

51261
1
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"ZARAGOZA"

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS DE
REGULACION DE LA PUBERTAD.
PARTICIPACION DEL SISTEMA
SEROTONINERGICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN INVESTIGACION EN
BIOLOGIA DE LOS SISTEMAS HUMANOS

P R E S E N T A :

MARIA ELENA AYALA ESCOBAR

Director de Tesis: Dra. Patricia Rosas Saucedo

MEXICO, D. F.

1992



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	3
Mecanismos que regulan la pubertad	4
Estructuras extrahipotalámicas y que intervienen la regulación de la pubertad	14
La participación del sistema indolaminérgico y la regulación de la pubertad	14
El origen y distribución de las fibras serotoninérgicas	15
La regulación neuroendócrina del eje hipotálamo-hipófisis-gónada	19
El sistema serotoninérgico y la regulación de la secreción de las gonadotropinas	20
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
HIPOTESIS	26
OBJETIVO	26
METAS	27
MATERIALES Y METODOS	28
RESULTADOS	30
Desnervación serotoninérgica y pubertad espontánea	31
Desnervación serotoninérgica y pubertad inducida	39
Desnervación serotoninérgica central y pubertad espontánea	52
Desnervación serotoninérgica central y pubertad inducida	67
DISCUSION	70
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFIA	81
PUBLICACIONES	90

RESUMEN

La participación del sistema serotoninérgico sobre los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las gonadotropinas y el proceso de la ovulación es controversial. Por lo que en este proyecto se analizan los efectos de la desnervación serotoninérgica producida por la administración de la p-cloroanfetamina (pCA) a diferentes edades del desarrollo postnatal de la rata hembra. Así también, se decidió evaluar si la inervación serotoninérgica del hipotálamo que se origina en el núcleo dorsal del rafe modula la secreción de las gonadotropinas y la ovulación.

La administración de la pCA desde el nacimiento, retrasó la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal (42.7 ± 1.0 vs 39.1 ± 0.2 ; 44.0 ± 0.9 vs 40.4 ± 0.3 , $P < 0.05$), en cambio, cuando se inició la desnervación desde los 15 y 30 días se adelantaron las edades de la apertura vaginal y del primer estro respecto al grupo testigo (32.3 ± 0.2 , 37.2 ± 0.6 vs 39.1 ± 0.2 , $P < 0.05$; 33.4 ± 0.8 , 37.2 ± 0.6 vs 40.4 ± 0.3 , $P < 0.05$, respectivamente) desnervación serotoninérgica no modificó la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementó cuando el fármaco se administró desde el nacimiento, 10, 24 y 30 días de edad (9.0 ± 0.7 , 9.0 ± 1.1 , 8.8 ± 0.7 , 7.9 ± 0.3 vs 6.9 ± 0.3 , $P < 0.05$).

La administración de gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG) (siglas del Inglés) (8 u.i. por s.c.) a animales de 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad, indujo la ovulación en todos los grupos, excepto en el de 18 días. La respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y el número e ovocitos liberados por animal ovulante) se incrementó conforme avanzó la edad del animal. La desnervación serotoninérgica previa a la administración de la PMSG disminuyó la proporción de animales que ovularon al estro vaginal en los grupos de 21, 24 y 30 días (0/10 vs 4/9, 2/10 vs 7/8, 7/12 vs 10/10) y el número de ovocitos liberados por animal ovulante en todos los grupos en relación a los que únicamente fueron tratados con la hormona (0.0 vs 6.5 ± 1.0 ; 27.8 vs 24.3 ± 0.8 ; 19.5 ± 3.9 vs 25.9 ± 1.3 ; 16.4 ± 2.4 vs 28.3 ± 2.4).

El reemplazo hormonal con gonadotropina coriónica humana hCG (siglas del Inglés) (10 u.i. por s.c.) 56 h después de la PMSG restauró la respuesta ovulatoria en los animales de 21, 24, 27 y 30 días de edad con desnervación serotoninérgica previa en relación a los que únicamente fueron sometidos al estímulo con las gonadotropinas (tasa de animales ovulantes: 9/9 vs 0/10, 10/11 vs 2/10, 10/10 vs 4/7, 11/11 vs 7/12, $P < 0.05$; número de ovocitos liberados: 35.2 ± 3.7 vs 0.0, 39.8 ± 2.5 vs 27.8, 29.5 ± 3.1 vs 19.5 ± 3.9 , 26 ± 2.0 vs 16.4 ± 2.4).

La lesión electrolítica completa del núcleo dorsal del rafe en el animal de 30 días de edad no modificó la edad de la apertura vaginal ni la edad del primer estro respecto al grupo con operación simulada (41.6 ± 0.9 vs 42.1 ± 0.4 ; 42.6 ± 0.8 vs 42.7 ± 0.5 , NS). Sin embargo, ninguno de los animales ovuló al estro vaginal (0/8 vs 12/15). La lesión del lado derecho del núcleo dorsal del rafe retrasó la edad de la apertura vaginal y la edad del primer estro (44.0 ± 0.5 vs 42.1 ± 0.4 ; 46.6 ± 0.8 vs 42.7 ± 0.5 , $P < 0.05$) y la lesión del lado izquierdo únicamente modificó la edad del primer estro (44.9 ± 0.6 vs 42.7 ± 0.5 , $P < 0.05$). La tasa de animales ovulantes fue similar en ambos grupos, mientras que el número de ovocitos liberados por el ovario ipsilateral a la lesión se incrementó de manera significativa (lesión del lado derecho-ovario derecho 6.5 ± 0.5 vs 4.5 ± 0.4 ; lesión del lado izquierdo-ovario izquierdo 6.4 ± 0.3 vs 4.2 ± 0.4 , $P < 0.05$, respectivamente).

El reemplazo hormonal con hCG restauró la ovulación en el 60 % de los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe y el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar al grupo con operación simulada (7.0 ± 0.6 vs 7.7 ± 0.4).

Los resultados de este estudio permiten sugerir que el sistema serotoninérgico modula la secreción de la LH y la reactividad del ovario a la misma y que la participación de este neurotransmisor es estimuladora o inhibitoria dependiendo de la edad del animal. La inervación serotoninérgica que se origina en el núcleo dorsal del rafe participa de manera estimuladora en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de la LH.

INTRODUCCION

La pubertad es la etapa biológica del individuo entre la inmadurez y la madurez sexual, en la que se producen una serie de cambios neuroendócrinos y fenotípicos. La ontogenia de este proceso está determinada genéticamente para cada especie; pero la nutrición, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales, como el fotoperíodo pueden modificar su inicio (1, 29, 67, 78).

En el hombre, la pubertad está asociada con la manifestación de los caracteres sexuales secundarios como la aparición del vello púbico y facial, modificaciones en el tono de la voz y cambios psicológicos bien definidos. En la mujer, esta etapa se acompaña del desarrollo de las mamas, la primera menstruación y también de la aparición del vello púbico (29, 78).

En la hembra de los roedores, la pubertad se define como el día en que se canaliza espontáneamente la vagina. Según Ramírez y McCann (68), en la rata la apertura vaginal ocurre entre los 35 y 45 días después del nacimiento. El frotis vaginal en ese momento tiene las características del proestro o estro y la ovulación ocurre dentro de las 24 h que siguen a la canalización vaginal. Otros estudios han mostrado que esto no ocurre en todas las cepas de ratas, ya que en algunas el frotis tiene las características del diestro y la ovulación ocurre entre cinco y doce días después (29).

Mecanismos que regulan la pubertad

La pubertad está regulada por diversos mecanismos neuroendócrinos en los que participan las gónadas, el hipotálamo, la hipófisis, las adrenales, el timo y la tiroides entre otros.

En la fase prepuberal hay un aumento en la sensibilidad de las gónadas a las gonadotropinas (1, 29). El animal prepúber es muy sensible al efecto inhibitorio que los esteroides gonadales ejercen sobre la secreción de las gonadotropinas, lo que explica que las concentraciones plasmáticas de estas últimas sean bajas. Al iniciarse la pubertad, los estrógenos secretados por el ovario activan al componente central (hipotálamo), lo que resulta en la estimulación de la secreción de las gonadotropinas. El incremento en las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas se acompaña de la aceleración del crecimiento y la maduración folicular, lo que culmina con la primera ovulación (1, 29, 56, 57, 59, 67, 68).

Las fases del desarrollo previo a la pubertad han sido definidas principalmente en relación a la maduración del ovario. Ramirez (67) fue el primero en proponer una clasificación basada en los cambios que ocurren en las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas y en los mecanismos de regulación presentes en las diferentes edades. Con base en estos parámetros el desarrollo previo a la pubertad lo dividió en cuatro etapas: 1) infantil,

maduración del mecanismo de retroalimentación de la FSH; 2) prepuberal, se produce la maduración del mecanismo de retroalimentación negativo de que ejercen los estrógenos; 3) puberal, cambio en la sensibilidad del hipotálamo y la hipófisis a los efectos de los esteroides gonadales; 4) ovulatoria, liberación preovulatoria de la LH y ovulación.

Ojeda y col. (60) clasifican el desarrollo posnatal de la rata hembra considerando los parámetros morfológicos y los fisiológicos como un todo y lo dividen en cuatro fases: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal.

1. Fase neonatal.- Se extiende desde el nacimiento hasta el día siete posnatal. El ovario es relativamente insensible a las gonadotropinas, por lo menos hasta los cuatro a cinco días de vida. Al parecer esta falta de respuesta del ovario se debe al bajo contenido de receptores a las gonadotropinas.

Durante esta fase los mecanismos de retroalimentación negativa que ejercen los estrógenos sobre el eje hipotálamo-hipófisis no son funcionales (57, 59, 60), ya que estudios bioquímicos y autorradiográficos han mostrado que en esta fase del desarrollo ya existen receptores a los estrógenos en el sistema nervioso central (SNC) y la hipófisis (6). La falta de unión de los estrógenos a sus receptores puede ser explicada por la existencia de altas concentraciones de la alfa fetoproteína en el plasma, molécula que se caracteriza por su gran afinidad por los

estrógenos lo que resulta en falta de estrógenos libres que puedan unirse a los receptores (27).

Las células de la granulosa del folículo ovárico tienen receptores a la hormona estimulante del folículo (FSH) (siglas del Inglés) a partir del día cuatro de vida y su número aumenta hasta el día 16 (fase infantil). La unión de la FSH a sus receptores induce la síntesis de la enzima aromataasa la cual convierte la testosterona a estrógenos (59, 60). El aumento en el número de receptores a FSH en el folículo ovárico permite sugerir que durante la fase neonatal las gonadotropinas, en particular la FSH, inducen la formación de sus propios receptores (regulación estimulante) (57, 59, 82). Esta interpretación es apoyada por el hecho de que la administración de propionato de dihidrotestosterona durante esta fase, inhibe la secreción de FSH y la aparición de sus receptores, lo que provoca que cuando el animal alcanza la fase juvenil, en el ovario no hay folículos en desarrollo (52, 88). También, se ha observado que entre los días cuatro y cinco ya hay folículos en desarrollo lo que permite sugerir que las gonadotropinas son esenciales para mantener este proceso (60).

2. Fase infantil.- Transcurre del día ocho al 21 de edad y durante esta fase en el eje hipotálamo-hipófisis se producen cambios que representan los primeros eventos del desarrollo sexual de la hembra y que influyen sobre el inicio de la pubertad (57, 59, 60).

Durante esta etapa aumenta la concentración de la FSH en el plasma y alcanza su valor más alto ("pico de secreción") alrededor de los días 12 a 15 y después disminuye bruscamente (1, 20, 29, 59). Al parecer, este pico de secreción de las gonadotropinas es consecuencia del aumento del número de receptores para la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) en la hipófisis (la cual induce la síntesis de sus propios receptores) (19, 57, 60), del aumento de la afinidad de los mismos y de la síntesis y liberación de este péptido por el hipotálamo. En la hipófisis, el número de receptores a GnRH aumenta desde el día cinco, alcanza su máximo alrededor del día 20 y disminuye a partir del día 40, manteniendo un valor constante a partir de ese momento (22, 92).

Durante esta etapa, las concentraciones séricas de la FSH reflejan un tipo de secreción tónica de la hormona, mientras que la secreción de la hormona luteinizante (LH) (siglas del inglés) es de tipo pulsátil. Este patrón de secreción hormonal que caracteriza la fase infantil es considerado el reflejo de la maduración de los mecanismos centrales de regulación. La participación de los estrógenos en el desarrollo de estos eventos es fundamental (60).

Las elevadas concentraciones de la FSH en el plasma son debidas a la relativa inefectividad del mecanismo de retroalimentación negativa de los estrógenos (6, 27, 57). La concentración plasmática de alfa fetoproteína disminuye a

partir del día 16 y como consecuencia aumenta la concentración de estrógenos libres en plasma (27). Este evento permite que los estrógenos ejerzan su efecto de retroalimentación negativa sobre el SNC y la hipófisis, lo que explicaría la disminución de la concentración de la FSH en plasma después del día 16 (57, 59, 60).

Al final de esta fase del desarrollo, el eje hipotálamo-hipófisis es capaz de responder a los estrógenos liberando gonadotropinas, tal y como ocurre en el día del proestro en el animal adulto. Sin embargo, la primera oleada preovulatoria de las gonadotropinas y la ovulación no ocurre dado que el ovario aún es inmaduro (59, 60).

Al parecer, el pico de secreción de la FSH en esta fase es esencial para que el desarrollo folicular sea normal. Esta interpretación es apoyada por el hecho de que la administración del antisuero a la GnRH disminuye el pico de FSH y el número de folículos destinados a iniciar su crecimiento (52, 88).

Los estrógenos producidos por los folículos en desarrollo estimulan la proliferación de las células de la granulosa y modifican la respuesta de éstas a la FSH. A su vez, la FSH estimula la aparición de sus propios receptores y junto con los estrógenos inducen la formación de los de la LH (72). Durante esta fase, el número de receptores a la GnRH en el ovarioes bajo y se incrementa hasta alcanzar la concentración máxima a los 25 días, para posteriormente

disminuir en la etapa prepuberal. Al parecer la función de la GnRH es la de inhibir la esteroidogénesis en el ovario (22, 80, 81).

3. Fase juvenil o prepuberal.- Se inicia en el día 22 y culmina alrededor del día 30-32. Las concentraciones plasmáticas de la FSH siguen disminuyendo, la secreción pulsátil de la LH desaparece y disminuye la concentración de la alfa fetoproteína en el plasma, por lo que aumenta la cantidad de estrógenos libres. Durante esta etapa se establecen las conexiones funcionales definitivas entre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (4, 5).

Alrededor del día 22 la administración de estrógenos provoca una secreción de la LH de magnitud similar a la que se observa en la tarde del día del proestro (5). La secreción tónica de las gonadotropinas es regulada por el mecanismo de retroalimentación negativa de los estrógenos, los cuales reemplazan a los andrógenos aromatizables que juegan un papel predominante durante el desarrollo infantil (4).

Además de la FSH y la LH, se ha mostrado que otras dos hormonas hipofisarias participan en la regulación de la maduración del ovario: la somatotropina u hormona del crecimiento (GH) (siglas del Inglés) y la prolactina (PRL). La secreción de ambas hormonas es baja al inicio de la fase infantil y se incrementa gradualmente (1, 29, 57, 59, 60, 61).

En el ovario, la PRL y la GH estimulan el desarrollo folicular y la formación de los receptores a la LH en las células de la granulosa (29, 72). En respuesta a este evento, aumenta la secreción de estrógenos, por lo que se sugiere que sensibilizan al ovario a los efectos estimulatorios de la LH (59, 72). Aunado al aumento en el número de receptores a la LH en la gónada, los de la GnRH empiezan a disminuir, evento que es más evidente durante los días que preceden la primera oleada preovulatoria de las gonadotropinas (22, 80, 81). Así también, se presentan ondas de desarrollo folicular y de atresia, procesos que al parecer están bajo influencias hormonales y neurales que son reguladas por el SNC (60).

4. Fase peripuberal.- Su duración es variable y está asociada con la primera ovulación. Si bien el inicio de la pubertad está determinado por una multiplicidad de eventos interrelacionados, algunos de los cuales tienen su origen durante la etapa infantil, las manifestaciones directas de este proceso sólo llegan a ser evidentes después de la cuarta semana de vida (60).

Durante esta etapa las concentraciones séricas de la PRL y de la GH se incrementan significativamente en relación a la fase juvenil, así como ocurre con la secreción de estrógenos por el ovario, como respuesta a la acción de las gonadotropinas. Al final del desarrollo juvenil y al inicio del peripuberal se genera el patrón diurno de

liberación de la LH que se caracteriza por la secreción pulsátil de mayor amplitud durante la tarde, como respuesta a la activación del sistema productor de la GnRH hipotalámica. Bajo estas condiciones, los folículos destinados a ovular en la pubertad entran en la etapa final de maduración (57, 59, 85, 86).

La cascada de eventos que culmina con la pubertad es compleja y para su estudio se ha dividido en diferentes fases (2, 60):

Anestro.- fase durante la cual se producen los cambios diurnos en la liberación de la LH (85); el útero no presenta líquido en su luz y su peso es bajo; en el ovario se observan folículos grandes y la vagina permanece cerrada.

Proestro temprano.- etapa caracterizada por la presencia de líquido en el útero y aumento del peso; la vagina permanece cerrada.

Proestro tardío.- corresponde al día del primer proestro; el peso y la acumulación de líquido en el útero alcanzan su máximo; en los ovarios se observan folículos preovulatorios, la vagina generalmente está cerrada y se produce el primer pico preovulatorio de las gonadotropinas.

En el ovario el número de receptores a la FSH es máximo y aumenta el de LH, mientras que los de la GnRH disminuyen entre el anaestro y el proestro (81), lo cual provoca un aumento en la actividad esteroideogénica, por lo que las concentraciones plasmáticas de estradiol y

progesterona en el plasma alcanzan una magnitud y duración suficientes para estimular la aparición del primer pico preovulatorio de las gonadotropinas y como consecuencia se produce la ovulación (Fig.1).

Estro.- es el día en el que ocurre la primera ovulación; el útero no presenta líquido en su luz y su peso es bajo; en el ovario se observan cuerpos lúteos recién formados; la vagina esta abierta y en el epitelio descamado predominan las células cornificadas.

Además de la regulación hormonal, las funciones del ovario son moduladas por influencias neurales, las cuales ejercen la "regulación fina" de la función del ovario (58, 59, 60). El papel de la inervación en la regulación de la función del ovario, del folículo en particular, es complejo. Al parecer, modula la respuesta de las células del folículo a las gonadotropinas mediante la liberación de diversos neurotransmisores (23).

Por lo antes mencionado, se puede concluir que el sistema nervioso regula la maduración del ovario por dos mecanismos: uno hormonal y el otro neural. El primero involucra la secreción de los factores hipotalámicos que controlan la secreción de la FSH, la LH, la PRL y la GH; El segundo vincula directamente al SNC y el ovario por intermedio de los nervios (57, 59, 60).

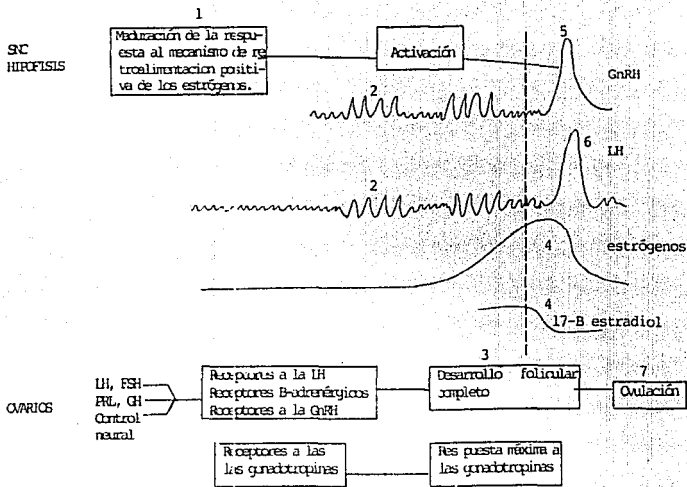


Fig. 1. Secuencia de eventos que dan lugar a la primera secreción preovulatoria de las gonadotropinas en la rata hembra. los números indican la secuencia en la cual se producen estos eventos. La línea discontinua representa las 12:00 h del primer proestro. GnRH, hormona liberadora de las gonadotropinas; LH, hormona luteinizante; FSH, hormona estimulante del folículo; PRL, prolactina; GH, somatotropina (57).

Estructuras extrahipotalámicas que intervienen en la regulación de la pubertad

Además del eje hipotálamo-hipófisis, el proceso de pubertad está regulado por señales neuroendócrinas que provienen de estructuras extrahipotalámicas como el hipocampo, la amígdala y la glándula pineal entre otras, (30, 56).

En la rata, la deaferentación del hipotálamo anterior provoca el adelanto del desarrollo ovárico y de la edad de la apertura vaginal (56). La estimulación eléctrica del hipocampo en ratas de 27 días de edad, adelanta la edad de la apertura vaginal de cuatro a seis días (29). Las lesiones electrolíticas de la amígdala medial inducen pubertad precoz acompañada de ovulación. Por el contrario, la estimulación eléctrica crónica de la amígdala corticomediales retrasa la apertura vaginal, lo cual sugiere que dicha estructura ejerce un papel inhibitorio sobre el inicio de la pubertad (30).

La participación del sistema indolaminérgico en la regulación de la pubertad

El sistema de neurotransmisión indolaminérgica está presente tanto en el SNC como en otros órganos, particularmente la glándula pineal. Las funciones de esta glándula dependen entre otras, de la relación luz-obscuridad en la que se mantiene al animal (3, 71, 84).

La pineal, glándula neuroendócrina que sintetiza serotonina y melatonina (70, 97), es la encargada de traducir la información del medio ambiente, como la luz o los cambios estacionales, en señales secretoras por medio de las cuales se estimula o inhibe el comportamiento reproductivo (7, 26, 70).

La administración de melatonina a animales prepúberes retrasa la edad en la que se produce la primera ovulación, ya que reduce la secreción de la GnRH por el hipotálamo, en la hipófisis inhibe el pico puberal de los receptores a la GnRH, lo que se traduce en la disminución de las concentraciones plasmáticas e hipofisarias de la FSH (48).

El origen y la distribución de las fibras serotoninérgicas

La inervación neuroaminérgica del SNC ha sido estudiada mediante técnicas de histofluorescencia, inmunocitoquímica y autorradiografía, lo que permite afirmar que el hipotálamo es particularmente rico en dopamina (DA), noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) (15, 28, 42, 76).

Los cuerpos neuronales de las terminales nerviosas que contienen serotonina se localizan en el núcleo del rafé y consiste de un grupo de 6 a 9 paquetes celulares localizados en la parte anterior del mesencéfalo (15, 25, 28, 42, 43, 76, 83, 94) (Fig.2). Con base en la distribución de estos paquetes celulares, el núcleo del rafé se puede dividir en:

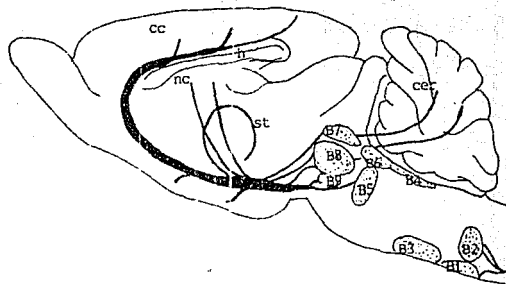


Fig. 2. Localización de los paquetes celulares productores de la serotonina. Corte sagital del cerebro de la ratona donde se muestra la localización de los somas de las neuronas productoras de serotonina (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9) y sus principales proyecciones (líneas oscuras). cc, corteza cerebral; h, hipocampo; nc, núcleo caudado; st, estria terminal; cer, cerebelo (B3).

dorsal, medial y pontino. El núcleo dorsal corresponde a un paquete de somas neuronales situado en posición ventral a la sustancia gris periacueductual. Las células de este grupo se pueden a su vez clasificar en tres subgrupos: dorsomediano, ventromediano y lateral (83).

Las fibras serotoninérgicas que inervan otras estructuras del SNC ascienden desde los núcleos dorsal y medial hasta el hipotálamo, la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala, áreas rostrales del sistema límbico y la eminencia media. Esta inervación viaja dentro o en posición ventral al haz medial del cerebro anterior (45, 83, 94). En el hipotálamo, las fibras serotoninérgicas están distribuidas en diversas regiones hipotalámicas, como son los núcleos supraquiasmático, arcuato y dorso medial, el cuerpo mamilar y las áreas periventricular preóptica (15, 42).

Evidencias recientes indican la presencia de cuerpos celulares serotoninérgicos en el hipotálamo. Esto se apoya en el hecho de que la deafferentación del hipotálamo no depleta completamente el contenido de serotonina en esta estructura (15, 94). La perfusión de 5-hidroxitriptofano marcado en el ventrículo lateral, estimula la síntesis de serotonina en algunas neuronas del núcleo dorsomedial (25). Otros resultados indican que en la eminencia media se localizan cuerpos celulares que sintetizan serotonina a partir de triptofano (32).

Sin embargo, la concentración de serotonina en la eminencia media disminuye en animales con lesión electrolítica del núcleo del raquí dorsal, en los que también se observa la degeneración de las fibras serotoninérgicas que llegan a la misma. Estos resultados permiten afirmar que parte de las terminales serotoninérgicas que se encuentran en esta estructura se originan en el núcleo del raquí dorsal (64, 90).

Según algunos autores, en la eminencia media existe una estrecha relación espacial entre las fibras nerviosas serotoninérgicas y las productoras de la GnRH (36, 40).

Estudios de histofluorescencia han mostrado que en el lóbulo neural e intermedio de la hipófisis existen terminales nerviosas serotoninérgicas en mayor proporción que en la adenohipófisis (53, 66). En la periferia y en las dos o tres primeras capas del lóbulo anterior de la hipófisis, se ha observado la presencia de fibras muy finas que contienen serotonina (37, 93), mientras que otros autores, utilizando la misma técnica, describen que en la hipófisis de ratón y murciélago las terminales nerviosas serotoninérgicas se encuentran concentradas en el lóbulo central e intermedio y no se detectan en la adenohipófisis (53, 66). Lo anterior muestra que los resultados de la investigación de la distribución de la serotonina en la hipófisis son contradictorios.

La regulación neuroendócrina del eje hipotálamo-hipófisis-gónada

La secreción de las gonadotropinas es regulada por el hipotálamo, que sirve de vía final común en la integración de todos los factores externos e internos que participan en este mecanismo. La regulación que ejerce el hipotálamo sobre la síntesis y secreción de la FSH y la LH por la hipófisis se realiza por intermedio de la GnRH sintetizada por neuronas localizadas en el hipotálamo anterior y medio y en otras regiones del SNC. Este péptido se libera en la eminencia media y llega a la hipófisis por la sangre que circula en el sistema porta-hipofisario (20).

Existen evidencias experimentales que muestran que en la regulación de la secreción de la GnRH participan los sistemas catecolaminérgico, colinérgico y serotoninérgico de origen intra y extrahipotalámico (14, 26, 39, 42, 47, 94). Numerosas evidencias experimentales indican que las funciones de estos sistemas en la modulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas son diferente en el animal adulto y el prepúber (7, 11, 21, 24, 39, 55).

En la rata prepúber, la administración de fármacos como la reserpina, la cual depleta y bloquea los sistemas catecolaminérgico y serotoninérgico, provoca retraso en la edad de la apertura vaginal (31). En una prueba de ovulación inducida por la administración secuencial de la PMSG y de la hCG, se observó que la administración de

reserpina no produce cambios en la ovulación cuando el fármaco se aplica antes de la PMSG, pero el número de ovocitos liberados disminuye cuando se inyecta antes de la hCG, efectos que desaparecen si a los animales se les bloquea previamente la monoamina oxidasa por medio de la imipramina (24). En cambio, en el animal adulto se observa que la administración de reserpina antes de la administración de la FSH resulta en el aumento del número de ovocitos liberados y del peso de los ovarios, mientras que estos parámetros no se modifican cuando la reserpina se inyecta antes de la hCG (21). Estos resultados indican que los sistemas catecolaminérgico y serotoninérgico modulan de manera diferente la respuesta ovulatoria a las gonadotropinas, en el animal prepúber y el adulto.

El sistema serotoninérgico y la regulación de la secreción de las gonadotropinas

La participación del sistema serotoninérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas ha sido descrita como estimulante (12, 13, 33, 34, 54, 87, 91, 95) e inhibitoria (9, 10, 39, 41, 42, 44, 46, 49, 62, 63, 65, 96).

En la rata y el ratón machos, la administración intraventricular de serotonina disminuye o inhibe la secreción de la FSH y la LH, siendo este efecto dosis dependiente (39, 49). Sin embargo, la concentración de la LH en el plasma disminuye en los animales a los que se les inyectó 5,7-dihidroxitriptamina fármaco que destruye las

terminales serotoninérgicas) en el núcleo del raqué dorsal y en la región ventromedial del hipotálamo. Este efecto no se modificó por la castración. Lesiones similares realizadas en el núcleo medial del raqué, área preóptica o hipotálamo anterior no modifica la secreción de la LH (87). Estos resultados permiten afirmar que la inervación serotoninérgica que se origina en el núcleo dorsal del raqué que inerva al hipotálamo medio basal ejerce una influencia estimuladora en la secreción de LH.

En la rata adulta castrada la estimulación electroquímica del núcleo dorsal del raqué inhibe la secreción de la LH durante todo el tiempo que se mantiene la estimulación. Con base en este experimento, se deduce que la información serotoninérgica proveniente del núcleo dorsal del raqué inhibiría la secreción de la LH (9, 10). En ratas machos castradas con implante de estradiol en el SNC, disminuye la secreción de la LH cuando se seccionan las fibras serotoninérgicas que llegan al hipotálamo (34).

En la rata hembra adulta la lesión del núcleo dorsal del raqué en el primer día del diestro provoca disminución de la concentración de la serotonina en la eminencia media y de la secreción preovulatoria de la LH (91). Estos resultados permiten sugerir que la serotonina presente en la eminencia media se origina en neuronas del núcleo dorsal del raqué y que esta inervación ejerce una

influencia facilitatoria en los mecanismos que regulan la secreción de la LH.

En la rata hembra intacta la administración sistémica o intraventricular de serotonina a las 17:00 h del día del proestro, bloquea el aumento de las concentraciones plasmáticas de la FSH y la LH e inhibe la ovulación. El mismo tratamiento a las 09:00 h no modifica la ovulación (39, 46).

El aumento de la concentración cerebral de serotonina, inducido por la administración de inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO) en la eminencia media o la perfusión de serotonina en el tercer ventrículo, bloquea la liberación preovulatoria de la LH e inhibe la ovulación. Estos efectos se presentan si previamente a la inyección de la serotonina se administra un antagonista de este neurotransmisor (46). Estos resultados llevan a los autores a afirmar que la serotonina ejerce un efecto inhibitorio de la ovulación.

Si se correlacionan los cambios en el contenido de serotonina en la eminencia media y la liberación de la LH durante el ciclo estral de la rata, se observa que la concentración del neurotransmisor disminuye el 50% en la tarde del proestro, lo que coincide con el momento en que se inicia la liberación preovulatoria de gonadotropinas. En los otros días del ciclo estral este parámetro no se modifica, por lo que estos resultados llevan a sugerir que las fibras serotoninérgicas y las que liberan la GnRH interactúan a

nivel de la eminencia media, en la regulación de la secreción de la LH y la ovulación (40, 65).

En el animal prepúber, el tratamiento con serotonina, con el 5-hidroxitriptofano (precursor inmediato de la serotonina) un poco antes del "período crítico" de la liberación endógena de gonadotropinas retrasa la edad de la apertura vaginal y bloquea la ovulación inducida por la administración de gonadotropinas (62, 63). Un efecto semejante se ha observado en animales con lesiones en la eminencia media y en el núcleo arcuato (41, 44).

La elevación de las concentraciones de serotonina en el SNC, provocada por la administración de inhibidores de la MAO, también bloquea la superovulación en el animal prepúber, inducida por la inyección secuencial de la PMSG y de la hCG. Estos resultados llevaron a sugerir que el aumento en la concentración de serotonina en la eminencia media bloquea la liberación de la LH (44). Otra interpretación sería que el aumento de la serotonina intraovárica impide los efectos de la hCG.

La lesión del núcleo dorsal y medio del raquídeo en ratas prepúberes, provocada por la administración de 5,7-dihidroxitriptamina, bloquea la ovulación inducida por la PMSG y disminuye la recaptura de la serotonina en la eminencia media y en el núcleo arcuato (54). Así también, el bloqueo de la síntesis de serotonina inducido por la administración de p-clorofenilalanina, inhibe la liberación

endógena de la FSH en ratas prepúberes tratadas con la PMSG (12). Con base en estos resultados, los autores sugieren que la serotonina ejerce un efecto estimulador sobre la secreción de las gonadotropinas. Sin embargo, cuando la droga se administra justo antes del "período crítico" se facilita la ovulación, mientras que si se inhibe la síntesis de serotonina 20 h antes se obtienen efectos opuestos (39).

Con base en los antecedentes mencionados, podemos pensar que la participación de la serotonina en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y en la función del ovario es controversial. Estos resultados contradictorios pueden ser el reflejo de las diferencias temporales y hormonales de los diversos modelos biológicos y de las condiciones experimentales utilizados por los autores. También se ha postulado que existen sistemas serotoninérgicos diferentes, separados anatómicamente y funcionalmente (42). Con base en los efectos de la inyección intracerebral de la serotonina Kordon y Glowinski (43) proponen que las neuronas serotoninérgicas que terminan en la eminencia media ejercen un control inhibitorio sobre la secreción de las gonadotropinas (centro inhibitorio) y en el área preóptica se localiza el centro estimulador o pasivo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como se ha señalado, la pubertad es el resultado de la integración final de diversos procesos que ocurren a lo

largo del desarrollo del animal. Los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la secreción de las gonadotropinas y la ovulación son modulados por los sistemas colinérgico, catecolaminérgico y serotoninérgico. La participación de estos sistemas en la regulación de la liberación de la GnRH, de las gonadotropinas y de la función del ovario dependen, en parte, del medio hormonal en que se encuentre el animal. Hasta el presente los estudios realizados sobre la participación del sistema serotoninérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y de la ovulación en el animal prepúber no han tomado en consideración la edad del animal en la cual se efectúa la manipulación del sistema.

Por lo anterior, en el presente trabajo se estudió la participación del sistema serotoninérgico en el proceso de la pubertad espontánea e inducida, por medio del bloqueo del sistema realizado a diferentes edades que van desde el nacimiento hasta el periodo peripuberal y la capacidad de respuesta del animal prepúber a las gonadotropinas exógenas, en los casos en que el bloqueo del sistema modifica la edad de inicio de la pubertad.

HIPOTESIS

La participación del sistema serotoninérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y en la reactividad del ovario a las mismas, varía en las diversas fases del desarrollo prepuberal, por lo que los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la pubertad y la primera ovulación, dependerán de la edad del animal en la que se realicen modificaciones de este sistema.

OBJETIVO

Estudiar los efectos de la desnervación serotoninérgica sobre la pubertad espontánea e inducida en la rata hembra.

METAS

- Analizar los efectos de la desnervación serotoninérgica farmacológica en animales prepúberes de diferentes edades, sobre la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro vaginal y la primera ovulación.
- Analizar los efectos de la desnervación central provocada por la lesión del núcleo dorsal del raquí sobre la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro vaginal y la ovulación.
- Estudiar la capacidad de respuesta del animal prepúber con desnervación serotoninérgica farmacológica o quirúrgica a las gonadotropinas exógenas.
- Estudiar el crecimiento y la maduración folicular de los ovarios de ratas con o sin desnervación serotoninérgica.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas, de 5, 10, 15, 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad de la cepa CII-ZV, las cuales fueron mantenidas en condiciones controladas de iluminación con 14 h de luz y 10 h de obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso a la madre hasta el destete (21 días) y posteriormente al agua y al alimento.

A todos los animales de los diferentes grupos experimentales se les registró el día de la apertura vaginal, momento en el cual se inició la toma de frotis vaginales diarios, que fueron teñidos con hematoxina-eosina.

Procedimiento de Autopsia

Los animales fueron sacrificados por decapitación el día del primer estro vaginal entre las 09:00 y 10:30 h.

A la autopsia se disecaron los ovarios y el útero y se pesaron en balanza de precisión; en las trompas uterinas se contó el número de ovocitos liberados con la ayuda del microscopio esteroscópico. El peso de los órganos se expresó en miligramos (peso absoluto).

Estudio de la población folicular

Los ovarios fueron fijados en solución de Bouin e incluidos en parafina. Se realizaron cortes seriados a 10 μ m que fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina.

Posteriormente se realizó el estudio de la población folicular en el ovario izquierdo y el derecho de tres animales ovulantes de cada grupo experimental. Se revisaron todos los cortes con la ayuda de un ocular micrométrico, se midió el diámetro mayor y el perpendicular a éste en todos los folículos que presentaron el núcleo y el nucléolo bien definidos. Con los diámetros medidos de cada folículo se calculó el diámetro promedio, para clasificarlos en las siguientes categorías (35):

- 1) Folículos pequeños: diámetro $< 391 \mu\text{m}$
- 2) Folículos medianos: diámetro entre $391-500 \mu\text{m}$
- 3) Folículos preovulatorios: diámetro $> 500 \mu\text{m}$

Los folículos fueron considerados como atrésicos cuando presentaron alguna de las siguientes alteraciones (35):

- 1) Picnosis en las células de la granulosa.
- 2) Descamación de las células de la granulosa en el antro folicular.
- 3) Engrosamiento de la teca.
- 4) Alteración del ovocito.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos sobre la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro, el número de ovocitos liberados, el peso corporal y de los órganos, el diámetro promedio de los folículos sanos y de los atrésicos

fueron analizados por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Duncan. En los casos en que se compararon dos grupos, los resultados fueron analizados por la prueba de "t" de Student. Los resultados de la tasa de animales ovulantes y la distribución de la población folicular fueron analizados por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o por Ji^2 . Sólo se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue igual o menor al 5%.

1.- Estudio de los efectos de la inhibición del sistema serotoninérgico en animales prepúberes de diferentes edades, sobre la pubertad.

Para estudiar si la inervación serotoninérgica participa de manera diferente en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y la primera ovulación, durante el desarrollo postnatal de la rata hembra, se evaluaron los efectos de la desnervación serotoninérgica inducida por la administración de la p-cloroanfetamina (fármaco que inhibe la síntesis de serotonina) (74, 75) sobre la pubertad espontánea.

Ratas hembras recién nacidas, de 5, 10, 15, 21, 24 y 30 días de edad fueron tratados con p-cloroanfetamina (pCA) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) disuelto en solución salina, 10 mg/kg de peso corporal, o con vehículo por vía i.p. cada 10 días. Todos los tratamientos se continuaron hasta la presencia del primer estro, momento en el cual se

realizó la autopsia. Como grupo testigo absoluto se utilizaron ratas prepúberes sin tratamiento.

RESULTADOS

Debido a que no se observaron diferencias en la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro, la tasa ovulatoria, el número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los órganos entre los animales inyectados con solución salina y los testigos absolutos, los resultados se reunieron en un sólo grupo denominado testigo.

Los resultados obtenidos en los animales tratados con la PCA, considerados en forma global sin tomar en cuenta la edad en la que se inició el tratamiento, muestran que la desnervación serotoninérgica no modificó la edad de la apertura vaginal (39.1 ± 0.2 vs 38.1 ± 0.5 días), la edad del primer estro (40.4 ± 0.3 vs 39.1 ± 0.6 días), la tasa de animales ovulantes ($92/126$ vs $44/60$) y el número de ovocitos liberados (6.9 ± 0.3 vs 7.8 ± 0.3), respecto al grupo testigo. En cambio, el peso corporal y de los ovarios disminuyó significativamente (92.8 ± 1.7 vs 109 ± 0.9 ; 31.4 ± 1.1 vs 35.5 ± 0.7 , $p < 0.05$, respectivamente).

- Edad de la apertura vaginal y del primer estro.

Los animales tratados con PCA a partir de los 5, 15 y 30 días de edad presentaron adelanto en la edad de la apertura vaginal y del primer estro en relación al grupo testigo. En cambio, su administración desde el nacimiento

provocó el retraso de ambos parámetros. Cuando el tratamiento se inició a los 10, 21 o 24 días no se observaron modificaciones (Tabla 1).

Tabla 1. Edad de la apertura vaginal (EAV) y edad del primer estro (EPE) (días) (media \pm e.e.m.) de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	EAV	EPE
TES	126	39.1 \pm 0.2	40.4 \pm 0.3
pCA			
NACIMIENTO	9	42.7 \pm 1.0 *	44.0 \pm 0.9 *
5 DIAS	9	36.8 \pm 0.7 *	38.7 \pm 1.3
10 DIAS	4	38.8 \pm 0.5	39.0 \pm 0.6
15 DIAS	8	32.3 \pm 0.2 *	33.4 \pm 0.8 *
21 DIAS	8	38.9 \pm 0.7	39.5 \pm 0.9
24 DIAS	13	39.3 \pm 1.4	40.6 \pm 1.3
30 DIAS	9	37.2 \pm 0.6 *	37.2 \pm 0.6 *

* P<0.05 vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

En el momento de la apertura vaginal el 54% de los animales del grupo testigo presentaron frotis vaginal en estro, el 23 % en diestro y el 23 % en proestro. En cambio, en los animales en los cuales la desnervación se inició a los 10, 15, 21 y 30 días de edad la frecuencia de estro a la apertura vaginal aumentó significativamente, mientras que cuando se administró el fármaco desde los 24 días este resultado se invirtió (Tabla 2).

Tabla 2. Frecuencia (%) de frotis en diestro (D), proestro (P) o estro (E) (número de animales que abrieron vagina en cada etapa/número total de animales) en el día de la apertura vaginal de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-clorocanfetamina (pCA) o testigo (TES).

GRUPO	D	P	E
TES	23	23	54
pCA			
NACIMIENTO	22	11	67
5 DIAS	33	11	56
10 DIAS	0	25	75 *
15 DIAS	25	0	75 *
21 DIAS	25	0	75 *
24 DIAS	16	46	38
30 DIAS	0	0	100 *

* $P < 0.05$ vs grupo TES (prueba de J_i^2).

- Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados.

La frecuencia de animales ovulantes fue similar entre los grupos tratados con pCA y el grupo testigo, independientemente de la edad en la cual se inició el tratamiento. En todos los grupos tratados se observó la tendencia al aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante, siendo esta diferencia estadísticamente significativa cuando la desnervación se inició al nacimiento y a los 10, 24 y 30 días (Tabla 3).

Tabla 3. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes /número total de animales) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
TES	92/126	6.9 \pm 0.3
pCA		
NACIMIENTO	7/9	9.0 \pm 0.7 *
5 DIAS	7/9	6.4 \pm 0.8
10 DIAS	4/4	9.0 \pm 1.1 *
15 DIAS	5/8	7.4 \pm 1.0
21 DIAS	6/8	6.0 \pm 0.9
24 DIAS	8/13	8.8 \pm 0.7 *
30 DIAS	7/9	7.9 \pm 0.3 *

* $P < 0.05$ vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Peso corporal y de órganos.

El peso corporal en todos los animales tratados fue menor que en el testigo, excepto en aquellos en los que el tratamiento se inició a los 21 días de edad. El peso de los ovarios en los animales inyectados a partir de los 15, 24 y 30 días fue menor respecto al grupo testigo. El peso del útero disminuyó sólo cuando la desnervación se inició a los 15 días (Tabla 4).

Tabla 4. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.s.m.) de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
TES	126	110 \pm 0.9	35.5 \pm 0.7	171 \pm 3.2
pCA				
NACIMIENTO	9	101 \pm 3.7 *	37.7 \pm 3.1	167 \pm 15.0
5 DIAS	9	99 \pm 4.4 *	33.9 \pm 2.8	180 \pm 8.2
10 DIAS	4	96 \pm 2.7 *	30.8 \pm 2.4	160 \pm 10.2
15 DIAS	8	86 \pm 4.4 *	27.4 \pm 1.7 *	144 \pm 16.4 *
21 DIAS	8	106 \pm 4.2	33.3 \pm 4.2	165 \pm 7.1
24 DIAS	13	85 \pm 2.8 *	27.7 \pm 1.8 *	168 \pm 7.9
30 DIAS	9	83 \pm 2.8 *	30.2 \pm 2.1 *	160 \pm 7.4

* P<0.05 vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Población folicular.

Dado que los resultados del número total de folículos contados, de folículos por rango y del diámetro promedio de los folículos del ovario derecho e izquierdo fueron similares en los grupos de animales testigo y tratados a diferentes edades, para realizar el análisis comparativo se agruparon los resultados según el tratamiento aplicado (testigo vs tratados en cada una de las edades).

El número de folículos con diámetro mayor de 90 μ m aumentó significativamente cuando el tratamiento con la pCA se inició a los 15 días de edad, mientras que disminuyó

cuando la administración del fármaco comenzó el día 21. Estas modificaciones fueron muy llamativas en los folículos de reserva con diámetro entre 90 y 390 μm (Tabla 5).

En todos los grupos con desnervación serotoninérgica, con excepción del de 30 días, se observó la tendencia a la disminución del número de folículos preovulatorios, siendo esta diferencia estadísticamente significativa cuando la desnervación se inició al nacimiento y a los 24 días de edad, mientras que en los ovarios de los animales tratados con pCA desde el día 5 no se observaron folículos de este tipo (Tabla 5).

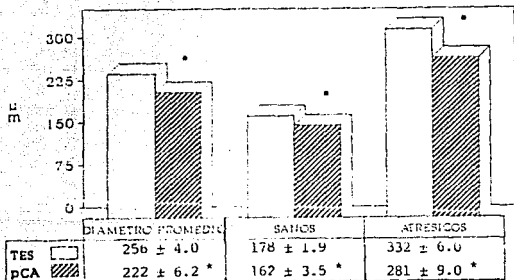
Tabla 5. Número de folículos (media \pm e.e.m.) en los ovarios de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	FOLICULOS TOTALES	DISTRIBUCION POR RANGO		
		<390 μm	391-500 μm	>500 μm
TES	100.2 \pm 5.9	91.8 \pm 5.9	6.3 \pm 0.8	4.0 \pm 0.8
pCA				
NACIMIENTO	114.7 \pm 8.1	107.8 \pm 7.4	5.5 \pm 1.3	1.4 \pm 0.2 *
5 DIAS	96.8 \pm 14.1	94.3 \pm 14.4	3.0 \pm 0.8	0
10 DIAS	109.6 \pm 5.5	98.5 \pm 3.7	8.8 \pm 2.1	2.3 \pm 0.5
15 DIAS	136.2 \pm 12.8 *	125.2 \pm 12.1 *	8.2 \pm 2.5	2.8 \pm 0.9
21 DIAS	56.6 \pm 12.3 *	54.5 \pm 11.3 *	3.7 \pm 1.5	1
24 DIAS	104.0 \pm 13.8	97.8 \pm 12.4	6.0 \pm 1.9	1.8 \pm 0.9 *
30 DIAS	115.1 \pm 6.5	105.7 \pm 5.3	6.2 \pm 0.9	3.2 \pm 0.9

* P<0.05 vs grupo TES (Prueba de Kruskal-Wallis).

El diámetro promedio de los folículos de los animales tratados con pCA fue significativamente menor que el del grupo testigo. Esta diferencia significativa se observó tanto en el diámetro promedio de los folículos sanos como en el de los atrésicos (Fig. 3).

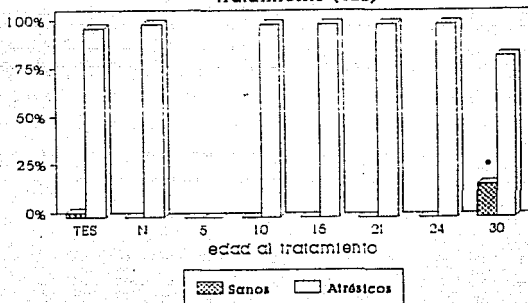
Fig. 3. Diámetro folicular promedio de los folículos sanos y atrésicos de los ovarios de ratas tratadas con pCA y sin tratamiento (TES)



* P < 0.05 vs TES

Todos los folículos preovulatorios de los ovarios de los animales con deservación serotoninérgica iniciada al nacimiento y a los 10, 15, 21 y 24 días de edad fueron atrésicos. En cambio, en los animales tratados con el fármaco desde el día 30 de edad, la proporción de los folículos sanos se incremento significativamente (Figura 4).

Fig. 4. Frecuencia de folículos sanos y atresicos >500 μ m de diámetro de los ovarios de ratas tratadas con pCA y sin tratamiento (TES)



* $P < 0.05$ vs TES

El hecho que la deservación serotoninérgica adelanta la edad de la apertura vaginal y la del primer estro, nos permite suponer que en condiciones normales la inervación serotoninérgica juega un papel inhibitorio sobre la secreción de los estrógenos que estimulan la vagina.

Dado que la respuesta ovulatoria, representada por el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementa en la mayoría de las edades en las que se inició la inhibición del sistema, se puede suponer que la inervación serotoninérgica ejerce un papel inhibitorio sobre este proceso. Este experimento no permite dilucidar si este efecto se debe a la participación de la serotonina en la regulación

de la secreción de las gonadotropinas, en la reactividad del folículo ovárico a éstas o a ambos fenómenos.

Para estudiar en parte este problema se realizaron los siguientes experimentos.

2.- Estudio de la pubertad inducida por la administración de gonadotropinas en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

Para analizar si la inervación serotoninérgica modula la reactividad del ovario a las gonadotropinas, se evaluaron los efectos de la desnervación serotoninérgica sobre la pubertad inducida por la administración de PMSG a diferentes edades.

Grupos de hembras de 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con PMSG (8 u.i.) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) por vía s.c. En todos los animales se registró la edad de la apertura vaginal y del primer estro, momento en el cual se realizó la autopsia.

Otros grupos de hembras de 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con pCA en la dosis y vía del experimento 1, 10 h antes de que se les administraran 8 u.i. de PMSG. Se registró la edad de la apertura vaginal y se sacrificaron en el día del primer estro vaginal.

RESULTADOS

- Edad de la apertura vaginal y edad del primer estro.

El tratamiento con PMSG provocó el adelanto de la edad de apertura y del primer estro vaginal, comparado con el

grupo testigo, independientemente de la edad del animal. La canalización vaginal se presentó 72 h después del tratamiento hormonal, excepto en los tratados a los 18 días en los que se observó a las 96 h. En todos los casos, a la apertura vaginal el epitelio presentó las características del estro. La desnervación serotoninérgica inducida por la pCA no modificó estos parámetros.

- Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados.

Excepto los animales tratados con PMSG a los 18 días, todos los otros grupos ovularon en respuesta al tratamiento hormonal. La tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementaron conforme avanzó la edad del animal (Tabla 6).

La tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante disminuyeron en forma significativa en las tratadas con pCA 10 h antes de la estimulación con la PMSG (13/52 vs 28/48; 18.3 ± 1.8 vs 23.6 ± 1.5 , $P < 0.05$ respectivamente).

Cuando se analizan los resultados en función de la edad a la que se administró la pCA, se observa que la disminución en la tasa de animales ovulantes fue estadísticamente significativa sólo en aquellos tratados a los 21, 24 y 30 días de edad. El número de ovocitos liberados por los animales desnervados y estimulados con la PMSG disminuyó de manera significativa en todos los grupos (Tabla 6).

Tabla 6. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados de ratas tratadas a diferentes edades con 8 u.i. de PMSG o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) + PMSG y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO		TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
18 DIAS	PMSG	0/10	0
	pCA+PMSG	0/13	0
21 DIAS	PMSG	4/9	6.5 \pm 1.0
	pCA+PMSG	0/10 a	0
24 DIAS	PMSG	7/8	24.3 \pm 0.8
	pCA+PMSG	2/10 a	27, 8
27 DIAS	PMSG	7/11	25.9 \pm 1.3
	pCA+PMSG	4/7	19.5 \pm 3.9 b
30 DIAS	PMSG	10/10	28.3 \pm 1.2
	pCA+PMSG	7/12 a	16.4 \pm 2.4 b

a, $P < 0.05$ vs grupo con PMSG (Prueba exacta de Fisher).

b, $P < 0.05$ vs grupo con PMSG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Peso corporal y de órganos.

El peso corpora de los animales tratados con pCA y PMSG fue menor que el de los animales tratados sólo con la hormona, aunque las diferecias fueron estadísticamente significativas sólo en aquellos tratados a los 18 y 24 días de edad (tabla 7).

El peso de los ovarios de los animales tratados con pCA 10 h antes de la PMSG a los 18 días fue significativamente mayor que el de los tratados sólo con la PMSG. En cambio, el peso de los ovarios de los animales tratados a los 27 y 30 días muestran una tendencia a la disminución en comparación con los que sólo recibieron la hormona (Tabla 7).

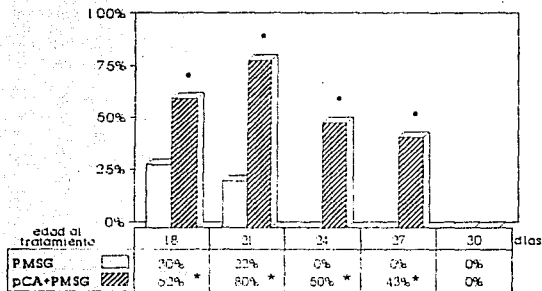
Tabla 7. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.s.m.) de ratas tratadas con 8 u.i. de PMSG o con 10 mg/kg de p.c. de p-clorofetamina (pCA) + PMSG y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	PESO	OVARIOS CORPORAL	UTERO	
18 DIAS	PMSG	10	49 \pm 1.1	25.2 \pm 2.2	98 \pm 6.2
	pCA+PMSG	13	42 \pm 0.6 *	48.0 \pm 4.5 *	105 \pm 8.0
21 DIAS	PMSG	9	48 \pm 1.2	48.7 \pm 4.8	113 \pm 7.0
	pCA+PMSG	10	48 \pm 1.4	50.9 \pm 2.8	118 \pm 5.0
24 DIAS	PMSG	8	62 \pm 1.7	66.6 \pm 3.7	97 \pm 4.6
	pCA+PMSG	10	55 \pm 0.9 *	75.7 \pm 6.0	120 \pm 5.2 *
27 DIAS	PMSG	11	72 \pm 0.7	64.7 \pm 5.0	122 \pm 9.0
	pCA+PMSG	7	67 \pm 2.6	59.1 \pm 5.7	105 \pm 3.5
30 DIAS	PMSG	10	90 \pm 2.4	50.1 \pm 3.0	116 \pm 6.9
	pCA+PMSG	12	75 \pm 7.1	43.7 \pm 3.1	124 \pm 7.0

* P<0.05 vs grupo con PMSG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

La incidencia de útero distendido fue mayor en los animales que recibieron la pCA y luego la PMSG que en los que sólo fueron tratados con la hormona (Figura 5). Pese a ello, el peso del útero fue significativamente mayor sólo en los animales tratados a los 24 días (Tabla 7).

Fig. 5. Frecuencia de útero distendido en ratas tratadas con PMSG o pCA + PMSG a diferentes edades



* P < 0.05 vs PMSG

Los resultados de este experimento muestran que la inervación serotoninérgica regula de manera estimulante la reactividad del ovario a las gonadotropinas, ya que en los animales desnervados disminuyó la respuesta ovulatoria (número de animales ovulantes/número total de animales y el

número de ovocitos liberados por animal ovulante) inducida por la administración de la PMSG. Los efectos de la desnervación serotoninérgica inducida por la PCA pueden ser explicados por diversos mecanismos:

- disminución de la secreción de LH en respuesta al sistema de retroalimentación estimulante provocado por el tratamiento con PMSG y la consecuente secreción de estrógenos.
- disminución de la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas.
- una combinación de ambos efectos.

Para estudiar en parte este problema se analizaron los efectos de la administración secuencial de PMSG y hCG en animales normales y desnervados por la administración de PCA.

3.- Estudio de la pubertad inducida por la administración secuencial de PMSG-hCG en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

Con base a los resultados del experimento anterior, se decidió estudiar si la disminución de la respuesta ovulatoria de los animales con desnervación serotoninérgica y tratados con PMSG, se debe a la disminución en la capacidad de respuesta del ovario a la LH.

A grupos de hembras de 21, 24, 27 y 30 días de edad se les administró una dosis de PMSG (8 u.i.) por vía s.c., 48 h después se inyectó hCG (10 u.i.) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) y 20 h más tarde se efectuó la autopsia.

Otros grupos de hembras de 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con 10 mg/kg de p. c. de PCA por vía

i.p., 10 h antes de ser sometidos a la prueba de ovulación inducida como en los grupos anteriores. En todos los animales al momento del sacrificio se registró la apertura vaginal.

RESULTADOS

- Apertura vaginal.

La proporción de animales que presentaron apertura vaginal a la autopsia fue similar en el grupo testigo y el desnervado (20/40 vs 20/41). En ambos casos el número de animales con apertura vaginal aumentó en forma directamente proporcional a la edad (Tabla 8).

Tabla 8. Frecuencia de apertura vaginal (número de animales con apertura vaginal/número total de animales) de ratas tratadas con 8 u. i. de PMSG + 10 u. i. de hCG o con 10 mg/kg de pCA + PMSG-hCG.

GRUPO		FRECUENCIA DE APERTURA VAGINAL
21 DIAS	PMSG-hCG	2/10 a
	pCA+PMSG-hCG	2/9 b
24 DIAS	PMSG-hCG	3/10 a
	pCA+PMSG-hCG	3/11 b
27 DIAS	PMSG-hCG	6/10
	pCA+PMSG-hCG	6/10
30 DIAS	PMSG-hCG	9/10
	pCA+PMSG-hCG	9/11

a, $P < 0.05$ vs grupo de 30 días con PMSG-hCG (Prueba exacta de Fisher).

b, $P < 0.05$ vs grupo de 30 días con pCA+PMSG-hCG (Prueba exacta de Fisher).

- Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados

El tratamiento con PMSG-hCG indujo la ovulación en todos los grupos. La frecuencia de animales que ovularon y el número de ovocitos liberados no se modificaron con la desnervación serotoninérgica. Tanto en los animales tratados con gonadotropinas como en los que fueron previamente desnervados con PCA, el número de ovocitos liberados por los animales tratados a los 24 días fue significativamente mayor que en los tratados a los 27 y 30 días (Tabla 9).

Tabla 9. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) y media + e.e.m. del número de ovocitos liberados de ratas tratadas a diferentes edades con 8 u.i. de PMSG + 10 u.i. de hCG o con 10 mg/kg de p.c. de PCA + PMSG-hCG.

GRUPO		TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
21 DIAS	PMSG-hCG	9/10	30.4±1.6
	pCA+PMSG-hCG	9/9	35.2±3.7
24 DIAS	PMSG-hCG	10/10	41.7±2.5 a
	pCA+PMSG-hCG	10/11	39.8±2.5 b
27 DIAS	PMSG-hCG	10/10	30.9±0.8
	pCA+PMSG-hCG	10/10	29.5±3.1
30 DIAS	PMSG-hCG	10/10	29.4±2.7
	pCA+PMSG-hCG	11/11	26.0±2.0

a, $P < 0.05$ vs grupos de 21, 27 y 30 días con PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

b, $P < 0.05$ vs grupos de 27 y 30 días con pCA+PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Peso corporal y de órganos.

El peso corporal fue significativamente menor en los animales desnervados a los 27 y 30 días tratados con PMSG-hCG que en los que sólo recibieron las hormonas (Tabla 10).

El peso de los ovarios de los animales tratados con pCA antes de la administración secuencial de PMSG-hCG sólo fue significativamente menor que aquellos que sólo recibieron el tratamiento hormonal cuando éste se realizó a los 27 días (Tabla 10).

En los animales desnervados con pCA, la respuesta ponderal del ovario dependió de la edad del tratamiento. Aquellos tratados al inicio de la fase juvenil (21 y 24 días) el peso de los ovarios fue significativamente mayor que los tratados al final de esta etapa (27 y 30 días), hecho que no se observó en los animales normales tratados con PMSG y hCG (Tabla 10).

El peso del útero de los animales tratados con hCG disminuyó de manera significativa en los grupos de animales de 21 y 24 días en comparación con los que se les inyectó PMSG. Este efecto no se modificó por la administración de pCA (Tabla 10 y Figura 6).

Tabla 10. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.e.m.) de ratas tratadas con 8 u.i. de PMSG + 10 u.i. de hCG o con 10mg/kg de p.c. de pCA + PMSG-hCG.

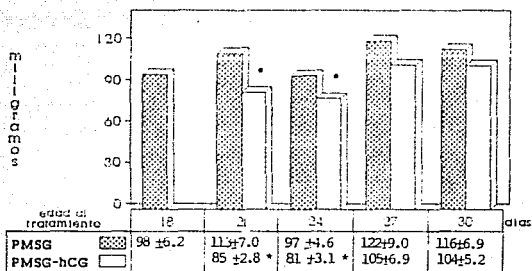
GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
21 DIAS				
PMSG-hCG	10	43 \pm 1.1	51.8 \pm 5.8	85 \pm 2.8
pCA+PMSG-hCG	9	41 \pm 1.0	66.9 \pm 7.6	75 \pm 3.1
24 DIAS				
PMSG-hCG	10	51 \pm 1.9	59.9 \pm 3.2	81 \pm 3.1
pCA+PMSG-hCG	11	49 \pm 1.2	72.2 \pm 6.6	92 \pm 5.3
27 DIAS				
PMSG-hCG	10	70 \pm 1.6	57.3 \pm 2.3	105 \pm 6.9
pCA+PMSG-hCG	11	60 \pm 2.2 ^a	47.9 \pm 2.4 ^{a,b}	99 \pm 5.1
30 DIAS				
PMSG-hCG	10	79 \pm 1.7	53.1 \pm 4.7	104 \pm 5.2
pCA+PMSG-hCG	11	70 \pm 1.9 ^a	47.9 \pm 2.4 ^b	110 \pm 3.7

a, $P < 0.05$ vs grupo correspondiente con PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

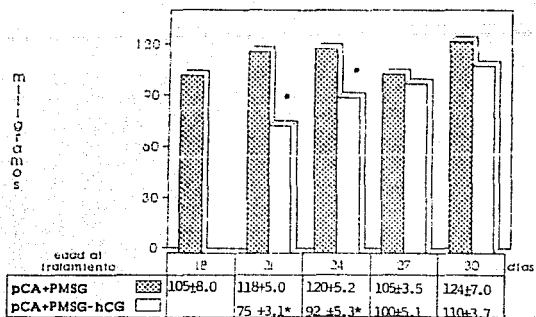
b, $P < 0.05$ vs grupos de 21 y 24 días con pCA+PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

Los resultados de este estudio permiten sugerir que las modificaciones en la ovulación observadas en los animales desnervados tratados con PMSG pueden ser explicadas por una alteración en la secreción de la LH, ya que la respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) en los animales con desnervación serotoninérgica tratados en forma secuencial con las gonadotropinas fue similar al animal tratado con las hormonas (Figuras 7 y 8).

Fig. 6. Peso del útero de ratas tratadas con gonadotropinas o pCA + gonadotropinas a diferentes edades

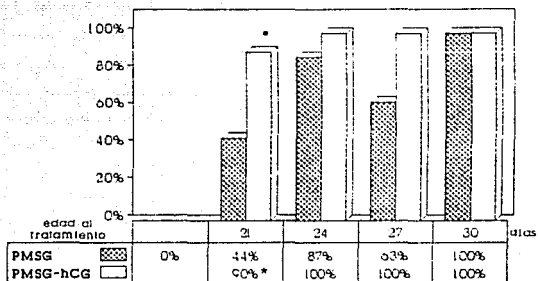


* P < 0.05 vs PMSG

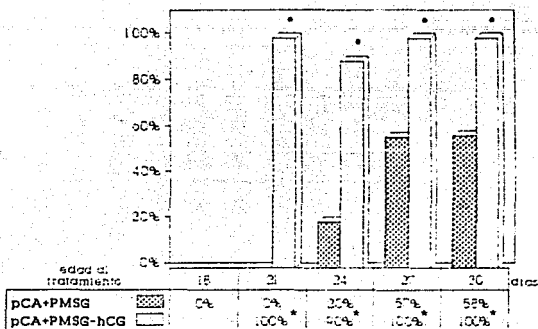


* P < 0.05 vs pCA+PMSG

Fig. 7. Tasa de animales ovulantes de ratas tratadas con gonadotropinas o pCA + gonadotropinas a diferentes edades

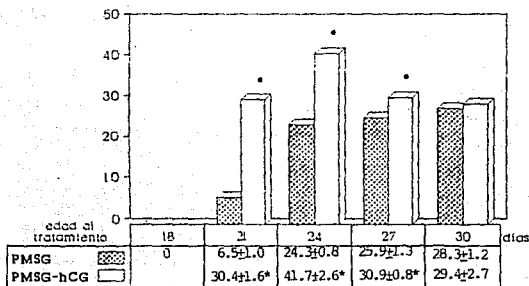


* P < 0.05 vs PMSG

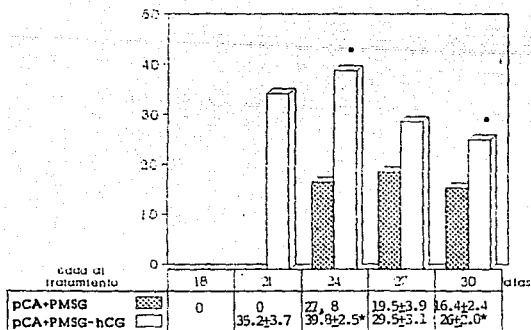


* P < 0.05 vs pCA+PMSG

Fig.8. Número de ovocitos liberados por ratas tratadas con gonadotropinas o pCA + gonadotropinas a diferentes edades



* P < 0.05 vs PMSG



* P < 0.05 vs pCA+PMSG

Este hecho nos permite sugerir que el sistema serotoninérgico modula de manera estimulante la secreción de las gonadotropinas que regulan la ovulación, en particular la LH.

Para analizar si la desnervación serotoninérgica central afecta la pubertad y la primera ovulación, se estudiaron los efectos de la lesión del núcleo dorsal del rafé sobre la pubertad y la primera ovulación:

4. Efectos de la lesión del núcleo dorsal del rafé sobre la pubertad espontánea.

Tomando como base los resultados obtenidos en los anteriores experimentos, se puede presumir que la inervación serotoninérgica modula de manera diferente la secreción de las gonadotropinas, hecho que depende de la edad del animal en estudio.

Dado que los efectos de la desnervación serotoninérgica central y periférica inducida por la administración de PCA a los 30 días [adelanto de la edad de la apertura vaginal; todos los animales tienen un frotis de estro; hay aumento significativo del número de ovocitos liberados por animal ovulante], permite suponer que a esa edad la inervación serotoninérgica regula de manera inhibitoria la secreción espontánea de las gonadotropinas responsables de la ovulación.

Por ello se eligió analizar si en esta edad, la inervación serotoninérgica del hipotálamo que se origina en

el núcleo dorsal del raquídeo, es la responsable de los efectos inhibitorios que el sistema serotoninérgico aparentemente ejerce sobre la secreción de las gonadotropinas.

Para ello se estudiaron los efectos de la lesión electrofisiológica del núcleo dorsal del raquídeo sobre la edad de la apertura vaginal y la primera ovulación.

Se utilizaron hembras de 30 días los cuales fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (40 mg/kg de peso corporal) por vía i.p. seguido de anestesia complementaria con éter cuando fue necesario. Los animales fueron montados en un aparato estereotáxico, se seccionó el cuero cabelludo, se perforó el cráneo con una fresa odontológica, se introdujo el electrodo conectado a un generador de lesiones por radiofrecuencia, siguiendo las coordenadas correspondientes (77) hasta alcanzar el núcleo dorsal del raquídeo. La lesión unilateral se efectuó a 65 °C durante dos segundos (Figura 9). Para realizar la lesión completa se llegó al área correspondiente tanto por el lado derecho como por el izquierdo, pero se dejó que la punta del electrodo alcanzara una temperatura de 70 °C durante cinco segundos (Figura 10).

Como grupo testigo se utilizó un grupo de animales de la misma edad a los que se les introdujo el electrodo del lado derecho o izquierdo, siguiendo las mismas coordenadas pero sin pasar corriente (operación simulada).

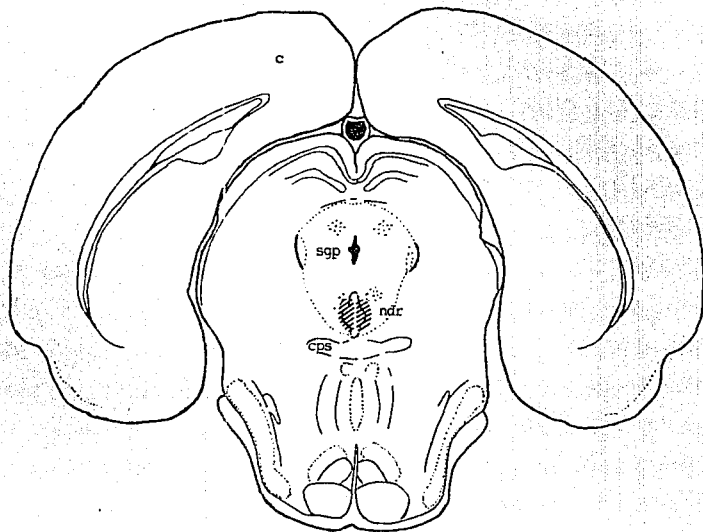


Fig. 9 . Representación esquemática de la localización de la zona de lesión. La zona sombreada corresponde a la lesión unilateral del núcleo dorsal del raté (lesión del lado izquierdo del núcleo o lesión del lado derecho). c, corteza; sgp, sustancia gris periacueductual; cps, pedunculo cerebral superior; ndr, núcleo dorsal del raté (77).

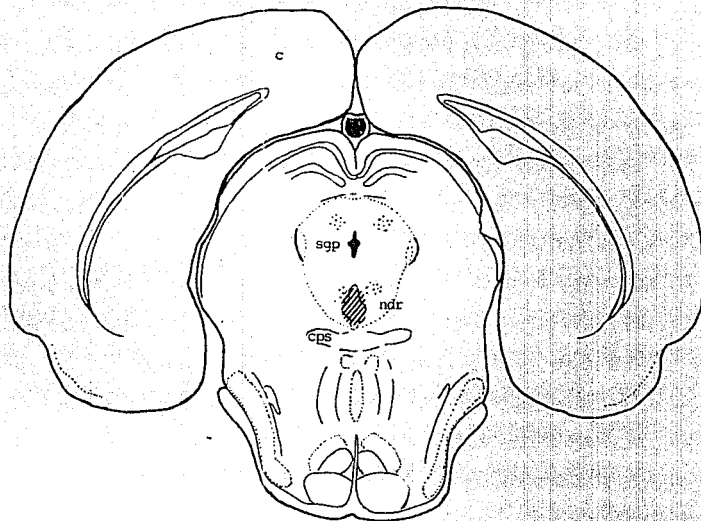


Fig. 10. Representación esquemática de la localización de la zona de lesión. La zona sombreada corresponde a la lesión completa del núcleo dorsal del raté. c, corteza; sgp, sustancia gris periacueductal; cps, pedunculo cerebral superior; ndr, núcleo dorsal del raté (77).

Todos los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal y a la autopsia se registraron los mismos parámetros que en los experimentos anteriores.

Para localizar la trayectoria del electrodo y el sitio de la lesión, el cerebro de todos los animales con lesión del rafé y con operación simulada se fijó en formol al 10 % durante 24 h y se realizaron cortes seriados en plano frontal a 120 μ m de grosor en el criostato (51). Los cortes se tiñeron con violeta de cresilo y se analizaron según el atlas de Sherwood y Timiras (77).

RESULTADOS

Debido a que no se observaron diferencias significativas en la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro vaginal, la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados por animal ovulante, el peso corporal y de órganos entre el grupo con operación simulada izquierda y la derecha, los resultados se reunieron y se formó un grupo único llamado operación simulada.

En comparación con los animales del grupo testigo absoluto, la operación simulada provocó retraso de la edad de la apertura vaginal y la edad del primer estro vaginal, mientras que no se observaron diferencias en la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante. El peso de los ovarios disminuyó significativamente en el grupo de animales con operación

simulada, mientras que no se observaron diferencias significativas en el peso corporal y del útero (Tabla 11).

Tabla 11. Edad de la apertura vaginal (EAV), del primer estro (EPE) (días), número de ovocitos liberados (media \pm e.c.m.) y tasa ovulatoria (número de animales ovulantes/número total de animales), peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada (OS) sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

	TESTIGO ABSOLUTO	OPERACION SIMULADA
EAV	37.2 \pm 0.4	42.1 \pm 0.4 *
EPE	38.1 \pm 0.5	42.7 \pm 0.5 *
TASA DE ANIMALES OVULANTES	10/13	12/15
NUMERO DE OVOCITOS	7.4 \pm 0.6	7.7 \pm 0.4
PESO CORPORAL	109 \pm 1.9	115 \pm 3.9
OVARIOS	37.3 \pm 2.3	30.0 \pm 1.9 *
UTERO	172 \pm 8.8	152 \pm 5.5

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

Dado que la operación simulada modificó algunos de los parámetros evaluados respecto al grupo testigo absoluto, los resultados de los efectos de la lesión del núcleo dorsal del raquí se compararon con el grupo con operación simulada.

- Edad de la apertura vaginal y edad del primer estro.

En los animales con lesión completa del núcleo dorsal del raquí, la edad de la apertura y del primer estro

vaginal fueron semejantes a las del grupo con operación simulada. En cambio, ambos parámetros presentaron retraso cuando a los animales se les lesionó el lado derecho de este núcleo, mientras que en los animales con lesión del lado izquierdo, sólo se observó un retraso significativo en la edad del primer estro (Tabla 12).

Tabla 12. Edad de la apertura vaginal (EAV) y edad del primer estro (EPE) (días) (media \pm e.e.m.) de ratas con operación simulada (OS), con lesión del lado izquierdo del núcleo dorsal del rafé (LINDR), lesión derecha (LDNDR) o lesión completa (LCNDR) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	EAV	EPE
OS	15	42.1 \pm 0.4	42.7 \pm 0.5
LCNDR	8	41.6 \pm 0.9	42.6 \pm 0.8
LINDR	9	43.8 \pm 0.5	44.9 \pm 0.6 *
LDNDR	8	44.0 \pm 0.5 *	46.6 \pm 0.8 *

* $P < 0.05$ vs grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

En el grupo con operación simulada el 53% de los animales abrieron vagina en estro, el 6.7% en diestro y el 40% en proestro. La proporción de animales que al abrir vagina presentaron un frotis de estro disminuyó significativamente en los animales lesionados, siendo esta diferencia significativa cuando la lesión fue completa o del lado derecho (Tabla 13). En estos grupos aumentó la frecuencia de días de diestro o proestro, antes de que se presentara el primer estro vaginal (Figura 11).

Tabla 13. Frecuencia de apertura vaginal en diestro (D), proestro (P) o estro (E) (número de animales que abrieron vagina en cada etapa/número total de animales) de ratas con operación simulada (OS), con lesión del lado izquierdo del núcleo dorsal del rafe (LINDR), lesión derecha (LDNDR) o lesión completa (LCNDR) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	D	P	E
OS	7	40	53
LCNDR	50 *	25	25 *
LINDR	11	56	33
LDNDR	63 *	12 *	25 *

* $P < 0.05$ vs grupo OS (Prueba de Ji^2).

- Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados.

Ninguno de los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe ovuló en el día del primer estro vaginal. En cambio la proporción de animales que ovularon en ese día no fue modificada por la lesión del lado izquierdo o del derecho de este núcleo (Tabla 14).

En los animales con lesión del lado derecho o izquierdo del núcleo dorsal del rafe el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó significativamente. Este aumento se debe a que se incrementó el número de ovocitos liberados por el ovario ipsilateral a la lesión, mientras que en el otro ovario no se modificó la cuota ovulatoria (Tabla 14).

		DIA DE LA APERTURA VAGINAL						
OS n=15	E							
	E							
	P	E						
	E							
	E							
	P	E						
	D	D	P	E				
	E							
	E							
	E							
	P	E						
	P	E						
	P	E						
	P	E						
	LINDR n=9	D	D	P	D			
P		P	E					
E								
E								
P		E						
P		E						
P		P	E					
P		P	E					
P		P	E					
LDNDR n=8	D	D	D	D	P	E		
	D	D	D	D	P	E		
	D	D	D	D	D	P	E	
	P	E						
	D	D	P	E				
	D	D	D	E				
	E							
	P	P	E					
	P	P	E					
							Días posteriores a la apertura vaginal	
		1	2	3	4	5		

Fig. II. Secuencia de cambios en la citología vaginal previos a la aparición del primer en ratas con operación simulada (OS) o con lesión del lado izquierdo (LINDR) o del lado derecho (LDNDR) del núcleo dorsal del raté (D=diestro, P=proestro, E=primer estro vaginal, n=número de animales por grupo).

Tabla 14. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) y número de ovocitos liberados (media \pm e.e.m.) por ratas con operación simulada (OS), lesión del lado izquierdo del núcleo dorsal del rafé (LINDR), lesión derecha (LDNDR) o lesión completa (LCNDR) sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	OVOCITOS TOTALES	OVOCITOS	
			OVARIO IZQUIERDO	OVARIO DERECHO
OS	12/15	7.7 \pm 0.4	4.2 \pm 0.4	4.5 \pm 0.4
LCNDR	0/8 a	0	0	0
LINDR	7/9	10.3 \pm 0.6 b	6.4 \pm 0.3 b	3.9 \pm 0.7
LDNDR	6/8	10.1 \pm 1.0 b	4.6 \pm 0.5	6.5 \pm 0.5 b

a, $P < 0.05$ vs grupo con OS (Prueba exacta de Fisher).

b, $P < 0.05$ vs grupo con OS (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Peso corporal y de órganos.

En los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafé, el peso corporal y de los ovarios fue significativamente menor que en el grupo con operación simulada, mientras que ambos parámetros no presentaron diferencias en los animales con lesión del lado izquierdo o derecho. No se observaron diferencias significativas en el peso del útero en todos los grupos (Tabla 15).

Tabla 15. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.e.m.) de ratas con operación simulada (OS), lesión del lado izquierdo del núcleo dorsal del rafé (LINDR), lesión derecha (LDNDR) o lesión completa (LCNDR) y sacrificadas en el día primer estro vaginal.

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
OS	15	115 \pm 4.0	30.0 \pm 1.9	152 \pm 5.5
LCNRD	0	104 \pm 4.8 *	17.9 \pm 0.9 *	131 \pm 15.7
LINRD	9	120 \pm 2.8	28.7 \pm 2.6	136 \pm 8.9
LDNRD	8	124 \pm 3.7	32.4 \pm 1.9	150 \pm 11.3

* $P < 0.05$ vs grupo OS (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

- Población folicular.

El número total de folículos cuantificados, los folículos por rango, el diámetro promedio de los folículos sanos y atrésicos del ovario izquierdo y del derecho del grupo de animales con operación simulada fue semejante (Tabla 16).

La lesión del lado izquierdo, del derecho o completa del núcleo dorsal del rafé no modificaron el número total de folículos cuantificados en ambos ovarios. Sin embargo, se observó el aumento en el número de folículos preovulatorios cuantificados en el ovario derecho del grupo de animales con lesión izquierda o completa del núcleo dorsal del rafé (Tabla 16).

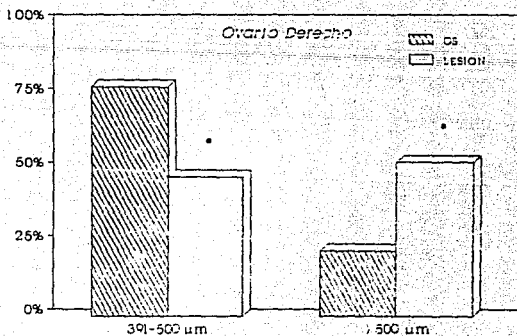
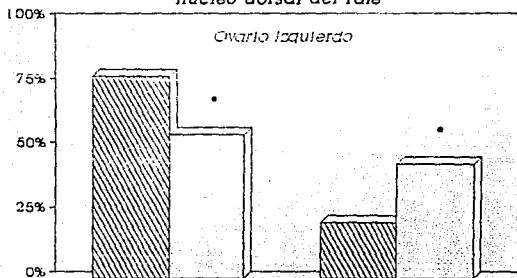
Tabla 16. Número de folículos (media \pm e.e.m.) en el ovario izquierdo (OI) o el ovario derecho (OD) de ratas hembras con operación simulada (OS), con lesión del lado izquierdo del núcleo dorsal del rafe (LINDR), lesión derecha (LDNDR) o lesión completa (LCNDR), sacrificadas al primer estro vaginal.

GRUPO		FOLICULOS TOTALES	DISTRIBUCION POR RANGO		
			<390 μ m	391-500 μ m	>500 μ m
OS	OI	91.0 \pm 6.9	79.5 \pm 6.5	9.0 \pm 1.8	2.6 \pm 0.7
	OD	82.7 \pm 6.1	72.2 \pm 5.9	8.1 \pm 2.0	2.0 \pm 0.7
LCNDR	OI	114.0 \pm 13.7	105.0 \pm 12.5	5.0 \pm 2.0	4.0 \pm 0.6
	OD	104.7 \pm 14.2	92.0 \pm 9.6	6.0 \pm 3.6	6.7 \pm 1.3 *
LINDR	OI	87.7 \pm 9.4	81.4 \pm 7.4	13, 3	2, 1
	OD	101.3 \pm 0.3	91.0 \pm 1.5	4.3 \pm 1.5	6.0 \pm 1.2 *
LDNDR	OI	95.7 \pm 7.6	86.0 \pm 7.4	6.7 \pm 1.3	3.0 \pm 1.0
	OD	85.0 \pm 1.2	77.7 \pm 2.2	6.3 \pm 1.9	2, 1

* $P < 0.05$ vs mismo ovario del grupo OS (Prueba de Kruskal-Wallis).

La población folicular de los animales con operación simulada, expresada como el porcentaje de los folículos medianos y preovulatorios del total, fue semejante en ambos ovarios. En cambio, la proporción de folículos preovulatorios en los ovarios de los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe, aumentó en ambos ovarios (Figura 12).

Fig. 12. Distribución de los folículos de los ovarios de ratas con operación simulada (OS) o lesión completa del núcleo dorsal del raté



* P (0.05 vs OS

En los animales con lesión unilateral del núcleo dorsal del raqué, el ovario contralateral a la lesión aumentó significativamente la proporción de folículos preovulatorios, mientras que no se observaron modificaciones en el ovario ipsilateral a la lesión (Figura 13).

Todos los folículos preovulatorios cuantificados en los animales con operación simulada o con lesión del núcleo dorsal del raqué presentaron signos de atresia, siendo el más frecuente la presencia de folículos con dos ovocitos o más.

Los resultados de este experimento permiten sugerir que la información que se origina en el núcleo dorsal del raqué regula de manera estimulante la liberación de las gonadotropinas, especialmente la de la LH, ya que ninguno de los animales con lesión completa de este núcleo ovuló, pese a que en el ovario se observó la presencia de folículos preovulatorios.

El hecho que en los animales con lesión unilateral del núcleo dorsal del raqué aumenta el número de ovocitos liberados por el ovario ipsilateral a la lesión, lleva a pensar que esta región del núcleo del raqué envía información directa hacia los ovarios, la cual podría modular de manera inhibitoria el crecimiento y la maduración folicular.

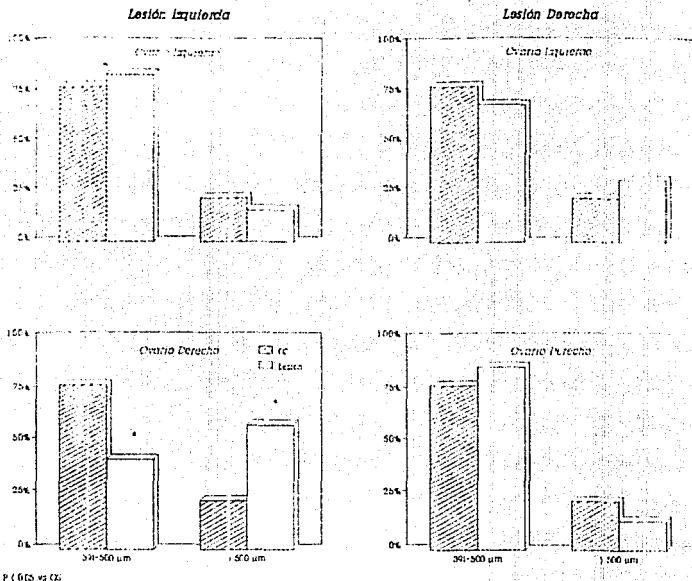


Fig. 13. Distribución de los folículos de los ovarios de ratas con lesión del lado izquierdo o derecho del núcleo dorsal del rafe

5. Efecto de la deservación serotoninérgica central sobre la pubertad inducida.

Para analizar si el bloqueo de la ovulación en los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe, está vinculada a la inhibición de la secreción de la LH, se realizó el reemplazo hormonal con hCG en animales bajo las mismas condiciones del experimento anterior.

A ratas hembras de 30 días de edad se les realizó la lesión completa del núcleo dorsal del rafe siguiendo la metodología antes mencionada. A las 16:00 h del día 40 de edad, a los animales se les inyectaron 10 u.i. de hCG, s.c. y fueron sacrificados 20 h después.

RESULTADOS

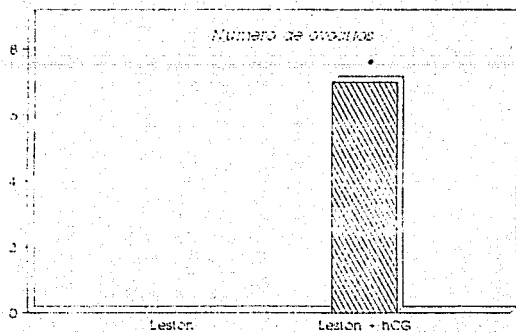
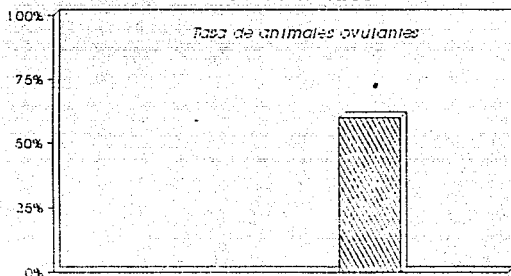
-Tasa de animales ovulantes y número de ovocitos.

El reemplazo hormonal con hCG indujo la ovulación en el 60% de los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe. El número de ovocitos liberados por animal ovulante fue semejante al del grupo con operación simulada (7.0 ± 0.6 vs 7.7 ± 0.4) (Figura 14).

- Peso corporal y de órganos.

El tratamiento con hCG no modificó el peso corporal de los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe. En cambio el peso del ovario fue mayor y menor el del útero (Tabla 17).

Fig. 14. Respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos) de ratas con lesión completa del núcleo dorsal del raté + hCG



• $P < 0.05$ vs grupo Lesion

Tabla 17. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.e.m.) de ratas hembras con lesión completa del núcleo dorsal del raquí (LCNDR) o con LCNDR + 10 u.i. de hCG.

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
LCNDR	8	104 \pm 4.8	18 \pm 0.9	131 \pm 15.7
LCNDR+hCG	5	107 \pm 2.2	32 \pm 2.5 *	64 \pm 3.7 *

* P<0.05 vs grupo con LCNDR (Prueba de "t" de Student).

- Población folicular.

La administración de la hCG aumentó el diámetro promedio de los folículos atrésicos tanto en el ovario izquierdo como en el derecho (ovario izquierdo: 373.7 \pm 22.8 vs 297.9 \pm 10.9; ovario derecho: 409.8 \pm 23.8 vs 342.1 \pm 16.4) y no modificó el número total de folículos cuantificados ni la proporción de folículos preovulatorios observadas en los animales con lesión completa del núcleo dorsal del raquí (ovario izquierdo: 87.3 \pm 6.9 vs 114.0 \pm 13.7; 66 % vs 44 %, respectivamente), (ovario derecho: 89.7 \pm 1.7 vs 104.7 \pm 14.2; 51 % vs 53 % respectivamente).

Los resultados de este experimento permiten sostener la interpretación de que la lesión completa del núcleo del raquí, bloqueó la secreción preovulatoria de la LH en la tarde que precede a la primera ovulación. por lo que la inervación serotoninérgica que se origina en esta región del núcleo dorsal del raquí participa en la regulación estimulante de la secreción de la LH.

DISCUSION

Los resultados de este estudio permiten concluir que en el animal prepúber el sistema serotoninérgico modula de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas y la reactividad del ovario a las mismas y que la participación de este sistema varía durante el desarrollo postnatal del animal. El adelanto en la edad de apertura vaginal y del primer estro, el aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante y la disminución del número de folículos preovulatorios medianos y grandes en los ovarios, apoyan esta interpretación. Una conclusión semejante, utilizando un modelo de estudio in vitro fue alcanzada por Arias y colaboradores (11).

El adelanto en la edad de apertura vaginal y de la proporción de animales que presentaron un estro vaginal en ese momento, permiten sugerir que la secreción de estrógenos fue adelantada en estos animales. Esta interpretación es apoyada por las evidencias que muestran que la administración de estrógenos a ratas durante la etapa juvenil inducen la apertura vaginal precoz, lo cual representa el efecto directo de los estrógenos sobre la vagina (69).

El adelanto del primer estro vaginal inducido por la desnervación serotoninérgica, acompañado de la ovulación en la mayoría de los animales indica un adelanto en la maduración del sistema neuroendocrino responsable de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas. En la fase

juvenil el sistema feedback estimulante de los estrógenos ha alcanzado un grado de maduración similar al del animal adulto, ya que la administración de estrógenos estimula la secreción de las gonadotropinas en cantidades similares a las del proestro del animal adulto cíclico (5, 57, 58, 60). Es posible sugerir que la falta de serotonina estimula al ovario a que adquiriera la capacidad de producir concentraciones de estradiol de magnitud a la preovulatoria a una edad más temprana. Por ello, es posible pensar que en condiciones normales la serotonina modula de manera inhibitoria el desarrollo del mecanismo de feedback positivo de los estrógenos que culmina con la ovulación. Una interpretación semejante sobre participación de la serotonina en la regulación de la liberación de la LH ha sido postulada previamente (1, 55).

El aumento en la respuesta ovulatoria, medida por el número de ovocitos liberados por animal ovulante, en los animales con desnervación serotoninérgica iniciada al nacimiento o a los 10, 24 y 30 días de edad, puede ser explicada por la aceleración del crecimiento folicular en respuesta al aumento en las concentraciones de gonadotropinas, al aumento de la sensibilidad de los folículos a las mismas o a la combinación de ambos factores. Dado que los efectos de la serotonina sobre la liberación de la LH son diferentes en el animal de 14 y el de 30 días (11) y que no afecta la liberación de FSH en la rata prepúber

(38), es posible suponer que este aumento en el número de ovocitos liberados sea el resultado de la modificación de más de un mecanismo de regulación del proceso ovulatorio.

En el animal adulto la serotonina ejercería un efecto inhibitorio sobre la liberación de las gonadotropinas, actuando en la eminencia media por fibras serotoninérgicas que interactúan con las que sintetizan la GnRH (14, 46, 64, 65) o en hipotálamo, activando receptores específicos en los somas de las neuronas productoras de la GnRH (40). Dado que la PCA inhibe la síntesis de la serotonina y atraviesa la barrera hematoencefálica (74, 75), la estimulación de la respuesta ovulatoria podría ser el resultado del aumento en la secreción de la GnRH y en la liberación de las gonadotropinas, inducidas por la disminución de la serotonina.

El aumento en la respuesta ovulatoria no parece estar vinculada a las modificaciones en la secreción de la FSH, ya que la falta de serotonina no modificó el crecimiento folicular en estos animales. Según diversos autores, durante la fase infantil se produce un pico de secreción de la FSH, que al parocer es necesario para que se de el desarrollo folicular normal (20, 52) y durante la etapa juvenil se producen ondas de desarrollo folicular y atresia que son eventos regulados por la FSH entre otras hormonas (62, 78, 88). Con base en estos resultados, es posible sugerir que la serotonina no modula los mecanismos neuroendócrinos que

regulan la secreción de la FSH y si los de la LH, tal y como ha sido postulado por otros (11, 38).

Al parecer la participación del sistema serotoninérgico sobre la regulación de la secreción de la LH es diferente durante el desarrollo postnatal de la rata hembra. Se ha mostrado que entre el día 16 y 20, la serotonina estimula la secreción de las gonadotropinas, mientras que alrededor de los días 20-26 de edad este efecto desaparece y a los 30 días ejerce un efecto de de tipo inhibitorio (1, 11).

La desnervación serotoninérgica iniciada a los 5 y 21 días de edad no modificó la edad del primer estro vaginal, ni la respuesta ovulatoria. Estos resultados pueden ser interpretados como índice de que la serotonina a esta edad no modula los mecanismos neuroendocrinos que regulan el inicio de la pubertad. Sin embargo, en estos animales disminuyó el número total de los folículos, este evento puede ser el resultado del enlentecimiento del crecimiento folicular. Este hecho, podría ser la consecuencia en la disminución de la capacidad de respuesta del ovario a las gonadotropinas, inducida por la falta de serotonina.

Estudios de diversos autores muestran que la estimulación farmacológica del sistema serotoninérgico provoca resultados inversos a los obtenidos en el presente trabajo, es decir, retraso en la edad de la canalización vaginal, del primer estro y de la ovulación (62, 73).

Con base en el conjunto de resultados obtenidos en este trabajo y en otros, se puede sugerir que la inervación serotoninérgica modula el inicio de la pubertad espontánea por varias vías: regulando la secreción de la LH; la respuesta del ovario a las mismas, donde su participación sería estimuladora o inhibitoria dependiendo de la edad del animal, o actuando en ambos procesos.

La administración de la pCA indujo la disminución del peso corporal en todos los animales. Este hecho podría estar relacionada con una disminución en la secreción de la hormona de crecimiento, ya que se postula que el sistema serotoninérgico estimula la secreción de esta hormona, ya que a nivel del hipotálamo induce liberación de somatostatina (15, 50, 94).

En el modelo de pubertad inducida, se muestra que en la rata hembra prepúber la administración de la PMSG induce el adelanto en la edad de la apertura vaginal y la ovulación, sólo cuando el estímulo se produce después del día 22 de edad. Estos eventos son el resultado de la estimulación del crecimiento y la maduración folicular, aumento en la secreción de los estrógenos y la participación de estos en el cierre de los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la secreción preovulatoria de las gonadotropinas y la ovulación (29, 59, 60).

Nuestros resultados confirman los resultados de otros autores (89, 98), sobre el paralelismo entre el

adelanto de la edad de la apertura vaginal y de la ovulación en animales tratados con PMSG depende de la edad en que se realiza el estímulo. Cuando éste se realiza en el día 18 los animales abren vagina pero no ovulan en el primer día de estro vaginal. En los animales tratados a partir del día 21, la respuesta ovulatoria [tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados] es directamente proporcional la edad del animal.

La desnervación serotoninérgica no modificó el adelanto de la edad de apertura vaginal inducida por el tratamiento con la PMSG, pero disminuyó la respuesta ovulatoria (número de animales ovulantes/número de animales tratados y número de ovocitos liberados por animal ovulante) y aumentó el índice de animales con útero distendido. Estos hechos indicarían que la serotonina no tiene un papel importante en la regulación de la secreción de estrógenos por el ovario, pero si participaría en la regulación de los mecanismos que regulan el feedback estimulante de los estrógenos sobre la modulación de la secreción de las gonadotropinas que culmina con la ovulación. Estos resultados confirman lo observado previamente por Brown (12) en el ratón y difieren con los encontrados por otros autores para el caso de la rata (41, 44, 62, 63, 73, 96).

Con base en nuestros resultados se sugiere que en los animales con desnervación serotoninérgica y estimulados con PMSG, la secreción de estrógenos fue suficiente como para

estimular la canalización vaginal, pero no como para disparar la secreción preovulatoria de la GnRH y la LH, ya que la falta del estímulo serotoninérgico impidió el cierre del circuito neuroendócrino de regulación de la secreción preovulatoria de la GnRH y la LH.

A diferencia de lo observado en los animales tratados con PMSG, nuestros resultados muestran que la poliovulación provocada por la administración secuencial de PMSG-hCG no es directamente proporcional con la edad del animal, ya que la máxima respuesta ovulatoria se presenta en el animal de 24 días y disminuye conforme el animal se acerca a la pubertad. En la regulación de este proceso la serotonina no parece tener participación ya que la desnervación no modificó esta respuesta.

La respuesta ovulatoria normal observada en los animales desnervados, tratados en forma secuencial con PMSG-hCG, en comparación con la disminución de esta respuesta en los animales desnervados y tratados sólo con PMSG apoya la idea de que la serotonina participa en la regulación de la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH. No se puede descartar, sin embargo, que estos resultados sean debidos en parte a que este neurotransmisor regule la reactividad del ovario a las gonadotropinas.

El conjunto de estos resultados apoyan la idea de que la inervación serotoninérgica modula la pubertad en la

rata hembra regulando la secreción de las gonadotropinas, principalmente de la LH,

La disminución de la frecuencia de la apertura vaginal en los animales tratados con PMSG-hCG y en los que previamente se desnervaron y se sometieron al mismo estímulo, puede indicar que el ovario no secretó la cantidad suficiente de estrógenos que estimulen la canalización vaginal, interpretación apoyada por la disminución del peso del útero en estos animales. Otra posible explicación es un aumento en la secreción de progesterona inducida por la hCG la cual provoca disminución en el número de los receptores a estrógenos en vagina y útero (8).

Los resultados obtenidos en los animales con lesión completa del núcleo dorsal del raquí a los 30 días de edad, indican que la información serotoninérgica que se origina en esa zona, participa de manera estimulante en los mecanismos que regulan la liberación de las gonadotropinas, especialmente la de la LH, ya que ninguno de los animales ovuló, pese a que en el ovario se observó la presencia de folículos preovulatorios, y si lo hicieron cuando se les inyectó hCG.

El retraso en la edad de apertura vaginal en los animales con lesión del lado derecho del núcleo del raquí y el incremento en la frecuencia de los animales que mostraron citología vaginal en diestro, indican que la inervación serotoninérgica que se origina en el núcleo dorsal del raquí

regula la secreción de estrógenos, modificaciones que pueden deberse al aumento en la secreción de prolactina, como se ha postulado para el animal entero (91).

La falta de ovulación en los animales con lesión completa del núcleo dorsal del rafe, puede ser el reflejo del bloqueo de la secreción de las gonadotropinas, principalmente de la LH. El hecho, de que la administración de hCG en estos animales restauró la ovulación apoya esta idea. Al parecer la secreción de la FSH no se modifica por la falta de inervación serotoninérgica que se origina en este núcleo, dado que, en los ovarios de estos animales se observaron folículos preovulatorios.

Se ha mostrado que las fibras serotoninérgicas que se originan en el núcleo dorsal del rafe ascienden hasta el hipotálamo y la eminencia media. La lesión electrolítica de este núcleo disminuye la concentración de la serotonina y provoca degeneración de las fibras serotoninérgicas que llegan a eminencia media y disminuye la concentración de la LH en el plasma (36, 40, 64, 90, 90).

Con base en nuestros resultados antes mencionados, aunados a los de otros autores (90, 91) es posible sugerir que la inervación serotoninérgica que se origina en el núcleo dorsal del rafe regula de manera estimuladora la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH.

El aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario ipsilateral a la lesión unilateral del núcleo

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

dorsal del rafé permite suponer que existe una conexión neural directa entre esta región del núcleo del rafé y los ovarios y que la información que por ella transcurre modula de manera inhibitoria el crecimiento y la maduración folicular. El incremento en el número de folículos preovulatorios en el ovario contralateral a la lesión nos permite sugerir que la presencia de esa influencia neural inhibitoria, que se origina en el lado remanente del núcleo dorsal del rafé, se traduce en la disminución en la capacidad de respuesta del folículo ovárico a la LH.

La existencia de una conexión neural entre diferentes regiones del SNC y el ovario ha sido postulada previamente por otro autore (16, 17, 18). El bloqueo del sistema colinérgico de las áreas preóptica e hipotálamica anterior disminuye la proporción de folículos preovulatorios y la incidencia de atresia (16). En el animal hemicastrado, la lesión electrolítica del hipotálamo anterior bloquea el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario remanente (17, 18). Estas evidencias aunadas a nuestros resultados, nos permiten sugerir, que la regulación del crecimiento y la maduración del folículo y la ovulación está vinculada a influencias neurales, además de las hormonales.

CONCLUSIONES

- En la rata hembra prepúber el sistema serotoninérgico modula los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad.
- El sistema serotoninérgico regula la secreción de la LH y la ovulación espontánea y su participación es diferente a lo largo del desarrollo prepúberal del animal.
- El desarrollo del mecanismo de feedback positivo de los estrógenos en la rata hembra prepúber es regulado de manera inhibitoria por el sistema serotoninérgico.
- La inervación serotoninérgica que se origina en el núcleo dorsal del raquídeo ejerce una influencia de tipo estimulatoria en la regulación de la secreción de la LH.
- La lesión unilateral del núcleo dorsal del raquídeo modifica la reactividad del folículo ovárico a las gonadotropinas.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS, L. A. y STEINER, R. A. (1988). Puberty. Rev. of Reproductive Biology 10; 1-52.
2. ADVIS, J. P., ANDREWS, W. W. y OJEDA, S. R. (1979). Changes in ovarian steroidal and prostaglandin E responsiveness to gonadotropins during the onset of puberty in the female rat. Endocrinology 104; 653-658.
3. ADVIS, J. P., SIMPKINS, J. W., BENETT, J. y MEITES, J. (1970). Serotonin control of prolactin release in male rats. Life Science 24; 359-366.
4. ANDREWS, W. W., ADVIS, J. P. y OJEDA, S. R. (1981). The maturation of estradiol-negative feedback in female rats: Evidence that the resetting of the hypothalamic "Gonadostat" does not precede the first preovulatory surge of gonadotropins. Endocrinology 109; 2022-2031.
5. ANDREWS, W. W., MIZEJEWSKI, G. J. y OJEDA, S. R. (1981). Development of estradiol positive feedback on luteinizing hormone release in the female rat: A quantitative study. Endocrinology 109; 1404-1413.
6. ANDREWS, W. W. y OJEDA, S. R. (1977). On the feedback actions of estrogen on gonadotropin and prolactin release in infantile female rats. Endocrinology 101; 1571-1523.
7. ANTON-TAY, F., CHOU, CH., ANTON, S. y WURTMAN, R.J. (1968). Brain serotonin concentration. Elevation following intra-peritoneal administration of melatonin. Science 162; 277-278.
8. ARAKAWA, S., IYO, M., OHKAWA, R., KAMBEGAWA, A., OKINAYA, S. Y. y KIYOSHI, A. (1989). Steroid hormone receptors in the uterus and ovary of immature rats treated with gonadotropins. Endocrinol Japon 36; 219-228.
9. ARENDASH, G. W. y GALLO, R. V. (1978). Serotonin involvement in the inhibition of episodic luteinizing hormone release during electrical stimulation of the midbrain dorsal raphe nucleus in ovariectomized rats. Endocrinology 102; 1199-1206.
10. ARENDASH, G. W. y GALLO, R. V. (1979). Effect of lesions in the suprachiasmatic nucleus-retrochiasmatic area on the inhibition of pulsatile LH release induced by electrical stimulation on the midbrain dorsal raphe nucleus. Neuroendocrinology 28; 349-357.

11. ARIAS, P. B., SZWARCFARB, D. C., CARBONE, S. R., SVERDLIK, R. y MOGUILLEVSKY, J. A. (1990). In vivo and in vitro studies on the effect of the serotonergic system on luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone secretion in peripubertal female rats. Brain Research 523; 57-61.
12. BROWN, P. S. (1971). Pituitary follicle-stimulating hormone in immature female rats treated with drugs that inhibit the synthesis or antagonise the actions of catecholamines and 5-hydroxytryptamine. Neuroendocrinology 7; 183-192.
13. COEN, C. W. y MCKINNON, P. C. (1979). Serotonin involvement in the control of phasic luteinizing hormone release in the rat: Evidence for a critical period. Endocrinology 82; 105-114.
14. CRAMER, O. M. y BARRACLOUGH, CH. A. (1978). The actions of serotonin, norepinephrine, and epinephrine on hypothalamic processes leading to adenohypophyseal luteinizing hormone release. Endocrinology 103; 694-703.
15. CROWLEY, W. R. y ENLAND, F. P. (1981). Neurotransmitter systems anatomy and pharmacology En: " Neuroendocrinology of reproduction physiology and behavior". ed. N. T. Adler D. Cap. 4 Plenum Press New York.
16. CRUZ, M. E. (1991). Asimetría hipotalámica en los mecanismos que regulan la función del ovario. Estudio experimental en la rata adulta. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biomedicas.
17. CRUZ, M. E., JARAMILLO, L. P. y DOMINGUEZ, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. Journal of Endocrinology 123; 437-439.
18. CRUZ, M. E., MORAN, J. L., JARAMILLO, L. P. y DOMINGUEZ, R. (1989). Differential effects of unilateral hypothalamic lesion on ovulatory and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rats. Journal of Endocrinology 124; 37-41.
19. CHAN, V., CLAYTON, R. N., KNOX, G. y CATT, K. J. (1981). Ontogeny of pituitary GnRH receptors in the rat. Endocrinology 108; 2086-2092.
20. CHAPPEL, S. C., ULLOA-AGUIRRE, A. y COUTIFARIS, CH. (1983). Biosynthesis and secretion of follicle stimulating hormone. Endocrine Society 4; 179-21.

21. CHAVEZ, R., DOMINGUEZ, R. y CRUZ, Ma. E. (1987). Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamines depletion in vagotomized adult rats. *La Revista de Investigación Clínica (México)* 39; 149-153.
22. DALKIN, A. C., BOURNE, G. A., PIEPER, D. R., REGIANI, S. y MARSHALL, J. C. (1981). Pituitary and gonadal gonadotropin-Releasing hormone receptors during sexual maturation in the rat. *Endocrinology* 108; 1658-1663.
23. DOMINGUEZ, R., CHAVEZ, R. y CRUZ, M. E. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: "Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción".ed. R. Domínguez, UNAM-PURRUA, México, pp. 161-192.
24. FRANCE, E. S. (1970). Reversal by pargyline of reserpine block of induced ovulation. Direct ovarian effects. *Neuroendocrinology* 6; 77-89.
25. FRANKFURT, M., LAUDER, J. M. y AZMITIA, E. C. (1991). The immunocytochemical localization of serotonergic neurons in the rat hypothalamus. *Neuroscience Letters* 24; 227-232.
26. FRASCHINI, F. (1970). Role of indoleamines in the control of the secretion of pituitary gonadotropins. En: "Neurochemical aspects of hypothalamic function".Academic Press, Inc. New York and London. 141-159.
27. FRAWLEY, L. S. y HENRICKS, D. M. (1979). Mode of gonadotropin secretion in infantile female rats and the role of estrogen in feedback regulation. *Endocrinology* 105; 1064-1072.
28. FUXE, K. y HOKFELT, T. (1969). Monoamine afferent input to the hypothalamus and the dopamine afferent input to the median eminence. En: *Frontiers in Neuroendocrinology*, eds. Ganong, W. F. & Martini, L., 47; 495-502, University Press London.
29. GOLDMAN, B. D. (1981). Puberty. En: "Neuroendocrinology of Reproduction", Adler, N. T. Plenum Press. N. Y. y London; 229-239.
30. GORSKI, R. A. (1974). Extrahypothalamic influences on gonadotropin regulation. En: *Control of the onset of puberty* ed. J. Wiley y Sons. New York; 182-207.
31. HAGINO, N., RAMALEY, J. A. y GORSKI, R. A. (1966). Inhibition of estrogen induced precocious ovulation by

pentobarbital in the rat. *Endocrinology* 72; 451-454.

32. HAMON, M., JAVOY, F., KORDON, C. y GLOWINSKY, J. (1986). Synthesis and release of serotonin in the median eminence of the rat. *Life Sciences* 2; 167-168.
33. HERY, M., LAPLANTE, E. y KORDON, C. (1976). Participation of serotonin in the phasic release of LH. I. Evidence from pharmacological experiments. *Endocrinology*, 99; 496-503.
34. HERY, M., LAPLANTE, E. y KORDON, C. (1978). Participation of serotonin in the phasic release of luteinizing hormone. II. Effects of lesions of serotonin containing pathways in the central nervous system. *Endocrinology* 102; 1019-1025.
35. HIRSHFIELD, A. N. y MIGDLEY, A. R. (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology Reproduction* 19; 597-605.
36. JENNES, L., BECKMAN, W. C., STUMPF, W. E. y GRZANNA, R. (1982). Anatomical relationships of serotonergic and noradrenergic projections with the GnRH systems in septum and hypothalamus. *Experimental Brain Research*. 46; 331-338.
37. JOHNS, M. A., AZMITIA, E. C. y KRIEGER, D. T. (1982). Specific in vitro uptake of serotonin by cells in the anterior pituitary of the rat. *Endocrinology* 110 ; 754-760.
38. JUSTO, S. N., ROSSANO, G. L., SZWARCFARB, B., RUBIO, M. C., MOGUILLEVSKY, J. A. (1985). Effect of serotonergic system on FSH secretion in male and female rats: Evidence for stimulatory and inhibitory actions. *Neuroendocrinology* 14; 69-78.
39. KAMBERI, I. A. (1972). Biogenic amines and neurohumoral control of gonadotropin and prolactin secretion. *International Congress Series Endocrinology* 273; 18-24.
40. KISS, J. y HALASZ, B. (1985). Demonstration of serotonergic axons terminating on luteinizing hormone releasing neurons in the preoptic area of the rat using a combination of immunocytochemistry and high resolution autoradiography. *Neuroscience* 14; 69-78.
41. KORDON, C. (1969). Effects of selective experimental changes in regional hypothalamic monoamine levels on superovulation in the immature rat. *Neuroendocrinology* 4; 129-138.

42. KORDON, C., ENJALBERT, A., HERY, M., JOSEPH-BRAVO, P. I., ROTSZTEJN, W. y RUBERG, M. (1980). Role of neurotransmitters in the control of adenohipophyseal secretion. Chap. 4, En: Handbook of the hypothalamus. Vol.II. eds. P.J. Morgane, J. Panksepp y M.D. Ckker; 253-286.
43. KORDON, C. y GLOWINSKI, I. (1972). Role of hypothalamic monoaminergic neurons in the gonadotrophin release-regulating mechanins. *Neuropharmacology* 11; 153-162.
44. KORDON, C., JAVOY, F., VASSENT, G. y GLOWINSKI, J. (1968). Blockade of superovulation in the immature rat by increased brain serotonin. *European Journal of Pharmacology* 4; 169-174.
45. KOSOFSKY, B. E. y MOLLIVER, M. E. (1987). The serotonergic innervation of cerebral cortex: Different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse* 1; 153-168.
46. LABHSETWAR, A. P. (1971). Effects of serotonin on spontraneous ovulation in rats. *Nature* 229; 203-204.
47. LAMBERTS, W. J. y MCLEOD, R. M. (1978). The mechanism of action of the "specific" serotonin receptor antagonist, methylsergide. *Endocrinology* 103; 287-295.
48. LANG, U., AUBERT, M. L. y SIZONENKO, P.C. (1981). Location of melatonin receptors. *Pediatr. Res.* 5; 80-85.
49. LARSON, B. S., STNHA, V. N. y VANDERLAAN, W. P. (1977). Effect of 5-hidroxitriptofan on prolactin secretion in the mouse. *Journal of Endocrinology* 74; 153-154.
50. LINDSTROM, P. y OHLSSON, L. (1987). Effects of 5 Hydroxytryptamine, dopamine and aromatic L-amino acids on growth hormone (GH) releasing-factor stimulated GH release in rat anterior pituitaries. *Endocrinology* 120; 780-784.
51. LUNA, L. G. (1975). Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company, New York, pp. 21.
52. MEIJS-ROELOFS, H. M. A., VAN CAPPELLEN, W. A., VAN LEEUWEN, E. C. M. y KRAMER, P. (1990). Short and long-term effects of an LHRH antagonist given during the prepubertal period on follicle dynamics in the rat. *Journal of Endocrinology* 124; 247-253.

53. MESEY, E., LERANTH, C., BROWNTTEIN, M. J., FRIEDMAN, E., KRIEGER, D. T. y PALKOVITS, M. (1984). On the origen of the serotonergic input to the intermediate lobe of the rat pituitary. *Brain Research* 294; 231-237.
54. MEYER, C. D. (1978). Hypothalamic and raphe serotonergic systems in ovulation control. *Endocrinology* 103; 1067-1077.
55. MOGUILVSKY, J. A., FAIGON, M. R., SCACCHI, P., SZWARCFARB, B. (1985). Effect of serotoninergetic system on luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats. *Neuroendocrinology* 40; 135-138.
56. ODELL, W. D. y SWERDLOFF, R. S. (1974). The role of the gonads in sexual maturation. En: "Control of the onset of puberty". eds. J. Wiley y Sons, N. Y.; 313-332.
57. OJEDA, S. R., AGUADO, L. I. y WHITE, S. S. (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rats as a model. *Neuroendocrinology* 17; 306-313.
58. OJEDA, S. R., SMITH-WHITE, S., AGUADO, L. I., ADVIS, J. P. y ANDERSE J.M. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36; 261-267.
59. OJEDA, S. R. y URBANSKI, H. F. (1988). Puberty in the rat En: *The physiology of reproduction*. eds. E. Knobil, J. Neil. New York, pp. 1699-1737.
60. OJEDA, S. R., URBANSKI, H. F. y AHMED, C. E. (1986). The onset of female puberty: Studies in the rat. *Recent Progress in hormone Research* 42; 385-44.
61. OJEDA, S. R., WEATHON, J. E., JAMESON, H. E. y McCANN. (1976). The onset of puerty in the female rat: Changes in the plasma prolactin, gonadotrpins, Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH), and hypothalamic LHRH content. *Endocrinology* 98; 630-638.
62. O'STEEN, W. K. (1964). Serotonin supression of luteinization in gonadotrophin-treated, inmature rats. *Endocrinology* 74; 885-888.
63. O'STEEN, W. K. (1965). Supression of ovarian activity in immature rats by serotonin. *Endocrinology* 77; 937-939.
64. PALKOVITS, M., SAAVEDRA, J. M., JACOBOWITZ, D. M., KIZER, J. S., ZABORZKY, L. y BRO'NSTEIN, M. J. (1977). Serotoninergetic innervation of the forebrain: Effect of

- lesions on serotonin and triptophan hydroxylase levels. *Brain Research* 130; 121-134.
65. PARISI, M. N., VITALE, M. L., CHIOCCHIO, S. R. y TRAMEZZANI, J. H. (1978). Serotonin levels in rat median eminence change during the estrous cycle.
 66. PAYETTE, R. F., GERSHON, M. D. y NUNEZ, E. A. (1985). Serotonergic elements of the mammalian pituitary. *Endocrinology* 116; 1933-1942.
 67. RAMIREZ, V. D. (1973). Endocrinology of puberty. En: *Handbook of Physiology. American Physiological Society. Vol. II. Cap. 1, Washington: 1-28.*
 68. RAMIREZ, V. y Mc CANN (1963). A comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats. *Endocrinology* 72; 1158-1168.
 69. RAMIREZ, V. y SAWYER, CH. (1965). Advancement of puberty in the female rat by estrogen. *Endocrinology* 76; 1158-1168.
 70. REITER, R. J. (1980). The pineal gland and its hormone in the control of reproduction in mammals. *Endocr. Rev.* 1; 109-193
 71. REPPERT, S. M. y KLEIN, D. C. (1980). Mammalian pineal gland basic and clinical aspects. In: *The endocrine functions of the brain.* ed. M. Ph. D. Motha, Raven Press New York; 327-371.
 72. RICHARDS, J. S., IRELAND, J. J., RAO, M. C., BERNATH, G. A. MIDDLEY, A. R. y REICHERT, L. E. (1976). Ovarian follicular development in the rat: Hormone receptor regulation by estradiol follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. *Endocrinology* 99; 1562.
 73. ROBSON, J. M. y BOTROS, M. (1961). The effect of 5-hydroxytryptamine and of monoamine oxidase inhibitors on sexual maturity. *Journal of Endocrinology* 22; 165-175.
 74. SANDERS-BUSH, E., BUSHING, J. A. y SULSER, F. (1972). Long-term effects of p-cloroamphetamine on tryptophan hydroxylase activity on the levels of 5-hidroxyindoleacetic acid in brain. *European Journal of Pharmacology* 20; 385-388.
 75. SANDERS-BUSH, E. y MASSARI, V. J. (1977). Actions of drugs that deplete serotonin. *Federation Proceedings* 36; 2149-2153.

76. SAWYER, CH. y CLIFTON, D. K. (1980). Aminergic innervation of the hypothalamus. Federation Proceedings 32; 2889-2893.
77. SHERWOOD, N. M. y TIMIRAS, P. S. (1970). A stereotaxic atlas of the developing rat brain.
78. SIZONENKO, P. C. y AUBERT, M. L. (1986). Neuroendocrine changes characteristic of sexual maturation. Journal of Neural Transm. 21; 159-181.
79. SMITH-WHITE, S. y OJEDA, S. R. (1981). Changes in ovarian luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the female rat. Endocrinology 109; 273-276.
80. SMITH-WHITE, S. y OJEDA, S. R. (1981). Changes in ovarian LHRH receptor content during the onset of puberty in the female rat. Endocrinology 108; 347-349.
81. SMITH-WHITE, S. y OJEDA, S. R. (1983). Peripubertal decline in ovarian LHRH receptor content: Characterization and distribution. Neuroendocrinology 36; 449-456.
82. SMITH-WHITE, S. y OJEDA, S. R. (1986). Neonatal release of gonadotropins in essential for development of ovarian follicle-stimulating hormone receptors. Biology of Reproduction 34; 219-227.
83. TAKEUCHI, Y. (1988). Distribution of serotonin neurons in the mammalian brain. En: Neuronal serotonin, eds. N.M. Osborne. M. Hamon, New York, pp. 25-56.
84. TIMA, L., TRENTINI, G. P. y MESS, B. (1973). Effect of serotonin on ovulation induced by pinealectomy in anovulatory frontal-Deafferented rats. Endocrinology 12; 149-152.
85. URBANSKI, H. F. y OJEDA, S. R. (1985). The juvenile-peripubertal transition period in the female rat: Establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. Endocrinology 117; 644-649.
86. URBANSKI, H. F. y OJEDA, S. R. (1986). The development of afternoon minisurges of luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats in ovary dependent. Endocrinology 118; 1187-1193.

87. VAN de KAR, L. D., KARTESZI, M., BETHEA, C. L. y GANONG, W. F. (1985). Serotonergic stimulation of prolactin and corticosterone secretion in mediated by different pathways from the mediobasal hypothalamus. *Neuroendocrinology* 41; 380-384.
88. VAN CAPPELLEN, W. A., MEIJS-ROELOFS, H. M. A., KRAMER, P. y VAN DEN DUNGEN, H. M. (1989). ovarian follicle dynamics in immature rats treated with a luteinising hormone-releasing hormone antagonist (Org. 30276). *Biology of Reproduction* 40; 1247-1256.
89. VILLAVICENCIO, J. (1991). Un estudio de los mecanismos el crecimiento y la diferenciación folicular en la rata prepúber: El papel de la hormona estimulante del foliculo y sus isohormonas. Tesis de Maestría. UAM-Iztapalapa.
90. VILLAR, J. M., CHIOCCHIO, S. R. y TRAMEZZANI, J. A. (1984). Origin and termination of dorsal raphe-median eminence projection. *Brain Research* 324; 165-170.
91. VITALE, M. L., VILLAR, M. J., CHIOCCHIO, S. R. y TRAMEZZANI, J. H. (1987). Dorsal raphe lesion alters the estrous cycle and the preovulatory gonadotropin release. *Neuroendocrinology* 46; 252-257.
92. VIVIAN, CH (1975) The GnRH receptors in the gonad and hypothalamic content. *Endocrinology* 70; 1179-1186.
93. WESTLUND, K. N. y CHILDS, G. W. (1982). Localization of serotonin fibers in the rat adenohypophysis. *Endocrinology* 111; 1761-1763.
94. WEINER, R. R. y GANONG, W. F. (1978). Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiological Reviews*. 58; 905-976.
95. WILSON, C. A. y ENDERSBY, C. A. (1979). the stimulatory effect of 5-HT and the role of the paraventricular nucleus on PMS induced ovulation in the immature rat. *Neuroendocrinology* 28; 415-424.
96. WILSON, C. A., HORTH, C. E., McNEILLY, A. y McDONALD, P. G. (1975). Effect of serotonin and progesterone on induced ovulation in immature rats. *Journal of Endocrinology* 64; 337-347.
97. WURTMAN, R. J., AXELROD, J. y PHILIPS, L. S. (1963). Melatonin synthesis in the pineal gland; Control by Light. *Science* 142; 1071-1073.

98. ZARROW, M. X. y QUINN, D. L. (1963). Superovulation in the immature rat following treatment with PMS alone and inhibition of PMS-induced ovulation. *Journal of Endocrinology* 26; 181-188.

PUBLICACIONES

Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas



XXXIII
Congreso Nacional de
Ciencias Fisiológicas

Programa general
y resúmenes



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CLUB CAMPESTRE "VILLA PRIMAVERA"

Guadalajara, Jal., agosto 5 al 9
1990

Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas



XXXIV
Congreso Nacional de
Ciencias Fisiológicas

Programa general
y resúmenes



UNIVERSIDAD DE COLIMA

Colima, Col., septiembre 8 al 12

1991

PAPÉL DEL SISTEMA EN ENERGÍA DE PDA-AHA EN LA REGULACIÓN DEL CRECIMIENTO Y LA ATRESIA DEL FOLÍCULO OVARIANO
 Cruz, M.L. y Domínguez, R. Laboratorio de Biología de la Reproducción, I.N.E.P., Zaragoza, U.R.S.S.

hemos mostrado que el implante unilateral de atropina en PDA-AHA, interrumpe los mecanismos neuroendocrinos que coinciden con la ovulación. Lo dependiente del lado de PDA-AHA y del día del ciclo estral. En este estudio se analizó la distribución y la atresia de los folículos de los ovarios de las animales que no ovularon cuando se les implantó la atropina en el día del estrus (lado derecho de PDA-AHA); diestro (lado derecho) o ligero (lado izquierdo) de estrus (lado izquierdo). Como grupo testigo se utilizaron los ovarios de las animales implantadas con colosterol.

En los animales implantados con colosterol aumentó el número de folículos en ambos ovarios (media ± s.e.m.: n=13) a los 95 y 131, P<0,02). En los animales con implante de atropina no se modificó el número de folículos, pero disminuyó la proporción de los preovulatorios jóvenes y aumentó la de los grandes, (n=10) ovario ipsilateral al implante. Los folículos atresivos fueron los preovulatorios (1528 ± 31 µm). Los sanos fueron los de reserva (230 ± 5 µm). En los animales implantados en diestro 2, no se observaron folículos preovulatorios. En los animales implantados en estrus o diestro 1, del lado derecho de PDA-AHA, sacrificados en preestrus, no se modificó el número de folículos, ni la proporción de los preovulatorios. Los folículos sanos fueron los de reserva (225 ± 16 µm) y los atresivos los fueron los preovulatorios (1587 ± 31 µm). En los animales implantados en diestro 2, disminuyó el número total de folículos (6 ± 1 vs 16 ± 2, P<0,02), desaparecieron los folículos preovulatorios (1387 ± 335 P<0,02). Se aumentó la proporción de los grandes (1025 ± 675, P<0,02); dichos folículos eran sanos, pero el diámetro promedio de los folículos atresivos fue de 238 µm. Nuestros resultados nos permiten sugerir que la falta de ovulación en las animales con implante unilateral de atropina se debe, en parte, al incremento en la incidencia de atresia de los folículos preovulatorios.

Ayudado por CONACYT (P-228CC0891502) y PUIS

LA PARTICIPACIÓN DE LA INYECCIÓN INTRAOVARIANA PERIFÉRICA EN LA REGULACIÓN DE LA PUBERTAD EN LA RATA ESTROGENIZADA AL NACIMIENTO
 Flores, A. y Domínguez, R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, I.N.E.P., Zaragoza, U.R.S.S.

En el animal prepuberal la interacción neuroendocrina del ovario regula de manera transitoria la acción de los gonadotropinos que culmina con la ovulación (McLachlan, 1972; 1973). Para analizar la participación de esta interacción en los efectos desovulatorios que producen los estrógenos sobre la ovariedad, se utilizaron ratas hembras recién nacidas que fueron tratadas con una dosis única de 20 µg de estradiol (E2) en forma de solución de etil alcohol (1 mg/ml) en el día del nacimiento (E2). Antes de la ovulación se sacrificó a las ratas el día en que se presentó el primer estrus vaginal (EV). En todas las animales se registró el día de la apertura vaginal (AV) y se sacrificaron el día del EV. A la Autopsia se realizaron y pesó los órganos y en los conductos se contó el número de ovocitos. Los resultados (Media ± s.e.m.) se muestran en las siguientes tablas:

GRUPO	n	edad (días)	ovarios	ovocitos	Adrenales
EV	10	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
AV	10	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
EV	10	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
AV	10	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0

Si se comparan los resultados obtenidos con grupos testigo autovacuna a la misma edad que los tratados se observó que:

GRUPO	ovos	ovocitos	Adrenales
EV	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
AV	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
EV	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0
AV	10.0 ± 1.0	101.5 ± 10.0	27.0 ± 2.0

Los resultados obtenidos nos sugieren que la derivación neuroendocrina periférica controla los efectos de los estrógenos y afecta a la misma edad que los tratados se observó que:

Trabajo apoyado por C.O.N.A.C.Y.T. y P.U.I.S.-U.N.A.M.

ANÁLISIS EXPERIMENTAL DE LOS EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DE LA TRONCOTOMÍA DEL OVARIO SUPRARRENAL SOBRE EL CRECIMIENTO DEL OVARIO EN LA RATA WISTAR
 Oñez, R. y Domínguez, R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, I.N.E.P., Zaragoza, U.R.S.S.

El presente trabajo muestra que, en ratas con una sola corteza ovárica del lado derecho del ovario, y que se les provocó un aumento de la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, se observó un aumento de la actividad de los ovarios. Con el fin de determinar si la reducción ovárica se asoció a la liberación de la actividad de los ovarios, se realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas.

Se utilizaron ratas Wistar de la línea C57BL/6J, se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios y se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas. Se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas.

OVARIOS SUPRARRENAL		OVARIOS SUPRARRENAL		OVARIOS SUPRARRENAL	
Grupo	Edad	Actividad	Edad	Actividad	Edad
EV	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
AV	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
EV	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
AV	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0

OVARIOS SUPRARRENAL		OVARIOS SUPRARRENAL		OVARIOS SUPRARRENAL	
Grupo	Edad	Actividad	Edad	Actividad	Edad
EV	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
AV	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
EV	27.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0
AV	28.0 ± 2.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0	10.0 ± 1.0

* P < 0.05 vs 0.05

Ayudado por CONACYT (P-228CC0891502) y PUIS

RESPUESTA OVARIANA A LA ADMINISTRACIÓN SUBCUTÁNEA DE PREGNOLÓN EN LA RATA WISTAR
 Flores, A. y Domínguez, R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, I.N.E.P., Zaragoza, U.R.S.S.

El presente trabajo muestra que, en ratas con una sola corteza ovárica del lado derecho del ovario, y que se les provocó un aumento de la actividad del eje hipotálamo-hipofisario, se observó un aumento de la actividad de los ovarios. Con el fin de determinar si la reducción ovárica se asoció a la liberación de la actividad de los ovarios, se realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas.

Se utilizaron ratas Wistar de la línea C57BL/6J, se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios y se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas. Se les realizó un estudio de la actividad de los ovarios en relación con el estado de la actividad de los ovarios en la misma ratas.

Los resultados obtenidos nos sugieren que la derivación neuroendocrina periférica controla los efectos de los estrógenos y afecta a la misma edad que los tratados se observó que:

Ayudado por CONACYT (P-228CC0891502) y PUIS

**PARTICIPACION DE LA INERVACION SEROTONINERGICA SOBRE
LA PUBERTAD ESPONTANEA E INDUCIDA EN LA RATA HEMBRA.**

M. E. AYALA*, P. ROSAS y R. DOMINGUEZ

**Laboratorio de Biología de la Reproducción ENEP Zaragoza
U. N. A. M.**

**Durante el desarrollo de este proyecto se contó con el apoyo
económico del Programa Universitario de Investigación en Salud
UNAM.**

RESUMEN

Para estudiar la participación del sistema serotoninérgico en la regulación de la pubertad y la respuesta del ovario a las gonadotropinas, se estudiaron los efectos de la desnervación serotoninérgica producida por la administración de la p-clorocetamina (PCA) durante la vida postnatal de la rata hembra, sobre la pubertad espontánea e inducida.

La edad de la apertura vaginal y del primer estro se retrasó en los animales tratados con la PCA desde el nacimiento, mientras que ambos parámetros se adelantaron cuando el fármaco se administró a partir de los 5, 15 y 30 días. La tasa de animales ovulantes no fue modificada por el tratamiento, mientras que el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementó cuando el fármaco se inyectó desde el nacimiento, o a los 10, 24 y 30 días de edad.

La proporción de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante, en respuesta a la inyección de 8 ui de PMSG disminuyó significativamente cuando fueron tratados previamente con PCA. La inyección de hCG después de la PMSG restauró la ovulación en los animales previamente tratados con PCA.

A partir de estos resultados podemos sugerir que el sistema serotoninérgico modula la secreción de la LH, y la reactividad del ovario a las gonadotropinas. Además que su participación inhibitoria o estimulante depende de la edad del animal.

INTRODUCCION

Existen evidencias experimentales de que en la regulación de la secreción de la GnRH participan los sistemas catecolaminérgico, colinérgico y serotoninérgico de origen intra y extrahipotalámico (4, 7, 8, 16). También se ha mostrado que las funciones de estos sistemas en la modulación de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas es diferente en el animal adulto y en el prepúber (2, 12).

A partir de los resultados obtenidos con diferentes modelos experimentales se describe la participación del sistema serotoninérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas como estimulante (3, 11) e inhibitoria (5, 6, 8, 9, 13, 14).

En la rata hembra intacta, la administración sistémica o intraventricular de serotonina a las 17:00 h del día del proestro, bloquea el aumento de las concentraciones plasmáticas de la FSH y la LH e inhibe la ovulación. El mismo tratamiento a las 09:00 h no modifica la ovulación (5, 9). Estos resultados llevaron a los autores a afirmar que la serotonina ejerce un efecto inhibitorio sobre la ovulación.

En el animal prepúber, el tratamiento con serotonina un poco antes del "periodo crítico" de la liberación endógena de gonadotropinas retrasa la edad de la apertura vaginal y bloquea la ovulación inducida por la administración de gonadotropinas (13, 14). Un efecto semejante se obtiene por la elevación de las concentraciones de serotonina, inducida por la administración de inhibidores de la MAO, por el tratamiento con el 5-hidroxitriptofano, precursor inmediato de la serotonina, o por lesiones en la eminencia media y en el núcleo arcuato (6, 8). Estos resultados llevaron a los autores a pensar que el aumento en la concentración de serotonina en la eminencia media bloquea la liberación de la LH, aunque otra interpretación sería que el aumento de la serotonina intraovarica impide los efectos de la HCG.

La lesión del núcleo dorsal y medio del rafé en ratas prepúberes, provocada por la administración de 5,7-dihidroxitriptamina, bloquea la ovulación inducida por la PMSG y disminuye la recaptura de la serotonina en la eminencia media y en el núcleo arcuato (11). Así también, el bloqueo de la síntesis de serotonina inducido por la administración de p-clorofenilalanina, inhibe la liberación endógena de la FSH en ratas prepúberes tratadas con PMSG (3). Con base en estos resultados, los autores sugieren que la serotonina ejerce un efecto estimulador sobre la secreción de las gonadotropinas.

Considerando los antecedentes mencionados, la participación de la serotonina en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y en la función del ovario es controversial. Estos resultados contradictorios pueden ser el reflejo de las diferencias temporales y hormonales de los diversos modelos biológicos y de las condiciones experimentales utilizados por los autores. Por lo anterior, en el presente trabajo se estudia la participación del sistema serotoninérgico en el proceso de la pubertad espontánea e inducida, por medio del bloqueo del sistema a diferentes edades que van desde el nacimiento hasta el periodo peripuberal y la capacidad de respuesta del animal prepúber a las gonadotropinas exógenas, en los casos en que el bloqueo del sistema modifica la edad de inicio de la pubertad.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas, de 5, 10, 15, 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad de la cepa CII-2V, las cuales fueron mantenidas en condiciones controladas de iluminación con 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luz encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso a la madre hasta el destete (21 días) y posteriormente al agua y al alimento.

A todos los animales se les registró el día de la apertura vaginal, momento en el cual se inició la toma de frotis vaginales diarios.

1.- Estudio de los efectos de la inhibición del sistema serotoninérgico en animales prepúberes de diferentes edades, sobre la pubertad.

Ratas hembras recién nacidas, de 5, 10, 15, 21, 24 y 30 días de edad fueron tratados con p-cloroanfetamina (pCA) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) disuelto en solución salina 10 mg/kg de peso corporal, o con vehículo (NaCl al 0.09 %) por vía i.p. cada 10 días. Todos los tratamientos se continuaron hasta la presencia del primer estro, momento en el cual se realizó la autopsia. Como grupo testigo absoluto se utilizaron ratas prepúberes sin tratamiento.

2.- Estudio de la pubertad inducida por la administración de PMSG en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

Grupos de hembras de 15, 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con PMSG (8 u.i.) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) por vía s.c. En todos los animales se registró la edad de la apertura vaginal y del primer estro, momento en el cual se realizó la autopsia.

Otros grupos de hembras de 18, 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con pCA en la dosis y vía del experimento 1, 10 h antes de que se les administraran 8 u.i. de PMSG. Se registró la edad de la apertura vaginal y se sacrificaron en el día del primer estro vaginal.

3.- Estudio de la pubertad inducida por la administración secuencial de PMSG-hCG en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

A grupos de hembras de 21, 24, 27 y 30 días de edad se les administró una dosis de PMSG (8 u.i.) por vía s.c., 48 h después se inyectó hCG (10 u.i.) (Sigma Chemical Co., EE.UU.) y 20 h más tarde se efectuó la autopsia.

Otros grupos de hembras de 21, 24, 27 y 30 días de edad fueron tratadas con 10 mg/kg de p. c. de pCA por vía i.p., 10 h antes de ser sometidos a la prueba de ovulación inducida como en los grupos anteriores. En todos los animales al momento del sacrificio se registró la apertura vaginal.

Procedimiento de Autopsia

Los animales fueron sacrificados por decapitación el día del primer estro vaginal entre las 09:00 y 10:30 h. A la autopsia se diseccionaron los ovarios y el útero y se pesaron en balanza de precisión; en las trompas uterinas se contó el número de ovocitos liberados con la ayuda del microscopio esteroscópico. El peso de los órganos se expresó en miligramos (peso absoluto).

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos sobre la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro, el número de ovocitos liberados, el peso corporal y de los órganos fueron analizados por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Duncan. En los casos en que se compararon dos

grupos, los resultados fueron analizados por la prueba de "t" de Student. Los resultados de tasa de animales ovulantes fueron analizados por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o por Ji2. Sólo se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue igual o menor al 5%.

RESULTADOS

1.- Estudio de los efectos de la inhibición del sistema serotoninérgico en animales prepúberes de diferentes edades, sobre la pubertad.

Debido a que no se observaron diferencias en la edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro, la tasa ovulatoria, el número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los órganos entre los animales inyectados con solución salina y los testigos absolutos, los resultados se reunieron en un sólo grupo denominado testigo.

Los animales tratados con pCA a partir de los 5, 15 y 30 días de edad presentaron adelanto en la edad de la apertura vaginal y del primer estro. En cambio, su administración desde el nacimiento provocó el retraso de ambos parámetros. Cuando el tratamiento se inició a los 10, 21 o 24 días no se observaron modificaciones (Tabla 1).

La frecuencia de animales ovulantes fue similar entre los grupos tratados con pCA y el grupo testigo, independientemente de la edad en la cual se inició el tratamiento. En todos los grupos tratados se observó la tendencia al aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante, siendo esta diferencia estadísticamente significativa cuando la desnervación se inició al nacimiento y a los 10, 24 y 30 días (Tabla 2).

Tabla 1. Edad de la apertura vaginal (EAV) y edad del primer estro (EPE) (días) (media \pm e.e.m.) de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-clorocanfetamina (pCA) o testigo (TES) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	EAV
TES	126	39.1 \pm 0.2
pCA		40.4 \pm 0.3
NACIMIENTO	9	42.7 \pm 1.0 *
5 DIAS	9	36.8 \pm 0.7 *
10 DIAS	4	38.8 \pm 0.5
15 DIAS	8	32.3 \pm 0.2 *
21 DIAS	8	38.9 \pm 0.7
24 DIAS	13	39.3 \pm 1.4
30 DIAS	9	37.2 \pm 0.6 *

* P<0.05 vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

El peso corporal en todos los animales tratados fue

menor que en el testigo, excepto en aquellos en los que el tratamiento se inició a los 21 días de edad. El peso de los ovarios en los animales inyectados a partir de los 15, 24 y 30 días fue menor respecto al grupo testigo. El peso del útero disminuyó sólo cuando la desnervación se inició a los 15 días (Tabla 3).

Tabla 2. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes /número total de animales) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
TES	92/126	6.9 \pm 0.3
pCA		
NACIMIENTO	7/9	9.0 \pm 0.7 *
5 DIAS	7/9	6.4 \pm 0.8
10 DIAS	4/4	9.0 \pm 1.1 *
15 DIAS	5/8	7.4 \pm 1.0
21 DIAS	6/8	6.0 \pm 0.9
24 DIAS	8/13	8.8 \pm 0.7 *
30 DIAS	7/9	7.9 \pm 0.3 *

* P<0.05 vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

Tabla 3. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.e.m.) de ratas tratadas a diferentes edades con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o testigo (TES) sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
TES	126	110 \pm 0.9	35.5 \pm 0.7	171 \pm 3.2
pCA				
NACIMIENTO	9	101 \pm 3.7 *	37.7 \pm 3.1	167 \pm 15.0
5 DIAS	9	99 \pm 4.4 *	33.9 \pm 2.8	180 \pm 8.2
10 DIAS	4	96 \pm 2.7 *	30.8 \pm 2.4	160 \pm 10.2
15 DIAS	8	86 \pm 4.4 *	27.4 \pm 1.7 *	144 \pm 16.4 *
21 DIAS	8	106 \pm 4.2	33.3 \pm 4.2	165 \pm 7.1
24 DIAS	13	85 \pm 2.8 *	27.7 \pm 1.8 *	168 \pm 7.9
30 DIAS	9	83 \pm 2.8 *	30.2 \pm 2.1 *	160 \pm 7.4

* P<0.05 vs grupo TES (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

2.- Estudio de la pubertad inducida por la administración de PMSG en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

El tratamiento con PMSG provocó el adelanto de las edades de apertura y del primer estro vaginal, comparado con el grupo testigo, independientemente de la edad del animal. La canalización vaginal se presentó 72 h después del tratamiento hormonal, excepto en los tratados a los 18 días en los que se observó a las 96 h. En todos los casos, a la apertura vaginal el epitelio presentó las características del estro. La desnervación serotoninérgica inducida por la pCA no modificó estos parámetros.

Excepto los animales tratados con PMSG a los 18 días, todos los otros grupos ovularon en respuesta al tratamiento hormonal. La tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementaron conforme avanzó la edad del animal (Tabla 4).

En los grupos tratados con la pCA, se observó la disminución en la tasa de animales ovulantes, que fue estadísticamente significativa sólo en aquellos tratados desde los 21, 24 y 30 días de edad. El número de ovocitos liberados por los animales desnervados y estimulados con la PMSG disminuyó de manera significativa en todos los grupos (Tabla 4).

Tabla 4. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados de ratas tratadas a diferentes edades con 8 u.i. de PMSG o con 10 mg/kg de p.c. de p-clorocloroanfetamina (pCA) + PMSG y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	TRATAMIENTO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
18 DIAS	PMSG	0/10	0
	pCA + PMSG	0/13	0
21 DIAS	PMSG	4/9	6.5 \pm 1.0
	pCA \pm PMSG	0/10 a	0
24 DIA	PMSG	7/8	24.3 \pm 0.8
	pCA + PMSG	2/10 a	27, 8
27 DIAS	PMSG	7/11	25.9 \pm 1.3
	pCA + PMSG	4/7	19.5 \pm 3.9 b
30 DIAS	PMSG	10/10	28.3 \pm 1.2
	pCA + PMSG	7/12 a	16.4 \pm 2.4 b

a, $P < 0.05$ vs grupo con PMSG (Prueba exacta de Fisher).

b, $P < 0.05$ vs grupo con PMSG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

El peso corpora de los animales tratados con pCA y PMSG

fue menor que el de los animales tratados sólo con la hormona, aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas sólo en aquellos tratados a los 18 y 30 días de edad (Tabla 5).

El peso de los ovarios de los animales tratados con pCA 10 h antes de la PMSG a los 18 y 24 días fue significativamente mayor que el de los tratados sólo con la PMSG. En cambio, el peso de los ovarios de los animales tratados a los 27 y 30 días muestran una tendencia a la disminución en comparación con los que sólo recibieron la hormona (Tabla 5).

La incidencia de útero distendido fue mayor en los animales que recibieron la pCA y luego la PMSG que en los que sólo fueron tratados con la hormona (24/52 vs 5/48 $p < 0.05$), pese a ello, el peso del útero fue significativamente mayor sólo en los animales tratados a los 24 días (Tabla 7).

Tabla 5. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.s.e.m.) de ratas tratadas con 8 u.i. de PMSG o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) + PMSG y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	TRATAMIENTO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
18 DIAS	PMSG	10	49 \pm 1.1	25.2 \pm 2.2	98 \pm 6.2
	pCA+PMSG	13	42 \pm 0.5 *	48.0 \pm 4.5 *	105 \pm 8.0
21 DIA	PMSG	9	48 \pm 1.2	48.7 \pm 4.8	113 \pm 7.0
	pCA+PMSG	10	48 \pm 1.4	50.9 \pm 2.8	118 \pm 5.0
24 DIAS	PMSG	8	62 \pm 1.7	66.6 \pm 3.7	97 \pm 4.6
	pCA+PMSG	10	55 \pm 0.9	75.7 \pm 6.0 *	120 \pm 5.2 *
27 DIAS	PMSG	11	72 \pm 0.7	64.7 \pm 5.0	122 \pm 9.0
	pCA+PMSG	7	67 \pm 2.6	59.1 \pm 5.7	105 \pm 3.5
30 DIAS	PMSG	10	90 \pm 2.4	50.1 \pm 3.0	116 \pm 6.9
	pCA+PMSG	12	75 \pm 7.1 *	43.7 \pm 3.1	124 \pm 7.0

* $P < 0.05$ vs grupo con PMSG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

3.- Estudio de la pubertad inducida por la administración secuencial de PMSG-hCG en ratas con y sin desnervación serotoninérgica.

El tratamiento con PMSG-hCG indujo la ovulación en todos los grupos. La frecuencia de animales que ovularon y el número de ovocitos liberados no se modificaron con la desnervación serotoninérgica. Tanto en los animales tratados con gonadotropinas como en los que fueron previamente desnervados con pCA, el número de ovocitos liberados por los animales tratados a los 24 días fue significativamente mayor que en los tratados a

los 27 y 30 días (Tabla 6).

El peso corporal fue significativamente menor en los animales desnervados a los 27 y 30 días tratados con PMSG-hCG que en los que sólo recibieron las hormonas (Tabla 7).

El peso de los ovarios de los animales tratados con pCA antes de la administración secuencial de PMSG-hCG sólo fue significativamente menor que aquellos que sólo recibieron el tratamiento hormonal cuando éste se realizó a los 27 días (Tabla 7). En los animales desnervados con pCA, la respuesta ponderal del ovario dependió de la edad del tratamiento. Aquellos tratados al inicio de la fase juvenil (21 y 24 días) el peso de los ovarios fue significativamente mayor que los tratados al final de esta etapa (27 y 30 días), hecho que no se observó en los animales normales tratados con PMSG y hCG (Tabla 7).

Tabla 6. Tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales) y media + e.e.m. del número de ovocitos liberados de ratas tratadas a diferentes edades con 8 u.i. de PMSG + 10 u.i. de hCG o con 10 mg/kg de p.c. de pCA + PMSG-hCG.

GRUPO	TRATAMIENTO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
21 DIAS	PMSG-hCG	9/10	30.4±1.6
	pCA + PMSG-hCG	9/9	35.2±3.7
24 DIAS	PMSG-hCG	10/10	41.7±2.6 a
	pCA + PMSG-hCG	10/11	39.8±2.5 b
27 DIAS	PMSG-hCG	10/10	30.9±0.8
	pCA + PMSG-hCG	10/10	29.5±3.1
30 DIAS	PMSG-hCG	10/10	29.4±2.7
	pCA + PMSG-hCG	11/11	26.0±2.0

a, $P < 0.05$ vs grupos de 21, 27 y 30 días con PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

b, $P < 0.05$ vs grupos de 27 y 30 días con pCA + PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

El peso del útero de los animales tratados con hCG disminuyó de manera significativa en comparación con los que se les inyectó PMSG. Este efecto no se modificó por la administración de pCA (Tabla 5 y 7).

DISCUSION

Los resultados de este estudio permiten concluir que en el animal prepúber el sistema serotoninérgico modula de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas y la reactividad del ovario a las mismas y que la participación de este sistema

varía durante el desarrollo postnatal del animal. El adelanto en la edad de la apertura vaginal y del primer estro. El aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante apoyan esta interpretación. Una conclusión semejante, utilizando un modelo de estudio *in vitro* fue alcanzada por Arias y colaboradores (1, 2).

Tabla 7. Peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) (media \pm e.e.m.) de ratas tratadas con 8 u.i. de PMSG + 10 u.i. de hCG o con 10mg/kg de p.c. de p.c.a + PMSG-hCG.

GRUPO	TRATAMIENTO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	UTERO
21 DIAS	PMSG-hCG	10	43 \pm 1.1	51.8 \pm 5.8	85 \pm 2.8
	pCA+PMSG-hCG	9	41 \pm 1.0	66.9 \pm 7.6	75 \pm 3.1
24 DIAS	PMSG-hCG	10	51 \pm 1.9	59.9 \pm 3.2	81 \pm 3.1
	pCA+PMSG-hCG	11	49 \pm 1.2	72.2 \pm 6.6	92 \pm 5.3
27 DIAS	PMSG-hCG	10	70 \pm 1.6	57.3 \pm 2.3	105 \pm 6.9
	pCA+PMSG-hCG	11	60 \pm 2.2 ^a	47.9 \pm 2.4 ^{a,b}	99 \pm 5.1
30 DIAS	PMSG-hCG	10	79 \pm 1.7	53.1 \pm 4.7	104 \pm 5.2
	pCA+PMSG-hCG	11	70 \pm 1.9 ^a	47.9 \pm 2.4 ^b	110 \pm 3.7

a, P<0.05 vs grupo correspondiente con PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

b, P<0.05 vs grupos de 21 y 24 días con pCA+PMSG-hCG (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan).

El adelanto de la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal inducido por la desnervación serotoninérgica, acompañado de la ovulación en la mayoría de los animales indica un adelanto en la maduración del sistema neuroendócrino responsable de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas. Es posible sugerir que la falta de serotonina estimula al ovario a que adquiera la capacidad de producir concentraciones de estradiol de magnitud a la preovulatoria a una edad más temprana. Por ello, es posible pensar que en condiciones normales la serotonina modula de manera inhibitoria el desarrollo del mecanismo de retroalimentación positivo de los estrógenos que culmina con la ovulación. Una interpretación semejante sobre la participación de la serotonina en la regulación de la liberación de la LH ha sido postulada previamente (1, 12).

El aumento en la respuesta ovulatoria, medida por el número de ovocitos liberados por animal ovulante, en los animales con desnervación serotoninérgica iniciada al nacimiento o a los 10, 24 y 30 días de edad, puede ser explicada por el aumento en las concentraciones de gonadotropinas, al aumento de la sensibilidad de los folículos a las mismas o a la combinación de ambos factores. Se ha sugerido que en el animal adulto la serotonina ejerce un efecto inhibitorio sobre la liberación de la LH a través de las fibras serotoninérgicas que interactúan con

las que sintetizan GnRH (9). Dado que la pCA es un fármaco que inhibe la síntesis de serotonina atraviesa la barrera hematoencefálica (15), la estimulación de la respuesta ovulatoria podría ser el resultado de la interacción del sistema serotoninérgico y el productor de la GnRH.

Al parecer la participación del sistema serotoninérgico sobre la regulación de la secreción de la LH es diferente durante el desarrollo postnatal de la rata hembra. Se ha mostrado que entre el día 16 y 20, la serotonina estimula la secreción de las gonadotropinas, mientras que alrededor de los días 20-26 de edad este efecto desaparece y a los 30 días ejerce un efecto de tipo inhibitorio (1, 2).

La administración de la pCA indujo la disminución del peso corporal en todos los animales. Este hecho podría estar relacionada con una disminución en la secreción de la hormona de crecimiento, ya que se postula que el sistema serotoninérgico estimula la secreción de esta hormona, ya que a nivel del hipotálamo induce liberación de somatostatina (10).

Otro hecho a considerar, es la participación del neurotransmisor en la respuesta del ovario a las gonadotropinas. Los resultados de este experimento muestran que la desnervación serotoninérgica no modificó el adelanto de la edad de la apertura vaginal inducida por el tratamiento con la PMSG, pero disminuyó la respuesta ovulatoria (número de animales ovulantes/número total de animales y el número de ovocitos liberados por animal ovulante). Estos resultados difieren de lo observado previamente en la rata por otros autores (13, 14).

Los resultados de este estudio permiten sugerir que las modificaciones en la ovulación observadas en los animales desnervados tratados con PMSG pueden ser explicadas por una alteración en la secreción de la LH, ya que la respuesta ovulatoria en los animales con desnervación serotoninérgica tratados en forma secuencial con las gonadotropinas fue similar al animal tratado únicamente con las hormonas. Sin embargo, no se puede descartar que este neurotransmisor regule la reactividad del ovario a las gonadotropinas.

Con base en el conjunto de resultados obtenidos en este trabajo y en otros, se puede sugerir que la innervación serotoninérgica modula el inicio de la pubertad espontánea por varias vías: regulando la secreción de la LH; la respuesta del ovario a las mismas, donde su participación sería estimuladora o inhibitoria dependiendo de la edad del animal, o actuando en ambos procesos.

BIBLIOGRAFIA

1. ADAMS, L. A. y STEINER, R. A. (1988). Puberty. Rev of Reproductive Biology 10; 1-52.
2. ARIAS, P. B., SZWARCFARB, D. C., CARBONE, S. R., SVERDLIK, R. y MOGUILEVSKY, J. A. (1990). In vivo and in vitro studies

- on the effect of the serotonergic system on luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone secretion in prepubertal female rats. *Brain Research* 523; 57-61.
3. BROWN, P. S. (1971). Pituitary follicle-stimulating hormone in immature female rats treated with drugs that inhibit the synthesis or antagonise the actions of catecholamines and 5-hydroxytryptamine. *Neuroendocrinology* 7; 183-192.
 4. CROWLEY, W. R. y ENLAND, F. P. (1981). Neurotransmitter systems anatomy and pharmacology. En: "Neuroendocrinology of reproduction physiology and behavior". ed. N. T. Adler D., Plenum Press New York.
 5. KAMBERI, I. A. (1972). Biogenic amines and neurohumoral control of gonadotropin and prolactin secretion. *International Congress Series Endocrinology* 273; 18-24.
 6. KORDON C. (1969). Effects of selective experimental changes in regional hypothalamic monoamine levels on superovulation in the immature rat. *Neuroendocrinology* 4; 129-138.
 7. KORDON, C., ENJALBERT, A., HERY, M., JOSEPH-BRAVO, P. I., ROTSZTEJN, W. y RUBERG, M. (1980). Role of the neurotransmitters in the control of adenohipophyseal secretion. En: *Handbook of the hypothalamus*. vol II. eds. P. J. Morgane, J. Panksepp y M. D. Ckker; 253-286.
 8. KORDON, C., JAVOY, F., VASSENT, G. y GLOWINSKI, J. (1968). Blockade of seperculation in the immature rat by increased brain serotonin. *European Journal of Pharmacology* 4; 169-174.
 9. LABHSETWAR, A. P. (1971). Effects of serotonin on
 10. LINDSTROM, P. y OHLSSON, L. (1987). Effects of 5-hydroxitriptamine, dopamine and aromatic L-amino acids on growth hormone (GH) releasing-factor stimulated GH release in rat anterior pituitaries. *endocrinology* 120; 780-784. spontaneous ovulation in rats. *Nature*; 287-295.
 11. MEYER, C. D. (1678). Hypothalamic and raphe serotonergic systems in ovulation control. *Endocrinology* 103; 1067-1077.
 11. MOGUILLEVSKY, J. A., FAIGON, M. R., SCACCHI, P., SZWARCFARB, B. (1985). Effect of serotonergic system on luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats. *Neuroendocrinology* 40; 135-138.
 13. O'STEEN, W. K. (1964). Serotonin supression of luteinizing in gonadotrophin-treated, immature rats. *Endocrinology* 74; 885-888.
 14. O'STEEN, W. K. (1965). Supression of ovarian activity in immature rats by serotonin. *Endocrinology* 77; 937-939.
 15. SANDERS-BUSH, E., BUSHING, J. A. y SULSER, F. (1972). Long-term effects of p-cloroanphetamine on tryptophan hydroxylase activity on the levels of 5-hidroxyindolacetic acid in brain. *European journal of pharmacology* 20; 385-388.
 16. WEINER, R. R. y GANONG, W. F. (1978). Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiological Reviews*. 58; 905-976.

EFFECTS OF LESION OF THE DORSAL RAPHE NUCLEUS (DRN) ON THE OVULATORY RESPONSE IN PREPUBERTAL RATS. M. E. Ayala*, P. Rosas* and R. Domínguez. Biology of Reproduction Research Unit. ENEP Zaragoza UNAM AP 9-020, México DF, México.

The direct injection of 5,7-dihydroxytryptamine to the DRN on immature rats blocked PMSG induced ovulation (Endocrinology 103;1067;1978), meanwhile the serum levels of LH decreased in adult rats with an electrolytic lesion of the DRN made the first day of diestrus, without affecting ovulation (Neuroendocrinology 46;252;1987). To study if puberty and first spontaneous ovulation depend on the functional integrity of serotonergic inputs from the DRN to the hypothalamus, the effects of electrolytic lesion in right side (RDRN), left side (LDRN) of the DRN or affecting both sides of DRN (BDRN) in 30 day old rats, autopsied the first day of vaginal estrus, were analyzed. Table 1 shows the results obtained.

	CONTROL	RDRN	LDRN	BDRN
Age of:				
Vaginal opening	42.1±0.4	44.0±0.5*	43.8±0.5	41.6±0.9
First estrus	42.7±0.5	46.6±0.8*	44.9±0.6*	42.6±0.8
Ovulation rate	12/15	6/8	7/9	0/8*
Number of ova shed				
Both ovaries	7.7±0.4	10.1±1.0*	10.3±0.6	0
Left ovary	4.2±0.4	4.6±0.5	6.4±0.3*	0
Right ovary	4.5±0.4	6.5±0.5*	3.9±0.7	0
Ovarian weight	30.0±1.9	28.7±2.6	32.4±1.9	17.9±0.9*

* p<0.05 vs. control group.

The injection of 10 iu of HCG to rats with bilateral lesion of DRN restored ovulation (3/5) and weight of the ovaries (32.0±2.5). Present results suggest that serotonergic hypothalamus input from the DRN exerts a facilitatory influences in the control of LH release during puberty essential for ovulation. The response of the ipsilateral ovary on the unilateral lesion shows that the existence of the neural connection between the DRN and the ovaries.