



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Efecto de la administración de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina en el *locus coeruleus* o por vía sistémica sobre el inicio de la pubertad y la primera ovulación. La rata hembra como modelo de estudio.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

MARTHA PATRICIA RAYON ESPAÑA

DIRECTORA DE TESIS: DRA. JUANA MONROY MORENO

Financiado por: DGAPA-PAPIIT IA201012



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 administración de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina en el *locus coeruleus* o por vía sistémica sobre el inicio de la pubertad y la primera ovulación. La rata hembra como modelo de estudio.

Tesis presentada por: Martha Patricia Rayón España

Directora de tesis: Dra. Juana Monroy Moreno

Realizada en el Laboratorio de Neuroquímica de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza, UNAM.

El presente estudio fue financiado por **DGAPA-PAPIIT IA201012**



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

"ZARAGOZA"

DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
P R E S E N T E.**

Comunico a usted que la alumna **RAYON ESPAÑA MARTHA PATRICIA**, con número de cuenta **409022243**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **18** del mes de **febrero** de 2014 a las **10:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE	DRA. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN	
VOCAL	DRA. JUANA MONROY MORENO	
SECRETARIO	BIÓL. CARLOS MARTÍNEZ MONTOYA	
SUPLENTE	M. en I.B.S.H. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ	
SUPLENTE	DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR	

El título de la tesis que presenta es: **EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE N-2-CLOROETIL-N-ETIL-2-BROMOBENZILAMINA EN EL LOCUS COERULEUS O POR VÍA SISTÉMICA SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD Y LA PRIMERA OVULACIÓN. LA RATA HEMBRA COMO MODELO DE ESTUDIO.**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D. F., a **03** de **enero** de 2013

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
DIRECTOR
ZARAGOZA
DIRECCIÓN

RECIBI
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO
M. en C. **ARMANDO CERVANTES SANDOVAL**
JEFE DE CARRERA

DEDICATORIAS

A mi mamá, por todo tu apoyo, paciencia, tus palabras de aliento, tu gran esfuerzo y sacrificio, pero sobre todo tu gran amor para que pudiera llegar hasta aquí. Eres mi fuerza, mi motor y motivo que necesito para llegar a todas y cada una de mis metas.

A mi papá, aunque ya no estás en este mundo terrenal te estaré eternamente agradecida por todo tu amor, apoyo, confianza y educación que siempre me brindaste. Estoy segura que siempre me acompañas y que estás compartiendo conmigo este momento.

A mi hermana, gracias por estar conmigo en todo momento, por tu apoyo, tus consejos, tus palabras, pero sobre todo, gracias por ser mi mejor amiga.

A Irving, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas tanto en lo académico como en lo personal, por tu inmenso apoyo, tu amor, tus consejos, tus regaños, por ser un gran motor, por todos los momentos dentro y fuera de la facultad, pero sobre todo por ayudarme a crecer como persona.

A toda mi familia, en especial **a mis tías** por todo su apoyo, confianza, su gran cariño y paciencia, ya que en ocasiones he tenido que sacrificar momentos a su lado para poder concluir este trabajo.

A mis amigas y compañeras; Norma, por ayudarme en la elaboración de este trabajo, por ser mi cómplice y por todos los momentos que de recordarlos seguiríamos riendo igual; a **Laura**, por todo tu apoyo para que concluyera este trabajo y por tus palabras de aliento; pero sobre todo gracias a las dos por su amistad dentro y fuera del laboratorio.

A mis **amigos del Museo de la Luz** y de la **FES Zaragoza**, especialmente a **Óscar**, por su apoyo, por sus constantes palabras de aliento, por todos los buenos y malos momentos y por hacer que el camino para poder llegar hasta aquí fuera más agradable, saben que el apoyo es reciproco.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Juana Monroy Moreno por todo su apoyo, confianza y ayuda brindada para la elaboración este trabajo.

A los miembros del jurado, por todas sus aportaciones durante la revisión de este trabajo.

Dra. María Elena Cruz Beltrán
Dra. Juana Monroy Moreno
Biól. Carlos Martínez Montoya
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez
Dra. María Elena Ayala Escobar

Al Laboratorio de Hormona Esteroide del Instituto Nacional de la Nutrición “Salvador Zubirán” y al Biól. Roberto Chavira por su colaboración en la realización de la técnica de radioinmunoanálisis.

. A Sra. Dulce María por su colaboración técnica en e la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción.

Al personal del Bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado a los animales utilizados durante este estudio.

ÍNDICE

RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	1
Hipotálamo y la hormona liberadora de las gonadotropinas.....	4
Eje hipotálamo- hipófisis- ovario	5
Regulación de la hormona liberadora de las gonadotropinas	12
Sistema noradrenérgico.....	12
El núcleo <i>locus coeruleus</i> en la regulación de la secreción de las gonadotropinas ..	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
HIPÓTESIS	21
OBJETIVO GENERAL	22
OBJETIVOS PARTICULARES	22
MATERIALES Y MÉTODO	23
RESULTADOS	30
1. Efectos de la administración sistémica del neurotóxico DSP ₄ sobre las edades de apertura y primer estro vaginal y la primera ovulación.	30
2. Efectos de la lesión química unilateral del LC sobre las edades de apertura y primer estro vaginal y la primera ovulación.....	38
DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	56

RESUMEN

La fuente principal de noradrenalina del hipotálamo se origina del núcleo *locus coeruleus* (LC), participa en la regulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas en el animal adulto; sin embargo, su participación no es clara en el animal juvenil. Por ello, en el presente estudio se analizaron los efectos de la administración del neurotóxico noradrenergico el N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄) de forma localizada en el LC (10µg/1µL) o por vía sistémica (50 mg/kg) en la etapa juvenil (30 días de edad) sobre el inicio de la pubertad, la primera ovulación, la concentración sérica de hormonas esteroides ováricas (progesterona, testosterona y 17β-estradiol) y en los cambios en la concentración de noradrenalina y del 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) en el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios.

En los animales que se les inyectó por vía sistémica DSP₄ independientemente del régimen de tratamiento (una o tres dosis) se retrasó la edad de la apertura vaginal (Una dosis: 38.0 ± 1.01 vs. 34.6 ± 0.6; Tres dosis: 41.3 ± 1.1 vs. 36.3 ± 1.3, p<0.05) y del primer estro vaginal (Una dosis: 40.5 ± 1.1 vs. 36.4 ± 0.6; Tres dosis: 42.5 ± 0.9 vs. 38.8 ± 1.1, p<0.05) respecto al vehículo. El número de ovocitos liberados fue menor en los animales que recibieron DSP₄ por tres días consecutivos (4.9 ± 0.8 vs. 6.8 ± 0.8, p<0.05).

En los animales que recibieron DSP₄ por vía sistémica disminuyó la concentración de progesterona y 17β-estradiol.

En el hipotálamo anterior de los animales que recibieron tres dosis de DSP₄, aumentó la concentración de MHPG y la relación [MHPG]/[NA]. En el hipotálamo medio de los animales que recibieron una sola administración de DSP₄ disminuyó la concentración de NA, del MHPG y la relación [MHPG]/[NA] y en la hipófisis NA fue mayor.

En los animales con lesión izquierda (LC-I) o derecha (LC-D), se retrasó la edad de la apertura (LC-I: 43.6 ± 1.5 vs. 38.7 ± 0.6; LC-D: 44.4 ± 1.3 vs. 38.4 ± 0.7, p<0.05) y del primer estro vaginal (LC-I: 44.0 ± 1.1 vs. 39.7 ± 0.6; LC-D: 45.9 ± 1.6 vs. 39.9 ± 0.9, p<0.05) y el número de ovocitos liberados (LC-I: 4.6 ± 0.5 vs. 6.4 ± 0.7; LC-D: 4.5 ± 0.2 vs. 7.0 ± 1.3,

p<0.05) y la concentración de progesterona y 17 β -estradiol. En el hipotálamo medio disminuyó la concentración de NA y la relación [MHPG]/[NA] fue mayor. En la hipófisis disminuyó la concentración de NA y del MHPG.

Los resultados de este estudio permiten sugerir que el sistema noradrenérgico que se origina en el núcleo *locus coeruleus* participa de manera estimulante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad, la primera ovulación y la secreción de hormonas esteroides.

INTRODUCCIÓN

La pubertad es la etapa biológica que une la inmadurez con la madurez sexual, durante la cual se presentan cambios morfológicos y fisiológicos en el individuo (Calzada y colaboradores, 2001). Dichos procesos son resultado de cambios neuroendocrinos en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, los que se inician desde la etapa embrionaria y que culminan con la pubertad (López y Charro, 1994).

Considerando parámetros morfológicos y los eventos que se producen en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, Ojeda y Urbanski (1988, 1994) dividen el desarrollo previo a la pubertad en cuatro etapas: neonatal, del nacimiento hasta el día 7 de edad; infantil, del día 8 al día 21; juvenil, del 22 y termina alrededor del día 30 y peripuberal, del 31 al día que presentan la primera ovulación.

En la hembra de los roedores una de las señales externas que es un indicador del inicio de la pubertad es el rompimiento del epitelio que cubre la vagina (apertura vaginal), la cual se produce en respuesta a la estimulación estrogénica; este evento se presenta entre el día 35 y 38 de edad. La citología vaginal en este momento presenta características de proestro o estro y la primera ovulación se presenta alrededor de las 24 o 48 horas posteriores a la canalización vaginal (Becú y Lacau, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994).

En la rata hembra, en los días previos a la primera ovulación ocurren cambios morfológicos en el ovario y el útero. Con base en estudios histológicos se muestra que la actividad del ovario se inicia aproximadamente ocho días antes de la primera ovulación y se manifiesta por el crecimiento folicular y aumento del porcentaje de folículos grandes que son potencialmente capaces de producir estrógenos y por la hipertrofia de la teca interna. Por otra parte, el peso del útero aumenta paralelamente con la secreción de estrógenos por el ovario. El estroma del endometrio y del miometrio se hipertrofia, el epitelio luminal aumenta tres veces su tamaño y el peso del útero ha alcanzado su tamaño máximo para el día que precede la primera ovulación (Arata de Bellabarba y colaboradores, 1981).

Las funciones del ovario, secreción de hormonas y la ovulación, son reguladas por la interrelación de una serie de mecanismos neuroendocrinos, que se llevan a cabo en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Fink, 1988). En el hipotálamo, se encuentran las neuronas productoras de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que es liberada de forma pulsátil a los vasos porta de la adenohipófisis. En ésta, se encuentran los gonadotropos, que son las células productoras las gonadotropinas; hormona estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH) que son liberadas al torrente sanguíneo y transportadas al ovario en donde se unen con receptores específicos de alta afinidad y ejercen dos funciones, estimular la producción de los gametos (óvulos) y de esteroides sexuales (progesterona [P₄], testosterona [T] y estrógenos [E₂]) (Mansilla, 2000; Halvorson y Chin, 2001; Redondo y Viadero, 2008).

Ojeda y Urbanski (1994) clasificaron en cinco etapas la cascada de eventos que se presentan en los días cercanos a la pubertad y a la primera ovulación:

Anestro

Las hembras presentan en los ovarios folículos grandes, el útero es pequeño, no hay presencia de fluido intrauterino y la vagina está cerrada. Se producen los cambios diurnos en la liberación de LH (aumentos bruscos en la concentración plasmática de esta hormona, los “picos” presentan una mayor amplitud en la tarde). En el ovario disminuye el número de receptores a la GnRH y se incrementan los de la LH y los β - adrenérgicos (Ojeda y Urbanski, 1994; Ojeda y Skinner, 2006).

Proestro temprano

En esta etapa se acelera el crecimiento uterino, hay presencia y acumulación de fluido intraluminal, como resultado de la acción de los estrógenos y la vagina permanece cerrada (Castro-Vázquez y Ojeda, 1976; Ojeda y Skinner, 2006). En los ovarios se observan folículos en crecimiento, el número de receptores a LH y en el plasma la concentración de FSH y LH aumentan gradualmente (Advis y colaboradores, 1978; Ojeda y colaboradores, 1990). Esta etapa se divide en proestro temprano-1 y proestro temprano-2, tomando como criterios de la cantidad de fluido intraluminal y el peso del útero (Ojeda y Skinner, 2006).

Proestro tardío

Corresponde al primer proestro. Aumenta el volumen del útero debido a que se encuentra lleno de líquido, el peso y la acumulación de fluido llegan a su máximo y en la mayoría de las hembras la vagina permanece cerrada (Castro-Vázquez y Ojeda, 1976; Ojeda y Skinner, 2006). En los ovarios se observan folículos preovulatorios, el número de receptores a la FSH es mayor en relación con el anestro y los de la LH continúan en aumento (Ojeda y colaboradores, 1983, Ojeda y Skinner, 2006).

Cuando la concentración de estrógenos es similar a la que se presenta en la tarde del proestro del animal adulto, aumenta la liberación de la GnRH y como consecuencia la secreción preovulatoria de las gonadotropinas, las que al actuar en el ovario inducen el crecimiento y la maduración del folículo que culmina con la primera ovulación (Ojeda y Urbanski, 1994).

Estro

Esta etapa corresponde a la primera ovulación, el fluido uterino ya no está presente, en los ovarios se observan cuerpos lúteos recién formados y se presenta apertura vaginal, la citología vaginal muestra predominancia de células cornificadas sin núcleo (Ojeda y Skinner, 2006). La concentración de los estrógenos, FSH y LH en plasma son menores respecto a la tarde del proestro y la de progesterona es mayor (Ojeda y Urbanski, 1988; Ojeda y colaboradores, 1990).

Primer diestro

La citología vaginal se caracteriza por la predominancia de leucocitos, además de la presencia de cuerpos lúteos maduros en el ovario (Ojeda y Skinner, 2006). Las concentraciones de estrógenos, FSH y LH se mantienen bajas en comparación a la tarde del proestro y la de progesterona disminuye ligeramente (Ojeda y colaboradores, 1990).

Hipotálamo y la hormona liberadora de las gonadotropinas

El hipotálamo es el centro integrador esencial en la supervivencia de un organismo y la especie. Cada parte del sistema nervioso central (SNC) comunica con el hipotálamo y está sujeto a su influencia. Además, el hipotálamo comunica con los órganos periféricos mediante señales endocrinas y responde a sus estímulos aferentes.

El hipotálamo se localiza en la base del diencefalo, por debajo del tálamo, juntos forman las paredes laterales del tercer ventrículo. El quiasma óptico se localiza en la parte anterior al hipotálamo y los cuerpos mamilares en la posterior. Las neuronas hipotalámicas se forman a partir de la porción ventral del diencefalo embrionario, predominantemente durante el segundo o tercer mes de la gestación humana y durante la segunda semana de la embriogénesis de los roedores (Yen, 2001; Sanders, 2004).

En el hipotálamo, las neuronas productoras de la GnRH forman redes laxas dispersas, son bipolares y de forma fusiforme con axones finos que se proyectan predominantemente a la eminencia media (EM) y al tallo infundibular, lugar donde se libera dicha hormona (Yen, 2001; Casabiell, 2006).

En la rata, las neuronas GnRHérgicas se localizan en el área preóptica medial, la banda diagonal de Broca, el órgano vasculoso de la lámina terminal, las áreas septales y el hipotálamo anterior (Kronenberg y colaboradores, 2009). La GnRH es un decapeptido, que se forma de un péptido precursor (pre-pro-GnRH) de aproximadamente 10,000 daltones. El precursor consta de tres regiones principales: la secuencia señal de 23 residuos de aminoácidos, que participa en la internalización del precursor a la luz del retículo, seguido por la secuencia que da origen a la GnRH, y separado por un par de aminoácidos básicos se encuentran un péptido de 56 aminoácidos, denominado "péptido asociado a la GnRH" (GAP). El precursor de la GnRH se corta por acción enzimática en el retículo endoplásmico para dar origen a la pro-GnRH, que se transfiere al aparato de Golgi donde se produce la ruptura proteolítica de la cadena. Posteriormente, la GnRH y el GAP se almacenan en vesículas de secreción. La GnRH se transporta por el axón, hasta la terminal nerviosa que llega a la EM y se libera al sistema de vasos portal hipotalámico-hipofisario (Busby y colaboradores, 1987; Charli y colaboradores, 1991; Libertun, 2002).

La GnRH se fija a su receptor y en la adenohipófisis estimula la síntesis y liberación de LH y FSH. El receptor de la GnRH está acoplado a la proteína G y tiene siete dominios transmembranales, está distribuido inicialmente de manera uniforme sobre la superficie de la célula, pero el acoplamiento con la GnRH induce su dimerización, el número de receptores es variable y está directamente relacionado con la capacidad de los gonadotropos para secretar las gonadotropinas (Yen, 2001; Kronenberg y colaboradores, 2009).

La LH y FSH son glucoproteínas conformadas por dos cadenas polipeptídicas, alfa (α) y beta (β), unidas en forma no covalente. La cadena α es idéntica en ambas gonadotropinas y difieren en la cadena β , la cual les confiere la especificidad biológica (Kronenberg y colaboradores, 2009; Vélez y colaboradores, 2004; Jácome, 2005).

Eje hipotálamo- hipófisis- ovario

Las gonadotropinas en el ovario se unen a sus receptores específicos y estimulan el crecimiento y diferenciación del folículo y como consecuencia la ovulación, así como la esteroidogénesis (Planas, 2005).

Foliculogénesis

En el ovario, los folículos primordiales se localizan en el estroma de la corteza justo debajo de la túnica albugínea. El ovocito está rodeado por una capa de células foliculares aplanadas y posee un núcleo provisto de eucromatina dispersa y un nucléolo grande. El citoplasma del ovocito, contiene un cuerpo de Balbiani (acumulación localizada de vesículas y membranas del aparato de Golgi, retículo endoplasmático, abundantes mitocondrias y lisosomas) (Ross y Pawlina, 2008).

Conforme el folículo primordial se convierte en un folículo en crecimiento, las células aplanadas que rodean al ovocito proliferan y se tornan cuboidales, lo que constituye la capa de la granulosa, convirtiéndose en el folículo primario (Ross y Pawlina, 2008; Fábregues y Balasch, 2009).

Conforme las células de la granulosa proliferan, las células del estroma se transforman en la teca folicular, que se organiza en una capa interna de células secretoras, (teca interna) y una cápsula fibrosa externa (teca externa). La teca interna está organizada en una capa celular con disposición circular en toda la superficie del folículo y recibe una red extensa de vasos pequeños. La teca externa contiene células musculares lisas, haces de fibras de colágeno y vasos sanguíneos que se dirigen hacia la teca interna. Entre las células de la granulosa y de la teca se localiza la lámina basal, que representa un límite bien definido entre estas capas (Ross y Pawlina, 2008; Sadler, 2008).

Cuando al folículo lo forman de 6 a 12 capas de células de la granulosa, entre estas aparecen cavidades llenas de líquido folicular, el cual almacena los factores que nutren al ovocito y a las células de la granulosa, a medida que continúa acumulándose el líquido, las cavidades se unen y forman una cavidad única, el antro folicular, en este momento el folículo se denomina secundario o antral (González-Merlo y González, 2006; Ross y Pawlina, 2008). El ovocito deja de crecer, debido a la acción del péptido inhibidor de la maduración oocítica (OMI), que secretan las células de la granulosa (Ross y Pawlina, 2008).

En el folículo maduro o preovulatorio, la capa de la granulosa se torna más fina conforme el antro aumenta de tamaño y la teca se torna prominente (González-Merlo y González, 2006) (Figura 1).

Los folículos preovulatorios contienen concentraciones altas de estrógenos y progesterona, mientras que la de andrógenos es baja; en los folículos pequeños, la relación andrógenos/estrógenos es mayor (González-Merlo y González, 2006).

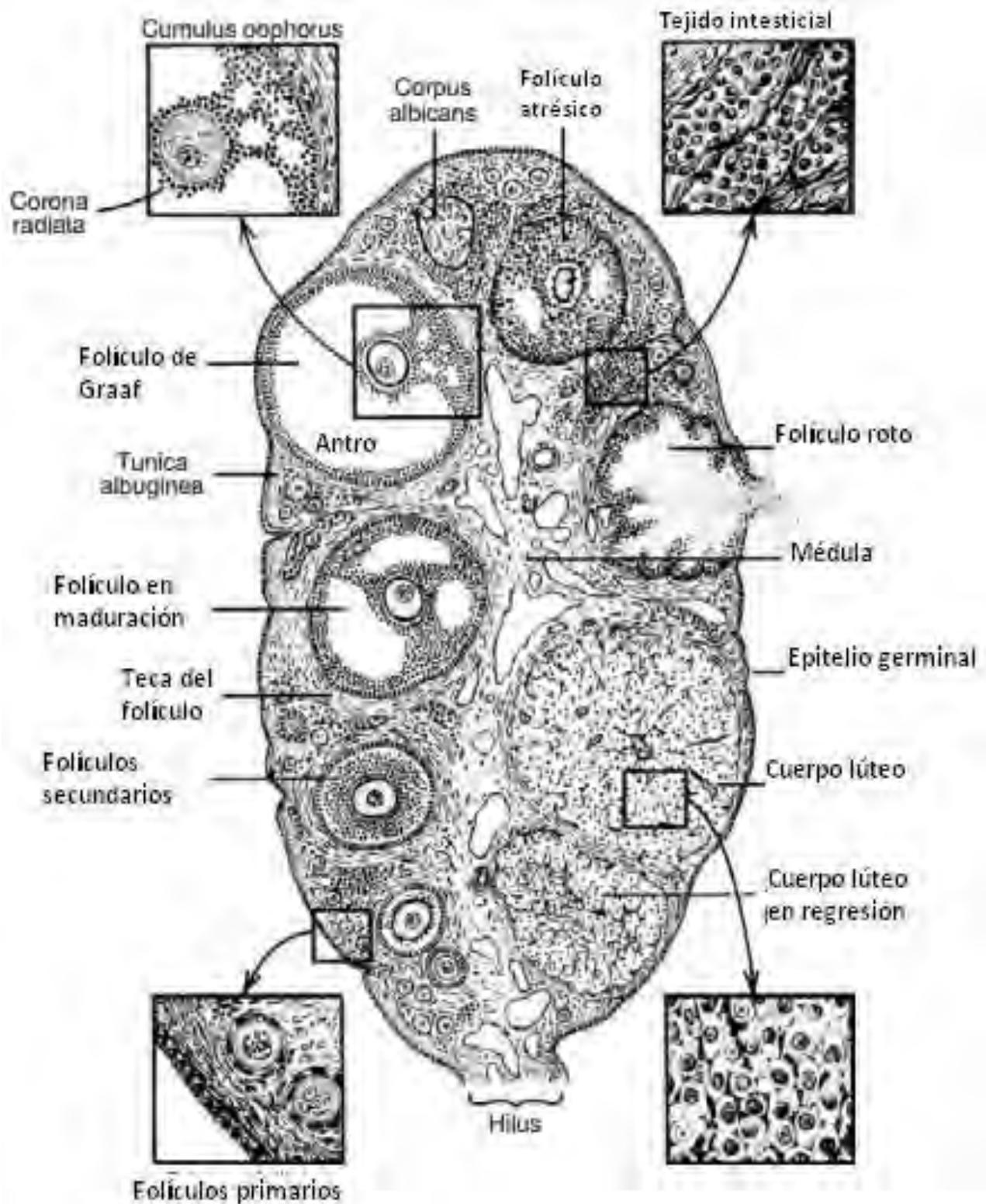


Figura 1. Esquema que representa la estructura del ovario (Modificado de Freeman, 2006).

Esteroidogénesis

En los tejidos esteroidogénicos; ovario, testículo y glándula adrenal, la ruta de síntesis de las hormonas esteroides es similar (Arechavaleta-Velasco y colaboradores, 2009). En el ovario, la LH se une a las células de la teca y favorece la formación del adenosín monofosfato cíclico (AMPc), el cual actúa como segundo mensajero y activa la cascada de señalización que conduce a la síntesis de testosterona; favorece la disponibilidad de colesterol libre y como consecuencia que se inicie la esteroidogénesis, las células de la teca, captan las lipoproteínas de la sangre, las que son la fuente del colesterol y recibe lipoproteínas, que servirán de material para la producción de colesterol. El colesterol-LDL (C27) pasa al interior de las mitocondrias y es convertido en pregnenolona (C21) y ácido isocaproico por la enzima 20-22 desmolasa (P450_{scc}). Este proceso constituye el paso limitante en la síntesis de esteroides (Pombo y colaboradores, 1997; Melmed, 2011). En el retículo endoplásmico liso la pregnenolona puede ser biotransformada por dos rutas esteroidogénicas, la $\Delta 4$ y $\Delta 5$. En la ruta $\Delta 5$, la pregnenolona se transforma en 17α -hidroxipregnenolona; posteriormente en dehidroepiandrosterona por acción del complejo enzimático citocromo P450 C17 (la 17α -hidroxilasa y la C17-20-liasa) y después es transformada a androstenediona por la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa. Por otra parte, en la ruta $\Delta 4$ la pregnenolona es convertida a progesterona por acción de la enzima 17α -hidroxilasa, a su vez dicha hormona es convertida a 17α -hidroxiprogesteroa por acción del citocromo P450. Esta última hormona es transformada a androstenediona por la C17-25 liasa y posteriormente a testosterona. La androstenediona y la testosterona difunden a través de la membrana basal a las células de la granulosa donde son aromatizados a estrógenos por la enzima aromatasa, que se activa por acción de la FSH (Eckstein, 1977; Brodie, 1983; González-Merlo y González, 2006) (Figura 2).

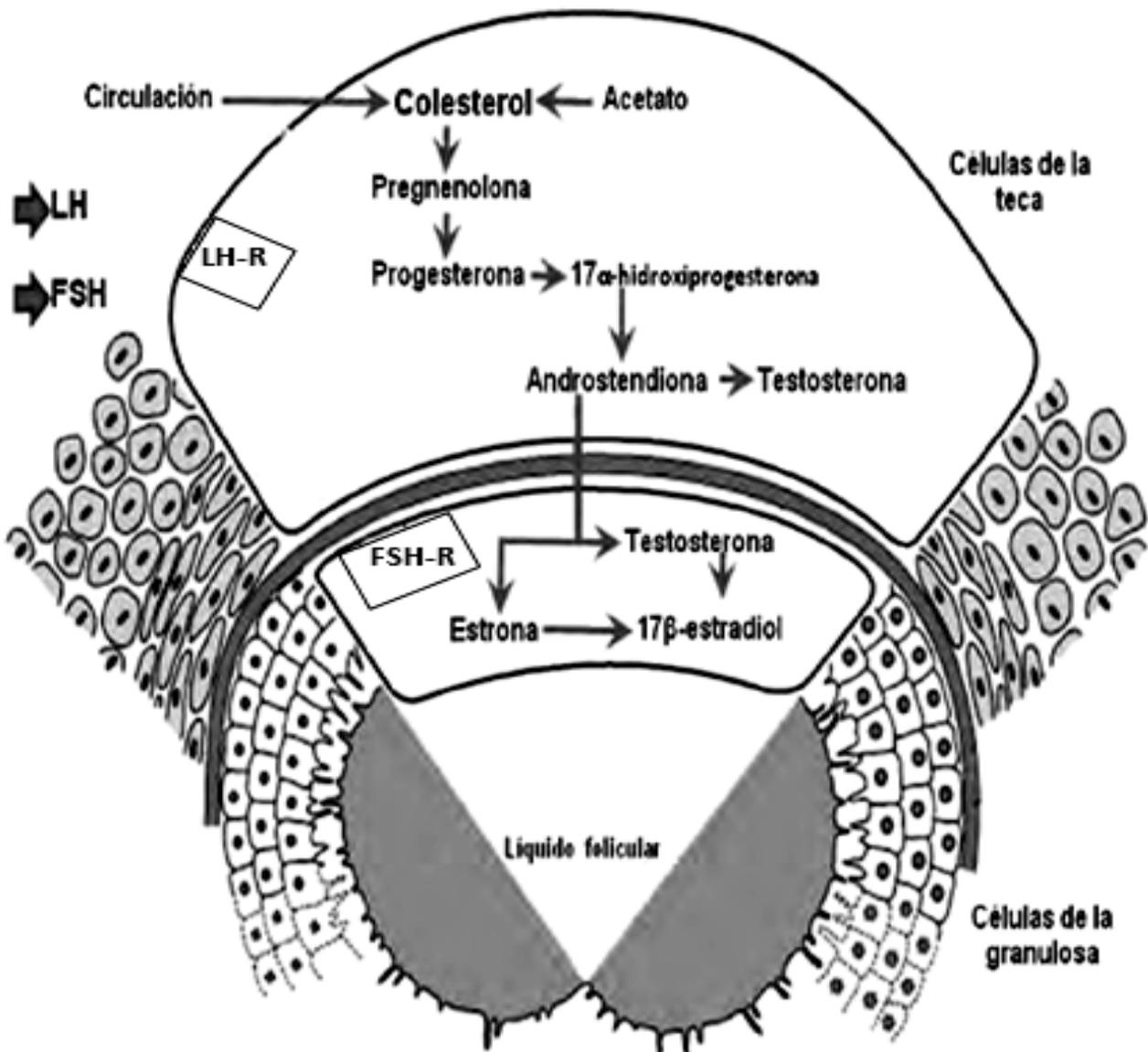


Figura 2. Modelo de la doble célula-doble hormona que explica la síntesis de los esteroides en el ovario. Los andrógenos son secretados en las células de la teca por acción de la LH. En las células de la granulosa los andrógenos son aromatizados a estrógenos, los cuales se liberan a la circulación o al antro folicular. **LH** (hormona luteinizante), **FSH** (hormona estimulante del folículo), **LH-R** (receptor de la hormona luteinizante) y **FSH-R** (receptor de la hormona estimulante del folículo) (Modificado de Sánchez-Criado, 2003).

Ovulación

Para que se produzca la ovulación es necesaria la acción conjunta de los “picos” preovulatorios (aumento brusco y de corta duración de la concentración plasmática) de LH y FSH. La LH activa la maduración del ovocito, reanuda la meiosis inhibida hasta ahora por la presencia de elevadas concentraciones de AMPc. En el ovocito, este reinicio ocurre una vez que los “picos” preovulatorios de FSH y LH provocan la disminución de AMPc. Otra función de la LH es la luteinización de las células de la granulosa, al incrementar la actividad del AMPc, por la cual se produce un aumento en la producción de progesterona, este aumento induce un efecto de retroalimentación negativa sobre la LH, con lo que disminuye la secreción de esta hormona. La progesterona incrementa la flexibilidad de la pared del folículo, probablemente aumentando la actividad proteolítica de enzimas como la colagenasa, lo cual origina la desaparición del tejido colágeno. La LH, además estimula la producción de prostaglandinas, que favorece la ruptura de la pared del folículo. La FSH, activa a enzimas proteolíticas como la plasmina e induce la síntesis de receptores a la LH (Casabiell, 2006; González-Merlo y González, 2006) (Figura 3).

Una vez expulsado el ovocito, las células de la granulosa aumentan de volumen y es vascularizada por una serie de capilares procedentes de la teca. Ésta se engruesa y la cavidad folicular se rellena de sangre y linfa, mientras que las células de la teca como las de la granulosa por acción de la LH se luteinizan y forman el cuerpo lúteo. Aunque esta estructura recién formada produce estrógenos y andrógenos, su principal producto de secreción es la progesterona, que inhibe el desarrollo de nuevos folículos, al ejercer una doble acción: 1) en el ovario inhibe la acción de la P450 aromatasasa y retarda las modificaciones que los estrógenos producen durante la foliculogénesis e 2) inhibe la liberación de gonadotropinas (Casabiell, 2006; González-Merlo y González, 2006; Martin y Carón, 2007).

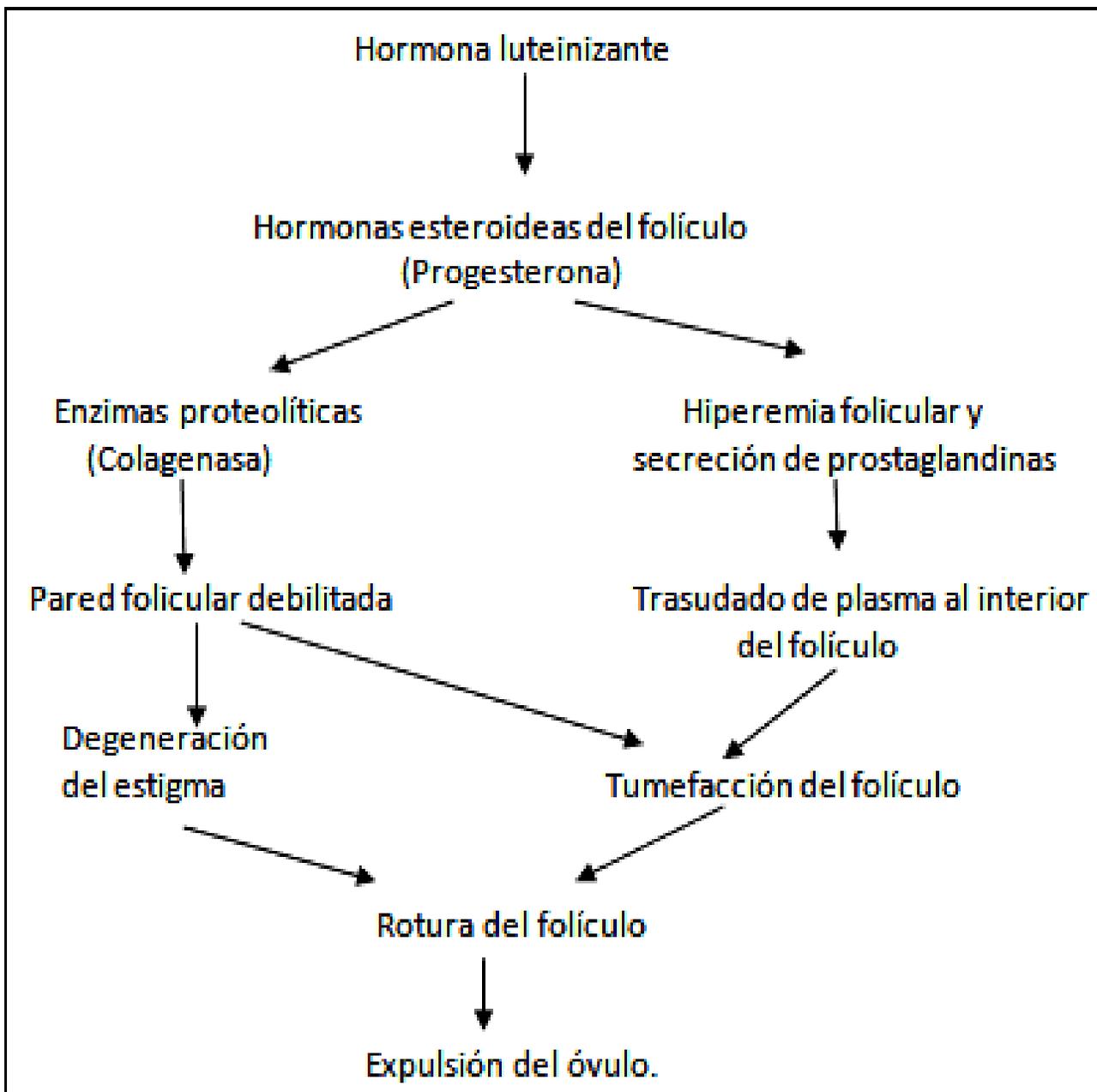


Figura 3. Eventos que se producen durante la ovulación (Modificado de Tresguerres y Castillo, 2003).

Una vez seleccionado el folículo dominante, los folículos restantes, que habían iniciado su desarrollo degeneran, proceso fisiológico conocido como atresia folicular. Durante este proceso, en el folículo disminuye el número de receptores de la FSH y LH, pero la teca conserva durante algún tiempo su capacidad de respuesta a la LH produciendo andrógenos (androstendiona y testosterona) (Tresguerres y Castillo, 2003).

Regulación de la hormona liberadora de las gonadotropinas

La secreción de la GnRH por las células hipotálamicas es regulada por un doble control, hormonal y nervioso. El control hormonal se realiza por mecanismos de retroalimentación inhibitorios y estimulatorios que ejercen los esteroides gonadales (Charli y colaboradores, 1991). El control neural comprende la regulación de la actividad de la neurona productora de GnRH por otras estructuras como núcleos del rafe, *locus coeruleus*, bulbo raquídeo y tracto tuberoinfundibular (Yen, 2001; Terán y colaboradores, 2008), por medio de la liberación de diferentes neurotransmisores como noradrenalina, dopamina, serotonina, ácido gama-aminobutírico, péptidos opioides endógenos, neopéptido Y (NPY), galanina (Kronenberg y colaboradores, 2009) y los aminoácidos excitadores como el glutamato y el aspartato (Moguilevsky, 1994). Esto se logra por la interacción sináptica entre los axones y el soma de los diferentes sistemas de neurotransmisión o las fibras nerviosas de las neuronas GnRHérgicas (Gore, 2002).

Sistema noradrenérgico

Los cuerpos de las neuronas que sintetizan noradrenalina (NA) están agrupados en tres áreas del encéfalo; el núcleo *locus coeruleus* (LC), el sistema tegmental lateral del mesencéfalo y el grupo bulbar dorsal (Rosenzweig y colaboradores, 2005).

El LC, principal núcleo noradrenérgico, se localiza en la base del cuarto ventrículo y en la región dorsolateral al núcleo reticular pontino (Conn, 2008). Las neuronas del LC son de tamaño medio, con un núcleo largo y un nucléolo prominente. El citoplasma contiene un aparato de Golgi bien desarrollado alrededor del núcleo y los cuerpos de Nilss están agrupados en los polos del soma. Las células del LC tienen ramas dendríticas longitudinalmente, orientadas rostrocaudalmente dentro del tronco encefálico (Loughlin y Fallon, 1985).

Al LC se le divide dividido en dorsal y ventral o en cinco subregiones (dorsal, ventral, anterior, A4 y subcueruleus). Con base en la morfología, localización y orientación se distinguen diferentes tipos de células en esta región. La región dorsal contiene

aproximadamente 1400 células orientadas oblicuamente de la región dorsolateral a la ventromedial. La región ventral consta de aproximadamente 250 células, pero a comparación de la región dorsal, estas no tienen una clara orientación y su densidad es más baja (Loughlin y Fallon, 1985).

Las células que conforman al LC reciben fibras aferentes que provienen del núcleo dorsal del rafe y del pontino, de la corteza, la sustancia gris periacueductal y del hipotálamo (Conn, 2008). Las fibras que salen del LC se agrupan en dos vías, la dorsal y ventral. La dorsal se dirige a la corteza, hipocampo y amígdala, mientras que el fascículo ventral inerva al hipotálamo anterior y área preóptica (Helena y colaboradores, 2006). Las neuronas GnRHérgicas expresan receptores a NA del tipo α -1B y α -2A (Neill y colaboradores, 2006).

La región A6 localizada en el LC conforma la vía dorsal que inervan la espina dorsal, corteza, el cerebelo, hipocampo e hipotálamo. La vía ventral, corresponde a la región A1, A2, A5 y A7, se localiza en el área tegmental ventral e inervan el órgano vasculoso de la lámina terminal y al hipotálamo (Anselmo-Franci y colaboradores, 1997) (Figura 4). En el hipotálamo, la NA se localiza en la parte central y rostral de la EM se extiende a la región del surco tubero-infundibular y rodea el área dorsomedial de la *pars tuberalis* de la hipófisis y el área preóptica medial (Day y Willoughby, 1980; Wright y Jennes, 1993). En la banda diagonal de Broca, alrededor de la lámina terminal del órgano vasculoso, la porción lateral del tercer ventrículo y en la capa subependimal de la EM existe una sobreposición de fibras noradrenérgicas y GnRHérgicas (Jennes y colaboradores, 1982).

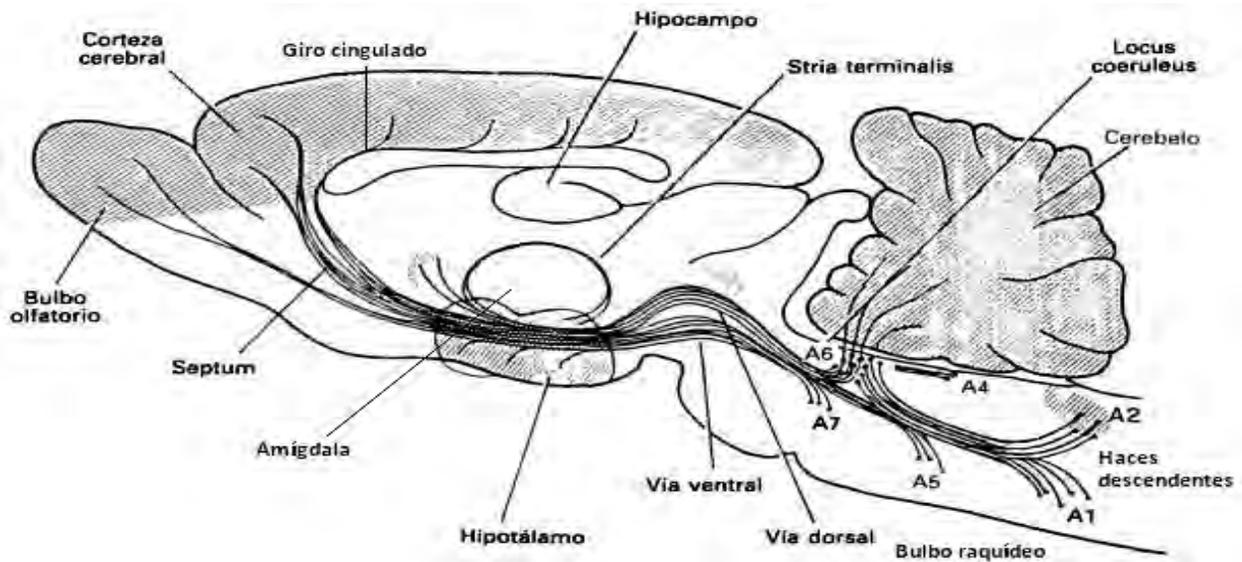


Figura 4. Organización de las vías noradrenérgicas en el cerebro de ratona (Modificado de Young y Cohen, 1979).

La NA es sintetizada a partir del aminoácido L- tirosina, la enzima tirosina-hidroxilasa lo convierte en dihidroxifenilalanina y se transforma en dopamina, por la DOPA-descarboxilasa. A partir de la dopamina se origina la NA por la acción de la dopamina- β -hidroxilasa. La NA se almacena en vesículas en la terminal nerviosa presináptica cerca de la membrana celular (Zrro, 1984) (Figura 5). En el cerebro de la ratona recién nacida, la distribución de NA está relacionada con la actividad de la enzima tirosina-hidroxilasa, DOPA-descarboxilasa y dopamina- β -hidroxilasa, que se les identifica a partir de los primeros 15 días de gestación (Coyle y Henry, 1973).

Se han identificado dos familias de receptores a noradrenalina los α y β -adrenérgicos, que a su vez poseen subtipos: tres tipos de β (β_1 , β_2 y β_3), cuatro para α -1 (α -1A, α -1B, α -1C, y α -1D) y tres para α -2 (α -2A, α -2B y α -2C) (López-Muñoz y Álamo, 2009). Los receptores adrenérgicos son receptores asociados a la proteína G que activa segundos mensajeros. La NA al unirse con los receptores β , estimula la producción de AMPc y desencadena la fosforilación de las proteínas celulares, pero cuando se une a los receptores α -1 activa a la enzima fosfolipasa C, que favorece la producción de los mensajeros, inositoltrifosfato y diacilglicerol (Silverthorn, 2009).

La NA se inactiva después de que se recaptura en la terminal presináptica, en donde la enzima monoamino oxidasa (MAO) la degrada por desaminación oxidativa. Existe también otra enzima que limita sus acciones, la catecol-ortometil-transferasa (COMT), localizada en el espacio sináptico, la cual inactiva a la NA mediante la metilación que presenta el átomo de carbono en el anillo aromático, con lo que se crean barreras de difusión por impedimento estérico (Contreras y colaboradores, 2002).

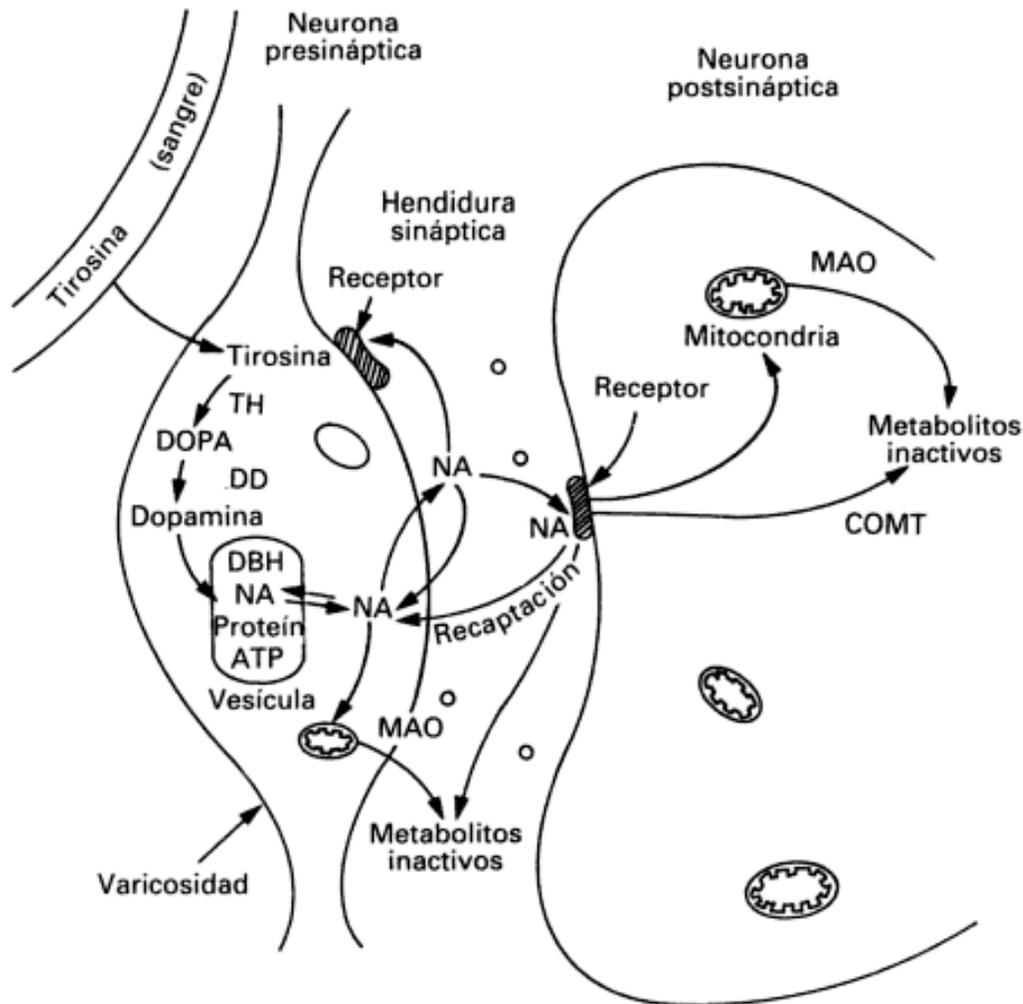


Figura 5. Representación esquemática de los pasos de la síntesis, liberación y catabolismo de noradrenalina en la neurona. **TH** (tirosina hidroxilasa), **DOPA** (dihidroxifenilalanina), **DD** (DOPA-decarboxilasa), **DBH** (dopamina-β-hidroxilasa), **NA** (noradrenalina), **ATP** (adenosíntrifosfato), **MAO** (monoaminoxidasa), **COMT** (Catecol-O-metiltransferasa) (Modificado de Young y Cohen, 1979).

Además de su distribución en el SNC, la NA se localiza en órganos periféricos como la glándula adrenal y los ovarios. El ovario de los mamíferos recibe inervación simpática, parasimpática y sensorial (Ricu y colaboradores, 2008).

La diferencia más importante entre la transmisión noradrenérgica del SNC reside es el catabolismo, ya que en él, el producto final de la degradación de la NA es el 3-metoxi-4-hidroxifeniletilenglicol (MHPG), en lugar del ácido vanililmandélico (VMA) producto final de la NA en el sistema nervioso autónomo (Lorenzo-Velázquez y colaboradores, 2008) (Figura 6).

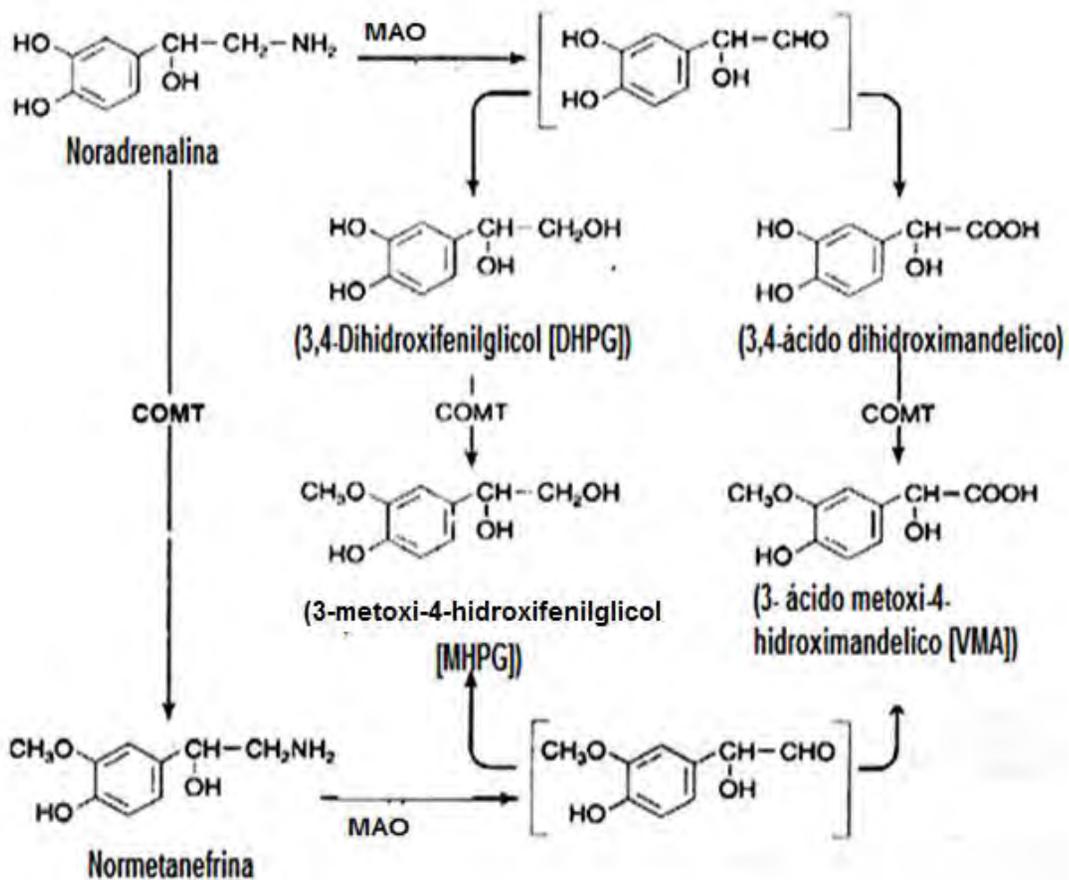


Figura 6. Vías de degradación de la noradrenalina. Enzimas que intervienen: Monoamino oxidasa (**MAO**) y Catecol-O- metiltransferasa (**COMT**) (Modificado de Kuhar y colaboradores, 1999).

El núcleo locus coeruleus en la regulación de la secreción de las gonadotropinas

La participación del LC en la regulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas ha sido ampliamente estudiada en el animal adulto, sin embargo ha sido difícil la interpretación de los resultados debido a la diversidad de modelos experimentales empleados.

Glitler y Barraclough (1987), mostraron que en la rata hembra adulta la estimulación eléctrica de LC potencializa la secreción de LH solo después de la despolarización preliminar de las neuronas GnRHérgicas por el estímulo eléctrico del área preóptica medial (MPOA), mientras que la lesión electrolítica bloquea la secreción preovulatoria de LH y el aumento de la secreción de LH después de la castración (Anselmo-Franci y colaboradores 1997, 1999). Dichos resultados son un indicador de que la integridad de las aferencias nerviosas del LC es esencial en la regulación de la secreción preovulatoria de las gonadotropinas.

En la rata castrada, la lesión electroquímica del LC bloquea la secreción pulsátil de LH al disminuir la frecuencia y la amplitud del pulso, evento que se acompaña de menor concentración de NA en MPOA y en EM. Dichos resultados han sido interpretados como indicadores de que la disminución de NA en estas áreas del cerebro induce menor liberación de GnRH por pulso (Anselmo-Franci y colaboradores, 1997).

En animales castrados con implante de estradiol; la estimulación eléctrica de LC bloquea la liberación de LH inducida por la estimulación eléctrica del área preóptica anterior (Dotti y Taleisnik, 1982). Resultados semejantes se han reportado en animales en proestro con estimulación de LC (Helena y colaboradores, 2002; Rocha y colaboradores, 2006). En conjunto estos resultados permiten pensar que la activación del sistema noradrenérgico del LC inhibe la liberación de LH.

La estimulación eléctrica de LC en ratas castradas con implante de estradiol amplifica el aumento de LH inducido por la estimulación electroquímica del núcleo preóptico medio, mientras que las lesiones electrolíticas del LC bloquea la secreción preovulatoria de LH; evento que se acompaña de la disminución de la concentración de NA en MPOA y en

hipotálamo medio basal. Estos resultados sugieren que la NA que proviene de LC facilita el proceso de retroalimentación estimulante que ejercen los estrógenos sobre la secreción de LH (Helena y colaboradores, 2002, Szawka y colaboradores, 2005, 2009).

En otras especies como los primates castrados, la infusión con estrógenos incrementa la expresión del ARNm de tirosina hidroxilasa en el LC. Estos resultados apoyan la idea de que NA estimula la ovulación inducida por los estrógenos y que LC es un componente esencial en el proceso neuroendocrino (Pau y colaboradores, 2000) como se ha sugerido para el conejo (Pau y Spies, 1997) y la rata (Helena y colaboradores, 2009).

Bernuci y colaboradores (2008) mostraron que la lesión bilateral del LC a animales con síndrome de ovario poliquístico inducido por frío resultó en la disminución en el número de folículos y menor concentración de estradiol y testosterona y reduce la actividad noradrenérgica del ovario, sin modificar LH. Además, mostraron que el estrés por frío aumenta la actividad de las neuronas noradrenérgicas de LC. Estos resultados llevaron a sugerir, que el estrés por frío es un promotor del ovario poliquístico y que depende de la actividad noradrenérgica del ovario y que bajo estas condiciones es regulado por la información noradrenérgica del LC.

Martins-Afféri y colaboradores (2003) proponen que en el animal adulto en proestro o castrado, la inervación noradrenérgica que se origina del LC y llega a MPOA y EM es esencial en la regulación de la liberación de GnRH, las gonadotropinas y la ovulación.

En el estudio de la participación de la inervación noradrenérgica se han empleado diferentes herramientas para la manipulación del sistema noradrenérgico en sistema nervioso, como el N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄), un neurotóxico específico utilizado en la denervación de las neuronas noradrenérgicas. La aplicación sistémica en ratas adultas causa la reducción del neurotransmisor en regiones cerebrales como la corteza, hipocampo, cerebelo, bulbo olfatorio, tectum, tálamo e hipotálamo (Hughes y Stanford, 1988; Fritschy y Grzanna, 1989; Dudley y colaboradores, 1990; Birger y Bönisch, 2009) (Figura 7).

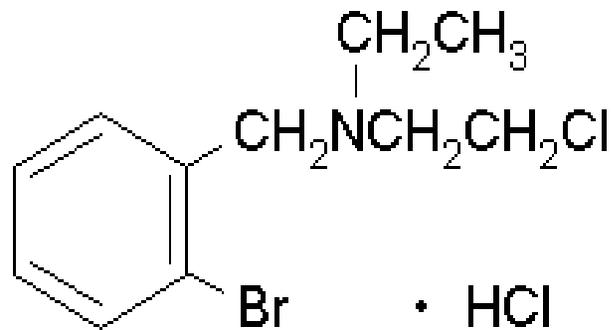


Figura 7. Estructura química del neurotóxico de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄) (Tomado de Jaim-Etcheverry, 1998).

Lyons y colaboradores (1989) mostraron que en el animal adulto la inyección sistémica de DSP₄ degenera por completo los axones de las neuronas noradrenérgicas del asta dorsal de la médula espinal provenientes del LC, mientras que el asta ventral presenta una ligera degeneración en los axones; lo cual llevó a los autores a proponer la selectividad del neurotóxico por los axones del LC.

En ratas adultas, una sola dosis sistémica de DSP₄, induce disminución en la concentración de NA y en la actividad de la enzima DBH (dopamina β-hidroxilasa) en las vesículas terminales de las neuronas noradrenérgicas de la corteza cerebral, el hipocampo, cerebelo y el hipotálamo (Ross y colaboradores, 1973; Ross, 1976; Ross y Renyl, 1976; Ross, 1985; Fritschy y Grzanna, 1991).

En otras especies, como el ave pinzón cebra (*Taeniopygia guttata*), dos inyecciones sistémicas de DSP₄ disminuyen la concentración de NA en áreas cerebrales invadidas por el LC como el hipocampo, bulbo olfatorio y corteza, sin modificarse de manera significativa en el hipotálamo (Waterman y Harding, 2008). Por otra parte, Goldman y colaboradores (1996) proponen que en ratas adultas, la administración intrabursal del neurotóxico suprime la ovulación, sin asociarse directamente con la disminución en la concentración de NA en ovarios, por lo que dicho neurotóxico no modifica la integridad funcional del proceso de ovulación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las funciones del ovario son reguladas por la GnRH y las gonadotropinas. Asimismo, la secreción de GnRH, FSH y LH son moduladas por diferentes sistema de neurotransmisión como el noradrenérgico (Martins-Afféri y colaboradores, 2003; Itóh e Ishizuka, 2005; Ebeid y colaboradores, 2008; Ojeda y colaboradores, 2010).

Los somas de las neuronas que sintetizan NA en el SNC se localizan en el bulbo raquídeo y el LC. Este último es considerado como el mayor núcleo noradrenérgico y envía proyecciones nerviosas a todo el sistema nervioso central, incluyendo el área preóptica medial y la eminencia media, involucradas en la secreción de GnRH (Castañeyra-Perdomo y colaboradores, 1992; Helena y colaboradores, 2002; Martins-Afféri y colaboradores, 2003; Helena y colaboradores, 2006; Sirivelu y colaboradores, 2009).

En el animal adulto, el LC ejerce un efecto estimulante en la secreción de las gonadotropinas, mientras que su participación en los mecanismos neuroendocrinos que regulan el inicio de la pubertad y las funciones de las gónadas en el animal prepúber no ha sido analizada.

Por lo anterior, en el presente estudio se analizaron los efectos de la lesión unilateral derecha o izquierda del núcleo LC, inducido por la microinyección de DSP₄ o por la administración sistémica del neurotóxico, sobre la edad de la apertura vaginal, del primer estro, la ovulación, la secreción esteroides ováricos (progesterona, estradiol y testosterona) y la concentración de NA en el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios.

HIPÓTESIS

Dado que en la rata adulta, el sistema noradrenérgico ejerce un efecto estimulante en la secreción preovulatoria de las gonadotropinas y en la ovulación, entonces en el animal prepúber la eliminación de la información noradrenérgica que se origina en el LC en la etapa prepuberal retrasará los mecanismos neuroendocrinos que regulan el inicio de pubertad y de la primera ovulación.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la participación del sistema noradrenérgico que se origina en el núcleo *locus coeruleus* en los mecanismos que regulan el inicio de la pubertad y las funciones del ovario.

OBJETIVOS PARTICULARES

➤ Estudiar el efecto de la microinyección de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina, en el LC o por vía sistémica, en la edad de la apertura y del primer estro vaginal.

➤ Analizar el efecto de la microinyección de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina, en el LC o por vía sistémica, en la primera ovulación,

➤ Estudiar el efecto de la microinyección de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina, en el LC o por vía sistémica. en la concentración sérica de progesterona, testosterona y estradiol.

➤ Analizar el efecto de la microinyección de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina, en el LC o por vía sistémica, sobre de la concentración de noradrenalina y su metabolito en hipotálamo anterior y medio, en la hipófisis y los ovarios

MATERIALES Y MÉTODO

Se utilizaron ratas hembra de 30 días de edad, de la cepa CII-ZV mantenidas en condiciones controladas de iluminación, 14 h luz y 10 h oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 h), con libre acceso a la madre hasta el destete (día 21) y posteriormente al agua y al alimento hasta el sacrificio. A todos los animales se les registró el día de la apertura vaginal, momento en el cual se inició la toma de frotis vaginales diarios, que se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina. Los animales fueron sacrificados en la mañana del primer estro vaginal. Los animales fueron distribuidos al azar en los siguientes grupos experimentales:

Grupo testigo absoluto (TA): Animales sin ningún tratamiento.

1) Inyección sistémica:

Grupo Vehículo (Vh): Se administró por vía intraperitoneal (i.p), una o tres dosis de solución fisiológica cloruro de sodio al 0.9 % (vehículo).

Grupo Fármaco: Se administró por vía i.p. 50mg/kg de peso corporal de N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄). En un grupo de animales se les administró una sola inyección (una dosis) y a otro grupo de ratas una inyección por tres días consecutivos con la misma dosis (tres dosis).

2) Inyección localizada en el LC:

Grupo Operación simulada (OS): Se inyectó unilateralmente un μL de solución fisiológica de cloruro de sodio al 0.9 % en el *locus coeruleus* izquierdo o derecho.

Grupo Lesión: Se realizó la lesión unilateral de *locus coeruleus*, inducida por la microinyección de DSP₄ (10 μg /1 μL) a una velocidad de 1 μL /minuto.

La dosis y frecuencia de administración de DSP4 por vía sistémica se basó en lo reportado por otros autores (Ross y Renyl, 1976, Fritschy y Grzanna, 1991; Jaim-Etcheverry, 1998) y la dosis administrada de manera localizada en el LC en lo reportado para otros neurotóxicos noradrenérgicos como la 6-hidroxidopamina (Kuraishi y colaboradores, 1983; Berger y colaboradores, 1985; Choi y colaboradores, 2003).

Procedimiento de lesión

Los animales fueron anestesiados con pentobabital sódico (pisabental, PISA agropecuaria, México) (40 mg/kg de peso corporal) por vía i.p. seguido de anestesia complementaria con éter. Se montaron en un aparato esterotáxico, se seccionó la piel, se perforó el cráneo con una fresa odontológica y se introdujo una aguja de 22x13 mm conectada a una jeringa Hamilton de 25 μ L, acoplada a una bomba de microdiálisis (MCA/100 Bionalytical Systems, USA) (Figura 8). Las coordenadas para introducir la aguja de microinyección hasta el sitio de estudio se calcularon tomando como referencia el atlas del animal adulto Paxinos y Watson (1982). Las coordenadas consideradas para el núcleo *locus coeruleus* fueron: anteroposterior, 2.4 mm; lateral, 1.0 mm con una inclinación de 15° y ventral, 5.8 mm. Para realizar la lesión se inyectaron 10 μ g DSP₄ (Sigma-Aldrich, EUA) en un volumen de 1 μ L de solución fisiológica de cloruro de sodio al 0.9% (Baxter, México). Como grupos de comparación se utilizaron animales que recibieron 1 μ L de solución salina al 0.9% (operación simulada).

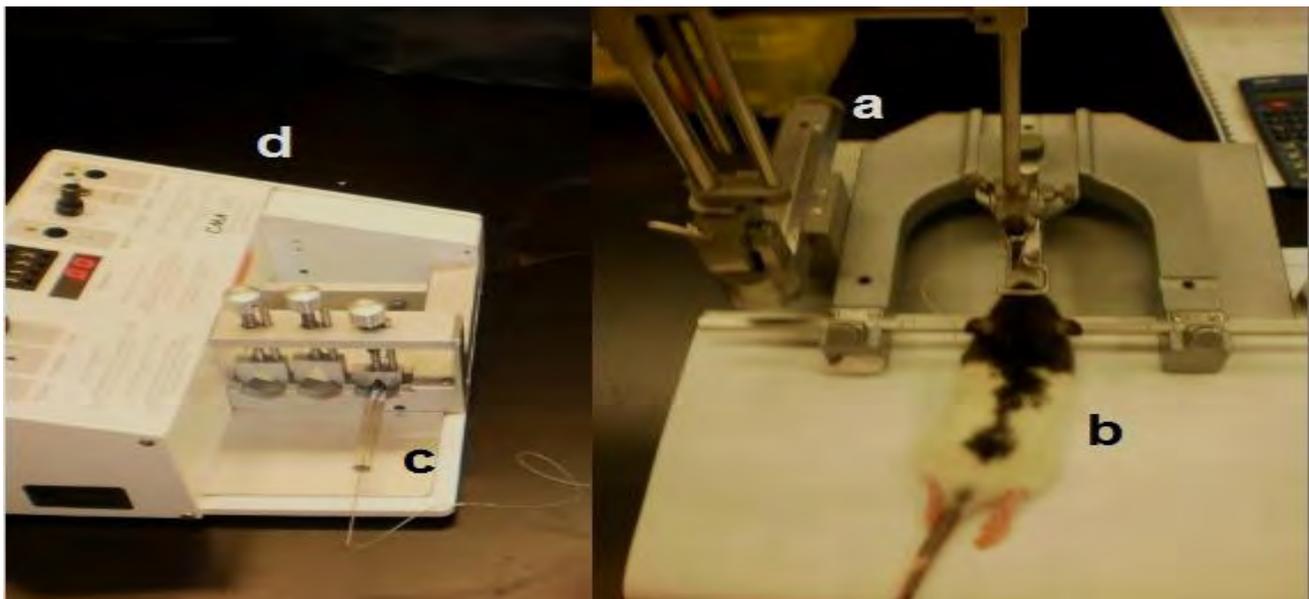


Figura 8. Fotografía del procedimiento de microinyección: a) aparato estereotáxico, b) animal de estudio, c) sistema de microinyección y d) bomba de microinyección (MCA/100).

Procedimiento de autopsia

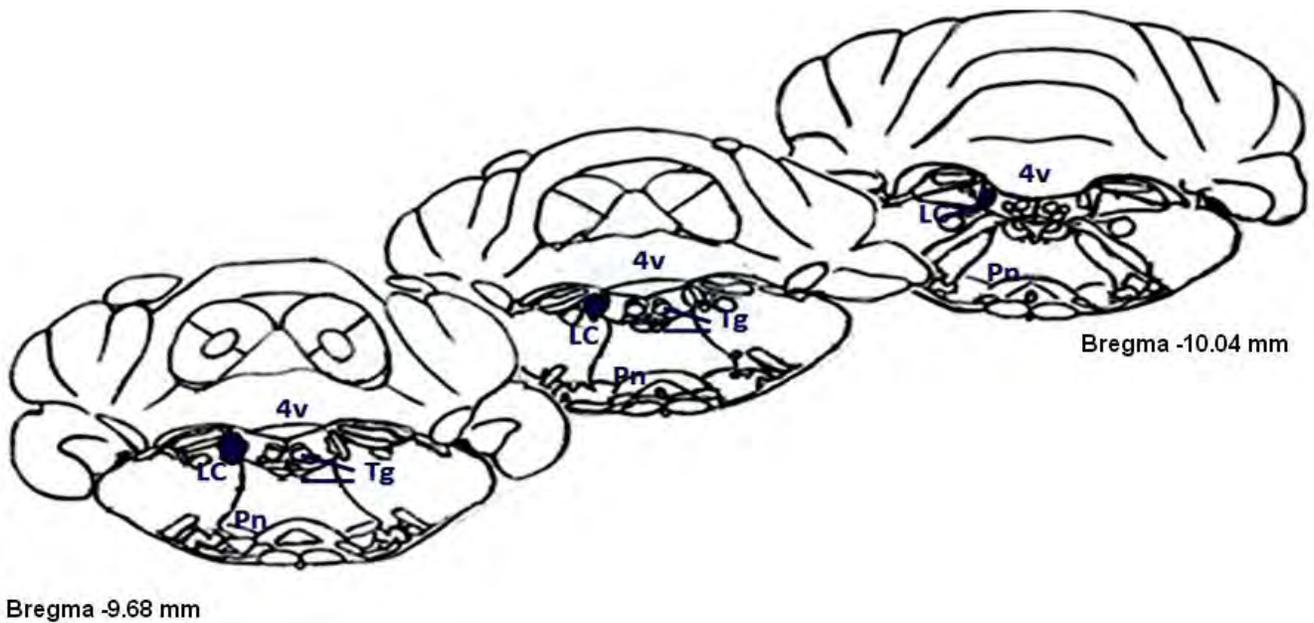
Los animales en el día de la autopsia fueron pesados e inmediatamente sacrificados por decapitación entre las 7:00 y 9:00 h. Se colectó la sangre del tronco y se dejó coagular por 15 minutos, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm por 15 minutos. El suero se almacenó a -20°C hasta su posterior cuantificación de hormonas esteroideas. Los ovarios se disecaron y almacenaron a -70 °C hasta su posterior cuantificación de NA y su metabolito el ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG), por cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC). El útero se disecó y se pesó en balanza de precisión, las trompas uterinas se revisaron y se contó el número de ovocitos liberados cuando estuvieron presentes, con la ayuda del microscopio estereoscópico.

Se extrajo el cerebro y la hipófisis se enjuagaron con solución salina fría (4°C). El cerebro se congeló con nitrógeno líquido y se efectuaron cortes coronales para la separación del hipotálamo anterior, considerando como límite rostral el quiasma óptico y la comisura anterior, lateralmente por los surcos hipotalámicos laterales y caudalmente por el área retroquiasmática y el tracto mamilotalámico e hipotálamo medio, el cual se delimitó rostralmente por el tracto mamilotalámico y por el fórnix, lateralmente por los surcos hipotalámicos y caudalmente por los cuerpos mamilares. La profundidad del corte para la disección de cada una de las regiones del hipotálamo fue de 3 mm aproximadamente, tomando como referencia el atlas de Paxinos y Watson (1982). Las muestras se almacenaron a -70 °C hasta la posterior cuantificación de NA y su metabolito por HPLC.

Análisis del sitio de lesión

Para la identificación de la trayectoria de la aguja de microinyección en los animales con operación simulada o del sitio de lesión, el cerebro se fijó en formol al 10% por 24 horas y se realizaron cortes coronales (de la región caudal a frontal) a 50 µm en criostato a -20 C y tiñeron con la técnica de violeta de cresilo (Luna, 1975), con ayuda de un estereoscopio se procedió a realizar la identificación del sitio de lesión (Figura 9).

A)



B)

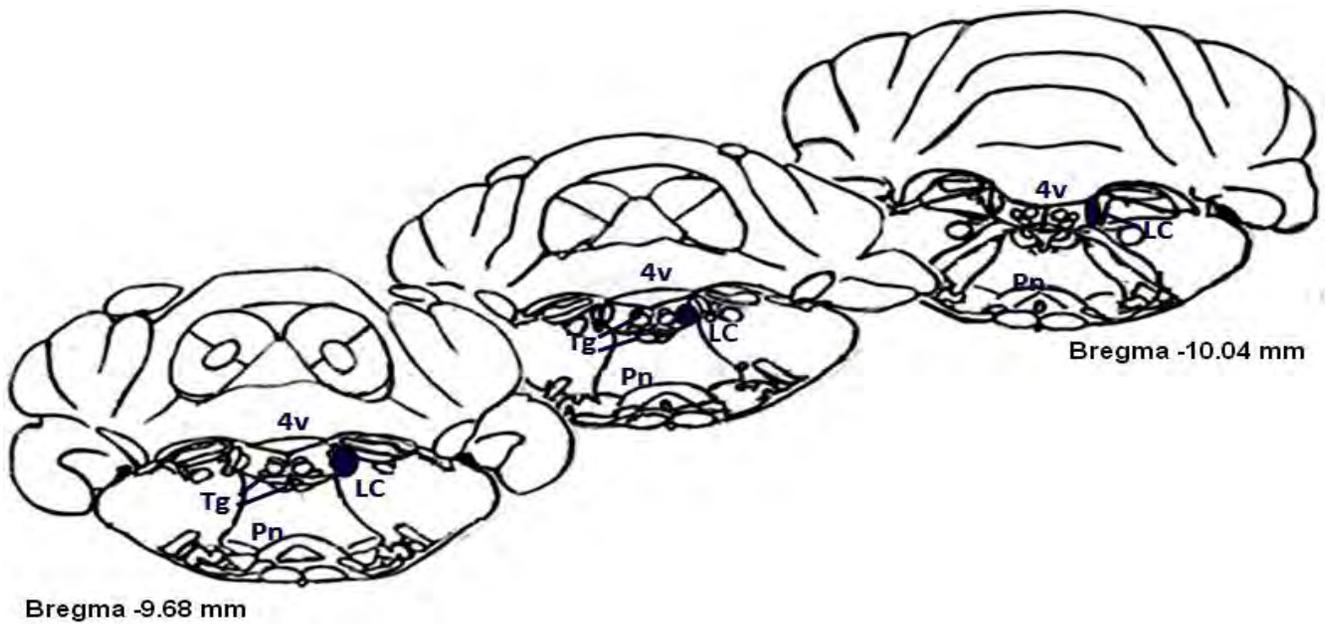


Figura 9. Cortes coronales del cerebro de la rata en los que se representa la lesión al núcleo *locus coeruleus*. El área sombreada representa la lesión inducida por la inyección de N- 2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina. A) Lesión del núcleo derecho y B) Lesión del núcleo izquierdo; **4v** (cuarto ventrículo), **LC** (*locus coeruleus*), **Tg** (núcleo lateral tegmental), **Pn** (núcleo pontino) (Modificado de Paxinos y Watson, 1982).

Cuantificación de noradrenalina y del ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG)

El hipotálamo anterior, medio o los ovarios fueron pesados en balanza de precisión y se colocaron en un microtubo de 1.5 mL, se adicionó 300 µL de ácido perclórico (HClO₄ al 0.1N). Posteriormente se homogeneizaron por sonicación en frío durante 5 segundos y centrifugado a 12,000 rpm a -4°C por 30 minutos. El sobrenadante se filtró en membranas de celulosa (poro de 0.22 µm, Millipore Bedford, MA, USA) y se inyectaron 20 µL del extracto en el sistema de cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC). La hipófisis se pesó y colocó en microtubo de 0.5 mL, se adicionó 150 µL de HClO₄ y se siguió el procedimiento anterior.

Las condiciones para trabajar fueron las siguientes: El equipo de HPLC consta de una bomba isocrática digital (modelo L-250 Perkin-Elmer Co., Norwalk, CT, USA), una válvula de inyección Rheodyne (modelo 7125, Perkin-Elmer Co., Norwalk, USA) con una capacidad de 20 µL y una columna de fase reversa C-18 (25cm x 4.6mm, con partícula de 10 µL de diámetro, Bionalytical Systems, West Lafayette, In USA). La columna se encuentra acoplada a un detector electroquímico (modelo L4-C4, BAS West Lafayette, In USA) (conformado por un electrodo de trabajo de carbón vidriado y un electrodo de referencia de plata/cloruro (Ag/AgCl), con un rango de 5 y voltaje de 850 mV con una sensibilidad entre 700-900. Los datos obtenidos fueron procesados por un integrador (modelo 1020, Perkin Elmer) (Figura10).

La concentración del neurotransmisor y su metabolito se expresaron en nanogramos por miligramo de tejido (ng/mg de tejido).

La actividad de la neurona noradrenérgica se calculó con la relación descrita por Kerdelhue y col., (1989).

$$\text{Actividad de la neurona: } \frac{\text{(Metabolito)}}{\text{(Neurotransmisor)}}$$

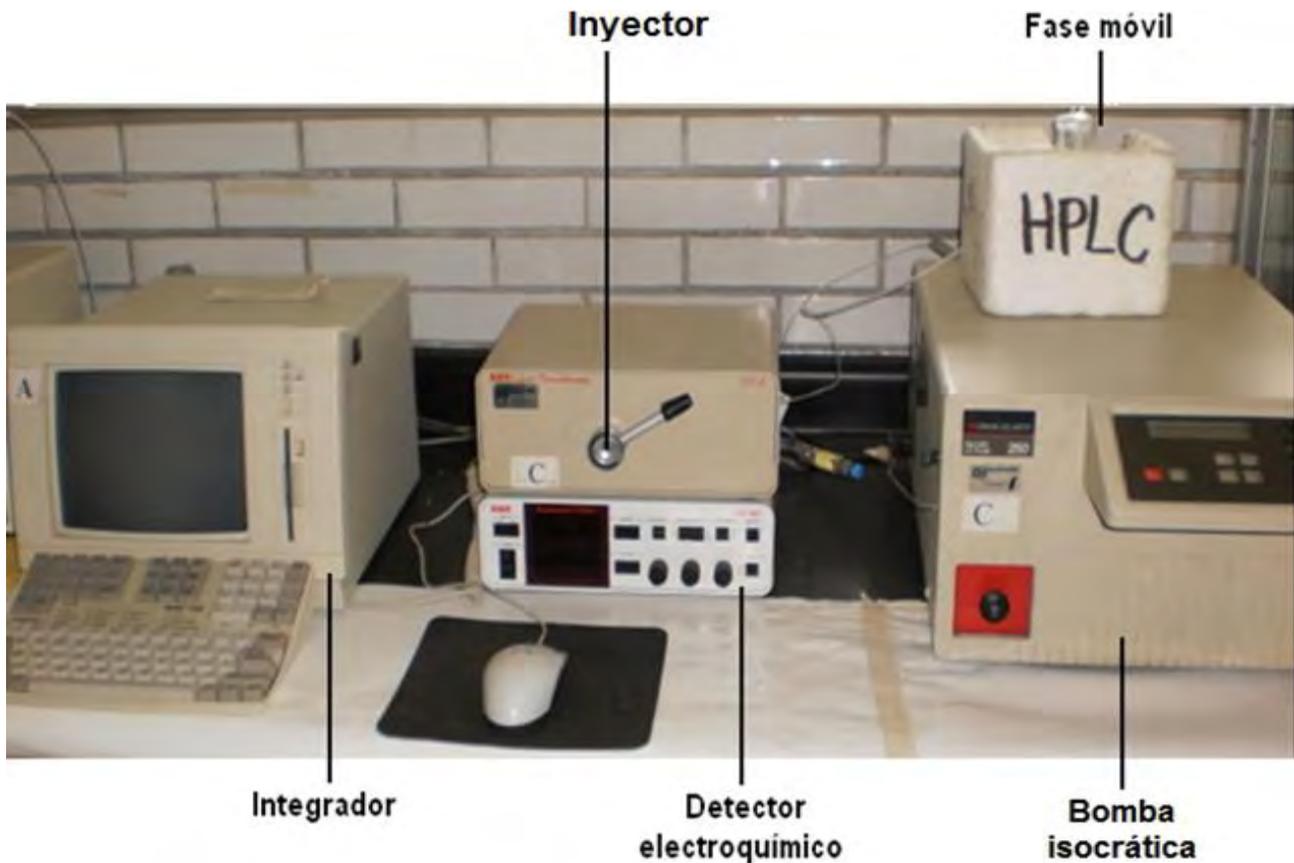


Figura 10. Sistema de cromatografía de líquidos de alta precisión (HPLC).

Cuantificación de hormonas esteroides

La cuantificación de progesterona, testosterona y 17β -estradiol se realizó por radioinmunoensayo (RIA), para lo cual se utilizó un kit comercial (Coat-A-count, EUA), la concentración de progesterona se expresó en ng/mL y la de 17β -estradiol y de testosterona en μ g/mL.

Preparación de la curva patrón de la progesterona, testosterona y del 17β -estradiol:

Progesterona

- La curva patrón se realizó por duplicado, se utilizaron calibradores de 0.1, 0.5, 2.0, 10, 20 y 40 ng/mL.
- Unión máxima: contiene anticuerpo más 1000 μ L de hormona marcada.
- Cuentas totales: contiene 1000 μ L de hormona marcada.

Testosterona

- La curva patrón se realizó por duplicado, se utilizaron calibradores de 0.0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 y 15 $\mu\text{g/mL}$.
- Unión máxima: contiene anticuerpo más 1000 μL de hormona marcada.
- Cuentas totales: contiene 1000 μL de hormona marcada.

Estradiol

- La curva patrón se realizó por duplicado, se utilizaron calibradores de 0.0, 20, 50, 150, 500, 1800 y 3600 $\mu\text{g/mL}$ y se realizaron diluciones para obtener estándares de 0.0, 5.0, 10, 20, 50, 75, 150 y 250 $\mu\text{g/mL}$.
- Unión máxima: contiene anticuerpo más 1000 μL de hormona marcada.
- Cuentas totales: contiene 1000 μL de hormona marcada.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos sobre la edad de la apertura vagina, del primer estro y del número de ovocitos liberados se analizaron por la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn. El peso corporal, de los ovarios, del útero, la concentración sérica de progesterona, testosterona, 17β -estradiol, de la NA y el MHPG se analizó por la prueba de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. La tasa de animales ovulantes (TAO) se evaluó por la prueba de probabilidad de Ji-Cuadrada. En el caso donde se realizaron comparaciones entre dos grupos se efectuó la prueba de "t" de Student. En todos los casos se consideraron diferencias significativas en aquellas en las cuales la probabilidad sea igual o menor al 5%.

RESULTADOS

1. Efectos de la administración sistémica del neurotóxico DSP₄, sobre las edades de apertura y primer estro vaginal y la primera ovulación.

En el grupo de animales que recibieron una dosis de solución salina (Vh) no se observaron modificaciones en la edad de la apertura vaginal, del primer estro, tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos. En los animales que se les administró el vehículo por tres días consecutivos liberaron menor número de ovocitos comparado con el grupo TA (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m. de la edad de la apertura vaginal (EAV), del primer estro (EPE), del número de ovocitos liberados, del peso corporal (PC), de los ovarios y del útero de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con solución salina al 0.9% (Vh) al día 30 (una dosis) o al día 30, 31 y 32 (tres dosis) días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

	TA	Una dosis	Tres dosis
n	15	15	13
EAV	36 \pm 0.9	34.6 \pm 0.6	36.3 \pm 1.3
EPE	37.6 \pm 1.3	36.4 \pm 0.6	38.8 \pm 1.1
TAO	15/15	14/15	11/13
No. ovocitos	6.8 \pm 0.8	7.3 \pm 0.7	5.1 \pm 0.8*♣
PC (g)	110.2 \pm 3.8	106.3 \pm 3.4	108.2 \pm 3
Ovarios (mg)	31.1 \pm 2.6	29.1 \pm 2.7	28.7 \pm 1.7
Útero (mg)	178.8 \pm 9.4	179.44 \pm 9.21	170.8 \pm 7.9

* p<0.05 vs. grupo TA (Kruskal-Wallis seguido de la prueba de "U" de Mann-Whitney).

♣ p<0.05 vs. grupo Vh una dosis (Kruskal-Wallis seguido de la prueba de "U" de Mann-Whitney).

En el hipotálamo anterior de los animales que se les administró tres dosis de Vh se observó mayor concentración de MHPG y de la relación MHPG/NA. No se observaron modificaciones en la concentración de NA. En cambio en hipotálamo medio disminuyó la concentración de NA y en la hipófisis fue mayor NA (Vh tres dosis: 0.14 ± 0.03 vs. 0.06 ± 0.005 , $p < 0.05$) y MHPG (1 ± 0.2 vs. 0.9 ± 0.1 , $p < 0.05$). La inyección de Vh al día 30 no modificó ninguno de los parámetros (Cuadro 2).

Cuadro 2. Media \pm e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA), del ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) y de la relación [MHPG]/[NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) en el hipotálamo anterior y medio de ratas tratadas testigo absoluto (TA) con solución salina al 0.9% (Vh) al día 30 (una dosis) o al día 30, 31 y 32 (tres dosis) días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

Grupo	NA	MHPG	[MHPG]/[NA]
Hipotálamo Anterior			
TA	1.6 ± 0.07	0.6 ± 0.07	0.30 ± 0.04
Vh (una dosis)	1.6 ± 0.1	0.4 ± 0.06	0.29 ± 0.03
Vh (tres dosis)	1.5 ± 0.1	$0.9 \pm 0.3^*$	$0.7 \pm 0.1^*$
Hipotálamo Medio			
TA	3.01 ± 0.9	1.8 ± 0.3	0.8 ± 0.5
Vh (una dosis)	3.04 ± 0.7	2.2 ± 0.3	0.9 ± 0.2
Vh (tres dosis)	1.8 ± 0.2	nd*	nd*

* $p < 0.05$ vs. grupo TA (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).
nd: no detectado por el sistema de cromatografía.

Debido a que en los animales que se les administró solución salina se observaron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados en relación al grupo testigo absoluto, los efectos producidos por la administración de DSP₄ se compararon con los resultados obtenidos de los animales que recibieron solución salina.

En comparación con los grupos de animales que se les inyectó por vía sistémica Vh, los animales que recibieron DSP₄, mostraron retraso en las edades de la apertura y del primer estro vaginal. En los animales que recibieron DSP₄ al día 30, 31 y 32 de edad disminuyó el número de ovocitos liberados. No se observaron diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes, el peso corporal, de los ovarios y del útero (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m. de las edades de la apertura vaginal (EAV), del primer estro (EPE), del número de ovocitos liberados, del peso corporal (PC), de los ovarios y del útero de ratas tratadas con solución salina (Vh) o con 50 mg/kg p.c. de DSP₄ al día 30 (una dosis) o 30, 31 y 32 días de edad (tres dosis) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

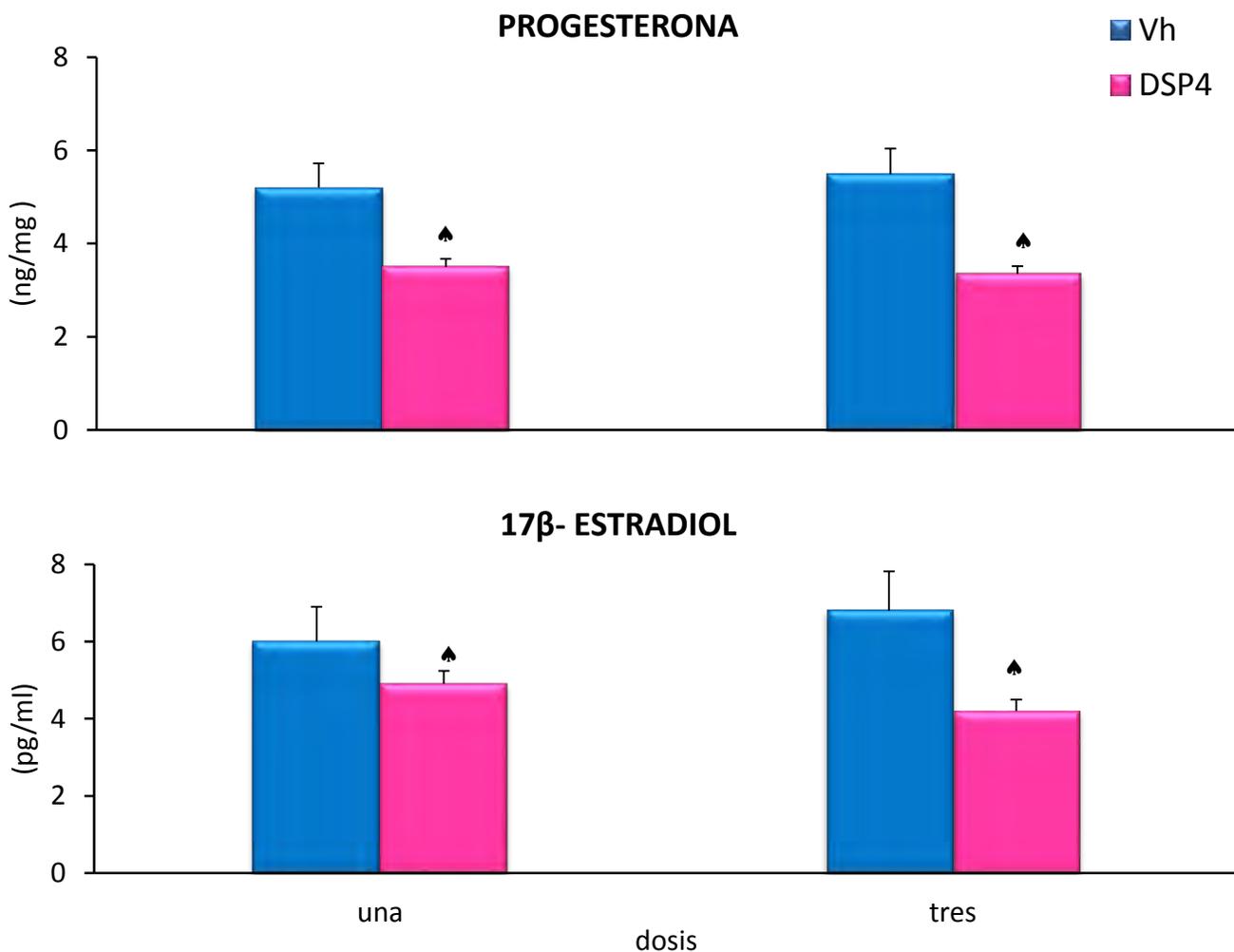
	Una dosis		Tres dosis	
	Vh	DSP ₄	Vh	DSP ₄
n	15	13	13	13
EAV	34.6 \pm 0.6	38.0 \pm 1.01 [♣]	36.3 \pm 1.3	41.3 \pm 1.1 ^{♣♦}
EPE	36.4 \pm 0.6	40.5 \pm 1.1 [♣]	38.8 \pm 1.1	42.5 \pm 0.9 [♣]
TAO	14/15	11/13	11/13	9/13
No. ovocitos	7.3 \pm 0.7	6.8 \pm 0.7	5.1 \pm 0.8	4.9 \pm 0.8 [♦]
PC(g)	106.3 \pm 3.4	115.6 \pm 4.5	108.2 \pm 3	120 \pm 3.9
Ovarios (mg)	29.1 \pm 2.7	25.3 \pm 3.8	28.7 \pm 1.7	27.1 \pm 2.7
Útero (mg)	179.4 \pm 9.2	164.33 \pm 9.7	160.4 \pm 7.9	161.2 \pm 13.1

♣ p<0.05 vs. respectivo, grupo Vh (Kruskal-Wallis seguido de la prueba de "U" de Mann-Whitney).

♦ p<0.05 vs. grupo DSP₄ con una dosis (Kruskal-Wallis seguido de la prueba de "U" de Mann-Whitney).

a) Concentración sérica de hormonas esteroides

En los animales inyectados con DSP₄, la concentración de progesterona y del 17β-estradiol fue menor en comparación con su respectivo grupo de Vh (Figura 11). No se modificó la concentración de testosterona (una dosis: 0.020±0.004 vs. 0.022±0.005; tres dosis: 0.021±0.003 vs. 0.021±0.005, NS).



♣ p<0.05 vs. respectivo, grupo Vh (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

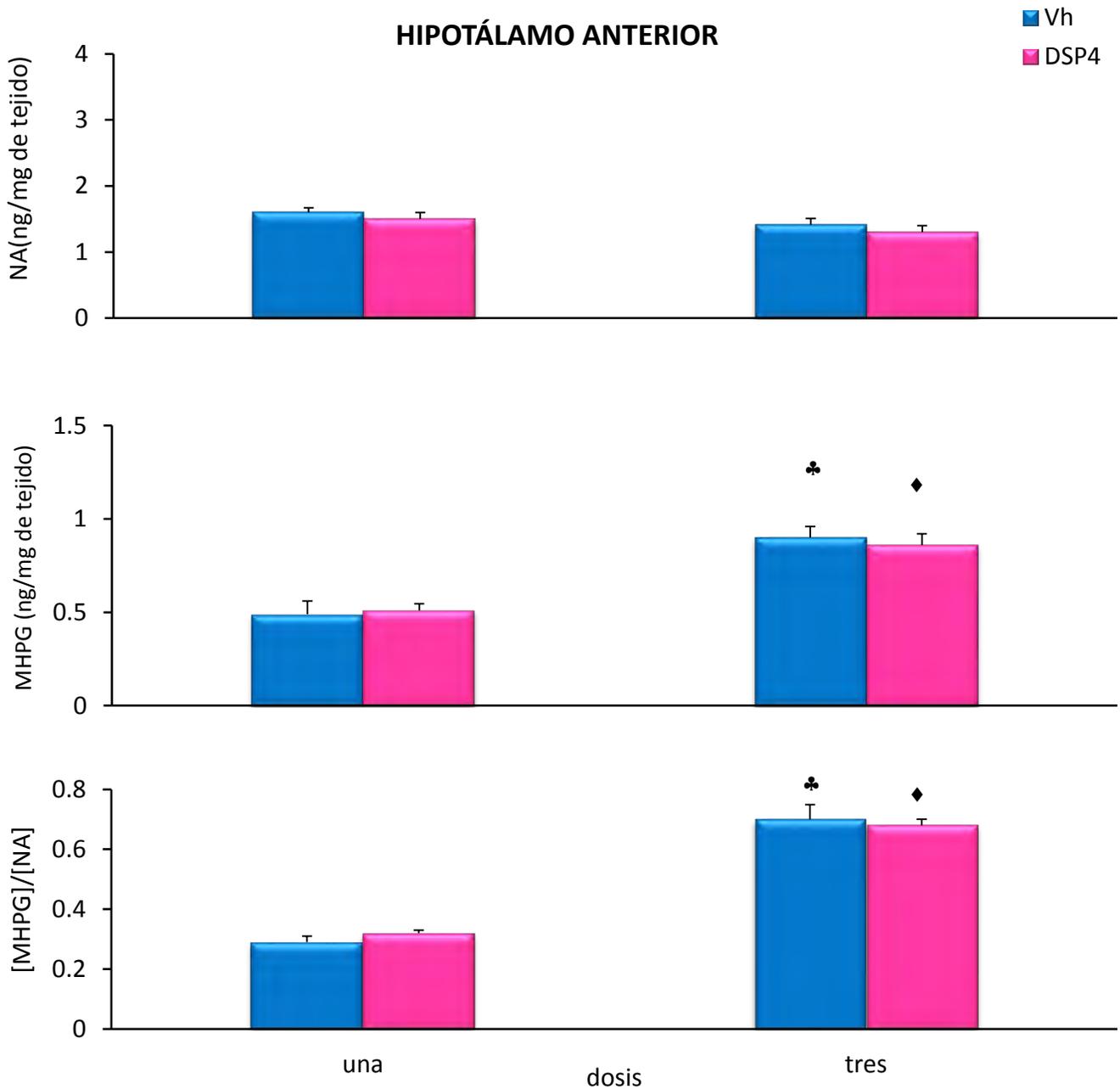
Figura 11. Media ± e.e.m de la concentración de progesterona (ng/mg) y de 17β-estradiol (pg/mL) en el suero de ratas tratadas con solución salina (Vh) o con 50 mg/kg p.c. de DSP₄ al día 30 (una dosis) o 30, 31 y 32 días de edad (tres dosis) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

b) Concentración de noradrenalina y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol en hipotálamo, hipófisis y ovarios

En el hipotálamo anterior de los animales tratados con DSP₄ la concentración de MHPG y la relación [MHPG]/[NA] fue mayor. No se observaron diferencias significativas en la concentración de NA independientemente del número de dosis que recibieron (Fig.12). En cambio, en el hipotálamo medio de los animales tratados con una dosis de DSP₄ disminuyó la concentración de NA, MHPG y la relación [MHPG]/[NA] (Figura 13).

En la hipófisis de los animales que recibieron una sola dosis de DSP₄ se observó una menor concentración de NA y de MHPG. En cambio, los animales tratados con DSP₄ al día 30, 31 y 32 de edad la concentración de NA fue mayor y la de MHPG disminuyó en relación al grupo con Vh (Figura 14).

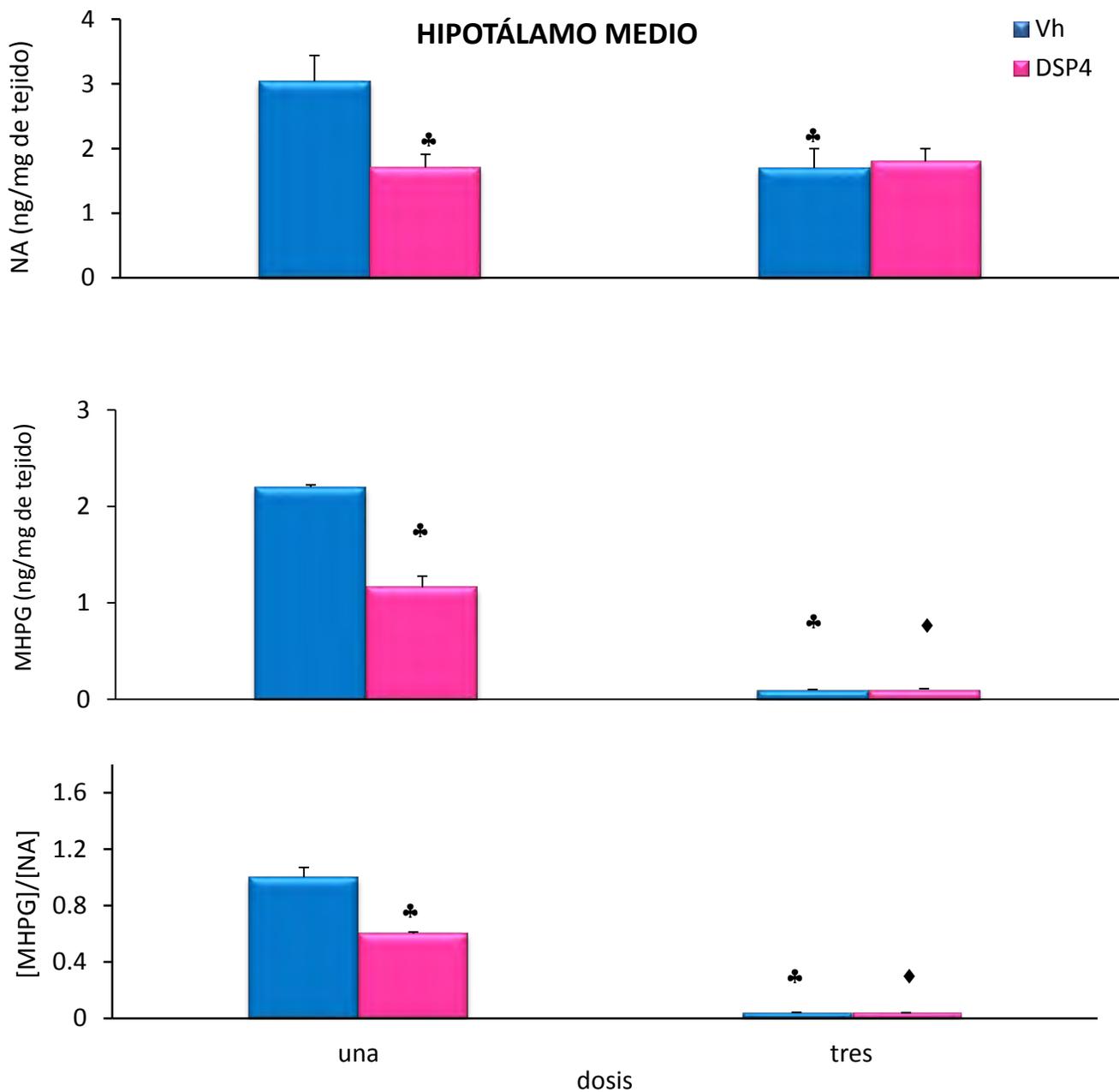
En los ovarios de los animales que se les inyectó por vía sistémica DSP₄, la concentración de NA (una dosis: 0.19 ± 0.03 vs. 0.23 ± 0.04 ; tres dosis: 0.28 ± 0.05 vs. 0.27 ± 0.09 , NS) y MHPG (una dosis 0.16 ± 0.1 vs. 0.15 ± 0.08 ; tres dosis: 0.16 ± 0.08 vs. 0.2 ± 0.1 , NS) no se modificaron con respecto a su grupo Vh.



♣ $p < 0.05$ vs. grupo Vh con una dosis (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

◆ $p < 0.05$ vs. grupo DSP₄ con una dosis (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

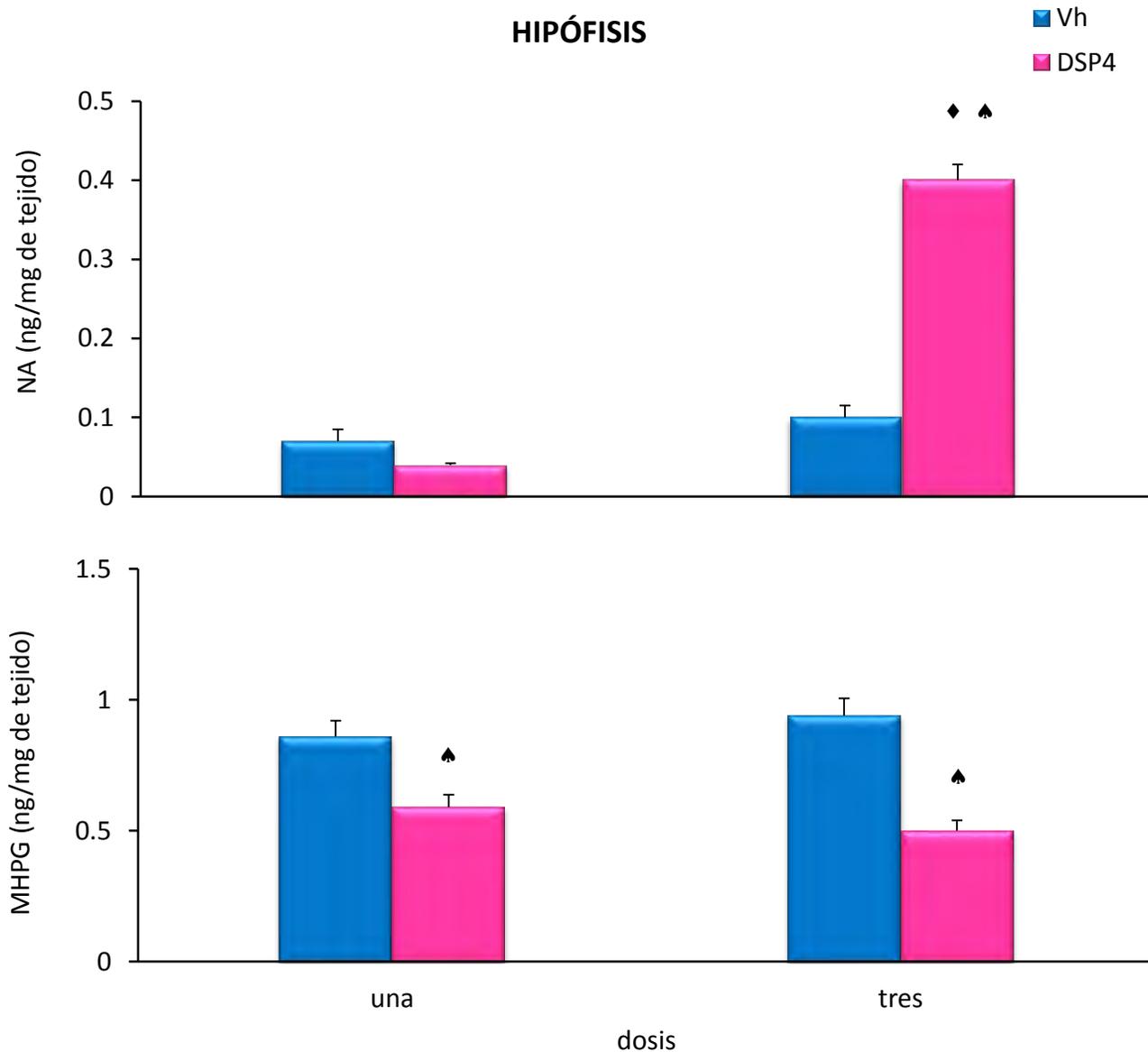
Figura 12. Media \pm e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) y la relación [MHPG/NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) en el hipotálamo anterior de ratas tratadas con solución salina (Vh) o con 50 mg/kg p.c. de DSP₄ al día 30 (una dosis) o 30, 31 y 32 días de edad (tres dosis) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal



* $p < 0.05$ vs. grupo Vh con una dosis (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

♦ $p < 0.05$ vs. grupo DSP₄ con una dosis (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Figura 13. Media ± e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) y la relación [MHPG]/[NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) en el hipotálamo medio de ratas tratadas con solución salina (Vh) o con 50 mg/kg p.c. de DSP₄ al día 30 (una dosis) o 30, 31 y 32 días de edad (tres dosis) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.



▲ $p < 0.05$ vs. respectivo, grupo Vh (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

◆ $p < 0.05$ vs. grupo DSP₄ con una dosis (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Figura 14. Media ± e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y del 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) en la hipófisis de ratas tratadas con solución salina (Vh) o con 50 mg/kg p.c. de DSP₄ al día 30 (una dosis) o 30, 31 y 32 días de edad (tres dosis) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

2. Efectos de la lesión química unilateral del LC, sobre las edades de apertura y primer estro vaginal y la primera ovulación.

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, la operación simulada del LC no modificó de manera significativa ninguno de los parámetros estudiados (Cuadro 4).

Cuadro 4. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m. de las edades de la apertura vaginal (EAV), del primer estro (EPE), del número de ovocitos liberados, del peso corporal (PC), de los ovarios y del útero de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada (OS) del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (OS-I) o derecho (OS-D) los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

	TA	LC	
		OS-I	OS-D
n	15	7	8
EAV	36 \pm 0.9	38.7 \pm 1.2	38.4 \pm 0.7
EPE	37.6 \pm 1.3	39.7 \pm 0.6	39.9 \pm 0.9
TAO	15 / 15	6 / 7	7 / 8
No. ovocitos	6.8 \pm 0.8	6.4 \pm 0.7	7 \pm 1.3
PC(g)	110.2 \pm 3.8	125.5 \pm 6	121 \pm 3.5
Ovarios (mg)	31.1 \pm 2.6	32.7 \pm 1.8	30.8 \pm 1
Útero (mg)	175.8 \pm 9.4	173.7 \pm 7.8	171.4 \pm 5.4
Progesterona	5.3 \pm 0.9	4.7 \pm 0.5	4.5 \pm 0.4
17β-estradiol	6.1 \pm 0.6	6.4 \pm 0.3	6.6 \pm 0.3
Testosterona	0.02 \pm 0.004	0.02 \pm 0.004	0.02 \pm 0.003

En los animales con lesión del LC inducida por la microinyección de DSP₄, se retrasó la edad de apertura y del primer estro vaginal, disminuyó el número de ovocitos liberados y el peso del útero en relación con los animales con operación simulada, sin modificar la tasa de animales ovulantes (Cuadro 5).

Cuadro 5. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m. de las edades de la apertura vaginal (EAV), del primer estro (EPE), del número de ovocitos liberados, del peso corporal (PC), de los ovarios y del útero de ratas con operación simulada (OS) o con lesión del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (LC-I) o derecho (LC-D) inducida por la microinyección de DSP₄ (10 μ g/1 μ l) a los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

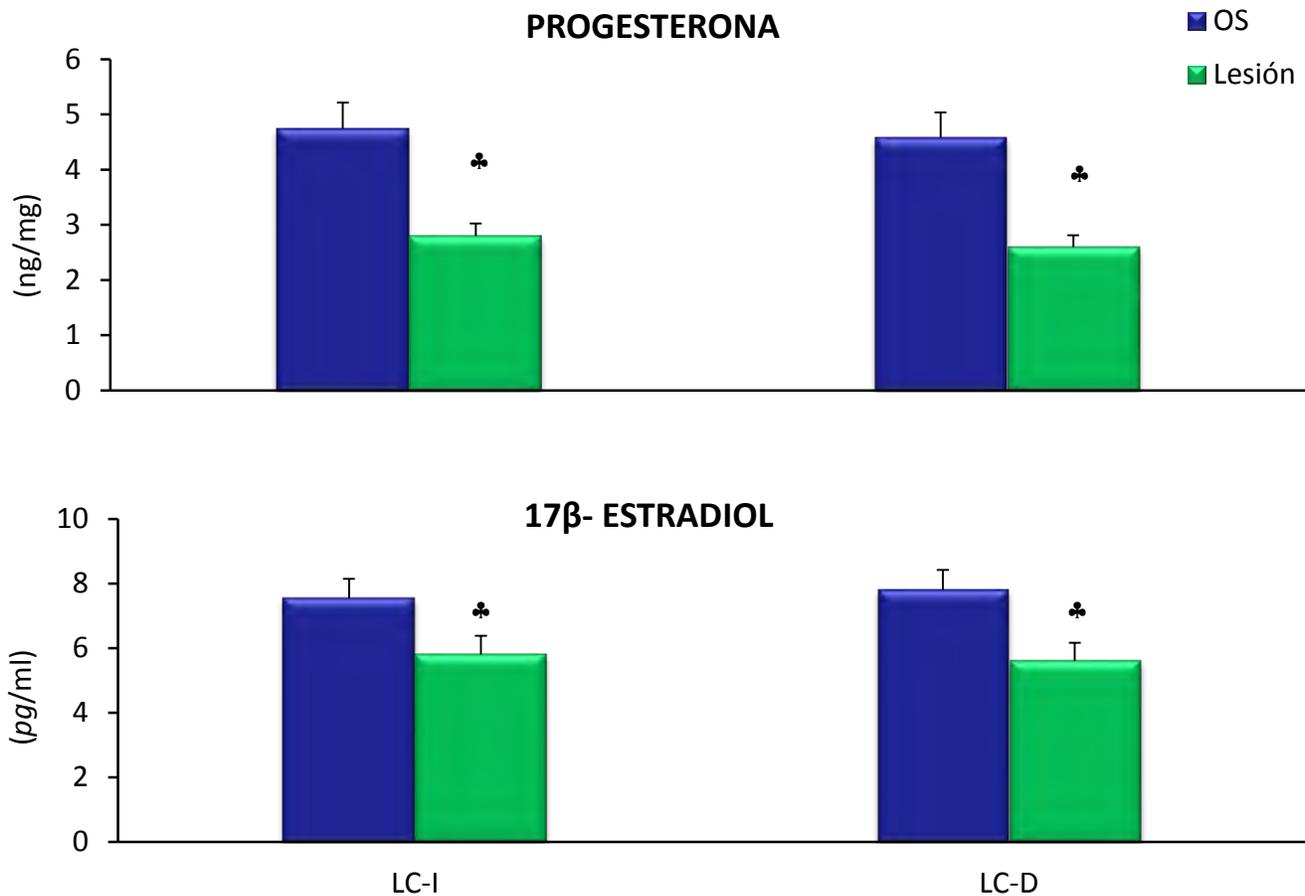
	LC-I		LC-D	
	OS	Lesión	OS	Lesión
n	7	8	8	9
EAV	38.7 \pm 1.2	43.6 \pm 1.5♣	38.4 \pm 0.7	44.4 \pm 1.3♣
EPE	39.7 \pm 0.6	44 \pm 1.1♣	39.9 \pm 0.9	45.9 \pm 1.6♣
TAO	6 / 7	5 / 8	7 / 8	6 / 9
No. ovocitos	6.4 \pm 0.7	4.6 \pm 0.5♣	7 \pm 1.3	4.5 \pm 0.2♣
PC(g)	125.5 \pm 6.07	153.7 \pm 4.5♠	121 \pm 3.5	155.6 \pm 4.6♠
Ovarios (mg)	32.7 \pm 1.8	29.8 \pm 3.5	30.8 \pm 1	30.1 \pm 1.8
Útero (mg)	173.7 \pm 7.8	136.6 \pm 7.8♠	171.4 \pm 5.4	138.7 \pm 3.8♠

♣ p<0.05 vs. respectivo, grupo OS (Kruskal-Wallis seguido de la prueba de "U" de Mann-Whitney).

♠ p<0.05 vs. respectivo, grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

a) Concentración sérica de hormonas esteroides

En los animales con lesión del LC, la concentración de progesterona y de 17 β -estradiol fue menor en comparación con su respectivo grupo de operación simulada (Figura 15). No se modificó la concentración de testosterona (LC-I: 0.02 \pm 0.004 vs. 0.021 \pm 0.005; LC-D: 0.022 \pm 0.003 vs. 0.02 \pm 0.005, NS).



* $p < 0.05$ vs. respectivo, grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Figura 15. Media \pm e.e.m de la concentración de progesterona (ng/mg) y de 17 β -estradiol (pg/mL) en el suero de ratas con operación simulada (OS) o con lesión del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (LC-I) o derecho (LC-D) inducida por la microinyección de DSP₄ (10 μ g/1 μ l) a los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

b) Concentración de noradrenalina en el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios

Para analizar si la lesión unilateral del LC modifica las concentraciones de la NA, del MHPG y la relación [MHPG]/[NA] en el hipotálamo anterior y medio, la concentración de NA y MHPG en hipófisis y los ovarios y si dichos cambios están vinculados al inicio de la pubertad y primera ovulación, se decidió evaluar los efectos de la lesión química unilateral inducida por la inyección del neurotóxico DSP₄.

La lesión unilateral no modificó la concentración de NA en el hipotálamo anterior (Figura 16). En el hipotálamo medio disminuyó la concentración de NA y aumento la relación [MHPG]/[NA] (Figura 17). En la hipófisis fue menor la concentración de NA y MHPG en los animales con lesión (Figura 18).

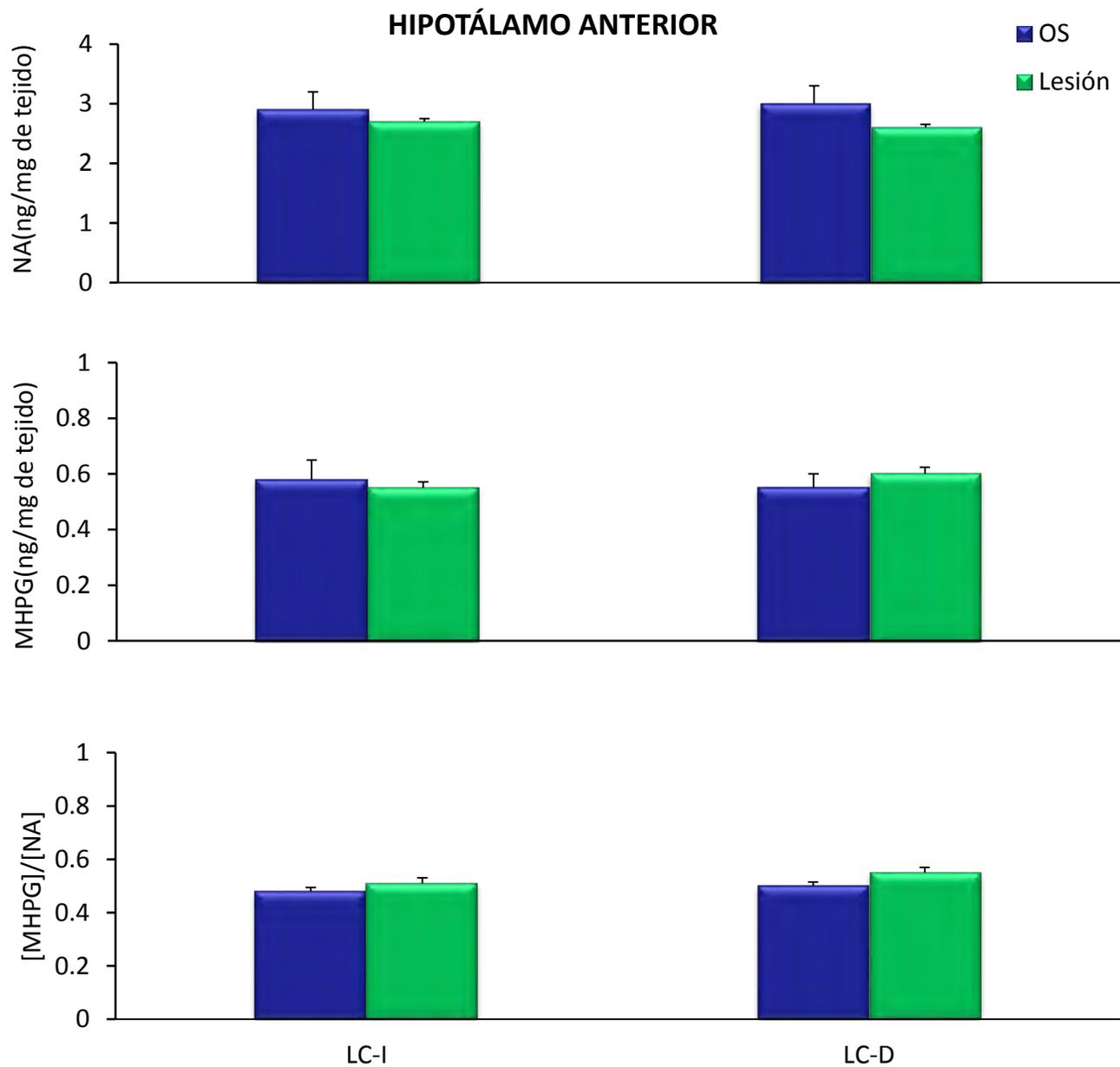
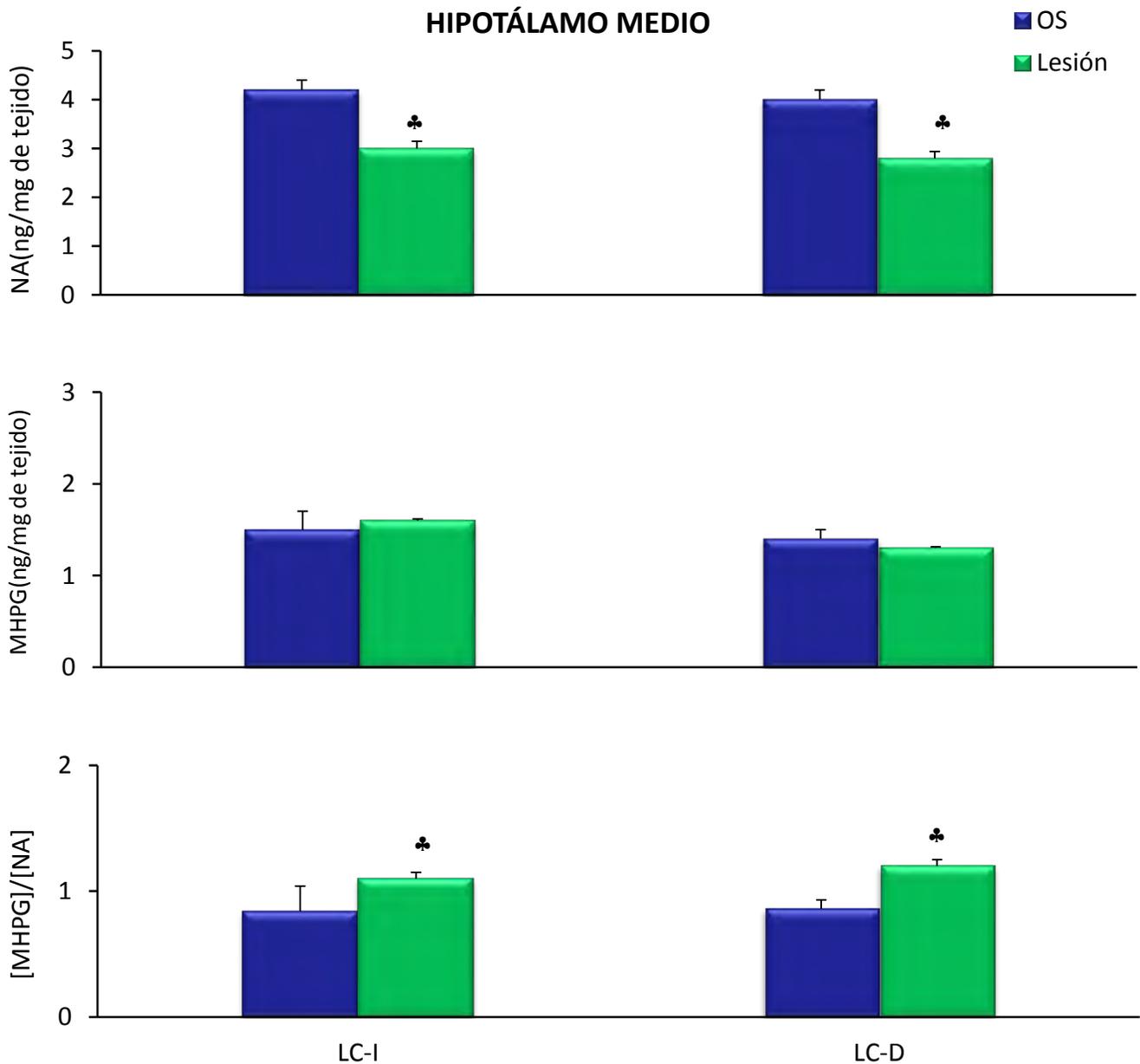
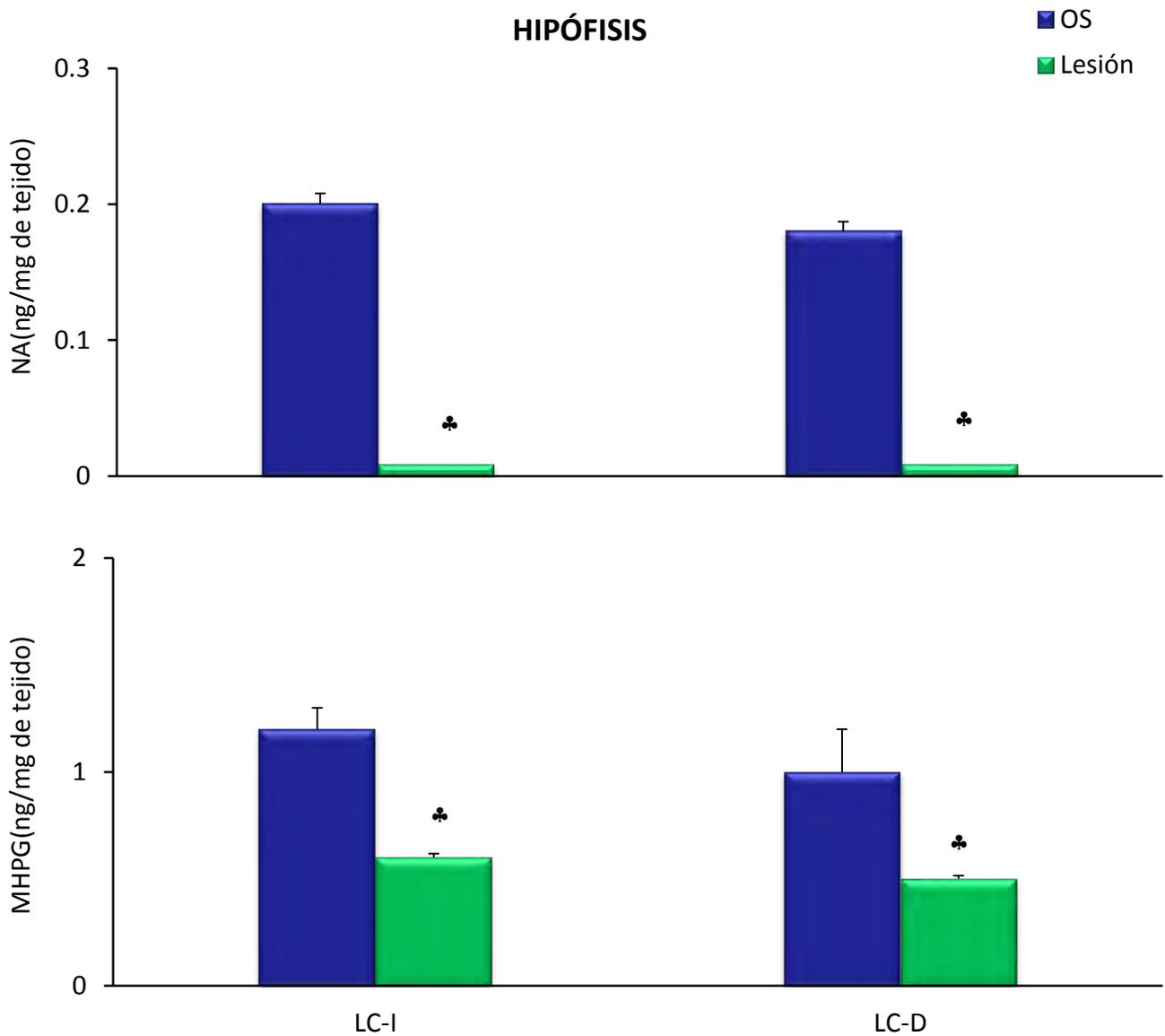


Figura 16. Media \pm e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) y la relación [MHPG/NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) en el hipotálamo anterior de ratas con operación simulada (OS) o con lesión del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (LC-I) o derecho (LC-D) inducida por la microinyección de DSP₄ (10 μ g/1 μ L) a los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.



♣ p<0.05 vs. respectivo, grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Figura 17. Media± e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol (MHPG) y la relación [MHPG/NA] (actividad de la neurona noradrenérgica) en el hipotálamo medio de ratas con operación simulada (OS) o con lesión del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (LC-I) o derecho (LC-D) inducida por la microinyección de DSP₄ (10 µg/1µL) a los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. respectivo, grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Figura 18. Media \pm e.e.m de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA) y de 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol en la hipófisis de ratas con operación simulada (OS) o con lesión del *locus coeruleus* (LC) izquierdo (LC-I) o derecho (LC-D) inducida por la microinyección de DSP₄ (10 μ g/1 μ l) EN a los 30 días de edad y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio permiten sugerir que en el animal prepúber, la inervación noradrenérgica del hipotálamo que se origina del núcleo *locus coeruleus*, participa de manera estimulante en los mecanismos neuroendocrinos que regulan el inicio de la pubertad y la primera ovulación.

La disminución en el número de ovocitos liberados observada en los animales tratados con vehículo por vía sistémica, puede ser resultado de modificaciones en la secreción de las gonadotropinas inducida por estrés provocado por la inyección intraperitoneal, lo que posiblemente resultó en el incremento de la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) por la hipófisis y de los corticoides por la suprarrenal. Se ha mostrado que en animales en diferentes situaciones de estrés se incrementa la secreción de ACTH y corticoides (Matteri y colaboradores, 1984; Turner y Tilbrook, 2006;). En ratas adultas castradas o en borregos en proestro el implante de corticoides disminuye la secreción de GnRH y como consecuencia de FSH y LH (Li y colaboradores, 2004; Oakley y colaboradores, 2009; Breen y Mellon, 2013). Además en la rata prepúber el implante de cortisol en el hipotálamo medio induce la pérdida de ciclicidad, disminuye el peso de los ovarios y del útero, eventos que se acompañan del bloqueo de la primera ovulación (Smith y colaboradores, 1971). En conjunto estos resultados les permitieron sugerir que los corticoides regulan de manera inhibitoria la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas

El retraso en la edad de la apertura y del primer estro vaginal observada en los animales que recibieron DSP₄ por vía sistémica independiente del régimen de administración puede ser el reflejo de la modificación temporal en la secreción de estrógenos que precede al pico preovulatorio de las gonadotropinas. Dichas hormonas propician la ruptura del epitelio que recubre a la vagina, estimula el crecimiento de las células epiteliales del órgano, la pérdida de su núcleo y la apariencia de escama (Hisano, 1977; Steinetz, 1978). La baja concentración de estrógenos observada en estos animales apoya esta interpretación.

Este evento podría estar vinculado a modificaciones en la secreción de FSH y LH debido a menor concentración de NA en el hipotálamo. En apoyo a esta idea se ha descrito que la FSH al unirse su receptor en las células de la granulosa activa el complejo enzimático

que cataliza la aromatización de los andrógenos y LH en las células de la teca activa la formación del AMPc, que activa la cascada de señalización que conduce a la síntesis de testosterona (Gore-Langton y Armstrong, 1994). En la rata prepúber tratado con estrógenos y progesterona la denervación noradrenérgica inducida por el DSP4 inhibe la secreción preovulatoria de LH (Jacobson y colaboradores, 1989). Otra posible explicación sería el resultado de la acción del fármaco directamente en el ovario al modificar la actividad del complejo P450 aromatasa como se ha observado en otras especies en SNC. Balthazar y Ball (1989) mostraron que en la codorniz japonesa castrada y tratada con testosterona la inyección sistémica de DSP4 incrementa la actividad aromatasa en el área preóptica e inhibe la secreción de LH.

La disminución en el peso del útero en los animales de DSP₄, es resultado de la disminución en la concentración de los estrógenos. Se sabe que los estrógenos al actuar en el útero regulan su crecimiento, al estimular la división de las células epiteliales, el desarrollo del endometrio y miometrio, la síntesis de proteínas y la permeabilidad del útero (Steinetz, 1978; Montes y Luque, 1998; Tresguerres y Castillo, 2003).

El menor número de ovocitos liberados en los animales que recibieron tres dosis de DSP₄, puede ser resultado de la disminución en la secreción de las gonadotropinas inducido por una menor concentración de NA en el hipotálamo medio. Es posible que al disminuir la información noradrenérgica que llega al hipotálamo, la secreción de FSH y LH fue insuficiente para mantener el desarrollo folicular y culminar con la ovulación. La FSH al llegar al ovario y actuar en las células de la granulosa estimulan el crecimiento y diferenciación del folículo ovárico y la LH favorece la expulsión del ovocito del folículo (Hunzicker-Dunn y Mayo, 2006; Rajkovic y colaboradores, 2006). Kang y colaboradores (1998) mostraron que la administración de DSP₄ a ratas prepúberes castradas y tratadas con estradiol bloquea la secreción de GnRH y LH inducida por progesterona, eventos que se acompañan de menor concentración de NA en el hipotálamo. Estas evidencias permiten pensar que el DSP₄ atraviesa la barrera hematoencefálica y causa neurotoxicidad en las neuronas productoras de NA lo que pudo haber modificado la secreción de GnRH y como consecuencia la comunicación neural entre el *locus coeruleus*-hipotálamo-hipófisis y que a falta de esta vía, un menor número de folículos alcanzaron la etapa de preovulatorios y se liberaron menos ovocitos en el día del primer estro vaginal (Figura 18).

La disminución en el número de ovocitos liberados en los animales con DSP₄ vía sistémica, no puede explicarse por modificaciones en el sistema noradrenérgico del ovario, debido a que no se observan cambios en la concentración del neurotransmisor en el órgano. Se ha mostrado que la fuente de NA en el ovario es la inervación simpática (Burden y Lawrence, 1978) y la síntesis de “novo” (Anesetti y colaboradores, 2001; D’Albora y colaboradores, 2000), además NA regulan a nivel local las funciones del ovario (Anesetti y colaboradores, 2001; Lara y colaboradores 1999; Paredes y colaboradores 2011). Goldman y colaboradores (1996) mostraron que en la rata adulta en proestro la inyección directa de DSP₄ en la bursa del ovario disminuye o bloquea la ovulación acompañado de una menor y disminuye la concentración de NA en la gónada, mientras que la administración previa de desipramina (inhibidor de la recaptura de NA) disminuye la ovulación y no modifica noradrenalina. Con estos resultados a los autores sugieren que el efecto antiovulatorio de DSP₄ es independiente de los cambios en la concentración de la catecolamina y dicha respuesta es resultado de la integridad funcional del proceso de ovulación.

Diversas evidencias experimentales señalan que el DSP₄ es un fármaco que atraviesa la barrera hematoencefálica e induce citotoxicidad selectiva de las neuronas noradrenérgicas (Szot y colaboradores, 2010) que sus efectos se manifiesta en la disminución de la concentración de la NA en SNC desde los 60 minutos y que sus efectos se mantienen aun después de haber transcurrido 60 días (Grzanna y colaboradores, 1989). Por lo anterior podemos sugerir que los cambios en la ovulación observados en los animales que recibieron el neurotóxico por vía sistémica están vinculados a una menor secreción de GnRH y como consecuencia de FSH y LH inducido por un menor aporte de NA en el hipotálamo.

La menor concentración sérica de progesterona en los animales tratados con DPS₄ por vía sistémica independientemente del régimen de administración, posiblemente es resultado de que se formó un menor número de cuerpos lúteos en los ovarios de estos animales, debido a una menor secreción de LH. Diversos autores han mostrado que en el ovario la fuente principal de progesterona es el cuerpo lúteo que se forma por la acción de la LH que induce la luteinización de las células de la teca de los folículos preovulatorios que liberan el ovocito (Couse y colaboradores, 2006; Stouffer y Zelinski-Wooten, 2004; Tresguerres y Castillo, 2003). Está idea es apoyada por el hecho de que estos animales ovularon un menor número de ovocitos posiblemente resultado de que un menor número de

folículos iniciaran su crecimiento y diferenciación, debido a una menor secreción de FSH, lo que se traduce que pocos folículos alcanzaran la etapa preovulatoria y ovularan al primer estro vaginal.

Las modificaciones en la secreción de progesterona y estradiol en los animales tratados con DSP₄ posiblemente se deben a la disminución de la secreción de las gonadotropinas. Ambas hormonas regulan el proceso de esteroidogénesis, la LH incrementa la recaptura del colesterol (precursor de las hormonas esteroideas) y FSH, activa a la aromatasas, enzima que aromatiza a los andrógenos en la síntesis de estrógenos (Domínguez y colaboradores, 1991; Gore-Langton y Armstrong, 1994; Couse y colaboradores, 2006). En apoyo a esta interpretación, se ha mostrado que en la rata prepúber tratada con estrógenos y progesterona la administración sistémica de DSP₄ bloquea la secreción preovulatoria de la LH (Jacobson y colaboradores, 1988). Estos resultados apoyan la teoría de que en el animal prepúber el sistema noradrenérgico regula de manera estimulante la secreción de las gonadotropinas.

El hecho de que en el hipotálamo medio de los animales tratados por vía sistémica con DSP₄, disminuyó la concentración de NA y en el hipotálamo anterior no se modificó, lo que permite suponer que la inervación del hipotálamo proveniente del *locus coeruleus*, es de manera diferencial. Esta idea es apoyada por las evidencias anatómicas que sugieren el hipotálamo anterior es inervado de la parte anterior del núcleo, mientras que el hipotálamo medio es inervado por la parte posterior del núcleo y que una vez que el DSP₄ atraviesa la barrera hematoencefálica induce neurotoxicidad a las neuronas provenientes de la parte posterior del núcleo; sin embargo, el mecanismo de neurotoxicidad aún no es claro (Zhang y colaboradores, 1995).

La disminución en la concentración de MHPG en la hipófisis en los animales tratados con DSP₄ puede ser resultado de la acción neurotóxica de dicho fármaco en las células que producen noradrenalina en la glándula. Al respecto, en la hipófisis posterior y en el lóbulo intermedio se ha identificado fibras nerviosas (Saland y Comunas, 1985) y la tiroxina hidroxilasa, enzima limitante de la síntesis de catecolaminas (Saland y colaboradores, 1988; Schussler y colaboradores, 1992; Vanhatalo y colaboradores, 1995).

Hasta el momento no se tiene una explicación al aumento en la concentración de NA en la hipófisis de los animales que recibieron tres dosis de DSP₄. Es posible que se incrementara el aporte de NA por la inervación que se origina de la región A2 como se ha propuesto o puede ser que ante la disminución de NA con una dosis de DSP₄, posiblemente el sistema de compensación incrementó la síntesis de este neurotransmisor en dicha glándula. Esta idea es apoyada por las evidencias que señalan que en la hipófisis, se encuentra la enzima tiroxina hidroxilasa (Schussler y colaboradores, 1992).

El retraso de la edad de apertura y del primer estro vaginal en los animales con lesión unilateral del LC, es resultado de la disminución en la secreción de estrógenos, el hecho de que en estos animales se observó menor concentración de la hormona apoya esta idea. Se sabe que los estrógenos son uno de los factores que inducen el rompimiento del epitelio que recubre a la vagina y se ve una mayor secreción en días cercanos al inicio de la pubertad (Steinetz, 1978; Hisano, 1977; Ojeda y Skinner, 2006). Además se ha mostrado que una mayor secreción de LH induce en el ovario mayor producción de estrógenos (Becú y Lacaú, 1990).

El menor número de ovocitos liberados, observado en los animales con inyección localizada del DSP₄ en el LC no puede ser explicado por una menor concentración de NA en el ovario, dado que en estos animales no se modificó dicho neurotransmisor. El ovario se encuentra inervado por los sistema noradrenérgico, que viaja por el nervio ovárico superior y el plexo ovárico, peptidérgico y colinérgico (nervio vago) (Burden, 1980, 1985). Esta inervación llega al estroma ovárico, a las células de tejido muscular liso que rodea a la teca externa de los folículos primordiales y en desarrollo, al tejido intersticial y a lo largo de los vasos sanguíneos que rodean a folículo ovárico (Anesetti y colaboradores, 2001; Burden, 1980, 1985) y regula de manera directa el desarrollo folicular en el ovario (Lara y colaboradores, 1990; Ricu y colaboradores, 2008; Paredes y colaboradores, 2011). Gerendai y colaboradores (2005) sugieren que el nervio vago es una de las vías de comunicación neural entre el ovario y algunas regiones del SNC como el hipotálamo y el LC. Estudios que emplean técnicas de histoquímica muestran que la medula espinal recibe inervación noradrenérgica del LC (Loughlin y Fallon 1985). Con base en lo anterior es posible pensar que el *locus coeruleus* no participa de manera directa en el transporte de NA que transcurre

por medio de la información neural que llega a las gónadas o en la “síntesis de novo” y por ende en las funciones de la gónada

Estos resultados permiten pensar que, la disminución del ovocitos observada en los animales con lesión unilateral del LC puede ser el resultado de la disminución en la secreción de las gonadotropinas, inducida por una menor concentración de NA y un aumento en la relación MHPG/NA en el hipotálamo medio. Es posible suponer que la inervación noradrenérgica que se origina en el LC y llega al hipotálamo medio regule de manera estimulante la liberación de GnRH (Figura 19). En apoyo a esta idea, existen evidencias señalan que en la rata adulta en proestro la lesión electroquímica bilateral del LC resulta en el bloqueo del pico preovulatorio de LH y falta de ovulación (Anselmo-Franci y colaboradores, 1997; Anselmo-Franci y colaboradores, 1999) y este evento es revertido cuando se estimula la región MPOA (Dotti y Taleisnik, 1982).

También es posible pensar que la modificación en la ovulación en los animales con lesión del LC es resultado de que la inervación noradrenérgicas que se origina en el LC modula la secreción de las gonadotropinas, vía la activación del núcleo dorsal del rafé (NDR). En estudios anatómicos se ha mostrado que el NDR recibe inervación noradrenérgicas del LC (Kaehle y colaboradores, 1999). En estudios experimentales han mostrado que el NDR regula de manera estimulante la liberación preovulatoria de LH y que la administración de serotonina en el LC en animales con lesión electroquímica de NDR restaura la secreción preovulatoria de LH (Morello y Taleisnik (1988)

Las modificaciones en la secreción de progesterona y estradiol permiten suponer, que hubo menor desarrollo folículos en crecimiento y de cuerpos lúteos posiblemente por modificaciones en la secreción de FSH y LH, ya que son ambas hormonas son fundamentales en el proceso de esteroidogénesis (Tresguerres y Castillo, 2003). Estos resultados concuerdan los obtenidos cuando se administró DSP₄ por vía sistémica.

El aumento del peso corporal observado en los animales con lesión no puede ser explicado por una mayor secreción de la hormona del crecimiento (GH) inducido por la lesión, esta idea es apoyada por las evidencias que señalan que la lesión del LC inducida por un neurotóxico como 6-hidroxidopamina a ratas adultas castradas no modifica la

concentración de la GH (Endröczy y colaboradores, 1978). Es posible que esta respuesta sea el resultado que durante los primeros días del desarrollo de la rata, la concentración de GH es baja, se incrementa al final de la etapa juvenil y continúa aumentando en los días cercanos al inicio de la pubertad, lo que explica el mayor desarrollo de los animales (Ojeda y colaboradores, 1990). El hecho de que en estos animales se retrasara la apertura vaginal y el primer estro implica un mayor desarrollo corporal y por lo tanto mayor peso.

La disminución en la concentración de NA en el hipotálamo medio de los animales con microinyección de DSP₄ en el LC concuerda con el hecho de que esta benzilamina es un fármaco que daña selectivamente a las neuronas noradrenérgicas al formar iones aziridium que daña a las proteínas de la membrana de la mitocondrial y al ADN (Szot y colaboradores, 2010). El aumento en la relación [MHPG/NA] permite pensar que en esta área el sistema noradrenérgico se encuentra activo. El hecho de que en el hipotálamo anterior no se modificó la concentración de NA y MHPG, permite suponer que LC no envía proyecciones a dicha región pero si a la región de la eminencia media y al núcleo arcuato. Esta idea ha sido planteada por otros autores que sugieren que LC contribuye con inervación del núcleo dorsomedial y la eminencia media y que no contribuye con las otras áreas del hipotálamo (Loughlin y colaboradores, 1986).

Otra posibilidad es que exista una neurotoxicidad selectiva entre las neuronas noradrenérgicas en el LC. Zhang y colaboradores (1995) mostraron que en el macho adulto la inyección de DSP₄ por tres días consecutivos con 50mg/kg de pc., no induce cambios en el número de células inmunoreactivas a DBH en la parte anterior del núcleo pero si en la parte posterior. Loughlin y colaboradores (1986) mostraron que los axones noradrenérgicos que llegan al hipotálamo se origina de la región anterior del LC. Sin embargo hasta el momento no es claro el mecanismo de neurotoxicidad del DSP₄. El hecho de que la administración por vía sistémica de la bromobenzilamina provocara cambios semejantes a los de la lesión unilateral de LC permite apoyar esta interpretación.

La disminución en la concentración de NA en hipófisis observada en los animales con lesión unilateral del LC, permiten suponer que existe una relación neural entre el LC y la glándula. Sin embargo, hasta el momento no existe información anatómica o experimental

que apoyen esta idea, pero es posible pensar que al microinyectar el neurotóxico en el LC disminuyera el aporte de NA a la hipófisis. En apoyo a esta idea se ha mostrado que en la rata la hipófisis posterior recibe inervación de la región A2 (Bicknell y colaboradores, 1988).

En conjunto, estos resultados nos permiten sugerir que en la rata juvenil el sistema noradrenérgico que se origina del núcleo *locus coeruleus* participa de manera estimulante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las gonadotropinas y como consecuencia la ovulación y la secreción de hormonas esteroides.

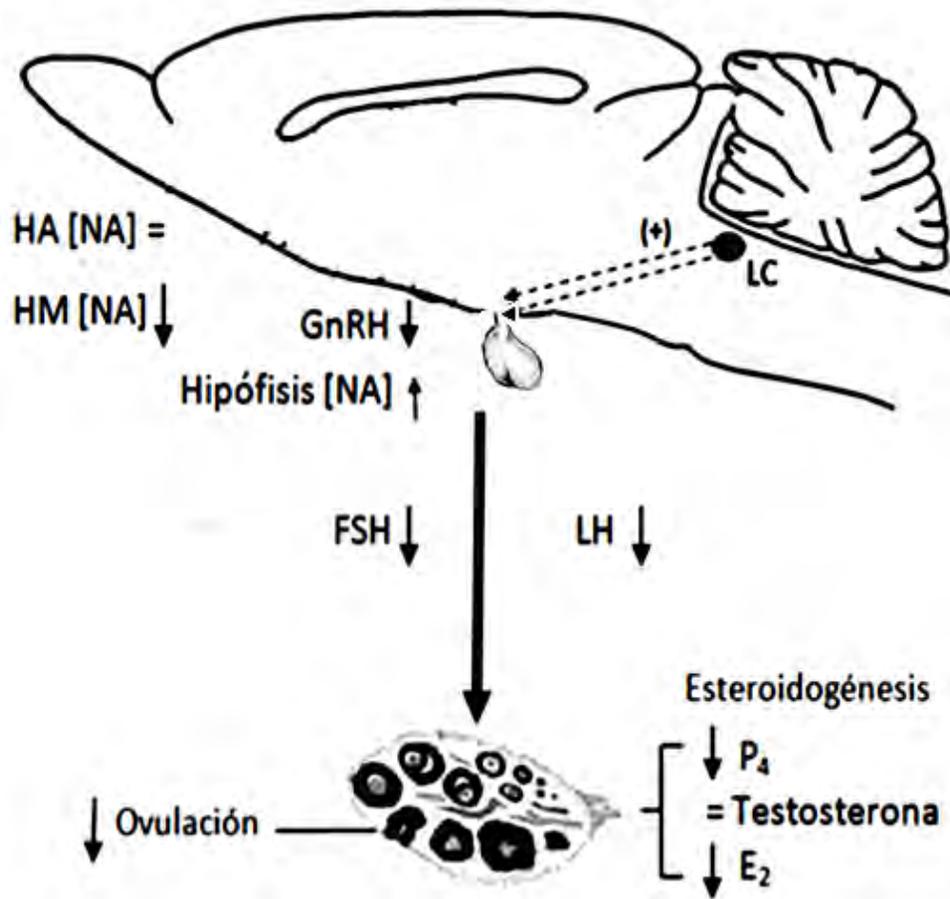


Figura 18. Modelo propuesto de la posible participación del sistema noradrenérgica en el animal de 30 días de edad tratado con DSP₄ por vía sistémica. La flecha ↓ indica la disminución en la concentración, la flecha ↑ indica el aumento en la concentración, el signo = indica que no hay cambio en la concentración, el signo + indica efectos estimulantes, *locus coeruleus* (LC), hipotálamo anterior (HA), hipotálamo medio (HM), noradrenalina (NA), N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄), hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), hormona estimulante del folículo (FSH), hormona luteinizante (LH), estrógenos (E₂) y progesterona (P₄).

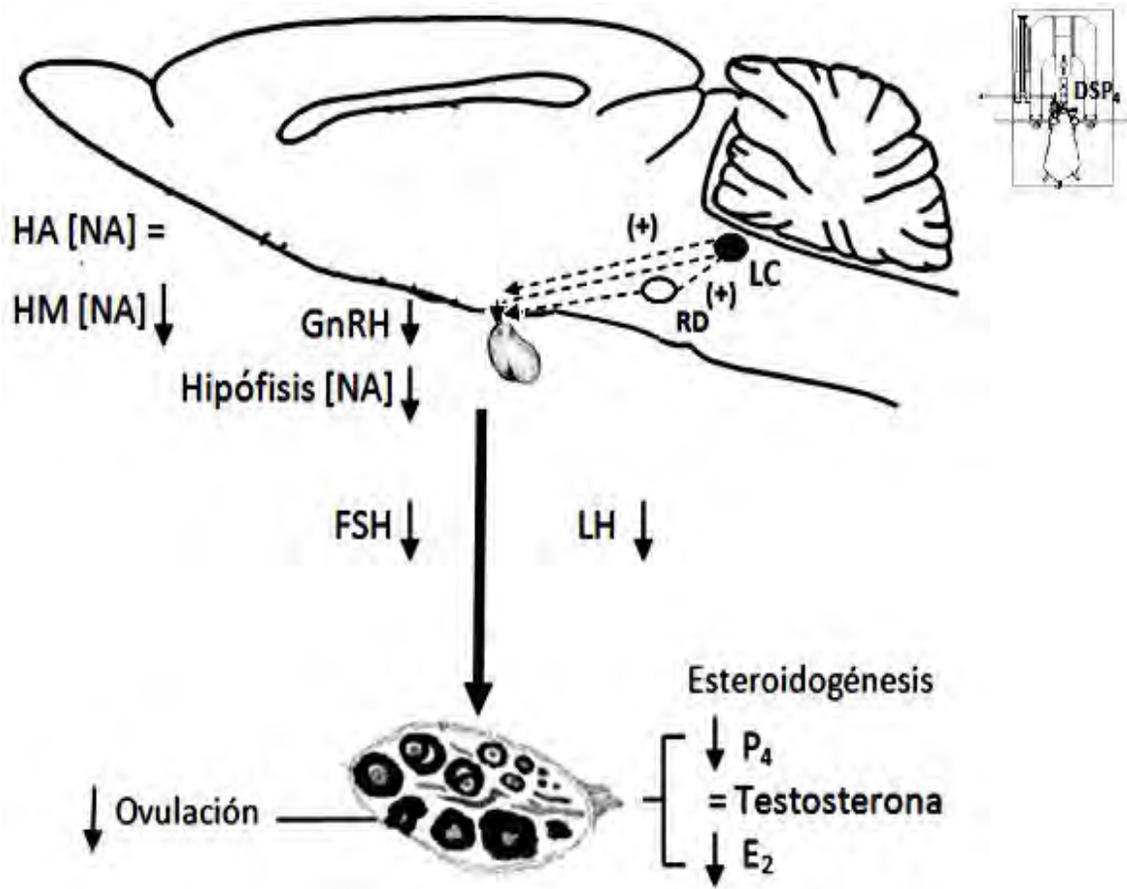


Figura 19. Modelo propuesto de la posible participación del sistema noradrenérgico que se origina en el LC en el animal de 30 días de edad con lesión localizada del *locus coeruleus* inducida por DSP₄. La flecha ↓ indica la disminución en la concentración; el signo = indica que no hay cambio en la concentración, el signo + indica efectos estimulantes; *locus coeruleus* (LC); núcleo dorsal del rafe (RD), hipotálamo anterior (HA), hipotálamo medio (HM), N-2-cloroetil-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP₄), noradrenalina (NA), hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), hormona estimulante del folículo (FSH), hormona luteinizante (LH), estrógenos (E₂) y progesterona (P₄).

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio proponemos que:

- En el animal prepúber, el sistema noradrenérgico participa de manera estimulante en la modulación de los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad.
- En el animal prepúber, el sistema noradrenérgico que se origina en el *locus coeruleus* participa de manera estimulante en la regulación de la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.
- En el animal prepúber, la lesión de las neuronas noradrenérgicas del *locus coeruleus*, afectan de forma diferencial al sistema noradrenérgico del hipotálamo.
- Es posible que exista una comunicación neural entre el *locus coeruleus* y la hipófisis y que podría participar en la regulación de la secreción de las gonadotropinas.

BIBLIOGRAFÍA

Advis, JP., Andrews, WW., Ojeda, SR. (1978). Relation of biogenic amines to onset of puberty in the female rat. *Endocrinology*. 103: 11-16.

Annesetti, G., Lombide, P., D`Albora, H., Ojeda, SR. (2001). Intrinsic neurons in the human ovary. *Cell and Tissue Research*. 306(2): 231-237.

Anselmo-Franci, JA., Rocha-Barros, VM., Franci, CR., McCann, SM. (1999). Locus ceruleus lesions block pulsatile LH release in ovariectomized rats. *Brain Research*. 833: 86-92.

Anselmo-Franci, JA., Franci, CR., Krulich, L., Antunes-Rodrigues J., McCann, SM. (1997). Locus Coeruleus lesions decrease norepinephrine input into the medial preoptic area and medial basal hypothalamus and block the LH, FSH and prolactin preovulatory surge. *Brain Research*. 767(2): 289-296.

Arata de Bellabarba, G., Bishop, A., Rojas, FJ. (1981). El inicio de la pubertad en la rata hembra. *Acta Científica Venezolana*. 32: 457-462.

Arechavaleta-Velasco, F., Díaz-Cueto, L., Domínguez-López, P. (2009). Pesticidas organoclorados y sus efectos en la esteroidogénesis ovárica. *Mensaje Bioquímico*. 33: 61-69.

Balthazar, J., Ball, GF. (1989). Effects of the noradrenergic neurotoxin DSP-4 on luteinizing hormone levels, catecholamine concentrations, alpha 2-adrenergic receptor binding, and aromatase activity in the brain of the Japanese quail. *Brain Research*. 492(2): 163-175.

Becú, D., Lacau, I. (1990). Control Hormonal del Desarrollo Puberal en la rata hembra. *Acta Physiologica et Pharmacologica Latinoamericana*. 40:1-17.

Berger, OG., Fasmer, OB., Tveiten, L., Hole, K. (1985). Selective neurotoxic lesions of descending serotonergic and noradrenergic pathways in the rat. *Journal of Neurochemistry*. 44: 1156-1161

Bernuci, MP., Szawka, RE., Helena, CV., Leite, CM., Lara, HE., Anselmo- Franci, JA. (2008). Locus Coeruleus mediates cold stress-induced polycystic ovary in Rats *Endocrinology*. 149(6): 2907-2916.

Bicknell, RK., Dyball, RE., Garten, LL., Heavens, P., Sirinathsinghji, DJS., Zhao, BG. (1988). Evidence for a direct noradrenergic projection from the brain stem to the neural lobe in the rat. *Journal Physiology*. 396: 127p

Birger, W., Bönisch, H. (2009). Interference of the noradrenergic neurotoxin DSP4 with neuronal and nonneuronal monoamine transporters. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 380(6): 523-529.

Breen, KM., Mellon, P. (2013). Influence of stress-induced intermediates on gonadotropin geneexpression in gonadotrope cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 13: 2-7.

Brodie, AM. (1983). Biosynthesis, metabolism, and secretion of ovarian steroid hormones. En: The ovary. Edit. GB Serra. Raven Press. New York. p. 1-37.

Burden HW. (1980). Ovarian innervation. En: The vertebrate ovary. Comparative Biology. Edit. RE. Jones. Plenum Press, Nueva York, EUA, 331-360.

Burden HW. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries En: Catecholamines as Hormone Regulations. Edits. N. Ben-Jonathan, JM. Bahr, R. Weiner. Raven Press, New York. 262-277.

Burden, HW., Lawrence, IE. (1978). Experimental studies on the acetylcholinesterase-positive nerves in the ovary of the rat. *The Anatomical Records*. 190(2): 233-241.

Busby, WH., Quackenbush, GE., Humm, J., Youngblood, WW., Kizer, JS. (1987). An enzyme(s) that converts glutamyl peptides into pyroglutamylpeptides. *The Journal of Biological Chemistry*. 262: 8532-8536.

Calzada, R., Ruiz, M., Altamirano, N. (2001). Características Sexuales Secundarias. *Acta Pediátrica de México*. 22(2): 122-127.

Casabiell, X. (2006). Eje hipotálamo-hipófisis-testicular. En: *Endocrinología*. Edits. V. Arce, P. Catalina, F.Mallo. Universidad de Santiago Compostela. p .89-100.

Castañeyra-Perdomo, A., Pérez-Delgado, MM., Montagnese, C., Coen, CW. (1992). Brainstem projections to the medial preoptic region containing the luteinizing hormone-releasing hormone perikarya in the rat. An immunohistochemical and retrograde transport study. *Neuroscience Letters*. 139: 135-139.

Castro-Vázquez, A., Ojeda, SR. (1976). Cambios en la respuesta hipofisaria al LHRH durante el ciclo puberal. Comienzo del efecto automultiplicador de la acción del LHRH. *Medicina*. 36: 101-102.

Charli, JL., Ponce, G., Joseph-Bravo, P. (1991). Los mecanismos de regulación de la actividad de las neuronas LHRH-érgicas hipotalámicas. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Edit. R. Domínguez. UNAM-PORRÚA. México. p. 59-85.

Choi, HY., Song, JH., Park, DK., Ross, GM. (2003). The effects of ascorbic acid on dopamine-induced death of PC12 cells are dependent on exposure kinetics. *Neuroscience Letter*. 296: 81-84

Conn, PM. (2008). *Neuroscience in Medicine*. 3º edición. Editorial Springer. EUA. pp. 281.

Contreras, CM., Saavedra, M., Rodríguez, JM., Bernal, B., Gutiérrez, AG. (2002). Neuroquímica de la motivación y la emoción. En: *Motivación animal y humana*. Edit. M. Hernández. Editorial El Manual Moderno. México. p. 43-49.

Couse, JF., Yates, MM., Rodriguez, KF., Johnson, JA., Poirier, D., Korach, KS. (2006). The intraovarian actions of estrogen receptor-alpha are necessary to repress the formation of morphological and functional Leydig-like cells in the female gonad. *Endocrinology*. 147(8): 3666-3678.

Coyle, JT., Henry, D. (1973). Catecholamines in fetal and newborn rat brain. *Journal of Neurochemistry*. 21: 61-67.

D'Albora, H., Lombide, P., Ojeda, SR. (2000). Intrinsic neurons in the rat ovary: an immunohistochemical study. *Cell and tissue Research*. 300: 47-56.

Day, TA., Willoughby, JO. (1980). Noradrenergic afferents to median eminence: inhibitory role in rhythmic growth hormone secretion. *Brain Research*. 202(2): 335-45.

Domínguez, R., Chávez, R., Cruz, ME. (1991). La regulación del crecimiento y de desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Edit. R. Domínguez. UNAM-PORRÚA. México. 163-188.

Dotti, C., Taleisnik, S. (1982). Inhibition of the release of LH and ovulation by activation of the noradrenergic system. Effect of interrupting the ascending pathways. *Brain Research*. 249(2): 281-290.

Dudley, MW., Howard, BD., Cho, AK. (1990). The interaction of the beta-haloethyl benzylamines, xylamine, and DSP-4 with catecholaminergic neurons. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 30: 387-403.

Ebeid, TA., Eid, YZ., El-Abd, EA., El-Habbak, MM. (2008). Effects of catecholamines on ovary morphology, blood concentrations of estradiol-17beta, progesterone, zinc, triglycerides and rate of ovulation in domestic hens. *Theriogenology*. 69(7): 870-6.

Eckstein, P. (1977). Endocrine activities of the ovary. En: The ovary: regulation of oogenesis and steroidogenesis. Edits. L. Zuckerman, B. Weir. Academia Press. New York. 275-305.

Endröczi, E., Marton, I., Radnai, Z., Biró, J. (1978). Effect of the depletion on brain noradrenaline on the plasma FSH and growth hormone levels in ovariectomized rats. *Acta Endocrinológica*. 87: 55-60.

Fábregues, F., Balasch, J. (2009). Foliculogénesis: Papel de la LH y FSH. En: Fundamentos de reproducción. Edits. JM. Bajo, B. Coroleu. Editorial Médica Panamericana. España. p. 23-30.

Fink, G. (1988). Gonadotrophin secretion and its control. En: The Physiology of Reproduction. Edits. E. Knobil, JD. Neill. Raven Press. EUA. p. 1349-1378.

Freeman, M. (2006). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: The Physiology of Reproduction. Edits. E. Knobil, JD. Neill. Academic Press. San Diego. p. 2330-2331.

Fritschy, JM., Grzanna, R. (1989). Immunohistochemical analysis of the neurotoxic effects of DSP-4 identifies two populations of noradrenergic axon terminals. *Neuroscience*. 30: 181-197.

Fritschy, JM., Grzanna, R. (1991). Chapter 20 Selective effects of DSP-4 on locus coeruleus axons: are there pharmacologically different types of noradrenergic axons in the central nervous system? *Brain Research*. 88: 257–268.

Gerendai, I., Banczerowski, P., Halász, B. (2005). Functional Significance of the Innervation of the Gonads. *Endocrine*. 28(3): 309–318.

Gliter, MS., Barraclough, CA. (1987). Locus coeruleus (LC) stimulation augments LHRH release induced by medial preoptic stimulation. Evidence that the major LC stimulatory component enters contralaterally into the hypothalamus. *Brain Research*. 422:1-10.

Goldman, JM., Stoker, TE., Cooper, RL., McElroy, WK, Parrish, MB. (1996). Suppression of oocyte release in rats by local administration of the noradrenergic neurotoxin DSP4. *Journal of Reproduction and Fertility*. 106: 275-283.

González-Merlo, J., González, E. (2006). Regulación neuroendocrina de la función ovárica. En: Obstetricia. 5º edición. Editorial Elsevier. España. p. 61-63.

Gore, A. (2002). GnRH: The master molecule of reproduction. Editorial Kluwer academic publisher. EUA. p.18.

Gore-Langton, RE., Armstrong, DT. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: The Physiology of Reproduction. Edits. E.Knobel y JD. Neill. Raven Press. New York. EUA. p. 571-611.

Grzanna, R., Berger, Fritschy, JM., Geffard, M. (1989). Acute action of DSP-4 on central norepinephrine axons: biochemical and immunohistochemical evidence for differential effects. *The Journal of histochemistry and cytochemistry*. 37(9): 1435-1442.

Halvorson, L., Chin, WW. (2001). Hormonas gonadotrópicas: biosíntesis, secreción, receptores y acción. En: Endocrinología de la reproducción. Edits. S. Yen, R. Jaffe, R. Barbieri. 4° edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. p. 87-88.

Helena, CV. Franci, C., Anselmo-Franci, JA. (2002). Luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone secretion is under locus coeruleus control in female rats. *Brain Research*. 955: 245-252.

Helena, CV., Oliveira, M., Luiz, G., Hayashi, S., Rodrigues, C., Anselmo, JA. (2006). Changes in α -estradiol receptor and progesterone receptor expression in the *locus coeruleus* and preoptic area throughout the rat estrous cycle. *Journal of Endocrinology*. 188(2): 155-165.

Helena, CV., Szawka, RE., Anselmo-Franci, JA. (2009). Noradrenaline involvement in the negative-feedback effects of ovarian steroids on luteinising hormone secretion. *Journal of Neuroendocrinology*. 21: 805-812.

Hisano, N. (1977). Effects on hamster vaginal development of a single dose of testosterone or estradiol given neonatally. *Acta Anatómica*. 97(4): 361-370.

Hughes, ZA., Stanford, SC. (1988). A partial noradrenergic lesion induced by DSP-4 increases extracellular noradrenaline concentration in rat frontal cortex: a microdialysis study *in vivo*. *Psychopharmacology*. 136 (3): 299-303.

Hunzicker-Dunn, M., Mayo, K. (2006). Gonadotropin Signaling in the Ovary. En: Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Edits. JD. Neill. Elsevier. EUA. p. 547-577.

Itóh, MT., Ishizuka, B. (2005). alpha1-Adrenergic receptor in rat ovary: presence and localization. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 240(1-2): 58-63.

Jacobson, W., Wilkinson, M., Gibson, CJ. (1988). Effects of the Noradrenergic Neurotoxin DSP4 on Growth and the Gonadal Steroid and PMSG-Induced Release of LH in the Prepubertal Female Rat. *Brain Research Bulletin*. 20: 643-649

Jácome, A. (2005). Fisiología endocrina. 3° edición. Academia Nacional de Medicina. Colombia. pp. 36.

Jaim-Etcheverry, G. (1998). 2-Chloroethylamines (DSP4 and Xylamine). En: Highly selective neurotoxins. Basic and clinical applications. Edit. R. Kostrzewa. Human Press. EUA. p. 131-140.

Jennes, L., Beckman WC., Stumpf, WE., Grzanna, R. (1982). Anatomical relationships of serotonergic and noradrenergic projections with the GnRH system in septum and hypothalamus. *Experimental brain research*. 46(3): 331-8.

Kaehle, ST., Singewald, N., Philippu, A. (1999). Dependence of serotonin release in the locus coeruleus on dorsal raphe neuronal activity. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 359(5): 386-393

Kang, SS., Son, GH., Seong, JY., Choi, D., Kwon, HB., Lee, C., Kim, K. (1998). Noradrenergic neurotoxin suppresses gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and GnRH receptor gene expression in ovariectomized and steroid-treated rats. *Journal of Neuroendocrinology*. 10(12): 911-918.

Kronenberg, HM., Melmed, S., Polonsky, K., Larsen, P. (2009). Williams tratado de endocrinología. 11° edición. Editorial Elsevier. España. p. 133-135.

Kuhar, MJ., Couceyro, PR., Lambert, PD. (1999). Storage and release of catecholamines. En: Basic Neurochemistry: Molecular, cellular and medical aspects. Edits. GJ. Siegel, BW. Agranoff, RW. Alberts. 6° edición. Lippincott-Raven. Philadelphia. p. 246-260.

Kuraishi, Y., Harada, Y., Aratani, S., Satoh, M., Takagi, H. (1983). Separate involvement of the spinal noradrenergic and serotonergic systems in morphine analgesia: the differences in mechanical and thermal algesic tests. *Brain Research*. 273: 245–252.

Li, XF., Edward, J., Mitchell, JC., Shao, B., Bowes, JE., Coen, CW., Lightman, SL., O'Byrne, KT.(2004). Differential effects of repeated restraint stress on pulsatile lutenizing hormone secretion infemale Fischer, Lewis and Wistar rats. *Journal of Endocrinology*. 16(7): 620-627.

Lara, HE., McDonald, JK., Ahmed, CE., Ojeda, SR. (1990) Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. *Endocrinology* 127: 2199–2209.

Libertun, C. (2002). Fisiología del GnRH, mecanismos de acción de agonistas y antagonistas. *Revista de la Sociedad Argentina de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva*. 9(3): 18-21.

López, A., Charro, A. (1994). Pubertad normal masculina. En: La Pubertad. Edits. E. Herrera, C. Pavía, R. Yturriaga. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España. p. 1-15.

López-Muñoz, F., Álamo, C. (2009). Agonistas y antagonistas adrenérgicos. En: Tratado de Psicofarmacología. Edits. M. Salazar, C. Peralta, FJ. Pastor. 2° edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. p. 281-285.

Lorenzo-Velázquez, B., Moreno, A., Lizasoain, I., Leza, JC., Moro, MA., Portolés, A. (2008). Farmacología básica y clínica. 18° edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid. 202-204.

Loughlin, SE., Fallon, JA. (1985). *Locus coeruleus*. En: The rat nervous system. Edit. G. Paxinos. Academic Press. Australia. 79-89.

Loughlin, SE., Foote, SL., Bloom, FE. (1986). Efferent projections of nucleus locus coeruleus: topographic organization of cells of origin demonstrated by three-dimensional reconstruction, *Neuroscience*.18: 291-306.

Loughlin, SE. Foote, SL., Bloom, PE. (1986). Efferent projections of nucleus locus coeruleus: morphological subpopulations have different targets. *Neuroscience*. 18:307-319.

Luna, LG. (1975). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Co. New York. pp.258.

Lyons, E., Marc, Fritschy, J-M., Grzanna, R. (1989). The noradrenergic neurotoxin DSP-4 eliminates the coeruleospinal projection but spares projections of the A5 and A7 groups to the ventral horn of the rat spinal cord. *The Journal of Neuroscience*. 9(5): 1481-1489.

Mansilla, G. (2000). Maduración biológica en la adolescencia. *Sociedad Boliviana de Pediatría*. 39: 11-15.

Martin, AL., Carón, E. (2007). Sistema endócrino. En: Bases de la Fisiología. Edits. B. Gal., M. López, AL. Martin, J. Prieto. 2º edición. Editorial Tebar. España. p. 494-520.

Martins-Afféri, MP., Ferreira-Silva, IA., Franci, C., Anselmo-Franci, JA. (2003). LHRH release depends on *Locus Coeruleus* noradrenergic inputs to the medial preoptic area and median eminence. *Brain Research*. 61: 521-527.

Matteri, RL., Watson, JG., Moberg, GP. (1984). Stress or acute adrenocorticotrophin treatment suppresses LHRH-induced LH release in the ram. *Journal of Reproduction and Fertility*. 72(2): 385-393.

Melmed, S. (2011). The pituitary. 3º edición. Editorial Elsevier. China. p. 216-218.

Moguilevsky, J. (1994). Desarrollo puberal en la hembra. Evidencias experimentales de nuevos mecanismos neuroendocrinos. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*. 111: 665-670.

Montes, GS., Luque, EH. (1988). Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. *Acta Anatómica*. 133: 192-199.

Morello, H., Taleisnik, S. (1988). The inhibition of proestrous LH surge and ovulation in rats bearing lesions of the dorsal raphe nucleus in mediated by locus coeruleus. *Brain Research*. 40: 227-231.

Neill, JD., Challis, JR., Pfaff, DW., Plant, TM., Kretser, DM., Richards, JA., Wassarman, PM. (2006). Physiology of reproduction. 3º edición. Editorial Elsevier. EUA. p. 3094-3095.

Oakley, AE., Breen, KM., Tilbrook, AJ. (2009). Cortisol Reduces Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Frequency in Follicular Phase Ewes: Influence of Ovarian Steroids. *Endocrinology*. 150: 341-349.

Ojeda, SR., Lomniczi, A., Loche, A., Matagne, V., Kaidar, G., Sandau, US., Dissen, GA. (2010). The transcriptional control of female puberty. *Brain Research*. 1364: 164-174.

Ojeda, SR., Skinner, MK. (2006). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Edits. E. Knobil, JD. Neill. Academic Press. San Diego. p. 2061-2120.

Ojeda, SR., Smith-White, S., Advis, JP., Andrews, WW., Aguado, LI. (1990). First preovulatory gonadotrophin surge in the rodent. En: *Control of the onset of puberty*. Edits. MM. Grumbach, PC. Sizonenko, ML. Albes. Williams and Williams. EUA. p. 156-182.

Ojeda, SR., Smith-White, S., Aguado, LI. (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rats as model. *Neuroendocrinology*. 37: 306-313.

Ojeda, SR., Urbanski, HF. (1988). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Edits. E. Knobil, JD. Neill. Raven Press. EUA. p. 1699-1737.

Ojeda, SR., Urbanski, HF. (1994). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Edits. MM. Edits. E. Knobil, JD. Neill. Raven Press. EUA. p. 363-409.

- Paredes, A., Salvetti, AR., Diaz, AE., Dallard, BE., Ortega, HH., Lara, HE. (2011). Sympathetic nerve activity in normal and cystic follicles from isolated bovine ovary: local effect of beta-adrenergic stimulation on steroid secretion. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 9: 66-73.
- Pau, KY., Hess, DL., Kohama, S., Bao, J., Pau, CY., Spies, HG. (2000). Oestrogen upregulates noradrenaline release in the mediobasal hypothalamus and tyrosine hydroxylase gene expression in the brainstem of ovariectomized rhesus macaques. *Journal of Neuroendocrinology*. 12(9): 899-909.
- Pau, KY., Spies, HG. (1997). Neuroendocrine signals in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *The Chinese journal of physiology*. 40(4): 181-196.
- Paxinos, G., Watson, C. (1982). The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press. New York.
- Planas, J. (2005). Control endocrino de la reproducción. En: Fisiología animal. Edits: T. Pages, J. Blasco, L. Palacios. Ediciones de la Universidad de Barcelona. España. p. 128-129.
- Pombo, M., Argemí, L., Borrajo, L., Casado, E., Fernández, A., Molina, JA., Sáenz, JM., Audí, L., Bueno, M., Díez, C., Moya, M., Peña, J., Tojo, R. (1997). Tratado de endocrinología Pediátrica. 2º edición. Ediciones Díaz de Santos. Madrid. p. 704-800.
- Rajkovic, A. (2007). Genetics of ovarian failure and development. *Seminars in Reproductive Medicine*. 25(4): 223-224.
- Redondo, C., Viadero, MT. (2008). Cambios hormonales en la pubertad. En: Atención al adolescente. Edits. C. Redondo, G. Galdó, M. García. Ediciones de la Universidad de Cantabria. España. p.18-40
- Ricu, M., Paredes, A., Greiner, M., Ojeda, SR., Lara, HE. (2008). Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. *Endocrinology*. 149: 50-56.

Rocha, AA., Guerra-Sá, R., Silveira, NA., Anselmo-Franci, JA., Franci, CR. (2006). Neuropeptide Y in the medial basal hypothalamus and medial preoptic area during the induction of LH surge may be controlled by locus coeruleus. *Neuropeptides*.40: 57-63.

Rosenzweig, MR., Breedlove, SM., Watson, NV. (2005). Psicobiología: Una introducción a la neurociencia conductual, cognitiva y clínica. 2° edición. Editorial Ariel. España. p. 577-578.

Ross, M., Pawlina, W. (2008). Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 5° edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. p. 23-28.

Ross, SB. (1976). Long-term effects of N-2-chloroethyl-N-ethyl-2-bromobenzylamine hydrochloride on noradrenergic neurons in the rat brain and heart. *Journal of pharmacology*. 58(4): 521-527.

Ross, SB. (1985). DSP-4 and behavioural experiments. *Journal of Pharmacology Sciences*. 6: 237-245.

Ross, SB., Johansson, JG., Lindborg, B., Dahlbom, R. (1973). Cyclizing compounds. I. Tertiary N-(2-bromobenzyl)-N-haloalkylamines with adrenergic blocking action. *Acta Pharmaceutica Suecica*. 10: 29-42.

Ross, SB., Renyl, AL. (1976). On the long-lasting inhibitory effect on N-(2-chloroethyl) N-ethyl-2-bromobenzylamine (DSP-4) on the active uptake of noradrenaline. *Journal of Pharmacology*. 17: 107-112.

Sadler, TW. (2008). Embriología médica: con orientación clínica. 10° edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. p. 25-30.

Saland, LC, Wallace, JA., Samora, A., Gutierrez, L. (1988). Co-localization of tyrosine hydroxylase (TH)- and serotonin (5-HT)-immunoreactive innervation in the rat pituitary gland. *Neuroscience Letters*. 94 (1-2): 39-45.

Saland, LC., Comunas, F. (1985). 6-Hydroxydopamine induces degenerative changes in innervation of the rat pituitary gland. *Neuroscience Letters*. 57: 49-55.

Sánchez-Criado, JE. (2003). Fisiología del ovario. En: Fisiología humana. Edit. JA. Tresguerres. 2° edición. McGraw-Hill Interamericana. México. p. 1036-1048.

Sanders, D. (2004). Lo esencial en sistema endocrino y aparato reproductor. 2° edición. Editorial Elsevier. España. p. 15-40.

Schussler, N., Bayet, MC., Frain, O., Peillon, F., Biquet, NF. (1992). Evidence of tyrosine hydroxylase mRNA in the anterior and neurointermediate lobes of female rat pituitary. *Biochemical and biophysical research communications*. 189(3): 1716-1724.

Silverthorn, DU. (2009). Fisiología Humana. 4° edición. Editorial Médica Panamericana. España. 383-385.

Sirivelu, MP., Shin, AC., Pérez, GI., MohanKumar, PS., MohanKumar, SM. (2009). Effect of L-dopa on interleukin-1 beta-induced suppression of luteinizing hormone secretion in intact female rats. *Human Reproductor*. 24(3): 718-725.

Smith, OW., Stuart, JM., McArthur, JW. (1971). Urinary estrogens in spontaneous and induced ovulation in women. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 110: 82-91.

Steinetz, BC. (1978). Secretion and function of ovarian estrogens. En: Handbook of Physiology. Edits. RO. Greep y E. Astwood. American Physiological Society. Washington. p. 439-466.

Stouffer, RL., Zelinski-Wooten, MB. (2004). Overriding follicle selection in controlled ovarian stimulation protocols: quality vs. quantity. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 16(2): 32.

Szawka, RE., Helena, CV., Rodovalho, GV., Monteiro, PM., Franci, CR., Anselmo-Franci, JA. (2005). Locus coeruleus norepinephrine regulates the surge of prolactin during oestrus. *Journal of Neuroendocrinology*. 17(10): 639-648.

Szawka, RE., Rodovalho, GV., Monteiro, PM., Carrer, HF., Anselmo-Franci, JA. (2009). Ovarian-steroid modulation of *locus coeruleus* activity in female rats: involvement in luteinising hormone regulation. *Journal of Neuroendocrinology*. 21:629-639.

Szot, P., Miguelez, C., White, SS., Franklin, A., Sikkema, C., Wilkinson, CW., Ugedo, L., Raskind, MA. (2010). A comprehensive analysis of the effect of DSP4 on the locus coeruleus noradrenergic system in the rat. *Neuroscience*.166: 279-291.

Terán, J., Teppa, A., Febres, F. (2008). Relación psicoimmunoneuroendocrinológica y vascular del ciclo menstrual. En: Fertilidad y Reproducción asistida. Edits. J .Lerner y MT. Urbina. Editorial Médica Panamericana. Caracas, Venezuela. p. 70-72.

Tresguerres, JA., Castillo, C. (2003). Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico. En: Fisiología Humana. Edit. JA. Tresguerres. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. México. p. 1008-1122.

Turner, Al., Tilbrook, AJ. (2006). Stress, cortisol and reproduction in female pigs. *Society of Reproduction and Fertility supplement*. 62: 191-203.

Vanhatalo, S., Soinila, S., Kaartinen, K., Back, N. (1995). Colocalization of dopamine and serotonin in the rat pituitary gland and in the nuclei innervating it. *Brain Research*. 669(2): 275-284.

Vélez, H., Rojas, W., Borrero, J., Restrepo, J. (2004). Endocrinología. 9° edición. Corporaciones para investigaciones biológicas. Colombia. p.9-30.

Waterman, SA., Harding, CF. (2008). Neurotoxic effects of DSP-4 on the central noradrenergic system in male zebra finches. *Behavioural Brain Research*. 188(2): 271-280.

Wright, DE., Jennes, L. (1993). Origin of noradrenergic projections to GnRH perikarya-containing areas in the medial septum-diagonal band and preoptic area. *Brain Research*. 621(2): 272-8.

Yen, S. (2001). Neuroendocrinología de la reproducción. En: Endocrinología de la reproducción. Edits. S. Yen, R. Jaffe, R. Barbieri. 4° edición. Editorial Panamericana. Argentina. p. 450-620.

Young, JG., Cohen, DJ. (1979). The molecular biology of development. En: Basic Handbook of Child Psychiatry. Edit. JD. Noshpitz. Basic Books Publishers. New York. p. 320-400.

Zhang, X., Zuo, DM., Yu, P. (1995). Neuroprotection by R(-)-deprenyl and IV-2-hexyl-IV-methylpropargylamine on DSP-4 a neurotoxin, induced degeneration of noradrenergic neurons in the rat locus coeruleus. *Neuroscience Letters*.186: 45-48.

Zrro, R. (1984). Neuronas adrenérgicas de la región ventrolateral del bulbo: reivindicación del concepto de "centro vasomotor". En: Revista Medicina. Edits. A. Lanari, AP.Barousse, C. Dosne, JA, Barcat, J. Firmat., S. Fienkelman. Fundación de Revista Medicina. Buenos Aires. p. 329-330.

La Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C.



Otorga la presente

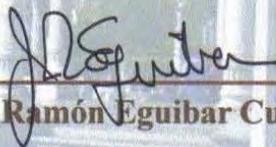
Constancia

A Rayón MP, Salazar N, Monroy J, Morales
L. Ayala ME.

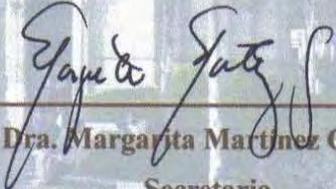
Por la participación del trabajo en cartel:

**Efecto de la administración de N-2-Cloroetil-N-Etil-
2- Bromobenzilamina por vía sistémica sobre el
inicio de la pubertad y la primera ovulación.**

En la XXXVII Reunión Anual de la AIBIR, llevada a cabo en la ciudad de
Pachuca Hgo., del 27 al 30 de junio del 2012


Dr. José Ramón Eguibar Cuenca

Presidente


Dra. Margarita Martínez Gómez

Secretaria



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Martha Patricia Rayón España, Norma Salazar Flores,
Juana Monroy Moreno, María Elena Ayala Escobar*

Por la presentación del **Trabajo en Cartel**: Modificaciones en el sistema noradrenérgico del hipotálamo, hipófisis y ovario de la rata juvenil inducidas por la administración sistémica de N-(2-cloroetil)-N-etil-2-bromobenzilamina (DSP4), dentro del VIII Congreso de Investigación y II de Posgrado de la FES Zaragoza, el 24 de octubre del año en curso.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D. F., a 24 de octubre de 2012.

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director

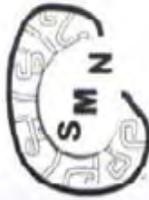


I Congreso FALAN
 Federación de Asociaciones Latinoamericanas y
 del Caribe de Neurociencias

LV Congreso
 Nacional de Ciencias Fisiológicas.



Sociedad Mexicana
 de Ciencias Fisiológicas, A.C.



Certificate

that:

MONROY J, RAYÓN MP, SALAZAR N, AYALA ME, DOMÍNGUEZ R.

presented **THE POSTER** titled:

**EFFECT OF THE ADMINISTRATION OF THE NORADRENERGIC NEUROTOXIN
 N-(2-CHLOROETHYL)-N-ETHYL-2-BROMOBENZYLAMINE DSP4 ON THE PUBERTY IN THE
 RAT**

in Cancún, México (November 4-9, 2012)

Romyry Von Bernhardt

Romyry Von Bernhardt
 President of FALAN

Gabriela González-Variscal

Gabriela González-Variscal
 President of the Mexican Society of
 Physiological Sciences

Rafael Gutiérrez

Rafael Gutiérrez
 President of the Scientific
 Committee



56
congreso
nacional
de ciencias
fisiológicas

Tlaxcala, Tlax. Septiembre 1-5 2013



Otorga la presente
Constancia

A: Rayón MP, Salazar N, Acevedo AL, Ayala ME,
Monroy J

Por la presentación del **cartel** titulado:

En la rata juvenil la lesión química unilateral de
locus coeruleus modifica el inicio de la pubertad

Dra. Gabriela González Mariscal
Presidenta

Dra. Gina Lorena Quirarte
Secretaria

Dra. Yolanda Cruz Gómez
Tesorera



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a Martha Patricia Rayón España, Norma Salazar Flores, Ana Laura Acevedo Martínez, María Elena Ayala Escobar, Juana Monroy Moreno

Por su participación con el trabajo en cartel "Efectos de la Lesión Química Unilateral del Locus Coeruleus sobre el Sistema Noradrenérgico del Hipotálamo, la Hipófisis y los Ovarios de la Rata Hembra Juvenil", dentro del 9º Congreso de Investigación en la FES Zaragoza, el 24 de octubre del año en curso.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

México, D. F., a 24 de octubre de 2013.

Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director

