



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**INHIBICIÓN DE LA RECAPTURA DE SEROTONINA Y  
SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS Y TESTOSTERONA EN  
LA RATA PREPÚBER**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
B I Ó L O G O**

**PRESENTA:  
LUIS ÁNGEL MORALES LAURRABAQUIO**

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

**Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo  
financiero de DGAPA-PAPIIT, Convenios IN223714,  
IN226017.**





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  
AVENIDA DE  
MEXICO

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 el alumno **MORALES LAURRABAQUIO LUIS ÁNGEL**, con número de cuenta **309042734**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **23 de mayo de 2017** a las **11:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

**PRESIDENTE** Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN

**VOCAL** Dra. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR

**SECRETARIO** Dra. PATRICIA ROSAS SAUCEDO

**SUPLENTE** M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ

**SUPLENTE** Dra. JUANA MONROY MORENO

El título de la tesis que presenta es: **Inhibición de la recaptura de serotonina y secreción de gonadotropinas y testosterona en la rata prepúber.**

Opción de titulación: Tesis.

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

**ATENTAMENTE** DE ESTUDIOS SUPERIORES  
**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**  
 Ciudad de México, a 31 de marzo de 2017  
  
**DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ**  
 DIRECTOR DIRECCIÓN

RECIBÍ  
OFICINA DE EXÁMENES  
PROFESIONALES Y DE GRADO

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**INHIBICIÓN DE LA RECAPTURA DE SEROTONINA Y SECRECIÓN DE  
GONADOTROPINAS Y TESTOSTERONA EN LA RATA PREPÚBER**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO PRESENTA:

**LUIS ÁNGEL MORALES LAURRABAQUIO**

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

**El trabajo se realizó en el Laboratorio de Pubertad de la Unidad de investigación en  
Biología de la Reproducción, UMIEZ, FES-Zaragoza**

**Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-  
PAPIIT, Convenios IN223714, IN226017.**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	I
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Serotonina .....	1
Sistema Serotoninérgico .....	2
Síntesis de Serotonina .....	4
Receptores Serotoninérgicos .....	6
Aparato Reproductor Masculino .....	6
Funciones del Testículo .....	12
Espermatogénesis .....	12
Esteroidogénesis .....	15
Regulación Hormonal de las Funciones del Testículo .....	17
Serotonina y Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo.....	20
Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS) .....	22
Fluoxetina (Prozac).....	23
Fluoxetina y Testículo .....	24
<b>Justificación</b> .....	26
<b>Hipótesis</b> .....	27
<b>Objetivo General</b> .....	27
<b>Objetivos Particulares</b> .....	27
<b>Materiales y Métodos</b> .....	28
<b>Resultados</b> .....	32
Efecto de la administración de fluoxetina por vía sistémica en la masa de los órganos del aparato reproductor del macho y en la concentración de gonadotropinas y testosterona.....	32
Efecto de la administración intratesticular de fluoxetina en la masa de los órganos del aparato reproductor del macho y en la concentración de gonadotropinas y testosterona.	41

<b>Conclusiones</b> .....	57
<b>Referencias</b> .....	58

---

## RESUMEN

La serotonina se encuentra en los tres componentes del eje reproductivo, hipotálamo-hipófisis-testículo, en donde modula la secreción de la GnRH, de las gonadotropinas y de esteroides, gonadales. La amina al actuar en los componentes de este eje participa en el mantenimiento de la estructura del testículo y en la regulación de sus funciones; espermatogénesis y esteroidogénesis. Actualmente un conjunto de sustancias, como la fluoxetina (FLX), se prescriben para atender problemas de depresión en niños y adolescentes, padecimiento que se relaciona con la disminución de la actividad del sistema serotoninérgico. Sin embargo, los efectos de tales sustancias en el aspecto reproductivo son poco estudiados.

Por ello, en el presente estudio se analizaron en la rata macho prepúber, los efectos de la inhibición de la recaptura de serotonina inducido por la administración sistémica e intratesticular de fluoxetina en la concentración sérica de gonadotropinas y testosterona, así como en la estructura del testículo.

Ratas macho prepúberes de 30 días de edad de la cepa CII-ZV fueron tratadas por vía sistémica con 5 mg/Kg de peso corporal de (FLX) y como grupo de comparación se utilizaron animales a los que se les administró solución salina al 0.9% (VH). A otro grupo de animales se le administró, en ambos testículos, 0.005 mg de FLX disuelta en 20  $\mu$ L de solución salina o exclusivamente 20  $\mu$ L de VH. Se contó con animales sin ningún tratamiento (TA). Ratas de los diferentes grupos experimentales se sacrificaron a las 24, 48 o 72 horas posteriores al tratamiento.

En los animales que se administró FLX, por vía sistémica, la concentración de FSH y LH en el suero se incrementó las concentraciones de FSH y LH en el suero se incrementó a las 24 [FSH: 23.14 $\pm$ 2.43 vs. 13.85 $\pm$ 1.82; LH: 0.70 $\pm$ 0.18 vs. 0.27 $\pm$ 0.07,  $p$ <0.05] y 48 [FSH: 22.70 $\pm$ 3.60 vs. 9.15 $\pm$ 1.20 LH: 0.97 $\pm$ 0.30 vs. 0.30 $\pm$ 0.08,  $p$ <0.05] horas pos-tratamiento. La concentración de testosterona disminuyó a las 48 (0.38 $\pm$ 0.05 vs. 0.62 $\pm$ 0.05,  $p$ <0.05) y 72 horas (0.34 $\pm$ 0.02 vs. 0.56 $\pm$ 0.09,  $p$ <0.05). En estos animales disminuyó el área del túbulo y del epitelio seminífero y se incrementó el área del lumen de los túbulos.

En los animales con inyección intratesticular de FLX, la concentración de FSH no se modificó y la de LH disminuyó a las 48 horas ( $0.35 \pm 0.04$  vs.  $1.10 \pm 0.16$ ,  $p < 0.05$ ), mientras que la de testosterona se incrementó significativamente a las 24 ( $0.40 \pm 0.03$  vs.  $0.024 \pm 0.02$ ,  $p < 0.05$ ) y 72 horas ( $0.42 \pm 0.07$  vs.  $0.26 \pm 0.01$ ,  $p < 0.05$ ). En estos animales el área del túbulo y del epitelio seminífero se incrementó y disminuyó el área del lumen de los túbulos.

Los resultados del presente estudio muestran que la serotonina participa en la modulación del eje reproductivo hipotálamo-hipófisis-testículo. En la rata macho prepúber. El hecho de que en los animales que se les administró fluoxetina se modificará la concentración de gonadotropinas y de testosterona, así como la estructura del túbulo seminífero, apoyan tal interpretación.

Los resultados del presente estudio muestran que en la rata macho prepúber la serotonina participa en la modulación del eje reproductivo hipotálamo-hipófisis-testículo. El hecho de que en los animales que se les administró fluoxetina se modificó la concentración de gonadotropinas y de testosterona, así como la estructura del túbulo seminífero, apoyan tal interpretación.

---

## INTRODUCCIÓN

### Serotonina

La serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT), es una amina biogénica, que se encuentra en el sistema nervioso central (SNC) (Bohlen y Dermetzell, 2006; Sanders-Bush y Hazelwood, 2012) y en células, tejidos y órganos periféricos como la hipófisis (Payette y col., 1987; Papageorgiou y Deneff, 2007), glándula pineal (Lerchl y Schlatt, 1992), páncreas (Paulmann y col., 2009), pulmón (Esteve y col., 2007), corazón (Canan y col., 2001), riñón (Berndt y col., 2001), vasos sanguíneos (Linder y col., 2007), plaquetas (Dale y col., 2002), mastocitos, testículo (Dufau y col., 1993; Tinajero y col., 1993) y ovario (Moran y col., 2013).

En 1933, Erspamer y colaboradores consideraron a la serotonina como un factor estimulante del intestino y la denominaron enteramina (Mendoza, 2008). En 1948, Rapport y colaboradores aislaron una sustancia de la sangre que producía vasoconstricción y la estructura de la sustancia responsable de este efecto fue caracterizada y denominada serotonina o 5-hidroxitriptamina (Whitaker-Azmitia, 1999; Prado y col., 2003) (Figura 1). Posteriormente, Page (1954), mostró que la serotonina tiene propiedades vasoconstrictoras y vasodilatadoras, dependiendo de la concentración, la fue identificada como un neurotransmisor del SNC en la década de 1950 (Bohlen y Dermetzell, 2006; Sanders-Bush y Hazelwood, 2012).

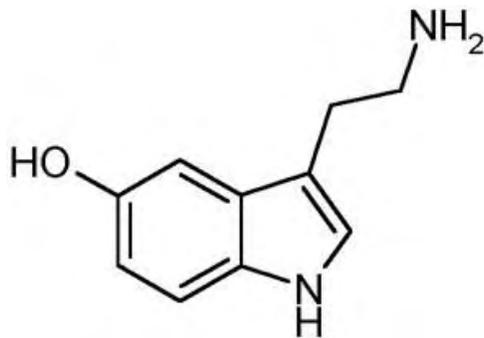


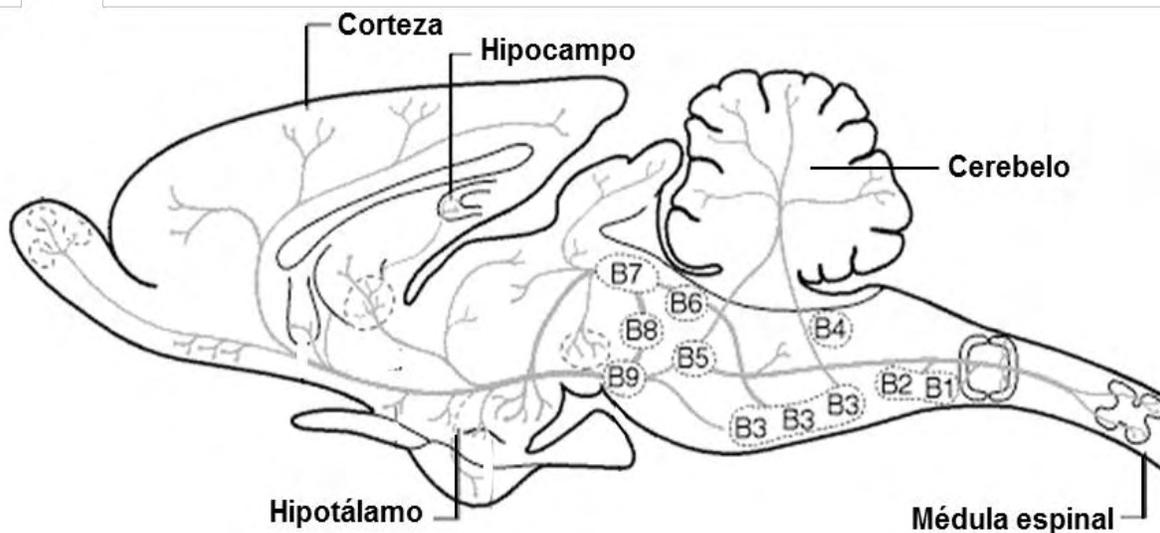
Figura 1. Estructura química de la serotonina (Glennon y Dukat, 2012).

La serotonina en el cerebro actúa como neurotransmisor y regula múltiples aspectos fisiológicos, como la temperatura corporal, memoria, actividad sexual, actividad motora, ingesta de alimento, regulación neuroendocrina, el sueño, metabolismo, aprendizaje, dolor, comportamiento y los ritmos biológicos (Mendoza, 2008; Gamoh y col., 2013; Kato, 2013); la contracción y relajación del músculo liso y reflejos peristálticos (Peroutka y Howell 1994; Kato, 2013); la producción de hormonas esteroideas en el ovario (Moran y col., 2013) y testículo (Tinajero y col., 1993; Aragón y col., 2005); la constricción o dilatación de los vasos sanguíneos, la agregación plaquetaria, así como estados de ánimo (Linder y col., 2007).

La desregulación del sistema serotoninérgico provoca alteraciones en los estados de ánimo y conducta como la depresión, ansiedad, bulimia nerviosa y el trastorno obsesivo-compulsivo (Frazer y Hensler, 1999; Mendoza, 2008; Coccaro y col., 2010). También como, padecimientos neurodegenerativos tales como Parkinson (Buddhala y col., 2015), Alzheimer (Mizukami y col., 2011), la esquizofrenia (Varón, 2008) y migraña (Danese y col., 2014).

### **Sistema Serotoninérgico**

La serotonina producida en el SNC representa el 5% del total que se encuentra en el cuerpo y el 95 % se sintetiza en los órganos periféricos (El-Merahbi y col., 2015). En el SNC, es producida por un grupo de neuronas cuyos cuerpos celulares se encuentran en el núcleo del rafé, que se localiza en el tronco cerebral y formación reticular y consiste de grupos que se identifican del B1 al B9. Los axones de estas neuronas se proyectan e inervan la corteza cerebral, amígdala, neocorteza, médula espinal, el núcleo geniculado lateral, sistema límbico, cerebelo, hipocampo, los núcleos hipotalámicos y ganglios basales (Tork, 1990; Bohlen y Dermetzsel, 2006; Ganong, 2012) (Figura 2).



**Figura 2.** Inervación serotoninérgica, donde se representan los núcleos del rafé (B1-B9) y sus proyecciones hacia la corteza cerebral, medula espinal, el hipocampo, hipotálamo y al cerebelo (Modificado de Frazer y Hensler, 1999).

Los cuerpos celulares serotoninérgicos que forman al núcleo del rafé se dividen en el núcleo dorsal (DRN, B7 y B6), medial (MRN, B8 y parte del B9) y del puente (NRP, B1-B5). Los dos primeros envían sus proyecciones a la parte rostral del cerebro y al cerebelo (Dahlström y Fuxe 1964; Jørgensen, 2007), las neuronas del NRP inervan al cerebelo y médula espinal. El DRN es serotoninérgico y se encuentra en la parte ventral de la sustancia gris periacueductal del cerebro medio, su sección caudal se extiende en la sustancia gris periventricular. La población neuronal del núcleo es diversa ya que tiene células pequeñas a grandes. Las pequeñas se encuentran cerca de la línea media, mientras que las grandes se ubican en la zona lateral y dorsal del núcleo (Tork, 1990). Este núcleo no es exclusivamente serotoninérgico ya que en él se encuentran neuronas que secretan dopamina (DA), ácido gamma amino-butírico (GABA) y el factor liberador de la corticotropina (CRF) (Tork, 1990). En el MRN, las células serotoninérgicas están dispuestas en dos regiones adyacentes. En la línea media hay células pequeñas, con dendritas cortas, muchas de las cuales están alineadas paralelamente al plano sagital medio. Fuera de la línea media se ubican células sin ninguna orientación particular (Tork, 1990).

## Síntesis de Serotonina

La serotonina, que se sintetiza a partir del aminoácido triptófano que depende de la concentración del aminoácido precursor (Figura 3). El triptófano, llega al cerebro mediante transporte activo, unido a una proteína transportadora que también se une a otros aminoácidos neutros y de cadena ramificada, con los cuales el triptófano compete para unirse a esta proteína. La concentración del triptófano en el cerebro depende no solo de su concentración plasmática, sino también de la concentración de otros aminoácidos (tirosina, fenilalanina, valina, leucina e isoleucina) que compiten por el transportador (Timothy y Birdsall, 1998; Sanders-Bush y Hazelwood, 2012).

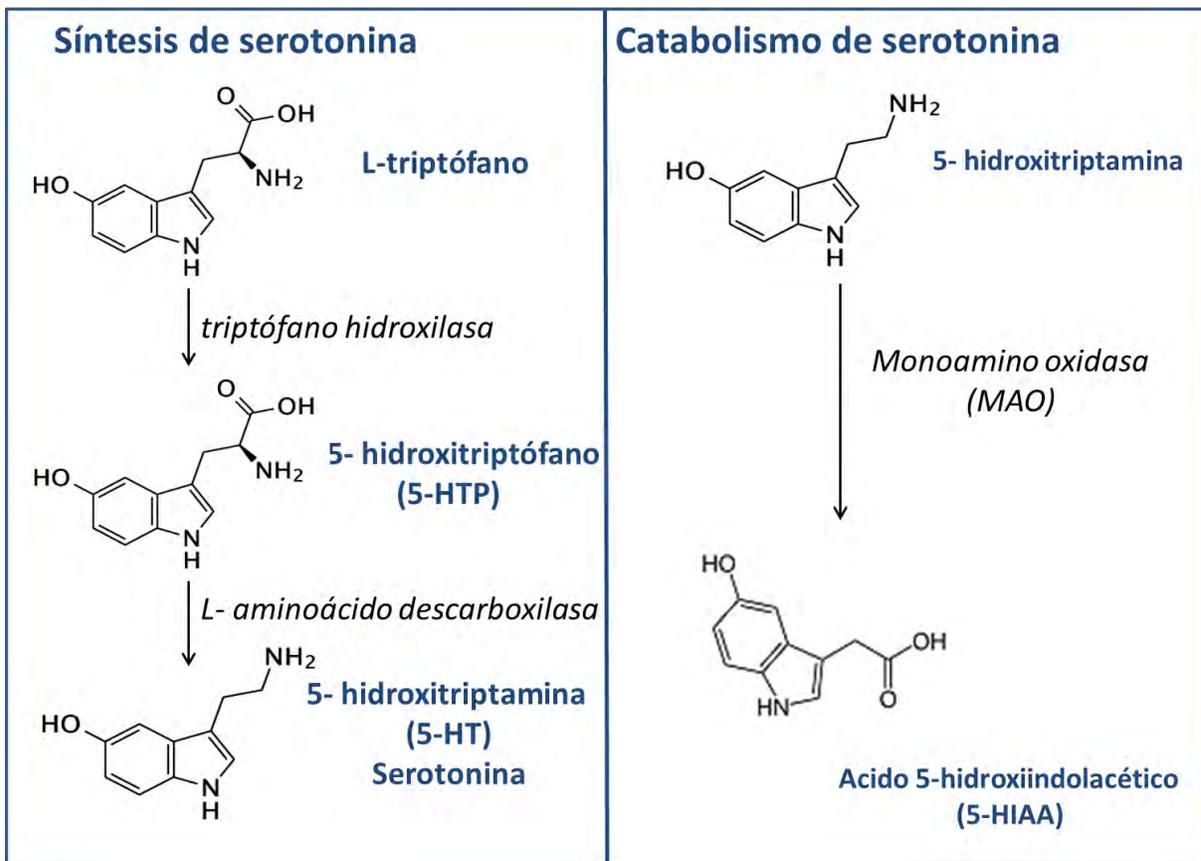


Figura 3. Biosíntesis y catabolismo de serotonina y las enzimas involucradas en ambos procesos (Modificado de Bohlen y Dermatzel, 2006).

La triptófano hidroxilasa es la enzima limitante en la síntesis de serotonina que adiciona un grupo hidroxilo en el anillo bencilo y forma el 5-hidroxitriptofano. Existen dos isoformas de la triptófano hidroxilasa, la 1 (TPH1) y la 2 (TPH2), que se expresan en tejidos periféricos y en el cerebro, respectivamente (Walter y Bader, 2003). A partir del 5-hidroxitriptofano se forma la serotonina por acción de la L-aminoácido descarboxilasa aromática (AADC) (Sanders-Bush y Hazelwood, 2012).

La serotonina se acumula en gránulos secretores por medio de un monoamino-transportador vesicular (VMAT2) y se libera por exocitosis de la terminal serotoninérgica, se une a su receptor y se activa la transmisión serotoninérgica. Este proceso es interrumpido cuando la serotonina se une a la proteína transportadora que se localiza en la membrana de las terminales serotoninérgicas, la SERT (Figura 4). El transportador internaliza a la amina a la neurona que la liberó y es catabolizada. Este es un mecanismo de regulación de la transmisión serotoninérgica (Sanders-Bush y Hazelwood, 2012).

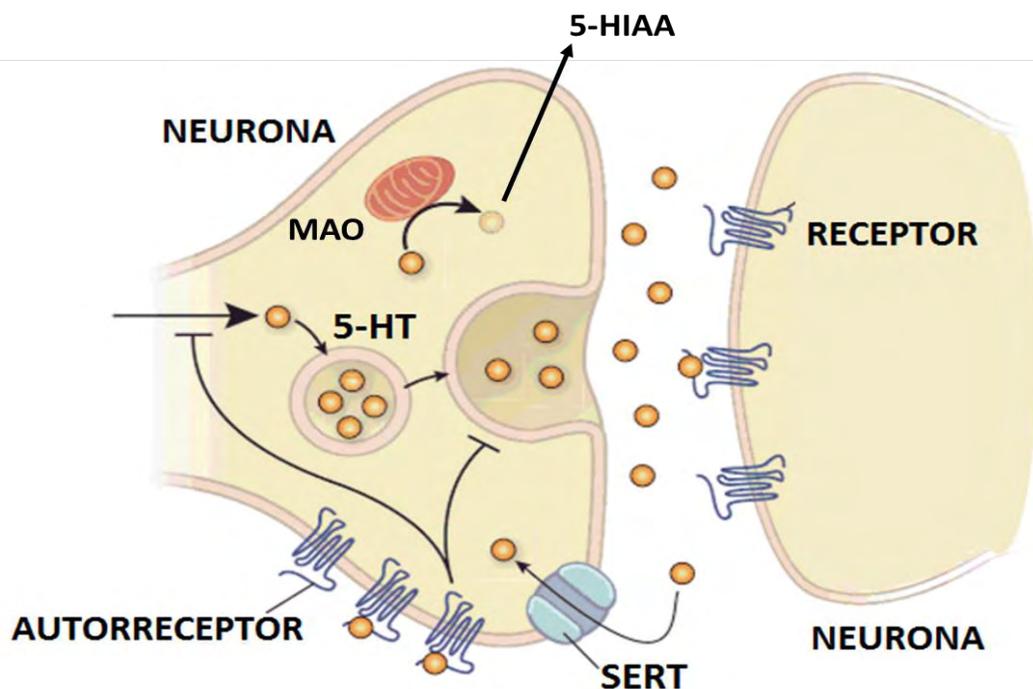


Figura 4. Recaptura de serotonina por la proteína transportadora, SERT (Modificado de Berger y Roth, 2012).

La vía del metabolismo de la serotonina es la desaminación oxidativa por acción de la monoaminoxidasa (MAO), que convierte el aldehído intermedio y forma el ácido 5-hidroxitriptófano (5-HTP) y el ácido 5-hidroxitriptánico (5-HT) (Sanders-Bush y Hazelwood, 2012).

### **Receptores Serotoninérgicos**

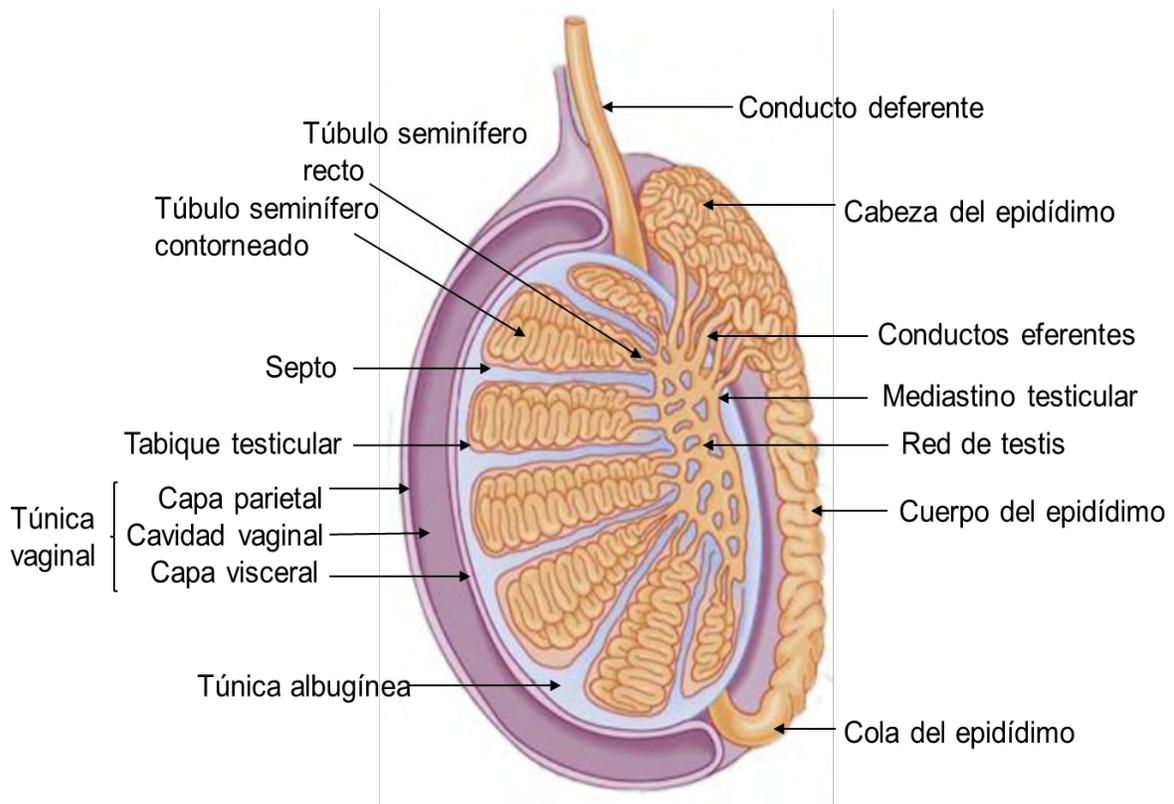
La diversidad de funciones en los que la serotonina participa se explican debido a que existen hasta 14 subtipos diferentes de receptores (Steinbusch, 1981; Hoyer y Martin, 1997; Iceta, 2008), que se han dividido en siete clases, con base en sus propiedades farmacológicas. Con excepción del receptor 5-HT<sub>3</sub>, que es un receptor acoplado a un canal iónico, todos los receptores a serotonina pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G que contienen una estructura de siete dominios transmembranales (Upadhyay, 2003).

La familia de receptores asociados a proteínas G corresponden al receptor 5-HT<sub>1</sub> (A, B, D, E y F) que inhiben el adenilato ciclasa, al receptor 5-HT<sub>2</sub> con sus subtipos 5-HT<sub>2</sub> (A, B y C) que estimulan la síntesis de fosfoinositidos y fosfolipasa C, y los receptores 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> Y 5-HT<sub>7</sub> que estimulan la adenilato ciclasa (Cardinali, 2007).

### **Aparato Reproductor Masculino**

Al aparato reproductor masculino lo conforman órganos internos (testículos, conductos excretores y glándulas accesorias) y el órgano copulador o pene (Caravaca y col., 2005).

El testículo es un órgano par de tamaño similar pero nunca iguales y se hallan suspendidos por el cordón espermático en el interior de la bolsa escrotal (Figura 5) (Ruíz y Laterjet, 2008). El escroto es la cubierta exterior del testículo, es una prolongación de piel de la pared abdominal y envuelve a las bolsas testiculares (Caravaca y col., 2005).



**Figura 5. Corte sagital del testículo que muestra la estructura interna del testículo (Modificado de Koepfen y Stanton, 2008).**

El testículo está rodeado por una cápsula de tejido conectivo denso, la túnica albugínea, membrana fibrosa constituida por haces entrelazados de fibras de colágeno que se extienden hacia el interior del órgano y forma el mediastino testicular en la parte posterosuperior del órgano. Esta parte contiene vasos sanguíneos y una red de conductillos eferentes, la red testicular o de Haller (*rete testis*) (Geneser y Schacht, 2000; Ruíz y Laterjet, 2008). Desde el mediastino se proyectan tabiques radiales de tejido conectivo, los tabiques testiculares, hacia la túnica albugínea que dividen al testículo en lobulillos (Geneser y Schacht, 2000). La parte interna de la esta cápsula, la túnica vasculosa es una lámina de tejido conjuntivo laxo que contiene vasos sanguíneos (Ross, 2005; König y col., 2008).

La túnica albugínea es cubierta en su parte externa, por una capa de mesotelio, que es la capa visceral de la túnica vaginal (Geneser y Schacht, 2000). La superficie de cada uno de los testículos se halla recubierta por la capa visceral, excepto en la zona en la que el testículo se une al epidídimo y al cordón espermático (Moore, 2007).

El testículo está constituido por los túbulos seminíferos donde se producen los espermatozoides. Cada túbulo seminífero se continúa cerca del mediastino en un túbulo recto, que se continúa con la *rete testis* (Geneser y Schacht, 2000).

Los túbulos seminíferos están compuestos por un epitelio seminífero rodeado por una lámina propia o membrana basal. Por dentro de la membrana basal, los túbulos seminíferos están revestidos por un epitelio estratificado, el epitelio seminífero. El tejido peritubular es conjuntivo compuesto por tres o cinco capas de células mioides en humanos, y en roedores por una sola capa de células mioides (células peritubulares contráctiles) y fibras de colágeno (Ross, 2005). Las células mioides al contraerse generan movimientos peristálticos que impulsan a los espermatozoides hacia los túbulos rectos y de ahí a la *rete testis* (Sepúlveda y Soto, 2012).

El epitelio seminífero contiene células: de sostén o de Sertoli y las germinales en diferentes etapas de desarrollo; solo las espermatogonias y las de Sertoli están en contacto con la membrana basal (Geneser y Schacht, 2000). Las células de Sertoli se encuentran dispersas entre las germinales, desde la lámina basal hasta la luz de los túbulos seminíferos y cumplen la función de sostén y nutrición de las germinales, su núcleo es oval y grande. Las secreciones de la célula de Sertoli regulan la proliferación y diferenciación de las células germinales; en su migración desde la región basal hasta la apical, fagocitan y degradan el citoplasma que se desprende durante la transformación de las espermátides a espermatozoides, e intervienen en la liberación de los espermatozoides hacia la luz de los túbulos seminíferos (Geneser y Schacht, 2000; Sobotta, 2008).

Las células de Sertoli tienen proyecciones del citoplasma y forman la barrera hematotesticular que separan al epitelio seminífero en el compartimento basal y adluminal (Arellano y col., 2005). En el primero solo se encuentran espermatogonias y espermatocitos primarios; estos últimos en el inicio de la meiosis. En el compartimento adluminal se encuentran los espermatocitos secundarios, espermátides redondas y elongadas (Sobotta, 2008). La barrera hematotesticular debido a su permeabilidad selectiva genera un microambiente especial en el compartimento adluminal, es permeable a las hormonas esteroides, lo que permite que en esta región del túbulo sea alta la concentración de andrógenos y estrógenos; además permite el paso de aminoácidos e iones, pero impide el paso de proteínas extrañas del torrente sanguíneo con la finalidad de evitar la formación de anticuerpos que provoquen una reacción autoinmune contra los espermatozoides y la consecuente esterilidad (Geneser y Schacht, 2000).

Rodeando a los túbulos seminíferos se ubica el tejido intersticial (Figura 6), conformado de células intersticiales o de Leydig; la parte endocrina del testículo. Estas se encuentran en contacto con los vasos sanguíneos y linfáticos y una vez formadas no se dividen. Son grandes, de forma poligonal, con un núcleo alargado, retículo endoplásmico liso alargado y tubular, inclusiones de lípidos, gránulos de lipofuscina y cristales de Reinke. También se observan ribosomas libres y mitocondrias dispersos en el citoplasma. Las células de Leydig se diferencian y secretan testosterona desde las primeras etapas de desarrollo y se mantiene durante toda la vida. Es necesaria durante el desarrollo embrionario, en la maduración sexual y en la reproducción. Durante la etapa fetal la función secretora de estas células es independiente de la acción de la hormona luteinizante (LH) y se encuentran bajo la regulación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH). En los días previos a la pubertad las células de Leydig responden a la acción a la LH y esto se mantiene en las diferentes etapas de la vida (Arellano y col., 2005; Ross, 2005; Stocco y McPhaul, 2005).

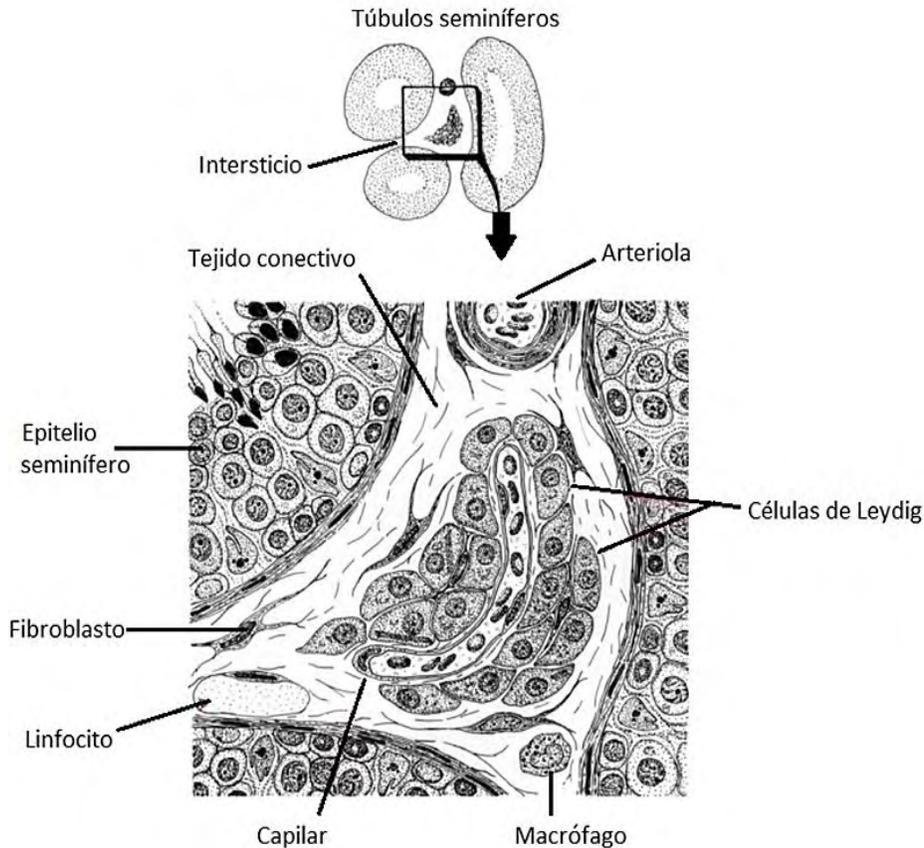


Figura 6. Esquema que ilustra el tejido intersticial del testículo (Modificado de [http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/mrs\\_15\\_E.html](http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/mrs_15_E.html)).

Los túbulos seminíferos confluyen en el mediastino del testículo y se unen a los túbulos rectos que se comunican con la *rete testis*, que se conecta con el epidídimo (Konig y col., 2008). Este último es un órgano curvado constituido internamente por un tubo enrollado sobre sí mismo que consta de tres partes: cabeza, cuerpo y cola (Le Vay, 2004). En las dos primeras regiones se llevan a cabo la maduración del espermatozoide, mientras que en la final se almacenan los espermatozoides (Konig y col., 2008). La porción inferior o cola del epidídimo desemboca en el conducto deferente que se une con el conducto excretor de la vesícula seminal y posteriormente entra en la uretra. En el conducto deferente también se almacenan temporalmente los espermatozoides y posteriormente son transportados a la

uretra prostática (Tresguerres, 2003; Ruíz y Laterjet, 2008; Kulkarni, 2012; Crowley y Leonard, 2014). El conducto deferente posee paredes musculares gruesas y está unido al epidídimo por un tejido conjuntivo laxo, donde se encuentran las arterias y venas testiculares. Está situado por fuera de la cavidad vaginal del testículo y envuelto por las cubiertas que forman el escroto (Ruíz y Laterjet, 2008; Kulkarni, 2012).

Las glándulas sexuales accesorias secretan componentes del semen. Las vesículas seminales tienen forma de sacos, localizados en la base de la vejiga urinaria, que desembocan en los conductos eyaculadores (Tresguerres, 2003). El líquido eyaculado no solo es esperma, sino también un fluido que contiene las secreciones de las vesículas y de la próstata, que conjuntamente constituyen un líquido viscoso alcalino compuesto de aminoácidos, proteínas, ácido ascórbico, fructosa, prostaglandinas y fibrinógeno. La alcalinidad de la secreción prostática ayuda a neutralizar la acidez del tracto genital femenino, que inactivaría a los espermatozoides. La fructosa es un elemento energético para los espermatozoides y las prostaglandinas contribuyen a su viabilidad y motilidad (Tresguerres, 2003; Le Vay, 2004).

La próstata está conformada de tejido muscular y glandular, se encuentra debajo de la cavidad pélvica, su base se ubica junto al cuello de la vejiga y es atravesada por la uretra. Su tamaño y la actividad son regulados por las hormonas sexuales e inicia su actividad con la pubertad. Sus secreciones ricas en fosfatasa ácida son agregadas al fluido seminal (Le Vay, 2004; Kulkarni, 2012).

Las glándulas de Cowper o bulbouretrales, localizadas a ambos lados de la uretra, segregan un líquido lechoso que contiene ácido cítrico y enzimas que contribuyen a la coagulación seminal. Este líquido está presente en el semen y ayuda a la viabilidad espermática (Tresguerres, 2003; Ruíz y Laterjet, 2008).

La uretra es el conducto terminal de los sistemas reproductor y excretor. Está dividida en uretra prostática, membranosa y peneana, que termina en el orificio uretral externo (Tresguerres, 2003).

El pene es el órgano copulador, situado por debajo de la sínfisis del pubis y por arriba del escroto. Ambos forman los genitales externos. Las envolturas del pene son la piel, el músculo dartos, la fascia superficial, la fascia profunda y la túnica albugínea. Esta última une y cubre a los cuerpos cavernosos y al cuerpo esponjoso del órgano (Ruíz y Laterjet, 2008).

### **Funciones del Testículo**

Las funciones del testículo son la producción de espermatozoides y la síntesis y secreción de hormonas, principalmente andrógenos como la testosterona. La formación de los espermatozoides maduros comprende tanto divisiones mitóticas como meiosis, esta última con la finalidad de reducir el número diploide de cromosomas a haploide. En la pubertad se incrementa la secreción de andrógenos esencial en la producción de los espermatozoides (espermatogénesis), el mantenimiento de la estructura y función de las glándulas sexuales anexas (próstata y vesículas seminales) y el desarrollo de las características sexuales secundarias (Ross y Pawlina, 2008).

### **Espermatogénesis**

La espermatogénesis, proceso durante el cual las células germinales maduran y dan origen a los espermatozoides (Figura 7), inicia poco antes de la pubertad bajo la influencia de las gonadotropinas [hormona estimulante del folículo (FSH) y LH] y continúa durante toda la vida (Ross, 2005). La espermatogénesis se divide en tres fases:

*Espermatogénica*, es un periodo de proliferación, donde las espermatogonias se encuentran en la región basal del epitelio germinativo y se dividen por mitosis. La producción continua de espermatozoides depende de la renovación constante de

espermatogonias que se diferenciarán en espermatocitos primarios (Ross, 2005; Sobotta, 2008).

En el epitelio seminífero se distinguen dos tipos de espermatogonias, las espermatogonias A que poseen un núcleo ovoide, se dividen por mitosis, pero algunas de las espermatogonias tipo A permanecen como células madre, mientras que las demás se diferencian en espermatogonias tipo B, las que maduran y se dividen por mitosis para formar los espermatocitos primarios (Geneser y Schacht, 2000; Ross, 2005). Estos espermatocitos I duplican su material genético después de formarse y antes de que comience la meiosis. La meiosis trae como resultado la reducción de la cantidad de los cromosomas y de la cantidad de DNA al estado haploide (Ross, 2005).

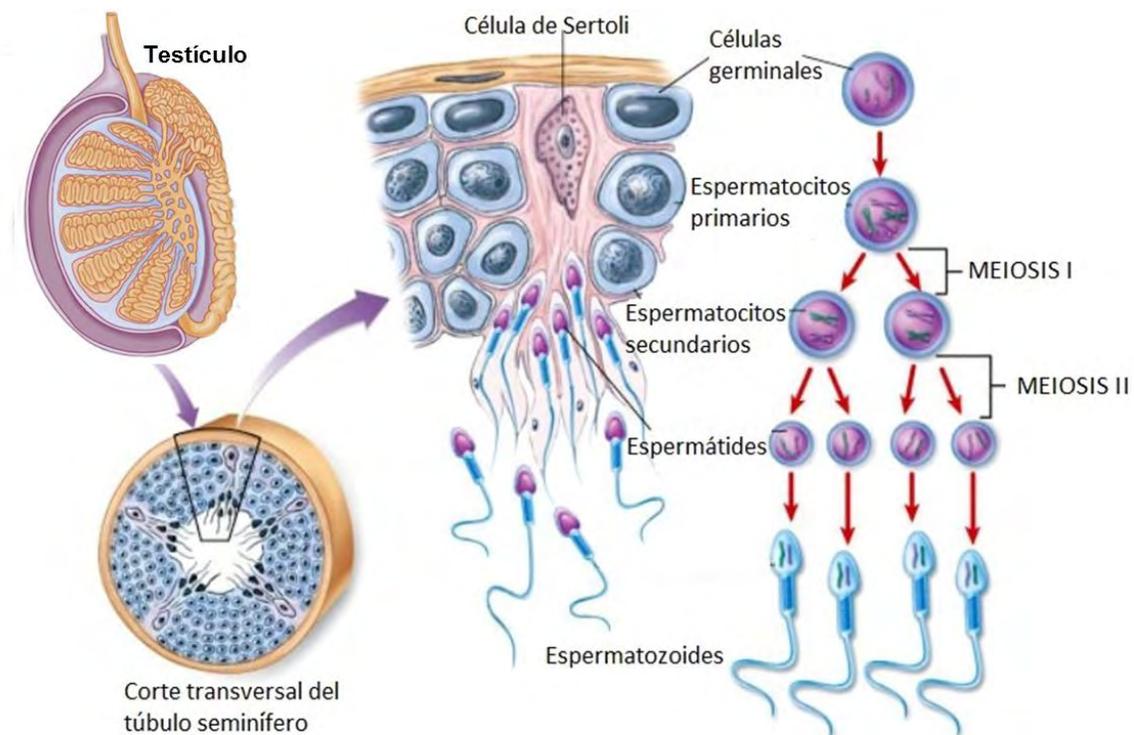


Figura 7. Diagrama esquemático del proceso de espermatogénesis y del epitelio seminífero (Modificado de Raven y col., 2005; Koeppen y Stanton, 2008)

*Espermatocítica (meiosis)*, los espermatocitos primarios se desplazan hacia la luz del túbulo seminífero y se inicia la meiosis para reducir el número de cromosomas de diploide a haploide y el contenido de ADN. Como resultado de la primera división meiótica se forman los espermatocitos secundarios en los que se lleva a cabo la segunda división meiótica y forman al final de esta la espermatídes redondas que se ubican cerca de la luz del túbulo (Tresguerres, 2003; Ross, 2005; Sobotta, 2008). En la espermatogénesis, la división de las células es incompleta desde la multiplicación de las espermatogonias, éstas permanecen unidas por puentes citoplasmáticos (Geneser y Schacht, 2000; Sobotta, 2008).

*Espermiogénesis*, comprende la transformación de la espermatíde redonda en una célula especializada con movimiento, el espermatozoide. Los cambios que se producen en la espermatíde incluye:

- 1) Formación de la vesícula acrosómica a partir del Aparato de Golgi que se ubica contigua a la envoltura nuclear, determina el polo anterior del espermatozoide. La vesícula se extiende sobre la mitad anterior del núcleo.
- 2) Migración de los centriolos desde la región yuxtannuclear hacia el polo posterior de la espermatíde y se inicia el armado de los nueve dobletes microtubulares periféricos y de los dos microtúbulos centrales que forman el axonema de la cola del espermatozoide.
- 3) El núcleo se condensa, aplana y alarga. Los centriolos, que antes habían iniciado la formación del flagelo, retornan a la superficie posterior del núcleo, son modificados para formar la pieza de conexión o región de cuello del espermatozoide.
- 4) Reorganización de la membrana plasmática que se mueve hacia atrás para cubrir al flagelo en crecimiento.
- 5) Organización de las mitocondrias alrededor de la primera parte de la cola, para formar la pieza media.
- 6) Eliminación de la mayor parte del citoplasma y el remanente de éste es denominada cuerpo residual y las células de Sertoli lo fagocitan (Sobotta, 2008; Ross, 2005). Una vez formado el espermatozoide es

liberado hacia la luz del túbulo seminífero, a éste proceso se le conoce como espermiación (Tresguerres, 2003; Ross, 2005; Sobotta, 2008).

Los espermatozoides vertidos en la luz tubular carecen de movilidad y en ese momento son incapaces de fecundar. En su recorrido por la red testicular, conductos eferentes, epidídimo y conducto deferente se nutren con las secreciones del epitelio de estas estructuras reguladas por la testosterona. Por tanto, esta hormona está implicada en la espermatogénesis mediante una acción trófica en las células de la línea germinal. El fluido seminal que se forma por la contribución de las glándulas accesorias, aporta los elementos nutritivos necesarios para la maduración y el metabolismo de los espermatozoides que, al carecer de citoplasma, necesitan de esta y otras sustancias para su supervivencia y movilidad. Esta última función y la capacidad fecundante las adquieren durante su recorrido por el epidídimo (Tresguerres, 2003).

### **Esteroidogénesis**

Las hormonas esteroideas que se producen en las células intersticiales o de Leydig incluyen testosterona y en menor cantidad androstenediona, progesterona (P4) y el 17 $\beta$ -estradiol.

Estas hormonas se sintetizan a partir del colesterol y las células de Leydig poseen el complejo enzimático para la biosíntesis de esteroideas y obtienen el colesterol de varias fuentes como la síntesis de *novo* de colesterol a partir de acetyl CoA; a través de la circulación en forma de lipoproteínas de baja densidad (LDL); o mediante la hidrólisis de ésteres de colesterol almacenados dentro de los lípidos en las células de Leydig. (Tresguerres, 2003; Stocco y McPhaul, 2005; Gal y col., 2007).

Dos rutas metabólicas conducen a la síntesis de testosterona, una a partir de la 17-hidroxi-pregnenolona, conocida como ruta delta 5, y otra a partir de la hidroxiprogesterona o delta 4 (Figura 8). En el testículo humano, a diferencia de los roedores, la principal ruta de producción de testosterona es la vía delta 5, mientras que la delta 4 predomina en el

ovario (Chang y col., 2012). El paso limitante de la síntesis de esteroides es la transformación del colesterol a pregnenolona que se realiza en la mitocondria por acción del complejo enzimático P450<sub>scc</sub>. La pregnenolona sale de la mitocondria y pasa al retículo endoplasmático liso (Gal y col., 2007; Chang y col., 2012).

Por acción de la 17- $\alpha$ -hidroxilasa se produce la 17-OH pregnenolona, y sobre ésta actúa la enzima desmolasa del citocromo P-450 generando dihidroepiandrosterona (DHEA), en ésta actúa la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa generando androstenediona y la última enzima en ejercer su efecto en la síntesis de testosterona es la 17- $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa para formar testosterona (Malgor y Valsecia, 1999). Este andrógeno por acción de la 5 $\alpha$  reductasa se transforma en 5-dihidrotestosterona (5-DHT) y por acción de la enzima aromatasa, da origen al estradiol. Aunque los estrógenos son mínimos en la esteroidogénesis testicular, también están presentes en la sangre del macho. Las hormonas esteroides circulan unidas a una globulina unidora de esteroides sexuales (SHGB), producida por las células de Sertoli (Gal y col., 2007).

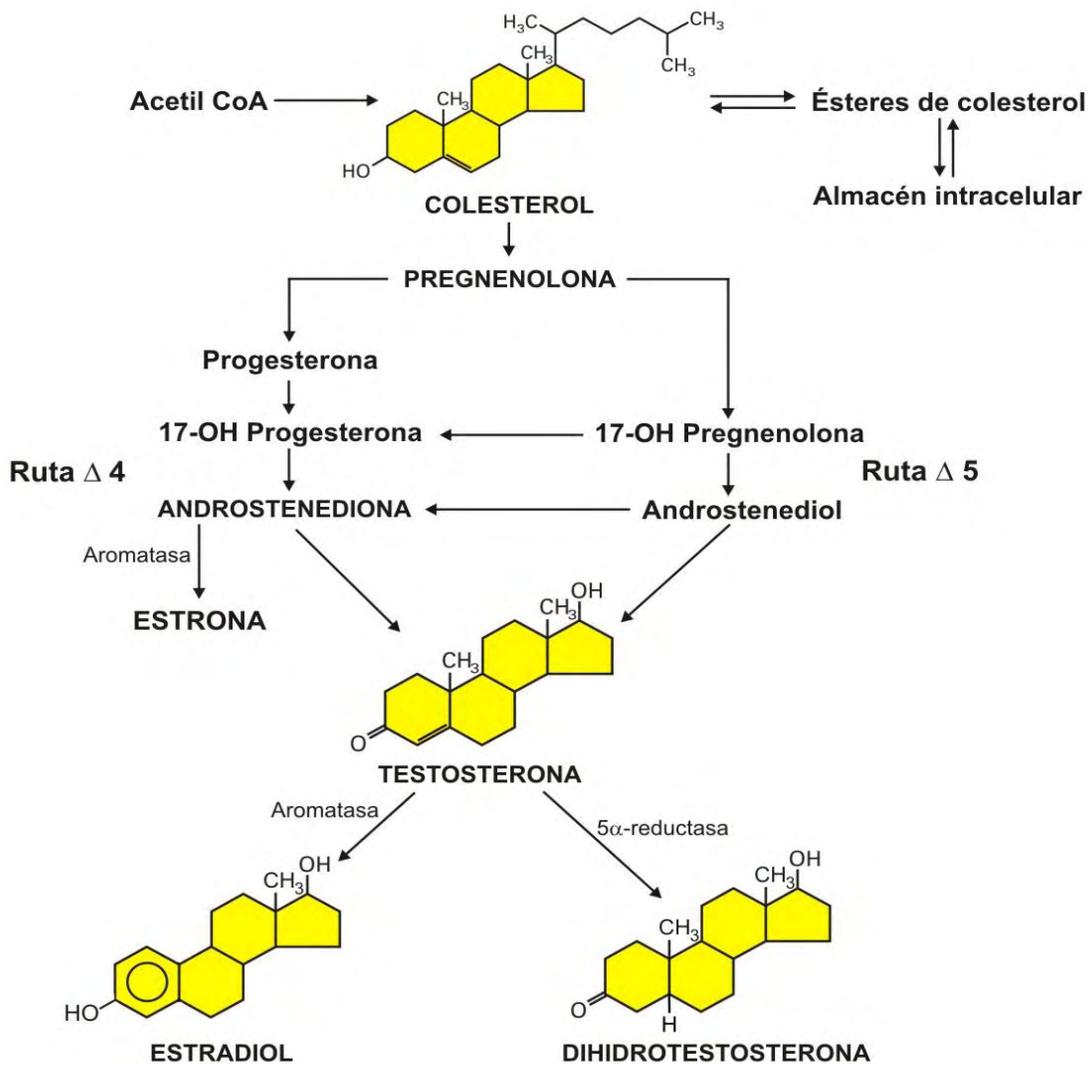


Figura 8. Síntesis de esteroides en el testículo. La formación de testosterona se lleva a cabo a partir de la 17-hidroxi-pregnenolona (ruta Δ5) o de la 17-hidroxi-progesterona (ruta Δ4). En el humano la vía que predomina en la síntesis de testosterona es la ruta Δ5, mientras que en los roedores es la Δ4 (Modificado de Rojas y col., 2011).

### Regulación Hormonal de las Funciones del Testículo

La espermatogénesis y esteroidogénesis son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis-testículo (Figura 9). En el hipotálamo es sintetizado el decapeptido, hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), por un grupo de neuronas localizadas en el área preóptica

hipotalámica anterior (POA) y en el núcleo arcuato; éste se libera a la circulación portal y se transporta hasta la adenohipófisis, en donde estimula la síntesis y liberación de las gonadotropinas, FSH y LH. Ambas gonadotropinas son sintetizadas por los gonadotropos. La FSH y la LH son liberadas a la circulación general y actúan en el testículo en donde regulan la espermatogénesis y la esteroidogénesis, respectivamente (Gal y col., 2005; Casabiell, 2006).

Las gonadotropinas se unen a sus receptores que se localizan en el testículo, los de FSH se expresan en las células de Sertoli y los de LH en las células de Leydig (Casabiell, 2006). La FSH, junto con la testosterona, regulan la producción de espermatozoides (Gal y col., 2007). Las células de Sertoli también poseen receptores a testosterona. La FSH al unirse a su receptor estimula a las proteínas G y favorece la producción del monofosfato de adenosina cíclico (AMPC), segundo mensajero que inicia una cascada de señalización que culmina con la activación de las funciones de la célula de Sertoli. Entre ellas, la producción de hormonas y proteínas que favorecen la espermatogénesis, como la transferrina, ceruloplasmina y lactato, esenciales en la proliferación y diferenciación de las células germinales (Tresguerres, 2003). También secreta la SHGB, que se une a la testosterona y mantiene sus concentraciones elevadas en los túbulos seminíferos, la inhibina y activina que disminuyen o activan, respectivamente, la producción de las gonadotropinas por la hipófisis (Malgor y Valsecia, 1999; Geneser y Schacht, 2000; Tresguerres, 2003; Casabiell, 2006; Sobotta, 2008).

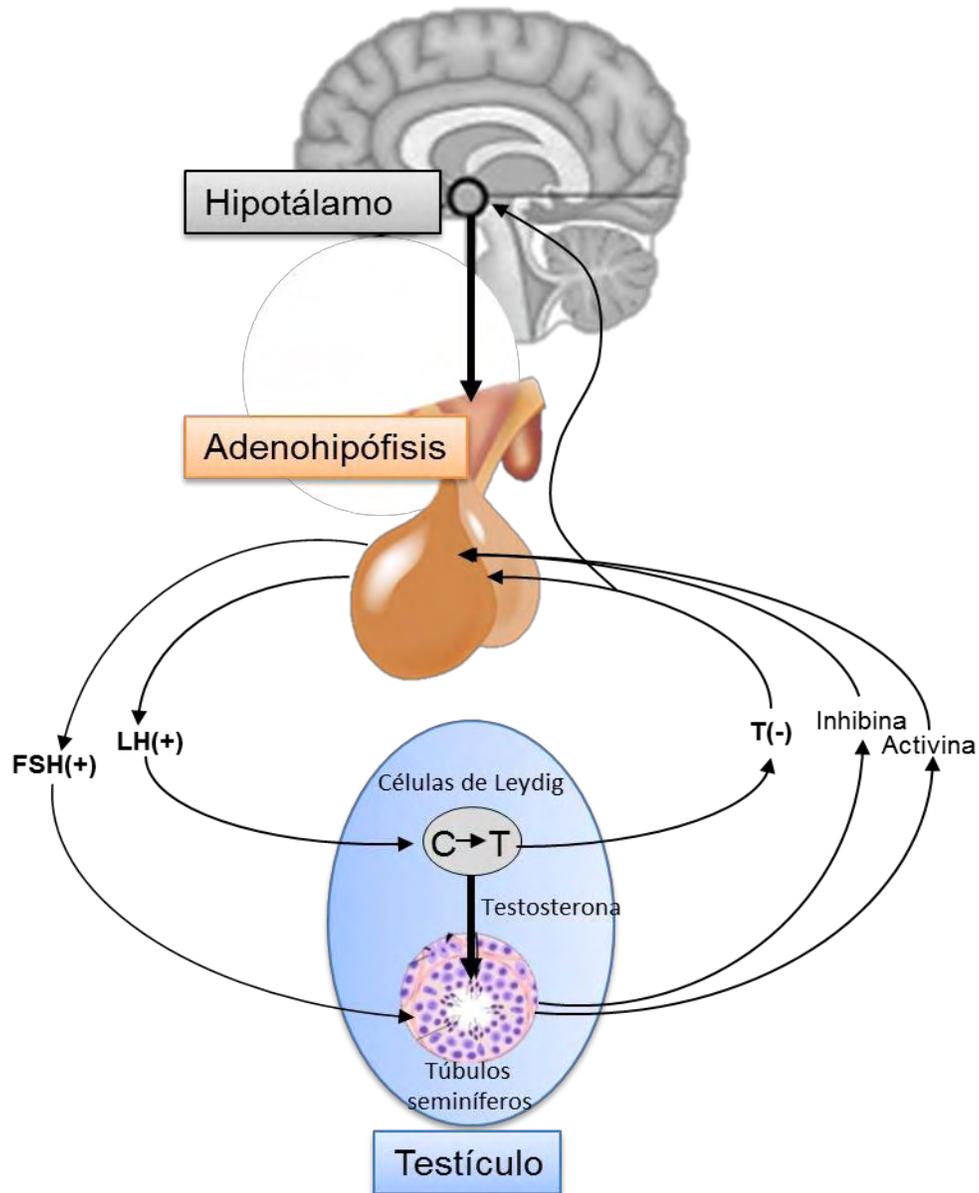


Figura 9. Eje Hipotálamo-hipófisis-testículo y regulación hormonal de la secreción de testosterona C, colesterol; T, testosterona; (+) estimulante; (-) inhibitorio (Modificado de Sobotta, 2008).

La LH interactúa con sus receptores de membrana en la célula de Leydig, modifica la actividad de proteínas G, activa a la adenilato ciclasa, enzima que cataliza la conversión del trifosfato de adenosina (ATP) en AMPc, este último es el mensajero intracelular que estimula una cascada de señalización que favorece la actividad de las enzimas reguladoras

de la esteroidogénesis, optimizando la transferencia de colesterol al interior de la membrana mitocondrial y la formación de la pregnenolona, intermediario en la síntesis de los andrógenos (Macarulla y Goñi, 1994; Javorsky y col., 2012).

Las gonadotropinas son importantes en la regulación de las funciones del testículo, cuando en ratas adultas se les administra un antiGnRH, (inmunógeno BA-11 o BA-17), disminuye la concentración de gonadotropinas, de testosterona y se induce regresión testicular que es el resultado de la disminución del diámetro de los túbulos seminíferos y del número de las espermátides elongadas. Además disminuye la motilidad de los espermatozoides (McLahan y col., 1994). Efectos similares se observaron en ratones que no expresan en las células de Sertoli, los receptores a FSH o andrógenos (Abel y col., 2008). Conjuntamente estos resultados llevaron a los autores a sugerir que la FSH y los andrógenos son esenciales en el mantenimiento de la estructura del testículo y en la regulación de sus funciones (Abel y col., 2008; O'Shaughnessy y col., 2010; Rusell y col., 1998).

### **Serotonina y Eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo**

Las funciones del testículo también son reguladas por los sistemas de neurotransmisión, como la serotonina, al actuar en los tres componentes del eje reproductivo del macho; hipotálamo-hipófisis-testículo (Campos y col., 1990; Hedger y col., 1995; Prasad y col., 2015).

En POA existe contacto sináptico entre las neuronas que secretan la GnRH y las serotoninérgicas. Tal contacto también se ha identificado en la eminencia media, donde se libera la GnRH (Kiss y Halász, 1985). Las células hipotalámicas inmortalizadas de la línea GT1-7 expresan los receptores a serotonina del tipo 5-HT1A, 5-HT2C, 5-HT4 y 5-HT7 y producen GnRH (Wada y col., 2006; Krsmanovic y col., 2010). En las células GT1-7, la serotonina estimula la liberación de GnRH vía la ruta de la fosfolipasa C (PLC) (Kim y col., 2006) al unirse a su receptor 5-HT7 (Héry y col., 1997). La inyección de serotonina en la

eminencia media de ratas macho estimula la liberación de LH (Vitale y col., 1986). Cuando en la rata macho de 30 días de edad se le elimina la información serotoninérgica que proviene del núcleo dorsal del rafe disminuye la concentración de FSH y la espermatogénesis (Ayala y col., 2015). Conjuntamente estas evidencias permiten proponer que la 5-HT modula la secreción de la GnRH, de las gonadotropinas y las funciones del testículo.

En la hipófisis de ratón, los gonadotropos contienen gránulos donde coexiste la LH y serotonina, mientras que en otros la FSH y la amina (Payette y col., 1987). En las células de adenohipófisis se ha identificado el ácido desoxirribonucleico mensajero (ARNm) de los receptores 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub> y 5-HT<sub>6</sub> (Papageorgiou y Deneff, 2007). La administración de serotonina o 5-hidroxitriptofano, precursor inmediato de la síntesis de serotonina, a ratas machos de 16, 21 o 30 días de edad, resulta en la estimulación de la secreción de FSH (Justo y col., 1989). Conjuntamente estas evidencias permiten proponer que la serotonina actúa en los gonadotropos y regula la secreción de las gonadotropinas.

La acción de la serotonina sobre la esteroidogénesis, parece ser dependiente de la edad. En la etapa prepuberal ejerce un efecto estimulante en la secreción de testosterona, mientras que en el animal adulto su acción es inhibitoria (Csaba y col., 1998).

En las células de Leydig de rata adulta, la amina actúa como un regulador autocrino vía su unión al receptor 5-HT<sub>2</sub>, modulando negativamente la producción de testosterona (Tinajero y col., 1993; Frungieri y col., 2002). Cuando a la rata macho de 30 días de edad se le administra por vía sistémica sulfato de serotonina, la concentración de testosterona disminuye a partir de las 48 horas posteriores al tratamiento (Pérez, 2006). En este último estudio la disminución en la concentración de testosterona posiblemente es el resultado de que la amina modificara la producción de gonadotropinas por la hipófisis o actuara directamente en el testículo. La serotonina también se le encuentra en la cápsula testicular, altamente irrigada, por lo que se propone que modula el flujo de sangre hacia la gónada (Collin y col., 1996).

## **Inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS)**

A la serotonina se le vincula con alteraciones del estado de ánimo ya que la disminución en la concentración de la amina en el SNC genera depresión y ansiedad (Micek, 2004; Berger y Roth, 2012). Los antidepresivos, inhibidores selectivos de la recaptura de serotonina (ISRS), aprobados por la *Federation Drug Administration* (FDA) son ampliamente prescritos durante el embarazo (Wong y col., 2005), lactancia (Weissman y col., 2004), en adolescentes y adultos (Wong y col., 2005; Ipser y col., 2009; Kodish y col., 2011). Entre los antidepresivos más utilizado en clínica se encuentra la fluoxetina o Prozac (Steiner y col., 2008).

En condiciones normales se debe mantener el equilibrado entre los mecanismos de liberación y recaptura del neurotransmisor. Las concentraciones extracelulares de serotonina y la actividad de la neurona serotoninérgica es mediada por el transportador de membrana de la serotonina (SERT) (Murphy y col., 2008; Darna y col., 2015). Este transportador se expresa en las membranas presinápticas de la neurona serotoninérgica y tiene la función de incorporar la amina a la neurona que la liberó. Los ISRS inhiben a la SERT (Figura 10), disminuyen la recaptura de la amina, lo que resulta en el aumento en la concentración de serotonina en el espacio extracelular, también activan los receptores serotoninérgicos postsinápticos e incrementan las respuestas postsinápticas (Berger y Roth, 2012).

La SERT también facilita el transporte de serotonina en las plaquetas, la placenta y las membranas gastrointestinales. El colesterol de membrana afecta la actividad de las proteínas de membrana (Chang y col., 2012). El tratamiento con lovastatina (medicamento utilizado para disminuir el colesterol) mejora la capacidad de la SERT (Renshaw y col., 2009; Chang y col., 2012).

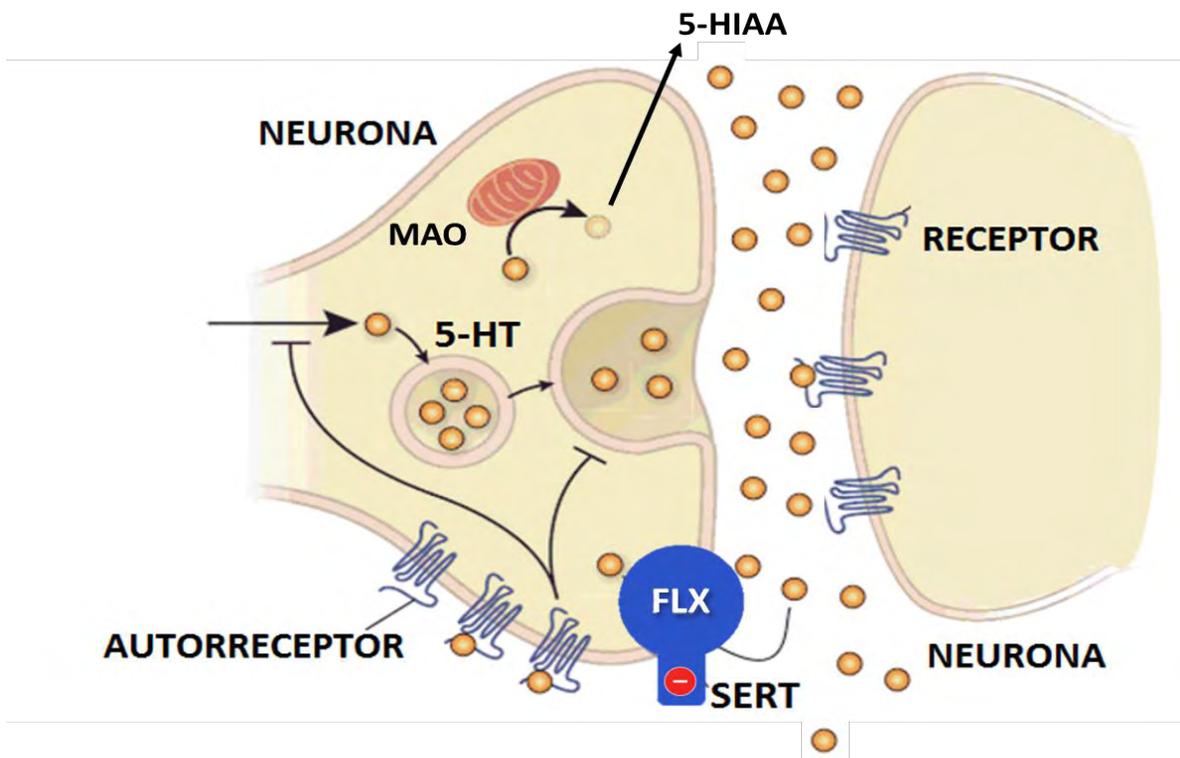


Figura 10. Bloqueo de la proteína transportadora de serotonina, SERT por la acción de un ISRS (Modificado de Berger y Roth, 2012).

### Fluoxetina (Prozac)

Prozac (clorhidrato de fluoxetina) es un fármaco psicotrópico de administración oral (Figura 11). El clorhidrato de fluoxetina es un sólido cristalino blanquecino con solubilidad de 1 g de fluoxetina en 70 mL de agua (Remington, 2003).

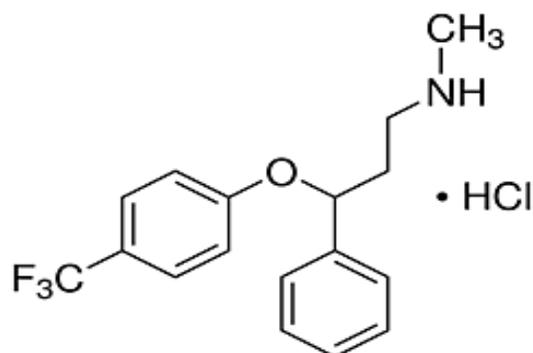


Figura 11. Estructura química de la fluoxetina (Tomado de Wong y col., 2005).

La fluoxetina (FLX) es indicada en el tratamiento sintomático de la depresión, los trastornos obsesivo-compulsivos y la bulimia nerviosa (Remington, 2003). También se prescribe a pacientes con trastorno bipolar y de estrés postraumático, eyaculación precoz, obesidad y ataques de pánico. Tiene la capacidad de unirse a la SERT, incrementa el tiempo de permanencia de la serotonina en la hendidura sináptica y aumenta la transmisión serotoninérgica (Remington, 2003; Berger y Roth, 2012).

La vida media de la fluoxetina es de 2 a 3 días (rango de 1 a 9 días), por lo que resulta un efecto acumulativo a largo plazo. Es metabolizada por el hígado y los riñones y excretada por los riñones (Remington, 2003; LeFever y col., 2014). La fluoxetina se absorbe en el tracto gastrointestinal (biodisponibilidad 60-80%), sin embargo, su efecto antidepresivo se desarrolla lentamente por varias semanas, dicho efecto comienza entre la semana 1 a la 4, y el pico de concentración aparece entre las 6 u 8 horas posteriores a su administración. La vida media de su metabolito activo, la norfluoxetina es de 7 a 9 días (rango de 3 a 15 días) (Remington, 2003; LeFever y col., 2014).

### **Fluoxetina y Testículo**

Los estudios que apoyan los efectos de la fluoxetina en aspectos reproductivos reportan que la administración crónica de fluoxetina a la rata macho adulta, disminuye el número y la movilidad de los espermatozoides y esto se acompaña de la disminución en la concentración de testosterona y FSH (Bataineh y Daradka, 2007). Cuando la administración de fluoxetina se realiza en la rata preñada desde el día 13 de preñez y se continua en las crías durante la lactancia hasta el día 21, disminuye el peso corporal, de los testículos, epidídimo y vesícula seminal, lo que se acompaña de la disminución en la producción de espermatozoides y del diámetro de los túbulos seminíferos y de su lumen (Viera y col., 2013; Monteiro y col., 2014).

Los efectos de la fluoxetina en la etapa temprana del desarrollo, posiblemente se asocien con modificaciones en el establecimiento del sistema serotoninérgico en las diferentes

regiones del cerebro, como el hipotálamo que regula la producción de las gonadotropinas esenciales en el mantenimiento de la estructura y funciones del testículo. En relación a esto cuando se administra el ISRS, citalopram del día 8 hasta 21 de edad, disminuye la enzima limitante en la síntesis de serotonina, la triptófano hidroxilasa en el rafe dorsal y medial y en la corteza cerebral, la SERT a los 22 días de edad, efecto que se mantiene en la etapa adulta (Maciag y col., 2006). Cuando en la rata se administra fluoxetina desde el día 1 al 21, disminuye el número de células serotoninérgicas en el DRN y las terminales serotoninérgicas en el *dentate gyrus* (Da Silva y col., 2010). Estas evidencias sustentan la propuesta de Maciag y colaboradores (2006), de que la exposición a los ISRS en la etapa temprana del desarrollo modifica la maduración normal del sistema serotoninérgico y como consecuencia los procesos neuronales que dependen de la serotonina debido a que la serotonina durante el desarrollo actúa como un factor de diferenciación y proliferación celular (Azmitia, 2001).

También es posible que cuando se administra fluoxetina durante la gestación se modifique el flujo sanguíneo del útero, por lo que la disponibilidad de los nutrientes para el embrión o del feto, no es suficiente y se modifique el desarrollo en general. En apoyo a esto, la administración intraperitoneal de fluoxetina durante los primeros días de preñez reduce el peso corporal de ratas neonato (Monteiro y col., 2014). Además la serotonina modula el flujo sanguíneo (Cohen y col., 1996; Yakovlev y col., 2014).

## Justificación

La serotonina se encuentra en los tres componentes del eje reproductivo, hipotálamo-hipófisis-testículo en donde modula la secreción de la GnRH, de las gonadotropinas y de testosterona, aunado a esto existen un conjunto de fármacos, los Inhibidores Selectivos de la Recaptura de Serotonina (ISRS), como la fluoxetina, que modifican al sistema serotoninérgico y que son utilizados en el tratamiento de la depresión. Sin embargo, se desconoce si estas sustancias actúan directamente en el eje reproductivo-modulando su funcionamiento. Por ello, en el presente estudio se analizaron en la rata macho prepúber, los efectos de la inhibición de la recaptura de serotonina inducido por la administración sistémica de fluoxetina con la finalidad de que esta sustancia actúe en el sistema serotoninérgico del eje hipotálamo-hipófisis-testículo y evaluar sus repercusiones en la estructura de la gónada del macho y en la producción de andrógenos. Así mismo se realizó la inyección intratesticular de fluoxetina con el objetivo de modificar al sistema serotoninérgico del testículo y estudiar sus repercusiones en la estructura y secreción de testosterona.

## **Hipótesis**

Se tiene evidencia de que en el animal prepúber, el sistema serotoninérgico actúa en el eje hipotálamo-hipófisis-testículo y modula la síntesis de testosterona por el testículo. Por tanto, la inhibición de la recaptura de serotonina, inducido por la administración de fluoxetina, disminuirá la concentración de gonadotropinas y testosterona en el suero y modificará la estructura de la gónada.

## **Objetivo General**

Evaluar los efectos de la inhibición de la recaptura de serotonina, inducido por la administración de fluoxetina, en la secreción de gonadotropinas y testosterona, así como en la estructura del testículo de la rata macho prepúber.

## **Objetivos Particulares**

Analizar en la rata macho prepúber los efectos de la inyección sistémica de fluoxetina en la concentración sérica de gonadotropinas y testosterona y en la estructura del testículo.

Analizar en la rata macho prepúber los efectos de la inyección intratesticular de fluoxetina en la concentración de gonadotropinas y testosterona en el suero y en la estructura del testículo.

## Materiales y Métodos

Se utilizaron ratas macho de 30 días de edad (prepúber), de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones de luz-oscuridad controladas (14 horas luz/10 horas oscuridad) y temperatura ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Las crías se mantuvieron con la madre desde el nacimiento hasta el día 21 (destete) y posteriormente con libre acceso al agua y al alimento (Purina S.A., México). Cuando los machos cumplieron treinta días de edad se dividieron al azar en los siguientes grupos:

### *Administración de Fluoxetina por vía Sistémica*

A un grupo de veintiuno animales macho de 30 días de edad entre las 09:00 a 10:00 horas se les administró fluoxetina (Sigma Aldrich, USA) en una dosis de 5 mg/kg de peso corporal por vía intraperitoneal. Dicha dosis es la mínima que modifica la actividad del sistema serotoninérgico (Caccia y col., 1990). A otro grupo de veintiuno animales se les inyectó solución salina al 0.9 %; grupo vehículo (VH).

### *Inyección intratesticular de fluoxetina*

A otros grupos de animales se les administró en ambos testículos solución salina (20  $\mu\text{L}$ /gónada) (VH) (n=30 animales) o fluoxetina (0.005 mg/20  $\mu\text{L}$  /gónada) (n=30 animales). La administración de fluoxetina o solución salina se inició en el testículo derecho y se concluyó en el izquierdo. La dosis de fluoxetina que se inyectó directamente en el testículo se calculó a partir de la que se inyecta vía sistémica, pero en relación al peso de la gónada de la rata a los 30 días de edad.

La administración de fluoxetina se realizó bajo anestesia con éter, se limpió la piel de la bolsa escrotal con jabón quirúrgico, se introdujo en la región caudal del testículo una aguja de (30G, 22mm), acoplada a una bomba de micro inyección (MCA/100 Bioanalytical System, Inc. West Lafayette, In, USA), a una profundidad de 5 milímetros aproximadamente, se realizó la inyección de fluoxetina y se retiró la aguja. Este procedimiento se realizó en ambos testículos.

#### *Procedimiento de Autopsia*

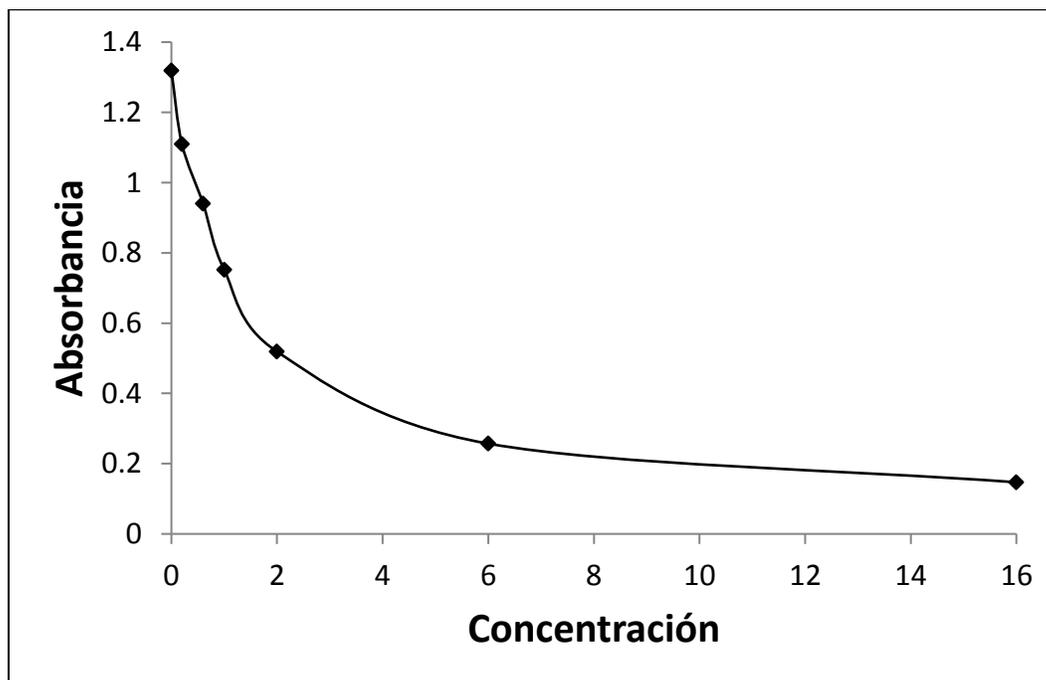
Los animales de los diferentes grupos experimentales se autopsiaron a las 24, 48 o 72 horas posteriores al tratamiento, entre las 9:00 y 10:00 horas. Se registró el peso corporal. Se colectó la sangre del tronco, se mantuvo en reposo durante 20 minutos, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm por 15 minutos. El suero se separó y almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  para la cuantificación de testosterona por la técnica de ELISA y de gonadotropinas (FSH y LH) por radioinmunoanálisis (RIA). Al momento de la autopsia se extrajeron los testículos, los epidídimos, la próstata y las vesículas seminales y se registraron sus masas.

#### *Cuantificación de testosterona en el suero*

La concentración de testosterona en el suero se efectuó por la técnica de ELISA, con un Kit proporcionado por AccuBind (Monobind Inc. Lake Forest, Ca, USA). Previo a la cuantificación de testosterona en el suero de los diferentes grupos experimentales se corrió una curva patrón con las siguientes concentraciones de estándares:

<b>Estándar</b>	<b>Concentración</b>	<b>Absorbancia</b>
Cal-1	0.0	1.319
Cal-2	0.200	1.110
Cal-3	0.500	0.940
Cal-4	1.000	0.752
Cal-5	2.000	0.519
Cal-6	6.000	0.257
Cal-7	16.000	0.147

La lectura de los estándares de la curva y las muestras problema se realizó a  $450 \pm 10$  nm. Con los datos de absorbancia de los estándares se construyó una curva, con la finalidad de extrapolar los datos de absorbancia de las muestras problemas y calcular la concentración de testosterona.



Los resultados de la concentración de testosterona se expresaron en pg/mL de suero.

### *Cuantificación de gonadotropinas en el suero*

La cuantificación de LH y FSH se realizó por la técnica de radioinmunoanálisis de doble anticuerpo, empleando anticuerpos para NIAMDDRat-A-LH-RP-3 y NIAMDDRat-FSH-RP-2. Los resultados de la concentración de las gonadotropinas se expresaron en ng/mL de suero.

### *Análisis morfológico*

En el día de la autopsia, el testículo izquierdo y derecho de los animales sacrificados a las 72 horas se fijaron por inmersión en solución de Bouin. El fijador se eliminó con lavados sucesivos de alcohol al 70 %. Posteriormente los órganos se deshidrataron con alcohol 70 %, 96%, 100% y cloroformo, posteriormente se incluyeron en parafina y se formaron bloques con el tejido. Con ayuda de un micrótopo rotatorio (American Optical, 820, USA) se realizaron cortes histológicos de 10  $\mu$ m, los que se colocaron en portaobjetos limpios previamente etiquetados y preparados con albúmina. Los cortes se tiñeron por la técnica de Hematoxilina-Eosina y se procedió a realizar el estudio morfométrico. Se capturaron las imágenes de 100 túbulos y se realizó el análisis morfométrico que consistió en la medición del área del túbulo, del lumen y del epitelio seminífero con ayuda de un analizador de imágenes (Image Pro Plus, V 4.0, para Windows. Olympus, México).

### *Análisis estadístico*

Los datos del peso corporal, del testículo, epidídimo, próstata y vesícula seminal; la concentración de gonadotropinas y de testosterona; el área de los túbulos seminíferos y del lumen, y de la altura del epitelio se analizaron por la prueba “t” de Student. Se consideraron como diferencias significativas aquellas en las que la probabilidad fue menor o igual a 0.05.

## Resultados

### 1.-Efecto de la administración de fluoxetina por vía sistémica en la masa de los órganos del aparato reproductor del macho y en la concentración de gonadotropinas y testosterona.

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, la inyección del vehículo no modificó el peso corporal, de los testículos, la vesícula y la próstata. La masa del epidídimo fue mayor en los animales inyectados con vehículo y autopsiados 48 horas después (Cuadro 1).

La concentración de testosterona, fue mayor en los animales tratados con el VH a las 48 horas, mientras que FSH fue menor. La concentración de LH disminuyó a las 24 horas y el comportamiento fue inverso a las 48 horas y no se encontraron diferencias significativas a las 72 horas (Cuadro 2).

**Cuadro 1. Peso corporal (Media  $\pm$  e.e.m.), masa testicular, del epidídimo, próstata y vesículas seminales de la rata macho testigo absoluto (TA) o con inyección sistémica de solución salina (VH) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas post-tratamiento.**

Grupo		Peso Corporal (g)	Masa (mg)			
			Testicular	Epidídimo	Vesículas seminales	Próstata
<b>24 horas</b>						
	TA	88.17 $\pm$ 6.15	630 $\pm$ 60	70 $\pm$ 10	20 $\pm$ 4	30 $\pm$ 2
	VH	99.83 $\pm$ 5.17	710 $\pm$ 60	80 $\pm$ 10	20 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4
<b>48 horas</b>						
	TA	109.17 $\pm$ 2.94	930 $\pm$ 40	100 $\pm$ 5	30 $\pm$ 7	50 $\pm$ 5
	VH	100.71 $\pm$ 1.55	810 $\pm$ 30	80 $\pm$ 4 *	30 $\pm$ 5	30 $\pm$ 1
<b>72 horas</b>						
	TA	100.71 $\pm$ 3.88	806 $\pm$ 20	100 $\pm$ 5	30 $\pm$ 5	40 $\pm$ 5
	VH	106 $\pm$ 2.41	870 $\pm$ 30	90 $\pm$ 4	40 $\pm$ 4	30 $\pm$ 2

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

**Cuadro 2. Concentración (Media  $\pm$ e.e.m.) de hormona estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH) en el suero de la rata macho testigo absoluto (TA) o con inyección sistémica de solución salina (VH) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

Grupo		Testosterona	FSH	LH
		(pg/mL)	(ng/mL)	
<b>24 horas</b>				
	TA	0.52 $\pm$ 0.06	13.12 $\pm$ 1.81	0.56 $\pm$ 0.06
	VH	0.57 $\pm$ 0.04	13.86 $\pm$ 1.82	0.27 $\pm$ 0.07 *
<b>48 horas</b>				
	TA	0.55 $\pm$ 0.07	11.84 $\pm$ 1.57	0.19 $\pm$ 0.06
	VH	0.62 $\pm$ 0.05 *	9.15 $\pm$ 1.19 *	0.29 $\pm$ 0.08 *
<b>72 horas</b>				
	TA	0.55 $\pm$ 0.10	18.78 $\pm$ 4.65	0.43 $\pm$ 0.09
	VH	0.56 $\pm$ 0.09	18.06 $\pm$ 1.54	0.42 $\pm$ 0.01
* $p < 0.05$ vs. TA (Prueba t de Student).				

Debido a que en el grupo de animales inyectados con el VH se observaron cambios en algunos de los parámetros evaluados, los resultados obtenidos en los animales inyectados con FLX se compararon con su respectivo grupo con VH.

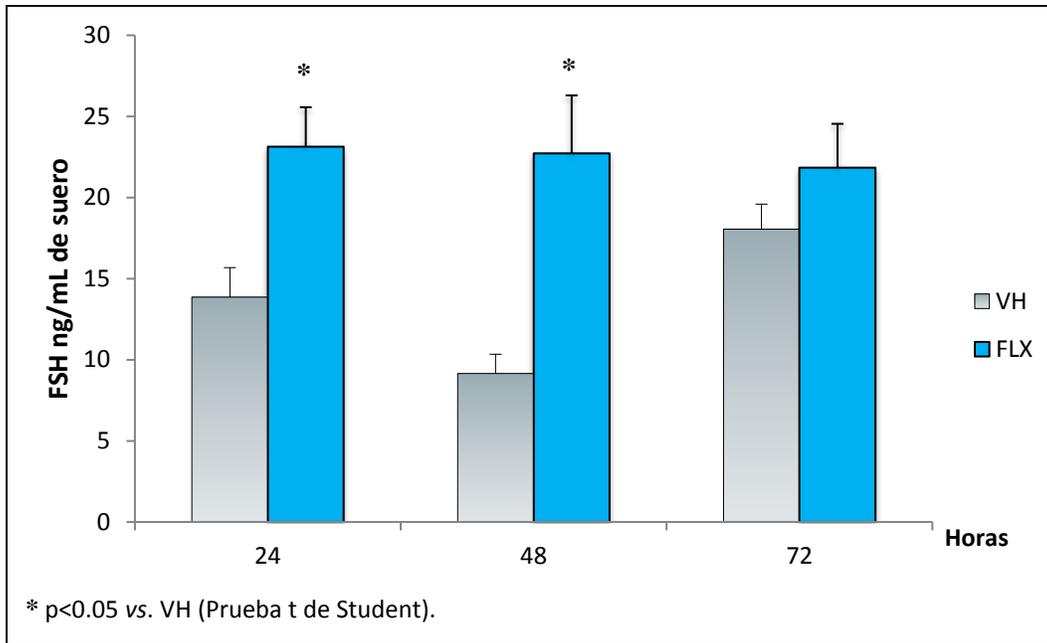
En los animales que se les inyectó FLX no se encontraron diferencias significativas en el peso corporal, masa de los testículos, del epidídimo, de la próstata y las vesículas seminales, en comparación con los animales tratados con VH (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Peso corporal (Media  $\pm$  e.e.m.), masa testicular, masa testicular, masa del epidídimo, masa de la próstata y masa de las vesículas seminales de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o 5 mg/kg (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

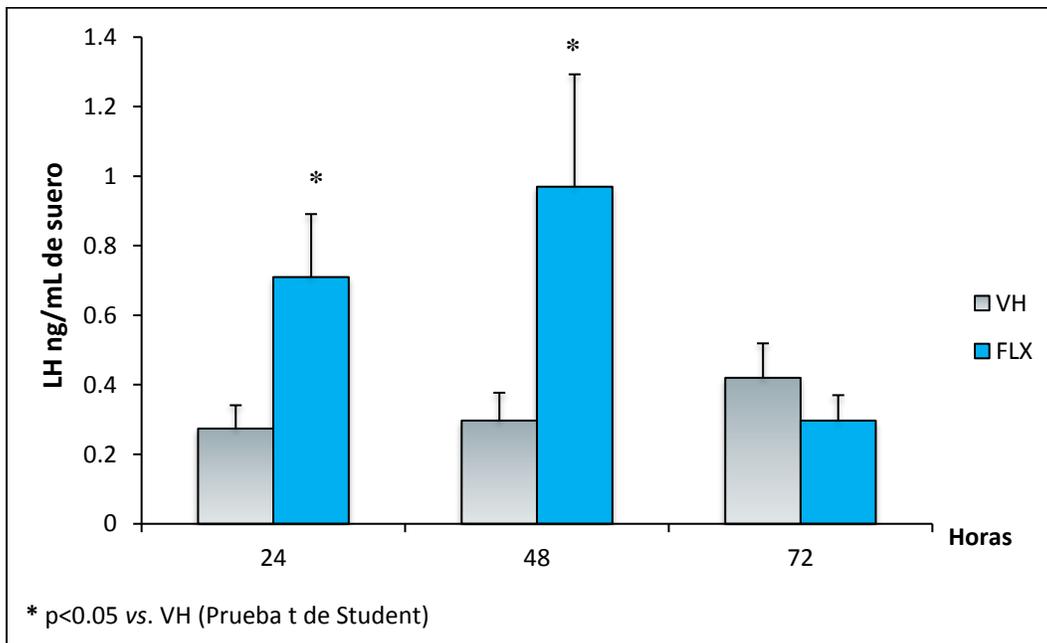
Grupo	Peso Corporal (g)	Masa (mg)				
		Testicular	Epidídimo	Vesículas seminales	Próstata	
<b>24 horas</b>						
VH	99.83 $\pm$ 5.17	710 $\pm$ 60	80 $\pm$ 10	20 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4	
FLX	99.0 $\pm$ 3.62	740 $\pm$ 30	80 $\pm$ 6	20 $\pm$ 1	30 $\pm$ 3	
<b>48 horas</b>						
VH	100.71 $\pm$ 1.55	810 $\pm$ 30	80 $\pm$ 4	30 $\pm$ 5	30 $\pm$ 1	
FLX	97.86 $\pm$ 3.81	850 $\pm$ 40	80 $\pm$ 5	40 $\pm$ 4	30 $\pm$ 4	
<b>72 horas</b>						
VH	106.0 $\pm$ 2.41	870 $\pm$ 30	90 $\pm$ 4	40 $\pm$ 4	30 $\pm$ 2	
FLX	106.71 $\pm$ 2.2	840 $\pm$ 14	90 $\pm$ 3	30 $\pm$ 3	30 $\pm$ 4	

En comparación con el grupo con VH, en los animales que se les inyectó FLX, la concentración sérica de FSH y LH fue mayor a las 24 o 48 horas pos tratamiento. A las 72 horas no se observaron cambios significativos (Gráfica 1). Este comportamiento también se observó en la concentración de LH (Gráfica 2).

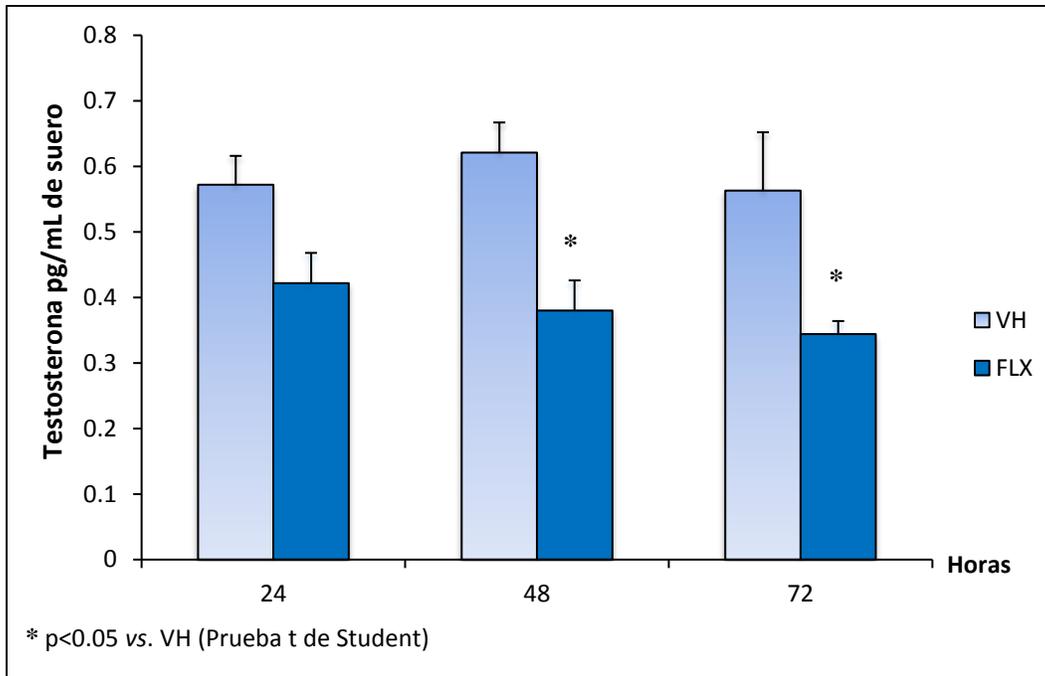
En los animales que se les inyectó FLX y sacrificados a las 48 o 72 horas, la concentración de testosterona fue significativamente menor que la de sus respectivos grupos con VH (Gráfica 3).



**Gráfica 1. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de hormona estimulante del folículo en el suero de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

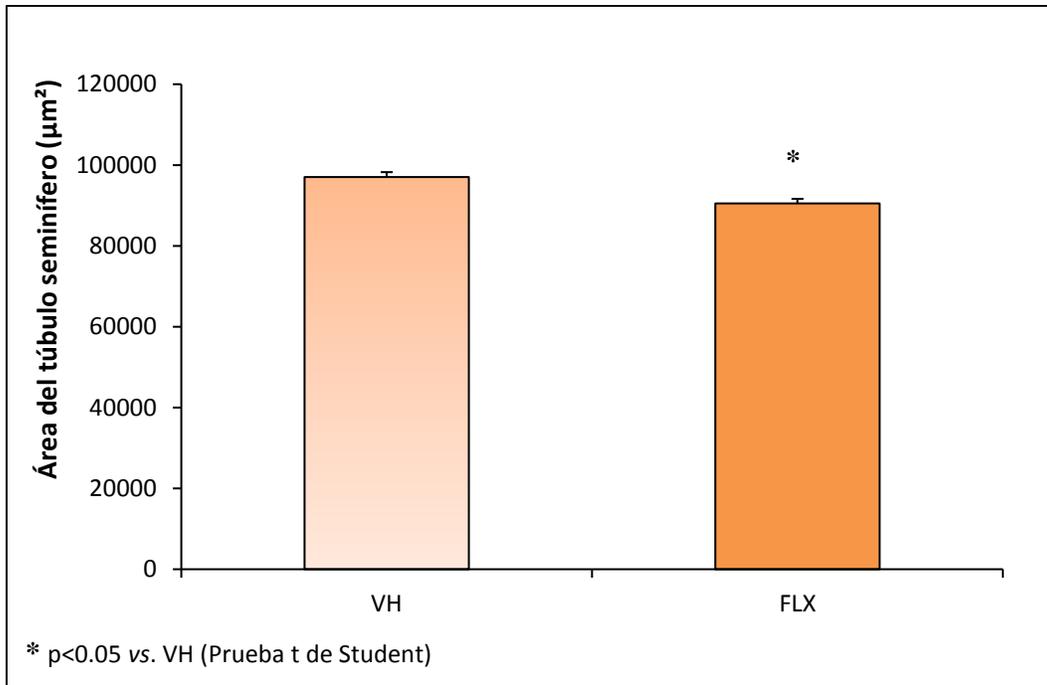


**Gráfica 2. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de hormona luteinizante en el suero de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

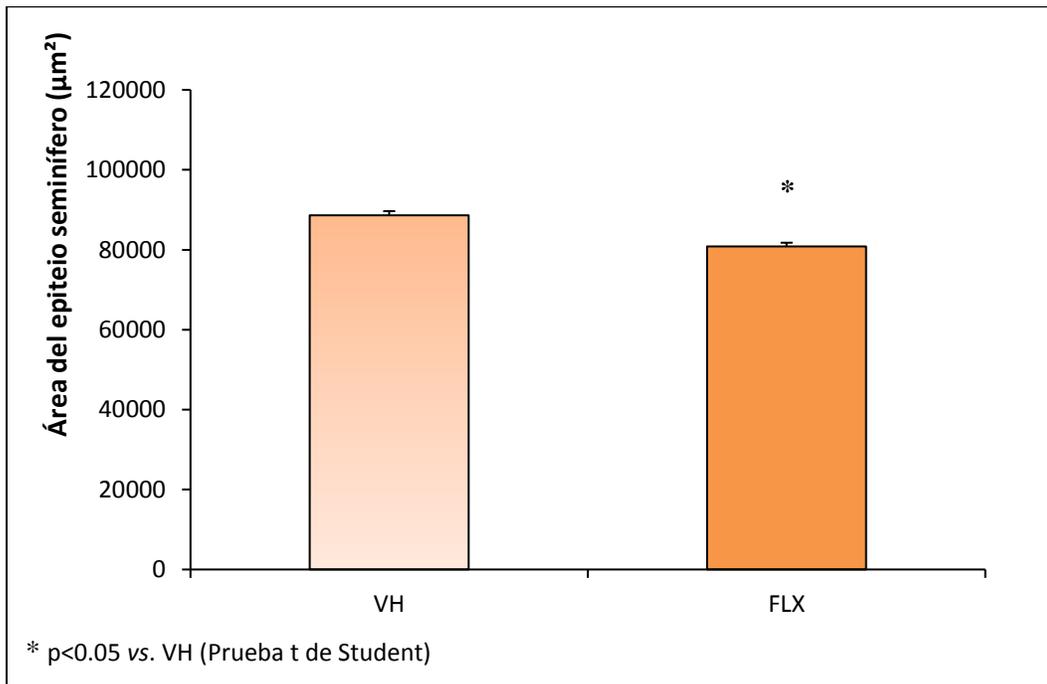


**Gráfica 3 Concentración (Media  $\pm$  e.e.m) de testosterona en el suero de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

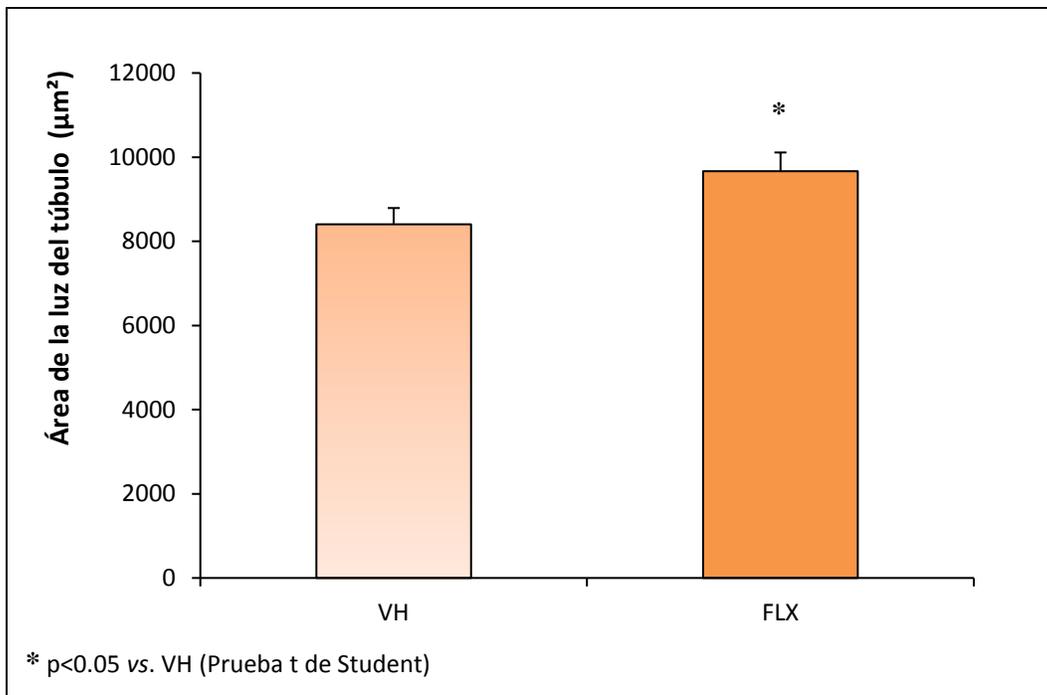
En el grupo de animales tratados con FLX disminuyó el área de los túbulos y del epitelio seminífero (Gráficas 4 y 5) y el área del lumen fue mayor en comparación con el grupo de animales tratados con VH (Gráfica 6).



**Gráfica 4. Área (Media ± e.e.m.) del túbulo seminífero de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas post-tratamiento.**



**Gráfica 5. Área (Media ± e.e.m.) del epitelio seminífero de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas post-tratamiento.**



**Gráfica 6. Área (Media  $\pm$  e.e.m.) de la luz del túbulo de la rata macho con inyección sistémica de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas post-tratamiento.**

En los túbulos seminíferos de los animales testigo absoluto o que se inyectaron con solución salina, se observó la organización normal de los túbulos seminíferos, con forma circular (Figuras 12-A, D, 12-B, E; 13-A y 13-B), mientras que, en los animales que se les inyectó fluoxetina (Figuras. 12-C, F; 13-C, D) se observó desorganización del epitelio seminífero y pérdida de células germinales, principalmente en el compartimento adluminal, lo que se acompañó del aumento del lumen de los túbulos seminíferos.

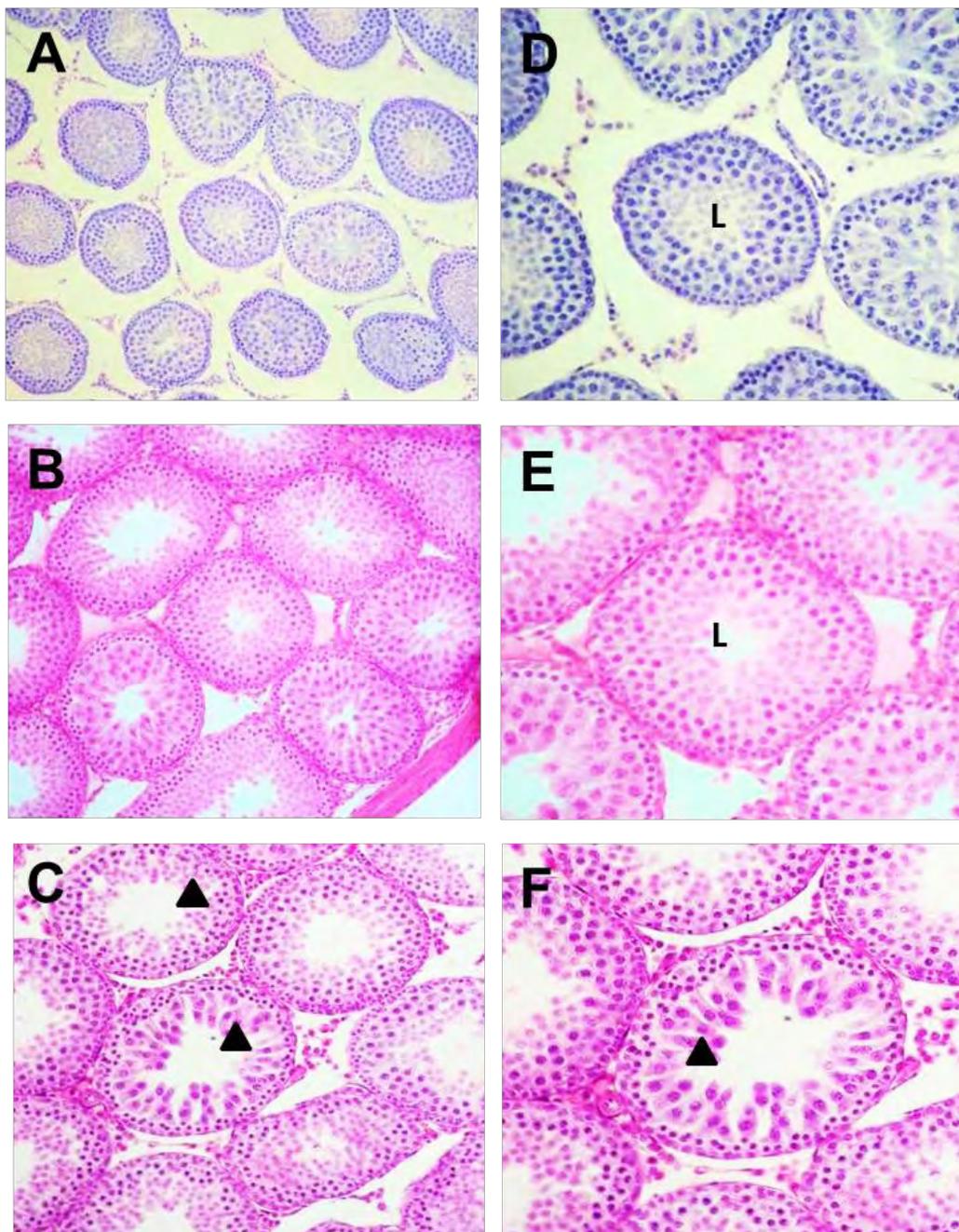


Figura 12. Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas de 30 días de edad autopsiadas a las 72 horas post-tratamiento vía sistémica. Grupo testigo absoluto (TA) (A y D) y o grupo vehículo tratados con solución salina (VH) (B y E), donde se observan túbulos seminíferos normales. Grupo con administración de fluoxetina o (FLX) (C y F) con desarreglo y pérdida del epitelio seminífero (cabezas de flechas) (C); L: lumen del túbulo. Aumento 200X: A, B, C; aumento 400X: D, E, F.

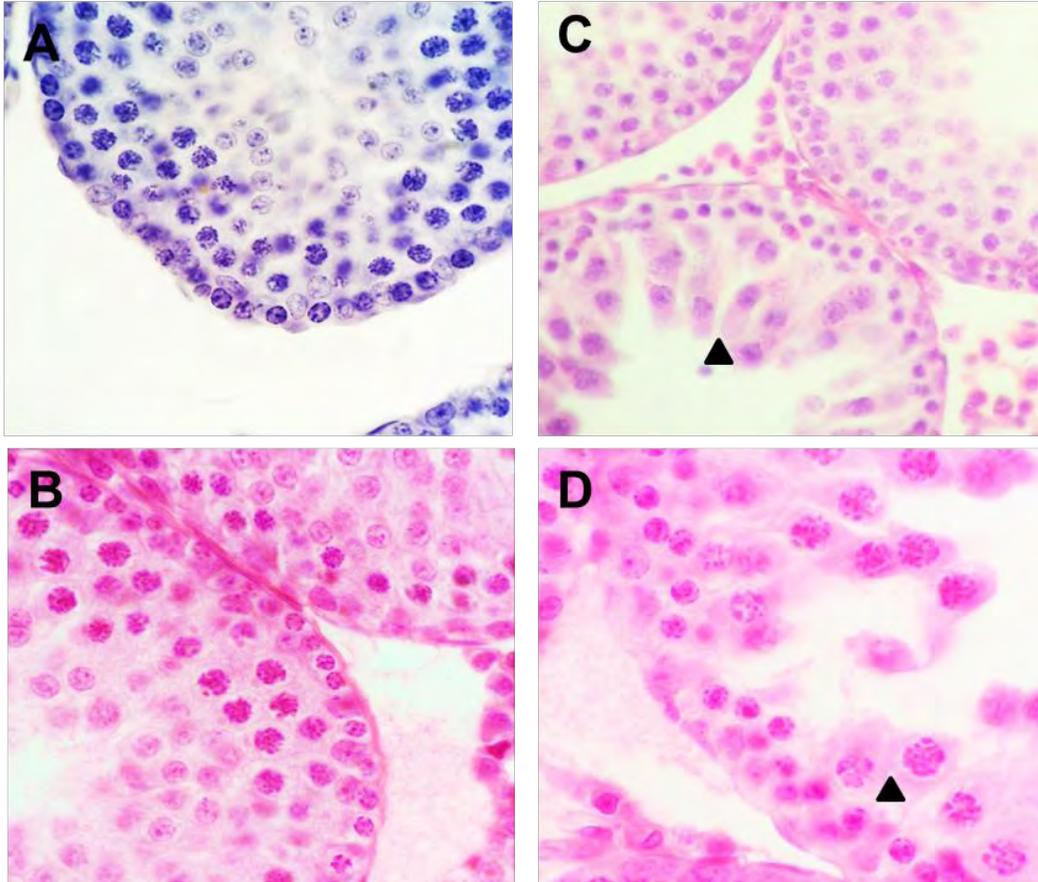


Figura 13. Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas de 30 días de edad grupo (TA) (A), grupo (VH) tratados con solución salina (B) o con fluoxetina (C y D) y autopsiados a las 72 horas post-tratamiento vía sistémica, donde se muestran: túbulos seminíferos normales (A y B); así como túbulos con pérdida de células germinales y aumento del lumen (C y D) (cabeza de flecha). Aumento 1000X.

**2.-Efecto de la administración intratesticular de fluoxetina en la masa de los órganos del aparato reproductor del macho y en la concentración de gonadotropinas y testosterona.**

En los animales con inyección intratesticular de VH, no se modificó el peso corporal ni la masa testicular, en comparación con el grupo de animales TA. La masa del epidídimo y la próstata disminuyó significativamente a las 48 o 72 horas posteriores al tratamiento (Cuadro 4). La masa de las vesículas, la concentración sérica de testosterona y FSH fue menor (Cuadros 4 y 5). La concentración de LH disminuyó a las 24 y se incrementó 48 horas pos tratamiento y no se modificó a las 72 horas (Cuadro 5).

**Cuadro 4. Peso corporal (Media  $\pm$  E.E.M.), masa testicular, masa del epidídimo, masa de la próstata y masa de la vesícula seminal de la rata macho testigo absoluto (TA) o con inyección intratesticular de solución salina (VH) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

Grupo	Peso Corporal (g)	Masa (mg)				
		Testicular	Epidídimo	Vesículas seminales	Próstata	
<b>24 horas</b>						
TA	88.16 $\pm$ 6.15	630 $\pm$ 58	660 $\pm$ 9	22 $\pm$ 4	33 $\pm$ 2	
VH	92.6 $\pm$ 1.70	730 $\pm$ 25	700 $\pm$ 3	22 $\pm$ 2	23 $\pm$ 2 *	
<b>48 horas</b>						
TA	109.16 $\pm$ 2.94	930 $\pm$ 44	102 $\pm$ 5	33 $\pm$ 7	71 $\pm$ 16	
VH	110.28 $\pm$ 2.33	890 $\pm$ 44	81 $\pm$ 4 *	20 $\pm$ 2 *	27 $\pm$ 1 *	
<b>72 horas</b>						
TA	100.71 $\pm$ 3.90	860 $\pm$ 24	99 $\pm$ 5	37 $\pm$ 5	44 $\pm$ 5	
VH	106.33 $\pm$ 3.95	830 $\pm$ 33	72 $\pm$ 3 *	17 $\pm$ 1 *	20 $\pm$ 4 *	
* p<0.05 vs. TA (Prueba t de Student)						

**Cuadro 5. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de hormona estimulante del folículo (FSH) y luteinizante (LH) en el suero de la rata macho testigo absoluto (TA) o con inyección intratesticular de solución salina (VH) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

Grupo		Testosterona	FSH	LH
		(pg/mL de suero)	(ng/mL de suero)	
<b>24 horas</b>				
	TA	0.521 $\pm$ 0.057	13.115 $\pm$ 1.808	0.56 $\pm$ 0.06
	VH	0.243 $\pm$ 0.022 *	2.85 $\pm$ 0.33 *	0.22 $\pm$ 0.03 *
<b>48 horas</b>				
	TA	0.551 $\pm$ 0.070	11.841 $\pm$ 1.571	0.19 $\pm$ 0.06
	VH	0.293 $\pm$ 0.036 *	5.92 $\pm$ 1.24 *	1.10 $\pm$ 0.17 *
<b>72 horas</b>				
	TA	0.554 $\pm$ 0.097	18.781 $\pm$ 4.652	0.434 $\pm$ 0.09
	VH	0.26 $\pm$ 0.01 *	4.11 $\pm$ 0.25 *	0.24 $\pm$ 0.03
* p<0.05 vs. TA (Prueba t de Student)				

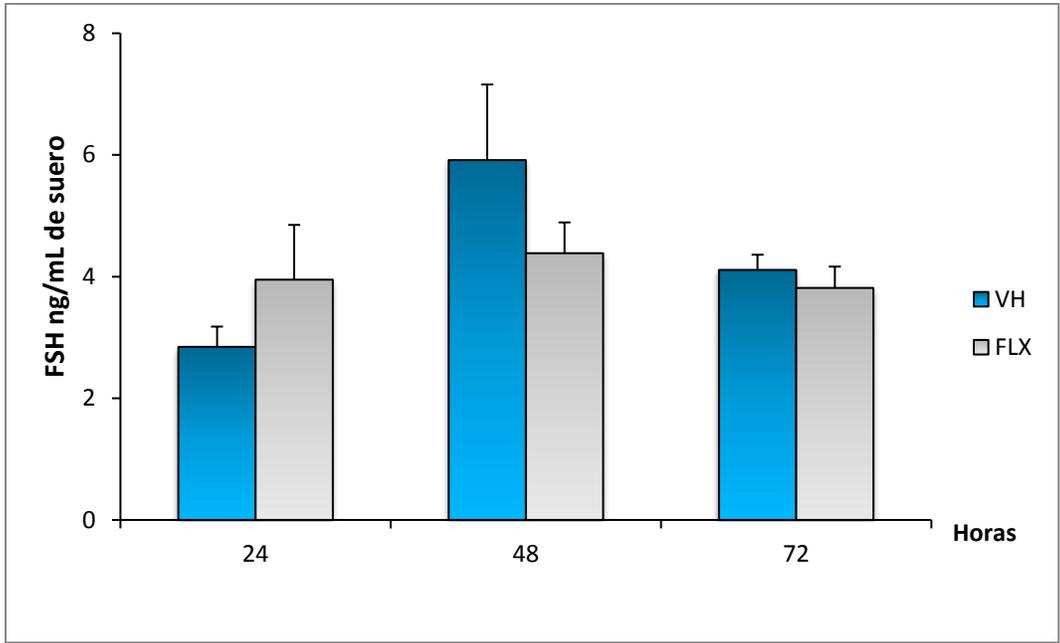
Debido a que la inyección intratesticular de VH modificó algunos de los parámetros evaluados, los efectos de la administración intratesticular de FLX fueron comparados con lo observado en los animales con inyección intratesticular de VH.

En los animales con inyección intratesticular de FLX y autopsiados a las 48 horas pos-tratamiento, el peso corporal, la masa de los testículos, del epidídimo y la próstata fue menor en comparación con los animales con inyección de VH (Cuadro 6).

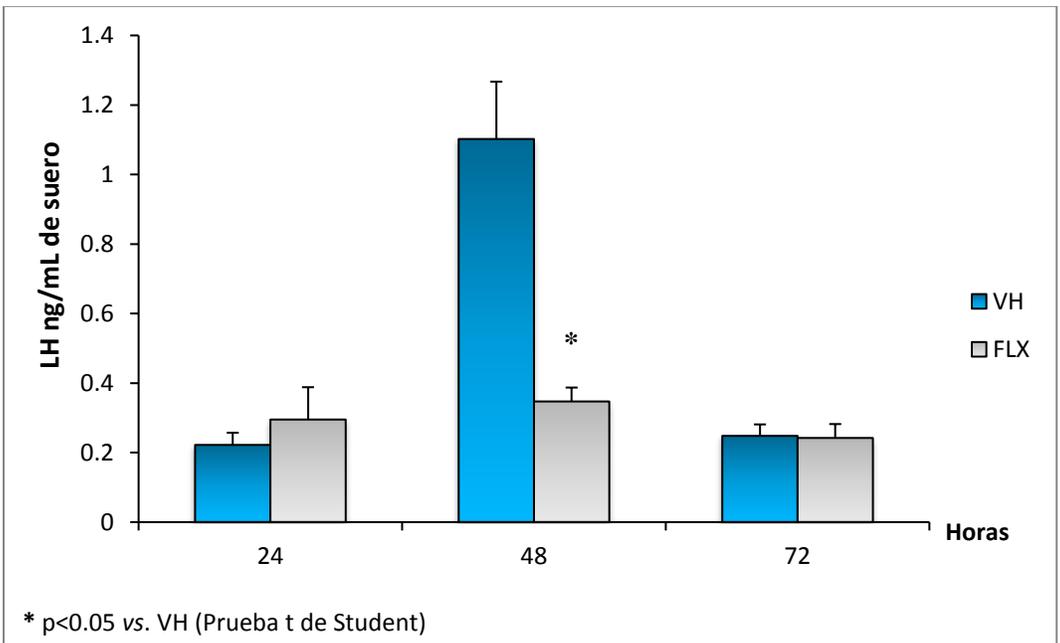
**Cuadro 6. Peso corporal (Media  $\pm$  e.e.m.), masa testicular, masa del epidídimo, masa de la próstata y masa de las vesículas seminales de la rata macho con inyección intratesticular de solución salina (VH) o (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

Grupo		Peso Corporal (g)	Masa (mg)			
			Testicular	Epidídimo	Vesículas seminales	Próstata
<b>24 horas</b>						
	VH	92.57 $\pm$ 1.70	730 $\pm$ 25	70 $\pm$ 3	22 $\pm$ 2	23 $\pm$ 2
	FLX	99 $\pm$ 2.76	705 $\pm$ 25	66 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2	20 $\pm$ 2
<b>48 horas</b>						
	VH	110.28 $\pm$ 2.33	890 $\pm$ 40	81 $\pm$ 4	20 $\pm$ 2	27 $\pm$ 1
	FLX	83.5 $\pm$ 3.48 *	640 $\pm$ 30 *	62 $\pm$ 4 *	13 $\pm$ 1	14 $\pm$ 2 *
<b>72 horas</b>						
	VH	106.33 $\pm$ 3.94	830 $\pm$ 30	72 $\pm$ 3	17 $\pm$ 1	20 $\pm$ 4
	FLX	97.43 $\pm$ 1.74	820 $\pm$ 27	68 $\pm$ 3	20 $\pm$ 1	27 $\pm$ 4
* p<0.05 vs. VH (Prueba t de Student).						

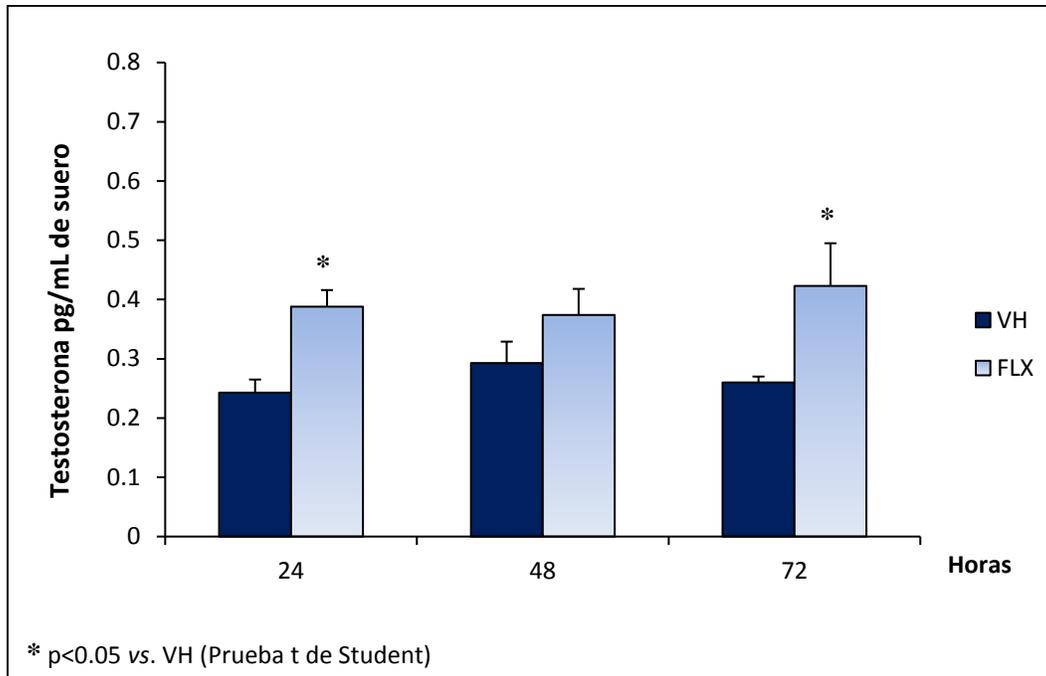
En comparación con el grupo con VH, en los animales que se les administró FLX, la concentración de FSH no se modificó (Gráfica 7). Mientras que LH se incrementó a las 48 horas pos-tratamiento (Gráfica 8) y testosterona a las 24 y 72 horas (Gráfica 9).



**Grafica 7. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de hormona estimulante del folículo (FSH) en el suero de la rata macho con inyección intratesticular de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

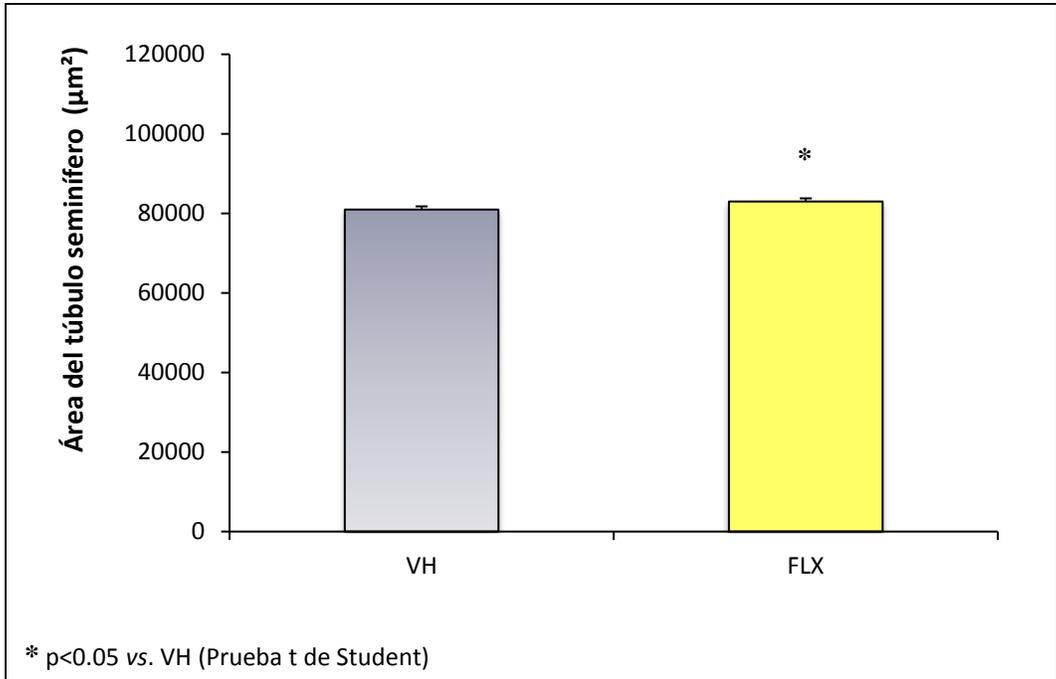


**Grafica 8. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de hormona luteinizante (LH) en el suero de la rata macho con inyección intratesticular de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

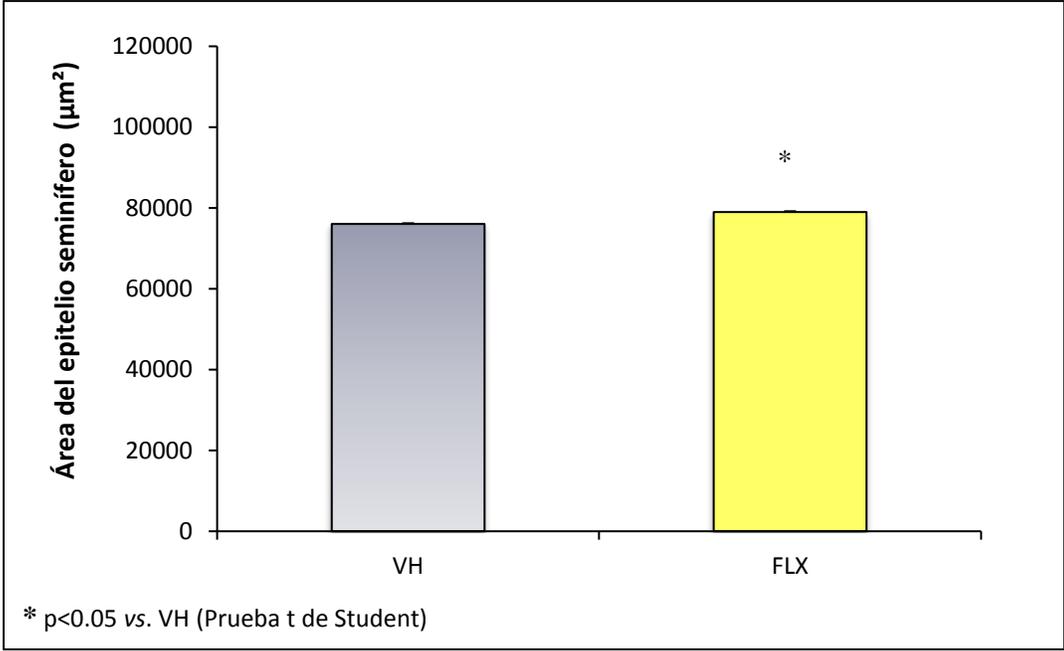


**Gráfica 9. Concentración (Media  $\pm$  e.e.m.) de testosterona en el suero de la rata macho con inyección intratesticular de solución salina (VH) o fluoxetina (FLX) en el día 30 de edad y autopsiados a las 24, 48 o 72 horas pos-tratamiento.**

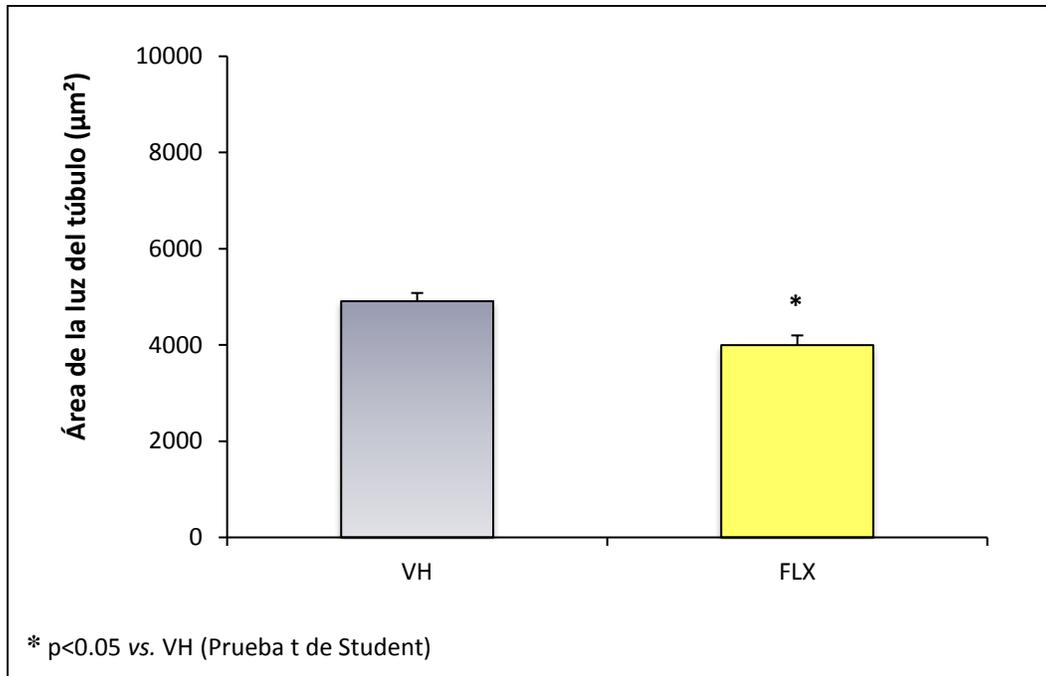
En los animales tratados con FLX se observó un incremento del área del túbulo y el epitelio seminífero (Gráficas 10 y 11), con disminución del área de la luz del túbulo (Gráfica 12) respecto a la del grupo de animales inyectados con VH.



**Gráfica 10. Área (Media ± e.e.m) del túbulo seminífero de la rata macho con inyección de solución salina (VH) intratesticular o fluoxetina (FLX) (0.005 mg/20µl) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas pos-tratamiento.**



**Gráfica 11. Área (Media ± e.e.m.) del epitelio seminífero de la rata macho con inyección de solución salina (VH) intratesticular o fluoxetina (FLX) (0.005 mg/20µl) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas pos-tratamiento.**



**Gráfica 12. Área (Media  $\pm$  e.e.m.) de la luz del túbulo de la rata macho con inyección de solución salina (VH) intratesticular o fluoxetina (FLX) (0.005 mg/20µl) en el día 30 de edad y autopsiados 72 horas pos-tratamiento.**

En los animales con inyección intratesticular de VH (Figuras 14 B, E; 15-B), la mayoría de los túbulos seminíferos presentaron una organización del epitelio seminífero similar a la observada en los animales TA y muy pocos desorganización del epitelio, la que se caracterizó por la presencia de células germinales en la luz del túbulo (Figuras 14 A, D; 15 A). Mientras que, en la mayoría de los túbulos seminíferos que se observaron en los animales con inyección intratesticular de fluoxetina presentaron invasión de la luz del túbulo por células germinales (Figura 14 C, F).

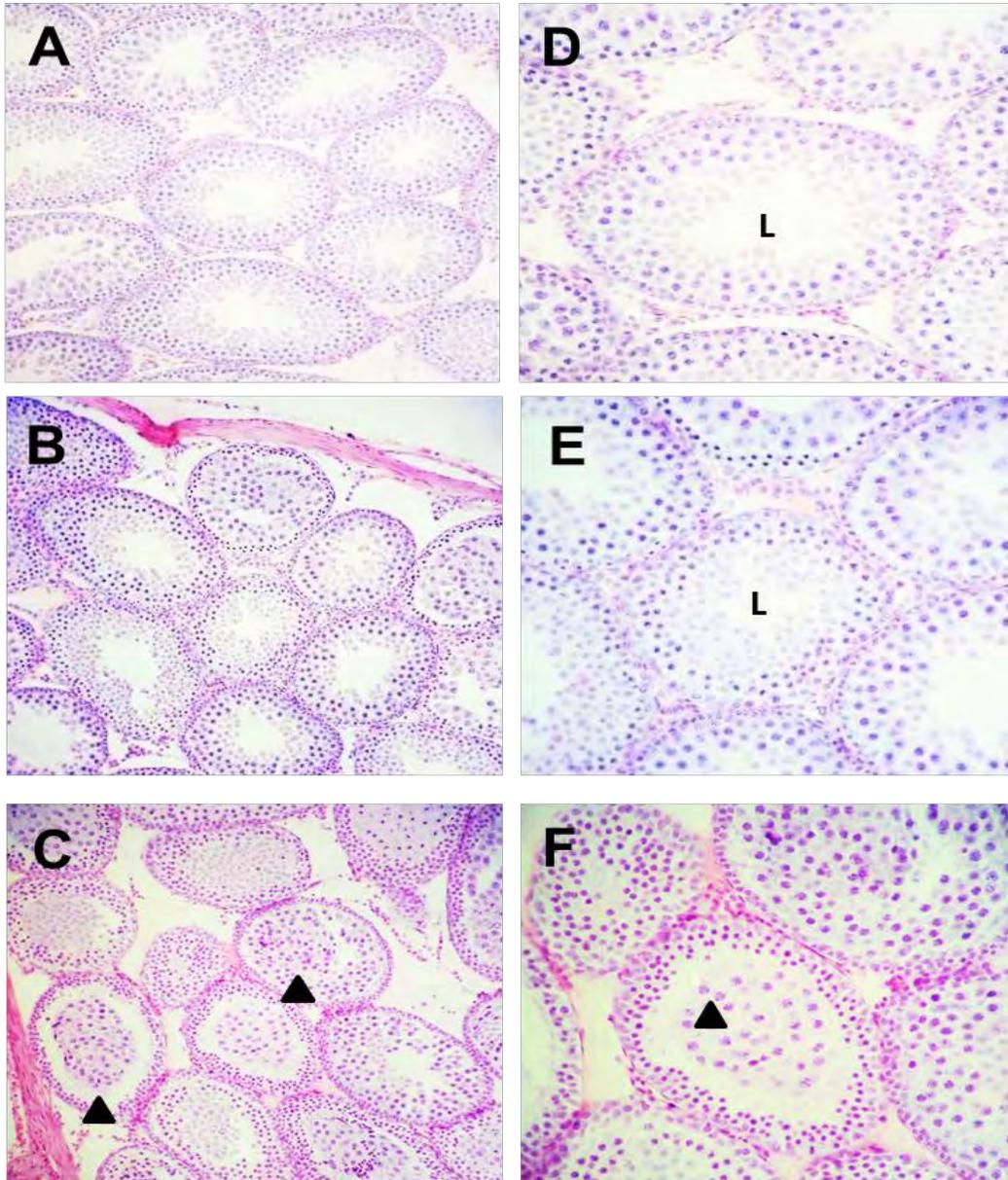
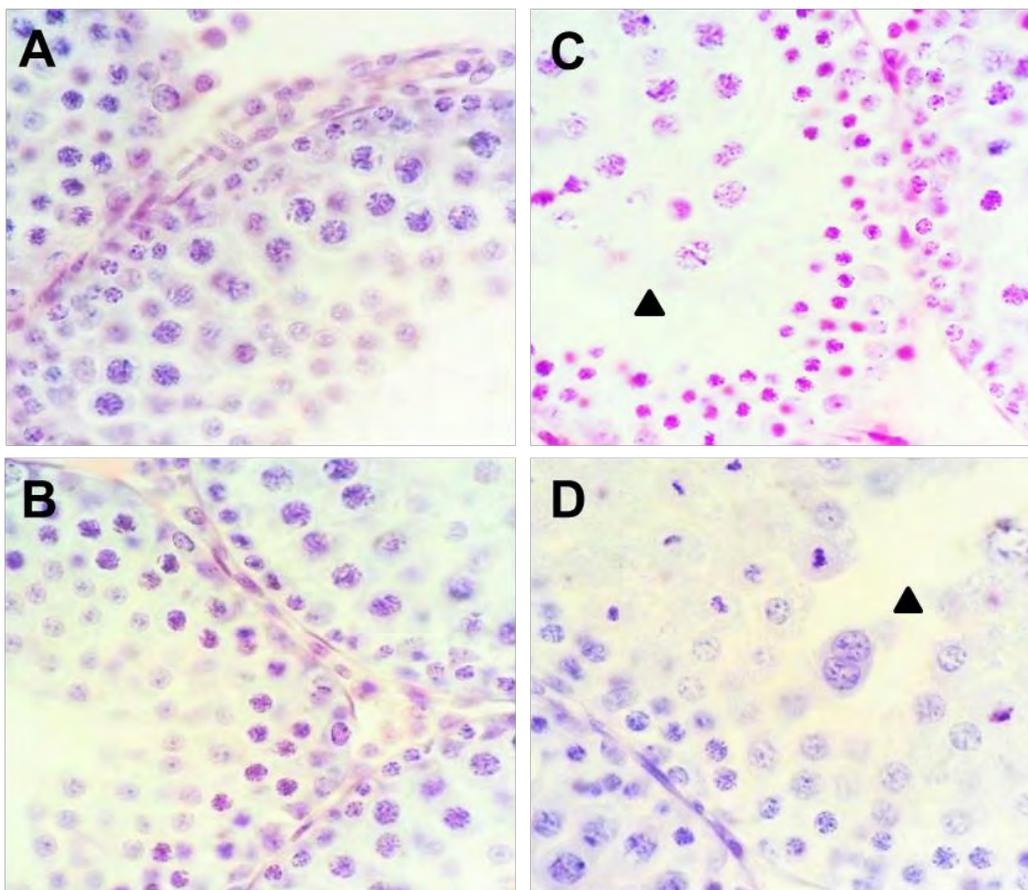


Figura 14. Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas de 30 días de edad autopsiadas a las 72 horas post-tratamiento vía intratesticular, grupo testigo (TA) (A y D) y grupo vehículo tratados con solución salina (VH) (B y E), donde se observan túbulos seminíferos normales, grupo con administración de fluoxetina (FLX) (C y F) con desarreglo del epitelio seminífero e irregularidad de la circularidad del túbulo seminífero además de células en la luz del túbulo (cabezas de flechas) en: (C); L: luz del túbulo. Aumento 200X: A, B, C; aumento 400X: D, E, F.

Los animales del grupo testigo (Figura 14 A) y del grupo vehículo (Figura 14 B) mostraron una organización normal en el epitelio seminífero donde se observó el epitelio seminífero y la luz del túbulo, en comparación con el grupo de fluoxetina (Figura 15 C, D) donde no hay organización del tejido epitelial con lo cual provoca la obstrucción de la luz del túbulo (cabeza de flecha).



**Figura 15. Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas de 30 días de edad grupo (TA) (A), grupo (VH) tratados con solución salina (B) o con fluoxetina (C) y autopsiados a las 72 horas post-tratamiento vía intratesticular, donde se muestran: túbulos seminíferos normales (A y B); así como túbulos con agrupaciones de células en la luz del túbulo (cabeza de flecha). Aumento 1000X (A, B, C y D).**

## Discusión

Los resultados del presente estudio muestran que en la rata macho prepúber la serotonina participa en la modulación del eje reproductivo hipotálamo-hipófisis-testículo. El hecho de que en los animales que se les administró fluoxetina se modificará la concentración de gonadotropinas y de testosterona, así como la estructura del túbulo seminífero, apoyan tal interpretación.

La fluoxetina cuando se administra por vía sistémica actúa en el SNC debido a que cruza la barrera hematoencefálica (Warren, 2011). Por lo que es posible que la fluoxetina estimulara a los núcleos del rafé dorsal y medial, así como a POA donde se encuentran los somas de las neuronas que producen GnRH (Azmitia y Segal, 1978; Cottrell y col., 2006) y terminales serotoninérgicas, respectivamente (Jennes y col., 1982). Se reporta que la fluoxetina inhibe a la SERT y la recaptura de serotonina por la neurona que la libera (Malagié y col., 1995), por ello, es probable que en las regiones antes mencionadas se incrementara la concentración de serotonina en la hendidura sináptica y como consecuencia la transmisión serotoninérgica. Esta idea se sustenta en las evidencias que muestran que cuando en la rata se administran 10 mg/Kg p.c. fluoxetina, la concentración de serotonina se incrementa en la corteza frontal, efecto que se mantiene hasta 21 horas posteriores (Gartaside y col., 2003).

Con base en lo antes mencionado es factible que en los animales que se les administró fluoxetina, la serotonina estimulara la producción de GnRH y en consecuencia de las gonadotropinas. La idea de que la serotonina modula la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas, se apoya en las evidencias que muestran que en el hipotálamo existe contacto entre los somas y terminales de las neuronas que secretan GnRH y serotonina, respectivamente (Jennes y col., 1982). Aunado a esto se reporta que en células hipotalámicas inmortalizadas de la línea GT1-7 expresan el receptor a serotonina, 5-HT<sub>7</sub>, y que serotonina estimula la secreción de GnRH (Héry y col., 1997; Héry y col., 1995). Esta

acción de la serotonina también es mediada por su unión a los receptores 5-HT1A y 5-HT2A (Janardhan y col., 2014).

La idea de que la fluoxetina module la síntesis de gonadotropinas se apoya en los resultados del equipo de Da Silva (2008), quienes mostraron que en la rata macho la inyección de 10 mg/kg p.c. de fluoxetina, durante el periodo pos-natal (1 a 21 días), disminuye la concentración de FSH en el suero. Sin embargo, en nuestro estudio observamos el aumento en la concentración de FSH y LH en los animales que se les administró fluoxetina por vía sistémica. La diferencia entre lo observado en nuestro estudio y el de Da Silva (2008), puede ser el resultado de que el incremento en la actividad del sistema serotoninérgico inducido por la administración de fluoxetina se realizó en diferentes edades. En relación a esto, se propone que la serotonina estimula la secreción de las gonadotropinas dependiendo de la edad del animal (Justo y col., 1989; Arias y col., 2000).

El incremento en la concentración de FSH y LH que observamos en los animales que se les administró fluoxetina, coincide con lo reportado previamente, donde se muestra que en la rata macho prepúber de 30 días de edad, la inervación serotoninérgica del hipotálamo que se origina en el núcleo dorsal del rafe estimula la producción de FSH (Ayala y col., 2015).

Otra posible explicación al aumento en la concentración de gonadotropinas que se ha observado en los animales que se les administró fluoxetina, posiblemente se relacione con la acción estimulante de esta sustancia en la hipófisis. En la glándula se han identificado los receptores 5-HT1, 5-HT2 y 5-HT3 y que se les asocia con la liberación de gonadotropinas (Pinilla y col., 1997). Además, Payette y colaboradores (1985) mediante inmunohistoquímica mostraron que en la hipófisis algunas células contienen serotonina. Aunado a esto, proponen que la serotonina endógena puede ser un constituyente normal de los gonadotropos.

El incremento en la concentración sérica de LH en los animales que se les administró fluoxetina, no se acompañó del aumento en la secreción de testosterona, debido a que la concentración de este andrógeno disminuyó. Por ello, es posible pensar que la concentración de testosterona fue menor como resultado del aumento en la liberación de serotonina en las plaquetas (Brenner y col., 2007), lo que generó vasoconstricción, modificó la microcirculación en la gónada y la disponibilidad de gonadotropinas, lo que resultó en la disminución en la producción de testosterona. En relación a esto, se sugiere que las neuronas y las plaquetas comparten características estructurales y funcionales, por lo que la acción de los ISRS en las plaquetas es similar a lo observado en las neuronas (Bianchi y col., 2002). Además, se reporta que la serotonina induce vasoconstricción (Morecroft y col., 2005; Brenner y col., 2007) y en la gónada se ha reportado que actúa como vasoconstrictor de la arteria sub-capsular testicular aumentando la presión sanguínea (Davis, 1992), disminuyendo el flujo sanguíneo y la vasomoción en el testículo (Collin y col., 1996). Además, cuando a ratas macho de 30 días de edad se les inyecta serotonina por vía sistémica, no se modifica la concentración de gonadotropinas, disminuye la de testosterona a partir de las 24 horas pos-tratamiento, efecto que se mantiene hasta por 120 horas (Pérez, 2006).

Otra posibilidad es que, como resultado de los cambios en la circulación de la gónada inducido por el aumento de 5-HT se generara inflamación del tejido intersticial del testículo y la atrofia o ambos por falta de la acción de la LH, lo que provoca la disminución de testosterona, un efecto similar se observó en el estudio de Aggarwal y colaboradores (2012), quienes al administrar fluoxetina en ratas macho adultas observaron el deterioro del tejido intersticial y del epitelio seminífero. La importancia de la LH en el mantenimiento de la estructura y función del tejido intersticial se sustenta en las evidencias de Berch (2008), quien observó en la rata macho con criptorquidia, que la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG), cuya función es similar a la LH incrementa el volumen, densidad y el área individual de las células de Leydig.

En los animales que se les administró FLX, la concentración de FSH se incrementó, sin embargo, es posible que se modificara el aporte sanguíneo a la gónada, lo que generó que la muerte de las células del epitelio. La presencia de túbulos de forma irregular con disgregación del epitelio seminífero y aumento en el área de la luz del túbulo posiblemente sean resultado del daño en integridad estructural que mantiene unidas a las células germinales y de Sertoli. Estas células, proporcionan el soporte mecánico y los nutrientes necesarios para la sobrevivencia de las células germinales, además conservan la estructura del túbulo seminífero (Abel y col., 2008). En apoyo a lo anterior, en la rata adulta o in utero, la administración de FLX induce la disminución en el número de células de Sertoli en los túbulos seminíferos (Bataineh y Daradka, 2007; Da Silva y col., 2008).

Otra posibilidad es que la disminución del área del túbulo y del epitelio seminífero, así como el incremento en el área del lumen del túbulo que se observó en los animales que se les administró FLX, es el resultado de la falta de acción de la FSH o de la testosterona en el epitelio seminífero. Ambas hormonas son esenciales en el mantenimiento de la estructura y funciones del testículo (Johnston y col., 2004).

Es posible que la disminución en la disponibilidad de la FSH a la célula de Sertoli, disminuyera el desarrollo de las células de la línea germinal y como consecuencia se dañó la estructura del túbulo. Los ratones que no expresan el receptor a FSH en el testículo, son un modelo adecuado en el que se apoya la importancia de la FSH en el mantenimiento de la estructura del órgano. Grover y colaboradores (2004) mostraron que en este modelo se daña a la célula de Sertoli, debido a que se dilata su citoplasma, disminuye el tamaño del retículo endoplásmico y del aparato de Golgi. Estos cambios se acompañan de la disminución del área del túbulo y la formación de cordones celulares en el epitelio. Además, en estos animales disminuye la producción de la SHGB, que se une a la testosterona y ayuda a su transporte hacia la célula de Sertoli. Con base en la información reportada anteriormente y lo observado en nuestro estudio, es posible pensar que los cambios en el túbulo seminífero se relacionen con la modificación de la testosterona

como resultado de la disminución en su concentración, como se observó en los animales tratados con FLX.

La célula de Sertoli tienen receptores a testosterona (Holstein y col., 2003), andrógeno esencial en el mantenimiento del número de células de Sertoli en la etapa adulta (Johnston y col. 2004). Por ello, la disminución de testosterona observada en los animales que se les administró FLX modificó el funcionamiento de las células de Sertoli y favoreció la muerte celular de las células germinales y atrofia tubular.

La disminución en la masa del epidídimo, próstata y vesícula seminal que se observó en los animales con inyección intratesticular de VH a las 48 y 72 horas, es el resultado de la disminución en la concentración de testosterona que se observó en estos animales. Este andrógeno es esencial en el mantenimiento de la estructura y funcionamiento de los órganos del aparato reproductor del macho (Trentacoste y col., 2001; Campion y col., 2012). En apoyo a esta idea, cuando a la rata macho de 28 días disminuye la concentración de testosterona disminuye la masa del epidídimo y de las glándulas accesorias del aparato reproductor (Ward, 1989).

La disminución en la concentración de testosterona que se observó en los animales con inyección intratesticular de VH, posiblemente se relacione con la modificación de la inervación de la gónada, que regula la respuesta del testículo a la acción de las gonadotropinas y como consecuencia la esteroidogénesis. Cuando se secciona el nervio espermático superior disminuye la respuesta de la célula de Leydig a la LH, lo que se refleja en la menor producción de testosterona (Campos y col., 1993).

A diferencia de lo observado en los animales que se les administró FLX por vía sistémica, en los que se inyectó el fármaco directamente en el testículo, la concentración de FSH, no se modificó, debido a que la FLX no actuó en el sistema serotoninérgico del eje hipotálamo-hipófisis, sin embargo disminuyó la concentración de LH a las 48 horas post-tratamiento. Hasta el momento no se tiene una explicación a este hecho.

Es posible que la disminución en la concentración de LH se relacione con el mecanismo de retroalimentación negativa que ejerce la testosterona en la secreción de LH, debido a que en los animales que se les inyectó FLX directamente en el testículo, se incrementó la concentración de testosterona. Este andrógeno inhibe la secreción de LH en la hipófisis mediante dos mecanismos, actuando directamente en la hipófisis o modificando la secreción de GnRH en el hipotálamo (Turner y col., 2001).

La administración de fluoxetina directamente en el testículo, posiblemente incrementó la concentración de serotonina en la gónada, ya que en este órgano la fuente de la amina son las plaquetas, mastocitos, las fibras nerviosas que transcurren por el nervio espermático y la síntesis de novo en las células de Leydig (Tinajero y col., 1993; Collin y col., 1996). En relación a las plaquetas se sugiere que la acción de los ISRS en ellas es similar a lo observado en las neuronas (Bianchi y col., 2002).

En el testículo, la serotonina participa en la modulación de la esteroidogénesis y su función depende de la edad, en el animal prepúber ejerce un efecto estimulante y en el adulto la inhibe. Por ello, el aumento en la concentración de testosterona que se observó en los animales con inyección intratesticular de fluoxetina posiblemente es el resultado del aumento en la concentración de serotonina en la gónada. En apoyo a esto, cuando en la rata macho prepúber se administra serotonina aumenta la producción de testosterona, mientras que la inyección del antagonista de los receptores a serotonina 5-HT<sub>2</sub>, ketanserina, la suprime (Csaba y col., 1998).

El aumento en la concentración de testosterona se acompañó del aumento en el área del túbulo y del epitelio seminífero y la disminución en el lumen, lo que nos indica que en los animales que se les administró fluoxetina, se estimuló la proliferación de las células del epitelio seminífero. La testosterona inhibe la apoptosis en las células germinales y es un factor de supervivencia de las células germinales (Sofikitis y col., 2008).

La disminución de la masa testicular, del epidídimo o próstata que se observó en los animales con inyección intratesticular de fluoxetina y sacrificados a las 48 horas post-tratamiento, no es el resultado de la acción del fármaco, debido a que los animales eran de menor peso en el día de la administración de fluoxetina. En apoyo a lo anterior los animales sacrificados a las 24 o 72 horas no presentaron cambios en el peso corporal, ni en la masa de los componentes del aparato reproductor.

## Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio se propone que en la rata macho prepúber:

- La inhibición de la recaptura de serotonina en el eje hipotálamo-hipófisis inducido por la administración de fluoxetina estimula la secreción de gonadotropinas
- La inhibición de la recaptura de serotonina en el testículo inducido por la administración de fluoxetina estimula la secreción de testosterona
- La inhibición de la recaptura de serotonina en el testículo altera la estructura del epitelio seminífero

## Referencias

Abel M.H., Baker P.J., Charlton H.M., Monteiro A., Verhoeven G., De Gendt K., Guillou F., O'Shaughnessy P.J. (2008). Spermatogenesis and sertoli cell activity in mice lacking sertoli cell receptors for follicle-stimulating hormone and androgen. *Endocrinology*, 7; 3279–3285.

Aggarwal A., Jethani S.L., Rohatgi R.K., Juhi K. (2012). Effects of fluoxetine on testis of albino rats - a histological assessment. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 3; 1-7.

Aragón M.A., Ayala M.E., Marín M., Avilés A., Damián-Matsumura P., Domínguez R. (2005). Serotonergic system blockage in the prepubertal rat inhibits spermatogenesis development. *Reproduction*, 129; 717–727.

Arellano M.J., Sarasquete C. (2005). Atlas histológico del lenguado Senegalés: Aparato reproductor. Consejo Superior de Investigaciones Científicas; Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía Unidad Asociada de Calidad Ambiental y Patología. Madrid. Páginas. 32-35.

Arias F., Padín J.J., Rivas M.T., Sánchez A. (2000). Sexual dysfunctions induced by serotonin reuptake inhibitors. *Atención Primaria*, 6; 389-394.

Ayala M.E., Velázquez D.E., Mendoza J.L., Monroy J., Domínguez R., Cárdenas M., Aragón A. (2015). Dorsal and medial raphe nuclei participate differentially in reproductive functions of the male rat. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13; 132.

Azmitia E.C. (2001). Modern views on an ancient chemical: serotonin effects on cell proliferation, maturation, and apoptosis. *Brain Research Bulletin*, 56; 413-424.

Azmitia E.C., Segal M. (1978). An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 179; 641-668.

Bataineh H., Daradka T. (2007). Effects of Long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. *Neuro Endocrinology Letters*, 28; 321-325.

Berger M., Roth B. (2012). Capítulo 14: Pharmacology of Serotonergic and Central Adrenergic Neurotransmission en Golan ED., Tashjian H., Armen Jr., Armstrong JE., Armstrong WA. *Principles of Pharmacology. The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. 3ª edición Editorial Wolters Kluwer/ Lippincott Williams & Wilkins. Páginas. 213-216.

Berch A. (2008). Treatment with hCG increases the size of Leydig cells and testicular macrophages in unilaterally cryptorchid rats. *International Journal of Andrology*, 10; 765-772.

Bergh A., Collin O., Lissbrant E. (2001). Effects of acute graded reductions in testicular blood flow on testicular morphology in the adult rat. *Biology of Reproduction*, 64; 13–20.

Berndt T.J., Liang M., Tyce G.M., Knox F.G. (2001). Intrarenal serotonin, dopamine, and phosphate handling in remnant kidneys. *Kidney International*, 59; 625–630.

Bianchi M., Moser C., Lazzarini C., Vacchiato E., Crespi F. (2002). Forced swimming test and floxetine treatment: in vivo evidence that peripheral 5-HT in rat platelet-rich plasma mirrors cerebral extracellular 5-HT levels, whilst 5-HT in isolated platelet mirrors neuronal 5-HT changes. *Experimental Brain Research*, 143; 191-197.

Bohlen O., Dermetzel H.R. (2006). *Neurotransmitters and neuromodulators*. 2ª edición Wiley-VCH Gmbbh & Co. Weinheim Germany. Páginas. 132-139.

Brenner B., Harney J.T., Ahmed B.A., Jeffus B.C., Unal R., Mehta J.L., Kilic F. (2007). Plasma serotonin levels and the platelet serotonin transporter. *Journal Neurochemistry*, 102; 206-215.

Buddhala C., Loftin S.K., Kuley B.M., Cairns N.J., Campbell M.C., Perlmutter J.S., Kotzbauer P.T. (2015). Dopaminergic, serotonergic, and noradrenergic deficits in Parkinson disease. *Annals of Clinical Translational Neurology*, 10; 949-59.

Caccia S., Cappi M., Fracasso C., Garattini S. (1990). Influence of dose and route of administration on the kinetics of fluoxetine and its metabolite norfluoxetine in the rat. *Psychopharmacology*, 100; 509-14.

Campion S., Catlin N., Heger N., McDonnell E.V., Pacheco S.E., Saffarini C., Sandrof M.A., Boekelheide K. (2012). Male reprotoxicity and endocrine disruption. En Luch A. *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. Volume 3: Environmental Toxicology*, 101; 315-360.

Campos M.B., Vitale M.L., Calandra R.S., Chiocchio S.R. (1990). Serotonergic innervation of the rat testis. *Journal Reproduction Fertility*, 88; 475-479.

Campos M., Chiocchio S., Calandra R., Rita M. (1993). Effect of bilateral denervation of the immature rat testis on testicular gonadotropin receptors and in vitro androgen production. *Neuroendocrinology*, 57; 189-194.

Canan G.N., Luc M. (2001). A Novel Role for Serotonin in Heart. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 11; 329–335.

Caravaca R.F., Castel G.J., Guzmán G.J., Delgado P.M., Mena G.Y., Alcalde A.M., González R.P. (2005). Bases de la producción animal. Ed. Universidad de Huelva. Sevilla, España. Páginas 69-74.

Cardinali D.P. (2007) *Neurociencia aplicada: sus fundamentos*. Ed. Médica Panamericana Buenos Aires. Página 312-313.

Casabiell X. (2006). Capítulo 11: Eje Hipotálamo-Hipófiso-Testicular En Arce VM., Catalina PF., Mallo F. *Endocrinología*. Universidad Santiago de Compostela Ed. Universidad de Vigo Páginas. 89-94.

Chang G.E., Fernando L., Federico M.M. (2012). Vías de señalización asociadas a la esteroidogénesis. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15; 24-36.

Chang J.C., Tomlinson I.D., Warnement M.R., Ustione A., Carneiro A.M., Piston D.W., Blakely R.D., Rosenthal S.J. (2012). Single molecule analysis of serotonin transporter regulation using antagonist-conjugated quantum dots reveals restricted, p38 MAPK-dependent mobilization underlying uptake activation. *Journal of Neuroscience*, 26; 8919-8929.

Coccaro E.F., Lee R., Kavoussi R.J. (2010). Aggression, suicidality, and intermittent explosive disorder: serotonergic correlates in personality disorder and healthy control subjects. *Neuropsychopharmacology*, 35; 435-444.

Cohen Z., Bonventot G., Lacombe P., Hamel E. (1996). Serotonin in the regulation of brain microcirculation. *Progress in Neurobiology*, 50; 335-362.

Collin O., Damber J.E., Bergh A. (1996). 5-hydroxytryptamine a local regulator of testicular blood flow and vasomotion in rats. *Journal of Reproduction of Fertility*, 106; 17-22.

Cottrell E.C., Campbell R.E., Han S.K., Herbison A.E. (2006). Postnatal remodeling of dendritic structure and spine density in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*, 8; 3652-3661.

Crowley M.D., Leonard V. (2014). Una introducción a la enfermedad humana: correlaciones en patología y fisiopatología. 9ª edición México Ed. McGraw-Hill. Páginas. 462-475.

Csaba Z., Cernus V., Gerandai I. (1998). Intratesticular serotonin affects steroidogenesis in the rat testis. *Journal of Neuroendocrinology*, 10; 371-376.

Da Silva C.M., Alves L.C., De Castro R.M., Nogueira M.I. (2010). Postnatal fluoxetine treatment affects the development of serotonergic neurons rats. *Neuroscience Letters*, 483; 179-183.

Dahlström A., Fuxe K. (1964). Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. *Acta Physiologica Scandinavica*, 62; 1-55.

Dale G.L., Friese P., Batar P., Hamilton S.F., Reed G.L., Jackson K.W., Clemetson K.J., Alberio L. (2002). Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface. *Nature*, 10; 175-179.

Danese E., Montagnana M., Lippi G. (2014). Platelets and migraine. *Thrombosis Research*, 134, 17–22.

Darna M., Chowb J.J., Yates J.R., Charnigoc R.J., Beckmann J.S., Bardob M.T., Dwoskina L.P. (2015). Role of serotonin transporter function in rat orbitofrontal cortex in impulsive choice. *Behavioural Brain Research*, 293; 134–142.

Davis J.R. (1992). Comparison of norepinephrine and serotonin vasoconstriction of the rat isolated subcapsular artery at physiological and elevated transmural pressures. *Biology of Reproduction*, 47; 692–697.

Dufau M.L., Tinajero J.C., Fabbri A. (1993). Corticotropin-releasing factor: an antireproductive hormone of the testis. *The FASEB Journal*, 7; 299–307.

El-Merahbi R., Löffler M., Mayer A., Sumara G. (2015). The roles of peripheral serotonin in metabolic homeostasis. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 15; 1728-1734.

Erdemir F., Atilgan D., Firat F., Markoc F., Parlaktas B.S., Sogut E. (2014). The effect of sertraline, paroxetine, fluoxetine and escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. *The Journal of Brazilian Society of Urology*, 40; 100-108.

Esteve J.M., Launay J.M., Kellermann O., Maroteaux L. (2007). Functions of serotonin in hypoxic pulmonary vascular remodeling. *Cell Biochemical and Biophysical Research communications. Review*, 47; 33-44..

Frazer A., Hensler J.G. (1999). Capítulo 13: Serotonin Involvement in Physiological Function and Behavior en Siegel G.J., Agranoff B.W., Albers R.W., Fisher S.K., Uhler M.D. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6ª edición. Philadelphia: Lippincott-Raven.

Frungieri MB, Zitta K, Pignataro OP, Gonzalez-Calvar SI, Calandra RS. (2002). Interactions between testicular serotonergic, catecholaminergic, and corticotropin-releasing hormone systems modulating cAMP and testosterone production in the golden hamster. *Neuroendocrinology*, 76; 35-46.

Gal I.B., López G.M., Martín V.A.I., Prieto M.J. (2007). *Bases de la Fisiología*. 2ª edición. Editorial Tébar. Páginas. 468-483.

Gamoh S., Hisa H., Yamamoto R. (2013). 5-hydroxytryptamine receptors as targets for drug therapies of vascular-related diseases. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 9; 1410–1415.

Ganong W.F., Barret K.E., Barman S.M., Boitano S., Brooks H.L. (2012). "Fisiología Médica". 24ª edición Ed. Mc Graw-Hill, México D.F. Páginas 148-150.

Gartside S.E., Leitch M.M., Young A.H. (2003). Altered glucocorticoid rhythm attenuates the ability of a chronic ssri to elevate forebrain 5-HT: Implications for the treatment of depression. *Neuropsychopharmacology*, 28; 1572–1578.

Geneser F., Schacht H.M. (2000). *Histología sobre bases biomoleculares*. 3º edición. Ed. Médica Panamericana. Páginas 638-658.

Glennon R.A., Dukat M. 2012. Chapter 11: Serotonergic receptors and drugs affecting serotonergic neurotransmission en Lemke T. L., Williams D. A. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia. Páginas 365-396.

Grover A., Sairam M.R., Smith C.E., Hermo L. (2004). Structural and functional modifications of Sertoli cells in the testis of adult follicle-stimulating hormone receptor knockout mice. *Biology of Reproduction*, 71; 117-129.

Héry M., Becquet D., François-Bellan A.M., Deprez P., Fache M.P., Héry F. (1995). Stimulatory effects of 5HT1A receptor agonists on luteinizing hormone-releasing hormone release from cultured fetal rat hypothalamic cells: interactions with progesterone. *Neuroendocrinology*, 61; 11-18.

Héry M., François-Bellan A.M., Héry F., Deprez P., Becquet D. (1997). Serotonin directly stimulates luteinizing hormone-releasing hormone release from GT1 cells via 5-HT7 receptors. *Endocrine*, 2; 261-265.

Hedger M.P., Khatab S., Gonzales G., De Kretser D.M. (1995). Acute and short-term actions of serotonin administration on the pituitary-testicular axis in the adult rat. *Reproduction, Fertility and Development*, 7; 101-109.

Holstein A.F., Schulze W., Davidoff M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14; 107.

Hoyer D. & Martin G.R. (1997). 5-HT receptor classification and nomenclature: towards a harmonization with the human genome. *Neuropharmacology*, 36; 419-428.

Iceta-Echave R. (2008). Caracterización del transportador de serotonina humano en células CACO-2: Estudio de los mecanismos de regulación fisiológica. Tesis de Doctorado, Universidad de Zaragoza, España.

Ipser J.C., Stein D.J., Hawkrigde S., Hoppe L. (2009). Pharmacotherapy for anxiety disorders in children and adolescents. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 3; CD005170.

Javorsky B.R., Aron D.C., Findling J.W., Blake T.J. (2012). Hipotálamo y glándula hipófisis en Gardner D.G., Shoback D.G. *Endocrinología básica y clínica*. 9ª edición, editorial McGraw-Hill México. Páginas. 83-86.

Janardhan P.B., Roa J., Herbison A.E., Han S.K. (2014). Serotonin acts through 5-HT1 and 5-HT2 receptors to exert biphasic actions on GnRH neuron excitability in the mouse. *Endocrinology*, 155; 513–524.

Jennes L., Beckman W.C., Stumpf W.E., Grzanna R. (1982). Anatomical relationships of serotonergic and noradrenalinergic projections with the GnRH system in septum and hypothalamus. *Experimental Brain Research*, 46; 331-338.

Johnston H., Baker P.J., Abel M., Charlton H.M., Jackson G., Fleming L., Kumar T.R., O’shaughnessy A.J. (2004). Regulation of sertoli cell number and activity by follicle-stimulating hormone and androgen during postnatal development in the mouse. *Endocrinology*, 145; 318–329.

Justo S., Rossano G., Szwarcfarb B., Rubio M., Moguilevsky J. (1989). Effect of serotonergic system on FSH secretion in male and female rats: evidence for stimulatory and inhibitory actions. *Neuroendocrinology*, 50; 382-386.

Jørgensen Henrik Stig (2007). Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan Med Bull*, 54; 266-288.

Kato S. (2013). Role of Serotonin 5-HT3 Receptors in Intestinal Inflammation. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36; 1406–1409.

Kim H.S., Yumkham S., Choi J.H., Son G.H., Kim K., Ryu S.H., Suh P.G. (2006). Serotonin stimulates GnRH secretion through the c-Src-PLC gamma 1 pathway in GT1-7 hypothalamic cells. *Journal of Endocrinology*, 190; 581-591.

Kiss J., Halász B. (1985). Demonstration of Serotonergic Axons Terminating on Luteinizing Hormone Releasing Hormone Neurons in the Preoptic Area of the Rat Using a Combination of Immunocytochemistry and High Resolution Autoradiography. *Neuroscience*, 14; 69-78.

Kodish I, Rockhill C, Varley C. (2011). Pharmacotherapy for anxiety disorders in children and adolescents. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 13; 4.

Koepfen B.M., Stanton B.A. (2008). *Bernard and Levy Physiology*. Mosby/Elsevier. 6ª edición. USA.

König H.E., Liebich H.G., Bragulla H., Cervený C., Reese S. (2008). *Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color*. 2ª edición. Madrid, España. Editorial Médica Panamericana Tomo 2. Páginas 119-126.

Krsmanovic L.Z., Hu L., Leung P.H., Feng H., Catt K.J. (2010). Pulsatile GnRH secretion: Roles of G protein-coupled receptors, second messengers and ion channels. *Molecular Cellular Endocrinology*, 314; 158-169.

Kulkarni V.N. (2012). *Clinical Anatomy (a problem solving approach)*. 2ª edición Editorial Jaypee Brothers Medical Publishers. Páginas 754-766.

Le Fever K.J., Hayes E.R., McCuiston L.E. (2014). *Pharmacology: A patient-centered nursing process approach*. 8ª edición. Canada/Elsevier. Páginas 386-388.

Lerchl A., Schalatt S. (1992). Serotonin content and melatonin production in the pineal gland of the male Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*). *Journal Pinal Research*, 12; 128-134.

Le Vay D. (2004). Anatomía y Fisiología Humana. 2ª edición. Barcelona, España. Editorial Paidotribo. Páginas 331-337.

Linder E.A., Ni W., Diaz J.L., Szasz T., Burnett R., Watts W.S. (2007). Serotonin (5-HT) in veins: not all in vain. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 323; 2.

Maciag D., Simpson K.L., Coppinger D., Lu Y., Wang Y., Lin RCS., Paul I.A. (2006). Neonatal antidepressant exposure has lasting effects on behavior and serotonin circuitry. *Neuropsychopharmacology*, 31; 47-57.

Macarulla J.M., Goñi F.M. (1994). Bioquímica humana: curso básico. 2ª edición. Barcelona, España. Editorial Reverté. Páginas 444-447.

Malagie I., Trillat A.C., Jacquot C., Gardier A.M. (1995). Effects of acute fluoxetine on extracellular serotonin levels in the raphe" an in vivo microdialysis study. *European Journal of Pharmacology*, 286; 213-217.

Malgor L.A., Valsecia M. (2000). Farmacología Médica. 2ª edición. 5 volúmenes. Soporte electrónico disponible en: <http://med.unne.edu.ar/farmaco.html>.

McLachlan R., Wereford N.G., Kretser D.M., Robertson DM. (1994). Testosterone effects on spermatogenesis in the gonadotropin-releasing hormone-immunized rat. *Biology of Reproduction*, 50; 271-280.

Mendoza P. Nicandro (2008). Farmacología Médica. UNAM. Editorial Médica Panamericana. México D.F. Páginas 269-270.

Micek J.M., Harvey A.R., Champe C.P. (2004). Farmacología. 2ª edición Editorial Mc Graw Hill. México. Páginas 141-148.

Mizukami K., Ishikawa M., Akatsu H., Abrahamson E.E., Ikonovic M.D., Asada T. (2011). An immunohistochemical study of the serotonin 1A receptor in the hippocampus of subjects with Alzheimer's disease. *Neuropathology*, 31; 503-509.

Moore Keith L., Dalley Arthur F. (2007). Anatomía con orientación clínica. 5ª edición Editorial Médica Panamericana. México. Páginas 228-231.

Monteiro Filho W.O., De Torres S.M., Amorim M.J., Andrade A.J., De Moraes R.N., Tenorio B.M., Da Silva Junior V.A. (2014). Fluoxetine induces changes in the testicle and testosterone in adult male rats exposed via placenta and lactation. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60; 274-281.

Moran M.J., Ayala M.E., Gallegos E., Romero J., Chavira R., Damián-Matsumura P., Domínguez R. (2013). Effects of systemic administration or intrabursal injection of serotonin on puberty, first ovulation and follicular development in rats. *Reproduction Fertility and Development*, 25; 1105-1114.

Morecroft I., Loughlin L., Nilsen M., Colston J., Dempsie Y., Sheward J., Harmar A., MacLean MR. (2005). Functional Interactions between 5-hydroxytryptamine receptors and the serotonin transporter in pulmonary arteries. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313; 539-548.

Murphy D.L., Fox M.A., Timpano K.R., Moya P.R., Ren-Patterson R., Andrews A.M., Holmes A., Lesch K.P., Wendland J.R. (2008). How the serotonin story is being rewritten by new gene-based discoveries principally related to SLC6A4, the serotonin transporter gene, which functions to influence all cellular serotonin systems. *Neuropharmacology*, 55; 932-960.

O'Shaughnessy P.J., Verhoeven G., De Gendt K., Monteiro A., Abel M.H. (2010). Direct action through the sertoli cells is essential for androgen stimulation of spermatogenesis. *Endocrinology*, 151; 2343–2348.

Page I.H. (1954). Serotonin (5-hidroxytryptamine). *Physiological Reviews*, 34; 563-588.

Papageorgiou A., Deneff C. (2007). Estradiol induces expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT) 4, 5-HT5, and 5-HT6 receptor messenger ribonucleic acid in rat anterior pituitary cell

aggregates and allows prolactin release via the 5-HT<sub>4</sub> receptor. *Endocrinology*, 148; 1384-1395.

Paulmann N., Grohmann M., Voigt J.P., Bert B., Vowinckel J., Bader M., Skelin M., Jevsek M., Fink H., Rupnik M., Walther D.J. (2009). Intracellular serotonin modulates insulin secretion from pancreatic b-cells by protein serotonylation. *PLOS Biology*, 7; 10.

Payette R.F., Gershon M.D., Nunez E.A. (1985). Serotonergic elements of the mammalian pituitary. *Endocrinology*, 116; 1933-1942.

Payette R.F., Gershon M.D., Nunez E.A. (1986). Colocalization of luteinizing hormone and serotonin in secretory granules of mammalian gonadotrophs. *The Anatomical Record*, 215; 51–58.

Payette R.F., Gershon M.D., Nunez E.A. (1987). Two types of secretory granules in gonadotrophs: discrimination by the simultaneous EM immunocytochemical localization of serotonin and beta-follicle stimulating hormone. *The Anatomical Records*, 219; 394-401.

Pérez C.J. (2006). Efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico en la modulación de las funciones del testículo de la rata macho prepúber. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Peroutka S.J., Howell T.A. (1994). The molecular evolution of G protein-coupled receptors: focus on 5-hydroxytryptamine receptors. *Neuropharmacology*, 33; 319-324.

Pinilla L., Tena S.M., Aguilar E. (1997). Role of serotonergic receptors in gonadotropin secretion in male rats. *Journal of Endocrinological Investigation*, 20; 410-416.

Prado-Alcala R.A., Solana F.R., Galindo L.E., Medina A.C., Quirarte G.L. (2003) ¿Participa la serotonina cerebral en la memoria del aprendizaje incrementado? Instituto de Neurobiología, UNAM. *Mexican Journal of Behavior Analysis*, 29; 107-117.

Prasad P., Ogawa S., Parhar I.S. (2015). Serotonin reuptake inhibitor citalopram inhibits gnrh synthesis and spermatogenesis in the male zebrafish. *Biology of Reproduction*, 93; 102.

Raven P.H., Johnson G.B., Losos J., Singer S. (2005). *Biology*. McGraw Hill. 7ª edición. USA.

Remington A.G. (2003). *Farmacología*. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana, Argentina. Páginas 1712-1714.

Renshaw P.F., Parsegian A., Yang C.K., Novero A., Yoon S.J., Lyoo I.K., Cohen B.M., Carlezon W.A. Jr. (2009). Lovastatin potentiates the antidepressant efficacy of fluoxetine in rats. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 92; 88-92.

Rojas F.D., Manzo J.D., Soto-Cid A.H., Aranda-Abreu G.E., Juárez E.A., Coria-Ávila G.A., Toledo R.C., Locia J.E., Hernández M.E.A. (2011). El receptor de andrógenos en la fisiopatología prostática. *Revista E-neurobiología*, 2; 230511.

Ross Michael H. (2005). *Histología. Texto y atlas a color celular y molecular*. 4ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Páginas 688-709.

Ross G., Pawlina W. (2008). *Histología. Texto y atlas a color celular y molecular*. 5ª edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Páginas 782-808.

Ruiz LA., Latarjet M. (2008). *Anatomía Humana*. 4ª edición, editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Tomo 2. Páginas 1568-1598.

Russell L.D., Kershaw M., Borg K.E., Shennawy A.E., Rulli S.S., Gates R.S., Calandrat R.S. (1998). Hormonal regulation of spermatogenesis in the hypophysectomized rat: fsh maintenance of cellular viability during pubertal spermatogenesis. *Journal of Andrology*, 19; 308-319.

Sanders-Bush, Hazelwood L. (2012). Capítulo 13: 5-hidroxitriptamina (serotonina) y dopamina en Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica 12ª edición. Editorial Mc Graw-Hill. México.

Sepúlveda S.J., Soto D.A., Vargas Z.R. (2012) Texto Atlas de Histología: Biología Celular y Tisular. Editorial McGraw-Hill. México. Páginas 286-290.

Sobotta J., Welsch U. (2008). Histología. 2ª edición. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. Páginas 476-491.

Sofikitis N., Giotitsas N., Tsounapi P., Baltogiannis D., Giannakis D., Pardalidis N. (2008). Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 109; 323–330.

Steiner JA., Carneiro AMD., Blakely R. (2008). Going with the Flow: trafficking-dependent and independent regulation of serotonin transport. *NIH Public Access Traffic*, 9; 1393–1402.

Steinbusch HW. (1981). Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 6; 557-618.

Stocco DM., McPhaul MJ. (2006). Chapter 20: Physiology of Testicular Steroidogenesis en Knobil E. *Physiology of Reproduction*. 3ª edición. Elsevier. Páginas 1019-1029.

Timothy C., Birdsall N.D. (1998). 5-Hydroxytryptophan: A clinically-effective serotonin precursor. *Alternative Medicine. Review*, 3; 271-280.

Tinajero JC., Fabbri A., Dufau ML. (1993). Serotonergic inhibition of rat Leydig cell function by propranolol. *Endocrinology*, 133; 257-264.

Trentacoste S.V., Friedmann A.S., Youker R.T., Breckenridge C.B., Zirkin B.R. (2001). Atrazine effects on testosterone levels and androgen-dependent reproductive organs in peripubertal male rats. *Journal of Andrology*, 22; 142-148.

Tresguerres J.A.F. (2003). Capítulo 80: Fisiología del testículo en Fisiología Humana. 3ª edición. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. México D.F. páginas 1033-1047.

Törk Istvan (1990). The neuropharmacology of serotonin: anatomy of the serotonergic system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 600; 9–34.

Turner A.I., Tilbrook A.J., Clarke I.J., Scott C.J. (2001). Progesterone and testosterone in combination act in the hypothalamus of castrated rams to regulate the secretion of LH. *Journal of Endocrinology*, 169; 291–298.

Upadhyay S.N. (2003). Serotonin receptors, agonists and antagonists. *Indian Journal of Nuclear Medicine*, 18; 1-2.

Varón C.D. (2008) Capítulo 3: Lóbulos frontales, neuroanatomía, conexiones y correlaciones neuropsiquiátricas en Gómez R., Hernandez B., Rokas U., Santacruz O., Uribe R. *Psiquiatría clínica. Diagnóstico y tratamiento en niños adolescentes y adultos*. 3ª edición. Editorial Medica Panamericana. Bogota, Colombia. Páginas 16-17.

Vieira M.L., Hamada R.Y., Gonzaga N.I., Bacchi A.D., Barbieri M., Moreira E.G., Mesquita S.F., Gerardin D.C. (2013). Could maternal exposure to the antidepressants fluoxetine and St. John's Wort induce long-term reproductive effects on male rats? *Reproduction Toxicology*, 35; 102-107.

Vitale M.L., Parisi M.N., Chiocchio S.R., Tramezzani J.H. (1986). Serotonin induces gonadotrophin release through stimulation of LH-releasing hormone release from the median eminence. *Journal Endocrinology*, 111; 309-315.

Wada K., Hu L., Mores N., Navarro C.E., Hirotohi F., Krsmanovic L.Z., Catt K.J. (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.

Walther D.J., Bader M. (2003). A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochemical Pharmacology*, 66; 1673-1680.

Ward J. A., Furr B. J. A., Valcaccia B., Curry B., Bardin W., Gunsalus G. L., Morris I.D. (1989). Prolonged suppression of rat testis function by a depot formulation of Zoladex, a GnRH agonist. *Journal of Andrology*, 10 (6); 478-486.

Warren John B. (2011). Antidepressants and the developing nervous system. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 73(1); 1-3.

Weissman A.M., Levy B.T., Hartz A.J., Bentler S., Danohoue M., Ellingrod V.L., Wisner K.L., (2004). Pooled analysis of antidepressant levels in lactating mothers, breast milk, and nursing infants. *American Journal of Psychiatry*, 161; 1066–1078.

Whitaker-Azmitia P.M. (1999). The discovery of serotonin and its role in neuroscience. *Neuropsychopharmacology*, 21; 2–8.

Wong D.T., Perry K.W., Bymaster F.P. (2005). The discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nature Reviews Drug Discovery*, 4; 764-774.

Yakovlev D.S., Spasov A.A., Maltsev D.V., Anisimova D.A. (2014). Effect of 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonists on blood flow in the carotid vessels upon elevation of serotonin level. *Pharmacology and Toxicology*, 157; 350-352.

Figura 6 en [http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/mrs\\_15\\_E.html](http://audilab.bmed.mcgill.ca/HA/html/mrs_15_E.html)