Próstata, 3) Glándula coagulante, 4) Epidídimo, 5) Conducto deferente, 6) Glándula bulbouretral, 7) Vesícula seminal y 8) Pene (Modificado de Setchell y col., 1994; Creasy, 2002).

Los testículos son órganos ovoides pares que están dentro del escroto fuera de la cavidad abdominal, suspendidos de los cordones espermáticos y adheridos al escroto por los ligamentos escrotales. A los testículos les llegan vasos sanguíneos, linfáticos, nervios autónomos y están recubiertos por una extensión de peritoneo abdominal llamada túnica vaginal. Inmediatamente después se encuentra una cápsula muy gruesa de tejido conjuntivo denso, llamada túnica albugínea, que cubre al testículo; la parte interna de esta cápsula o túnica vascular es una lámina de tejido conjuntivo laxo que contiene vasos sanguíneos (Ross y col., 2006).

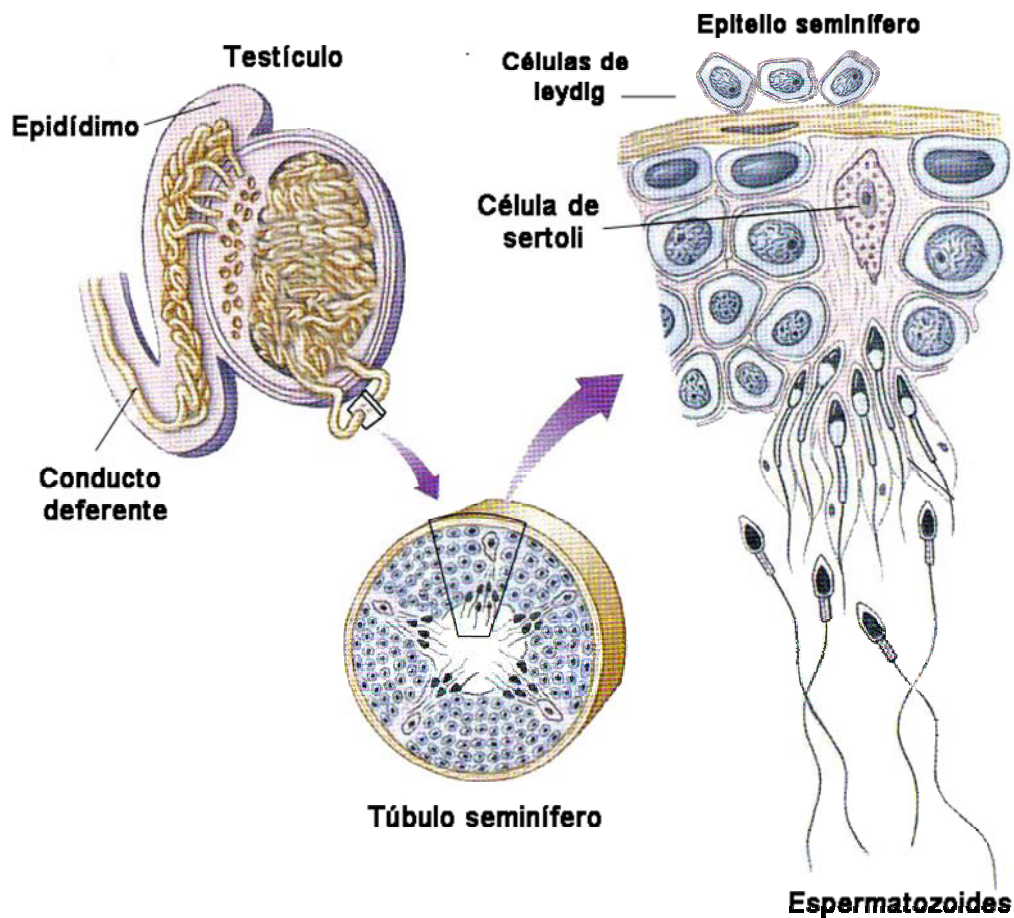


Figura 4. Esquema que representa el corte longitudinal del testículo en el cual se muestra la anatomía del túbulo seminífero y los diferentes tipos celulares presentes (Modificado de Raven, 2005).

En el hombre cada testículo está dividido en alrededor de 250 lobulillos por tabiques incompletos de tejido conjuntivo que se proyectan desde la cápsula. Cada lobulillo testicular consiste de 1 a 4 túbulos seminíferos en los que se producen los espermatozoides. En la rata no se presenta tal división y los túbulos seminíferos están separados en el tejido intersticial conformado de las células de Leydig, vasos sanguíneos y linfáticos, nervios no mielinizados, fibroblastos y macrófagos (**figura 4**) (De Kretser y Kerr, 1994; Setchell y col., 1994; Tresguerres, 1999; Drucker, 2005; Ross y col., 2006).

El túbulo seminífero está compuesto por una túnica o lámina propia. En los roedores, la túnica propia consiste de una sola capa de células mioides peritubulares que adoptan una disposición epiteloide; adyacente a esta capa se encuentra la membrana basal. Después de ésta se ubica el epitelio estratificado que está compuesto por dos poblaciones celulares básicas, las células de Sertoli y las de la línea germinal (espermatogonias, espermatoцитos y espermátidas) (Drucker, 2005; Ross y col., 2006; Wagner y col., 2008).

Las células de Sertoli se conectan entre sí por uniones especializadas que forman la barrera hematotesticular, la cual divide al túbulo seminífero en dos compartimientos, el basal y adluminal (Wagner y col., 2008). El compartimiento basal consiste de células de Sertoli, espermatogonias y espermatoцитos en preleptoteno/leptoteno (Cheng y Mruk, 2002). En el compartimiento adluminal, los espermatoцитos primarios se dividen y diferencian en células germinales en estados más avanzados. Funcionalmente la barrera hematotesticular crea un microambiente controlado que provee los nutrientes, mitógenos, factores de diferenciación, así como el ambiente inmunológico que protege a las células germinales (Yan y col., 2008).

Cada túbulo tiene una disposición contorneada a causa de su longitud y se pliega sobre sí mismo, uno de sus extremos está cerca del mediastino testicular. Este segmento del túbulo seminífero recibe el nombre de túbulo recto que se continua en la red testicular (*rete testis*) (Ross y col., 2006); ésta a su vez se une al epidídimo por los conductos eferentes. El epidídimo es un conducto plegado, el cual está dividido en tres compartimientos, cabeza, cuerpo y cola. En la rata, la cabeza del epidídimo comprende de la zona I a la zona III, el cuerpo corresponde a la zona IV y la cola esta formada por las zonas V y VI (Gopal, 1999). El epidídimo termina en el conducto deferente, que asciende por el borde posterior del testículo y penetra en la cavidad pélvica por el conducto inguinal, se une con el conducto eyaculador, atraviesa la próstata y desemboca en la uretra (Tresguerres, 1999).

Los testículos producen y liberan células germinales (espermatogénesis) y sintetizan hormonas esteroideas, como progesterona, andrógenos y estrógenos (esteroidogénesis) y protéicas como la inhibina y la activina. Estas funciones son reguladas por la interacción de señales hormonales y nerviosas entre el sistema nervioso central, el hipotálamo, la hipófisis y el propio testículo (Tresguerres, 1999; Drucker, 2005; O'Shaughnessy y col., 2008).

### **Esteroidogénesis**

Las células de Leydig sintetizan y secretan hormonas esteroideas, como los andrógenos y los estrógenos. La testosterona, la dihidrotestosterona y la androstendiona son los principales andrógenos producidos por el testículo. La cantidad de testosterona que se sintetiza es mayor comparada con las otras hormonas; por ello, se le considera el andrógeno testicular (Tresguerres, 1999; Drucker 2005).

La producción de la testosterona depende principalmente de la acción de la hormona luteinizante (LH). Esta hormona se une a receptores situados en la membrana plasmática de las células de Leydig y estimula la formación de adenosin monofosfato cíclico (AMPc), segundo mensajero que activa las proteínas cinasas y posteriormente a las esterasas que actúan en los esteres de colesterol y favorecen que el colesterol quede libre para que se inicie la síntesis de hormonas esteroideas (Tresguerres, 1999).

La síntesis de testosterona (que posee 19 átomos de carbono) a partir del colesterol (con 27 átomos de carbono) comprende tres hidroxilaciones (en los carbonos C17, C20 y C22), dos rupturas de cadenas laterales (C20-C22 y C17-C20) y una isomerización en el anillo A del esteroide ( $\Delta^5$ -  $\Delta^4$ ), que implica el cambio en la posición del doble enlace del anillo B al A (Drucker, 2005) (**figura 5**).

Las células de Leydig también tienen la capacidad de sintetizar el colesterol a partir de acetil-CoA o lo obtienen del plasma a partir de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las que se introducen a la célula por endocitosis mediada por un receptor y se almacena en gotas de lípidos para posteriormente convertirse en colesterol libre. El colesterol es transportado a la superficie interna de las mitocondrias por medio de la proteína de respuesta aguda de la esteroidogénesis (StAR) y se internaliza en la mitocondria con la intervención de fosfolípidos de membrana; aquí se lleva a cabo la transformación de colesterol a pregnenolona con la intervención de la enzima 20,22-desmolasa dependiente de cy+P450sc (Tresguerres, 1999; Drucker 2005).

La pregnenolona se libera de la mitocondria y pasa al retículo endoplásmico liso, donde se completa la esteroidogénesis. Existen dos rutas metabólicas que conducen a la síntesis de testosterona: la ruta  $\Delta 5$  que es a partir de la 17-hidroxi-pregnenolona y la ruta  $\Delta 4$  a partir de la 17-hidroxi-progesterona. La ruta que se lleva a cabo predominantemente en los roedores es la  $\Delta 4$  (Tresguerres, 1999; Stocco y McPhaul, 2006). Las enzimas necesarias para la síntesis de testosterona a partir del colesterol están asociadas con el retículo endoplásmico liso.

Además de la LH, otras hormonas como la prolactina (PRL) modulan la producción de testosterona. La PRL se une a sus receptores presentes en las células de Leydig y como resultado disminuye la expresión de los receptores para la LH en estas células y por lo tanto disminuye la sensibilidad del testículo y a su vez la síntesis de los andrógenos. Así mismo, se ha mostrado que cuando en la rata macho adulta aumenta la concentración de PRL disminuye la secreción de testosterona y dihidrotestosterona (Gladkova, 1989; Leroy-Martin y col., 1989). Con base en estas evidencias se sugiere que la PRL ejerce un efecto inhibitorio en la secreción de andrógenos por el testículo. También la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) parece actuar directamente en estas células, disminuyendo la expresión de los receptores para la LH y como consecuencia la síntesis de hormonas esteroideas (Yen y col., 2001).

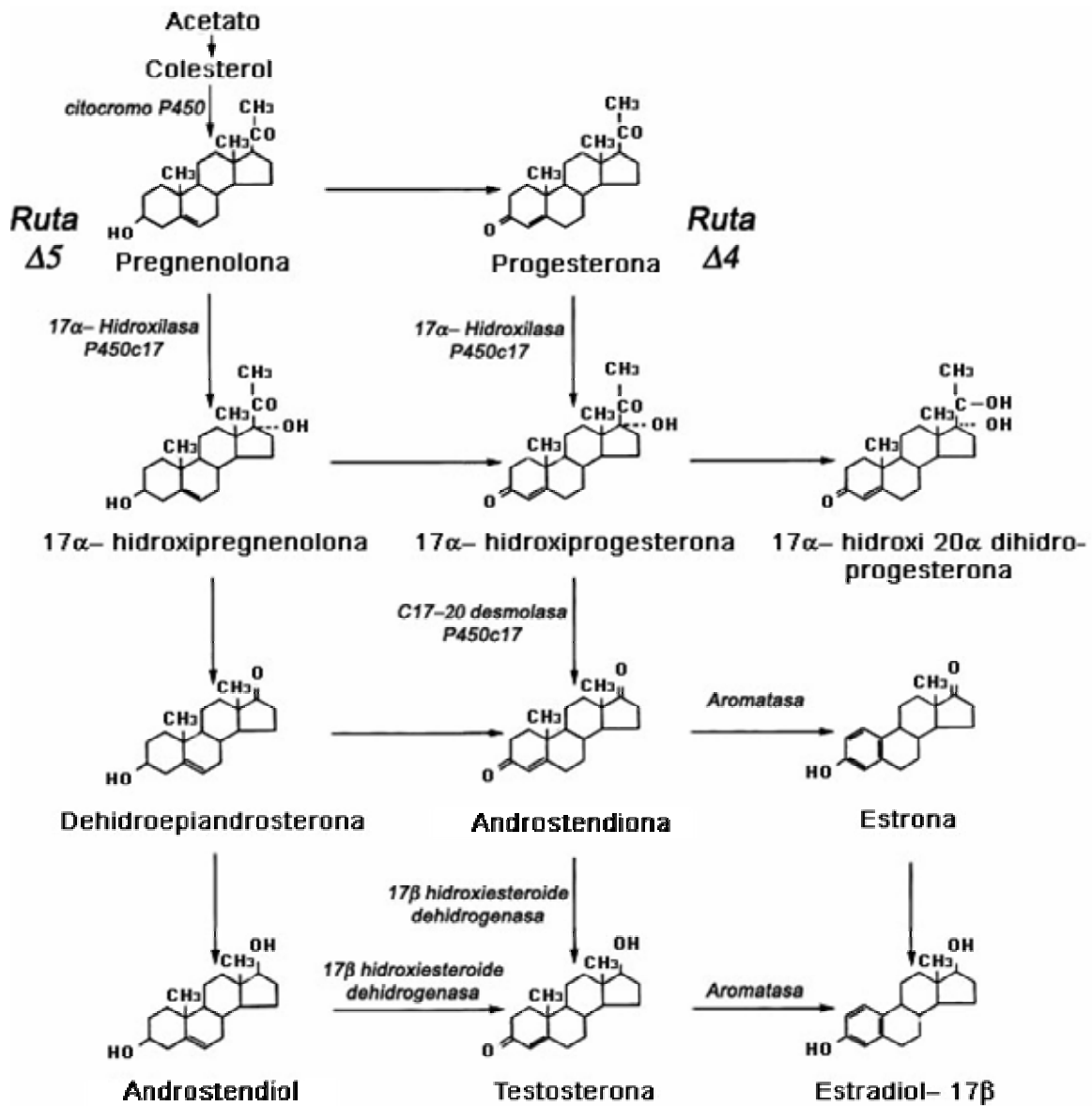


Figura 5. Síntesis de las hormonas esteroides gonadales (Modificado de De Kretser DM, 2002).

También se ha mostrado que la síntesis de testosterona por el testículo es regulada por las aminas como la noradrenalina (NA) y la serotonina (Tinajero y col., 1992) y la inervación que recibe la gónada (Selvage y col. 2006). Cuando se lesiona el núcleo paraventricular en la rata macho adulta disminuye la secreción de testosterona y no se modifica la de LH; estos datos llevaron a diversos autores a sugerir que entre el núcleo paraventricular del hipotálamo y el testículo existe una vía de comunicación neural que conecta al cerebro con el testículo y que participa en la regulación de secreción de testosterona independientemente de la secreción de LH (Selvage y col., 2006). Por estudios de inmunohistoquímica se ha mostrado que en el plexo renal e hipogástrico se originan fibras serotoninérgicas que viajan por el nervio espermático superior e inferior que inerva a los testículos (Campos y col., 1990).

### **Espermatogénesis**

La espermatogénesis es la secuencia de eventos citológicos mediante los cuales las células germinales inmaduras o espermatogonias se transforman en células germinales maduras o espermatozoides (Tresguerres, 1999; Drucker, 2005), este proceso ocurre en el túbulo seminífero e incluye la proliferación y la diferenciación celular. La espermatogénesis se divide en tres etapas: a).- Espermatogénica, renovación de las células madre por el proceso de mitosis; b).- Espermatocitogénesis, reducción del número de cromosomas por meiosis y c).- Espermiogénesis, transformación de la espermátide redonda a un espermatozoide (De Kretser y Kerr, 1994).

Las gonadotropinas participan en la regulación de la espermatogénesis. La hormona estimulante del folículo (FSH) se une directamente a los receptores de membrana en la célula de Sertoli. La LH estimula la producción de testosterona por las células de Leydig, la cual a su vez se une a los receptores de andrógenos presentes en las células de Sertoli (Pareek y col., 2007; Sofikitis y col., 2008; Wagner y col., 2008).

Además de las señales endocrinas, las células germinales dependen de señales paracrinas que se originan en las células de Sertoli (Sofikitis y col., 2008).

Las células de Sertoli secretan factores necesarios para el mantenimiento de las espermatogonias y su diferenciación a espermatozoides, entre estos factores se encuentran las glicoproteínas como, transferina y ceruloplasmina, proteasas e inhibidores de las proteasas (Griswold, 1998), la sustancia inhibidora del conducto de Muller, el ligando C-kit (SCF), inhibina, el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), el factor de crecimiento parecido a la insulina I y II (IGF I y II), la somatostatina (SRIF). La célula de Sertoli también secreta la proteína unidora de los andrógenos (ABP), cuya función es la de unirse a la testosterona y transportar este andrógeno a sus órganos blanco (Allard y col., 1996).

Pareek y colaboradores, (2007), mostraron que cuando a ratones y ratas macho de 45 ó 50 días de edad respectivamente se les administran intraperitonealmente antagonistas de la GnRH, disminuye la FSH y la testosterona, lo cual se acompaña del incremento en la apoptosis en las células germinales, excepto de las espermatogonias. Una de las vías que conducen a la muerte celular por apoptosis es mediada por el ligando Fas, una proteína transmembrana, que al unirse al receptor Fas desencadena una cascada de señalización que involucra la activación de enzimas y la fragmentación del ADN y la muerte de la célula (Lee y col., 1997; Li y col., 1997). Con base en estas evidencias los autores sugieren que Fas induce la muerte por apoptosis de las células germinales como resultado de la disminución intratesticular de testosterona, hormona que es esencial para la sobrevivencia de la célula germinal.

Después del nacimiento las células de Sertoli inmaduras continúan su proliferación hasta el inicio de la pubertad cuando dejan de dividirse y se empiezan a diferenciar en su forma adulta no proliferativa (Wagner y col., 2008). En el inicio de la pubertad de la rata, el número de células de Sertoli se relaciona con el tamaño testicular y con el número de espermatozoides que se producen en la etapa adulta (Orth y col., 1988).



## **Eje Hipotálamo-Hipófisis**

La GnRH es un decapeptido, cuyas células tienen su origen embrionario en la placa olfatoria, de esta región las células migran y colonizan distintas áreas del cerebro, como el área preóptica hipotalámica anterior, el hipotálamo medio basal y el núcleo arcuato (Wray, 2002, 2001). Las neuronas que producen la GnRH se denominan GnRHérgicas y forman una red que se extiende desde la banda diagonal de Broca hasta el área septal, área hipotalámica anterior, preóptica medial y lateral y el núcleo paraventricular. Estas neuronas envían sus proyecciones a la eminencia media, en donde el péptido se almacena (Clarke y Pompolo, 2005; Drucker, 2005).

La hipófisis modula el funcionamiento del sistema endocrino por medio de la liberación de diferentes hormonas como son PRL, la hormona del crecimiento (GH), adrenocorticotropa (ACTH), estimulante de la tiroides (TSH) y las gonadotropinas, cuyos objetivos son diferentes glándulas y tejidos. Las células hipofisarias que secretan las gonadotropinas reciben el nombre de gonadotropos (Senovilla y col., 2005).

La GnRH es liberada al sistema de vasos sanguíneos que se ubican en la eminencia media y constituyen al sistema portal-hipofisiario. En la sangre que circula por este sistema de vasos se transporta la GnRH hasta la adenohipófisis, se une a sus receptores de membrana en los gonadotropos y estimula la síntesis y liberación de la FSH y LH, hormonas que regulan la gametogénesis y la secreción de hormonas esteroides por el testículo. En el macho la testosterona e inhibina por un mecanismo de retroalimentación negativa modulan la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas al actuar en el hipotálamo y la hipófisis respectivamente (Rodin y col., 1989; Tobin y col., 1997).

## **Serotonina y Regulación de las Funciones del Testículo**

Existen evidencias anatómicas que apoyan el hecho que la serotonina participa en la modulación de la secreción de la GnRH, de las gonadotropinas y de las funciones del testículo. También se ha mostrado que la serotonina modula la secreción de la GnRH al interactuar con otros sistemas de neurotransmisión como la NA o la dopamina (DA), entre otros (Jennes y col., 1982; Moguilevsky y Wuttke, 2001; Clarke y Pompolo, 2005).

En el área preóptica del hipotálamo existe una comunicación directa entre las terminales de las neuronas serotoninérgicas y el soma de las GnRHérgicas. En la eminencia media se forman sinapsis entre la terminales de ambas neuronas (Frazer y Hensler, 1999). La comunicación entre el sistema serotoninérgico y GnRHérgico también es de forma indirecta mediado por otro sistema de neurotransmisión como el noradrenérgico, dopaminérgico o GABAérgico (Jennes y col., 1985).

En el área preóptica media del hipotálamo de la rata macho la administración de serotonina disminuye la concentración del ácido ribonucleico mensajero (RNAm) de la GnRH y se incrementa cuando se administra ketanserina, antagonista del receptor a serotonina del tipo 5-HT<sub>2</sub>. Con base en esto algunos autores sugieren que el sistema serotoninérgico ejerce un efecto inhibitorio en la síntesis de GnRH vía la activación del receptor 5-HT<sub>2</sub> (Li y Pelletier, 1995).

La administración intraperitoneal del 5-hidroxitriptofano, precursor de la síntesis de serotonina, a ratas macho de 16, 26, 30 ó 60 días de edad induce el incremento en la secreción de la FSH, cuando este mismo tratamiento se realiza en machos de 18 y 20 días de edad no se presentan cambios (Justo y col., 1989). Estos resultados indican que la participación de la serotonina en la regulación de la secreción de la FSH varía a lo largo del desarrollo del animal (Justo y col., 1989).

La dualidad en la participación de la serotonina en la regulación de la secreción de la FSH en la rata macho posiblemente este asociada al medio hormonal que prevalece en el animal. En relación a esto se ha mostrado que los andrógenos modulan la actividad del sistema serotoninérgico. Cuando a ratas macho intactas de 30 días se les administra el 5-HTP se estimula la liberación de FSH y no se modifica la de LH; este efecto se invierte cuando el precursor de la síntesis de serotonina se administra en ratas castradas (Justo y col., 1989).

Así mismo, Shishkina y Borodin (1989), mostraron que cuando a ratas macho de 30 y 34 días de edad se les inyecta la p-clorofenilalanina, inhibidor de la síntesis de serotonina se estimula la espermatogénesis y la secreción de testosterona. Estos resultados permiten pensar que en estas edades la serotonina ejerce un efecto inhibitorio en la regulación de las funciones del testículo. Mientras que cuando el fármaco se administra a los 40 y 44 días de edad, se observa un efecto opuesto, debido a que se inhibe la espermatogénesis y la secreción de testosterona.

Otra posibilidad es que la serotonina actúe directamente en la hipófisis en donde module la secreción de las gonadotropinas. Por estudios de histofluorescencia se ha mostrado que en el lóbulo neural, intermedio y anterior de la hipófisis existen terminales nerviosas serotoninérgicas (Vanhatalo y col., 1995). En esta glándula también se expresa la enzima limitante en la síntesis de serotonina, triptofano hidroxilasa (Saland y col., 1993) y el receptor a serotonina 5-HT<sub>3</sub> (Quirk y Siegel, 2005). También se ha identificado la amina en los gonadotropos (Saavedra y col., 1975). Lo anterior apoya la idea de que la serotonina regula la secreción de FSH y LH. Quirk y Siegel (2005) mostraron que cuando se mantiene *in vitro* la línea celular que deriva de los gonadotropos, LbetaT2, y se le adiciona al medio un antagonista de los receptores 5-HT<sub>3</sub> disminuye la liberación de la LH estimulada por la GnRH en una forma dosis dependiente. Esto llevo a los autores a sugerir que la serotonina al unirse al receptor 5-HT<sub>3</sub> regula la liberación de las gonadotropinas por la hipófisis.

Se sugiere que la serotonina además de regular las funciones del testículo al participar en la modulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas actúa directamente en el testículo (Frungieri y col., 1999; Aragón y col., 2005).

En el fluido intersticial del testículo de la rata adulta se ha identificado a la serotonina (Campos y col., 1990). En la célula de Leydig se lleva a cabo la síntesis de serotonina y ésta actúa de manera autócrina al unirse a los receptores 5-HT<sub>2</sub> y estimula la liberación del factor liberador de la corticotropina (CRF) por la propia célula de Leydig, el cual inhibe a su vez la secreción de testosterona (Tinajero y col., 1993).

Durante el desarrollo sexual de la rata y el hámster la serotonina liberada por los mastocitos participa en la modulación de la esteroidogénesis (Frungieri y col., 1999). En el aparato reproductor de la rata macho, la serotonina regula el flujo sanguíneo (Collin y col., 1996) y participa en la modulación de la secreción de testosterona por las células de Leydig (Frungieri y col., 1999; Dufau y col., 1993).

Csaba y colaboradores (1998) administraron serotonina en los testículos de ratas adultas y observaron que una hora después del tratamiento disminuye la síntesis de testosterona. La administración intratesticular de ketanserina, antagonista del receptor tipo 5-HT<sub>2</sub>, resultó en el aumento en la secreción de este andrógeno. Con base en estas evidencias los autores concluyeron que la serotonina modula de forma inhibitoria la secreción de testosterona vía la activación de los receptores 5-HT<sub>2</sub>.

Cuando en el ratón macho se inyecta intraperitonealmente el inhibidor de la síntesis de serotonina, la metanfetamina (MAMP), disminuye la movilidad de los espermatozoides, la concentración de testosterona en el suero e induce la apoptosis en las células germinales de manera dosis- dependiente. Esto se acompaña de la inhibición del comportamiento sexual (Yamamoto y col., 2002).

La administración repetida de MAMP a ratas macho adultas disminuye la proliferación celular, induce apoptosis y altera la relación proliferación celular/apoptosis en el testículo (Alavi y col., 2008). Con base en estas evidencias se sugiere que la metanfetamina, así como las anfetaminas en general, ejercen un efecto inhibitor en la regulación del funcionamiento del testículo, probablemente al actuar en el sistema nervioso central modificando la secreción de las gonadotropinas o modificando la secreción de testosterona al actuar directamente sobre el testículo (Tsai y col., 1996).

Frankel y Ryan (1981) observaron que cuando a la rata adulta se le somete al estrés, laparotomía o la anestesia con éter o ambas, la concentración de testosterona se incrementa a los cinco o 30 minutos. Mientras que al realizar la denervación bilateral del plexo espermático y posteriormente someter a los animales a estrés, la concentración de testosterona en plasma disminuye en comparación con el grupo intacto. Con base en lo anterior los autores proponen que la inervación del plexo espermático tiene un papel en la respuesta testicular al estrés y la ausencia de esta información neural bloquea el aumento de testosterona. Por lo antes mencionado se sugiere que existe un componente neural en la regulación de la esteroidogénesis testicular. Además, Selvage y colaboradores (2006) sugieren que entre el núcleo paraventricular del hipotálamo y el testículo existe una vía de comunicación neural que conecta al cerebro con el testículo y que regula la secreción de testosterona independiente de la LH.

La administración de pCA, inhibidor de la síntesis de serotonina, a ratas macho de 30, 40 ó 44 días de edad, disminuye la concentración de serotonina en el hipotálamo y esto se acompaña de la disminución en la concentración de testosterona en el suero y del peso del testículo (Shishkina y Dygalo, 2000; Aragón y col., 2005). Cuando se administra el 5-HTP, estos eventos se invierten (Shishkina y Dygalo, 2000). Con base en esto, los autores sugieren que la serotonina modula de forma estimulante al eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Así mismo que esta amina estimula la maduración sexual de la rata macho prepúber.

La serotonina además de participar en la modulación de la secreción de testosterona, posiblemente modifica el flujo sanguíneo de la gónada y como consecuencia la disponibilidad de gonadotropinas por el órgano. La inyección intratesticular de serotonina induce la disminución dosis-dependiente en el flujo sanguíneo (Collin y col., 1996).

## **Pubertad**

En la rata macho la pubertad se define como el periodo de desarrollo sexual secundario el cual culmina en fertilidad (Ramaley, 1979).

Con base en cambios morfológicos y fisiológicos el desarrollo sexual de la rata macho se ha dividido en cuatro etapas: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal (Ojeda y Urbanski, 1994). Aunque los autores difieren en cuanto al intervalo de edad que abarca cada etapa del desarrollo sexual de la rata macho.

## **Etapas Neonatal**

Comprende del día de nacimiento al día 7 de edad. Durante esta etapa, la testosterona es el principal andrógeno secretado por el testículo, la testosterona es vertida a la circulación y transportada hasta el sistema nervioso central, al hipotálamo, en donde es aromatizado a estradiol (Ramaley, 1979; Odell, 1990). Las concentraciones de gonadotropinas en el suero son altas (Ojeda y Urbanski, 1994), la concentración de LH en plasma, alrededor del día 5 de edad, es aproximadamente el 50% de la concentración observada en el adulto; la concentración de FSH en plasma es similar en la etapa neonatal y en la etapa adulta (Adams y Steiner, 1988). El incremento en la concentración de FSH neonatal en plasma parece ser esencial en el inicio de la espermatogénesis.

En el ratón, después del nacimiento, cercano al día 7 de edad, una segunda población de células de Leydig empieza a diferenciarse, esta población da origen al incremento prepuberal en la concentración de testosterona necesario en la etapa adulta (O'Shaughnessy y col., 2008).

### **Etapa Infantil**

Comprende del día 8 al día 21 de edad. La concentración de FSH en la hipófisis se incrementa desde el día 10 de edad y alcanza concentraciones de la etapa adulta alrededor del día 30 y estas concentraciones se mantienen posteriormente. El incremento en la concentración de FSH parece ser esencial en la modulación de la espermatogénesis y esteroidogénesis por el testículo. En el día 15 de edad la concentración de LH en plasma se mantiene en concentraciones similares a las observadas en la etapa neonatal (Adams y Steiner, 1988).

### **Etapa Juvenil**

Comprende del día 21 al día 30 o 35 de edad. A partir del día 21 de edad en adelante, la hipófisis empieza a sintetizar en mayor cantidad FSH (Adams y Steiner, 1988).

Los testículos secretan predominantemente los esteroides  $5\alpha$ -reducidos y probablemente androstendiona, como resultado de las altas concentraciones de FSH y de LH que se presentan en esta etapa. El número de receptores de la GnRH en la hipófisis aumenta gradualmente durante las primeras 4 semanas de vida y alcanzan un pico alrededor del día 30 de edad. La FSH induce la formación de los receptores a LH y como consecuencia se incrementa la respuesta a la LH en el testículo, lo que se traduce en el incremento en la secreción de testosterona por la célula de Leydig (Ojeda y Urbanski, 1994).

Alrededor del día 25 de edad en adelante, la actividad de algunas enzimas se incrementa, como la  $17\alpha$ -hidroxilasa, C<sub>17-20</sub>liasa y  $17\beta$ -hidroxiesteroide dehidrogenasa (Ojeda y Urbanski, 1994). En la pubertad, los cambios en la secreción de las hormonas hipofisarias preceden a la maduración del testículo, el incremento prepuberal en la concentración de FSH induce la expresión de los receptores a las gonadotropinas en el testículo.

En el día 30 de edad se produce un incremento en la concentración de testosterona y dihidrotestosterona en plasma, mientras que la concentración de androstendiol disminuye. La testosterona estimula el crecimiento de los órganos accesorios durante la etapa juvenil tardía. La concentración de FSH en plasma alcanza la mayor concentración alrededor del día 35 de edad, esto parece ser importante en la inducción de la formación de receptores a LH en las células de Leydig, lo cual a su vez incrementa la producción de testosterona en respuesta a la LH (Adams y Steiner, 1988).

### **Etapas Peripuberal**

Este periodo comprende a partir del día 30 de edad (Ramaley, 1979) y termina alrededor del día 55 ó 60. Esta etapa se caracteriza por la aparición de espermatozoides maduros en el conducto deferente. Los esteroides secretados por las células de Leydig y probablemente la inhibina secretada por la célula de Sertoli ejercen un efecto inhibitorio en la regulación de la secreción de la FSH. La sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis a la retroalimentación de la testosterona disminuye (Ojeda y Urbanski, 1994; Odell, 1990).



Las concentraciones de FSH en el suero aumentan durante la vida postnatal y alcanzan un máximo entre los 30 y 40 días de edad (Clarke y Pompolo, 2005). La LH en plasma también aumenta y alcanza la concentración que se observa en la etapa adulta (70 días de edad). En el día 40 de edad, las concentraciones de testosterona y de dihidrotestosterona alcanzan las concentraciones que se observan en el adulto (Adams y Steiner, 1988).

El inicio de la pubertad en la rata macho es el resultado de la disminución en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis al efecto de retroalimentación negativa que ejerce la testosterona. Como resultado de lo anterior, se incrementa la secreción de la GnRH por el hipotálamo lo que se traduce en el incremento en la secreción de LH y FSH que al actuar en el testículo estimulan la secreción de esteroides por la gónada (Negro- Vilar y col., 1973; Ferrández, 1983; Matsumoto y col., 1986), esta secuencia de eventos se conoce como la teoría del gonadostato. En esta teoría se propone que, conforme el animal madura la sensibilidad de la unidad hipotalámico-hipofisaria a la retroalimentación negativa de los esteroides disminuye. Por lo tanto, un incremento gradual en las concentraciones de las gonadotropinas a su vez estimula la secreción de esteroides gonadales (Ojeda y Urbanski, 1994).

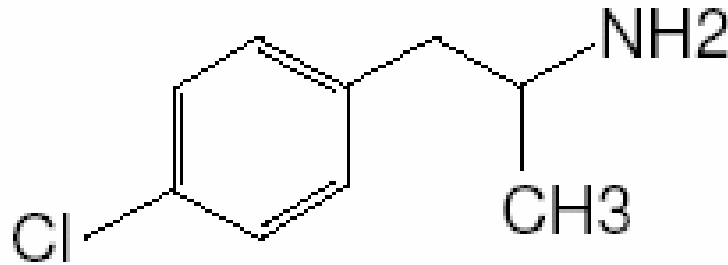
### **Anfetaminas**

Las anfetaminas comprenden una clase de drogas con propiedades farmacológicas y toxicológicas similares, son estimulantes del sistema nervioso central, anorexígenos y agentes simpatomiméticos que actúan liberando norepinefrina y dopamina de las terminales nerviosas o bloqueando la recaptura de estos neurotransmisores (Smith y Reynard, 1992). La clasificación de anfetaminas incluye todas aquellas sustancias derivadas de la estructura de fenilisopropilamina, con las múltiples variaciones a las que ha sido sometida. Cuando se ingieren se distribuyen en todo el organismo y debido a que atraviesan la barrera hematoencefálica se acumulan en el cerebro.

Las anfetaminas presentan una analogía estructural con los neurotransmisores y tienen la capacidad para actuar en diversas áreas del cerebro. Al parecer actúan en diferentes sistemas de neurotransmisión, como el dopaminérgico, noradrenérgico y serotoninérgico (Utrilla, 2000) y tienen el potencial de dañar a las neuronas directamente. La neurotoxicidad se refiere al efecto que tienen las anfetaminas para inducir la disminución prolongada de algunos marcadores de las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas (McCann y Ricaurte, 2004).

También se ha mostrado que la repetida administración de metanfetamina causa daño permanente a las neuronas dopaminérgicas y serotoninérgicas del estriado y que estos efectos disminuyen con el uso de antioxidantes como el ácido ascórbico, etanol, manitol y vitamina E, lo que permitió sugerir que los radicales libres, que se producen en el organismo de forma natural, posiblemente son los responsables de la neurotoxicidad de la metanfetamina (De Vito y Wagner, 1989).

Entre los derivados de las anfetaminas se encuentra la p-cloroanfetamina (pCA) (**figura 6**) que comparte propiedades farmacológicas con algunas de las anfetaminas psicotrópicas, como la 3,4-metilenedioximetanfetamina (MDMA). Se ha mostrado que ambas sustancias ejercen efectos neurotóxicos en las terminales serotoninérgicas en la rata y en primates (Manzana y col., 2001). Los axones de las neuronas que se localizan en el NDR parecen ser más vulnerables a ciertos derivados de las anfetaminas como la pCA (Frazer y Hensler, 1999). Cuando a ratas adultas se les administra la pCA disminuye la concentración de serotonina en diferentes regiones del cerebro, como el hipotálamo y sus efectos se mantienen hasta por 2 semanas (Sanders-Bush y col., 1975), mientras que el efecto inicial del fármaco (30 minutos postratamiento) estimula la secreción de serotonina (Saito y col., 1999).



**Figura 6. Estructura química de la p-cloroanfetamina (pCA) (tomada de Sprague y col., 1996).**

Cuando a la rata se le administra por vía sistémica la pCA se producen diferentes efectos en el sistema serotoninérgico. En primer lugar induce la liberación de serotonina de la terminal serotoninérgica, lo que conduce a la disminución de la concentración de serotonina y de su metabolito, el 5-HIAA, en diferentes regiones del cerebro; también inhibe la actividad de la TPH, enzima limitante en la síntesis de serotonina (Fuller y Snoddy, 1974; Sanders-Bush y col., 1972). Estos efectos se acompañan de la degeneración de los axones serotoninérgicos, lo que se traduce en la reducción de la inervación serotoninérgica en diferentes regiones del cerebro (Berger y col., 1992; O`Eran y col., 1988; Fuller, 1978; Harvey y col., 1977).

Se sugiere que los efectos a largo plazo de la pCA en las neuronas serotoninérgicas es debido a una acción citotóxica irreversible (Sanders-Bush y col., 1975; Gál y col., 1975; Fuller y Snoddy, 1974). El efecto de la anfetamina es mediado por la formación de un metabolito neurotóxico. En estudios de metabolismo se ha mostrado que cuando se administra por vía sistémica la pCA se identifica en la orina la 4-hidroxi-3-cloroanfetamina (Parli y Schmidt, 1975) y en el cerebro la p-cloronorefedrina y 3,4-dimetoxianfetamina (Sherman y Gál, 1976; Sherman y col., 1975).

También se sugiere que cuando la anfetamina se administra por vía sistémica se induce la formación de un metabolito tóxico a partir de una sustancia endógena fuera del cerebro (Berger y col., 1992). Un posible candidato es la serotonina misma, debido a que la amina que se libera en grandes cantidades como resultado de la acción de la pCA puede ser transformada en un metabolito neurotóxico tal como la 5,6-dihidroxitriptamina o la 5,7-dihidroxitriptamina, los que se detectan en el cerebro después de la administración de la anfetamina (Commins y col., 1987). La entrada de estos metabolitos de la periferia al cerebro puede ser facilitado por la alteración de la barrera-hematoencefálica debido a que la anfetamina induce hipertensión (Carlsson y Johansson, 1978).

## **JUSTIFICACIÓN**

Con base en las evidencias antes mencionadas se sugiere que en el hipotálamo la serotonina participa en la modulación de la secreción de la GnRH y ésta a su vez modula la secreción de las gonadotropinas por la hipófisis. Eventos que también son regulados por la interacción que existe entre los sistemas serotoninérgico y monoaminérgico. También se ha mostrado que en la hipófisis y en el testículo se encuentra la serotonina. Además, se ha reportado que la pCA entre otras anfetaminas inhibe al sistema serotoninérgico. Sin embargo, hasta el momento no existen evidencias claras que muestren que el sistema serotoninérgico de la hipófisis y del testículo participa en la modulación de la secreción de las gonadotropinas o testosterona respectivamente.

Por ello, en el presente trabajo se decidió analizar en la rata prepúber los efectos de la administración de la pCA, en el sistema serotoninérgico del hipotálamo, la hipófisis y el testículo y si esto se correlaciona con modificaciones en el sistema noradrenérgico y dopaminérgico en estas estructuras y en la producción de gonadotropinas y testosterona.

## **HIPÓTESIS**

En la rata macho de 30 días, la serotonina participa de manera estimulante en la modulación de la secreción de las gonadotropinas y actúa en la célula de Leydig modulando la esteroidogénesis. Por ello, el bloqueo de éste sistema de neurotransmisión provocará la disminución en la secreción de gonadotropinas y de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y  $17\beta$ -estradiol).

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar los efectos de la administración de un inhibidor de la síntesis de serotonina, la pCA, en el sistema serotoninérgico, noradrenérgico y dopaminérgico del hipotálamo, la hipófisis y el testículo, así como en la secreción de gonadotropinas, de progesterona, testosterona y  $17\beta$ -estradiol en la rata macho prepúber.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Analizar los efectos de la administración de pCA en la concentración de serotonina, noradrenalina, dopamina y sus respectivos metabolitos en el hipotálamo y la hipófisis de la rata macho prepúber.
  
- Analizar los efectos de la administración de la pCA en la concentración de serotonina y 5-HIAA en la cápsula y el tejido testicular de la rata macho prepúber.
  
- Analizar los efectos de la administración de pCA en la concentración de gonadotropinas en el suero de la rata macho prepúber.
  
- Analizar los efectos de la administración de pCA en la concentración de progesterona, testosterona y  $17\beta$ -estradiol en el suero de la rata macho prepúber.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron ratas macho de 30 días de edad de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones de iluminación controlada (14 horas de luz por 10 horas de oscuridad), con libre acceso al agua y al alimento.

### **Administración del fármaco**

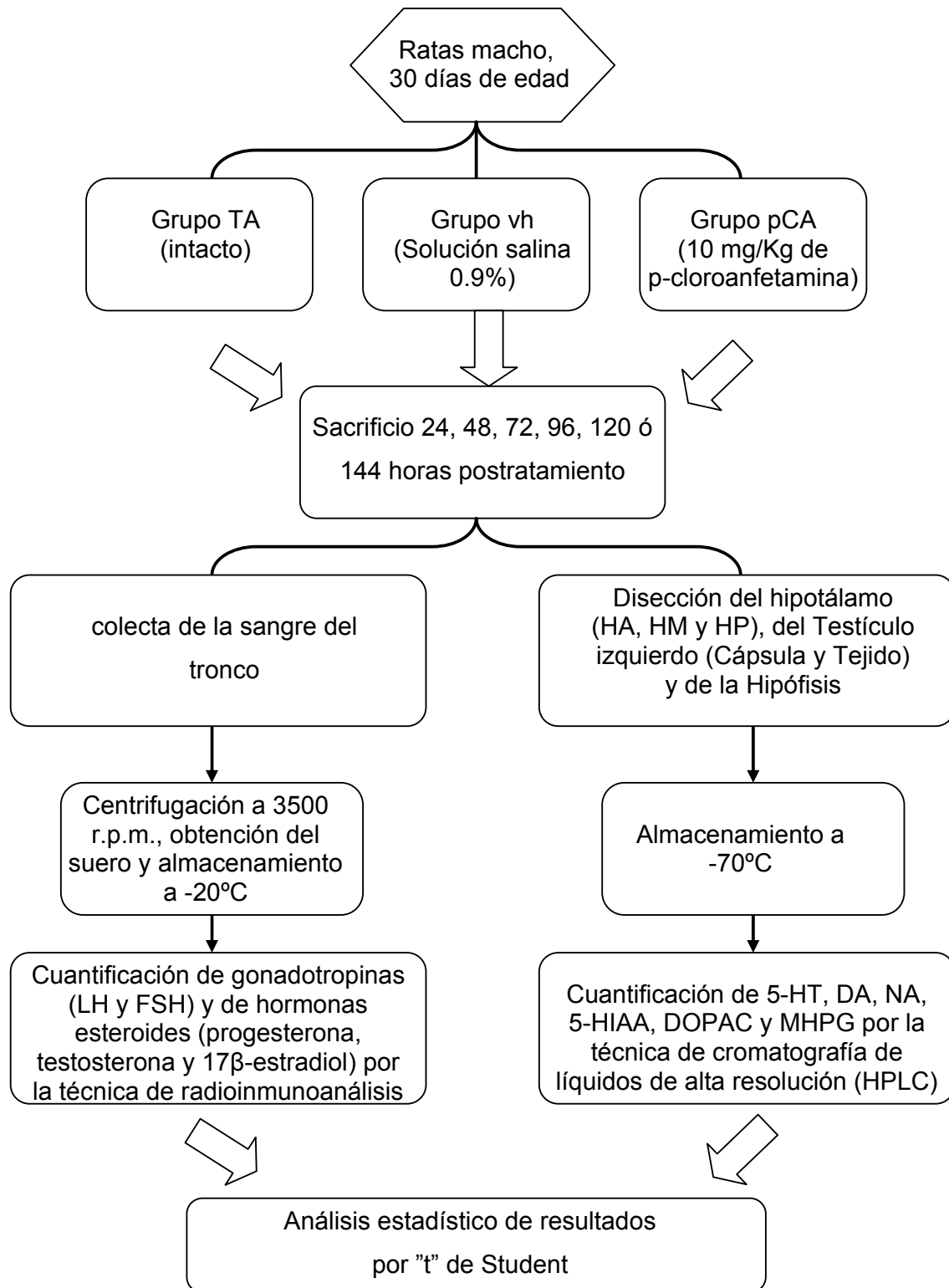
Los animales se dividieron al azar en tres grupos experimentales. Un grupo de animales se inyectó por vía intraperitoneal con solución salina (0.9%) y se denominó, (grupo con vehículo (vh)), y al grupo experimental se le administraron por vía intraperitoneal 10 mg/Kg de p-cloroanfetamina (Sigma Chemical Co., St. Lous, MO, EU). Como grupo de comparación se utilizaron animales que no recibieron ningún tratamiento (testigo absoluto (TA)) (**figura 7**).

### **Sacrificio**

Animales de los diferentes grupos experimentales se sacrificaron por decapitación a las 24, 48, 72, 96, 120 ó 144 h, después del tratamiento, entre las 12:00 y 12:30 h. El número de animales que conformó cada uno de los periodos de estudio osciló entre 8 y 10.

Al momento del sacrificio se colectó la sangre del tronco, se dejó coagular durante 20 minutos a temperatura ambiente y posteriormente se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 15 minutos. El suero se separó, se colocó en tubos eppendorf y se congeló a -20°C, para la posterior cuantificación de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y 17β-estradiol) y gonadotropinas (LH y FSH) por la técnica de radioinmunoanálisis (RIA).





**Figura 7. Representación esquemática del método de trabajo.**

En el día del sacrificio se realizó la disección del cerebro y la hipófisis. El cerebro se extrajo, se colocó en solución salina fría (4°C) para eliminar el exceso de sangre y posteriormente se congeló con nitrógeno líquido para realizar la disección del hipotálamo anterior, medio y posterior, siguiendo las coordenadas del Atlas de Paxinos y Watson (1982). Al día del sacrificio también se realizó la disección del testículo izquierdo. La hipófisis, regiones del hipotálamo y testículo izquierdo se almacenaron a -70°C, hasta la cuantificación de serotonina, NA, DA y de sus respectivos metabolitos, el 5-HIAA, MHPG y el DOPAC por la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (**figura 8**).

### **Cuantificación de Gonadotropinas y esteroides en el Suero**

Para la cuantificación de las hormonas esteroides se utilizaron un Kit, Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA). La concentración de progesterona se expresó en nanogramos por ml de suero y la de testosterona y 17 $\beta$ -estradiol en picogramos por ml.

Las concentraciones de FSH y LH se cuantificaron por RIA de doble anticuerpo, con reactivos donados por el National Hormone and Pituitary Program (Baltimore, MD, USA). El anticuerpo para LH fue NIAMDD-RatA-LH-RP3 y para FSH fue NIAMDD-Rat-FSH-RP2. Los resultados de las gonadotropinas se expresaron en ng/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo de las diferentes hormonas se presentan en el **cuadro 1**.

**Cuadro 1. Coeficientes Intra e Interensayo.**

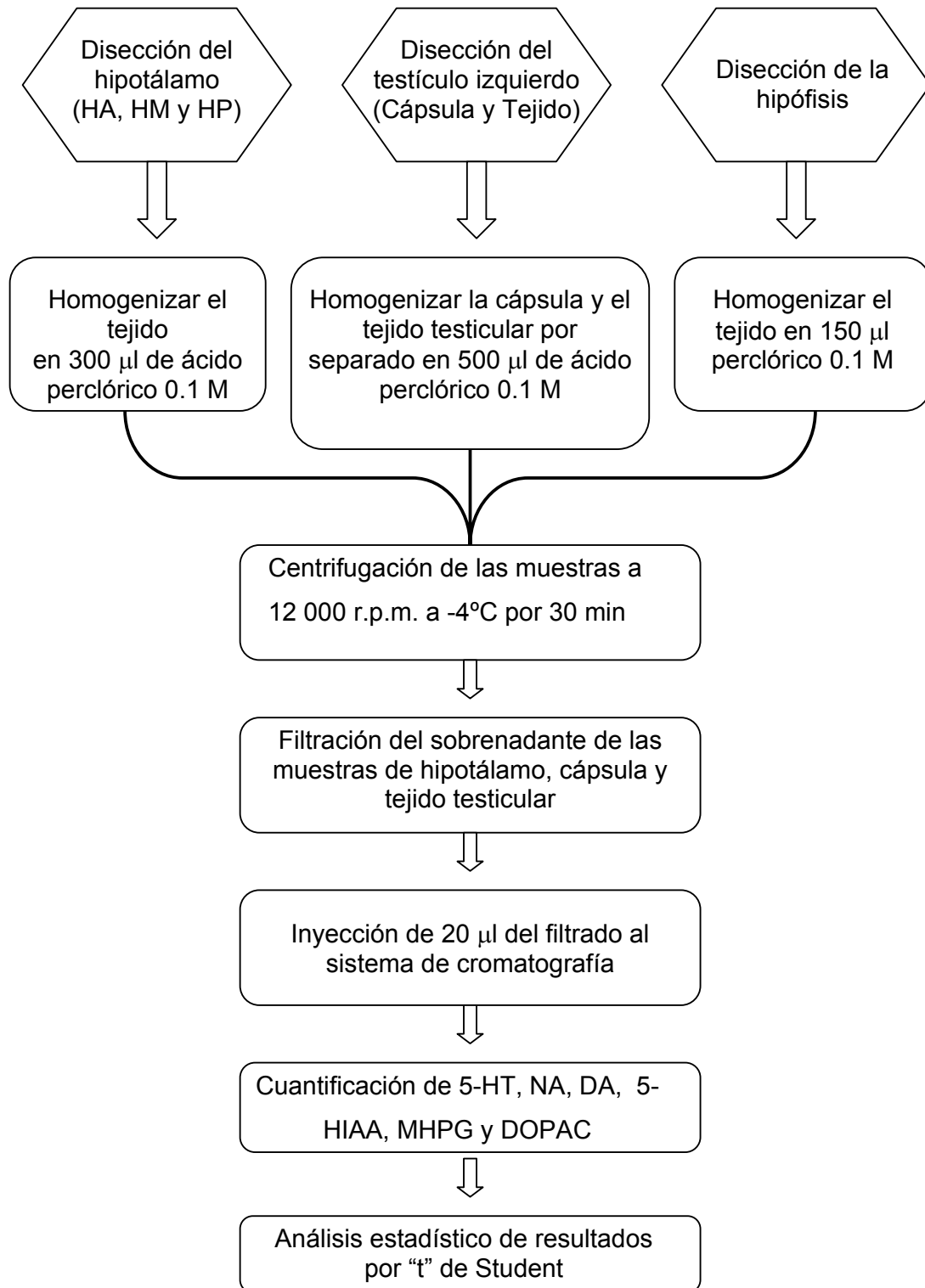
<b>Hormona</b>	<b>Coeficiente Intraensayo</b>	<b>Coeficiente Interensayo</b>
<b>Esteroides</b>		
Progesterona	6.9 %	10.8 %
Testosterona	5.6 %	8.7 %
β-estradiol	6.9 %	10.8 %
<b>Gonadotropinas</b>		
FSH	7.9 %	9.3 %
LH	5.7 %	6.8 %

### **Cuantificación de Serotonina, Noradrenalina, Dopamina y Metabolitos**

Las muestras de hipotálamo se homogenizaron en 300 µl de ácido perclórico 0.1M y las hipófisis se homogenizaron en 150 µl. La cápsula y el tejido testicular se homogenizaron por separado en 500 µl de ácido perclórico. Todas las muestras se centrifugaron a 12 000 r.p.m. a -4°C por 30 minutos. El sobrenadante de las muestras de hipotálamo, cápsula y tejido testicular se filtraron a través de filtros de celulosa regenerada y 20 µl del filtrado se inyectó al sistema de cromatografía para la cuantificación de serotonina, NA, DA, 5-HIAA, MHPG y DOPAC (**figura 8**).

### **Análisis estadístico de los resultados**

Los resultados de las concentraciones de serotonina, NA, DA, 5-HIAA, MHPG, DOPAC; progesterona, testosterona, 17β-estradiol, FSH y LH se analizaron por la prueba “t” de Student. Se consideraron como significativas aquellas diferencias entre grupos en las que la probabilidad fue igual o menor al 0.05 (Reyes, 1995).



**Figura 8. Cuantificación de neurotransmisores.**

---

**RESULTADOS**

En comparación con el grupo TA, en el hipotálamo anterior y medio de los animales que se inyectaron con el vh y se sacrificaron a las 144 horas, la concentración del 5-HIAA se incrementó significativamente, mientras que en el hipotálamo posterior se observó un aumento a las 72 horas [Hipotálamo anterior:  $0.50 \pm 0.10$  vs.  $0.76 \pm 0.05$ ; Hipotálamo medio:  $0.36 \pm 0.08$  vs.  $0.66 \pm 0.09$ ; Hipotálamo posterior:  $0.62 \pm 0.09$  vs.  $1.15 \pm 0.11$ ,  $p < 0.05$ ]. La relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo anterior aumentó significativamente a las 96 ó 120 horas y en el hipotálamo posterior a las 120 horas [Hipotálamo anterior 96 horas:  $0.38 \pm 0.08$  vs.  $0.62 \pm 0.04$ ; 120 horas:  $0.46 \pm 0.03$  vs.  $0.63 \pm 0.05$ ; Hipotálamo posterior:  $0.25 \pm 0.02$  vs.  $0.53 \pm 0.04$ ,  $p < 0.05$ ].

En el hipotálamo anterior de los animales que recibieron el vh la concentración de NA fue menor a las 120 horas, mientras que la concentración del MHPG y la relación MHPG/NA fue mayor en este periodo de estudio [NA:  $0.21 \pm 0.02$  vs.  $0.14 \pm 0.007$ ; MHPG:  $0.02 \pm 0.001$  vs.  $0.06 \pm 0.004$ ; MHPG/NA:  $0.13 \pm 0.01$  vs.  $0.47 \pm 0.02$ ,  $p < 0.05$ ]. La concentración de DOPAC disminuyó a las 144 horas [ $0.01 \pm 0.002$  vs.  $0.008 \pm 0.001$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que no se observaron cambios en la concentración de DA o de la relación DOPAC/DA en ninguno de los periodos de estudio en comparación con el grupo TA.

Con relación al hipotálamo medio de los animales tratados con vh la concentración de NA fue menor a las 120 horas y se incremento a las 144 horas [120 horas:  $0.22 \pm 0.01$  vs.  $0.16 \pm 0.008$ ; 144 horas  $0.17 \pm 0.01$  vs.  $0.25 \pm 0.01$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que la concentración del MHPG fue mayor a las 72, 96 ó 120 horas [72 horas:  $0.26 \pm 0.06$  vs.  $0.72 \pm 0.13$ ; 96 horas:  $0.04 \pm 0.01$  vs.  $0.09 \pm 0.01$ ; 120 horas:  $0.05 \pm 0.004$  vs.  $0.17 \pm 0.03$ ,  $p < 0.05$ ]. La relación MHPG/NA aumentó a las 120 horas [ $0.23 \pm 0.02$  vs.  $1.11 \pm 0.21$ ,  $p < 0.05$ ]. Mientras que no se observaron cambios significativos en la concentración de DA, DOPAC ó de la relación DOPAC/DA en ninguno de los periodos estudiados en comparación con el grupo TA.

En el hipotálamo posterior la relación MHPG/NA aumentó únicamente a las 120 horas [ $0.89 \pm 0.12$  vs.  $2.70 \pm 0.47$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que la concentración de NA, MHPG, DA, DOPAC o de la relación DOPAC/DA no se modificó en ninguno de los periodos de estudio en comparación con el grupo TA.

En la hipófisis de los animales que se inyectaron con el vh y se sacrificaron a las 24 ó 96 horas la concentración de serotonina disminuyó significativamente respecto al grupo TA [24 horas:  $0.48 \pm 0.07$  vs.  $0.25 \pm 0.03$ ; 96 horas:  $0.41 \pm 0.07$  vs.  $0.22 \pm 0.04$ ,  $p < 0.05$ ]. La concentración de 5-HIAA y la relación 5-HIAA/5-HT no se modificó en ninguno de los periodos estudiados en comparación con el grupo TA.

En comparación con el grupo TA, en la hipófisis de los animales que se inyectaron con vh la concentración de NA aumentó a las 120 ó 144 horas [120 horas:  $0.02 \pm 0.02$  vs.  $0.24 \pm 0.05$ ; 144 horas:  $0.02 \pm 0.01$  vs.  $0.38 \pm 0.08$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que la concentración de MHPG y la relación MHPG/NA no se modificó en ninguno de los periodos de estudio.

La concentración de DA disminuyó significativamente a las 24 horas [ $0.42 \pm 0.04$  vs.  $0.24 \pm 0.04$ ,  $p < 0.05$ ] y aumentó a las 120 ó 144 horas postratamiento [120 horas:  $0.03 \pm 0.002$  vs.  $0.39 \pm 0.08$ ; 144 horas:  $0.11 \pm 0.04$  vs.  $0.40 \pm 0.06$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que la concentración del DOPAC aumentó a las 144 horas [ $0.02 \pm 0.01$  vs.  $0.20 \pm 0.07$ ,  $p < 0.05$ ] y la relación DOPAC/DA no se modificó en ninguno de los periodos de estudio en comparación con el grupo TA.

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, en los animales que se inyectaron con solución salina, la concentración de FSH fue significativamente menor a las 144 horas postratamiento. La concentración de LH se incrementó en los animales sacrificados a las 72 ó 120 horas (**cuadro 2**).

En comparación con el grupo TA, la concentración de serotonina, del 5-HIAA y de la relación 5-HIAA/5-HT en la cápsula y el tejido testicular de los animales tratados con solución salina no se modificó en ninguno de los periodos estudiados.

La concentración de NA en la cápsula testicular de los animales tratados con el vh aumentó a las 96 horas [ $0.04 \pm 0.007$  vs.  $0.94 \pm 0.22$ ,  $p < 0.05$ ], mientras que la concentración de MHPG y la relación MHPG/NA aumentó a las 72 horas [MHPG:  $0.05 \pm 0.01$  vs.  $0.16 \pm 0.02$ ; MHPG/NA:  $0.06 \pm 0.02$  vs.  $0.14 \pm 0.007$ ,  $p < 0.05$ ] y disminuyó a las 96 horas [ $3.45 \pm 0.73$  vs.  $0.73 \pm 0.18$ ,  $p < 0.05$ ] en comparación con el grupo TA.

En el tejido testicular de los animales que se trataron con vh la concentración de NA en el tejido testicular aumentó a las 96 ó 120 horas postratamiento [96 horas:  $0.02 \pm 0.002$  vs.  $0.16 \pm 0.03$ ; 120 horas:  $0.03 \pm 0.005$  vs.  $0.25 \pm 0.11$ ,  $p < 0.05$ ]. Mientras que la concentración del MHPG y la relación MHPG/NA no se modificó en ninguno de los periodos de estudio. La concentración de DA, DOPAC y la relación DOPAC/DA estuvo por debajo de la sensibilidad del método ( $< 0.001$  ng), en la cápsula y en el tejido testicular en todos los periodos de estudio en comparación con el grupo TA.

**Cuadro 2. Concentración (media ± e.e.m.) de FSH y LH en el suero de ratas macho testigo absoluto (TA) ó tratadas con solución salina (vh) en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

Grupo		FSH (ng/ml de suero)	LH (ng/ml de suero)
24 horas	TA	8.0 ± 0.70	0.36 ± 0.02
	vh	11.8 ± 1.32	0.58 ± 0.2
48 horas	TA	12.8 ± 2.02	0.47 ± 0.06
	vh	12.5 ± 2.34	0.64 ± 0.07
72 horas	TA	11.1 ± 1.27	0.36 ± 0.04
	vh	8.3 ± 0.61	1.10 ± 0.29 *
96 horas	TA	8.1 ± 1.10	0.45 ± 0.06
	vh	13.0 ± 2.84	0.36 ± 0.07
120 horas	TA	8.6 ± 1.18	0.27 ± 0.05
	vh	10.6 ± 1.15	0.48 ± 0.06 *
144 horas	TA	11.8 ± 0.74	0.60 ± 0.06
	vh	7.9 ± 1.26 *	0.61 ± 0.2

\* p<0.05 vs. grupo TA (Prueba "t" de Student)

La concentración de progesterona en el suero de los animales a los que se les administró solución salina y se sacrificaron a las 24, 72 ó 144 horas fue menor en comparación con los animales testigo absoluto. La concentración de 17β-estradiol fue menor a las 96 horas (**cuadro 3**).

**Cuadro 3. Concentración (media ± e.e.m.) de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas macho testigo absoluto (TA) o tratadas con solución salina (vh) en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

Grupo		PROGESTERONA (ng/ml de suero)	TESTOSTERONA (pg/ml de suero)	17β-ESTRADIOL (pg/ml de suero)
24 horas	TA	7.96 ± 1.86	117.5 ± 58.3	24.9 ± 2.9
	vh	2.07 ± 0.49 *	129.0 ± 39.4	25.8 ± 1.5
48 horas	TA	9.84 ± 2.84	65.9 ± 20.0	29.3 ± 2.4
	vh	12.95 ± 2.06	49.6 ± 20.4	28.5 ± 4.0
72 horas	TA	13.30 ± 1.42	51.2 ± 17.7	30.8 ± 2.6
	vh	7.67 ± 1.54 *	161.7 ± 21.9 *	26.3 ± 1.7
96 horas	TA	3.15 ± 0.83	159.8 ± 51.0	25.7 ± 1.0
	vh	3.89 ± 1.04	279.1 ± 40.2	18.5 ± 2.0 *
120 horas	TA	9.10 ± 2.98	222.0 ± 45.3	21.2 ± 1.7
	vh	5.92 ± 1.26	159.6 ± 39.1	19.3 ± 1.0
144 horas	TA	20.32 ± 4.28	342.4 ± 94.7	20.5 ± 2.9
	vh	4.10 ± 0.85 *	314.7 ± 79.9	18.3 ± 2.9

\* p<0.05 vs. grupo TA (Prueba "t" de Student)



Debido a que en el grupo de animales que recibieron solución salina se observaron algunos cambios en los parámetros evaluados, los efectos de la administración de pCA se compararon con el grupo que recibió vh.

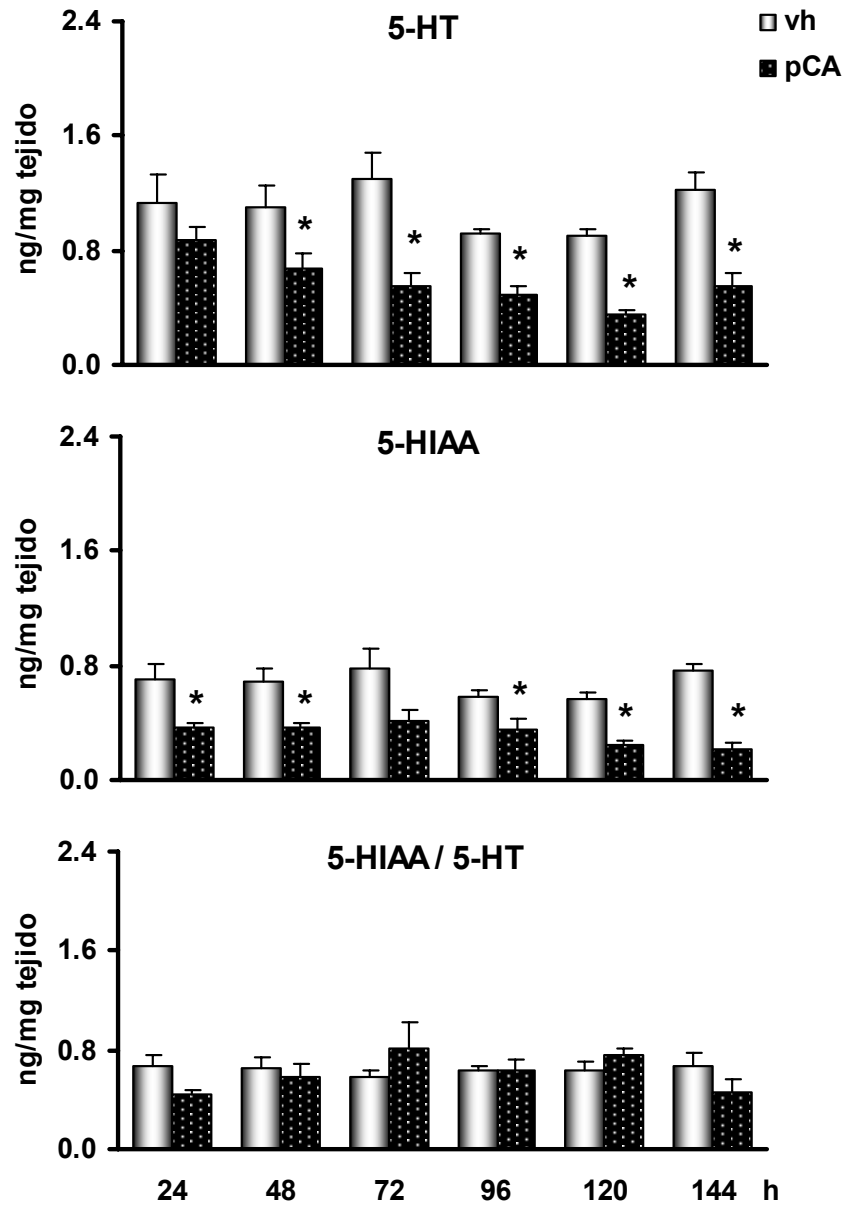
### **Concentración de Serotonina NA y DA en el Hipotálamo**

En comparación con el grupo vh, en los animales inyectados con pCA la concentración de serotonina en el hipotálamo anterior fue menor a partir de las 48 horas después de la administración del fármaco y la concentración del 5-HIAA en todos los periodos de estudio, excepto a las 72 horas. La relación 5-HIAA/serotonina no se modificó en ninguno de los periodos estudiados (**figura 9**).

En el hipotálamo medio de los animales que se trataron con la pCA las concentraciones de serotonina y del 5-HIAA fueron menores a partir de las 24 horas en relación con el grupo de animales que recibieron el vh y la relación 5-HIAA/serotonina no se modificó (**figura 10**).

En el hipotálamo posterior de los animales que se trataron con la pCA la concentración de serotonina fue menor a las 48, 72, 96 y 120 horas postratamiento en comparación con el grupo que recibió el vh. La concentración del 5-HIAA fue mayor en los animales sacrificados a las 72 horas después de la administración de la amfetamina y disminuyó a partir de las 96 horas. La relación 5-HIAA/serotonina no se modificó en ninguno de los periodos estudiados (**figura 11**).

La concentración de DA y del DOPAC en el hipotálamo anterior y medio de los animales que se inyectaron con pCA no se modificó en ninguno de los periodos estudiados, en comparación con el grupo que recibió vh. En comparación con el grupo que recibió el vh, en los animales tratados con la pCA, no se modificó la concentración de NA y de su metabolito, el MHPG, en el hipotálamo anterior. Mientras que en el hipotálamo medio la concentración del MHPG fue menor a las 72 y 120 horas y la concentración de NA no se modificó (**cuadro 4**).



\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de student).

Figura 9. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo anterior de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

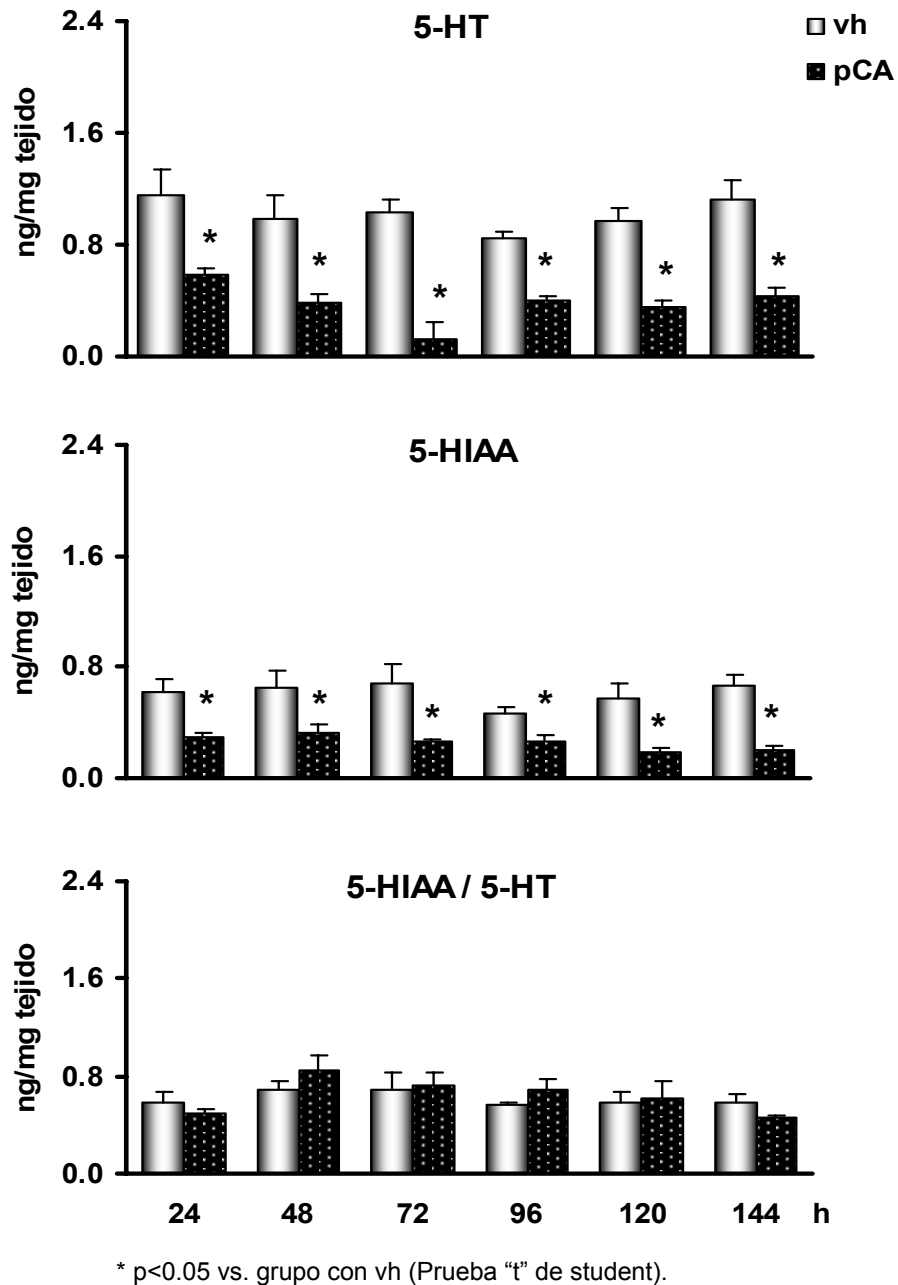


Figura 10. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo medio de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

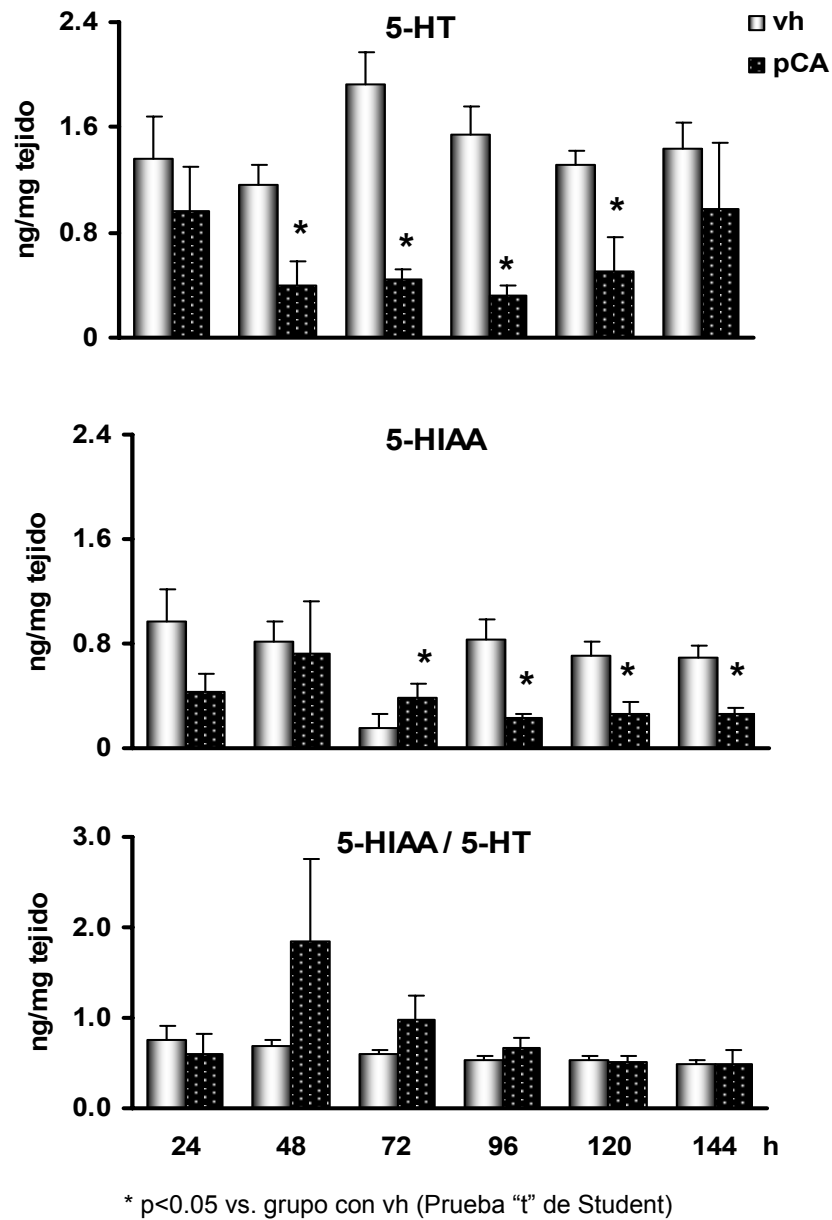


Figura 11. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo posterior de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

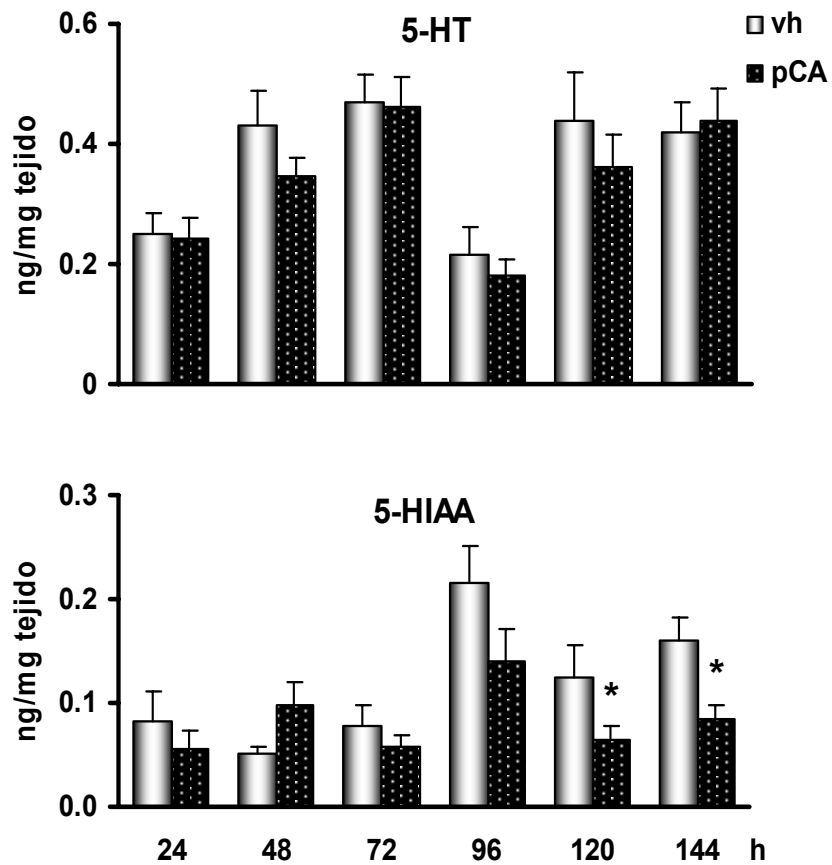
**Cuadro 4. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de noradrenalina (NA) y del ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglicol (MHPG) en el hipotálamo anterior y medio de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de pCA en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

HIPOTÁLAMO ANTERIOR		
Grupo	NA	MHPG
24 horas	vh	1.22 $\pm$ 0.25
	pCA	0.81 $\pm$ 0.36
48 horas	vh	1.58 $\pm$ 0.14
	pCA	0.49 $\pm$ 0.17
72 horas	vh	0.75 $\pm$ 0.18
	pCA	0.29 $\pm$ 0.02
96 horas	vh	1.56 $\pm$ 0.14
	pCA	0.54 $\pm$ 0.20
120 horas	vh	1.79 $\pm$ 0.19
	pCA	0.42 $\pm$ 0.16
144 horas	vh	1.69 $\pm$ 0.13
	pCA	0.36 $\pm$ 0.03
	vh	0.14 $\pm$ 0.01
	pCA	0.18 $\pm$ 0.005
	vh	0.36 $\pm$ 0.24
	pCA	0.27 $\pm$ 0.11
	vh	0.14 $\pm$ 0.007
	pCA	0.06 $\pm$ 0.004
	vh	0.16 $\pm$ 0.009
	pCA	0.04 $\pm$ 0.008
	vh	0.17 $\pm$ 0.02
	pCA	0.06 $\pm$ 0.01
	vh	0.19 $\pm$ 0.02
	pCA	0.07 $\pm$ 0.01
HIPOTÁLAMO MEDIO		
Grupo	NA	MHPG
24 horas	vh	1.68 $\pm$ 0.38
	pCA	0.48 $\pm$ 0.15
48 horas	vh	1.84 $\pm$ 0.05
	pCA	0.30 $\pm$ 0.04
72 horas	vh	2.07 $\pm$ 0.20
	pCA	0.43 $\pm$ 0.08
96 horas	vh	1.50 $\pm$ 0.50
	pCA	0.39 $\pm$ 0.12
120 horas	vh	1.74 $\pm$ 0.19
	pCA	0.72 $\pm$ 0.13
144 horas	vh	1.88 $\pm$ 0.18
	pCA	0.34 $\pm$ 0.05 *
	vh	0.18 $\pm$ 0.008
	pCA	0.09 $\pm$ 0.01
	vh	0.51 $\pm$ 0.35
	pCA	0.36 $\pm$ 0.29
	vh	0.16 $\pm$ 0.008
	pCA	0.17 $\pm$ 0.03
	vh	0.16 $\pm$ 0.02
	pCA	0.08 $\pm$ 0.01 *
	vh	0.25 $\pm$ 0.01
	pCA	0.16 $\pm$ 0.07
	vh	0.19 $\pm$ 0.01
	pCA	0.11 $\pm$ 0.02

\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

### Concentración de serotonina, NA y DA en la hipófisis

En comparación con el grupo vh, en los animales que se trataron con la pCA no se observaron cambios significativos en la concentración de serotonina en la hipófisis, mientras que la del 5-HIAA disminuyó significativamente a los 120 y 144 horas postratamiento (**figura 12**).



\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

Figura 12. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la hipófisis de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

En los animales que se trataron con pCA y se sacrificaron a las 24 horas, la concentración de DA en la hipófisis fue mayor que en los animales inyectados con vh, mientras que en los sacrificados a las 144 horas disminuyó significativamente. La concentración de DOPAC no se modificó en ninguno de los periodos estudiados (cuadro 5).

En los animales que se administró la pCA la concentración de NA y de MHPG no se modificó en la mayoría de los periodos estudiados con excepción de los animales sacrificados a las 144 horas, en donde la concentración de la catecolamina y su metabolito fue menor, en comparación con los animales tratados con vh (cuadro 6).

**Cuadro 5. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de dopamina (DA), y del ácido 3-4-dihidroxifenilacético (DOPAC) en la hipófisis de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de pCA en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

Grupo		DA	DOPAC
24 horas	vh	0.24 $\pm$ 0.05	0.04 $\pm$ 0.01
	pCA	0.40 $\pm$ 0.03 *	0.06 $\pm$ 0.02
48 horas	vh	0.43 $\pm$ 0.02	0.05 $\pm$ 0.01
	pCA	0.49 $\pm$ 0.05	0.07 $\pm$ 0.01
72 horas	vh	0.42 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.01
	pCA	0.49 $\pm$ 0.05	0.08 $\pm$ 0.02
96 horas	vh	0.24 $\pm$ 0.05	0.11 $\pm$ 0.02
	pCA	0.28 $\pm$ 0.05	0.14 $\pm$ 0.03
120 horas	vh	0.39 $\pm$ 0.09	<0.001 ♣
	pCA	0.31 $\pm$ 0.05	0.07 $\pm$ 0.01
144 horas	vh	0.40 $\pm$ 0.07	0.20 $\pm$ 0.07
	pCA	0.22 $\pm$ 0.07 *	0.12 $\pm$ 0.05

\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

♣ valores por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng)

**Cuadro 6. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de noradrenalina (NA) y del ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglicol (MHPG) en la hipófisis de ratas macho tratadas con solución salina 0.9% (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de pCA en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

Grupo		NA	MHPG
24 horas	vh	0.18 $\pm$ 0.05	1.34 $\pm$ 0.33
	pCA	0.10 $\pm$ 0.01	1.34 $\pm$ 0.26
48 horas	vh	0.17 $\pm$ 0.10	0.84 $\pm$ 0.12
	pCA	0.09 $\pm$ 0.03	0.99 $\pm$ 0.04
72 horas	vh	0.40 $\pm$ 0.08	0.79 $\pm$ 0.11
	pCA	0.32 $\pm$ 0.06	0.90 $\pm$ 0.11
96 horas	vh	0.38 $\pm$ 0.03	0.73 $\pm$ 0.15
	pCA	0.57 $\pm$ 0.35	0.48 $\pm$ 0.19
120 horas	vh	0.24 $\pm$ 0.05	0.72 $\pm$ 0.16
	pCA	<0.001 ♣	0.34 $\pm$ 0.09
144 horas	vh	0.38 $\pm$ 0.08	0.38 $\pm$ 0.10
	pCA	0.04 $\pm$ 0.01 *	0.05 $\pm$ 0.001 *

\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

♣ valores por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng)

### Concentración de Gonadotropinas

En los animales que se inyectaron con la pCA no se modificó la concentración de FSH y LH en el suero, en comparación con los animales tratados con vh (**figura 13**).

### Concentración de Serotonina, NA y DA en Cápsula y Tejido Testicular

En comparación con el grupo de animales que se inyectaron con vh, en los que se administró la pCA no se observaron cambios significativos en la concentración de serotonina en la cápsula testicular (**figura 14**). La concentración del 5-HIAA fue menor a las 24 y 144 horas postratamiento. En el tejido testicular la concentración de serotonina fue menor a las 144 horas. Mientras, que la concentración del 5-HIAA estuvo por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng) en todos los periodos estudiados (**figura 15**).



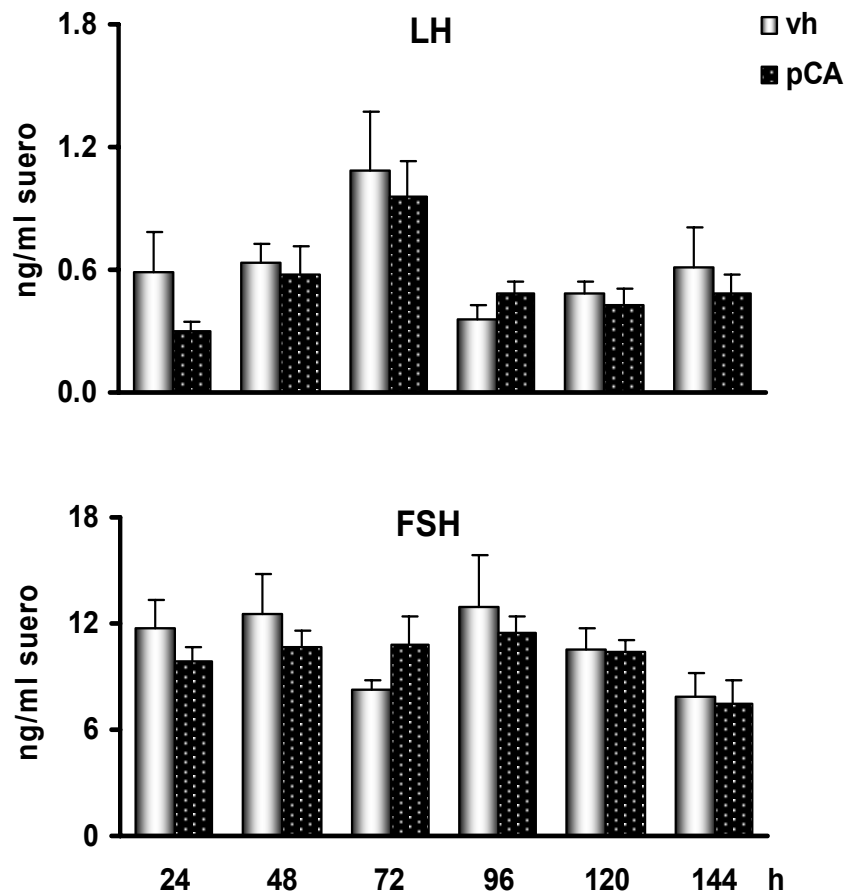
En el tejido testicular de los animales tratados con pCA no se observaron cambios significativos en la concentración de NA y MHPG en ninguno de los periodos estudiados. Mientras que, en la cápsula testicular la concentración de NA disminuyó a las 24 ó 72 horas y la concentración de MHPG no se modificó en ningún periodo de estudio en comparación con el grupo vh (**cuadro 7**).

La concentración de DA y DOPAC estuvo por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng) en todos los periodos estudiados tanto en la cápsula como en el tejido testicular.

### **Concentración de Hormonas Esteroides en Suero**

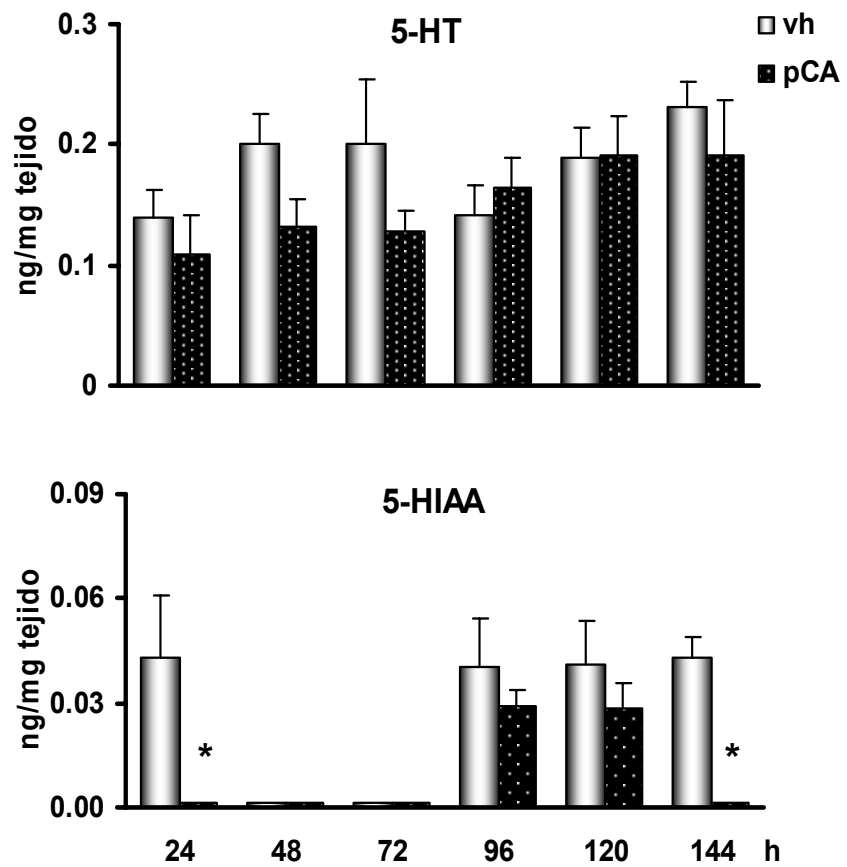
En comparación con el grupo tratado con vh, en los animales inyectados con pCA la concentración de progesterona en el suero fue menor a las 48 y 120 horas postratamiento, mientras que fue mayor a las 24 y 144 horas.

La concentración de testosterona fue menor en los animales tratados con pCA y sacrificados a las 24 horas y a partir de las 72 horas en comparación con el grupo que recibió el vh. En los animales inyectados con la pCA, no se observaron cambios significativos en la concentración de estradiol en ninguno de los periodos estudiados en relación con los animales tratados con vh (**figura 16**).



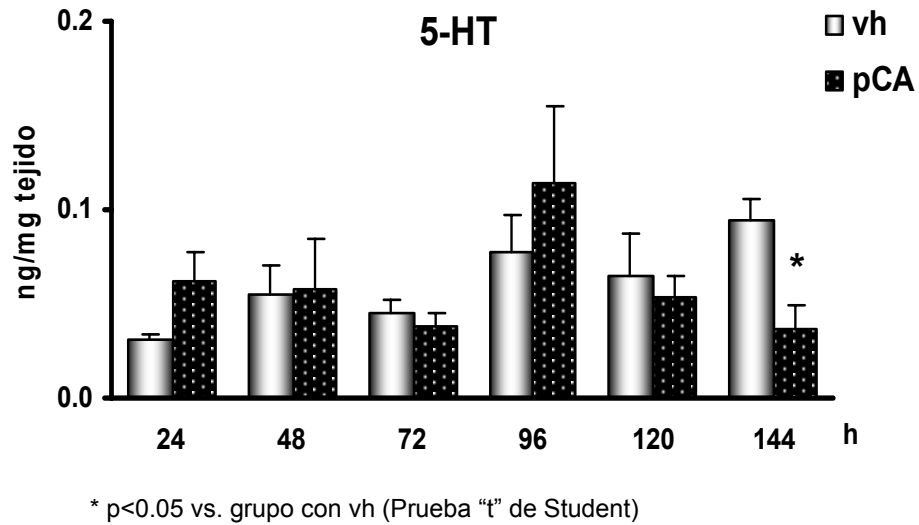
\* p<0.05 vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

**Figura 13. Concentración (media ± e.e.m.) de la LH y de la FSH en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.**



\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

Figura 14. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la cápsula testicular de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.



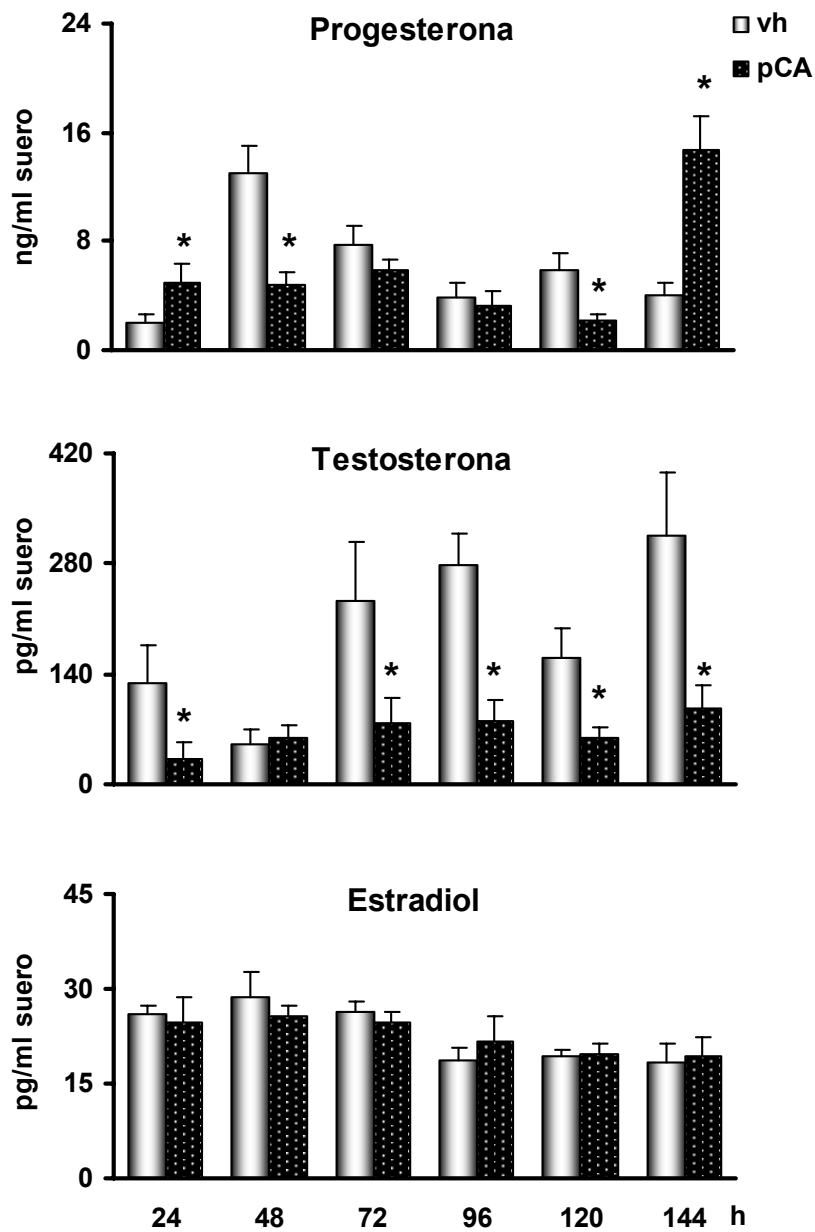
**Figura 15.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT) en tejido testicular de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

**Cuadro 7. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de noradrenalina (NA) y del ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletilenglicol (MHPG) en el tejido y la cápsula testicular de ratas macho tratadas con solución salina 0.9% (Vh) o con 10mg/kg de p.c. de pCA en el día 30 y sacrificadas a diferentes periodos.**

<b>TEJIDO TESTICULAR</b>		
<b>Grupo</b>	<b>NA</b>	<b>MHPG</b>
24 horas vh	0.08 $\pm$ 0.03	<0.001 ♣
pCA	<0.001 ♣	0.14 $\pm$ 0.06
48 horas vh	0.13 $\pm$ 0.03	<0.001 ♣
pCA	<0.001 ♣	<0.001 ♣
72 horas vh	<0.001	<0.001 ♣
pCA	0.13 $\pm$ 0.07	<0.001 ♣
96 horas vh	0.16 $\pm$ 0.03	0.89 $\pm$ 0.13
pCA	0.19 $\pm$ 0.12	0.85 $\pm$ 0.16
120 horas vh	0.25 $\pm$ 0.11	0.28 $\pm$ 0.12
pCA	0.08 $\pm$ 0.03	0.41 $\pm$ 0.15
144 horas vh	0.06 $\pm$ 0.01	1.12 $\pm$ 0.43
pCA	0.10 $\pm$ 0.03	0.29 $\pm$ 0.18
<b>CÁPSULA TESTICULAR</b>		
<b>Grupo</b>	<b>NA</b>	<b>MHPG</b>
24 horas vh	0.98 $\pm$ 0.14	<0.001 ♣
pCA	0.35 $\pm$ 0.07 *	<0.001 ♣
48 horas vh	0.93 $\pm$ 0.23	<0.001 ♣
pCA	0.99 $\pm$ 0.09	0.11 $\pm$ 0.01
72 horas vh	1.30 $\pm$ 0.15	0.16 $\pm$ 0.02
pCA	0.46 $\pm$ 0.08 *	<0.001 ♣
96 horas vh	0.94 $\pm$ 0.22	0.40 $\pm$ 0.12
pCA	0.72 $\pm$ 0.23	0.46 $\pm$ 0.12
120 horas vh	0.38 $\pm$ 0.23	0.37 $\pm$ 0.20
pCA	0.43 $\pm$ 0.18	0.19 $\pm$ 0.04
144 horas vh	1.14 $\pm$ 0.88	0.58 $\pm$ 0.21
pCA	0.32 $\pm$ 0.29	0.25 $\pm$ 0.04

\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

♣ valores por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng)



\*  $p < 0.05$  vs. grupo con vh (Prueba "t" de Student)

Figura 16. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (vh) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a los 30 días de edad y sacrificadas a diferentes periodos.

Cuadro 8. Resumen de los resultados observados por la administración de pCA sobre la concentración de serotonina en diferentes estructuras, de gonadotropinas y de hormonas esteroideas en suero.

Horas \ Estructura	24	48	72	96	120	144
HA (serotonina)	=	↓	↓	↓	↓	↓
HM (serotonina)	↓	↓	↓	↓	↓	↓
HP (serotonina)	=	↓	↓	↓	↓	=
Hipófisis (serotonina)	=	=	=	=	=	=
LH	=	=	=	=	=	=
FSH	=	=	=	=	=	=
Cápsula t. (serotonina)	=	=	=	=	=	=
Tejido t. (serotonina)	=	=	=	=	=	↓
Progesterona	↑	↓	=	=	↓	↑
Testosterona	↓	=	↓	↓	↓	↓
Estradiol	=	=	=	=	=	=

## DISCUSIÓN

Con base en nuestros resultados es posible sugerir que el sistema serotoninérgico del hipotálamo en la rata macho prepúber de 30 días no participa en la modulación de la secreción de las gonadotropinas debido a que la disminución en la concentración de serotonina en el hipotálamo no se acompañó de modificaciones en la concentración de LH y FSH, lo cual no coincide con lo reportado por otros autores quienes señalan que la serotonina en la rata macho estimula la secreción de la FSH (Justo y col., 1989; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1989). Una posible explicación de las diferencias observadas entre los resultados obtenidos en este estudio y lo reportado por otros autores puede ser debido a que la amfetamina no eliminó por completo la serotonina en el hipotálamo y la que quedó fue suficiente para que se desencadenara la secreción de GnRH y como consecuencia la de las gonadotropinas.

Los resultados obtenidos en este estudio también nos permiten sugerir que la serotonina participa en la modulación de las funciones del testículo. El hecho que en los animales que recibieron pCA disminuyera la concentración de testosterona en suero apoya esta idea (**figura 16**).

La disminución en la concentración de serotonina en el hipotálamo de los animales que recibieron la pCA coincide con lo reportado previamente (**figuras 9-11**) (Aragón y col., 2005). La amfetamina cuando se administra por vía sistémica tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica e inhibir la actividad de la triptofano hidroxilasa, enzima que cataliza la transformación del triptofano en 5-hidroxitriptofano (Sanders-Bush y col., 1972). La pCA afecta de forma selectiva a las neuronas serotoninérgicas del hipotálamo anterior y medio debido a que en los animales tratados con la amfetamina los cambios en el sistema serotoninérgico no se acompañaron de modificaciones en la concentración de noradrenalina y dopamina (**cuadro 4**).



Se ha sugerido que las anfetaminas como la pCA provocan degeneración de las terminales de las neuronas que sintetizan serotonina 3 días después de su administración (Haring y col., 1992). Por ello, es posible pensar que el daño que provocó la anfetamina en la terminal serotoninérgica contribuyó en parte a la disminución en la concentración de la amina observada en el hipotálamo de estos animales. En relación a esto se sugiere que los efectos de la pCA en las neuronas serotoninérgicas se mantienen a largo plazo debido a una acción citotóxica irreversible (Fuller y Snoddy, 1974; Sanders-Bush y col., 1975; Gál y col., 1975). El efecto de la pCA en las neuronas serotoninérgicas es mediado por su transformación a un metabolito neurotóxico y los posibles candidatos son la 4-hidroxi-3-cloroanfetamina (Parli y Schmidt, 1975), la p-cloronorefedrina, 3,4-dimetoxianfetamina (Sherman y col., 1975; Sherman y Gál, 1976), 5,6-dihidroxitriptamina ó 5,7 dihidroxitriptamina, que se detectan en el cerebro después de la administración de la pCA (Commins y col., 1987).

La inervación serotoninérgica del hipotálamo se origina en los núcleos dorsal y medial del rafé (Frazer y Hensler, 1999; Lechin y col., 2006). Por estudios farmacológicos se ha mostrado que las fibras serotoninérgicas que se originan en el núcleo medial son más resistentes a los efectos neurotóxicos de algunos compuestos como las anfetaminas (Frazer y Hensler, 1999). En relación a esto se ha mostrado que seis semanas después de la administración de pCA, el número de neuronas serotoninérgicas del NDR disminuye en un 77%, mientras que las del NMR solo en un 10% (Haring y col., 1992). Este hecho nos permite explicar en parte porque en los animales que fueron inyectados con la anfetamina, la concentración de serotonina en el hipotálamo no disminuyó por completo, debido a que las fibras serotoninérgicas que se originan en el NMR y que inervan diferentes núcleos del hipotálamo posiblemente no se dañaron. Entre los núcleos o regiones que son inervados por las fibras serotoninérgicas que se originan en el NMR y que comprenden al hipotálamo anterior se encuentran, el núcleo supraquiasmático y el área preóptica, así como el núcleo arcuato que forma parte del hipotálamo medio (Van de Kar y Lorens, 1979; Soghomonian y col., 1988).

La susceptibilidad diferencial de las fibras serotoninérgicas que se originan en el NDR y NMR a la pCA posiblemente está asociada a las diferencias morfológicas que existen entre los axones de las neuronas que conforman a ambos núcleos. Los que se originan en el NDR son finos y presentan pequeñas varicosidades pleomórficas, mientras que los del NMR son gruesos y muestran varicosidades grandes (Mamounas y Molliver, 1988; Frazer y Hensler, 1999).

Otra posibilidad es que la serotonina que se cuantificó en el hipotálamo de los animales que se trataron con la pCA, se sintetice directamente en el propio hipotálamo y que estas neuronas también sean más resistentes a los efectos de la pCA. Por estudios de inmunohistoquímica se ha mostrado que en el núcleo dorsomedial del hipotálamo se encuentran somas de neuronas serotoninérgicas (Frankfurt y Azmitia, 1983).

La disminución en la concentración de serotonina en el hipotálamo de los animales que recibieron la anfetamina no se acompañó de modificaciones en la concentración de FSH y LH en suero (**figura 13**), lo que nos llevaría a pensar que la serotonina no participa en la modulación de la secreción de las gonadotropinas en la rata macho. Estos resultados no coinciden con lo reportado en la bibliografía debido a que se muestra que cuando a la rata macho de 30 días de edad se le administra por vía sistémica el 5-hidroxitriptofano, precursor de la síntesis de serotonina, se incrementa la concentración de serotonina en el hipotálamo y aumenta la concentración de FSH en suero (Justo y col. 1989). La discrepancia que se observa entre nuestros resultados y los de Justo y colaboradores (1989), posiblemente es el resultado del tiempo de acción del fármaco que se utiliza. En nuestro estudio se administró la pCA cuyos efectos en el sistema serotoninérgico se empiezan a manifestar a partir de las 2 horas y son más evidentes a las 24 horas, mientras que en el estudio de Justo y colaboradores (1989), administran el 5-hidroxitriptofano y estimulan la síntesis de serotonina, efectos que se presentan a partir de los 30 minutos y se incrementan a los 60 minutos.

El hecho que la administración de pCA en la rata macho prepúber no modificara la concentración de gonadotropinas, nos llevó a pensar que el sistema serotoninérgico del hipotálamo no participa en la modulación de la secreción de la GnRH. Sin embargo, en estudios anatómicos se ha mostrado que en el área preóptica los somas de las neuronas que secretan la GnRH hacen sinapsis con las terminales serotoninérgicas (Kiss y Halász, 1985), lo que permitió apoyar la idea de que la serotonina participa en la modulación de la secreción de la GnRH y como consecuencia de las gonadotropinas. En apoyo a esta idea se ha observado que cuando se mantienen *in vitro* células hipotalámicas de la línea celular GT1-7, la serotonina estimula la liberación de la GnRH (Kim y col., 2006).

Una posible explicación a las diferencias observadas en los resultados obtenidos en este estudio y lo reportado por otros autores sobre la participación de la serotonina en la modulación de la secreción de las gonadotropinas, es el resultado de que la anfetamina no eliminó por completo la serotonina en el hipotálamo y la que quedó fue suficiente para que se desencadenara la secreción de la GnRH y como consecuencia de las gonadotropinas. Además se ha mostrado en diversos estudios que la serotonina ejerce efectos tanto inhibitorios como estimulantes en la secreción de la GnRH, que dependen de la edad del animal, el sexo y del receptor a serotonina que se expresa y a la cascada de señalización que se activa (Li y Pelletier, 1995; Hery y col., 1997; Moguilevsky y Wuttke, 2001). En un estudio *in vitro* en donde se utilizaron células GT1-7, se observó que cuando se activa el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, que se encuentra acoplado a proteínas Gi se inhibe la secreción pulsátil de la GnRH. Por otro lado cuando se activan los receptores 5-HT<sub>2c</sub> o 5-HT<sub>4</sub> que están acoplados a proteínas Gq o Gs respectivamente, se invierte este efecto. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que dependiendo del receptor a serotonina y de la ruta de señalización que se active se modifica o no la secreción de la GnRH (Wada y col., 2006).

Los cambios observados en el sistema noradrenérgico y dopaminérgico en el hipotálamo y en la hipófisis de los animales que se trataron con el vehículo posiblemente son el resultado del estrés que les genera la manipulación al momento de la inyección o la inyección misma. En relación a este último punto algunos autores sugieren que la inserción de la aguja en la piel, músculo y peritoneo del vientre estimula los receptores del dolor. El estímulo de estos receptores se traduce en señales que viajan al sistema nervioso central y como consecuencia modifican la actividad de los sistemas de neurotransmisión generándose una respuesta al estrés, se ha observado que algunas de estas respuestas pueden incluir el aumento en la concentración de catecolaminas por el sistema nervioso simpático y la adrenal (Van de Kar y Blair, 1999; Sapolsky y col., 2000), así como la disminución en la concentración de esteroides gonadales (Paris y col., 1987; Sapolsky y col., 2000). También se ha mostrado que cuando a la rata se le realiza la inyección intraperitoneal de solución salina se genera estrés y aumenta la ansiedad del animal, evento que es regulado por la participación del ácido gama amino-butírico (GABA) (Saldivar-González y col., 1997), por los péptidos opioides, catecolaminas y serotonina (Dunn y File, 1983; Keefe y col., 1990; Keefe y col., 1993). La respuesta al estrés ocurre de manera coordinada entre los sistemas de neurotransmisión y depende del tiempo y de la especificidad del estresor (Carrasco y Van de Kar, 2003).

Se ha sugerido que la serotonina que se encuentra en los gonadotropos es endógena o puede ser sintetizada en otras regiones como en el núcleo del rafé y transportada hasta la adenohipófisis. En nuestro estudio, el hecho de que la administración de pCA no modificara la concentración de serotonina en la hipófisis (**figura 12**) puede ser debido a que las fibras serotoninérgicas que inervan a esta glándula se originan en el NMR, que es más resistente a los efectos neurotóxicos de las anfetaminas. Otra posibilidad es que la serotonina que se cuantificó en la hipófisis (Nunez y col., 1981; Johns y col., 1982) se origine en la eminencia media en donde se localizan las terminales de las neuronas serotoninérgicas (Jennes y col., 1982), que liberan la amina al sistema portal-hipofisario y la transportan hasta la adenohipófisis en donde es recapturada por los gonadotropos (Azmitia y Gannon,

1983). Con base en nuestros resultados es posible pensar que el aporte o la síntesis de serotonina en los gonadotropos no se afectó.

También es posible que el hecho que no se observaran cambios en la concentración de las gonadotropinas en el suero de los animales que recibieron la anfetamina se deba al tipo de receptor a serotonina que se expresa en los núcleos del hipotálamo donde se localizan los somas de las neuronas que secretan la GnRH. Al respecto, se ha mostrado que cuando en la rata hembra adulta ovariectomizada se le realiza a nivel del área preóptica medial la microinyección del antagonista del receptor 5-HT<sub>1</sub>, metioptepin, no se modifica la secreción de FSH, mientras que, cuando se administra ketanserina, el antagonista del receptor 5-HT<sub>2</sub>, disminuye la concentración de FSH (Gouveia y Franci, 2004). Estos resultados llevaron a sugerir que la interacción de la serotonina con el receptor 5-HT<sub>2</sub> estimula la secreción de FSH, mientras que el receptor 5-HT<sub>1</sub> parece no participar en la regulación de la secreción de esta gonadotropina.

En cápsula testicular, de los animales tratados con pCA, la concentración de serotonina no se modificó en ninguno de los periodos estudiados (**figura 14**). La falta de efecto de la pCA en la cápsula testicular posiblemente es el resultado de que en esta región del testículo no se ha mostrado que se lleve a cabo la síntesis de serotonina y la fuente de la amina de esta proviene de la inervación serotoninérgica, la cual se origina en el plexo renal y continúa en la arteria espermática (Campos y col., 1990).

Campos y colaboradores en 1990, mostraron que por lo menos parte de la serotonina testicular deriva de la inervación de la gónada que proviene del nervio espermático. Se ha sugerido que la inervación simpática que recibe la gónada participa en la regulación de las funciones testiculares (Frankel y Ryan, 1981; Frankel y col., 1984). La posibilidad de que la pCA actúe en la inervación que recibe el testículo se apoya en los resultados de Yonezawa y colaboradores (2005) quienes mostraron que la pCA induce un estímulo de la respuesta eyaculatoria cuando actúa en el cordón lumbosacral espinal y regiones periféricas.

Además, Stafford y colaboradores (2006) mostraron que la pCA puede activar los circuitos neuronales espinales que generan el patrón de respuestas autonómicas y somáticas similares a las que ocurren durante el climax sexual.

De manera conjunta existen evidencias que apoyan la idea de que la acción de los andrógenos sobre las monoaminas centrales va más allá de las estructuras del sistema límbico e hipotalámico. Battaner y colaboradores (1987) observaron los efectos de la castración de ratas macho sobre la concentración de serotonina y de 5-HIAA en el cordón espinal lumbosacral, el hipotálamo mediobasal, y la corteza cerebral. Los autores observaron que los animales castrados mostraron un aumento en la concentración de la monoamina y su metabolito en el cordón espinal, además de que el tratamiento con propionato de testosterona revirtió este efecto y concluyeron que la ruta monoaminérgica del cordón espinal es sensible a la acción de los andrógenos.

En relación a esto, se ha mostrado que en la cápsula testicular se encuentran altas concentraciones de serotonina, lo cual se correlaciona con la presencia de finas fibras nerviosas fluorescentes descritas por Campos y colaboradores (1990) en esta región del testículo. La técnica histoquímica utilizada en estos estudios identifica todas las monoaminas y por lo tanto la inervación serotoninérgica puede incluso ser parte de las fibras fluorescentes identificadas en la cápsula.

En los animales que fueron inyectados con la pCA, la concentración de serotonina en el tejido testicular solo disminuyó significativamente a las 144 horas postratamiento (**figura 15**); esto posiblemente se deba a que en las células de Leydig existe una isoforma de la enzima triptofano hidroxilasa, limitante en la síntesis de serotonina, la cual es resistente a los efectos de la anfetamina, tal y como se ha mostrado en los mastocitos localizados en la duramadre de la glándula pineal (Mathiau y col., 1994).

Por estudios acerca de la expresión del gen de la TPH1 en ratones, recientemente se descubrió la existencia de una segunda isoforma de TPH, la TPH2, esta última isoforma se encuentra presente principalmente en el SNC mientras que la TPH1 se encuentra principalmente en tejidos periféricos. La presencia de las dos isoformas de la TPH, llevó a los autores a sugerir la existencia de dos sistemas serotoninérgicos que se regulan independientemente, cumplen funciones diferentes y son afectados de forma diferencial por los agentes farmacológicos (Walther y Bader, 2003).

El hecho de que se observara un aumento en la concentración de progesterona a las 24 horas y la disminución a las 48 ó 120 horas nos permite pensar que la administración de pCA afecta la producción de hormonas esteroides, con respecto a esto se ha mostrado que la anfetamina tiene la capacidad de modular la esteroidogénesis, Chen y colaboradores (2003) observaron que cuando se mantienen *in vitro* células tumorales de Leydig de la línea MA-10 de ratón y se le adiciona anfetamina al medio aumenta la producción de progesterona y la actividad de la enzima P450<sub>scc</sub>. Con base en estas evidencias los autores sugieren que la anfetamina induce un aumento en la producción de progesterona vía el incremento de la actividad de esta enzima. Por ello, es posible que en los animales que se les administró la pCA aumentara la actividad la enzima P450<sub>scc</sub>, que cataliza la transformación de colesterol a pregnenolona, lo que se reflejó en el aumento inicial en la concentración de progesterona observada en los animales que recibieron la anfetamina.

La disminución en la concentración de testosterona observada en los animales tratados con la anfetamina no se acompañó de modificaciones en la secreción de LH. Es posible que la anfetamina actuara sobre la actividad de algunas enzimas involucradas en la transformación de progesterona a testosterona. Tsai y colaboradores (1997) observaron que al mantener *in vitro* células de Leydig de ratas y administrar al medio anfetamina aumenta la concentración de AMPc y disminuye la actividad de la enzima 3 $\beta$ -HED, P450<sub>c17</sub> y 17 $\beta$ -HED provocando a su vez la disminución en la concentración de testosterona.

La disminución en la concentración de testosterona observada en los animales que se trataron con la pCA posiblemente es el resultado de que la anfetamina actuó directamente en el testículo modificando la disponibilidad de LH por la célula de Leydig. Otra posibilidad es que al disminuir la concentración de serotonina en el hipotálamo se modificó una vía de comunicación entre esta región y el testículo. En relación a esto se ha mostrado que existe una vía neural entre el núcleo paraventricular (NPV) y el testículo, la cual modula la secreción de testosterona independientemente de la secreción de LH (**figura 17**). Además del NPV, el locus coeruleus forma parte de esta ruta neural de comunicación. La información neural viaja por el cordón espinal, se proyecta al plexo espermático y finalmente al nervio espermático superior que inerva al testículo (Gerendai y col., 2000; Selvage y col., 2006). Así mismo, se ha mostrado que la inervación espinal que llega al testículo regula la expresión de los receptores a LH y el flujo sanguíneo en el órgano, lo que se traduce en la modulación de la producción de testosterona (Selvage y Rivier, 2003; Lee y col., 2002).

Van de Kar y Lorens (1979) proponen que en la rata macho es posible que las fibras de serotonina originadas en el NDR estén involucradas en la regulación de la secreción de LH, mientras que las fibras del NMR pueden estar involucradas en la regulación del comportamiento sexual tanto como en la secreción de LH. Morello y colaboradores (1990) realizaron la estimulación o la lesión tanto del NMR como del NDR en el proestro de la rata hembra y analizaron los cambios en la concentración de LH y en la ovulación; estos autores observaron que la lesión en el NDR provocó una disminución en la concentración de LH y se inhibió la ovulación, mientras que la lesión en el NMR provocó un aumento en la concentración de LH. Los autores concluyen que el NMR y el NDR ejercen efectos opuestos sobre la oleada de LH y la ovulación en el proestro de la rata hembra. Es posible que estos efectos diferenciales se encuentren presentes en la regulación de la secreción de gonadotropinas en la rata macho, el hecho de que la concentración de gonadotropinas no se vió modificada puede deberse a que la pCA afecta en menor grado al NMR el cual esta involucrado con la regulación de la secreción de LH.



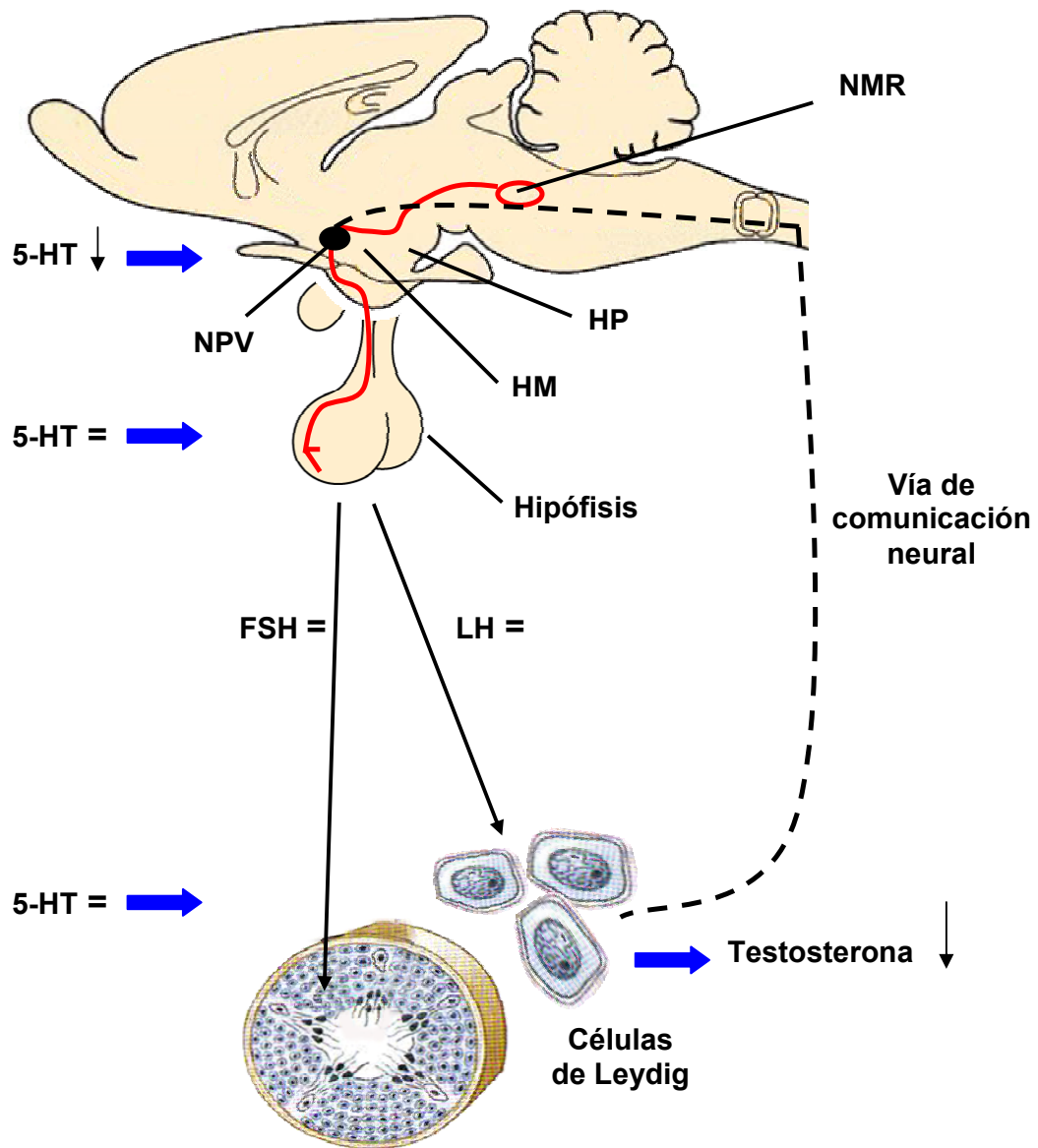


Figura 17. Vía de comunicación neural entre el núcleo paraventricular del hipotálamo y el testículo, que participa en la regulación de la secreción de testosterona independientemente de la LH. El círculo rojo representa al NMR y la línea roja a las áreas que inerva.

## **CONCLUSIONES**

Con base en los resultados obtenidos se puede concluir que:

- ❖ La pCA es un neurotóxico selectivo de las neuronas serotoninérgicas debido a que en los animales tratados con el fármaco no se modificó la concentración de catecolaminas.
  
- ❖ En la rata macho prepúber, la pCA no modifica al sistema serotoninérgico de la hipófisis.
  
- ❖ La inhibición del sistema serotoninérgico del hipotálamo altera una vía de comunicación neural que modula de forma estimulante la secreción de testosterona por el testículo en la rata macho prepúberal.
  
- ❖ La secreción de testosterona es modulada por un mecanismo que es independiente de la secreción de LH.

## BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Adams AL., Steiner AR. (1988). Puberty. *Oxford Reviews of Reproductive Biology* 18: 1-52.
- ❖ Alavi SH., Taghavi MM., Moallem SA. (2008). Evaluation of Effects of Metamphetamine Repeated Dosing on Proliferation and Apoptosis of Rat Germ Cells. *Systems Biology in Reproductive Medicine* 54: 85-91.
- ❖ Allard EK., Blanchard KT., Boekelheide K. (1996). Exogenous Stem Cell Factor (SCF) Compensates for Altered Endogenous SCF Expression in 2,5-Hexanedione-Induced Testicular Atrophy in Rats. *Biology of Reproduction* 55: 185-193.
- ❖ Amireault P., Dubé F. (2005). Serotonin and its Antidepressant- Sensitive Transport in Mouse Cumulus- Oocyte Complexes and Early Embryos. *Biology of Reproduction* 73: 358-365.
- ❖ Aragón MA., Ayala ME., Marín M., Avilés A., Matsumura PD., Dominguez R. (2005). Serotonergic System Blockage in the Prepubertal Rat Inhibits Spermatogenesis Development. *Reproduction* 129: 717-727.
- ❖ Azmitia CE. (2001). Modern Views on an Ancient Chemical: Serotonin Effects on Cell Proliferation, Maturation, and Apoptosis. *Brain Research Bulletin* 56: 413-424.
- ❖ Azmitia E., Gannon P. (1983). The Ultrastructural Localization of Serotonin Immunoreactivity in Myelinated and Unmyelinated Axons Within the Medial Forebrain Bundle of Rat and Monkey. *Neuroscience* 19: 2083-90.
- ❖ Battaner E., Rodriguez del Castillo A., Guerra M., Mas M. (1987). Gonadal Influences on Spinal Cord and Brain Monoamines in Male Rats. *Brain Research* 425: 391-394.
- ❖ Becú-Villalobos D., Lacau-Mengido IM. (1989). Developmental Changes in FSH secretion induced by 5-hydroxytryptophan, Naloxone and Haloperidol in Male and Female Rats. *Developmental Brain Research* 47: 181-186.
- ❖ Benmansour S., Brunswick JD. (1994). The MAO-B Inhibitor Deprenyl, but not the MAO-A Inhibitor Clorgyline, Potentiates the Neurotoxicity of p-Chloroamphetamine. *Brain Research* 650: 305-312.

- ❖ Berger UV., Grzanna R., Molliver ME. (1992). The Neurotoxic Effects of p-chloroamphetamine in Rat Brain are Blocked by Prior Depletion of Serotonin. ***Brain Research*** 24: 177-185.
- ❖ Campos MB., Vitale ML., Calandra RS., Chiocchio SR. (1990). Serotonergic Innervation of the Rat Testis. ***Journal of Reproduction & Fertility*** 88: 475-479.
- ❖ Carlsson C., Johansson BB. (1978). Blood-Brain Dysfunction After Amphetamine Administration in Rats. ***Acta Neuropathologica*** 41: 125-179.
- ❖ Carrasco AG., Van de Kar DL. (2003). Neuroendocrine Pharmacology of Stress. ***European Journal of Pharmacology*** 463: 235-272.
- ❖ Chen LY., Huang YL., Liu MY., Leu SF., Huang BM. (2003). Effects of Amphetamine on Steroidogenesis in MA-10 Mouse Leydig Tumor Cells. ***Life Sciences***, 72: 1983-1995.
- ❖ Cheng CY., Mruk DD. (2002). Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli-germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development. ***Physiological Reviews*** 82: 825-874.
- ❖ Clarke JI., Pompolo S. (2005). Synthesis and Secretion of GnRH. ***Animal Reproduction Science*** 88: 29-55.
- ❖ Collin O., Damber J-E., Berg A. (1996). 5-Hydroxytryptamine- a Local Regulator of Testicular Blood Flow and Vasomotion in Rats. ***Journal of Reproduction and Fertility*** 106: 17-22.
- ❖ Commins DL., Axt KJ., Vosmer G., Seiden LS. (1987). Endogenously Produced 5,6-Dihydroxytryptamine May Mediate the Neurotoxic Effects of para-chloroamphetamine, ***Brain Research*** 1: 253-261.
- ❖ Cordes SP. (2005). Molecular Genetics of the Early Development on Hindbrain Serotonergic Neurons. ***Clinical Genetics*** 68: 487-494.
- ❖ Creasy MD. (2002). Histopathology of the Male Reproductive System I: Techniques. Huntingdon Life Science Millstone, New Jersey.
- ❖ Crowley WR., Zelman FP. (1981). Neurotransmitter Systems. Anatomy and Pharmacology. En: Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior (ed.) N. Adler. Edit. Plenum Press, New York, USA pp. 65-85.

- ❖ Csaba ZS., Csernus V., Gerendai I. (1998). Intratesticular Serotonin Affects Steroidogenesis in the Rat Testis. ***Journal of Neuroendocrinology*** 10: 371-376.
- ❖ De Kretser DM., Kerr JB. (1994). The Cytology of the Testis. En: The Physiology of Reproduction. E. Knobil, JD. Neill, Eds. Raven Press, New York USA, 1621-1682.
- ❖ De Kretser DM. (2002). Chapter 1: Endocrinology of the Male Reproductive System. En: Endocrinology of Male Reproduction, Editor: McLachlan R.
- ❖ De Vito MJ., Wagner GC. (1989). Methamphetamine-Induced Neuronal Damage: a Possible Role for Free Radicals. ***Neuropharmacology*** 28: 1145-1150.
- ❖ Drucker CR. (2005). Fisiología Médica. Ed. El Manual Moderno S. A. de C. V., México, p. 581.
- ❖ Dufau ML., Tinajero JC., Fabbri A. (1993). Corticotropin-Releasing Factor: an Antireproductive Hormone of the Testis. ***The FASEB journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*** 7: 299-307.
- ❖ Dunn AJ., File SE. (1983). Cold Restraint Alters Dopamine Metabolism in Frontal Cortex, Nucleus Accumbens and Neostriatum. ***Physiology & behavior*** 31: 511-513.
- ❖ Ferrández A. (1983). Endocrine Maturation. ***Anales Españoles de Pediatría*** 18: 101-8.
- ❖ Finocchiaro LM., Arzt ES., Fernandez- Castelo S., Criscuolo M., Finkielman S., Nahmod VE. (1988). Serotonin and Melatonin Synthesis in Peripheral Blood Mononuclear Cells: Stimulation by Interferon-Gamma as Part of an Immunomodulatory Pathway. ***Journal of Interferon Research*** 8: 705- 16.
- ❖ Fiorica- Howells E., Maroteaux L., Gershon MD. (2000). Serotonin and 5-HT (2B) Receptor in the Development of Enteric Neurons. ***The Journal of Neuroscience*** 20: 294-305.

- ❖ Frankfurt, M., Azmitia, E. (1983). The Effect of Intracerebral Injection 5,7-Dihydroxytryptamine and 6-Hydroxydopamine on the Serotonin-Immunoreactive Cell Bodies and Fibers in the Adult Rat Hypothalamus. ***Brain Research***, 261: 91-99.
- ❖ Frankel Al., Ryan EL. (1981). Testicular Innervation is Necessary for the Response of Plasma Testosterone Levels to Acute Stress. ***Biology of Reproduction*** 24: 491-495.
- ❖ Frankel Al., Mock EJ., Chapman JC. (1984). Hypophysectomy and Hemivasectomy Can Inhibit the Testicular Hemicastration Response of the Mature Rat. ***Biology of Reproduction*** 30: 804-808.
- ❖ Frazer A., Hensler JG. (1999). Serotonin. En: GJ. Siegel, BW. Agranoff, RW. Albers y PB. Molinoff (eds). Basic neurochemistry. Raven Press, New York, pp. 283-308.
- ❖ Frungieri MB., Gonzalez-Calvar SI., Rubio M., Ozu M., Lustig L., Calandra SR. (1999). Serotonin in Golden Hamster Testes: Testicular Levels, Immunolocalization and Role during Sexual Development and Photoperiodic Regresion-Recrudescence Transition. ***Neuroendocrinology*** 69: 299-308.
- ❖ Fuller RW., Snoddy HD. (1974). Long-Term Effects of 4-chloroamphetamine on Brain 5-Hydroxyindole Metabolism in Rats. ***Neuropharmacology*** 13: 85-90.
- ❖ Fuller RW. (1978). Structure-Activity Relationships Among the Halogenated Amphetamines. ***Annals of New York Academic of Science*** 12;305: 147-159.
- ❖ Gál EM., Christiansen PA., Yunger LM. (1975). Effect of p-chloroamphetamine on Cerebral Tryptophan-5-Hydroxylase in *Vivo*: A Reexamination. ***Neuropharmacology*** 14: 31-39.
- ❖ Gerendai I., Toth IE., Boldogkoi Z., Medveczky I., Halasz B. (2000). Central Nervous System Structures Labelled from the Testis using the Transsynaptic viral Tracing Technique. ***Journal of Neuroendocrinology*** 12: 1087-1095.

- ❖ Gladkova AL. (1989). The Effect of Prolactin and Bromocriptine on Testicular Incretory Function. *Farmakologija i toksikologija* 52: 107-15.
- ❖ Gopal DN. (1999). Structure of Mammalian Epididymis. In: Joy K., Krishna A., Haldar C., (eds.) Comparative Endocrinology and Reproduction. New Delhi, India: Narosa Publishing House pp. 201-227.
- ❖ Gouveia EM., Franci CR. (2004). Involvement of Serotonin 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> Receptors and Nitric Oxidase Synthase in the medial Preoptic Area on Gonadotropin Secretion. *Brain Research Bulletin* 63: 243-251.
- ❖ Griswold MD. (1998). The Central Role of Sertoli Cells in Spermatogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 9: 411-416.
- ❖ Haring JH., Meyerson L., Hoffman TL. (1992). Effects of parachloroamphetamine Upon the Serotonergic Innervation of the Rat Hippocampus. *Brain Research* 5: 253-260.
- ❖ Harvey JA., McMaster SE., Fuller RW. (1977). Comparison Between the Neurotoxic and Serotonin-Depleting Effects of Various Halogenated Derivatives of Amphetamine in the Rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 202: 581-589.
- ❖ Hery M., Francois-Bellan AM., Hery F., Deprez P., Becquet D. (1997). Serotonin Directly Stimulates Luteinizing Hormone-releasing Hormone Release from GT1 Cells Via 5-HT<sub>7</sub> Receptors. *Endocrine* 7: 261-265.
- ❖ Hoyer D., Hannon JP., Martin GR. (2002). Molecular, Pharmacological and Functional Diversity of 5-HT Receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 71: 533-554.
- ❖ Hull EM., Muschamp JW., Sato S. (2004). Dopamine and Serotonin: Influences on Male Sexual Behavior. *Physiology & Behavior* 83: 291-307.
- ❖ Ibrahim MZ., Koshayan DS. (1981). The Mast Cells of the Mammalian Central Nervous System. VIII. Uptake of 35S and 3H-5-hydroxytryptophan. *Cell Tissue Research* 220: 529-538.

- ❖ Jennes L., Beckman WC., Stumpf WE., Grzanna R. (1982). Anatomical Relationships of Serotonergic and Noradrenalinergic Projections with the GnRH System and Hypothalamus. ***Experimental Brain Research*** 46: 331-338.
- ❖ Jennes L., Stumpf WE., Sheedy ME. (1985). Ultrastructural Characterization of Gonadotropin –Releasing Hormone (GnRH) Producing Neurons. ***The Journal of Comparative Neurology***, 232: 534-547.
- ❖ Johns MA., Azmitia EC., Krieger DT. (1982). Specific in Vitro Uptake of Serotonin by Cells in the Anterior Pituitary of the Rat. ***Endocrinology*** 110:754-60.
- ❖ Justo NS., Rossano LG., Szwarcfarb B., Rubio CM., Moguilevsky AJ. (1989). Effect of Serotonergic System on FSH Secretion in Male and Female Rats: Evidence for Stimulatory and Inhibitory Actions. ***Neuroendocrinology*** 50: 382-386.
- ❖ Keefe KA., Slicker EM., Zigmond MJ., Abercrombie ED. (1990). Environmental Stress Increases Extracellular Dopamine in Striatum of 6-hydroxydopamine-Treated Rats: in Vivo Microdialysis Studies. ***Brain Research*** 527: 350-353.
- ❖ Keefe KA., Sved AF., Zigmond MJ., Abercrombie ED. (1993). Stress-Induced Release in the Neostriatum: Evaluation of the Role of Action Potentials in Nigrostriatal Dopamine Neurons or Local Initiation by Endogenous Excitatory Amino Acids. ***Journal of Neurochemistry*** 61: 1943- 1952.
- ❖ Kim HS., Yumkham S., Choi JH., Son GH., Kim K., Ryu SH., Suh PG. (2006). Serotonin Stimulates GnRH Secretion Through the c-Src-PLC  $\gamma$ 1 Pathway in GT1-7 Hypothalamic Cells. ***Journal of Endocrinology*** 190: 581-591.
- ❖ Kiss, J., Halász, B. (1985). Demonstration of Serotonergic Axons Terminating on Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Neurons in the Preoptic Area of the Rat Using a Combination of Immunocytochemistry and High Resolution Autoradiography. ***Neuroscience*** 14: 69-78.



- ❖ Lechin F., Van der Dijs B., Hernández AG. (2006). Dorsal Raphe vs. Median Raphe Serotonergic Antagonism: Physiological, Behavioral, Neuroendocrinological, Neuropharmacological and Clinical Evidences: Relevant for Neuropharmacological Therapy. ***Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*** 30: 565-585.
- ❖ Lee S., Miselis R., Rivier C. (2002). Anatomical and Functional Evidence for a Neural Hypothalamic-Testicular Pathway that Is Independent of the Pituitary. ***Endocrinology*** 143: 4447-4454.
- ❖ Lee J., Richburg JH., Younkin SC., Boekelheide K. (1997). The Fas System is a Key Regulator of Germ Cell Apoptosis in the Testis. ***Endocrinology*** 138: 2081-2088.
- ❖ Leroy-Martin B., Bouhdiba M., Peyrat JP., Saint Pol P. (1989). Peripheral Effects of Prolactin in Reproductive Function. I. Male Reproductive Function. ***Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction*** 18: 39-45.
- ❖ Li H., Ren J., Dhabuwala CB., Shichi H. (1997). Immunotolerance Induced by Intratesticular Antigen Priming: Expression of TGF-beta, Fas and Fas Ligand. ***Ocular Immunology and Inflammation*** 5: 75-84.
- ❖ Li S., Pelletier G. (1995). Involvement of Serotonin in the Regulation on GnRH Gene Expression in the Male Rat Brain. ***Neuropeptides*** 29: 21-25.
- ❖ Lidov HG., Molliver ME. (1982). An Immunohistochemical Study of Serotonin Neuron Development in the Rat: Ascending Pathways and Terminal Fields. ***Brain Research Bulletin*** 8: 389-430.
- ❖ Mamounas LA., Molliver ME. (1988). Evidence for Serotonergic Projections to Neocortex: Axons from the Dorsal and Median Raphe Nuclei are Differentially Vulnerable to the Neurotoxin p-chloroamphetamine (PCA). ***Experimental Neurology*** 102: 23-36.

- ❖ Mamounas LA., Mullen CA., O'Hearn E., Molliver ME. (1991). Dual Serotonergic Projections to Forebrain in the Rat: Morphologically Distinct 5-HT Axon Terminals Exhibit Differential Vulnerability to Neurotoxic Amphetamine Derivatives. ***The Journal of Comparative Neurology*** 15: 314: 558-86.
- ❖ Manzana EP., Chen WA., Champney TH. (2001). Acute Melatonin and para-chloroamphetamine Interactions on Pineal Brain and Serum Serotonin Levels as well as Stress Hormone Levels. ***Brain Research*** 3: 127-137.
- ❖ Mathiau P., Bakalara N., Aubineau P. (1994). Tryptophan Hydroxylase Can Be Present in Mast Cells and Nerve Fibers of the Rat Dura Mater but Only Mast Cells Contain Serotonin. ***Neuroscience Letters*** 182: 133-137.
- ❖ Matsumoto AM., Karpas AE., Southworth MB., Dorsa DM., Bremner WJ. (1986). Evidence for Activation of the Central Nervous System-Pituitary Mechanism for Gonadotropin Secretion at the Time of Puberty in the Male Rat. ***Endocrinology*** 119: 362-369.
- ❖ McCann DU., Ricaurte AG. (2004). Amphetamine Neurotoxicity: Accomplishments and Remaining Challenges. ***Neuroscience and Biobehavioral Reviews*** 27: 821-826.
- ❖ Mickey JB., Ducci F., Hodgkinson AC., Langenecker AS., Goldman D., Zubieta JK. (2008). Monoamine Oxidase A Genotype Predicts Human Serotonin 1A Receptor Availability in Vivo. ***The Journal of Neuroscience*** 28: 11354-11359.
- ❖ Moguilevsky JA., Wuttke W. (2001). Changes in the Control of Gonadotropin Secretion by Neurotransmitters During Sexual Development in Rats. ***Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*** 109: 188-95.
- ❖ Morello H., Caligaris L., Haymal B., Taleisnik S. (1990). Further Evidence of an Opposite Effect of Dorsal and Median Raphe Nuclei on the Proestrous Surge of LH. ***Acta Endocrinologica*** 122: 696-702.
- ❖ Negro-Vilar A., Ojeda SR., McCann SM. (1973). Evidence for Changes in Sensitivity to Testosterone Negative Feedback on Gonadotropin Release During Sexual Development in the Male Rat. ***Endocrinology*** 93: 729-735.

- ❖ Nunez EA., Gershon MD., Silverman AJ. (1981). Uptake of 5-Hydroxytryptamine by Gonadotrophs of the Rat's Pituitary: a Combined Immunocytochemical Radioautographic Analysis. ***The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*** 29: 1336-46.
- ❖ Odell DW. (1990). Sexual Maturation in the Rat. En: Control of the Onset of Puberty. Grumbachy MM., Sizonenko PC., Aubert M., (Ed.) Williams & Wilkins. London, pp. 183-210.
- ❖ O'Eran E., Battaglia G., De Souza EB., Kuhar MJ., Molliver ME. (1988). Methylenedioxyamphetamine (MDA) and Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) Cause Selective Ablation of Serotonergic Axon Terminals in Forebrain: Immunocytochemical Evidence for Neurotoxicity. ***The Journal of Neuroscience*** 8: 2788-2803.
- ❖ Ojeda RS., Urbanski FH. (1994). Puberty in the Rat. En: The Physiology of Reproduction vol. 2 chapter 40, Raven Press Ltd., New York, pp. 363-404.
- ❖ Orth JM., Gunsalus GL., Lamperti AA. (1988). Evidence from Sertoli Cell-Depleted Rats Indicates that Spermatid Number in Adults Depends on Numbers of Sertoli Cells Produced During Perinatal Development. ***Endocrinology*** 122: 787-794.
- ❖ O'Shaughnessy PJ., Morris ID., Huhtaniemi I., Baker PJ., Abel MH. (2008). Role of Androgen and Gonadotrophins in the Development and Function of the Sertoli Cells and Leydig Cells: Data from Mutant and Genetically Modified Mice. ***Molecular and Cellular Endocrinology*** 10: 2-8.
- ❖ Pareek TK., Joshi AR., Sanyal A., Dighe RR. (2007). Insights Into Male Germ Cell Apoptosis Due to Depletion of Gonadotropins Caused by GnRH Antagonists. ***Apoptosis*** 12: 1085-1100.
- ❖ Paris JM., Lorens SA., Van de Kar LD., Urban JH., Richardson-Morton KD., Bethea CL. (1987). A Comparison of Acute Stress Paradigms: Hormonal Responses and Hypothalamic Serotonin. ***Physiology & Behavior*** 39: 33-43.

- ❖ Parli CJ., Schmidt B. (1975). Metabolism of 4-chloroamphetamine to 3-chloro-4-Hydroxyamphetamine in Rat: Evidence for an *in Vivo* “NIH Shift” of Chlorine. ***Research communications in chemical pathology and pharmacology*** 10: 601-604.
- ❖ Paxinos G., Watson C. (1982). The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press Australia.
- ❖ Payette RF., Gershon MD., Nunez EA. (1985). Serotonergic Elements of the Mammalian Pituitary. ***Endocrinology*** 116: 1933- 1941.
- ❖ Quirk PL., Siegel RE. (2005). The serotonin Type 3<sup>a</sup> Receptor Facilitates Luteinizing Hormone Release and LH Beta Promoter Activity in Immortalized Pituitary Gonadotropes. ***Endocrine*** 27: 37-43.
- ❖ Ramaley JA. (1979). Development of Gonadotropin Regulation in the Prepubertal Mammal. *Biology of Reproduction* 20: 1-31.
- ❖ Raven HP., Johnson BG., Losos BJ., Singer RS. (2005). *Biology*. Ed. McGraw-Hill, 7<sup>a</sup> ed., New York, pp: 1250.
- ❖ Reyes CP. (1995). *Bioestadística Aplicada: Agronomía, Biología, Química*, ed. Trillas, México, 116-118, pp. 216.
- ❖ Rodin DA., Lalloz MR., Clayton RN. (1989). Gonadotropin-Releasing Hormone Regulates Follicle-Stimulating Hormone Beta-Subunit Gene Expression in the Male Rat. ***Endocrinology*** 125: 1282-1889.
- ❖ Ross HM., Kaye IG., Pawlina W. (2006). *Histología, Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular*. Ed. Médica Panamericana, 4<sup>a</sup> ed., Buenos Aires Argentina, pp. 864.
- ❖ Saavedra JM., Palkovits M., Kiser JS., Brownstein M., Zivin JA. (1975). Distribution of Biogenic Amines and Related Enzymes in the Rat Pituitary Gland. ***Journal of Neurochemistry*** 25: 257-60.
- ❖ Saito TR., Saito M., Arai T., Aoki-Komori S., Taniguchi K., Takahashi KW. (1999). P-Chloroamphetamine (PCA) Suppresses Ingestive Behavior in Male Rats. ***Experimental Animals*** 48: 263-267.

- ❖ Saland LC., Samora A., Sánchez P., Chávez G. (1993). Immunocytochemical Studies of Tryptophan Hydroxylase, Tyrosine Hydroxylase, and Serotonin Innervation in the Aging Rat Neurointermediate Pituitary. ***Experimental Neurology*** 121: 119-126.
- ❖ Saldívar-González A., Arias C., Mondragón-Ceballos R. (1997). Transient Emotional Changes Elicited by Intraperitoneal Saline Injection: Effect of Naloxone and Flumazenil. ***Pharmacology Biochemistry and Behavior*** 56: 211–220.
- ❖ Sanders-Bush E., Bushing J., Sulser F. (1972). Long-Term Effects of p-chloroamphetamine on Tryptophan Hydroxylase Activity and on the Levels of 5-Hydroxytryptamine and 5-Hydroxyindoleacetic Acid in Brain. ***European Journal of Pharmacology*** 20: 385-388.
- ❖ Sanders-Bush E., Bushing JA., Sulser F. (1975). Long-Term Effects of p-Chloroamphetamine and Related Drugs on Central Serotonergic Mechanisms. ***The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*** 192: 33-41.
- ❖ Sapolsky RM., Romero LM., Munck AU. (2000). How do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive Stimulatory, and Preparative Actions. ***Endocrine Reviews*** 21: 55-89.
- ❖ Saura J., Bleuel Z., Ulrich J., Mendelowitsch A., Chen K., Shih JC., Malherbe P., Da Prada M., Richards JG. (1996). Molecular Neuroanatomy of Human Monoamine Oxidase A and B Revealed by Quantitative Enzyme Radioautography and in Situ Hybridization Histochemistry. ***Neuroscience*** 70: 755-774.
- ❖ Selvage JD., Rivier C. (2003). Importance of the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus as a Component of a Neural Pathway Between the Brain and the Testes that Modulates Testosterone Secretion Independently of the Pituitary. ***Endocrinology*** 144: 594-598.
- ❖ Selvage JD., Parsons L., Rivier C. (2006). Role Played by Brainstem Neurons in Regulating Testosterone Secretion Via a Direct Neural Pathway Between the Hypothalamus and the Testes. ***Endocrinology*** 147: 3070-3075.

- ❖ Senovilla L., García-Sancho J., Villalobos C. (2005). Changes in Expression of Hypothalamic Releasing Hormone Receptors in Individual Rat Anterior Pituitary Cells During Maturation, Puberty and Senescence. ***Endocrinology*** 146: 4627-4634.
- ❖ Setchell PB., Maddocks S., Brooks DE. (1994). Anatomy, Vasculature, Innervation and Fluids of the Male Reproductive Tract. En: *Physiology of Reproduction*. Vol I pp 1063-1175.
- ❖ Sherman AO., Gál EM. (1976). Mass-Spectrographic Evidence of the Conversion of p-Chloroamphetamine to 3,4-Dimethoxyamphetamine. ***Psychopharmacology Communication*** 2: 421-427.
- ❖ Sherman A., Gál EM., Fuller RW., Malloy BB. (1975). Effects of Intraventricular p-Chloroamphetamine and its Analogues on Cerebral 5-HT. ***Neuropharmacology*** 14: 733-737.
- ❖ Shih JC., Chen K., Ridd MJ. (1999). Monoamine Oxidase: from Genes to Behavior. ***Annual Review of Neuroscience*** 22: 197-217.
- ❖ Shishkina GT., Borodin PM. (1989). Involvement of Brain Serotonin in Regulation of Sexual Maturity in Male Rats. ***Neuroscience and Behavioral Physiology*** 19: 145-149.
- ❖ Shishkina GT., Dygalo NN. (2000). Role of the Serotonergic System in the Acceleration of Sexual Maturation in Wild Norway Rats Selected for Reduced Aggressiveness Toward Humans. ***Comparative Biochemistry and Physiology Part C*** 125: 45-51.
- ❖ Smith MC., Reynard MA. (1992). *Textbook of Pharmacology*, ed. WB Saunders Company, USA, pp 1213.
- ❖ Sofikitis N., Giotitsas N., Tsounapi P., Baltogiannis D., Giannakis D., Pardalidis N. (2008). Hormonal Regulation of Spermatogenesis and Spermogenesis. ***Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*** 109: 323-330.
- ❖ Soghomonian JJ., Beradet A., Descarries L. (1988). Ultrastructural Relationships of Central Serotonin Neurons. En: NN Osborne y M Hamon (eds.). *Neuronal Serotonin*. John Wiley & Sons, New York, pp 57-92.

- ❖ Sprague EJ., Jonhson PM., Schmidt JC., Nichols ED. (1996). Studies on the Mechanism of p-Chloroamphetamine Neurotoxicity. ***Biochemical Pharmacology*** 52: 1271-1277.
- ❖ Stafford SA., Bowery NG., Tang K., Coote JH. (2006). Activation by p-Chloroamphetamine of the Spinal Ejaculatory Pattern Generator in Anaesthetized Male Rats. ***Neuroscience*** 140: 1031-1040.
- ❖ Stocco DM., McPhaul MJ. (2006). Physiology of Testicular Steroidogenesis. Capítulo 20 En: Physiology of Reproduction. Ed. Neill JD. Third Edition, Academic Press, New York, pp- 977-1016.
- ❖ Takeuchi Y. (1988). Distribution of Serotonin in the Mammalian Brain. En: Neuronal Serotonin. (Eds.) M. N. Osborne, M. Hamon, John Wiley & Sons, New York, USA, pp. 25-56.
- ❖ Tinajero JC., Fabri A., Dufau ML. (1992). Regulation of Corticotropin-Releasing Factor Secretion from Leydig Cells by Serotonin. ***Endocrinology*** 130: 1780-1788.
- ❖ Tinajero JC, Fabbri A., Ciocca RD., Dufau LM. (1993). Serotonin Secretion from Rat Leydig Cells. ***Endocrinology*** 6: 3026-3029.
- ❖ Tobin VA., Millar RP., Canny BJ. (1997). Testosterone Acts Directly at the Pituitary to Regulate Gonadotropin-Releasing Hormone-Induced Calcium Signals in Male Rat Gonadotropes. ***Endocrinology*** 138: 3314-3319.
- ❖ Tresguerres JFA. (1999). Fisiología Humana, Ed. Mc Graw-Hill, Madrid España, pp. 1033-1047.
- ❖ Tsai SC., Chen JJ., Chiao YC., Lu CC., Lin H., Yeh JY., Lo MJ., Kau MM., Wang SW., Wang PS. (1997). The Role of Cyclic AMP Production, Calcium Channel Activation and Enzyme Activities in the Inhibition of Testosterone Secretion by Amphetamine. ***British Journal of Pharmacology*** 122: 949-955.
- ❖ Tsai SC., Chiao YC., Lu CC., Doong ML., Chen YH., Shih HC., Liaw SW., Wang PS. (1996). Inhibition by Amphetamine of Testosterone Secretion Through a Mechanism Involving an Increase of Cyclic AMP Production in Rat Testis. ***British Journal of Pharmacology*** 118: 984-988.

- ❖ Utrilla P. (2000). Pharmacological Aspect of Amphetamines. ***Ars Pharmaceutica*** 41: 67-77.
- ❖ Van de Kar LD., Blair ML. (1999). Forebrain Pathways Mediating Stress Induced Hormone Secretion. ***Frontiers in Neuroendocrinology*** 20: 1-48.
- ❖ Van de Kar LD., Lorens SA. (1979). Differential Serotonergic Innervation of Individual Hypothalamic Nuclei and Other Forebrain Regions by the Dorsal and Median Midbrain Raphe Nuclei. ***Brain Research*** 162: 45-54.
- ❖ Vanhatalo S., Soynilla S., Kaartinen K., Bäck N. (1995). Colocalization of Dopamine and Serotonin in the Rat Pituitary Gland and in the Nuclei Innervating It. ***Brain Research*** 16: 275-284.
- ❖ Wada K., Hu L., Mores N., Navarro EC., Fuda H., Krsmanovic ZL., Catt JK. (2006). Serotonin (5-HT) Receptor Subtypes Mediate Specific Modes of 5-HT-Induced Signaling and Regulation of Neurosecretion in Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. ***Molecular Endocrinology*** 20: 125-135.
- ❖ Wagner SM., Wajner MS., Maia AL. (2008). The Role of Thyroid Hormone in Testicular Development and Function. ***Journal of Endocrinology*** 199: 351-365.
- ❖ Walther DJ., Bader M. (1999). Serotonin Synthesis in Murine Embryonic Stem Cells. ***Brain Research Molecular Brain Research*** 68: 55-63.
- ❖ Walther DJ., Bader M. (2003). A Unique Central Tryptophan Hydroxylase Isoform. ***Biochemical Pharmacology*** 66: 1673-1680.
- ❖ Walther DJ., Peter JU., Bashamakh S., Hörtnagl H., Voits M., Fink H., Bader M. (2003). Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan hydroxylase Isoform. ***Science*** 299: 76.
- ❖ Weber LJ., Horita A. (1965). A Study of 5-hydroxytryptamine Formation from L-Tryptophan in the Brain and Other Tissues. ***Biochemical Pharmacology*** 14: 1141-9.
- ❖ Wray S. (2001). Development of Luteinizing Hormone Releasing Hormone Neurons. ***Journal of Endocrinology*** 13: 3-11.
- ❖ Wray S. (2002). Molecular Mechanisms for Migration of Placodally Derived GnRH Neurons. ***Chemical Senses*** 27: 569-572.



- ❖ Yamamoto Y., Yamamoto K., Hayase T., Abiru H., Shiota K., Mori C. (2002). Methamphetamine Induces Apoptosis in Seminiferous Tubules in Male Mice Testis. ***Toxicology and Applied Pharmacology*** 178: 155-160.
- ❖ Yan HH., Mruk DD., Cheng CY. (2008). Junction Restructuring and Spermatogenesis: The Biology, Regulation, and Implication in Male Contraceptive Development. ***Current Topics in Development Biology*** 80: 57-92.
- ❖ Yen SC., Jaffe B., Barbieri L. (2001), *Endocrinología de la Reproducción*, 4ª ed. Ed. Médica Panamericana, México, pp 912.
- ❖ Yonezawa A., Yoshizumi M., Ebiko M., Iwanaga T., Kimura Y., Saturada S., (2005). Evidence for an Involvement of Peripheral Serotonin in p-Chloroamphetamine-Induced Ejaculation of Rats. ***Pharmacology, Biochemistry and Behavior*** 82: 744-750.