UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

ESTIMULACIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA RATA PREPÚBER Y SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS Y ESTEROIDES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

MARITZA GARCÍA ARANA

Directora: Dra. María Elena Ayala Escobar

MEXICO, D.F. **SEPTIEMBRE, 2014**

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

ESTIMULACIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA RATA PREPÚBER Y SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS Y ESTEROIDES

Tesis que para obtener el título de Bióloga presenta:

Maritza García Arana.

Directora de Tesis: Dra. María Elena Ayala Escobar.

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

Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de DAGAPA-PAPIIT Convenio: IN223714

Agradecimientos:

De manera muy especial a mi directora de Tesis la Dra. María Elena Ayala Escobar.

A los miembros del Jurado:

Dra. María Elena Ayala Escobar

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Dra. Leticia Morales Ledesma

M. en. I.B.S.H Angélica Flores Ramírez

Dra. Juana Monroy Moreno

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

A mis compañeros del laboratorio:

Jessica, Daniel, Yutsil, Diana, Eloir, Omar, Ana, Sandra, Juanito, Jessica, Nicte por su valiosa amistad y aportación.

A la señora María Luisa, por su amistad y agradable compañía.

Al personal del Bioterio de la Fez Zaragoza por el valioso trabajo.

Con mi más profundo y sincero agradecimiento dedico este trabajo, a mi entrañable amigo y compañero de vida José Luis Galván Ramírez;

Por brindarme esta oportunidad y más aún por apoyarla en todo momento, por no perder la fe en mí a pesar de las adversidades que juntos aprendimos a superar, por siempre tener una palabra de aliento en los momentos más difíciles, por ser mi apoyo y sostén, por enseñarme a ser una mujer libre e independiente, por proveerme de lo necesario para mi formación académica, no fue fácil y lo sé, por ser el mejor ser humano que he conocido. Por todo lo que significas para mí, por la admiración que en mi inspiras y por todo el amor que siento por ti, hoy quiero decirte que valoro tu esfuerzo y que las palabras no bastarían para expresarte mi sentir.

Gracias mi adorado esposo.

A la Dra. María Elena Ayala Escobar,

Por permitirme trabajar en su proyecto, por la paciencia y la comprensión que me ha brindado, por escucharme y darme con sus palabras esa tranquilidad que tanto necesitaba, por ser la primera persona que confío en mí. Por ser alguien muy especial en mi vida. Por transmitirme sus conocimientos, por ser una excelente profesora. Gracias infinitas.

A la UNAM, mi alma máter.

A mis amados hijos, José Luis, Ximena Yazmín, Gianluca Giovanni;

Por ser la luz de mi camino, la motivación más grande y el regalo más bello que la vida me ha brindado. Hijos, los amo con toda mi alma, gracias por los momentos de dicha y alegría por las risas y los juegos que llenan mi vida y me hacen sonreír, por quererme tanto, por cederme mucho de su tiempo para que cumpliera este sueño y por tener confianza en mí.

Muy en especial a ti mi pequeño Luquitas (†), por ser mi angelito, porque la vida me permitió conocerte y es tan grande este amor que aún sigues vivo en mi recuerdo y así siempre será, te amo bebé.

A Rocío Paredes, por permitirme conocerla y porque es una niña especial.

A mi padre,

Por darme la vida, por proveerme cuando niña, por todos esos recuerdos hermosos, te quiero papá.

A mi madre,

Por las noches de desvelo, por tu paciencia y la espera, por tus palabras de cariño, por el amor infinito que me has mostrado, por todas esas cosas bellas que te hacen ser la mujer más hermosa, por ser un ejemplo de mujer, por enseñarme a luchar por mis ideales, gracias por todo mamita te amo.

A mis hermanos,

Rubén, Nadia, Alberto y Antonio, por todos los momentos que vivimos y que nos hicieron y nos siguen haciendo tan felices, porque sé que siempre podré contar con ustedes, porque son mis mejores amigos, porque los amo con toda mi alma, gracias hermanos míos.

A mis queridos abuelitos,

José (†), Juana, Luisa (†) y Demetrio (†) por su cariño y por su amor.

A mis sobrinos,

Irving, Itzel, Paulina, Paola, Rubén, Cesar, Jazmín, Jonathan, Diana, Brenda, Diego, Isamari, Fátima, Sergio, Siomara, Ángel, Nallely, Daniela, Mónica, Adrián, Arely, Eduardo, América, Astrid, Rogelio, Miguel, Yesenia, Vanesa, J. Luis Arango, Celeste, L. Jonathan, Felicitas, Yohana, Evelin, Antonio, Valeria, Fabiola, Nadia (†), Jesús (†), que con su sola presencia hacen el día más agradable, y en especial a ti hijo por tu gran fortaleza y bondad gracias por todo niño lindo siempre te recordaré Giovanni Margarito (†).

Muy en especial a Yutsil Andrea, por los momentos tan agradables que compartimos, por las pláticas y consejos recibidos, por ser tan linda y especial, por cobijarme en momentos, críticos y porque en ti descubrí la verdadera amistad, mi amiga, mi hermana.

A mis cuñadas y primas

Angélica, Rocío, Carmen, Rosalba, Marisol, Made, Isabel, Natali por todas las aventuras que hemos compartido y por la amistad y los consejos.

A Juanita Monroy,

Gracias por escucharme y por los consejos, por tu tiempo y por tu colaboración pero sobre todo por tu amistad.

A Jessica Romero

Por ser compañera y amiga a quien conocí el primer día de clases en la Facultad y quien ahora me acompaña hasta el final de este proyecto, gracias Jessi, te quiero.

A mis muy estimadas amigas y amigos, gracias por brindarme su sincera a mistad y apoyo a lo largo del camino que juntos recorrimos en esta Facultad, las quiero y las llevo en mi memoria. Claudia Alanís, Ana María Cedillo, Cynthia Sherezada, Martha Ruíz, Viridiana Morales, Diana Aguilar, Luz Verónica, Jorge Medina, Eduardo Hernández, Nestor Adrián, Daniel Bahena, Eloir Gallegos.

A Tatiana, la persona que me impulso a seguir en el camino cuando ya las fuerzas no eran suficientes, quien me tendió la mano en todo momento gracias amiga mía.

Al Arquitecto Ramón Montalvo Hernández, por ser un gran amigo, por la confianza depositada, por sus palabras y consejos, gracias por su apoyo y amistad lo o largo de estos años que fue importante para este desempeño, por su calidez humana muchas, muchas gracias.

Al profesor Arturo Cruz, por darme la oportunidad de tener una participación en su institución y confiar. Gracias infinitas de verdad.

Al doctor Jesús Sánchez, por la amistad brindada, por mostrarnos su lado humano en algún momento de nuestras vidas detalle que guardaré y por el apoyo recibido durante este tiempo.

A todos y cada uno de ustedes muchas gracias por ocupar un espacio importante en mi vida y en mi corazón

ÍNDICE

RESUMEN ..... **I**

INTRODUCCIÓN 1

Serotonina 1

Triptófano 3

Síntesis de serotonina 4

Aparato reproductor masculino 6

Espermatogénesis 9

Esteroidogénesis 10

Regulación hormonal de las funciones del testículo 13

Serotonina y testículo 15

JUSTIFICACIÓN 19

HIPÓTESIS 20

OBJETIVO GENERAL 20

OBJETIVOS PARTICULARES 20

MATERIALES Y MÉTODO 21

Animales 21

Administración del fármaco 21

Procedimiento de autopsia 21

Cuantificación de serotonina 22

Cuantificación de gonadotropinas y de hormonas esteroides 23

Análisis estadístico de resultados 23

RESULTADOS 24

Efecto de la administración de 5-hidroxitriptófano en la etapa infantil 24

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en el hipotálamo 24

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en la hipófisis 24
Concentración sérica de gonadotropinas 24
Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en cápsula y tejido testicular ... 29
Concentración sérica de hormonas esteroides 29
Efecto de la administración de 5-hidroxitriptófano en la etapa juvenil 33
Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en el hipotálamo 33
Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en la hipófisis 33
Concentración sérica de gonadotropinas 33
Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en cápsula y tejido testicular ... 38
Concentración sérica de hormonas esteroides 38
DISCUSIÓN DE RESULTADOS 42
CONCLUSIONES 48
BIBLIOGRAFÍA 49

RESUMEN

El hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que en la hipófisis estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH), que actúan en el testículo y estimulan la secreción de hormonas esteroides. En la regulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas participa la serotonina (5-HT) entre otros neurotransmisores. Las evidencias en las que se apoya la participación de la 5-HT en la regulación de la esteroidogénesis son controversiales. Se sugiere que la participación de la 5-HT en la modulación de la secreción de gonadotropinas varía a lo largo del desarrollo prepuberal. Por ello, en el presente estudio se analizaron los efectos de la estimulación del sistema serotoninérgico, inducido por la administración de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) en la rata macho en la etapa infantil (día 15) y juvenil (30 días) sobre la actividad del sistema serotoninérgico en los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-testículo, así como en la concentración de gonadotropinas y hormonas esteroides sexuales.

Ratas macho de 15 ó 30 días de edad fueron inyectadas por vía intraperitoneal con 5-HTP (100 mg/Kg de peso corporal), precursor de la síntesis de 5-HT. Otro grupo de animales fue tratado con solución salina (grupo Vh). Grupos de animales sometidos a estos tratamientos se sacrificaron a 60, 90 ó 120 minutos postratamiento. En el hipotálamo anterior (HA) y medio (HM), en la hipófisis, en cápsula y tejido testicular se realizó la cuantificación de 5-HT por cromatografía de líquidos de alta resolución. En el suero se midió la concentración de FSH, LH, progesterona, testosterona y estradiol por radioinmunoanálisis.

En el hipotálamo, la hipófisis y testículo de los animales en la etapa infantil se observó el incremento significativo en la concentración de 5-HT y de su metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA). Este mismo comportamiento se observó en los animales en la etapa juvenil, con excepción de que el incremento en la concentración de 5-HT en HA y HM se observó únicamente a los 60 minutos

postratamiento.

En los animales que se les administró el 5-HTP en la etapa infantil se observó el incremento en la concentración de FSH y LH a los 120 minutos y de progesterona a los 60 y estradiol a los 120, mientras que testosterona disminuyo a los 90 minutos postratamiento. En los animales en la etapa juvenil se observó un efecto inverso en la concentración de FSH, LH y testosterona y no se modificó la concentración de estradiol en suero.

Con base en los presentes resultados se muestra que la 5-HT participa de forma diferencial en la modulación de la secreción de gonadotropinas y testosterona en la etapa infantil y juvenil.

INTRODUCCIÓN

Serotonina

La serotonina (5-HT) o 5-hidroxitriptamina es una sustancia con propiedades constrictoras que inicialmente fue identificada en moluscos y posteriormente en mamíferos. La 5-HT fue localizada en las células enterocromafines de la mucosa gastrointestinal (Figura 1) (Whitaker-Azmitia, 1991).

La 5-HT es una sustancia hidrofílica, por lo tanto no atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE), se le identifica en el cerebro en donde es sintetizada. En el sistema nervioso central (SNC), la 5-HT participa en la modulación de todas las funciones cerebrales actuando de forma directa o por intermedio de otros sistemas de neurotransmisión. En el cerebro, la principal fuente de 5-HT son las neuronas serotoninérgicas que forman parte del núcleo del rafé. Los cuerpos celulares de estas neuronas se han agrupado en paquetes celulares que se localizan a lo largo de la línea media del cerebro, en el tallo cerebral. Estos paquetes celulares han sido designados por Dahlstrom y Fuxe (Frazer y Hensler, 1999) como B1-B9. El núcleo del rafé se divide en tres regiones, el núcleo del puente (NPR), medial (NMR) y dorsal del rafé (NDR). Las neuronas serotoninérgicas que se originan en el NDR y NMR proyectan sus terminales nerviosas a diferentes áreas del cerebro, como la sustancia nigra, el hipotálamo, el tálamo entre otros (Azmitia y Whitaker-Azmitia, 1991; Frazer y Hensler, 1999).

Con base en estudios farmacológicos, se han identificado diferentes subtipos de receptores a 5-HT que se denominan con las siglas 5-HT seguido de un número que van del 1 al 7 y en algunos van acompañados de una letra. Estos

se encuentran distribuidos en el SNC y periférico (SNP), así como en diversos tejidos no neuronales como el intestino, el sistema cardiovascular, las plaquetas y en las gónadas. En la actualidad se han descrito 7 familias de receptores que se denominan del 5-HT_1 al 5-HT_7. Todos los receptores a 5-HT a excepción del 5-HT_3 pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (Oliver, 1997, Hoyer y col., 2000).

La 5-HT al unirse a los receptores, participa en la modulación de funciones como la vasoconstricción y vasodilatación; en la modulación del sistema digestivo y la temperatura corporal; en la coagulación sanguínea; la migración neuronal, la diferenciación y división celular; el comportamiento, el apetito, el sueño, la memoria, el aprendizaje; la producción de factores liberadores por el hipotálamo y de hormonas por la hipófisis, como las gonadotropinas; en la esterodogénesis por las gónadas (Tinajero y col., 1993; Frazer y Hensler, 1999; Aragón y col., 2005). También se le asocia con los estados de ánimo y ansiedad. La disminución en la concentración de 5-HT en el cerebro se le vincula con algunas alteraciones afectivas, como depresión, trastorno bipolar y obsesivo convulsivo (Sidransky, 2001; Khaliq y col., 2007; Van der Plasse y col., 2007).

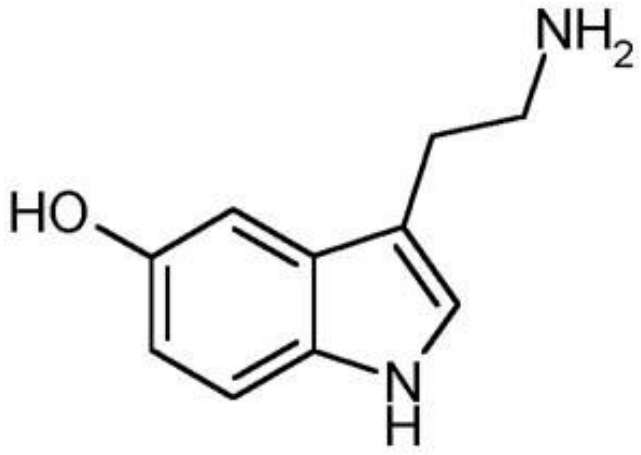


Figura 1.- Estructura de la Serotonina (Tomado de Green, 2006).

La concentración de 5-HT y de otros neurotransmisores en el cerebro, se asocia con el contenido en la dieta de sus aminoácidos precursores. La síntesis de 5-HT depende de la disponibilidad del aminoácido esencial, el L-triptófano, el cual es uno de los ocho aminoácidos considerados como esenciales y nutricionalmente indispensables (Poncet y col., 1993; Sidransky, 2001; Salim y col., 2003).

Triptófano

El triptófano es uno de los ocho aminoácidos esenciales, debido a que es parte importante en la síntesis de las proteínas. No se puede sintetizar en el organismo a partir de otro sustrato y requiere ingerirse en la dieta, está ampliamente distribuido en la naturaleza, se le encuentra en las proteínas de origen animal en donde representa aproximadamente el 5 %, también se le identifica en las nueces, en algunos frutos como el plátano y otros alimentos. Este aminoácido se transforma en diferentes compuestos de importancia biológica como: proteínas; ácido nicotínico (vitamina A); 5-HT (neurotransmisor); ácido indolacético (fotohormona A); algunos pigmentos de los ojos de los insectos y diferentes alcaloides (Figura 2) (Esteban y col., 2004; Ruddick y col., 2006; Nakamura y Hasegawa, 2009).

La concentración de triptófano en el plasma está relacionada con el contenido del aminoácido en la proteína que ingiere el individuo. En el suero este aminoácido está presente en forma libre o unido a la albúmina, esta última forma es un mecanismo de control que tiene el organismo para regular la disponibilidad del aminoácido para los diferentes tejidos y órganos, especialmente el cerebro (Sidransky, 2001). En sangre, del 70 al 90 % del triptófano circula unido a la albúmina y el resto se encuentra en forma libre. El aminoácido plasmático libre para llegar al cerebro, debe ser transportado a través de la BHE por un

mecanismo de transporte activo selectivo, que comparte con otros aminoácidos, como la fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina y valina (Sidransky, 2001). Por lo tanto, existe una competencia entre estos aminoácidos y el triptófano, sin embargo éste presenta ocho veces mayor afinidad por el triptófano. Este aminoácido es captado por las neuronas que sintetizan 5-HT o por las células de la glía. Por lo tanto, para incrementar la concentración de 5-HT en el cerebro, es en principio, necesario incrementar en la dieta el contenido de triptófano. La presencia de triptófano disponible es una de las limitaciones en la síntesis y sólo aproximadamente el 5 % del triptófano corporal libre, que no forma parte de las proteínas es transformado a 5-HT. La enzima triptófano hidroxilasa (TPH) no está saturada por el aminoácido triptófano, por lo que la concentración del aminoácido aumenta hasta el doble (Nakamura Y Hasegawa, 2009).

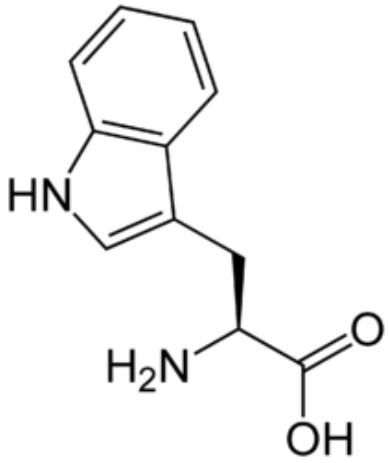


Figura 2.- Estructura Química del Triptófano (Tomado de Green, 2006).

Síntesis de serotonina

El triptófano se convierte en 5-HT en un proceso de síntesis de dos pasos. Primero el L-triptófano se convierte en 5-hidroxitriptófano (5-HTP) por acción de la

enzima TPH. En una segunda reacción, el 5-HTP se descarboxila por la enzima aromático descarboxilasa y forma la 5-hidroxitriptamina o 5-HT, que se almacena en vesículas sinápticas y es liberada por exocitosis dependiente de Ca^{++}. La 5-HT liberada se une a sus receptores de membrana en la neurona postsináptica.

La principal vía de eliminación de la 5-HT se inicia tras su remoción por un mecanismo de recaptura al unirse a la proteína transportadora de serotonina (SER), presente en la sinapsis serotoninérgica. Este transportador incorpora la 5-HT a la terminal presináptica en donde es metabolizada por acción de la enzima mitocondrial, la monoamina oxidasa (MAO) y se genera como producto final el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) (Figura 3). Este metabolito también se encuentra en las mismas regiones del SNC donde se ubica la 5-HT (Frazer y Hensler, 1999; Walther y Bader, 2003; Sanchez y col., 2005; Schatzberg, 2006).

La MAO se encuentra en células que sintetizan 5-HT, y se han identificado dos isoformas de la enzima, la A y B, que participan en el metabolismo de las catecolaminas o de la 5-HT respectivamente. La MAO A se encuentra principalmente en las neuronas catecolaminérgicas del locus ceruleus, núcleo acummbens e hipotálamo. Mientras que la B, se identifica en las neuronas serotoninérgicas y en los astrocitos (Jahng, 1997).

La TPH es la enzima limitante para la biosíntesis de 5-HT, existen dos isoformas de la TPH, 1 y 2, que son codificadas por genes diferentes. La isoforma 2 se expresa predominantemente en las neuronas serotoninérgicas en el SNC y la 1 en la glándula pineal y órganos periféricos, como el intestino, el bazo y el timo (Walther y Bader, 2003; Nakamura y Hasegawa, 2007; Nakamura y col., 2008).

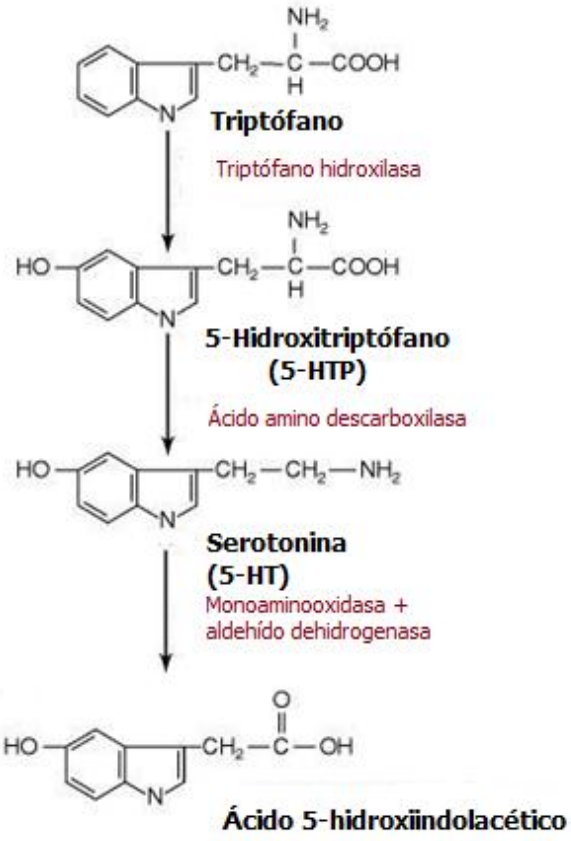


Figura 3.- Síntesis de Serotonina (Modificado de Frazer y Hensler, 1999).

Aparato reproductor masculino

El aparato reproductor masculino está conformado por los testículos, los conductos excretores que incluyen: el epidídimo, los conductos deferentes y el conducto eyaculador; así como varias estructuras accesorias entre ellas las glándulas sexuales anexas que comprenden la próstata, las vesículas seminales, las glándulas bulbouretrales y el órgano copulador o pene (Tresguerres, 1999).

Los testículos son órganos ovoides pares que se localizan fuera de la cavidad abdominal y dentro de una estructura denominada escroto; se encuentran suspendidos de los cordones espermáticos y están adheridos al escroto por ligamentos escrotales. Estos estructuralmente están formados por un parénquima rodeado por una cápsula que consta de tres capas que incluye la túnica vaginal, la albugínea y la vasculosa, siendo esta última la capa más interna. A partir de la túnica albugínea se extiende un engrosamiento hacía el interior del órgano, el mediastino testicular. Desde el mediastino testicular septos de tejido conectivo pasan al interior del órgano subdividiéndolo en cerca de 250 lóbulos cada uno de ellos consta de 1 a 4 túbulos seminíferos (Tresguerres, 1999; Geneser, 2000; Ross, 2006; Moore, 2007). El testículo de los roedores no presenta dicha tabicación interna (Kretser y Kerr, 1994).

Cada túbulo seminífero se encuentra enrollado y tiene aproximadamente 0.2 mm de diámetro y de 30 a 70 cm de longitud. Los extremos de los túbulos seminíferos se transforman en un tubo recto, que al unirse entre sí, el conjunto de túbulos rectos a la altura del mediastino testicular forma la red de testis o Red de Haller, a partir de la cual se proyectan los túbulos rectos que se comunican con el epidídimo (Lesson, 1977).

El testículo está dividido en 2 compartimientos; el compartimiento de los túbulos seminíferos y el intersticial, este último llena el espacio que hay entre los túbulos seminíferos, y lo conforman vasos sanguíneos y linfáticos, células de Leydig, fibroblastos, macrófagos, linfocitos, monocitos y mastocitos (Roos, 2006). Los túbulos seminíferos están conformados por el epitelio seminífero. El epitelio seminífero consiste en 2 tipos de células: células somáticas o de Sertoli y células germinales entre ellas las espermátides, los espermatocitos y finalmente los espermatozoides así como fluido contenido en el lumen (Kerr, 2006).

Las células de Sertoli son células que no se dividen después de la pubertad y que están estrechamente ligadas con las células germinales, le sirven de sostén y apoyo y le proporcionan un medio en el cual las células germinales proliferan y se diferencian. La base de las células de Sertoli reside sobre la lámina basal, siendo su forma generalmente columnar y extendiéndose hasta alcanzar el lumen del túbulo seminífero, sus superficies laterales son moldeadas dando lugar a que los diferentes tipos de células germinales se anclen en estas proyecciones de la célula de Sertoli. Por otra parte las espermátides elongadas se incrustan en las criptas que se encuentran en la superficie apical de las células de Sertoli (Griswold, 2005).

Una característica de las células de Sertoli es la especialización de la unión intracelular que mantiene la integridad estructural del epitelio del túbulo seminífero constituyendo un componente de la barrera hematotesticular. Esta barrera separa al epitelio del túbulo en dos compartimientos 1) un compartimiento basal o exterior que contiene espermatogonias y espermatocitos en preleptoteno 2) y un compartimiento interior o adluminal que contienen los espermatocitos restantes y las espermátides además de que estas células poseen organelos especializados : a) numerosos lisosomas y vacuolas autofágicas que participan en la función fagocítica de estas células, b) retículo endoplásmico liso indispensable para el metabolismo y síntesis de esteroides, c) la morfología de las células de Sertoli presenta alteraciones cíclicas a lo largo del túbulo seminífero indicando que estas células participan junto con las células germinales en el ciclo de la espermatogénesis y apoyan la maduración de estas últimas (Desjardins ,1993; Brehm, 2005).

Otro componente del testículo es el compartimiento intersticial que representa del 12 al 15% del volumen testicular total, del cual 10 al 20% de este compartimiento es ocupado por las células de Leydig y células del sistema inmune:

mastocitos y macrófagos, estos últimos probablemente influyan en la función de la célula de Leydig en su proliferación, diferenciación y producción de esteroides, mediante la secreción de citocinas. Las células de Leydig morfológicamente son células redondas o aplanadas, poseen un núcleo redondo, un citoplasma poliédrico con vesículas, retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares las cuales están altamente relacionadas con su capacidad de producción de testosterona se les puede encontrar aisladas o en cúmulos (Nieschlag, 2009).

Las dos funciones de los testículos son la producción de los gametos masculinos o espermatozoides (gemetogénesis), los cuales transmitirán la información genética al fecundar al óvulo; y la síntesis de hormonas sexuales masculinas o andrógenos, principalmente la testosterona (esteroidogénesis), hormona que se considera esencial en el mantenimiento de la espermatogénesis y es responsable del dimorfismo sexual (Pocock, 2005).

Espermatogénesis

La espermatogénesis es una secuencia de eventos que se lleva a cabo en el túbulo seminífero, que conduce a que las células germinales, espermatogonias se multipliquen y diferencien hacia espermatozoides (Sofikitis y col., 2008).

La espermatogénesis se divide en tres fases; la fase de proliferación mediante la cual las espermatogonias diploides de tipo A se dividen por mitosis en forma repetida y como resultado se forman espermatogonias tipo B o espermatocito, en este tipo celular se inicia la división reduccional o meiosis I y al concluir la primera división reduccional, se forma el espermatocito secundario. Estas células contienen un número haploide de cromosomas pero en juegos

duplicados y en ellas se inicia la segunda división reduccional o meiosis II, al finalizar esta se forman las espermátides haploides redondas. En este tipo celular inicia la fase de diferenciación o espermiogénesis, en donde las espermátides redondas no se dividen pero se desarrollan a espermátides enlongadas y estas a espermatozoides, los que son liberados al lumen del túbulo seminífero. La espermatogénesis se divide en diferentes etapas basadas sobre la asociación de las células germinales en diferentes etapas de diferenciación. Catorce etapas han sido descritas para ratas, mientras que en ratones se han identificado doce. Estas asociaciones celulares se conocen como etapas del ciclo del epitelio seminífero (Kerr, 2006). El orden secuencial de las etapas y su repetición a lo largo del túbulo constituye la oleada de la espermatogénesis en el epitelio seminífero. Estas etapas se identifican con número romano, del I a la etapa XIV, se encuentran en orden ascendente desde la rete de testis hasta el centro del túbulo seminífero (Johnson, 2012).

Esteroidogénesis

La esteroidogénesis es el proceso mediante el cual son sintetizadas las hormonas esteroides, en el testículo la más importante es la testosterona. El sustrato para la síntesis de hormonas esteroides es el colesterol que llega al testículo de tres fuentes: 1) la síntesis de novo, a partir del acetato y se lleva a cabo en la propia célula de Leydig; 2) colesterol que la célula adquiere vía la recaptura de lipoproteínas de baja densidad (LPL) y alta densidad (HPL); 3) la hidrólisis de los almacenes de colesterol en forma de esteres de colesterol (Levy, 2009).

La esteroidogénesis incluye la formación de más de 40 esteroides derivados del ciclopentano-perhidrofenantreno pero solo pocos tienen mayor importancia fisiológica, en todas estas transformaciones actúa el citocromo P450.

La biosíntesis de hormonas esteroides tiene lugar en la glándula adrenal, el ovario, el testículo y la placenta, esta última estructura en los mamíferos placentarios. En el macho, la testosterona representa el principal esteroide encontrado en la circulación y más del 95% de la testosterona en sangre es sintetizada por el testículo, en las células de Leydig (Figura 4) (Tresguerres 1999; Nieschlag, 2009).

La transformación de colesterol a testosterona involucra 5 pasos enzimáticos en los cuales la cadena lateral de colesterol es oxidada de 27 carbonos a 19 carbonos; este proceso es bajo la presencia de un sistema enzimático que involucra a la enzima citocromo P450. La transformación de colesterol a pregnenolona se realiza en la mitocondria, por lo que el colesterol debe ser transportado e internalizado en la mitocondria, en donde se lleva a cabo una secuencia de reacciones comunes con la separación oxidativa del carbono 6 de la cadena lateral del colesterol, para ello son importantes dos hidroxilaciones y una reacción de la enzima liasa. Primeramente una monooxigenasa hidroxila en el Carbono 20, tras otra hidroxilación en el Carbono 22, posteriormente se da el rompimiento del enlace Carbono 20-22 por acción de la desmolasa seguido de la formación de un grupo ceto en el carbono 20 hasta la pregnenolona en el carbono 21. La pregnenolona se libera de la mitocondria y pasa al retículo endoplásmico liso, en donde se completa la esteroidogénesis ya sea a través de la ruta Δ5 o Δ4 las cuales conducen a la síntesis de las hormonas esteroides. En el humano la ruta Δ5 es la más importante y en roedores es la ruta Δ4.

La progesterona se sintetiza a partir de pregnenolona en dos etapas: el grupo 3-hidroxilo de pregnenolona se oxida a 3-ceto, y el doble enlace Δ5 se isomeriza a Δ4. La síntesis de andrógenos comienza con la hidroxilación de progesterona en C17. La cadena lateral compuesta de C20 y C21 se escinde para formar la androstenediona. La testosterona se forma por reducción del grupo 17-ceto de la androstenediona. Los andrógenos tienen 19 carbonos y a partir de estos

se sintetizan los estrógenos, por la pérdida de un grupo metilo C19 y la formación de un anillo aromático (Tresguerres, 1999; Müller-Esterl, 2008; Nieschlag, 2009).

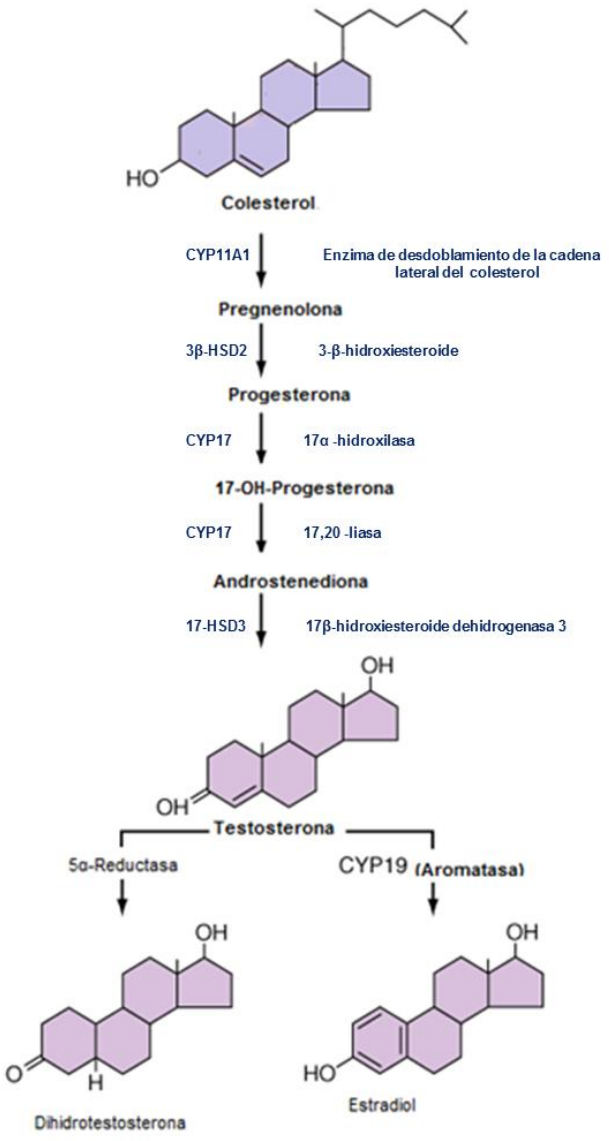


Figura 4. Síntesis de hormonas esteroides en el testículo. CYP11A1 (*Enzima de desdoblamiento de la cadena lateral del colesterol***), 3β-HSD2 (***3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa***), CYP17 (***17α-hidroxilasa***), CYP17 17β-HSD3 (***17,20-liasa***), 17β-HSD3 (**17β-*hidroxiesteroide deshidrogenasa*), **CYP19 (***aromatasa***) (Modificado de Jameson, 2010).**

Regulación hormonal de las funciones del testículo

La hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) consistente de 10 aminoácidos el cual es sintetizado a partir de una pre-hormona, en dos grupos de neuronas hipotálamicas que se localizan en el núcleo arqueado y en el área preóptica. Las neuronas que producen GnRH, tiene su origen embrionario fuera del SNC, y derivan de la placoda olfatoria durante la gestación temprana, dichas neuronas migran hacia el hipotálamo, junto con o como parte del nervio terminal a través de la lámina cribiforme. Jennes y colaboradores en 1982 reportaron que en la rata adulta, la GnRH es producida por un pequeño grupo de neuronas que se encuentran dispersas en el complejo de la banda diagonal-septum medial y el hipotálamo rostral.

Los axones de las neuronas GnRH se proyectan hacia muchos sitios en el interior del encéfalo, una de las proyecciones más características va desde el hipotálamo medio basal hasta la eminencia media que termina en un plexo extenso de botones sobre el vaso portal primario el cual envía GnRH a su célula blanco, el gonadotropo. En los seres humanos y otros mamíferos los axones de las neuronas de GnRH también se proyectan hacia el sistema límbico y los órganos circunventriculares distintos de la eminencia media como el órgano vasculoso de la lámina terminal y la adenohipófisis (Figura 5). Estas proyecciones cumplen un papel neuroendocrino como neuromoduladores y regulan–funciones como la reproducción (Yen y Barbieri, 2001; Parhar, 2002; Pfaff, 2002; Prieto, 2002).

Los receptores a GnRH se localizan en las membranas citoplasmáticas principalmente de los gonadrotopos, sin embargo con base en reportes recientes se ha sugerido la presencia de receptores a GnRH de origen extrahipotalámico situados en diversas regiones del cuerpo; entre ellos, el ovario la placenta y el

testículo lo que sugiere la acción de la hormona en otros sitios (Ramakrishanappa , 2005).

La GnRH se libera en pulsos los cuales pueden ser regulados por señales externas al hipotálamo, extrahipotalámicas, como los esteroides gonadales. Sin embargo, se sugiere que estos últimos no actúan directamente sobre las neuronas que secretan la GnRH, por lo tanto se considera que las acciones de los esteroides sobre la síntesis de GnRH se ejercen por intermedio de los neurotransmisores. Las células GnRH reciben información de diferentes sistemas neuronales (Tilbroobk y col., 2002); entre ellos el noradrenérgico, dopaminérgico y serotoninérgico, así como los péptidos opioides (Vitale y col., 1985; Frazer Y heansler 1990). Jennes y colaboradores (1982) mostraron que existe comunicación anatómica entre las neuronas serotoninérgicas y GnRHiergicas. Esta relación se establece entre los somas de las neuronas que secretan GnRH y las que sintetizan 5-HT o entre las terminales de ambas neuronas. Estas evidencias sustentan la posibilidad de que la 5-HT module la secreción de la GnRH.

La GnRH es liberada en el sistema portal hipofisiario y transportada a la adenohipófisis donde estimula la liberación de las gonadotropinas, la hormona folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). Ambas hormonas son liberadas a la circulación general y actúan en el ovario en la hembra o en el testículo en el macho, donde regulan las dos funciones gonadales, la gametogénesis y la esteroidogénesis (Clarke y Pompolo; 2005).

Serotonina y Testículo

Además de las gonadotropinas, otros factores participan en el mantenimiento del desarrollo y la estructura del testículo, así como en la modulación de sus funciones. Entre estos factores se encuentra el triptófano y la 5-HT (Tinajero, 1992; Dewawa y col., 2006).

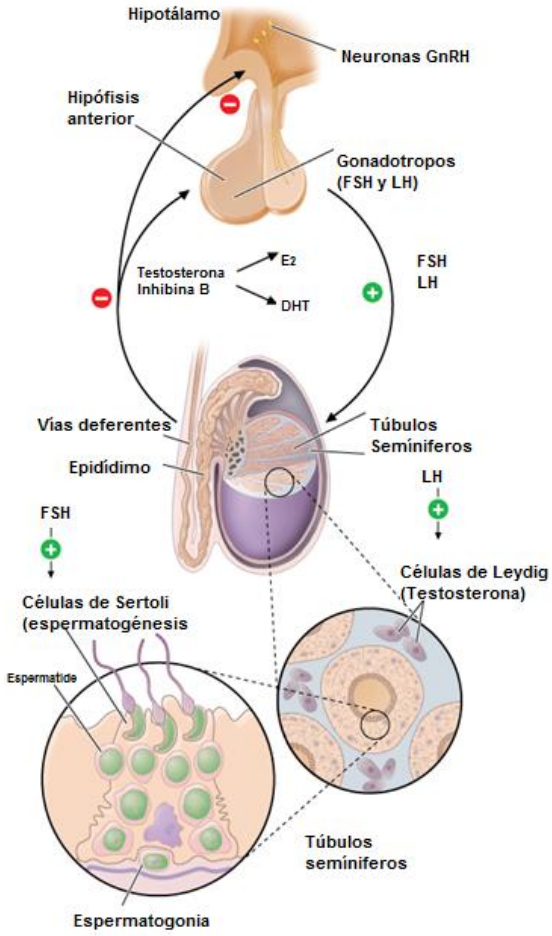


Figura 5.- Regulación hormonal del testículo. FSH (*Hormona folículo estimulante***), LH (***Hormona luteinizante)***, E_2 (***Estradiol***), DHT (***Dihidrotestosterona***), retroalimentación negativa (-), estimulación (+)** (Modificado de Jameson, 2010**).**

Degawa y colaboradores (2006) mostraron que la administración parenteral por sonda gástrica, del metabolito del triptófano, el 3 amino 1,4 dimetil-5-HT-pirido-(4,3) b-indol (Trp-P1), a ratones macho de 7 semanas de edad, a intervalos de 24 horas y por un periodo de dos semanas, resulta en la disminución en la concentración sérica de testosterona, este efecto posiblemente se asocie con inhibición de la expresión de las enzimas testiculares responsables de la síntesis de andrógenos.

Cuando a ratas macho, se les priva de triptófano, mediante una dieta libre de triptófano, desde el día uno de la preñez y durante la lactancia, presentan un marcado enanismo, disminuye el desarrollo de las gónadas, presentan hipoprolactinemia e hipoandrogenismo. Mientras que cuando la dieta libre de triptófano se inicia a partir del día 14.5 de gestación y se continúa durante la lactancia el desarrollo de los componentes del aparato reproductor como el testículo no se modifica (Imbesi y col., 2008). Conjuntamente estos resultados llevan a proponer que la presencia de triptófano en los primeros días de desarrollo intrauterino son esenciales, así como el sistema serotoninérgico en el desarrollo sexual.

Britan y colaboradores (2006) mostraron que en el epidídimo del ratón se expresan altas concentraciones de las enzimas, triptófano 2-3 dioxigenasa (TDO) y la indolamina 2-3 dioxigenasa (IDO), que metabolizan al triptófano, por la vía de la quirunenina. Estas dos enzimas también se identifican en las gónadas de los machos durante el desarrollo embrionario. Estas evidencias permiten plantear que estas enzimas antioxidantes participan en la protección de las células espermáticas neutralizando los efectos nocivos de los radicales libres.

A la 5-HT se le ha atribuido un papel dual en la regulación de la secreción de las gonadotropinas. En neuronas GnRHérgicas inmortalizadas, GT1-7, mantenidas in vitro, la administración de 5-HT que se une de forma no selectiva a los diferentes tipos de receptores de la amina, ejerce un efecto inhibitorio y estimulatorio en la liberación de la GnRH, efecto que depende del tiempo y de la dosis (Wada y col., 2006).

La administración del 5-hidroxitriptófano, precursor de la síntesis de 5-HT a ratas tratas de 16, veinte o treinta días de edad incrementa la secreción de FSH en el suero y no modifica la de la LH. Cuando la administración del precursor se realiza en la rata macho castrada se incrementa la secreción de LH y no se modifica la de la FSH (Justo y col., 1989). Cuando a ratas de 30 días de edad se le administró sulfato de serotonina por vía sistémica, disminuyo la concentración de LH y de testosterona en el suero y se incrementó la muerte de células germinales por apoptosis. Conjuntamente estos resultados posiblemente son el reflejo de la acción de la serotonina directamente en la hipófisis, inhibiendo la secreción de LH o de su acción directamente en la gónada, donde ejerce un efecto inhibitorio en la regulación de sus funciones (esteroidogénesis) (Pérez, 2007).

También es posible que la 5-HT afecte directamente el funcionamiento de la hipófisis. Se ha mostrado que la hipófisis anterior contiene 5-HT (Payette y col., 1986), y que en la rata las células de esta glándula tienen la capacidad de recapturar y almacenar la amina (Saavedra y col., 1975; Johns y col., 1982). También se ha mostrado que en el lóbulo anterior existe inervación serotoninérgica que penetra a esta glándula junto con los vasos sanguíneos (Westlund y Childs, 1982; Saland, 2001), lo cual podría indicar que la 5-HT tiene un papel en el control vasomotor y en el flujo sanguíneo hacia la hipófisis.

Se ha mostrado que la 5-HT está presente en el testículo, conducto deferente y en la cabeza del epidídimo (Aguilar y col. 1995; Campos y col. 1990). En el testículo se sintetiza en las células de Leydig (Tinajero y col., 1993). La función de la amina es regular la secreción del factor liberador de la corticotropina (CFR), en las células de Leydig, el que ejerce un efecto inhibitorio en la secreción de testosterona (Tinajero y col., 1993). También tiene la capacidad de modular el flujo sanguíneo en la gónada del macho (Collin y col., 1996).

En conjunto los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten pensar que la 5-HT actúa en los diferentes componentes del eje hipotálamo-hipófisis-testículo y como consecuencia en el funcionamiento de la gónada, en particular de la esteroidogénesis. También es posible que la participación diferencial de la 5-HT en la secreción de las gonadotropinas esté asociado con la edad del animal.

JUSTIFICACIÓN

La 5-HT se sintetiza a partir del triptófano y se le encuentra en el sistema nervioso central y en tejidos periféricos, como la hipófisis y el testículo. Se sugiere que la amina participa en la modulación del funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Sin embargo, los resultados sobre la participación de la amina en el funcionamiento de este eje varían a lo largo del desarrollo del animal prepúber. Por ello, en el presente estudio se analizaron los efectos de la estimulación del sistema serotoninérgico del eje hipotálamo-hipófisis-testículo de la rata macho, en las etapas infantil y juvenil en las concentraciones de 5-HT y su metabolito el 5-HIAA en hipotálamo, la hipófisis y el testículo así como en la concentración de gonadotropinas y esteroides en el suero.

HIPÓTESIS

En la rata macho infantil y juvenil la 5-HT modula de manera estimulante la secreción de gonadotropinas que actúan en el testículo modulando la esteroidogénesis. Por ello, la estimulación de este sistema de neurotransmisión provocará el aumento en la secreción de las gonadotropinas y de las hormonas esteroides, entre ellas la testosterona.

OBJETIVO GENERAL

Analizar los efectos de la estimulación del sistema serotoninérgico del eje hipotálamo-hipófisis-testículo, en la concentración de gonadotropinas y de esteroides en el suero de la rata macho en las etapas infantil y juvenil.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar los efectos de la administración de 5-HTP en la concentración de 5-HT y de su metabolito (5-HIAA), en el hipotálamo anterior, medio e hipófisis de la rata macho prepúber.

Analizar los efectos de la administración de 5-HTP en la concentración de 5-HT y del 5-HIAA en la cápsula y tejido testicular de la rata macho infantil y juvenil.

Cuantificar los efectos de la administración de 5-HTP en la concentración de FSH y LH en el suero de la rata macho infantil y juvenil.

Evaluar los efectos de la administración de 5-HTP en la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de la rata macho infantil y juvenil.

MATERIALES Y METÓDO

Animales

Se utilizaron ratas macho de 15 y 30 días de edad de la cepa CII-ZV, las cuales se mantuvieron en condiciones controladas de iluminación, 14 horas luz y 10 horas oscuridad. Con libre acceso a la madre hasta el destete (día 21) y al agua y al alimento. Los animales fueron divididos al azar en los siguientes grupos experimentales:

Administración del fármaco

A grupos de animales de 15 ó 30 días de edad se les administró por vía intraperitoneal 100 mg/kg de peso corporal de 5-HTP (grupo 5-HTP) (precursor de la síntesis de 5-HT) (Sigma Chemical, St Louis, USA). Se ha reportado que con la dosis antes mencionada se incrementa la síntesis de 5-HT en el hipotálamo (Justo y col., 1989). A otro grupo de animales se les administró solución salina al 0.9% (grupo Vh) por la vía antes mencionada. Los animales se sacrificaron a los 60, 90 o 120 minutos después del tratamiento.

Procedimiento de autopsia

Los animales se sacrificaron por decapitación y se colectó la sangre del tronco. La sangre se dejó coagular durante 20 minutos, se centrifugó a 3500 r.p.m durante 15 minutos. El suero fue extraído y se colocó en tubos eppendorf, el cual

se almacenó a -20° C para la posterior cuantificación de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y estradiol) y gonadotropinas (FSH y LH) por la técnica de radio inmunoanálisis (RIA).

En el día del sacrificio se extrajo el testículo, la hipófisis y el cerebro, colocándose en solución fisiológica fría (4°C) para eliminar el exceso de sangre. El cerebro se congeló en nitrógeno líquido y se realizó la disección del hipotálamo en hipotálamo anterior (HA) y medio (HM) siguiendo las coordenadas del Atlas de Paxinos y Watson (1982). Los órganos o tejidos arriba mencionados se almacenaron a –70º C, para la posterior cuantificación de 5-HT y del 5-HIAA por la técnica de cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC).

Cuantificación de Serotonina

Las muestras de los diferentes tejidos fueron pesadas y homogeneizadas en ácido perclórico al 0.01 M. El HA y el HM se homogenizaron en 300 µl de ácido perclórico, la hipófisis en 150 µl, el testículo se separó en cápsula y tejido testicular los cuales fueron homogeneizados en 500 µl cada región. Las muestras se centrifugaron a 12 000 r.p.m a 4°C durante 30 minutos.

El sobrenadante de las muestras de hipotálamo, cápsula y tejido testicular se filtraron usando filtros de celulosa regenerada 0.2 µ. Para la cuantificación de 5-HT y 5-HIAA, veinte µl del filtrado se inyectó al sistema de cromatografía que lo conforman una bomba isocrática, un detector electroquímico, y el integrador (Perkin Elmer USA)

Con la concentración de 5-HT y 5-HIAA en el hipotálamo anterior y medio se realizó el cálculo de la relación: [5-HIAA]/ [5-HT], que se utilizó como un indicador de la actividad serotoninérgica (Shannon y col., 1986).

Actividad = [5-HIAA]/ [5-HT]

Cuantificación de gonadotropinas y de hormonas esteroides

La concentración sérica de gonadotropinas (FSH y LH) se realizó mediante la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo, con reactivos donados por el National Hormone and Pituitary Program (Baltimore, MD USA). El anticuerpo para LH fue NIAMDD-RatA-LH-RP3 y para FSH fue NIAMDD-Rat-FSH-RP2. La concentración de las hormonas se expresó en ng/ml de suero. La cuantificación de hormonas esteroides se realizó mediante la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida, la concentración de progesterona y estradiol se expresaron en ng/ml de suero, y la de testosterona en pg/ml de suero.

Análisis estadísticos de resultados

Los resultados de concentración de 5-HT, 5-HIAA, progesterona, testosterona y estradiol, FSH y LH se analizaron por un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey. Cuando se compararon los resultados de dos grupos, el análisis se realizó por la prueba “t” de Student. Se consideraron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al 0.05.

RESULTADOS

1.- Efecto de la administración de 5-HTP en la etapa infantil

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en el hipotálamo.

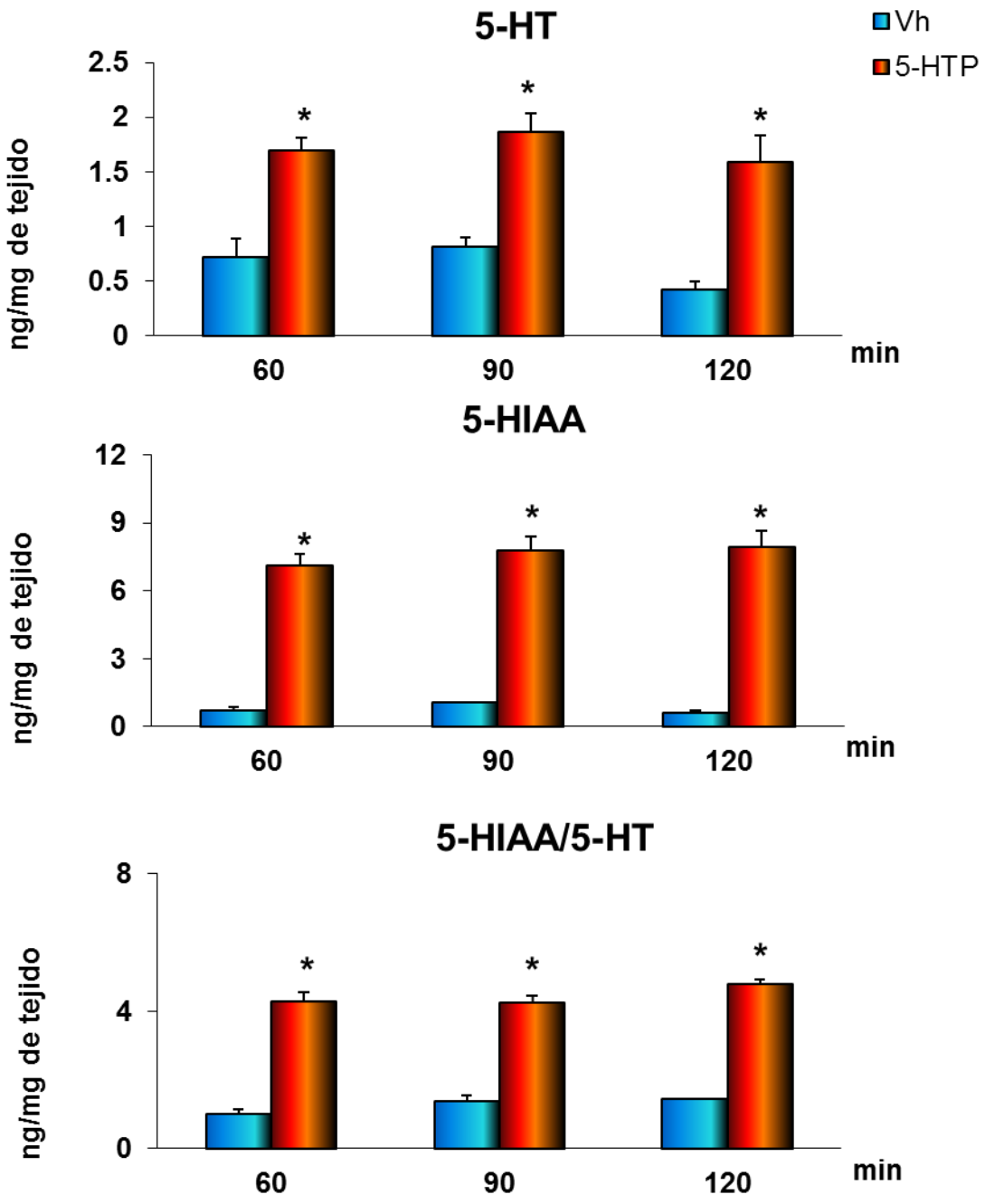
En comparación con el grupo de animales que se les inyectó el Vh, en las ratas tratadas con 5-HTP se observó incremento en la concentración de 5-HT, del 5-HIAA y la relación [5-IAA]/ [5-HT] en el HA y en el HM a los 60, 90 y 120 minutos post tratamiento (Figura 6 y 7).

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en la hipófisis

En la hipófisis de los animales que se les inyectó el 5-HTP se observó el incremento en la concentración de 5-HT y del 5-HIAA a los 60, 90 y 120 minutos, en comparación con el grupo que se trató con Vh. El incremento en la concentración de 5-HT fue más evidente a los 120 minutos y la del 5-HIAA fue a los 60 minutos después de la administración del precursor (Figura 8).

Concentración sérica de gonadotropinas

En comparación con el grupo de animales que recibieron Vh, en los animales que se les administró el 5-HTP no se modificó la concentración de LH y FSH a los 60 y 90 minutos, mientras que a los 120 minutos se observó el incremento significativo en las dos gonadotropinas (Figura 9).



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 6. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo anterior de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

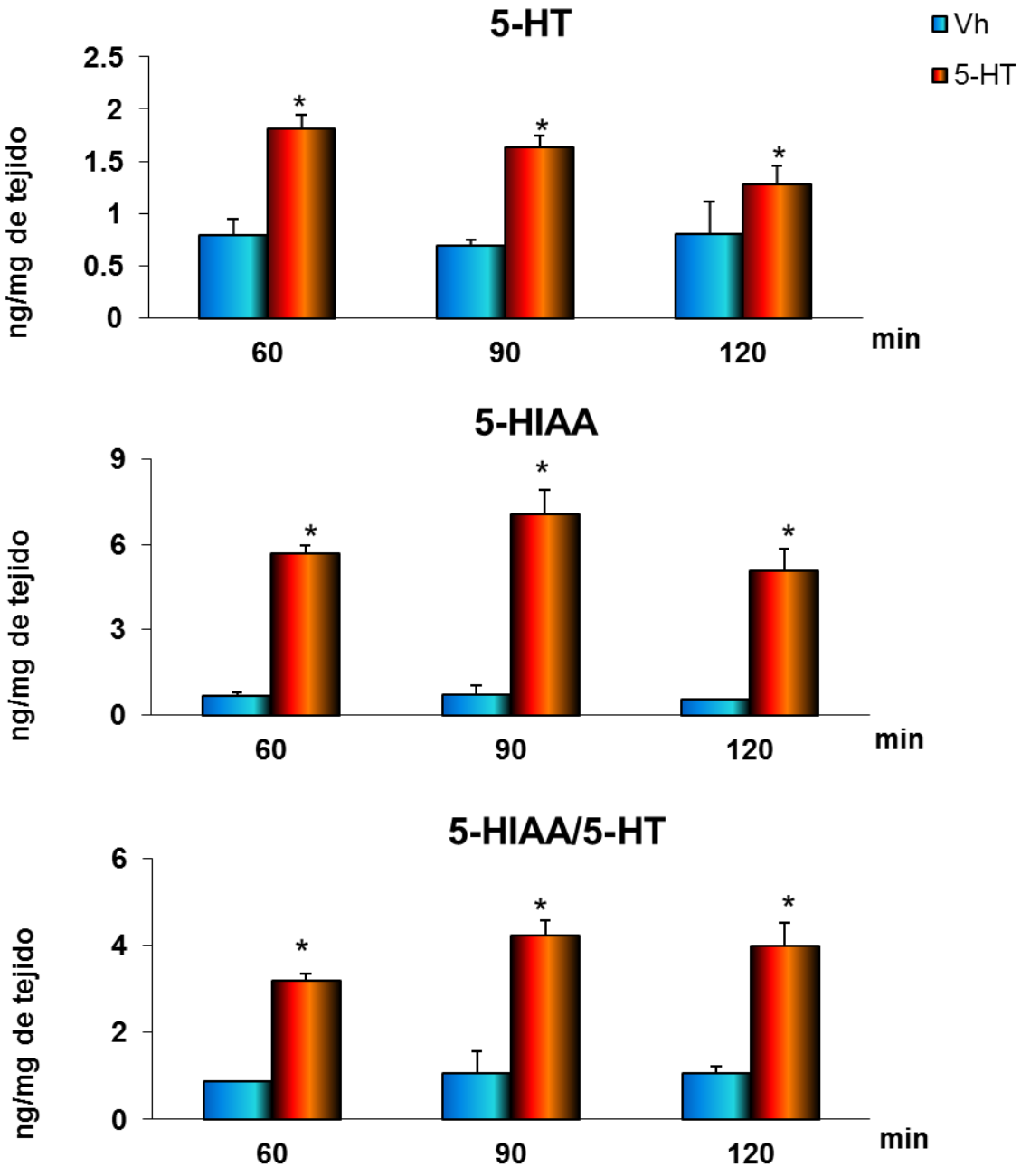
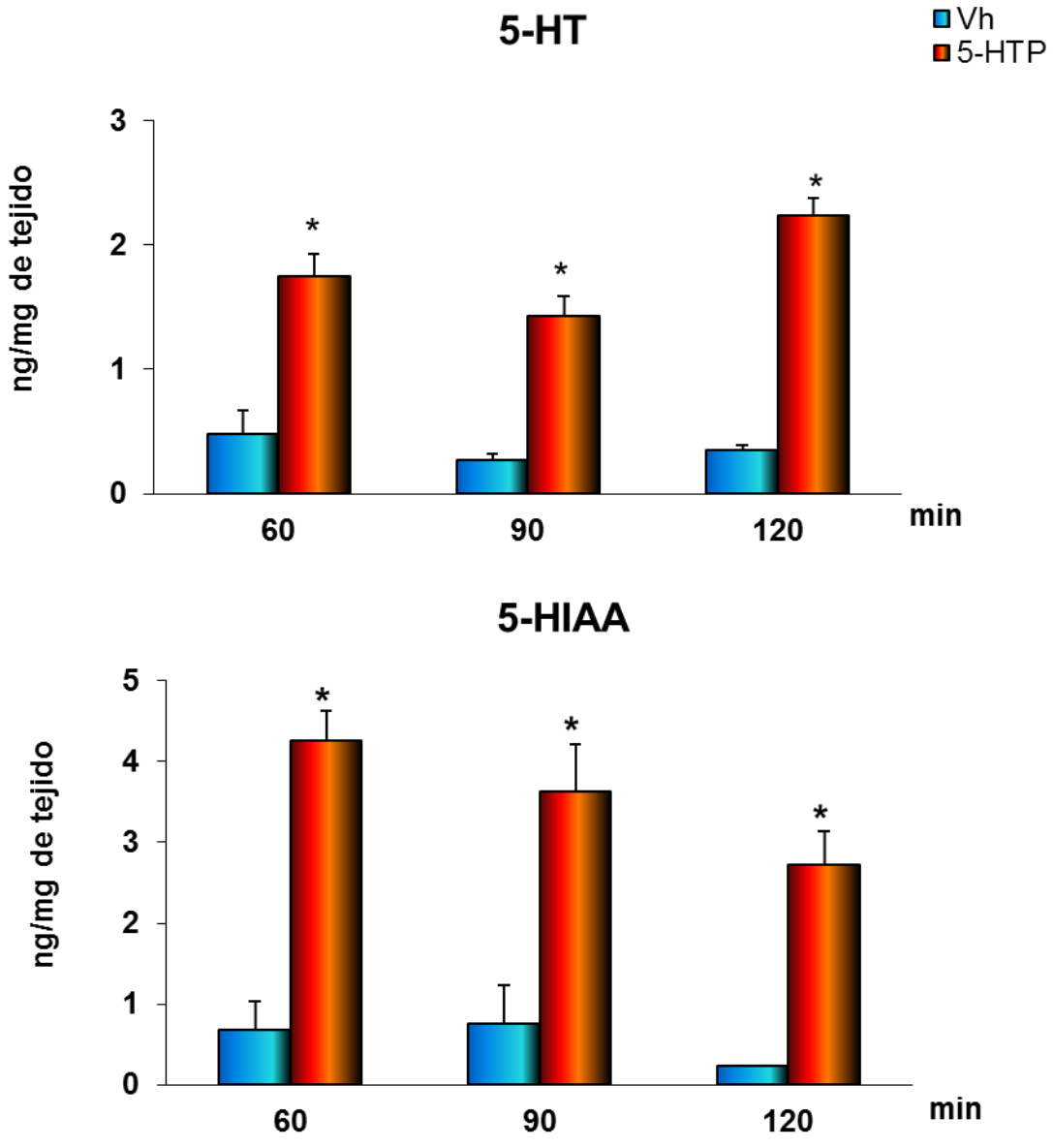


Figura 7. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo medio de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



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

Figura 8. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la hipófisis de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

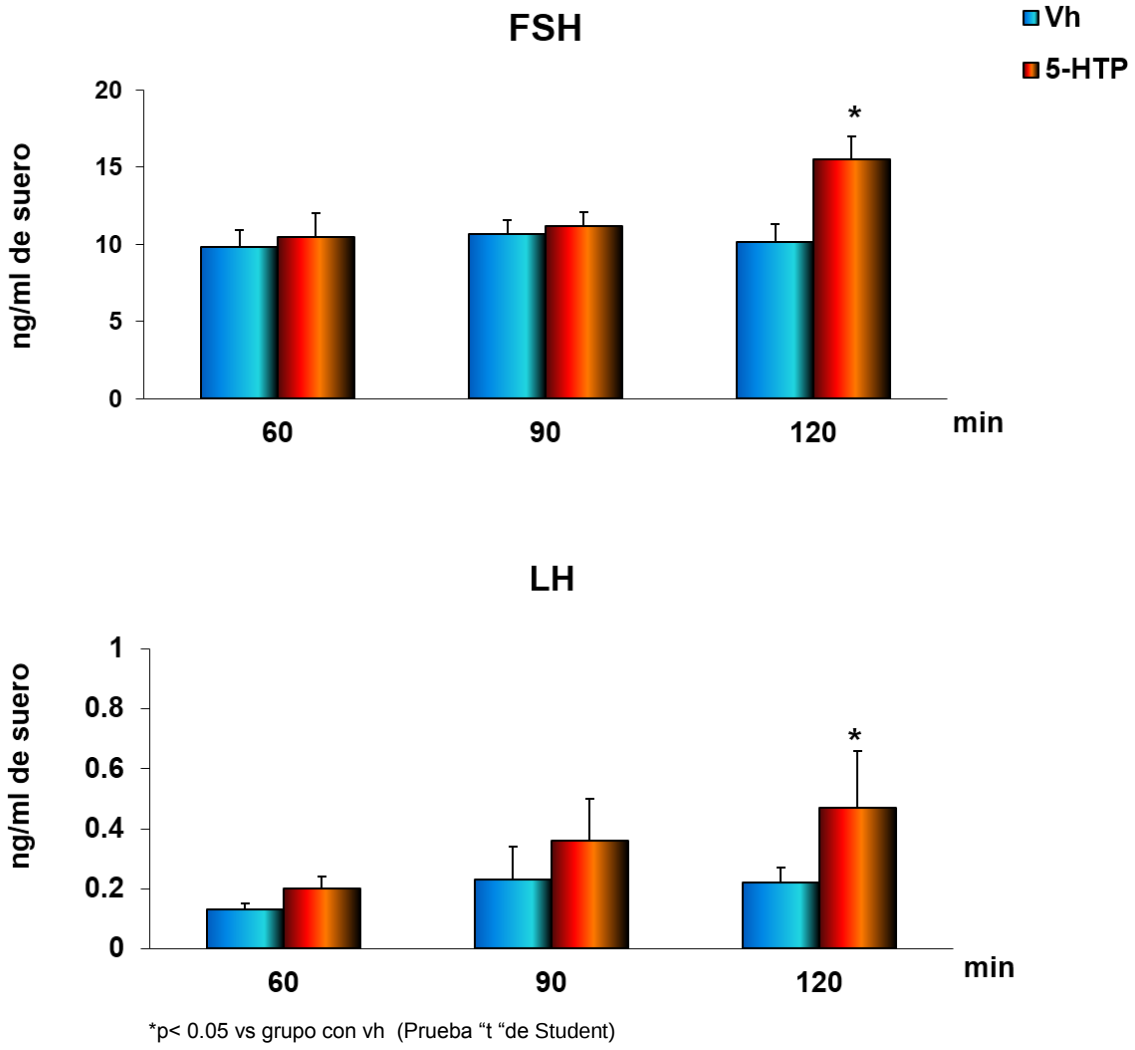


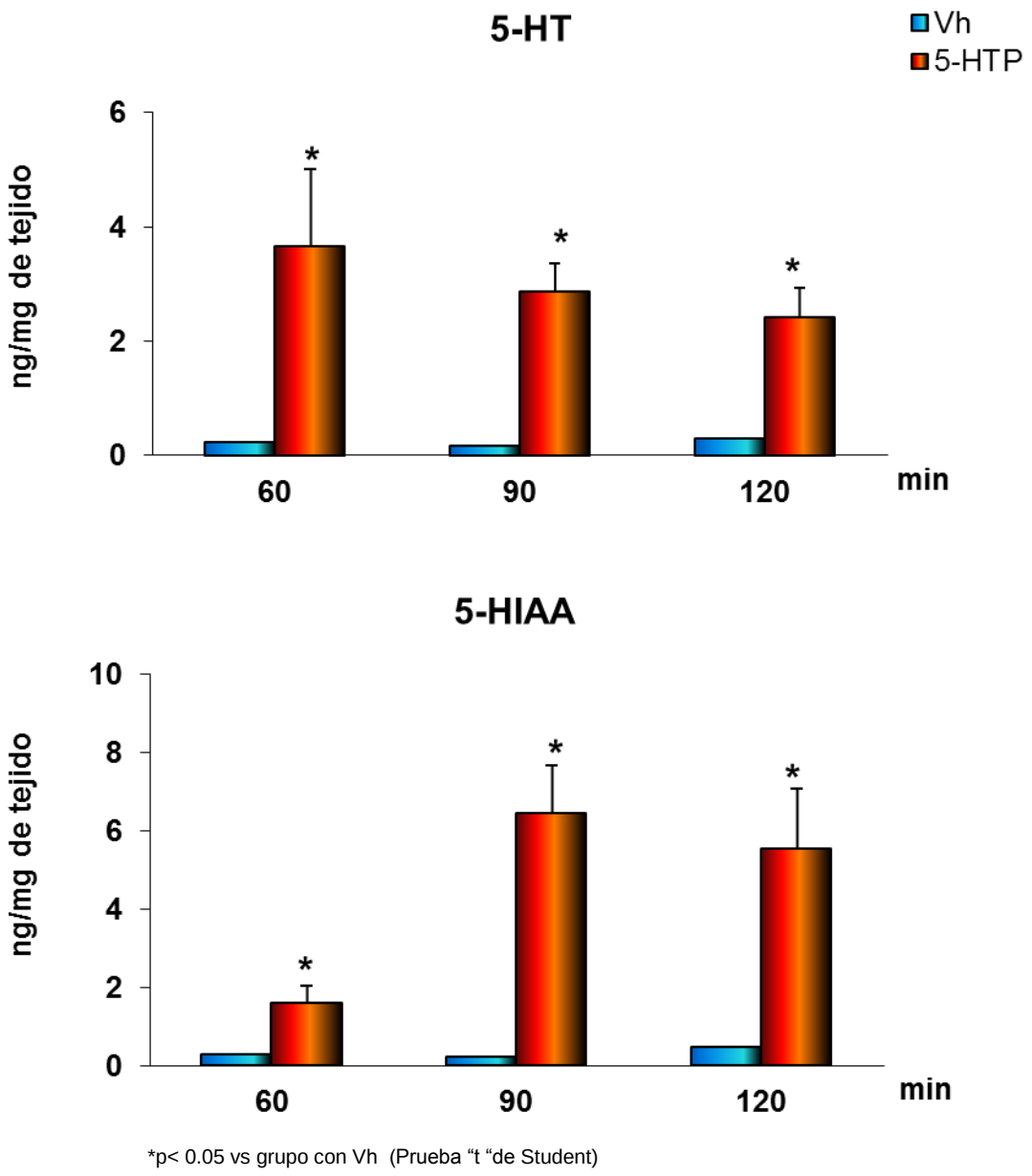
Figura 9. Concentración (media ± e.e.m.) de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en cápsula y tejido testicular

La concentración de 5-HT y del 5-HIAA en cápsula testicular de los animales tratados con 5-HTP fue mayor en todos los tiempos estudiados en relación con el grupo que recibió Vh (Figura 10). Este mismo comportamiento se observó en el tejido testicular de estos animales (Figura 11).

Concentración sérica de hormonas esteroides

En el suero de los animales que se les administró el 5-HTP se incrementó la concentración de progesterona a los 60 minutos postratamiento, en comparación con los animales que se les inyectó el Vh, en los otros horarios no se observaron cambios. La concentración de testosterona no se modificó a los 60 ó 120 minutos pero disminuyó a los 90 minutos. La concentración de estradiol disminuyó a los 60 minutos post-tratamiento e incrementó en los animales sacrificados a los 120 minutos, a los 90 minutos no se modificó la concentación de este esteroide (Figura 12).



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 10. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la cápsula testicular de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

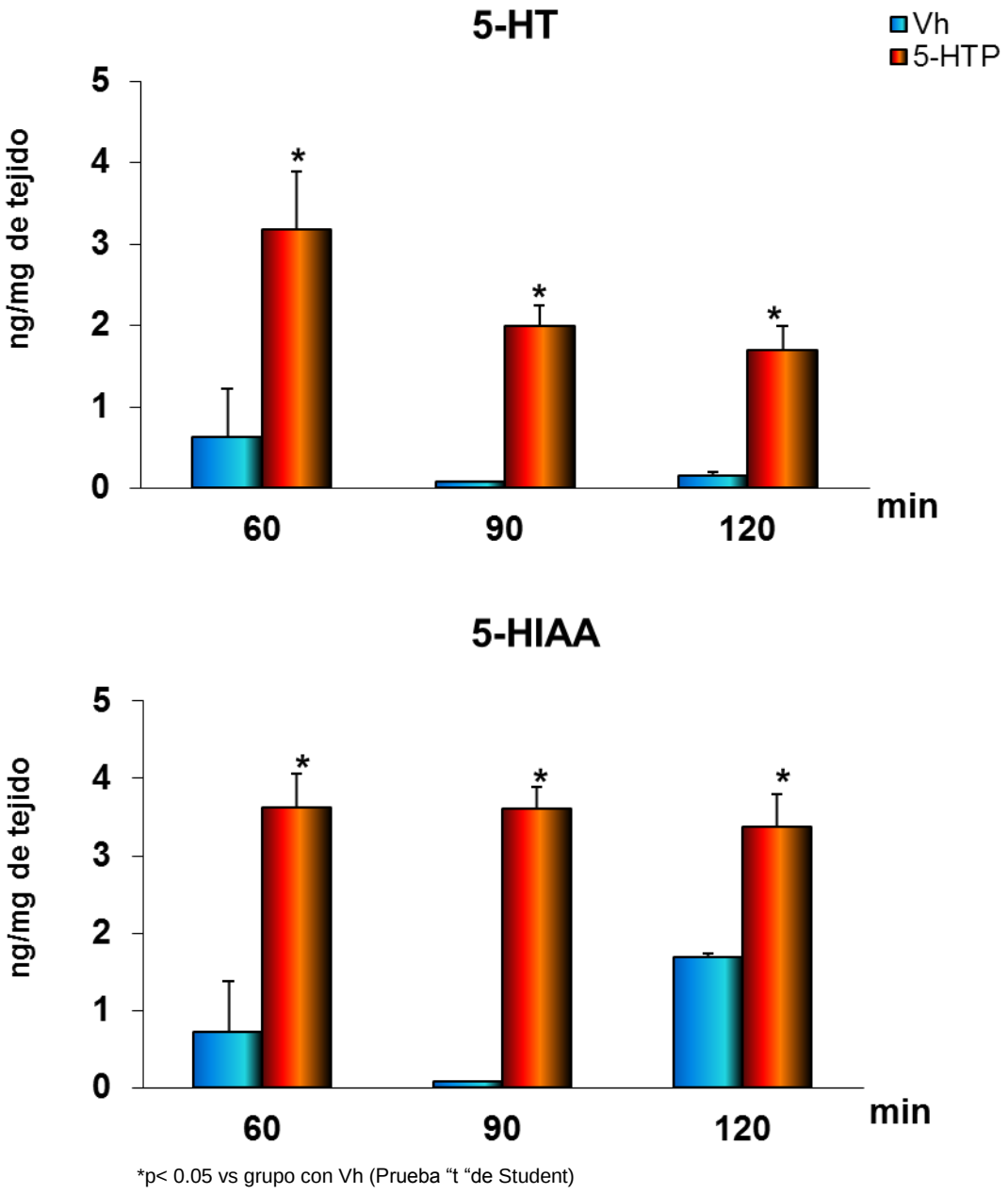
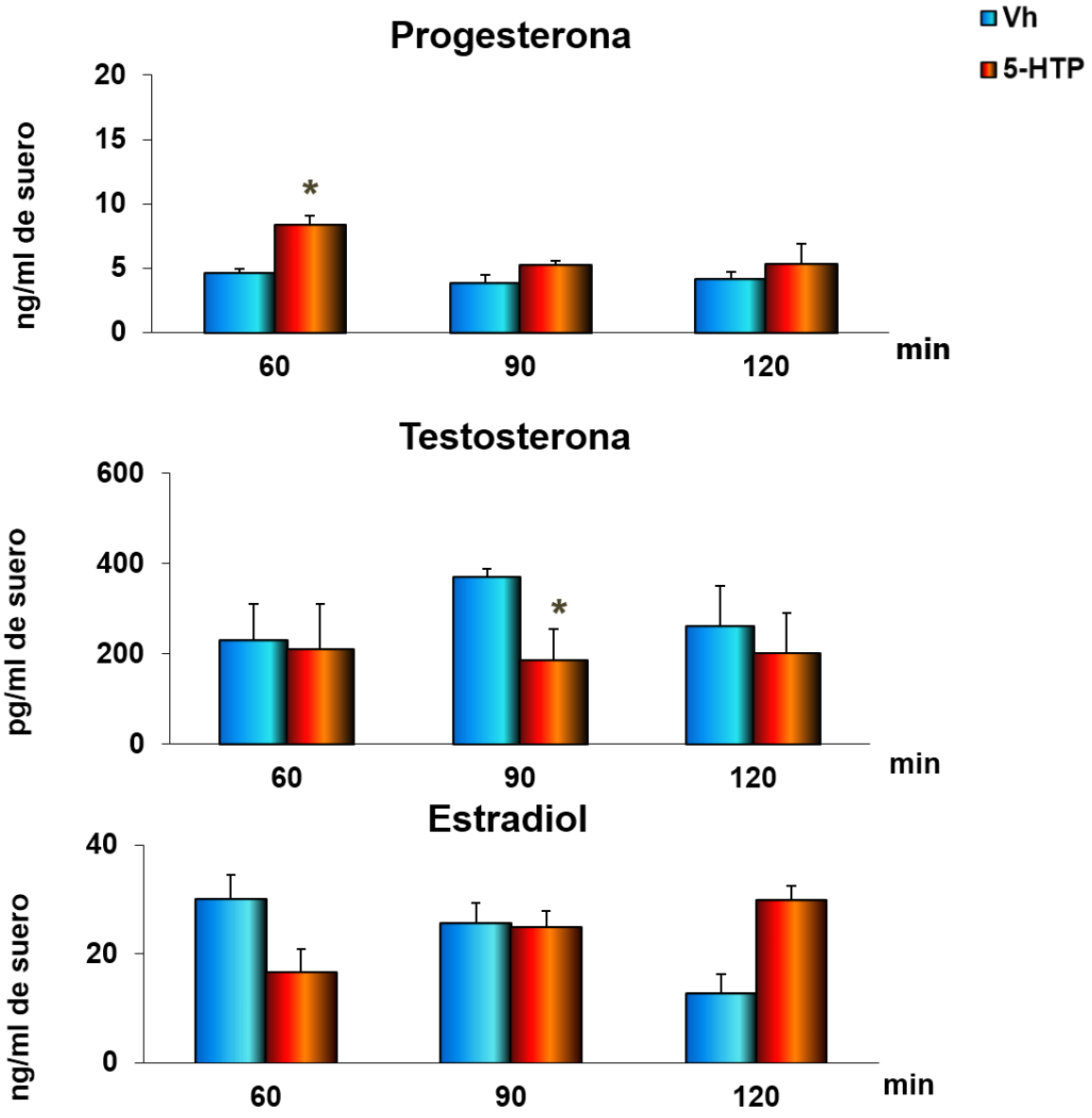


Figura 11. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en tejido testicular de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



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

Figura 12. Concentración (media ± e.e.m.) de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 15 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

2.-Efecto de la administración de 5-hidroxitriptófano en la etapa juvenil.

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en el hipotálamo

En comparación con los animales que se les inyectó Vh, en los que se les administró el 5-HTP, se incrementó la concentración de 5-HT en el HA a los 60 minutos postratamiento, a los 90 y 120 minutos no se observaron cambios. La concentración del 5-HIAA se incrementó significativamente a los 60 y 120 minutos. Mientras que la relación [5-HIAA]/[5-HT] fue mayor en todos los tiempos estudiados (Figura 13).

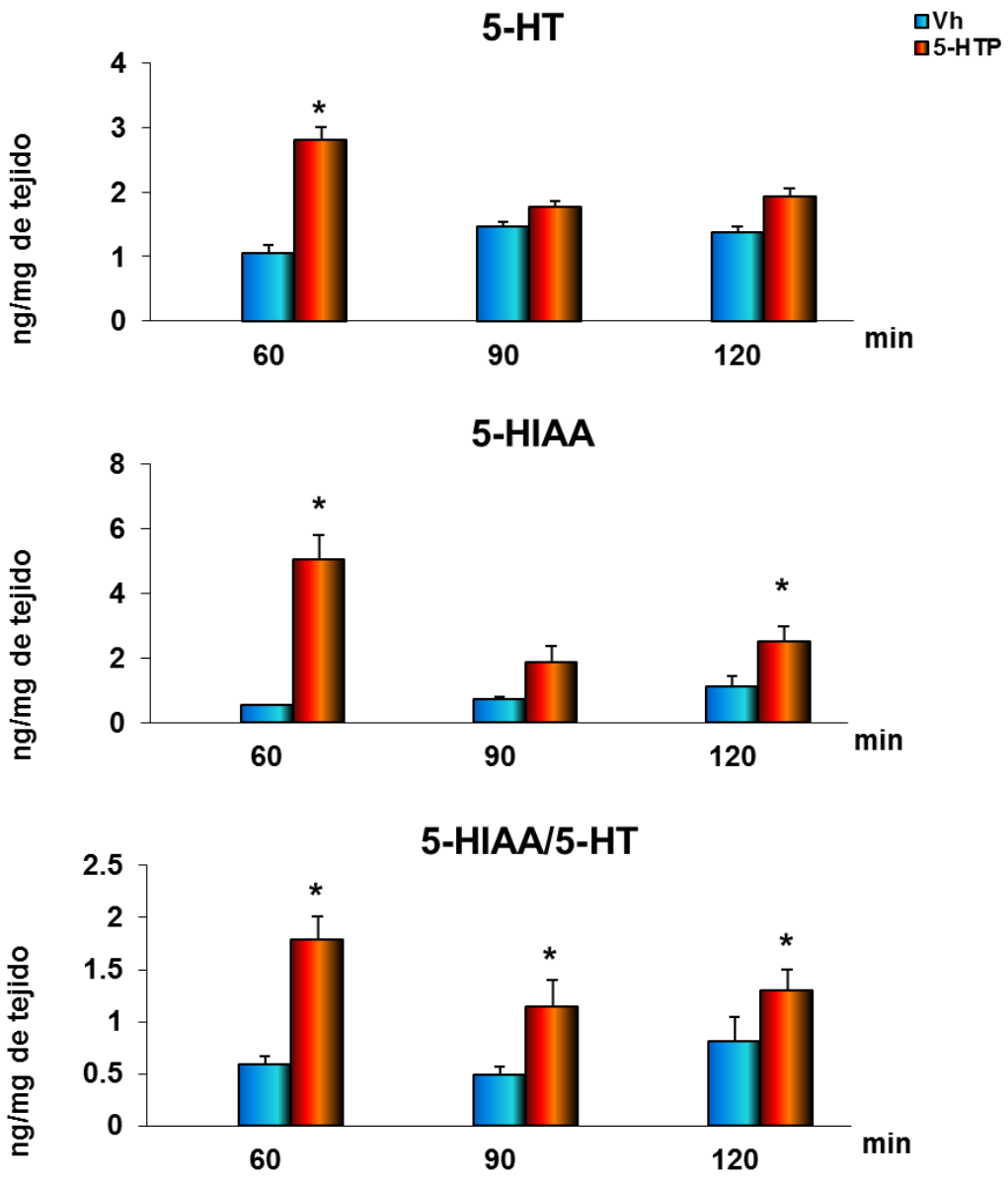
En el HM de los animales que se les inyectó el 5-HTP, la concentración de 5-HT se incrementó significativamente a los 60 minutos postratamiento. Este mismo comportamiento se observó en la concentración del 5-HIAA y en la relación [5-HIAA]/[5-HT] en todos los tiempos estudiados (Figura 14).

Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en la hipófisis

La concentración de serotonina y del 5-HIAA se incrementó significativamente en la hipófisis de todos los animales tratados con 5-HTP, en relación con el grupo de animales que se les inyectó el Vh (Figura 15).

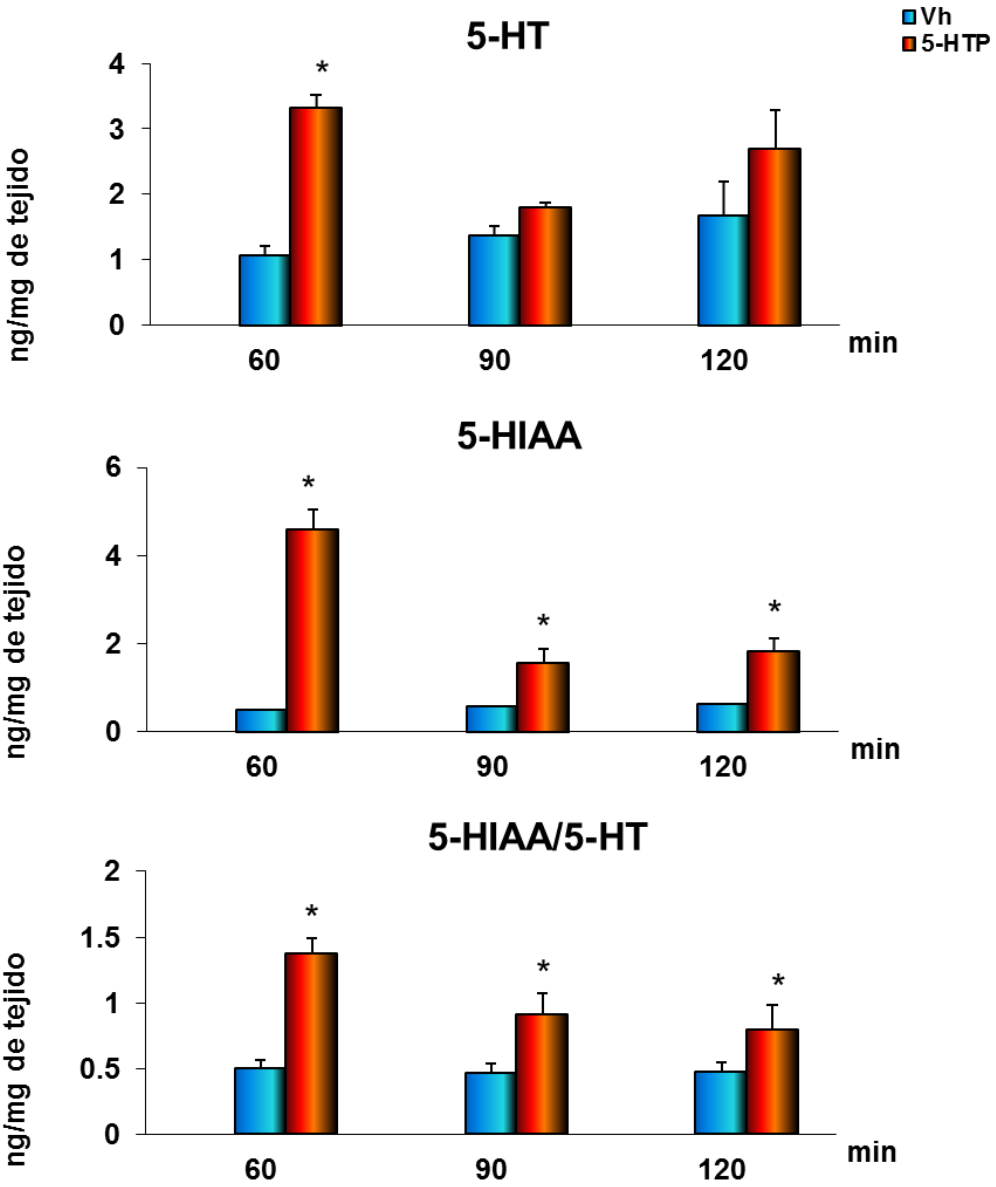
Concentración sérica de gonadotropinas

La concentración de FSH y LH en el suero de los animales tratados con 5-HTP disminuyó significativamente a los 120 minutos en comparación con el grupo Vh, en los otros tiempos estudiados no se presentaron cambios (Figura 16).



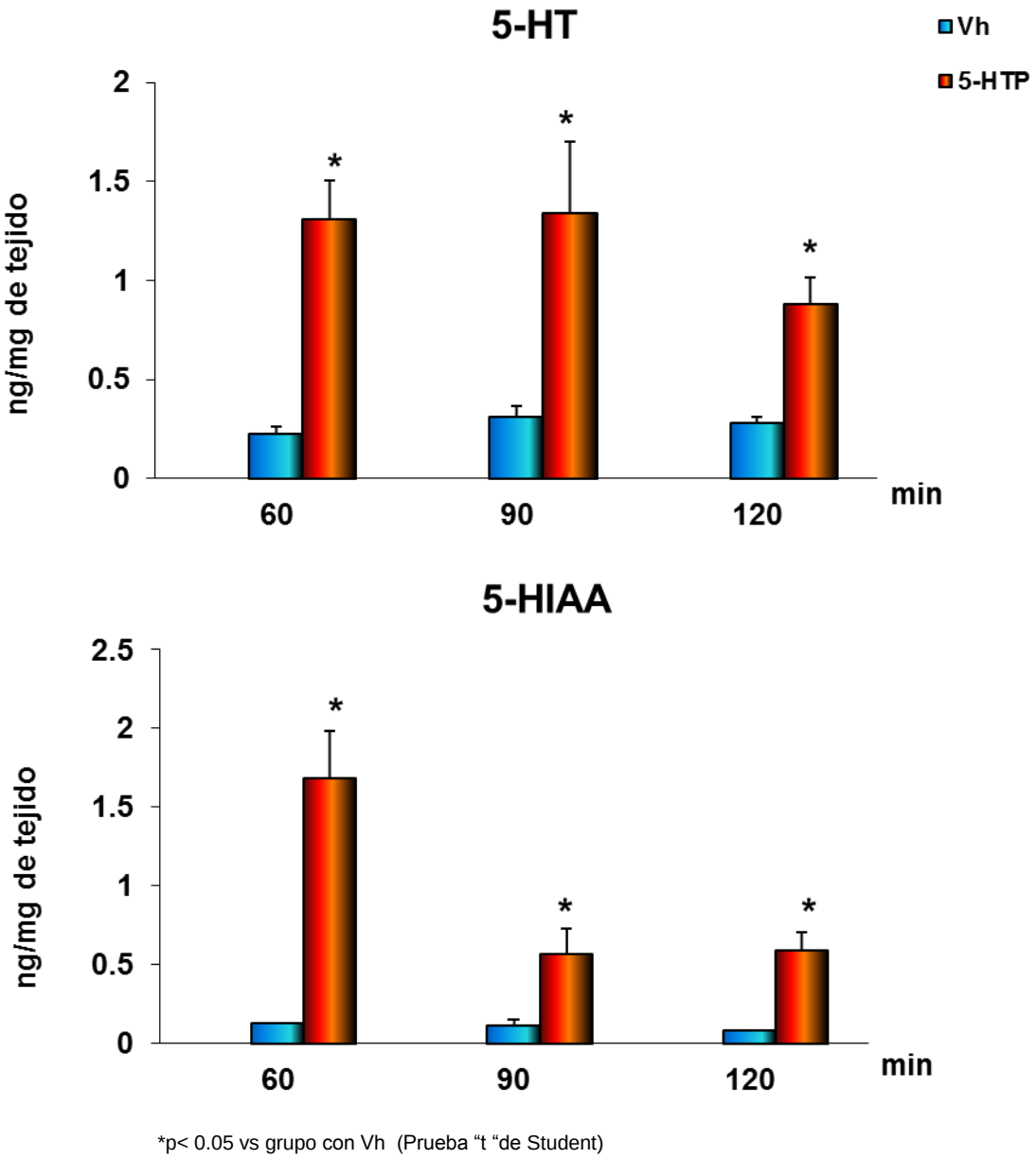
*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de student)

Figura 13. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo anterior de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



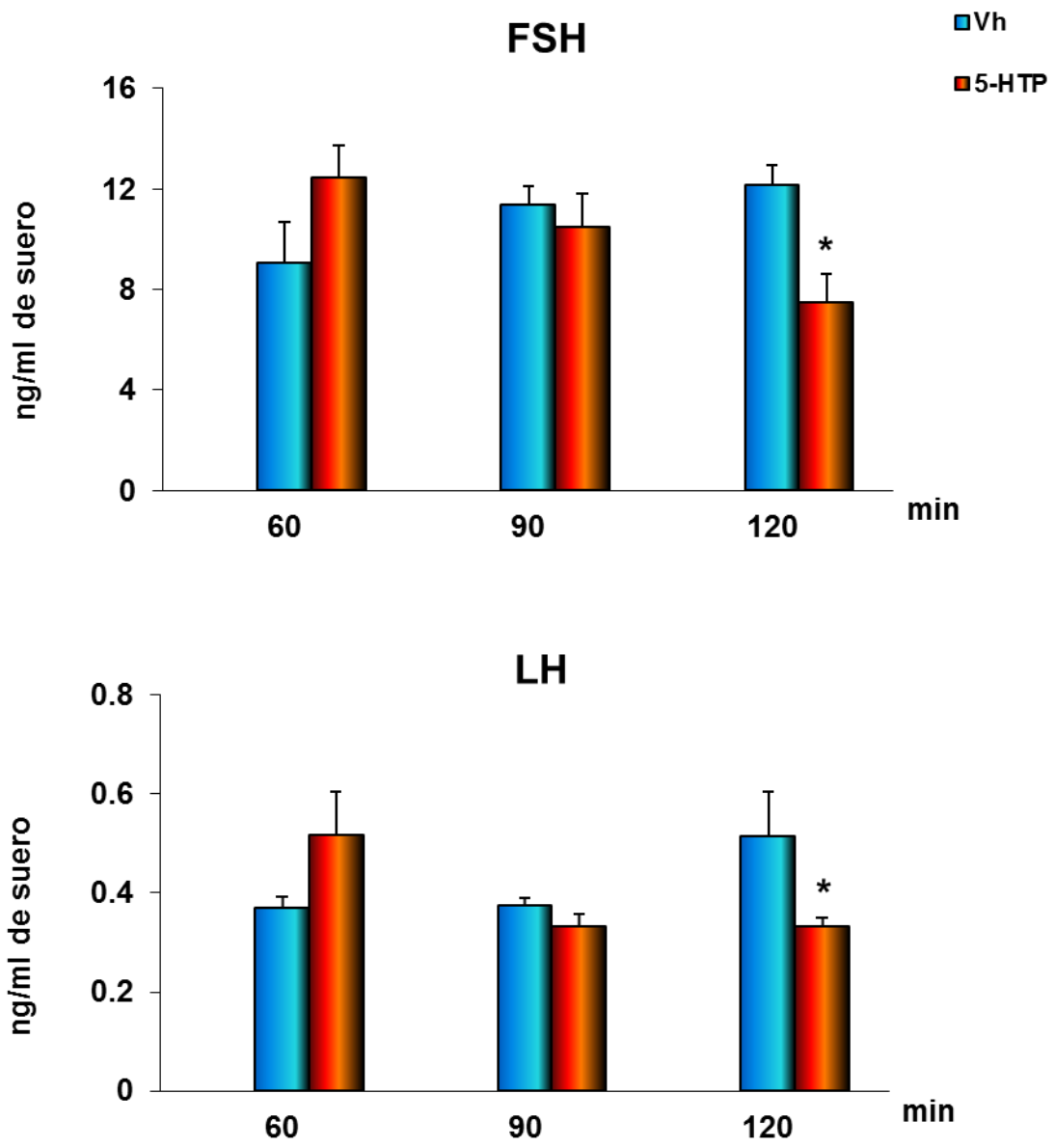
*p< 0.05 vs grupo con vh (Prueba "t "de Student).

Figura 14. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación 5-HIAA/5-HT en el hipotálamo medio de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 15. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la hipófisis de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 16. Concentración (media ± e.e.m.) de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

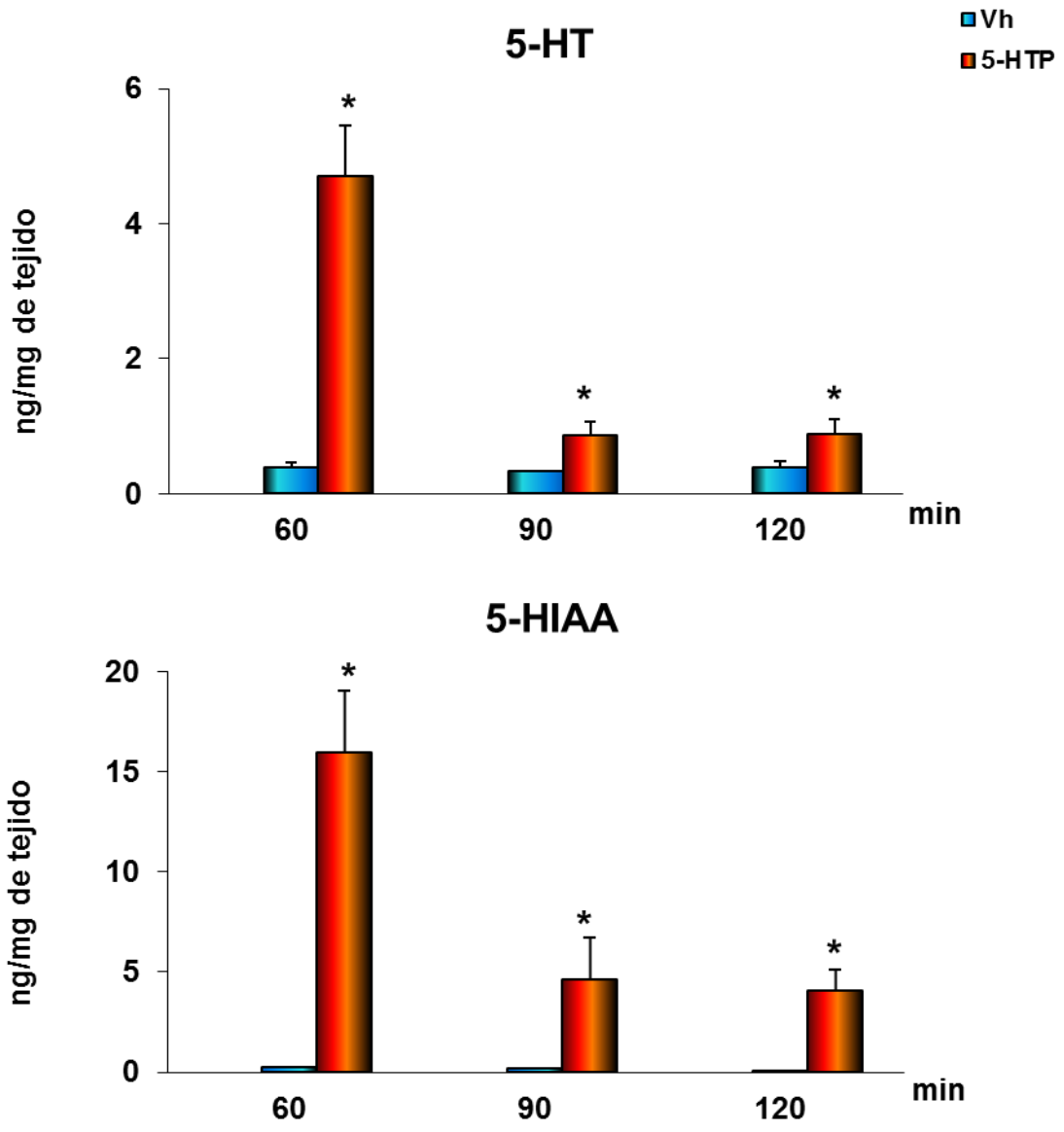
Concentración de 5-HT y del 5-HIAA en cápsula y tejido testicular

En comparación con los animales tratados con Vh, en la cápsula testicular de los animales inyectados con 5-HTP la concentración de 5-HT y del 5-HIAA aumentó significativamente en todos los tiempos estudiados (Figura 17).

En el tejido testicular de los animales tratados con 5-HTP se observó el aumento significativo en la concentración de 5-HT a los 60 y 90 minutos postratamiento en relación con el grupo Vh, mientras que la concentración de 5-HIAA fue mayor en todos los periodos estudiados (Figura 18).

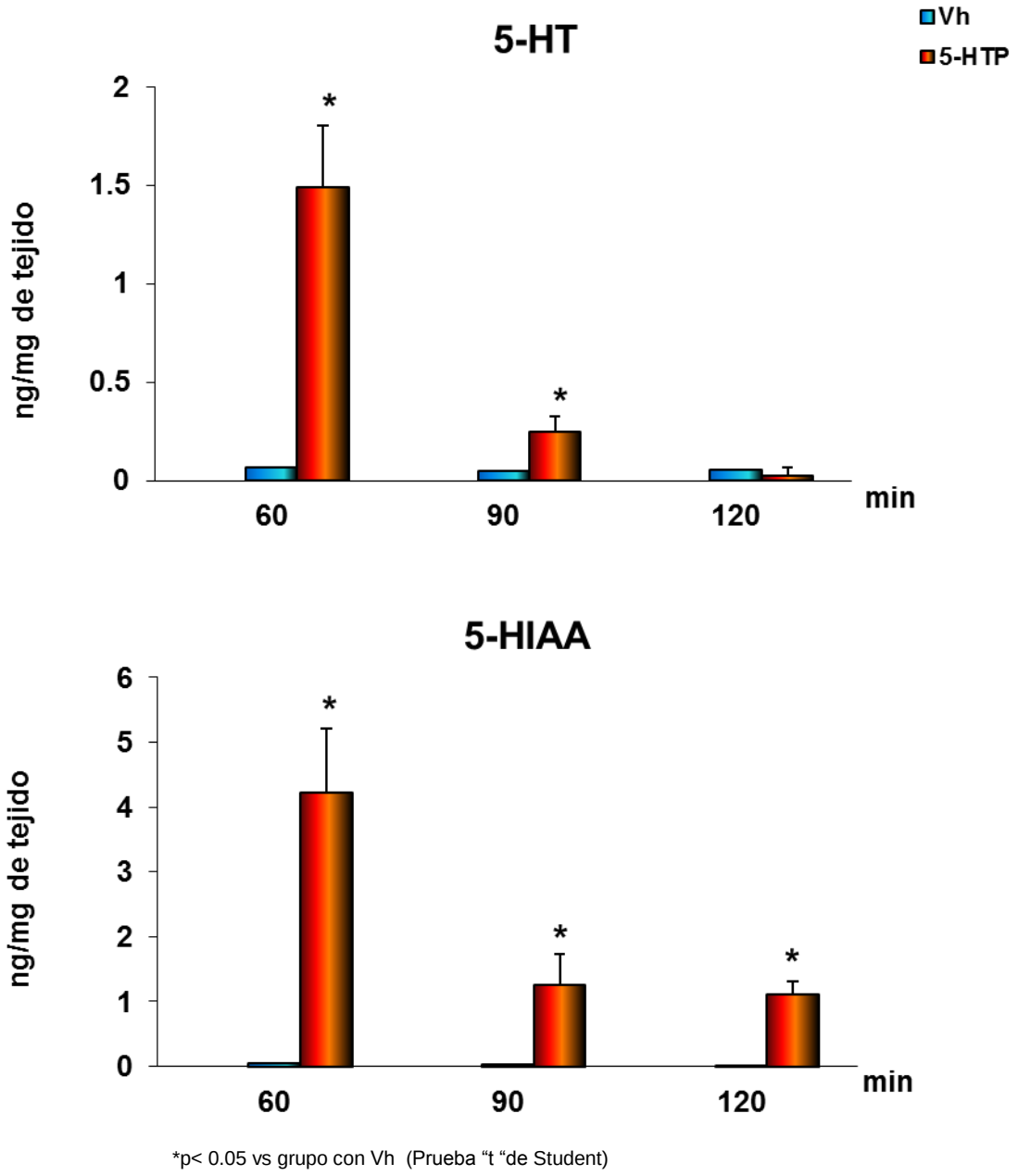
Concentración sérica de hormonas esteroides

La concentración sérica de progesterona en los animales tratados con 5-HTP se incrementó a los 60 y disminuyó a los 90 minutos en relación al grupo Vh. Mientras que, la concentración de testosterona se incrementó a los 60 y 120 minutos postratamiento. No se observaron diferencias significativas en la concentración de estradiol en ninguno de los tiempos estudiados (Figura 19).



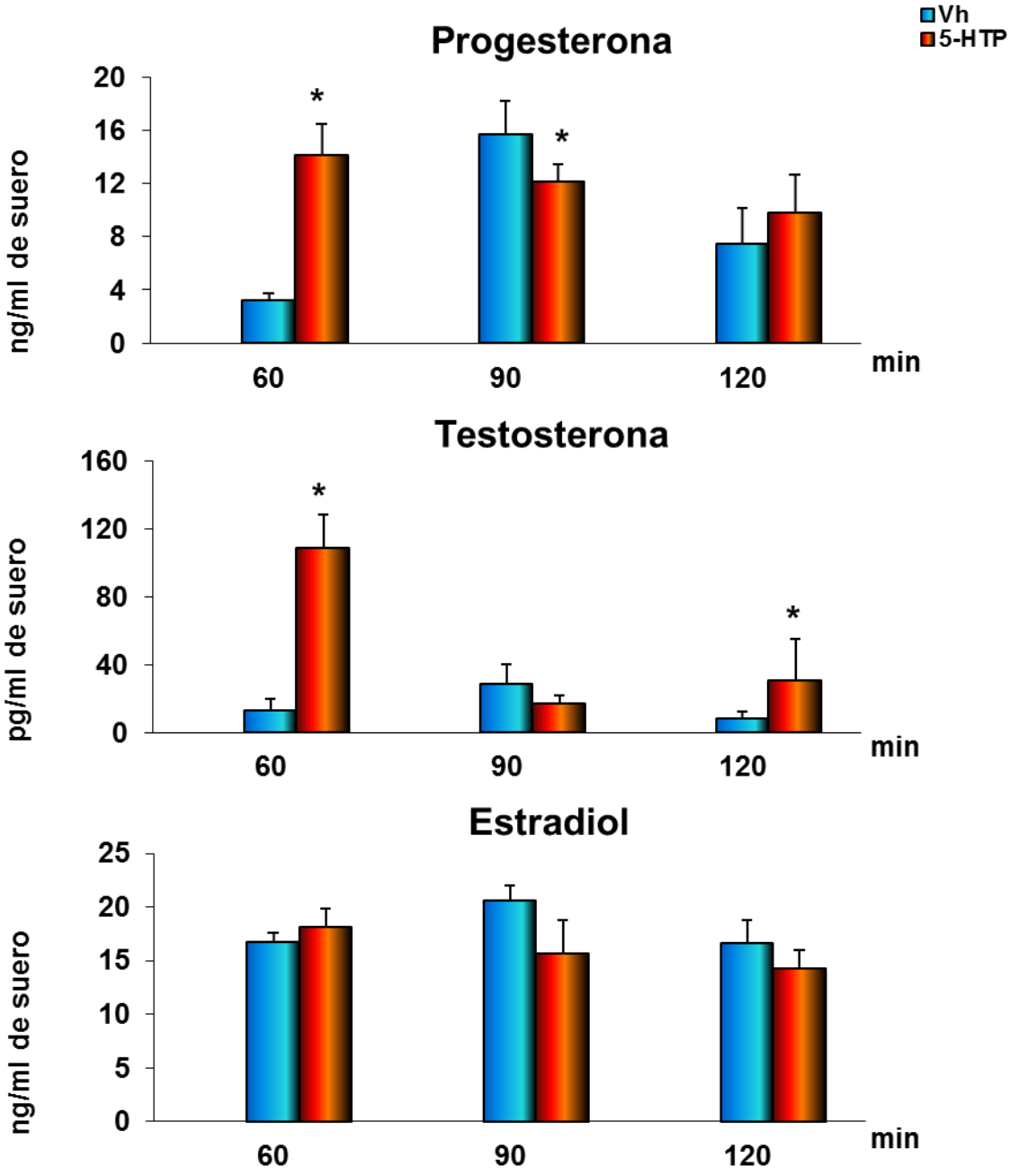
*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 17. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en la cápsula testicular de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 18. Concentración (media ± e.e.m.) de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en tejido testicular de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.



*p< 0.05 vs grupo con Vh (Prueba "t "de Student)

Figura 19. Concentración (media ± e.e.m.) de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (Vh) o con 100 mg/kg de peso corporal de 5-hidroxitriptófano (5-HTP) a los 30 días de edad y sacrificados en diferentes horarios.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos en este estudio es posible sugerir que la 5-HT participa en la modulación de la secreción de las gonadotropinas y de las hormonas esteroides sexuales por el testículo al actuar en los tres componentes del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Asimismo en la etapa infantil la 5-HT modula de forma estimulante la regulación de la secreción de las gonadotropinas y es inhibitoria en la etapa juvenil.

El incremento en la concentración de 5-HT en el hipotálamo de los animales que recibieron 5-HTP es un indicador de que este precursor cruzó la barrera hematoencéfalica, se incorporó a las neuronas serotoninérgicas y se incrementó la síntesis de 5-HT. La idea de que la administración del 5-HTP incrementa la síntesis de 5-HT en diferentes regiones del sistema nervioso como el hipotálamo, ha sido mostrado por otros autores (Moguilevsky y col., 1985; Justo y col., 1989). Además la síntesis de serotonina está controlada por la enzima TPH, cuya actividad depende de su sustrato, el triptófano. En roedores se ha mostrado que la liberación de 5-HT por las neuronas en el SNC es directamente proporcional a la concentración de su sustrato, el triptófano (Schaechter y Wurtman, 1990). El método más usado para disminuir o aumentar la síntesis de 5-HT es reducir o incrementar la disponibilidad del triptófano respectivamente (Richard y col., 2009).

Los resultados del presente estudio coinciden con lo reportado previamente, debido a que en rebanadas de hipotálamo, mantenidas en un sistema de perfusión que contiene triptófano se observa que aumenta la concentración de 5-HT en el medio en forma proporcional a la concentración de triptófano que se adiciona al medio de perfusión (Schaechter, Wurtman, 1989).

Conjuntamente diferentes eventos se llevan a cabo y favorecen que la administración del triptófano se acompañe del incremento en la síntesis de 5-HT y como consecuencia aumente la concentración de la amina en el hipotálamo. En suero, el triptófano se encuentra en dos formas, unido a albúmina o en forma libre, este último tiene la propiedad de cruzar la BHE y entrar en la ruta de síntesis de 5-HT en el cerebro (Wurtman y col., 1981). El triptófano que se ingiere en la dieta es rápidamente distribuido por todo el cuerpo y aproximadamente del 85 al 95 % se une a la albumina y forma el complejo albumina-triptófano (Wurtman y col., 1981), que al llegar a la BHE, se disocia y debido a que este tiene mayor afinidad por el transportador localizado en la BHE, aproximadamente el 75 % de este aminoácido unido a la albumina atraviesa la BHE y en el cerebro se transforma a 5-HT (Wurtman y col., 1981; Richard y col., 2009). Con base en esto, es posible que el 5-HTP que se administró por vía sistémica, difundió a las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafé que inervan el hipotálamo.

El aumento de la concentración de 5-HT en el hipotálamo anterior y medio de los animales de 15 días de edad, etapa infantil, confirma que la administración del triptófano por vía sistémica activa el sistema serotoninérgico, efecto que se mantiene hasta por 120 minutos posteriores a la administración del precursor de la 5-HT. Mientras que, en los animales de 30 días de edad, etapa juvenil, la estimulación del sistema serotoninérgico del hipotálamo anterior y medio se observó únicamente a los 60 minutos posteriores de la administración del triptófano y a los 90 ?120 minutos, la concentración de 5-HT retornó a valores similares a lo observado en los animales inyectados con Vh.

Las diferencias que se observaron en la concentración de 5-HT en el hipotálamo de los animales en la etapa infantil y juvenil, posiblemente sean el reflejo del proceso de maduración del sistema serotoninérgico en el SNC y una mayor capacidad de síntesis de 5-HT en la etapa infantil. En relación a esto se ha mostrado que la concentración de 5-HT y su metabolito varían a lo largo del

desarrollo prepuberal y los valores más altos se detectan de los 15 a 22 días y a partir de este día disminuye (Rivera y col., 1991).

En el hipotálamo de los animales de 15 días de edad se muestra que existe un paralelismo entre la concentración de 5-HT y del 5-HIAA, debido a que la concentración de este metabolito también aumentó en el HA y en el HM de los 60 a 120 minutos posteriores a la estimulación. En apoyo a esta idea, se ha reportado que en condiciones normales, la neurona serotoninérgica presináptica libera serotonina al espacio sináptico y parte de esta amina que no se une a sus receptores en la neurona postsináptica, se une a su proteína transportadora, la SER y es recapturada por la neurona presináptica en donde se transforma en 5-HIAA bajo la acción de la MAO (Frazer y Hensler; 1999).

Con base en nuestros resultados y lo reportado en bibliografía es posible pensar que conforme se sintetiza la 5-HT, esta es liberada y metabolizada, lo que se refleja en el aumento en la concentración del 5-HIAA en el hipotálamo anterior y medio de los animales tratados con el triptófano a los 15 ó 30 días.

El incremento en la síntesis y metabolismo de la 5-HT también se observó en la hipófisis de los animales de 15 ó 30 días tratados con el 5-HTP. Estos resultados nos indican que la hipófisis tiene la capacidad de sintetizar 5-HT. En la actualidad no existe información sobre la presencia en hipófisis de la enzima que participa en la transformación del 5-hidroxitriptófano en 5-HT, la L-aromatico descarboxilasa. Sin embargo, si existen evidencias de que en esta glándula, los gonadotropos tienen la capacidad de recapturar a la 5-HT, evento que es necesario para metabolizar la 5-HT a 5-HIAA (Payette y col., 1986). Por ello no se puede descartar que la adenohipófisis se encuentre a la enzima que metaboliza a la 5-HT.

Además de que la síntesis de 5-HT se lleva a cabo en la hipófisis, es posible que la fuente de la amina de la glándula, sean las plaquetas o las fibras nerviosas que la inervan. Por ello, el aumento en la concentración de 5-HT y como consecuencia del 5-HIAA observado en esta estructura también es el resultado de la mayor síntesis y metabolismo de la amina en el núcleo del rafé. En relación a esto se mostró que la hipófisis anterior contiene 5-HT (Payette y col. 1986) y transforma el triptófano en 5-HT (Saavedra y col., 1975). También se ha mostrado que en el lóbulo anterior y medio de la hipófisis existe inervación serotoninérgica que penetran a esta glándula junto con los vasos sanguíneos y que se origina en el núcleo del rafé (Westlund y Childs, 1982; Saland, 2001).

El aumento en la actividad del sistema serotoninérgico en el hipotálamo y en la hipófisis acompañado de modificaciones en la concentración de la FSH y LH en el suero de los animales tratados con el 5-HTP y sacrificados a los 120 minutos postratamiento, nos indica que la 5-HT participa en la modulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas, como ha sido previamente sugerido por otros autores (Moguilevsky y col., 1985). Se ha mostrado que en la rata hembra la 5-HT participa en la modulación de la secreción de la LH, mientras que en la rata macho modula la secreción de FSH (Moguilevsky y col., 1985; Justo y col. 1989). Sin embargo a diferencia de lo observado en la bibliografía, en nuestro estudio se muestra que en la rata macho juvenil la 5-HT participa en la modulación de la secreción de ambas gonadotropinas.

El aumento en la actividad del sistema serotoninérgico en el eje hipotálamo-hipófisis modificó de forma diferencial la secreción de gonadotropinas en los animales en la etapa infantil y juvenil. En los animales de 15 días ejerció un efecto estimulante en la secreción de FSH y LH, mientras que en los animales de 30 días inhibió la secreción de ambas hormonas. Las diferencias observadas en la secreción de las gonadotropinas, entre los animales de 15 y 30 días están

asociadas a la edad del animal. Moguilevsky y colaboradores (1985) y Arias y colaboradores (1990), mostraron que el sistema serotoninérgico estimula la secreción de las gonadotropinas en la rata hembra de 16 días, mientras que parece no tener efecto entre los 24-26 días de edad y ejerce un papel inhibitorio en el día 30 y en la rata adulta.

Este efecto dual que ejerce el sistema serotóninergico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas a los 15 ó 30 días, posiblemente es el resultado del medio ambiente hormonal, como lo han sugerido otros autores (Moguilevsky y col., 1985; Arias y Col., 1990, Lima y col., 2007). Otra posibilidad, es que en la etapa infantil y juvenil se expresen de forma diferencial los receptores a 5-HT en los componentes del eje hipotálamo-hipófisis. En relación a la expresión de los receptores a 5-HT a lo largo del desarrollo prepuberal no existe información reportada. Sin embargo, se ha mostrado que el área preóptica medial de la rata hembra adulta, la unión de la serotonina al receptor 5-HT2 modula la secreción de FSH, pero no participa cuando se une al receptor 5-HT1 (Goueia y Franci, 2004).

En relación al testículo, mostramos que en la rata de 15 y 30 días, la administración de 5-HTP incrementa el metabolismo y la síntesis de 5-HT en la cápsula y tejido testicular. Se ha identificado a la 5-HT en el testículo de la rata y hámster, en donde la fuente principal de 5-HT son los mastocitos y las células de Leydig, que tienen la capacidad de sintetizar la amina (Tninajero, 1993; Aguilar y col., 1995; Frungieri y col., 1999). En el presente estudio, el 5-HTP que se administró por vía sistémica, se transporta en sangre hacía los diferentes tejidos, entre ellos el testículo, lo que se reflejó en el incremento en la síntesis y metabolismo de la 5-HT.

Los cambios en la concentración de testosterona no se relacionan con las modificaciones en la producción de LH, hormona que al actuar en las células de

Leydig favorece la producción de progesterona y testosterona (Ross, 2006). Por lo que es posible que las modificaciones en la producción de estas hormonas esteroides sean el resultado de la acción de la 5-HT que sintetizó localmente el testículo. Se ha mostrado que en el testículo, la 5-HT favorece la producción del factor liberador de la corticotropina en la célula de Leydig que actúa en este tipo celular e inhibe la secreción de testosterona (Dufau y col., 1993; Tinajero y col., 1993; Frungieri y col., 1999).

El efecto inhibitorio que se le atribuye a la 5-HT en la síntesis de testosterona no se observó en los animales en la etapa juvenil, debido a que el incremento en la concentración de 5-HT en la cápsula y tejido testicular se acompañaron de cambios diferenciales en la concentración de testosterona. En los animales de 15 días, la 5-HT ejerce un efecto inhibitorio en la secreción de esta hormona a los 90 minutos postratamiento, mientras que a los 30 días ejerce un efecto estimulante a los 60 y 120 minutos.

Con base en los presentes resultados se muestra que la 5-HT participa de forma diferencial en la modulación de la secreción de gonadotropinas y testosterona en la etapa infantil y juvenil.

CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos se propone que:

El 5-hidroxitriptpifano incrementa la síntesis y metabolismo de serotonina en los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-testículo.

La participación de la serotonina en la modulación de la secreción de las gonadotropinas cambia en la etapa infantil y juvenil.

En la etapa infantil, la serotonina modula de forma estimulante la secreción de FSH y LH.

En la etapa juvenil, la serotonina ejerce un efecto inhibitorio en la modulación de la secreción de FSH y LH.

En la etapa infantil, la serotonina modula de forma estimulante la secreción de progesterona y estradiol e inhibitoria la de testosterona.

En la etapa juvenil, la serotonina estimula la secreción de progesterona y testosterona y no participa en la de estradiol.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguilar R., Antón., Bellido C., Aguilar E., Gaytan F. (1995). Testicular Serotonin is Related to Mast Cells but not to Leydig Cells in the Rat. **Journal Endocrinology, 146;** 15-21.

2. Aragón MA., Ayala ME., Marin M., Avilés A., Matsumura PD., Dominguez R. (2005). Serotoninergic System Blockage in the Prepubertal Rat Inhibits Spermatogenesis Development. **Reproduction, 129;** 717-727.

3. Arias P., Szwarcfarb B., De Rondina DC., Carbone S., Sverdlik R., Moguilevsky JA. (1990). In Vivo and In Vitro Studies on the Effect of the Serotoninergic System on Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Secretion in Prepubertal and Peripubertal Female Rats. **Brain Research, 523;** 57-61.

4. Azmitia EC., Whitaker-Azmitia PM. (1991). Awakening the Sleeping Giant: Anatomy and Plasticity of the Brain Serotoninergic System. **Journal of Clinical Psychiatry, 54;** 4-16.

5. Brehm R. (2005). Advances in Anatomy Embriology and Cell Biology: Regulation of Sertoli Cell and Germ Cell Differentiation. Ed. Springer, pp. 1-7.

6. Britan A., Maffre V., Tone S. (2006). Quantitative and spatial Differences in the Expression of Tryptophan-Metabolizing Enzymes in Mouse Epididymis. **Cell and Tissue Research, 324;** 301-310.

7. Campos MB., Vitale ML., Calandra RS., Chiocchio SR. (1990). Serotoninergic Innervation of the Rat Testis. **Journals of Reproduction and Fertility, 88;** 475-479.

8. Clarke IJ., Pompolo S. (2005). Synthesis and Secretion of GnRH. **Animal Reproduction Science, 88;** 29-55.

9. Collin O., Damber JE., Berg A. (1996). 5-Hydroxitriptamine: A Local Regulator of Testicular Blood Flow and Vasomotion in Rats. **Journals of Reproduction and Fertility, 106;** 17-22.

10. Degawa M., Hanaki K., Sekimoto M. (2006). A Hepatocarcinogenic Tryptophan-Pyrolyzate Component, Trp-P-1, Decreases Serum total Testosterone Level and Induces Hepatic Cyp1a2 in Male Mice. **Cancer Science, 97;** 32-37.

11. Desjardins C. (1993). Cell and Molecular Biology of Testis. Ed. Oxford University Pfress, pp. 189-193.

12. Dufau ML., Tinajero JC., Fabbri A. (1993). Corticotropin-Releasing Factor: An Antireproductive Hormone of the Testis. **The FASEB Journal, 7;** 299-305.

13. Esteban S., Nicolaus C., Garmundi A., Rial RV., Rodríguez AB., Ortega E., Ibars CB. (2004). Effect of Orally Administered L-tryptophan on Serotonin, Melatonin, and the Innate Immune Response in the Rat. **Molecular and Cellular Biochemistry, 267;** 39-46.

14. Frazer A., Hensler JG. (1999). Serotonin. En GJ. Siegel, BW. Agranoff, RW. Albers y PB. Molinoff (eds). Basic Neurochemistry. Raven Press, New York, pp. 283-308.

15. Frungieri MB., Gonzalez SI., Rubio M., Lustig L., Calandra RS. (1999). Testicular Levels, Inmunolocalitation and Role During Sexual Development and Photoperiodic Regression-Recrudescence Transition. **Neuroendocrinology, 69;** 299-308.

16. Geneser F. (2000). Histología. Ed. Médica Panamericana, Argentina, pp 640-652.

17. Gouveia EM., Franci CR. (2004). Involvement of Serotonin 5-HT1 and 5-HT2 Receptors and Oxide Synthase in the Medial Preoptic Area on Gonadotropin Secretion**. Brain Reserch Bulletin, 63;** 243-251.

18. Green RA. (2006). Neuropharmacology of 5-Hidroxitryptamin. **British Journal of Pharmacology, 147;** 145-152.

19. Griswold M. (2005). Sertoli Cell Biology. Ed. Elsevier Academic Press, pp. 19-25.

20. Hoyer D., Hannon JP,. Martin GR. (2002). Molecular, Pharmacological and Functional Diversity of 5-HT Receptors. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 71;** 533-554.

21. Imbesi R., Castrogiovanni P. (2008). Embryonic and Postnatal Development in Experimental Tryptophan Deprived Rats. A Preliminary study. **Journal of Molecular Histology, 39;** 487-498.

22. Jahng JW., Houpt TA., Wessel TC., Chen K., Shih JC., Joh TH. (1997). Localization of Monoamine Oxidase A and B mRNA in the Rat Brain by in situ Hybridization. **Synapse, 25;** 30-36.

23. Jameson J.L.(2010). Harrison´s Endocrinology. 2 [a] Edición. Ed. Mc Graw-Hill. Pp 158.

24. Jennes L. (1987). Sites of Origin of Gonadotropin Releasing Hormone Containing Projections to the Amygdala and the Interpeduncular Nucleus. **Brain Research, 404;** 339-344.

25. Jennes L., Beckman WC., Stumpf WE., Grzanna R. (1982). Anatomical Relationships of Serotoninergic and Noradrenalinergic Projections with the GnRH in Septum and Hypothalamus. **Experimental Brain Research, 46;** 331-338.

26. Johns MA., Azmitia EC y Krieger DT. (1982). Specific in Vitro Uptake of Serotonin by Cells in the Anterior Pituitary of the Rat. **Endocrinology, 110;** 754-760.

27. Johnson M.H. (2012). Essential Reproduction. 7ª Edición. Ed. Wiley-Blackwell Publishing, pp. 70-74.

28. Justo SN., Rossano GL., Szwarcfarb B., Rubio MC., Moguilevsky JA. (1989). Effect of Serotoninergic System on FSH Secretion in Male and Female Rats: Evidence for Stimulatory and Inhibitory Actions. **Neuroendocrinology, 50;** 382-386.

29. Kerr J.B., Loveland K.L., O´Bryan M.K., Krester D.M. (2006). Cytology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms. En: E.Knobil, J.D Neill, Eds. The Physiology of Reproduction. Raven Press, New York, pp. 381-385.

30. Khaliq S., Haider S., Haleem DJ. (2007). Comparative Effects of Single Dose and Repeated Oral Tryptophan Administration on Indoleamines Synthesis and Memory Function in Rats. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 20;** 71-76.

31. Krester D.M., Kerr J.B. (1994). The Cytology of the Testis. En: E. Knobil, J.D. Neill, Eds. The Physiology of Reproduction. Raven Press, New York, pp 1177-1290.

32. Lesson. (1977). Histología. 3ª Edición. Nueva Editorial Interamericana, México, pp. 481-485.

33. Levy M.N., Koeppen B.M., Stanton B.A. (2009). Fisiología. 6 ª Edición. Ed. Elsevier, Barcelona, España, pp. 758-760.

34. Lima FB., Szawka RE., Franci-Anselmo JA., Francia CR. (2007). Pargyline Effect on Luteinizing Hormone Secretion throughout the Rat Estrous Cycle: Correlation with Serotonin, Catecholamines and Nitric Oxide in the Medial Preoptic Area. **Brain Research, 1142;** 37-45.

35. Moguilevsky J., Faigón MR., Rubio MC., Scacchi P., Szwarcfarb B. (1985). Sexual Differences in the Effect of Serotonin on LH Secretion in Rats. **Acta Endocrinol, 109;** 320-325.

36. Moore K.L. (2007). Anatomía con Orientación Clínica. Ed. Médica Panamericana, México, pp. 227-228.

37. Müller-Esterl W. (2008). Bioquímica: Fundamentos para la Medicina y ciencias de la Vida. Ed. Reverté. pp. 573-575.

38. Nakamura K., Hasegawa H. (2007). Developmental Role of Tryptophan Hydroxilase in the Nervous System. **Molecular Neurobiology, 35;** 45-54.

39. Nakamura K., Hasegawa H. (2009). Production and Peripheral Roles of 5-HTP, a Precursor of Serotonin. **International Journal of Tryptophan Research, 2;** 37-43.

40. Nakamura K., Sato T., Ohashi A., Tsurui H., Hasegawa H. (2008). Role of Serotonin Precursor in Development Gut Microvilli. **American Journal of Pathology, 172 (2);** 333-344.

41. Nieschlag E. (2009). Andrology: Male Reproductive Health and Dysfunction. 3ª Edición. Ed. Springer, pp. 11-15.

42. Olivier B., Wijngaarden IV., Soudin W. (1997). Serotonin Receptor and their Ligands. Elsevier, pp. 3-10.

43. Parhar I.S. (2002). Cell Migration and Evolutionary Significance of GnRH Subtypes. EN: Parhar I.S. Eds. Gonadotropin-Releasing Hormone: Molecules and Receptores. Ed. Elsevier Science, pp. 3-17.

44. Paxinos G., Watson C. (1982). The Rat Brain in Stereotaxis coordinates. Academia Press Australia.

45. Payette R., Gershon MD., Nuñez EA. (1986). Colocalization of Luteinizing Hormones and Serotonin in Secretory Granules of Mammalian Gonadotrops. **The Anatomical Record, 215;** 51-58.

46. Pérez J. (2006). Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico en la modulación de las funciones del testículo de la rata macho prepúber. Tesis profesional. Facultad de estudios superiores Zaragoza UNAM.

47. Pfaff D.W., Sakuma Y., Kwo L.M., Lee A.W.L., Easton A. (2002). Hormonal, Neural, and Genomic Mechanisms for Female Reproductive Behaviors, Motivation, and Arousal. En: E.Knobil, J.D Neill, Eds. The Physiology of

48. Reproduction. Raven Press, New York, pp 1825-1900.

49. Pocock G. (2005). Fisiología Humana. La base de la Medicina. 2ª Edición. Ed. Masson, México, pp. 482-485.

50. Poncet L., Denoroy L., Jouvet M. (1993). Daily Variations in in Vivo Tryptophan Hydroxylation and in the Contents of Serotonin and 5-Hydroxyindolacetic Acid in Discrete Brain Areas of the Rat. **Journal of neural Transmission General Section, 92;** 137-150.

51. Prieto B., Velázquez M. (2002). Fisiología de la Reproducción: Hormona Liberadora de Gonadotrofinas. **Revista Facultad de Medicina de la UNAM, 145;** 252-257.

52. Ramakrishnappa N., Rajamahendran R., Lin YM., Leung PC. (2005). GnRH in Non-Hypothalamic Reproductive Tissues. **Animal Reproduction Science, 88;** 95-13.

53. Richard DM., Dawes MA., Mathias CW., Acheson A., Hill-Kapturczak N., Dougherty DM. (2009). Ll-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications**. International journal of Tryptophan Research, 2;** 45-59.

54. Rivera S., Sanfeliu C., Suñol C., Rodríguez FE. (1991). Regional Effects on the Cerebral Concentration of Noradrenaline, Serotonin and Dopamine in the Suckling Rats After a Single Dose of Lindane. **Toxicology, 69;** 43-54.

55. Roos H.M. (2006). Histología: Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. 4ª edición. Ed. Panamericana, Buenos Aires Argentina, pp: 688-693.

56. Ruddick JP., Evans AK., Nutt DJ., Lightman SL., Rook GA., Lowry CA. (2006). Tryptophan Metabolism in the Central Nervous System: Medical Implications. **Expert Reviewrs in Molecular Medicine, 31;** 1-27.

57. Saavedra JM., Palkovits M., Kizer JS., Brownstein M., Zivin JA. (1975). Dristribution of Biogenic and Related Enzymes in the Rat Pituitary Gland. **Journal of Neurochemistry, 25;** 257-260.

58. Saland LC. (2001). The mammalian Pituitary Intermediate Lobe: and Update on Innervation and Regulation**. Brain Res Bull, 54;** 585-593.

59. Salim A., Haleem R., Murtaza F., Shameem G., Perveen T., Haleem DJ. (2003). Injected Tryptophan Increases Brain but not Plasma Tryptophan Levels more in Restrained Rats. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 16;** 51-57.

60. Sanchez RL., Reddy AP., Centeno ML., Henderson JA., Bethea CL. (2005) A Second Tryptophan Hidroxilase Isoform, TPH-2mRN, is Increase by ovarian Steroids in the Rafé Region Molecular of Macaques. **Brain Research, 135;** 194-303.

61. Schaechter JD., Wurtman RJ. (1990) Serotonin Release Varies whit Brain Tryptophan Levels. **Brain Research, 532,** 203-210.

62. Schaecther JD., Wurtman RJ. (1989). Tryptophan Availability Modulates Serotonin Release from Rat Hypothalamic Slices. **Journal of Neurochemical, 53(6);** 1925- 1933.

63. Schatzberg AF., Blier P., Delgado PL., Fava M., Haddad PM., Shelton RC. (2006). Antidepressant Discontinuation Syndrome: Consensus Panel Recommendations for Clinical Management and Additional Research. **Journal Clinical Psychiatry, 67;** 27-30.

64. Shanon NJ., Gunnet JW., More KE. (1986). A Comparision of Biochemical Indices of 5-Hydroxitriptamine Neural Activity Following Electrical Stimulation of the Dorsal Rafe Nucleus. **Journal of Neurochemistry, 47;** 958-965.

65. Sidransky H. (2001). Tryptophan. Biochemical and Health Implications. Ed. Academic Plenum Publishers, New York, pp. 233.

66. Sofikitis N., Giotitsas N., Tsounapi P., Baltogiannis D., Giannakis D., PardalidisN. (2008). Hormonal Regulation of Spermatogenesis and Spermiogenesis. **Journal of steroid Biochemistry and Molecular Biology, 109;** 323-330.

67. Stryer L. (1998). Bioquímica. Tomo 2. 3ª Edición. Ed. Reverté, pp. 571-574.

68. Tilbrook AJ., Turner AI., Clarke IJ. (2002). Stress and Reproduction: Central Mechanisms and Sex Differences in Non-rodent Species. **Strees, 5;** 83-100.

69. Tinajero JC., Fabbri A., Ciocca RD., Dufau LM. (1993). Serotonin Secretion from Rat Leydig Cells. **Endocrinology, 6;** 3026-3029.

70. Tinajero JC., Fabbri A., Dufau ML. (1992). Regulation of Corticotropin-Releasing Factor Secretion from Cells by Serotonin. **Endocrinology, 130;** 1780-1788.

71. Tresguerres JFA. (1999). Fisiología Humana. Ed Mc Graw-Hill, Madrid España, pp. 1050-1057.

72. Van der Plasse G., Meerkert DT., Lieben CKJ., Blokland A., Feenstra MGP. (2007). Lack of Evidence for Reduced Prefrontal Cortical Serotonin and

Dopamine Efflux after Acute Tryptophan Depletion. **Psychopharmacology, 195;** 377-385.

73. Vitale ML., Parisi MN., Chiocchio SR., Tramezzani JH. (1985). Serotonin Induces Gonadotrophin Release through Stimulation of LH-Releasing Hormone Release from the Median Eminence. **Journal of Endocrinology, 111;** 309-315.

74. Wada K., Hu L., Mores N., Navarro CE., Fuda H., Krsmanovic LZ., Catt KJ. (2006). Serotonin (5-HT) Receptor Subtypes Mediate Specific Modes of 5-HT-Induced Signaling and Regulation of Neurosecretion in Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons**. Molecular Endocrinology, 20;** 125-135.

75. Walter DJ., Bader M. (2003) A Unique Central Tryptophan Hidroxilase Isoform. **Biochemical Pharmacology, 66;** 1673-1680.

76. Westlund KN., Childs GV. (1982). Localization of Serotonin Fibers in the Rat Adenohypophysis**. Endocrinology, 111;** 1761-1763.

77. Whitaker-Azmitia, PM. (1999). The Discovery of Serotonin and its Role in Neuroscience. **Neuropsychopharmacology, 21;** 2-8.

78. Wurtman RJ., Hefti F., Melamed E. (1981). Precursor Control of Neurotransmitter Synthesis. **Pharmacological Reviews, 32**; 315-335.

79. Yen S.C., Jaffe B., Barbieri L. (2001). Endocrinología de la Reproducción. 4ª Edición. Ed. Medica Panamericana, México, pp. 282-283.