

37
2ej



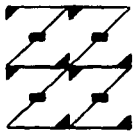
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

EFFECTOS DE LA DESNERVACION CATECOLAMINERGICA
REALIZADA DURANTE LA ETAPA FETAL SOBRE LA PUBERTAD
ESPONTANEA DE LA RATA HEMBRA O MACHO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
UBALDO QUIROZ LOPEZ



LO HUMANO
EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO. D. F.

DIRECTORA DE TESIS:
M. en IBSH LETICIA MORALES LEDESMA

DICIEMBRE, 1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
* ZARAGOZA *

**EFFECTOS DE LA DESNERVACION CATECOLAMINERGICA REALIZADA
DURANTE LA ETAPA FETAL SOBRE LA PUBERTAD ESPONTANEA
DE LA RATA HEMBRA O MACHO**

Tesis que para obtener el título de Biólogo presenta:

Ubaldo Quiróz López

Directora de tesis:

M. en IBSH Leticia Morales Ledesma

Realizada en: Laboratorio de Fisiología Reproductiva. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción. FES-Zaragoza, UNAM.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo de DGAPA clave IN 210893 y el Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS), UNAM.

AGRADECIMIENTOS

A la **M. en IBSH Leticia Morales Ledesma** por su asesoría, paciencia, aliento y por ser una excelente maestra. Y sobre todo por su apreciable amistad y por haber creído en mí.

Al **Dr. Roberto Domínguez Casalá** por su constante interés y porque sus sugerencias fueron parte medular de esta tesis.

A **María Luisa Illescas Vera**, quién es una parte importante en el funcionamiento del laboratorio, por su valiosa colaboración.

A los miembros del jurado:

M. en IBSH Leticia Morales Ledesma
M. en B.R.A. María Judith Villavicencio Macías
M. en IBSH María Elena Ayala Escobar
M. en IBSH Jose Luis Morán Perales
Biol. Carlos Martínez Montoya

Por sus valiosas aportaciones y el interés mostrado para la revisión de este trabajo.

A mis compañeros que conforman el laboratorio de Biología de la Reproducción, quienes me han brindado su amistad y apoyo:

Alejandro, Angélica, Bertha, Carolina, Evangelina, Jose Luis, Juana, Judith, Leticia, Lorena H., Lorena G., Ma. Elena, Ma. Esther, Ma. Eugenia, Ma. Luisa, Marco, Nicolás, Patricia B., Patricia R., Rebeca, Roberto, Romeo, Rossana y Rubén.

Al personal académico y técnico del Bioterio de la FES Zaragoza, que de alguna forma contribuyeron en la realización de esta tesis.

A las "ratas" por ser unos animalitos muy nobles.

A **Dios**: "Simplemente por todo".

A mis padres: **Ma. Salud y Ubaldo**.

Por su ejemplo de amor y por sembrar en mi, la semilla de honestidad, responsabilidad y deseos de superación. Y por lo que soy.

A mis hermanos: **Mari Cruz, Rosa Ma., Adriana, Ma. Guadalupe y Luis Antonio**.

Por su amor y apoyo en todo momento.
Porque siempre sigamos tan unidos como hasta ahora.

A mi esposa: **Paty**.

Con todo mi amor y agradecimiento por su sacrificio, aliento y amor, sin los cuales no hubiera culminado este trabajo. "Linda" juntos alcanzaremos todas las metas que nos fijemos.
"Aunque no podamos estar juntos,
nunca estaremos separados".

A mis hijos: **Yeix de Jesús y Metztlí Iréti**.

Quienes me han enseñado lo maravilloso que es ser padre. Por el gran amor y la ternura que emanan de ellos. Por que tengan la seguridad que haremos hasta lo imposible por satisfacer sus necesidades afectivas y materiales.

A la familia Mendiola Gutiérrez: *Edmundo y Virginia, Isabel, Edmundo (hijo) y David.*

Por que su apoyo fue fundamental para la realización de este trabajo. Y por hacerme sentir parte de la familia.

A la memoria de quienes no pudieron ver culminado esta meta.

Mis abuelitos: *Saturnina y Jose Isabel*

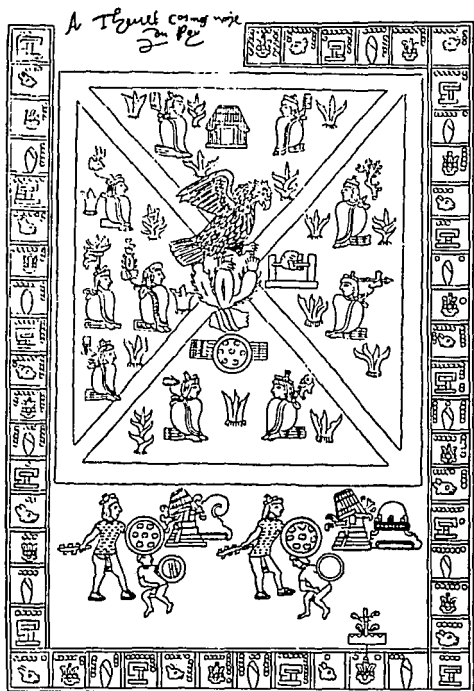
Isaura y Agustín

Mi padrino: *Fray Jose de Jesús*

A mis *familiares y maestros* que de alguna forma contribuyeron para que el día de hoy alcanzara esta meta.

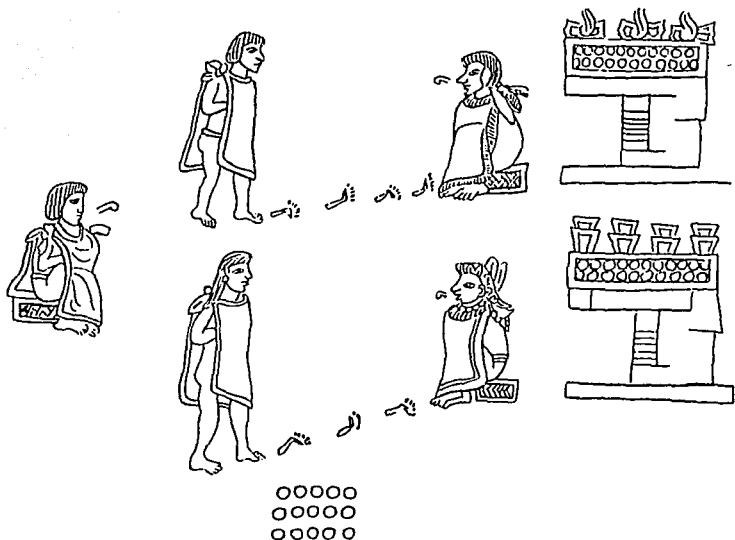
A mis "*mejores amigos*" porque ellos saben cuánto los aprecio y lo importante que han sido en mi vida.

A la "*generación perdida*".



Códice Mendocino.- Teocracia de Tenoch.

Porque seamos concientes de la extraordinaria riqueza de nuestras raíces. Su estudio nos ayudaría a comprendernos mejor y sentirnos muy orgullosos de nuestro origen.



Presentación del mancebo que va a educarse.

Educación: trascendental acción de la vida.

" El rechazo a nuestro pasado y la inconformidad de nuestra apariencia es una forma de autorracismo."

INDICE

Contenido:	Página.
RESUMEN	1
INTRODUCCION	
FACTORES EXTERNOS QUE REGULAN LA PUBERTAD.....	3
FACTORES NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA PUBERTAD EN LA HEMBRA.....	4
EL PAPEL DE LA INERVACION EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD EN LA HEMBRA.....	8
FACTORES NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA PUBERTAD EN EL MACHO.....	14
EL PAPEL DE LA INERVACION EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD EN EL MACHO.....	15
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
HIPOTESIS	22
OBJETIVOS	22
METODOLOGIA	23
RESULTADOS	
HEMBRAS.....	26
MACHOS.....	41
DISCUSION	
HEMBRAS.....	51
MACHOS.....	56
CONCLUSIONES	60
BIBLIOGRAFIA	61

RESUMEN

Ha sido poco estudiada la participación de la inervación catecolaminérgica en la etapa fetal. Dado que se ha sugerido la existencia de esta inervación a partir de los 16 días del desarrollo embrionario, en este trabajo se decidió estudiar los efectos de la desnervación química con guanetidina (GTD) en crías provenientes de madres tratadas desde el día 15 de preñez, sobre los procesos neuroendócrinos que regulan la pubertad en la rata hembra y macho.

Se inyectaron ratas hembras preñadas de forma aguda (a los 15, 17 y 20 días de preñez) o crónica (a partir del día 15 al 21, diariamente) con guanetidina (20 mg/kg) o vehículo (agua destilada). Al momento del parto se evaluó la duración de la preñez y la proporción de crías vivas/muertas. Las crías se dejaron evolucionar hasta la apertura vaginal en el caso de las hembras y a los 53 días para los machos, en los que observamos los siguientes resultados:

HEMBRAS

-La administración del vehículo de forma aguda o crónica no modificó la duración de la preñez ni la proporción de crías vivas o muertas, con respecto al grupo Testigo Absoluto (TA).

-En comparación al grupo TA se observó un adelanto de la edad de apertura vaginal y el primer estro en el grupo con administración crónica del vehículo (38.8 ± 0.8 vs 42.4 ± 1.0 ; 39.9 ± 0.8 vs 45.4 ± 1.2 , respectivamente $P < 0.05$).

- En el grupo tratado con vehículo de forma aguda se observó disminución en la masa ovárica (38.1 ± 1.6 vs 49.9 ± 3.7 , $P < 0.05$) y en el peso del útero (165.2 ± 6.1 vs 221.4 ± 15.0 , $P < 0.05$). Mientras que con el tratamiento crónico sólo se presentó la disminución en el útero (165.2 ± 6.1 vs 221.4 ± 15.0 , $P < 0.05$).

-Por las diferencias observadas en los grupos tratados con vehículo, los resultados de los animales desnervados de manera aguda o crónica con guanetidina se compararon con respecto a su vehículo correspondiente.

-La desnervación de forma aguda o crónica con GTD no modificó la duración de la preñez, ni la proporción de crías vivas o muertas.

- El grupo desnervado de forma aguda mostró retraso en la edad de apertura vaginal (47.0 ± 0.9 vs 43.1 ± 0.7 , $P < 0.05$) y en el primer estro (48.1 ± 0.9 vs 44.0 ± 0.7 , $P < 0.05$).

-En los animales desnervados no se modificó la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados, el peso de los ovarios, del útero, de las adrenales y del bazo.

- En el grupo con desnervación aguda se observó incremento en el número total de folículos medidos (172.0 ± 11.4 vs 112.0 ± 11.5 , $P < 0.05$).

- Sólo la desnervación crónica provocó disminución en el peso del timo (261.5 ± 8.7 vs 338.8 ± 16.6 , $P < 0.05$).

MACHOS

-La administración del vehículo de forma aguda provocó disminución de la masa adrenal (35.1 ± 0.9 vs 40.8 ± 1.3 , $P < 0.05$) y aumento en el peso del bazo (1153.6 ± 84.1 vs 753.8 ± 87.5 , $P < 0.05$). Con la administración crónica del vehículo se observó aumento en el peso del bazo (1707.7 ± 176.9 vs 753.8 ± 87.5 , $P < 0.05$) y del timo (396.6 ± 17.1 vs 327.8 ± 13.1 , $P < 0.05$).

-El peso corporal disminuyó con la administración aguda o crónica de GTD (160.4 ± 4.7 vs 180.9 ± 3.0 ; 167.9 ± 5.3 vs 200.4 ± 11.6 , $P < 0.05$ respectivamente).

- Sólo en el grupo desnervado de manera aguda se observó disminución en la masa testicular (1631.1 ± 134.2 vs 2081.0 ± 73.2 , $P < 0.05$), en la próstata (129.8 ± 12.5 vs 167.2 ± 8.8 , $P < 0.05$) y en las vesículas seminales (145.8 ± 3.3 vs 189.2 ± 8.2 , $P < 0.05$).

-En el grupo con desnervación crónica se presentó una disminución en el peso del bazo (563.7 ± 60.0 vs 1707.7 ± 176.9 , $P < 0.05$) y del timo (298.2 ± 26.8 vs 396.6 ± 17.1 , $P < 0.05$).

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que la inervación catecolaminérgica no es fundamental en el desarrollo de la preñez. Que participa, ya desde la etapa fetal, de forma estimuladora en los procesos neuroendócrinos que regulan la pubertad, evaluado por la apertura vaginal y primer estro.

La información catecolaminérgica participa en los mecanismos que regulan el crecimiento y diferenciación del folículo. Al parecer el bazo y el timo requieren de la integridad de la información neural desde etapas tempranas del desarrollo fetal.

La inervación catecolaminérgica desde la etapa fetal ejerce un efecto estimulador para el crecimiento de los testículos y las glándulas accesorias. Probablemente en la regulación de la secreción de andrógenos, principalmente testosterona.

INTRODUCCION

La pubertad ha sido definida como la fase en la cual se pasa del estado juvenil al adulto y se expresa con cambios en los caracteres sexuales secundarios e inicio de la fertilidad, además de estos cambios físicos muy marcados se presentan otros de tipo conductual (Grumbach, 1975).

Ojeda y col., (1980) plantean que en la rata hembra la señal que indica el inicio de su función reproductora es la canalización de la vagina y la primera ovulación, que suele producirse un día posterior al pico preovulatorio de las gonadotropinas. En el macho el inicio de la fertilidad esta dada por el descenso de los testículos al escroto y el establecimiento del ciclo espermático (Bennett y Vickery, 1970).

FACTORES EXTERNOS QUE REGULAN LA PUBERTAD

Actualmente se sabe que las feromonas tienen un papel importante en el inicio de la pubertad. En el ratón hembra de 24 días de edad, la aplicación en las fosas nasales del extracto urinario proveniente del ratón macho, provoca adelanto de la pubertad evaluado por un incremento en el peso del útero. Por los efectos que produce se le llama extracto urinario acelerador de la pubertad [PAUE, por sus siglas en inglés] (Dluzen y col., 1992).

Se ha demostrado que el hipotálamo medio basal y el bulbo olfatorio, reciben señales químicas las cuales activan a los sistemas neuroendócrinos que regulan el inicio de la

pubertad. Por ejemplo, se sabe que en el ratón hembra la presencia de machos, puede acelerar el inicio de la pubertad, mientras que su ausencia la retrasa (Goldman, 1981). Por otra parte, Darney y col. (1992) observaron que en el hipotálamo medio basal del ratón hembra juvenil se incrementa el contenido de dopamina (DA) y noradrenalina (NA), si las hembras están en presencia de un ratón macho durante 8 días. Lo cual sugiere, que las condiciones sociales específicas tienen efecto sobre el sistema catecolaminérgico y en el comienzo de la pubertad.

El inicio de la pubertad no solo se ve influenciado por el medio externo. Recientemente, se ha mostrado que en el roedor Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*, la posición uterina que guardan entre si los fetos, modifica el inicio de la pubertad en la hembra y la eficiencia copulatoria en el macho (Clark y Galef, 1988; Clark y col., 1990).

FACTORES NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA PUBERTAD EN LA HEMBRA

En el estudio de los mecanismos neuroendócrinos que participan en el control de la pubertad se ha utilizado a la rata como uno de los modelos experimentales.

Ojeda y col. (1980a) con base en parámetros fisiológicos relacionados con el eje hipotálamo-hipófisis-gónada han dividido el desarrollo de la rata hembra, desde el nacimiento hasta el inicio de la pubertad en cuatro etapas:

I.- **Etapa Neonatal** abarca desde el nacimiento hasta el día 7 de vida. Esta etapa se caracteriza por la falta de "maduración" del

eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En los primeros cinco días de vida el ovario de la rata no responde a la administración con gonadotropinas. Existen evidencias de que el crecimiento folicular se inicia de manera independiente a las gonadotropinas, dado que en los primeros cuatro días de vida no se han formado los receptores a las gonadotropinas, pero existen los folículos preantrales (Peter, 1970).

Aún no es funcional el mecanismo de retroalimentación inhibitorio, ejercido por los estrógenos sobre el hipotálamo y la hipófisis, debido a que la mayor parte de estas hormonas se encuentran unidas a la alfa-fetoproteína (proteína que liga a los estrógenos de manera ávida), por lo que en los primeros días de vida, las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas permanecen elevadas (Ojeda y col., 1986).

II.- Etapa Infantil inicia en el día 8 y termina a los 21 días de vida, se caracteriza por concentraciones plasmáticas muy altas de la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés), mientras que la liberación de la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés), es en forma de picos esporádicos (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976; Wuttke y col., 1980). Las concentraciones altas de FSH son fundamentales para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad (Hage y col., 1978; Ojeda y col., 1980a). A partir del día 15 de vida disminuye la FSH plasmática y desaparecen los picos de LH (Rivier y Vale, 1987; Sander y col., 1987).

La concentración de estrógenos libres aumenta a partir del día 16 de vida, como respuesta a la disminución en la concentración plasmática de la alfa-fetoproteína. En esta etapa el útero es capaz de responder a la estimulación con estrógenos (Ojeda y col., 1986).

III.- Etapa Juvenil abarca del día 21 al 30. En esta etapa continúa disminuyendo la concentración plasmática de FSH, mientras que las de LH son bajas y constantes al principio de esta etapa. Las determinaciones vespertinas muestran que, la LH comienza a secretarse en forma pulsátil y a incrementar sus concentraciones y la amplitud de sus pulsos, estableciéndose así un ritmo de secreción circádico (Andrews y Ojeda, 1981; Meijs-Roelofs y col., 1983; Urbanski y Ojeda, 1983).

Se ha descrito que el ovario presenta ondas de crecimiento y atresia folicular. En esta etapa del desarrollo de la rata, aún no se observan folículos preovulatorios. Es al final de esta etapa e inicio de la peripuberal, en donde se puede observar en la luz del útero la acumulación de líquido como una de las señales de la actividad esteroidogénica (Ojeda y col., 1986).

IV.- Etapa Peripuberal, la que culmina con la primera ovulación. En el ovario se incrementa el número de receptores para FSH y LH lo que se traduce en una máxima respuesta esteroidogénica (Ojeda y Urbanski, 1988; Urbanski y Ojeda 1987). En consecuencia se incrementan las concentraciones plasmáticas de testosterona, progesterona y estradiol, ésta última estimula la canalización

vaginal. Las altas concentraciones de esteroides plasmáticos estimulan al hipotálamo para la secreción sincronizada del factor liberador de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), que culmina con la liberación preovulatoria de las gonadotropinas, conocido como "pico preovulatorio", y la primera ovulación.

Raum y col. (1980) han postulado la teoría del gonadostato hipotalámico, en la que se plantea que el inicio de la pubertad, es el resultado de una disminución en la sensibilidad del sistema nervioso central y la hipófisis a los efectos inhibitorios que ejercen los esteroides gonadales en la síntesis de las gonadotropinas.

Se ha visto que los mecanismos neuroendócrinos que conllevan a la pubertad son muy semejantes en las diferentes especies de mamíferos. Por ejemplo, la secreción de la GnRH depende de la integración de un conjunto de neurotransmisores, entre ellos la NA. Se ha observado una correlación entre el incremento en la liberación de NA hipotalámica y el del GnRH (Gore y Terasawa, 1991). Así mismo, en varias especies, se ha mostrado que durante los primeros días de vida del individuo, se establece el efecto inhibitorio ejercido por los esteroides, que impiden que se cierre el circuito de retroalimentación negativa (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

EL PAPEL DE LA INERVACION EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD EN LA HEMBRA

En los mamíferos la inervación simpática llega al ovario por dos rutas separadas: el plexo ovárico a lo largo de la arteria ovárica y el nervio ovárico superior por el ligamento suspensorio [Figura 1] (Lawrence Jr. y Burden, 1980). En la rata se ha sugerido que esta inervación catecolaminérgica aparece en el ovario a los 16 días de vida fetal (Ojeda y col., 1986).

Se ha encontrado inervación de tipo peptidérgica que llega al ovario vía plexo nervioso, tal es el caso del neuropéptido Y (NPY), de la substancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), mientras que, las fibras del péptido intestinal vasoactivo (VIP) son transportadas por el nervio ovárico superior (Ahmed y col., 1986; Calka y col., 1988; Dees y col., 1986; McDonald y col., 1987).

Por inmunohistofluorescencia se ha mostrado que los nervios catecolaminérgicos se encuentran en relación estrecha con las células epiteliales de los folículos primordiales, en la glándula intersticial y en la teca folicular, sin tener contacto con las células de la granulosa ni las del cuerpo lúteo (Burden, 1985).

Las fibras VIP'ergicas se encuentran ocasionalmente asociadas a pequeñas arterias y a folículos primordiales, son más frecuentes en la teca de folículos antrales, en la glándula intersticial y en contacto con venas de la túnica adventicia (Ahmed y col., 1986). Las fibras nerviosas que transportan a la

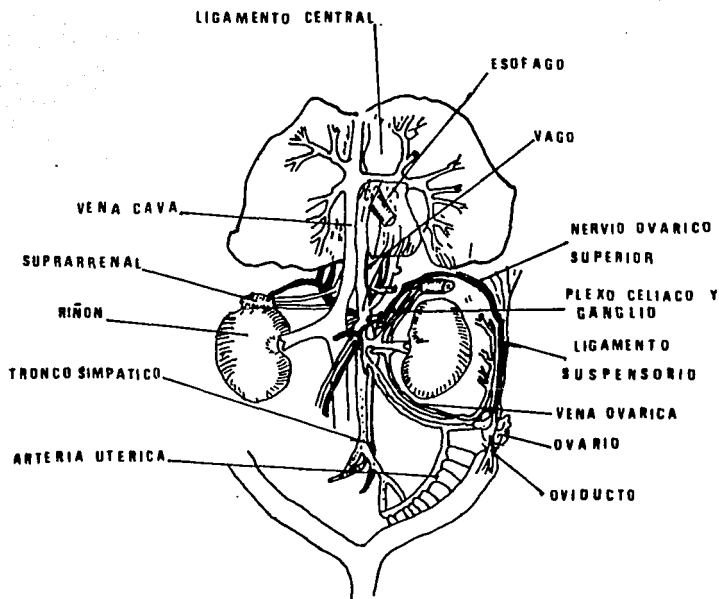


Figura 1. REPRESENTACION DEL CURSO DEL NERVIO OVARICO SUPERIOR EN EL LIGAMENTO SUSPENSORIO. Tomado de Lawrence y Burden (1980).

sustancia P se localizan en asociación con las teca de folículos en crecimiento y en contacto con las arteriolas ováricas (Dees y col., 1986). Las fibras del neuropéptido Y se localizan alrededor de los vasos sanguíneos, en la glándula intersticial y entre los folículos (McDonald y col., 1987).

La hipertrofia compensadora (Burden, 1985; Gerendai y col., 1978), el desarrollo folicular (Brink y Grob, 1973; Curry Jr. y col., 1983), el proceso de la ovulación, el flujo sanguíneo y la ciclicidad vaginal (Bahr y col., 1974; Domínguez y Riboni, 1971; Gelderd y Pepler, 1979) son algunas de las funciones reguladas por la información hormonal y neural que reciben las gónadas.

En estudios *in vitro* las células intersticiales de la teca de folículos de rata prepúber, secretan andrógenos en respuesta a la gonadotropina coriónica humana (hCG, por sus siglas en inglés), dicha respuesta se incrementa hasta un 300% si se añade al medio noradrenalina (Dyer y Erickson, 1985). Por el contrario, la presencia de este neurotransmisor en un cultivo de células de la granulosa, provenientes de mujeres adultas, inhibe la producción de progesterona de una forma dosis-dependiente. Mientras que, la dopamina a bajas concentraciones estimula la secreción de estradiol (Bódis y col., 1993). Estas evidencias sugieren que las catecolaminas participan en la modulación de la secreción de andrógenos y estrógenos por el ovario.

La desnervación farmacológica ha sido una de las herramientas más utilizadas para estudiar la participación de la

inervación en los procesos reproductivos. Uno de los fármacos que se emplea es la guanetidina (GTD), la cual actúa en las terminales axónicas noradrenérgicas sustituyendo a la noradrenalina y siendo liberada por estimulación nerviosa, de esta forma actúa como un neurotransmisor falso (Boullin, 1966).

Evidencias microscópicas muestran que la GTD provoca una desaparición de neuronas y marcada proliferación de células gliales y satélites, lesiones mitocondriales y dilatación y disrupción del retículo endoplasmático. Otro de los fármacos empleados es la 6-hidroxidopamina (6-OHDA) que actúa como un neurotóxico destruyendo las terminales axónicas provocando daños similares a los de la GTD. (Angeletti y col., 1972).

Hasta mediados de la década de los 70's diversos autores sugieren que la administración crónica de GTD o 6-OHDA provoca una degeneración irreversible de las neuronas simpáticas (Jaim-Etcheverry y Zieher, 1971; Johnson Jr. y col., 1976; Angeletti y col., 1972). Sin embargo, Burnstock (1971) sugiere que la GTD causa una degeneración selectiva de las neuronas adrenérgicas, su observación ha sido apoyada por otros trabajos subsecuentes (Evans y col., 1973; Heath y Burnstock, 1977; Evans, 1979; Evans y Burnstock, 1979). Posteriormente, algunos estudios realizados en la rata desnervada al nacimiento o en la etapa adulta, mostraron evidencias de una reinervación simpática en diversos órganos al cabo de varias semanas de recuperación. Actualmente, se ha sugerido que la desnervación química no es

completa ni permanente, lo cual dependería también del órgano y de la etapa en la cual se realiza la desnervación. (Evans y col., 1979; Bennett y col., 1982; Lorton y col., 1990).

En la rata recién nacida la desnervación noradrenérgica con guanetidina provoca retraso en la edad de la apertura vaginal y aumento en la respuesta ovulatoria. En la rata adulta provoca una disminución en el número de ovocitos liberados. Estas evidencias llevan a sugerir a los autores, que la participación de la inervación noradrenérgica en la regulación de la ovulación es diferente en la rata prepúber y adulta, mientras que para la prepúber es de tipo inhibitoria para la adulta es estimulatoria (Flores y col., 1990).

Resultados similares han sido mostrados por el grupo de Lara y col. (1990a) quienes al administrar GTD en ratas de 7 días de edad, durante tres semanas, encuentran un retraso en la edad de apertura vaginal, del primer diestro y aciclicidad vaginal.

En la rata hembra recién nacida la inmunosimpatectomía inducida con la administración de anticuerpos específicos al factor de crecimiento neural (NGF, por sus siglas en inglés), no modifica la edad de apertura vaginal pero si hay retraso en la primera ovulación (Lara y col., 1990). Estas evidencias apoyan el hecho de que la inervación simpática contribuye en la regulación de la función ovárica.

La simpatectomía inducida con guanetidina al final de la primera semana de vida provoca un retraso en el crecimiento folicular y una disminución en el número total de folículos (Lara y col., 1990a). La inmunosimpatectomía realizada al nacimiento también retrasa el desarrollo folicular, pero el número de folículos totales es mayor que el control (Lara y col., 1990).

En la cobaya la simpatectomía ovárica, realizada en el día del estro, por la inyección de 6-OHDA provoca una disminución de los folículos sanos, evaluados en el día 10 del ciclo estral (Curry Jr. y col., 1983). Estos datos sugieren que la inervación catecolaminérgica participa en el crecimiento folicular, como ya ha sido mostrado por otros autores (Ayala y Domínguez, 1988) y que los efectos de su eliminación dependerán de la etapa en la cual se realice la desnervación.

Se han realizado algunos estudios acerca del papel de la inervación simpática durante la etapa fetal. La inyección intraperitoneal de 6-OHDA en ratas preñadas disminuye el número de crías vivas e incrementa las reabsorciones (MacDonald y Airaksinen, 1974). Estos hechos sugieren que el sistema catecolaminérgico es importante en el mantenimiento de la preñez. Por el contrario, Evans y Burnstock (1979) reportan que la desnervación inducida con GTD antes y durante la preñez, no modifica su duración, ni el tamaño de la camada ni la fertilidad, lo cual sugiere que la inervación catecolaminérgica no es fundamental para el desarrollo normal de la preñez.

La eliminación de la información catecolaminérgica también se ha realizado por medios quirúrgicos. Así, en la rata adulta la sección bilateral del nervio ovárico superior realizada en el día del diestro provoca disminución del contenido de noradrenalina ovárica, mientras que, el número de ovocitos liberados y el ciclo estral no se modifican (Gibson y col., 1984; Wylie y col., 1985). Sin embargo, en otro estudio se demostró que la desnervación realizada en otras etapas del ciclo estral sí modifica el número de ovocitos liberados y la ciclicidad vaginal (Chávez y col., 1991).

Por otra parte, se ha visto que en la rata preñada la sección bilateral del ligamento suspensorio no provoca modificaciones en el número de crías, en el peso de los ovarios ni el número de cuerpos lúteos. Lo que parecería indicar que esta inervación catecolaminérgica no es esencial para el mantenimiento de la preñez (Roche y col., 1985).

FACTORES NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA PUBERTAD EN EL MACHO

En el macho el tiempo comprendido desde el nacimiento hasta la fertilidad se puede dividir en cuatro fases o etapas. Estas fases son muy similares a las de la hembra, sin embargo, el desarrollo gonadal y el control de la secreción de gonadotropinas difiere en ambos sexos (Ramaley, 1979).

I.- Etapa Neonatal (desde el nacimiento hasta la primera semana de vida). Durante esta etapa la testosterona es el principal andrógeno secretado por las células de Leydig, las cuales se

desarrollan durante la etapa prenatal. Durante este período la células de Leydig sufren degeneración o entran en un estado de quiescencia.

II.- **Etapa Juvenil Temprano** (desde el día 8 al 20 de vida). Ahora es el androstendiol el principal andrógeno secretado, el cual es un producto 5 alfa-reducido, mientras que los primeros estados de espermatogénesis ocurren rápidamente.

III.- **Etapa Juvenil Tardío** (desde el día 21 al 29 de vida). En esta etapa ya se encuentra formada la barrera hemato-testicular. Los primeros espermatoцитos en leptoteno se mueven hacia el compartimento interior del epitelio germinal recién formado, mientras que cesa la proliferación de las células de Sertoli.

IV.- **Etapa Peripuberal** (desde el día 30 hasta la primera liberación de esperma proveniente del epitelio germinal). Se considera que la función de las células de Leydig ha "madurado" y la testosterona comienza nuevamente a ser el principal andrógeno secretado.

EL PAPEL DE LA INERVACION EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD EN EL MACHO

En el testículo de la rata la mayor parte de la inervación simpática proviene del nervio espermático superior, el cual sigue a la arteria espermática y entra por el polo superior del testículo. También recibe inervación, en menor proporción, del nervio espermático inferior [Figura 2] (Hodson, 1970).

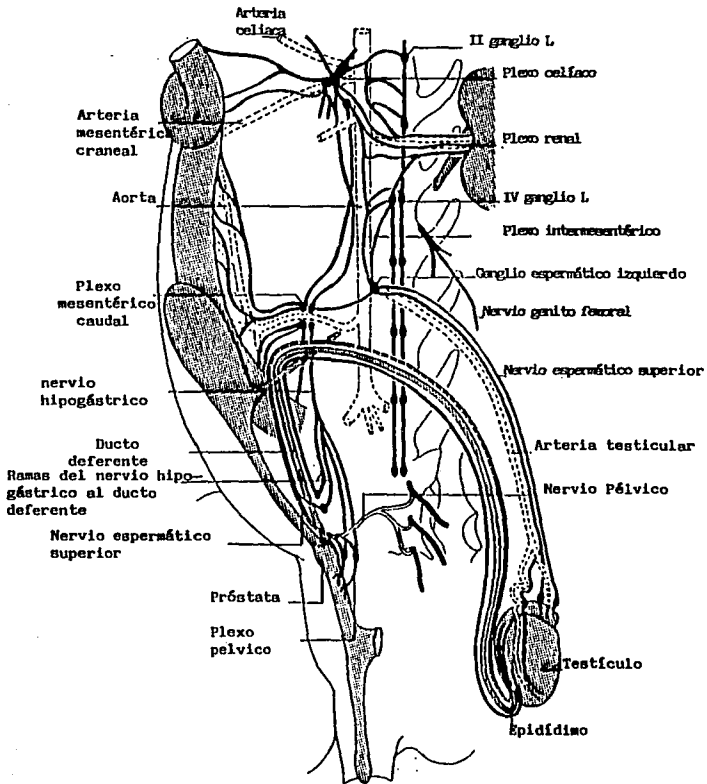


Figura 2. INERVACION DEL TESTICULO Y DEL EPIDIDIMO. Tomado de Setchell (1978).

Nervios en negro = Fibras simpáticas
 Nervios en blanco = Fibras parasimpáticas
 Nervios en moteado = Fibras simpáticas y parasimpáticas

Se ha observado en la rata macho la presencia de fibras nerviosas en la túnica albugínea y vasculosa, en relación estrecha con vasos sanguíneos pero nunca alcanzan a inervar a las células de Leydig ni penetran en los túbulos seminíferos (Campos y col., 1993).

Mediante el uso de técnicas de inmunohistoquímica se ha demostrado la presencia de fibras peptidérgicas en los genitales de mamíferos, y por radioinmunoanálisis el contenido de péptidos como el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), el péptido histidina isoleucina (PHI), el VIP, la SP, el NPY, y la somatostatina (Lamano-Carvalho y col., 1986).

Desde principios de siglo se sabe que los nervios simpáticos que inervan al testículo, participan en el crecimiento y desarrollo del epitelio germinal y en el proceso de espermatogénesis (Nagai y col., 1982).

Se han aportado datos que sugieren que en el macho las catecolaminas tienen un papel importante en la regulación de la secreción del GnRH durante la maduración sexual (Barraclough y Wise, 1982). En la rata macho juvenil, la administración de alfa-metil-para-tirosina (AMPT), un inhibidor competitivo de la tirosina hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de catecolaminas), provoca un incremento en las concentraciones plasmáticas de la LH y la testosterona, mientras que si se administra el inhibidor de la tirosina hidroxilasa desde la etapa peripuberal y hasta la adulta, se produce una disminución en las

concentraciones plasmáticas de las hormonas (Raum y Swerdloff, 1986). Estas evidencias sugieren, que las catecolaminas tienen una participación diferencial en el desarrollo sexual de la rata macho.

Durante la etapa peripuberal las concentraciones basales de testosterona son capaces de inhibir la liberación de las gonadotropinas. La disminución en la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis, a los efectos inhibitorios ejercidos por la testosterona en la pubertad, coincide con un incremento en la liberación de GnRH, de dopamina y noradrenalina hipotalámica acompañada de un aumento en la tasa de recambio de la noradrenalina (Matsumoto y col., 1986).

En la rata macho adulta las catecolaminas también participan en la liberación del GnRH. La incubación conjunta del hipotálamo medio basal y la eminencia media en presencia de catecolaminas, produce un incremento en la liberación de GnRH proveniente de la eminencia media (Negro-Vilar y col., 1979).

Desde que se correlacionó el estrés con las concentraciones altas de catecolaminas se pensó que estas sustancias podrían afectar la función testicular. En ratas macho anestesiadas la infusión intra-arterial de catecolaminas (NA y A), provoca una disminución en la concentración plasmática de testosterona (Damber y Janson, 1978).

Frankel y Ryan (1981) son de los primeros en examinar el posible papel de la inervación catecolaminérgica sobre la función del testículo. En la rata adulta, la sección bilateral del nervio

espermático superior y la medulectomía provocó bloqueo del incremento de la concentración plasmática de testosterona que se presenta en condiciones de estrés agudo.

Se ha observado en estudios *in vitro* que en el testículo de rata fetal de 18.5 días, el estímulo con LH incrementa la producción de andrógenos. La adición en el medio de un agonista de catecolaminas, el L-isoproterenol, también provoca un incremento en la liberación de andrógenos, la cual es bloqueada cuando se adiciona un antagonista beta-adrenérgico, el propanolol. Estas evidencias apoyan que las catecolaminas participan en la síntesis de hormonas masculinas desde la etapa fetal (Anakwe y Moger, 1984).

La presencia de receptores adrenérgicos en las células de Leydig y de Sertoli en diversas especies de mamíferos (rata, ratón, cerdo), apoyan la idea de que la inervación catecolaminérgica participa en el control de las funciones reproductivas (Anakwe y Moger, 1986; Heindel y col., 1981; Moger y Murphy, 1983; Renier y col., 1987).

En el macho prepúbere la desnervación catecolaminérgica modifica el desarrollo del testículo (Frankel y Ryan, 1981; Gerendai y col., 1984). En la rata de 13 ó 17 días de edad la administración de 6-OHDA en el testículo derecho, o la sección de los nervios simpáticos, provocan disminución en el peso de los testículos desnervados y modificaciones en el crecimiento de los túbulos seminíferos. Por lo que sugiere que la inervación

adrenérgica, participa en el crecimiento y diferenciación testicular, especialmente de los túbulos seminíferos (Nagai y col., 1982).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las evidencias disponibles muestran que la inervación catecolaminérgica que reciben la gónadas participa en los procesos reproductivos. Esta participación varía según la etapa en la cual se realiza el estudio. Pocos son los reportes que existen en la literatura acerca del papel de la inervación catecolaminérgica desde etapas tempranas del desarrollo. Dado que se sabe que la inervación de tipo catecolaminérgica se encuentra presente en el ovario de fetos de 16 días de vida intrauterina, se decidió estudiar los efectos de la desnervación farmacológica realizada desde el día 15 de preñez, sobre los procesos que regulan la pubertad en la rata hembra y macho.

HIPOTESIS

En la rata a los 16 días de vida intrauterina se observa en las gónadas la presencia de fibras catecolaminérgicas. Esta inervación modula de manera estimulatoria los procesos neuroendócrinos que conllevan a la pubertad a la rata hembra y macho. Los efectos de la desnervación dependerán del tipo de tratamiento agudo o crónico y del sexo.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

Analizar la participación de la inervación catecolaminérgica, sobre la apertura vaginal y la primera ovulación en la rata hembra.

Analizar la participación de la inervación catecolaminérgica, sobre el peso del testículo y glándulas accesorias del aparato reproductor de la rata macho.

OBJETIVOS PARTICULARES

Estudiar los efectos de la desnervación noradrenérgica, aguda o crónica, durante el desarrollo embrionario en la proporción de crías vivas o muertas.

Estudiar los efectos de la desnervación noradrenérgica, aguda o crónica, durante el desarrollo embrionario sobre la edad de apertura vaginal, primer estro, la ovulación y el desarrollo folicular.

Analizar las modificaciones inducidas por la desnervación aguda o crónica del sistema catecolaminérgico durante la vida intrauterina, sobre el aparato reproductor del macho.

METODOLOGIA

Se utilizaron ratas hembras vírgenes de la cepa CII-ZV de tres meses de edad, mantenidas en condiciones convencionales de bioterio, 14 hrs de luz(5:00 a 19:00) y 10 hrs. de oscuridad, agua y alimento *ad libitum*.

En el día del proestro las hembras fueron colocadas con un macho de fertilidad comprobada y se consideró como día 1 de preñez la presencia de espermatozoides en la vagina.

A partir del día 15 de preñez las madres fueron distribuidas en cada uno de los grupos experimentales. En todas se registró la fecha de parición y se contó el número de crías vivas y muertas. En cada caja se dejaron 7 crías con la madre hasta la edad de 21 días, momento en el que se realizó el destete.

GRUPO TESTIGO ABSOLUTO

Formado por las crías provenientes de madres sin tratamiento.

GRUPO TRATADO CON VEHICULO

Este grupo se formó por las crías cuyas madres fueron inyectadas s.c. con agua destilada entre las 13:00 y 15:00 hrs a los 15, 17 y 20 días de preñez (tratamiento agudo), o diariamente a partir del día 15 al 21 (tratamiento crónico).

GRUPO TRATADO CON GUANETIDINA (GTD)

En este grupo a las ratas preñadas se les administró 20 mg/kg de peso corporal de guanetidina de forma aguda o crónica.

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

HEMBRAS

Los animales fueron revisados diariamente hasta la edad de apertura vaginal, al presentar el primer estro se pesaron y sacrificaron con sobredosis de éter y se disecaron y pesaron en una balanza de precisión, las siguientes estructuras: los ovarios, el útero, las adrenales, la hipófisis, el bazo y el timo. Con ayuda de un microscopio estereoscópico, se buscó y contó el número de ovocitos presentes en el oviducto izquierdo y el derecho.

Para el análisis de la población folicular los ovarios izquierdos fueron fijados en solución de Bouin, incluidos en parafina y cortados de forma seriada a 10 μm de grosor, finalmente fueron teñidos con hematoxilina-eosina.

En los cortes histológicos se midió el diámetro de los folículos que presentaron el ovocito con núcleo y nucleolo bien definido. Se consideró a un folículo atrésico si presentaba alguna de las siguientes características: picnosis nuclear, descamación de las células de la granulosa, engrosamiento de las capas de la teca folicular o alteración en el ovocito (Chávez, 1991).

MACHOS

Los animales fueron pesados y sacrificados a los 53 días de edad por sobredosis de éter. Se disecaron y pesaron los testículos, vesículas seminales, próstata, adrenales, hipófisis, bazo y timo.

ANALISIS ESTADISTICO.

Los resultados obtenidos sobre la edad de apertura vaginal, la edad del primer estro, el diámetro promedio de los folículos, el peso corporal y de los órganos tanto de las hembras como de los machos se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. El número de ovocitos liberados se analizó mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Mientras que, la proporción de animales que abrieron vagina en cada uno de los días del ciclo estral y la tasa de animales ovulantes* se analizó por la prueba de Fisher o de Chi-cuadrada.

$$\text{* Tasa Ovulatoria \%} = \frac{\text{animales ovulantes}}{\text{total de animales}} \times 100$$

RESULTADOS

HEMBRAS

La administración aguda o crónica del vehículo durante la preñez no modificó significativamente el tiempo de gestación, el número de crías vivas o muertas (Tabla 1).

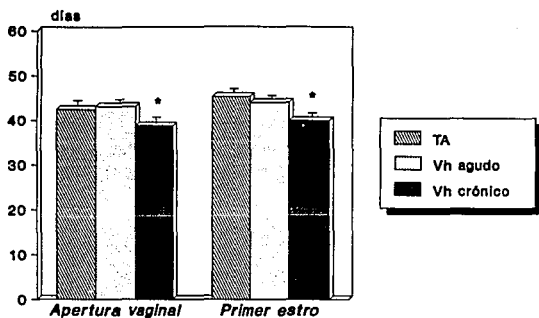
Tabla 1: Media \pm eem de la duración de la preñez (días) y del número de crías vivas o muertas, de ratas testigo absoluto o tratadas con vehículo (agua destilada), de forma aguda o crónica a partir del día 15 de preñez.

GRUPO	n	DURACION DE LA PREÑEZ	CRIAS VIVAS	CRIAS MUERTAS
TESTIGO ABSOLUTO	3	22.3 \pm 0.3	10.0 \pm 0.0	0.3 \pm 0.3
VEHICULO AGUDO	8	22.5 \pm 0.3	9.1 \pm 0.8	0
VEHICULO CRONICO	4	23.0 \pm 0.4	10.5 \pm 1.0	0.5 \pm 0.3

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DEL VEHICULO SOBRE LOS PARAMETROS EVALUADOS A LA PUBERTAD EN CRIAS PROVENIENTES DE MADRES TRATADAS A PARTIR DEL DIA 15 DE PREÑEZ.

La administración del vehículo en forma aguda o crónica no modificó el peso corporal de los animales sacrificados al primer estro vaginal, respecto al grupo testigo absoluto (agudo= 110.2 \pm 2.1; crónico= 108.8 \pm 3.9 vs 117.3 \pm 4.2).

Cuando se administró el vehículo en forma crónica los animales presentaron un adelanto en la edad de apertura vaginal y del primer estro, lo cual no ocurrió cuando se administró de forma aguda (Figura 3).



* $P < 0.05$ vs grupo TA (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 3. Media \pm eem de la edad de apertura vaginal y del primer estro (en días), de ratas testigo absoluto o tratadas de forma aguda o crónica con vehículo (agua destilada), en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

Al momento de la apertura vaginal el 12.5% de los animales del grupo testigo absoluto presentaron frotis vaginal en estro, el 62.5% en diestro y el 25% en proestro. En el grupo con administración aguda del vehículo se observó un incremento en la proporción de animales que abrieron vagina en estro. En ambos grupos tratados se presentó una disminución en los animales que presentaron diestro a la apertura vaginal, mientras que el número de animales que abren vagina en proestro no se modificó (Tabla 2).

Tabla 2: Proporción de animales que abrieron vagina en cada etapa del ciclo estral, Diestro (D), Proestro (P) o Estro (E) de ratas intactas o con administración aguda o crónica de vehículo (agua destilada) en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

GRUPO	DIAS DEL CICLO ESTRAL		
	D	P	E
TESTIGO ABSOLUTO	10/16 (62.5%)	4/16 (25.0%)	2/16 (12.5%)
VEHICULO AGUDO	4/29 * (13.8%)	5/29 (17.2%)	20/29 * (69.0%)
VEHICULO CRONICO	1/9 * (11.1%)	3/9 (33.3%)	5/9 (55.6%)

* $P < 0.05$ vs Testigo absoluto (Prueba de Chi-cuadrada)

La tasa de animales ovulantes y el número total de ovocitos liberados no se vieron alterados por la aplicación en forma aguda o crónica del vehículo (Figura 4). De la misma manera no hay modificaciones en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho (Figura 5).

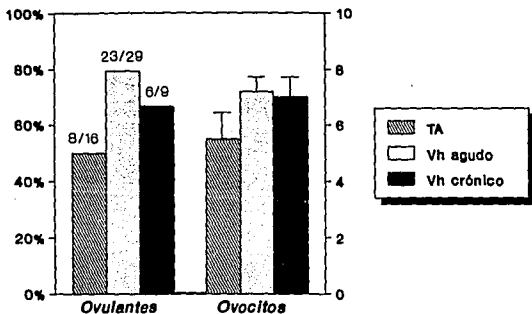


Figura 4. Porcentaje de animales ovulantes y Media \pm eem del número total de ovocitos liberados al primer estro, de animales testigo absoluto o tratados de forma aguda o crónica con vehículo (agua destilada), en la etapa fetal y sacrificados al primer estro.

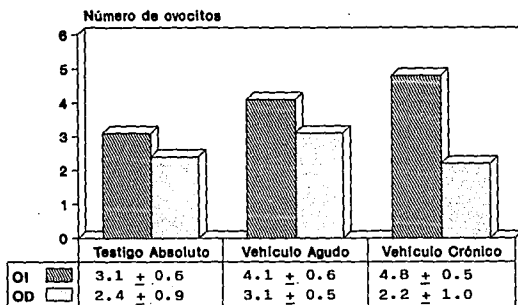
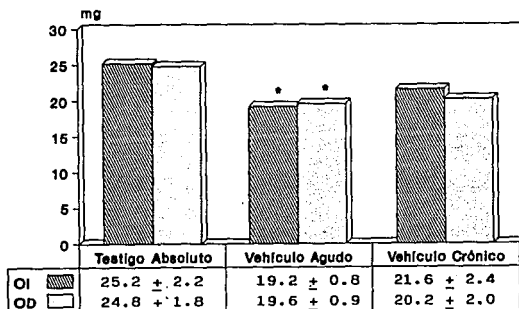


Figura 5. Media \pm eem de número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD), de animales testigo absoluto o tratados de forma aguda o crónica con vehículo (agua destilada), en la etapa fetal y sacrificados al primer estro vaginal.

La Figura 6 muestra que el peso de los ovarios, de los animales tratados de forma aguda con vehículo, disminuyó significativamente con respecto al grupo testigo absoluto. Cuando se analizó por peso relativo sólo se observó disminución por el ovario izquierdo (Tabla 3). La administración crónica no provocó alteración en el peso de los ovarios.



* P<0.05 vs grupo TA (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 6. Media ± eem del peso en mg del ovario izquierdo y derecho de animales testigo absoluto o tratados de forma aguda o crónica con vehículo (agua destilada), en la etapa fetal y sacrificados al primer estro vaginal.

Tabla 3: Media ± eem del peso (mg/100 g) de los ovarios izquierdo y derecho de ratas hembras testigo absoluto o con administración aguda o crónica de vehículo (agua destilada) en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

	TESTIGO ABSOLUTO	V E H I C U L O AGUDO	CRONICO
OVARIO IZQUIERDO	21.0±1.4	17.6±0.8 *	19.8±2.0
OVARIO DERECHO	20.9±1.3	17.8±0.8	18.6±1.9

*P<0.05 vs grupo TA (ANDEVA seguido por Tukey)

La masa ovárica y el útero disminuyeron ponderalmente sólo en el grupo en donde se administró el vehículo de forma aguda (Figura 7), lo mismo sucede si se expresan en peso relativo (ovario: 35.4 ± 1.3 vs 41.9 ± 2.3 ; útero: 150.8 ± 5.6 vs 188.1 ± 10.2 , $P < 0.05$ ANDEVA seguido por Tukey). El grupo con vehículo crónico no presentó cambios en éstos parámetros.

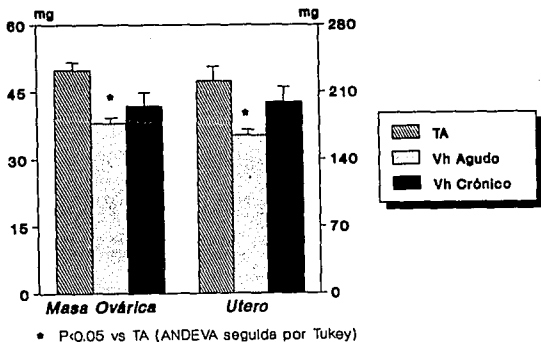


Figura 7. Media \pm sem de la masa ovárica y del útero en mg, de ratas testigo absoluto o tratadas de forma aguda o crónica con vehículo (agua destilada), en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

La masa adrenal, el peso de la hipófisis y del bazo no se modificaron por el tratamiento con vehículo, mientras que, el del timo se incrementó por el tratamiento crónico con vehículo (Tabla 4).

Tabla 4: Media \pm eem de la masa adrenal, de la hipófisis, del bazo y del timo (mg/100 g), de ratas hembras testigo absoluto o con administración aguda o crónica de vehículo (agua destilada) en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

	V E H I C U L O		
	TESTIGO ABSOLUTO	AGUDO	CRONICO
MASA ADRENAL	32.2 \pm 1.4	30.9 \pm 0.9	31.5 \pm 1.2
HIPOFISIS	7.4 \pm 0.6	7.3 \pm 0.3	7.4 \pm 0.4
BAZO	508.5 \pm 37.4	599.5 \pm 39.2	497.3 \pm 56.5
TIMO	256.5 \pm 15.6	270.6 \pm 8.1	313.0 \pm 15.6*

*P<0.05 vs grupo testigo absoluto (ANDEVA seguido por Tukey)

Debido a que la administración del vehículo provocó algunas modificaciones en los parámetros evaluados, se decidió comparar los resultados de los animales desnervados con guanetidina con su respectivo vehículo.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA SOBRE LOS PARAMETROS EVALUADOS A LA PUBERTAD EN CRIAS PROVENIENTES DE MADRES TRATADAS A PARTIR DEL DIA 15 DE PREÑEZ.

En la tabla 5 se muestra que la administración aguda o crónica con guanetidina en la etapa fetal no modificó la duración de la preñez, ni la proporción de crías vivas o muertas.

Tabla 5: Media \pm eem de la duración de la preñez (días) y del número de crías vivas o muertas, de ratas tratadas de forma aguda o crónica con vehículo o con guanetidina (20 mg/kg) a partir del día 15 de preñez.

GRUPO	n	DURACION DE LA PREÑEZ	CRIAS VIVAS	CRIAS MUERTAS
VEHICULO AGUDO	8	22.5 \pm 0.3	9.1 \pm 0.8	0
GUANETIDINA AGUDO	11	22.7 \pm 0.1	8.8 \pm 1.0	0.7 \pm 0.3
VEHICULO CRONICO	4	23.0 \pm 0.4	10.5 \pm 1.0	0.5 \pm 0.3
GUANETIDINA CRONICO	6	22.8 \pm 0.2	8.3 \pm 0.8	1.0 \pm 0.4

La administración aguda o crónica con guanetidina no modificó el peso corporal de los animales al llegar al primer estro vaginal (Figura 8).

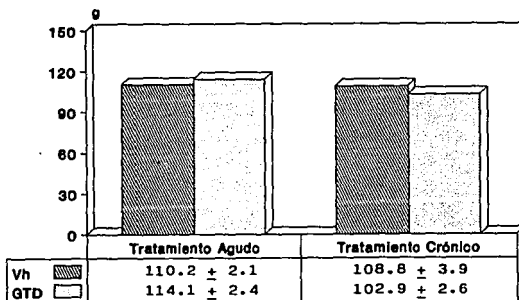


Figura 8. Media \pm eem del peso corporal (g) de ratas tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD) en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.

El tratamiento agudo con guanetidina provocó retraso en la edad de apertura vaginal y la del primer estro, mientras que en los animales tratados de forma crónica no se observaron modificaciones en estos parámetros (Figura 9).

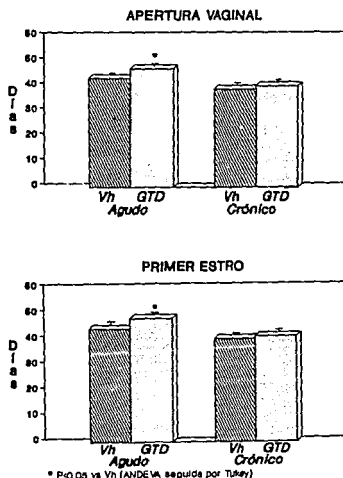


Figura 9. Media \pm eem de la edad de apertura vaginal y del primer estro (en días), de ratas tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD) en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.

El tratamiento con guanetidina, de forma aguda o crónica, no provocó cambios en el porcentaje de animales que abrieron vagina en cada etapa del ciclo estral (Tabla 6).

Tabla 6: Porcentaje del número de animales que abrieron vagina en cada etapa del ciclo estral, Diestro (D), Proestro (P) o Estro (E) de animales tratados en forma aguda o crónica con vehículo o con guanetidina (20 mg/Kg) etapa fetal y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPO	DIAS DEL CICLO ESTRAL		
	D	P	E
VEHICULO AGUDO	4/29 (13.8%)	5/29 (17.2%)	20/29 (69.0%)
GUANETIDINA AGUDO	5/32 (15.6%)	7/32 (21.9%)	20/32 (62.5%)
VEHICULO CRONICO	1/9 (11.1%)	3/9 (33.3%)	5/9 (55.6%)
GUANETIDINA CRONICO	3/16 (18.8%)	5/16 (31.2%)	8/16 (50.0%)

En el grupo con guanetidina se observó disminución en la tasa de animales ovulantes, sin llegar a ser estadísticamente significativa (Figura 10). El número de ovocitos liberados no se modificó por la administración del fármaco de forma aguda o crónica (Figura 11). Sin embargo, en el grupo de animales tratados con vehículo crónico se observó una disminución significativa en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho, con respecto a su ovario izquierdo.

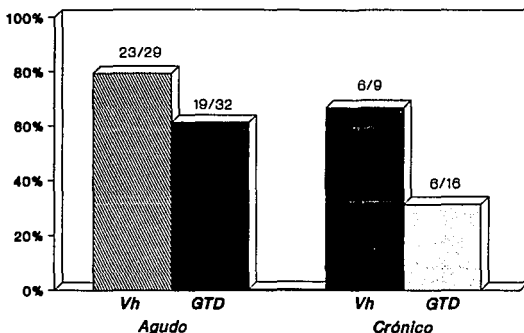
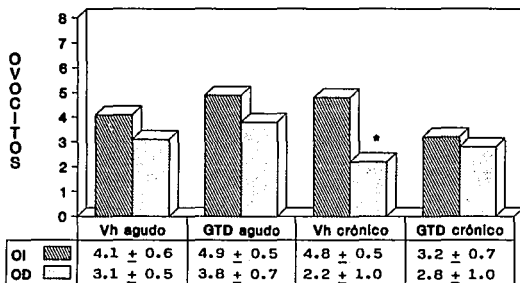


Figura 10. Porcentaje de ratas ovulantes tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD) en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $P < 0.05$ vs su OI (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 11. Media \pm eem del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD) de ratas tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD) en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.

La administración aguda o crónica de guanetidina no provocó modificación en el peso de los ovarios de éstos animales (Figura 12), lo mismo sucedió si los datos son expresados en peso relativo.

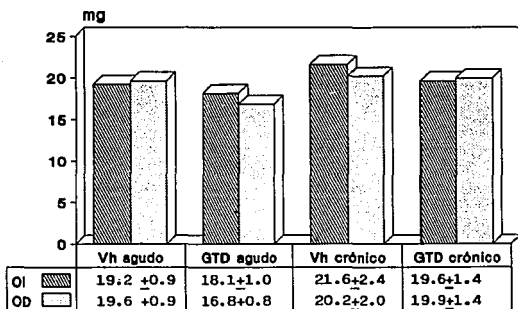
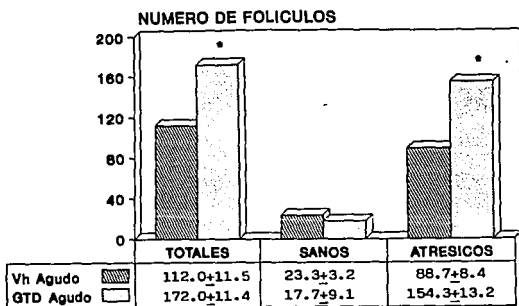


Figura 12. Media \pm eem del peso del ovario izquierdo (OI) y derecho (OD) de ratas tratadas de forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD) en la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

El análisis de crecimiento folicular se realizó solamente en el grupo con administración de guanetidina de forma aguda. En la figura 13 se observa que en los animales desnervados incrementó el número de folículos totales, donde el mayor número correspondió a los folículos atrésicos.



* P<0.05 vs grupo Vehículo (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 13. Media±sem del número total de folículos medidos del ovario izquierdo de ratas tratadas con vehículo (Vh) o guanetidina (GTD) de forma aguda durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

La desnervación aguda con guanetidina no modificó el número de folículos sanos, en cada uno de los rangos analizados. Sin embargo, incrementó el número de folículos atresicos ubicados entre 46-200 μm (Tabla 7).

Tabla 7: Media \pm eem del número de folículos sanos y atrésicos del ovario izquierdo de ratas tratadas con vehículo (Vh) o guanetidina (GTD), 20 mg/kg, de forma aguda durante la etapa fetal y sacrificadas al primer estro vaginal.

RANGO	VEHICULO	S A N O S		GUANETIDINA
46-200	12.0 \pm 3.1			13.7 \pm 8.0
201-349	7.7 \pm 2.3			3.3 \pm 0.7
350-499	3.7 \pm 0.9			0.7 \pm 0.7
>500 μ m	cero			cero
A T R E S I C O S				
46-200	65.0 \pm 6.5			109.3 \pm 8.7 *
201-349	13.3 \pm 3.2			32.3 \pm 6.6
350-499	8.7 \pm 0.9			10.0 \pm 2.5
>500 μ m	1.7 \pm 0.3			2.7 \pm 0.3

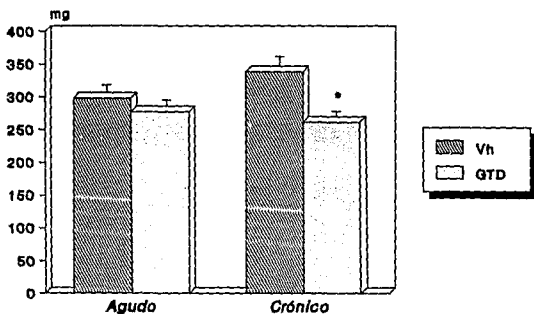
* $p < 0.05$ vs grupo Vehículo (ANDEVA seguida por Tukey)

El peso del útero, de las adrenales, la hipófisis y del bazo no se modificó en los grupos de animales desnervados con guanetidina (Tabla 8).

Tabla 8: Media \pm eem de peso (mg/100 g) del útero, de las adrenales, de la hipófisis y del bazo de ratas tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.

	Vh	GTD	Vh	GTD
	AGUDO		CRONICO	
UTERO	150.8 \pm 5.6	153.2 \pm 6.5	182.5 \pm 12.6	193.2 \pm 12.3
MASA ADRENAL	30.9 \pm 0.9	29.0 \pm 0.6	31.5 \pm 1.2	30.0 \pm 1.1
HIPOFISIS	7.3 \pm 0.3	6.6 \pm 0.3	7.4 \pm 0.4	7.7 \pm 0.4
BAZO	599.5 \pm 39.2	564.5 \pm 35.4	497.3 \pm 56.5	451.7 \pm 54.5

El timo de los animales desnervados con guanetidina de forma crónica disminuyó significativamente con respecto a su vehículo. Mientras que en el grupo tratado de forma aguda la disminución no alcanzó a ser estadísticamente significativo (Figura 14). Si los resultados son expresados en función del peso corporal, se observó una disminución en el peso del órgano en los animales con desnervación aguda o crónica (245.9 ± 8.3 vs 270.6 ± 8.1 y 254.8 ± 7.9 vs 313.0 ± 15.6 , respectivamente; $P < 0.05$ comparado con su vehículo, ANDEVA seguido por Tukey).



* $P < 0.05$ vs grupo Vh crónico (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 14. Media \pm sem del peso del timo (mg) de ratas tratadas en forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal, y sacrificadas al primer estro vaginal.

MACHOS

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DEL VEHICULO SOBRE LOS PARAMETROS EVALUADOS EN CRIAS PROVENIENTES DE MADRES TRATADAS A PARTIR DEL DIA 15 DE PREÑEZ.

En la figura 15 se muestra que con respecto a los animales intactos, la aplicación del vehículo, de forma aguda o crónica no indujo cambios en el peso de los testículos. De igual manera no se observaron cambios en el peso corporal de los animales, en el peso absoluto o relativo de la próstata y las vesículas seminales (Tabla 9).

Tabla 9: Media \pm eem del peso corporal (g) y del peso (mg/100 g) de los testículos izquierdo y derecho, de la próstata y de las vesículas seminales de ratas machos de 53 días intactos (TA) o tratados de manera aguda o crónica con vehículo (agua destilada) en la etapa fetal.

	TA	V E H I C U L O	
		AGUDO	CRONICO
n	11	21	8
PESO CORPORAL	193.3 \pm 2.4	180.9 \pm 3.0	200.4 \pm 11.6
TESTICULO IZQUIERDO	553.0 \pm 39.2	581.8 \pm 20.1	599.0 \pm 17.0
TESTICULO DRECHO	586.5 \pm 14.5	572.7 \pm 22.3	595.0 \pm 20.6
PROSTATA	91.0 \pm 7.9	92.1 \pm 4.2	99.6 \pm 4.9
VESICULAS SEMINALES	117.9 \pm 7.4	104.3 \pm 3.8	105.1 \pm 8.2

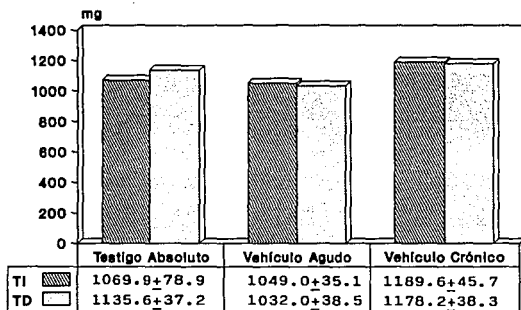
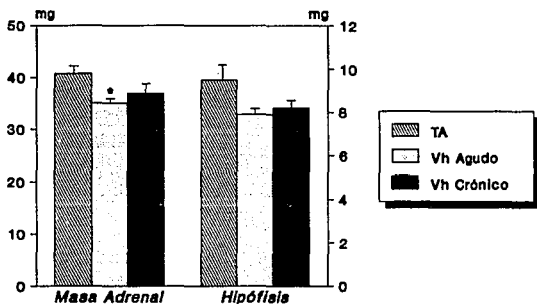


Figura 15. Media \pm eem del peso (mg) del testículo izquierdo (TI) y derecho (TD) de ratas de 53 días testigo absoluto o tratados de manera aguda o crónica con vehículo (agua destilada) en la etapa fetal.

La administración aguda o crónica del vehículo no modificó el peso de la hipófisis, pero si disminuyó la masa adrenal en el grupo con vehículo agudo (Figura 16). Los datos expresados en pesos relativos no presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo absoluto (Tabla 10).



* $P < 0.05$ vs TA (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 16. Media \pm eem del peso (mg) de la masa adrenal y de la hipófisis de ratas machos de 53 días de edad intactos (TA) o tratados de manera aguda o crónica con vehículo (agua destilada) en la etapa fetal.

Tabla 10: Media \pm eem del peso (mg/100 g) de la masa adrenal, de la hipófisis, del bazo y del timo de ratas machos de 53 días de edad intactos (TA) o tratados de manera aguda o crónica con vehículo (agua destilada) en la etapa fetal.

	TA	VEHICULO	
		AGUDO	CRONICO
MASA ADRENAL	21.1 \pm 0.7	19.5 \pm 0.6	18.8 \pm 1.5
HIPOFISIS	4.9 \pm 0.4	4.4 \pm 0.1	4.1 \pm 0.2
BAZO	393.1 \pm 48.2	636.6 \pm 43.2 *	848.2 \pm 63.8 **
TIMO	171.3 \pm 9.3	180.8 \pm 5.9	201.3 \pm 11.7

* $P < 0.05$ vs comparado con el grupo TA

+ $P < 0.05$ vs comparado con el grupo Vehículo Agudo (ANDEVA seguido por la prueba de Tukey)

Con respecto al grupo testigo, el peso del bazo aumentó significativamente en los animales tratados con vehículo de forma aguda o crónica (Figura 17). Estos incrementos se mantienen si se expresan en pesos relativos (Tabla 10). El peso absoluto del timo también se vio incrementado significativamente por la administración crónica del vehículo (Figura 17).

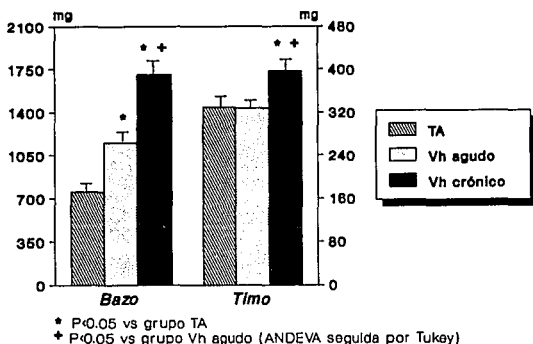
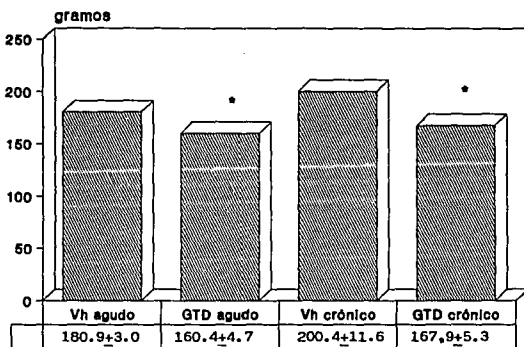


Figura 17. Media \pm eem del peso (mg) del bazo y del timo de ratas machos de 53 días de edad intactos (TA) o tratados de manera aguda o crónica con vehículo (agua destilada) en la etapa fetal.

Debido a que la administración de vehículo de manera aguda o crónica modificó algunos de los parámetros evaluados, los resultados de los animales desnervados con guanetidina se compararon con su correspondiente grupo con vehículo.

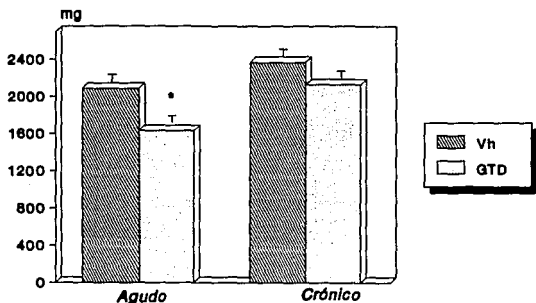
EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION DE VEHICULO O GUANETIDINA SOBRE LOS PARAMETROS EVALUADOS EN CRIAS PROVENIENTES DE MADRES TRATADAS A PARTIR DEL DIA 15 DE PREÑEZ.

El tratamiento con guanetidina de forma aguda o crónica en la etapa fetal provocó en la rata macho una disminución significativa en su peso corporal (Figura 18). El peso de la masa testicular se ve disminuido por la administración aguda de guanetidina (Figura 19) esta disminución se presentó en ambos testículos (Figura 20). Estos datos expresados en peso relativo no presentan cambios estadísticamente significativos (Tabla 11).



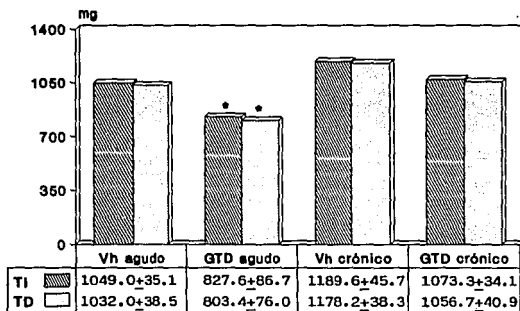
* P<0.05 vs Vh correspondiente (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 18. Media ± eem del peso corporal (g) de ratas machos de 53 días de edad tratados de forma aguda o crónica con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.



* $P < 0.05$ vs grupo Vh agudo (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 19. Media \pm eem de la masa testicular (mg) de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.



* $P < 0.05$ vs grupo Vh agudo (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 20. Media \pm eem del peso (mg) del testículo izquierdo o derecho de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.

Tabla 11: Media \pm eem del peso (mg/100 g) del testículo izquierdo (TI) y derecho (TD), de la masa testicular (MT), de la próstata (P) y de las vesículas seminales (VS) de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (20 mg/kg) en la etapa fetal.

	VEHICULO A G U D O	GUANETIDINA	VEHICULO C R O N I C O	GUANETIDINA
TI	581.8 \pm 20.1	516.1 \pm 51.7	599.0 \pm 17.0	644.5 \pm 30.2
TD	572.7 \pm 22.3	508.7 \pm 49.6	595.0 \pm 20.6	635.0 \pm 33.8
MT	1164.5 \pm 42.2	1024.8 \pm 84.3	1194.0 \pm 37.4	1279.5 \pm 63.5
P	92.1 \pm 4.2	80.4 \pm 6.8	99.6 \pm 4.9	106.6 \pm 8.0
VS	104.3 \pm 3.8	91.2 \pm 7.3	105.1 \pm 8.2	132.5 \pm 9.5*

*P<0.05 vs grupo Vehículo Crónico
(ANDEVA seguido por la prueba de Tukey)

En el grupo tratado de forma aguda con guanetidina se observó disminución significativa en el peso absoluto de la próstata y de las vesículas seminales (Figura 21). El tratamiento crónico no modificó el peso absoluto de estos órganos (Figura 21). No se observaron diferencias significativas cuando los resultados fueron expresados en peso relativo (Tabla 11).

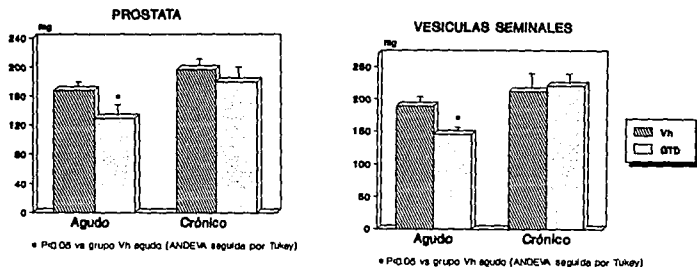


Figura 21 Media \pm eem del peso (mg) de la próstata y de las vesículas seminales de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.

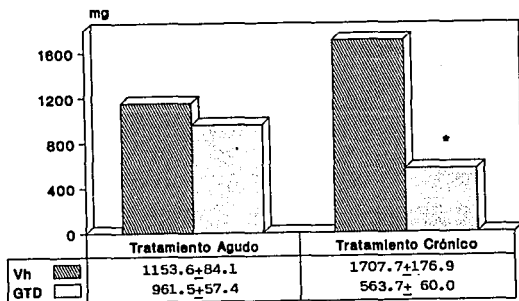
La masa adrenal no se modificó en los animales desnervados. El peso de la hipófisis se incrementó cuando el tratamiento con el fármaco se realizó de forma crónica (Tabla 12)

Tabla 12: Media \pm eem del peso (mg/100 g) de la masa adrenal (MA), de la hipófisis (H), del bazo (B) y del timo (T) de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.

	VEHICULO A G U D O	GUANETIDINA	VEHICULO C R O N I C O	GUANETIDINA
MA	19.5 \pm 0.6	21.8 \pm 1.1	18.8 \pm 1.5	23.2 \pm 1.5
H	4.4 \pm 0.1	4.9 \pm 0.3	4.1 \pm 0.2	5.6 \pm 0.6 *
B	636.6 \pm 43.2	598.3 \pm 25.6	848.2 \pm 63.8	340.9 \pm 44.4 *
T	180.8 \pm 5.9	183.9 \pm 8.3	201.3 \pm 11.7	176.4 \pm 12.7

*P<0.05 vs grupo Vh Crónico (ANDEVA seguido por Tukey)

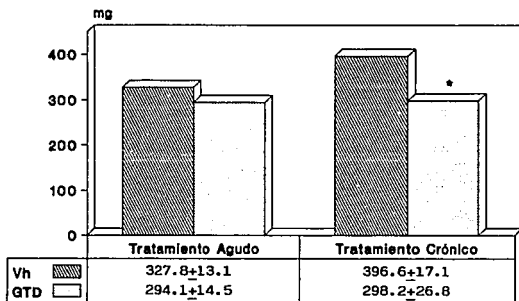
El peso del bazo disminuyó de manera significativa en aquellos animales a los cuales se les desnervó crónicamente, ésta disminución se presentó en peso absoluto (Figura 22) como en relativo (tabla 12). Mientras que, los animales que recibieron la dosis de guanetidina de manera aguda la disminución de éste órgano no fue significativa.



* P<0.05 vs grupo Vh Crónico (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 22. Media \pm eem del peso (mg) del bazo de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.

Sólo disminuyó el peso del timo en el grupo tratado con guanetidina de forma crónica (Figura 23).



* P<0.05 vs grupo Vh Crónico (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 23. Media \pm eem del peso del timo (mg) de ratas machos de 53 días de edad con tratamiento agudo o crónico con vehículo (Vh) o con guanetidina (GTD), 20 mg/kg, en la etapa fetal.

DISCUSION

HEMBRAS

Dado que en este estudio observamos que el estrés, causado por la inyección del vehículo, provocó modificación en algunos de los parámetros evaluados, nuestra interpretación acerca de los efectos de la desnervación, aguda o crónica, fueron realizados considerando este hecho. Al momento desconocemos los mecanismos que se modificaron en respuesta al estrés.

Pocas son las evidencias que se tienen acerca del papel de la inervación catecolaminérgica en el proceso de implantación y desarrollo del embrión. Algunos de los resultados han sido interpretados como una indicación de que esta inervación no es indispensable para el mantenimiento de la preñez (Evans y Burnstock 1979; Roche y col., 1985; Lara y col., 1990).

Nuestros resultados nos permiten apoyar la idea de que la inervación catecolaminérgica no sería relevante en el mantenimiento de la preñez, ya que la desnervación noradrenérgica con guanetidina al día 15 del desarrollo embrionario, de forma aguda o crónica, no modificó el tiempo de gestación, ni la proporción de crías vivas o muertas. Estos resultados pueden ser debidos a que fue poca la cantidad de guanetidina que atravesó la barrera placentaria o bien, que las neuronas noradrenérgicas no sufrieron mayores daños, permitiendo el buen desarrollo de las crías. El grupo Evans y Burnstock (1979) han planteado que en la rata preñada posiblemente la cantidad de guanetidina que

atraviesa la barrera placentaria no es suficiente para afectar a las neuronas noradrenérgicas.

Existen otras evidencias que muestran que la desnervación con 6-OHDA, induce aumento en el número de reabsorciones y de crías muertas al momento del parto (McDonald y Airaksinen, 1974). Probablemente las discrepancias observadas entre el tratamiento con guanetidina y la 6-OHDA puedan deberse a la etapa de la preñez cuando se inicio la desnervación, o bien que la 6-OHDA pudo extender su acción a nervios parasimpáticos. También se ha observado que si al inicio de la segunda semana de preñez se elimina por medios quirúrgicos la inervación parasimpática (sección de los nervios pélvicos), se induce un incremento en el número de reabsorciones y de crías muertas (Burden y col., 1990).

En los animales desnervados con guanetidina, a partir del día 15 del desarrollo embrionario, no observamos modificaciones en el peso corporal al llegar al primer estro vaginal. Sin embargo, no podemos descartar que haya ocurrido una disminución durante los primeros días de vida, tal y como ha sido mostrado por Johnson Jr. y col., (1976), quienes administraron la guanetidina a partir del día 7 de vida y observaron disminución en el peso corporal, con recuperación ponderal a partir de la décima semana de vida.

La desnervación con guanetidina iniciada en los primeros días de vida provoca retraso en la edad de apertura vaginal (Flores y col., 1990; Lara y col., 1990). Nuestros

resultados apoyan la idea de que la inervación catecolaminérgica presente desde el día 16 del desarrollo embrionario, participa en los mecanismos neuroendócrinos que conllevan a la pubertad en la rata hembra.

Los animales desnervados de forma aguda presentaron retraso en la edad de apertura vaginal, probablemente debido a una disminución en la síntesis de estrógenos, lo que se refleja a su vez en un retraso en la aparición del primer estro vaginal. Estas evidencias concuerdan con lo reportado por Aguado y Ojeda (1984), quienes demostraron que la noradrenalina ovárica estimula la liberación de estrógenos. Estos hechos nos permiten sugerir que el papel de la inervación catecolaminérgica es estimulatoria en el proceso de canalización vaginal.

Existen datos que muestran que el organismo responde mediante mecanismos compensadores en respuesta a la desnervación simpática. De los mecanismos descritos se encuentra el de un aumento en la sensibilidad de los receptores adrenérgicos (Lara y col., 1990a) y en la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa en la médula adrenal (Johnson Jr y col., 1976). Posiblemente estos mecanismos se pudieron activar de una manera más eficiente en los animales que fueron sometidos a una desnervación crónica, lo que explicaría en parte la "falta" de efectos sobre los parámetros evaluados en la hembra como en el macho, mientras que, en los animales desnervados de forma aguda fue menor la expresión de estos mecanismos compensadores.

En el modelo del animal desnervado quirúrgicamente, en las diferentes etapas de la vida (infantil, juvenil, peripuberal y adulto), ha sido ampliamente demostrado que la inervación catecolaminérgica modula la reactividad del folículo a las gonadotropinas (Ayala y Domínguez, 1988; Chávez y col., 1991; Flores y col., 1990; Morales y col., 1993). En la rata recién nacida la simpatectomía con guanetidina provocó incremento en la respuesta ovulatoria, la cual disminuye si el fármaco se administra en la etapa adulta (Flores y col., 1990). En este estudio mostramos que en los animales desnervados, de forma aguda o crónica en la etapa fetal, no se modificó la respuesta ovulatoria, lo cual nos lleva a plantear que la inervación noradrenérgica presente en las últimas etapas del desarrollo embrionario, no participa en establecimiento de los mecanismos responsables de la primera ovulación.

A pesar de que la administración aguda de guanetidina provocó aumento en el número de folículos de reserva, es probable que en ovulaciones posteriores el número de ovocitos liberados sea menor por el alto índice de atresia observado. Esta interpretación se ve apoyada por los estudios realizados por el grupo de Lara y col. (1990, 1990a) quienes han mostrado que la administración de guanetidina o anticuerpos al factor de crecimiento neural (inmunosimpatectomía), provocan aumento en el número de folículos $<350 \mu\text{m}$ y disminución drástica en los preovulatorios. Las evidencias mostradas indican que la

inervación catecolaminérgica está modulando la reactividad del folículo a las gonadotropinas, especialmente por parte de los folículos que se encuentran en crecimiento.

Flores y col. (1990) han mostrado que la desnervación catecolaminérgica inducida con guanetidina desde el nacimiento o en la etapa adulta provoca disminución del peso de los ovarios. Nosotros no observamos cambios en el peso de las gónadas, esto probablemente se puede atribuir a las diferentes etapas en las cuales se realizó la desnervación.

Actualmente se sabe que existe una interacción funcional entre el sistema inmune y el sistema neuroendócrino. El bazo y el timo (órganos del sistema inmunológico), reciben también inervación catecolaminérgica y se ha reportado que la desnervación noradrenérgica provoca alteraciones en la respuesta inmune, que dependen de la etapa en la cual se realiza la desnervación (Besedovsky y col. 1979; Livnat y col. 1985). Por otra parte, se ha mostrado que en animales en donde la respuesta inmune se encuentra modificada, la desnervación catecolaminérgica produce cambios en la función reproductiva (Rosas y col., 1989).

En este trabajo no encontramos cambios significativos en el peso del bazo, en respuesta a la desnervación aguda o crónica. Sin embargo, no podemos descartar que la guanetidina haya disminuido la concentración de noradrenalina en este órgano altamente inervado, como ya ha sido mostrado por Johnson Jr. y col., (1976); Jaim-Etcheverry y Zieher, (1971) quienes reportaron

que la desnervación con guanetidina o 6-OHDA desde los primeros días de vida, induce en el bazo, disminución permanente en la concentración de noradrenalina.

Existen evidencias que apoyan la idea de que el timo participa en la modulación de la función del ovario (Aguilera y Romano, 1989; Rebar y col., 1981). Se ha aceptado que existe una relación funcional bidireccional entre el timo y las gónadas.

En este trabajo observamos que en los animales desnervados se presentó disminución del peso del timo. Estos resultados podrían ser interpretados como que la inervación catecolaminérgica regula el proceso de involución del timo, que se produce de manera natural.

MACHOS

En la literatura han aparecido reportes que señalan que la distribución y el tipo de neuronas noradrenérgicas que inervan al aparato reproductor de la rata macho, difieren a las de la hembra (Evans y Burnstock, 1979). Esto junto con todas las evidencias ya presentadas nos lleva a considerar que la inervación catecolaminérgica participa de manera diferencial en la hembra y en el macho y que depende de la edad del animal.

En la rata adulta la desnervación quirúrgica (Sjöstrand, 1965; Wang Jin-Min y col., 1991) o farmacológica (Nelson y col., 1988; Lorton y col., 1990) no modifica el peso corporal. Este mismo efecto se observa si la simpatectomía se

realiza en animales recién nacidos (Johnson Jr. y col., 1976). Estas evidencias parecen indicar que la inervación catecolaminérgica no participa en los mecanismos involucrados en la regulación del peso corporal.

En nuestro estudio realizamos la simpatectomía in útero de manera aguda o crónica con guanetidina y observamos una disminución en el peso corporal de los animales a los 53 días de edad. Desconocemos si la administración del fármaco provocó alteraciones en la concentración de la hormona del crecimiento. El grupo de Cardinali (1994), mostró que en el macho la sección bilateral del ganglio cervical superior (origen de las neuronas noradrenérgicas), provoca disminución en la concentración plasmática de la hormona del crecimiento.

En la rata la simpatectomía unilateral quirúrgica o química realizada antes de los 20 días de vida, provoca una disminución en el peso del testículo desnervado (Nagai y col., 1982). Mientras que, en el animal de 30 días la desnervación bilateral del nervio espermático, no modifica el peso testicular a los 10 días después de la intervención (Campos y col., 1993). En este trabajo se muestra que la desnervación aguda con guanetidina, en la etapa fetal, provocó una disminución en el peso de los testículos a los 53 días de edad, esto nos permite sugerir que desde la etapa fetal y hasta los primeros días de vida, la información noradrenérgica que recibe el testículo, es de tipo estimulatoria para el crecimiento de este órgano. Es

probable que los efectos de la eliminación de la inervación catecolaminérgica, en etapas tempranas del desarrollo, sea más drástico debido a que en condiciones naturales el testículo del recién nacido presenta concentraciones más altas del neurotransmisor que las detectadas en el animal adulto (Zieher y col., 1971).

Por otra parte, se ha sugerido que la disminución del peso testicular estaría vinculado con modificaciones en la función de las células de Leydig. Esto se apoya en el hecho de que, en la rata con desnervación simpática, quirúrgica o química, si bien no se observan alteraciones estructurales en las células de Leydig (Nagai y col., 1982), si se presenta una disminución en la concentración de testosterona en respuesta a la hCG (Damber, 1990; Campos y col., 1993).

Existen evidencias experimentales que muestran que en la rata macho adulto, la administración crónica de guanetidina provoca disminución drástica o depleción total de la inervación noradrenérgica de las vías deferentes, del epidídimo, de la próstata y de las vesículas seminales (Evans y col., 1979; Lamano-Carvalho y col., 1986). Dado que en nuestros animales desnervados de manera aguda observamos disminución en el peso de los testículos, pensamos que esta disminución se debe a modificaciones en la secreción de testosterona. Esto podría explicar la disminución en el peso de la próstata y de las vesículas seminales.

Se ha mostrado que en la rata macho adulta la desnervación química, con 6-OHDA, no provoca cambios en el peso del bazo, pero si una disminución en la concentración de noradrenalina, la cual se restablece a los 56 días posteriores a la desnervación (Lorton y col., 1990). Nuestro estudio muestra que solamente la simpatectomía inducida con guanetidina de forma crónica provoca una disminución ponderal del bazo. Aunque en este caso no podemos descartar que se haya restablecido la concentración de noradrenalina, y al parecer no existiría una correlación entre el peso del bazo y la concentración del neurotransmisor.

En nuestro estudio se observó que el timo de la rata macho, como sucedió con el de la hembra, la desnervación de forma crónica provocó una disminución ponderal de este órgano. Lo que indica que el timo, independientemente del sexo responde a los efectos de la desnervación crónica. Se ha postulado que los andrógenos son más potentes para inducir la involución del timo que los estrógenos (Inomata y Nakamura, 1989), esto apoya el hecho de que en los animales con desnervación aguda, en donde planteamos disminución en la concentración de testosterona no presenten cambios en el peso del timo.

CONCLUSIONES

La inervación catecolaminérgica no es "fundamental" en el mantenimiento de la preñez y el desarrollo de los fetos.

En los procesos neuroendócrinos implicados en la canalización vaginal, la inervación catecolaminérgica presente ya desde la etapa fetal, participa de forma estimulatoria.

La eliminación de la información noradrenérgica en la etapa fetal, no modificó la primera ovulación. Sin embargo, participa en el crecimiento y diferenciación del folículo ovárico.

El desarrollo del timo y del bazo requiere de la integridad de la información neural en la última etapa del desarrollo embrionario.

La inervación catecolaminérgica desde la etapa fetal ejerce un efecto estimulatorio para el crecimiento de los testículos y de las glándulas accesorias. Probablemente por medio de la regulación de la secreción de andrógenos, principalmente de testosterona.

Con base a lo anterior, sugerimos que la inervación catecolaminérgica, presente desde el día 16 de desarrollo embrionario, participa de manera diferencial en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la pubertad en la hembra y en el macho.

BIBLIOGRAFIA

- AGUADO, L.I. y OJEDA, S.R. (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*, **114**: 1845-1853.
- AGUILERA, G. y ROMANO, M.C. (1989). Influence of the thymus on steroidogenesis by rat ovarian cells in vitro. *J. Endocrinology*, **123**: 367-373.
- ARMED, C.E., DEES, W.L. y OJEDA, S.R. (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP)-containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology*, **118**: 1682-1689.
- ANAKWE, O.O. y MOGER, W.H. (1984). Ontogeny of rodent testicular androgen production in response to isoprotenerol and luteinizing hormone in vitro. *Biology of Reproduction*, **30**: 1142-1152.
- ANAKWE, O.O. y MOGER, W.H. (1986). Catecholamine stimulation of androgen production by rat Leydig cells. Interaction with luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone. *Biol. Reprod.*, **35**: 806-814.
- ANDREWS, W.W., OJEDA, S.R. (1981). A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology*, **98**: 241-249.
- ANGELETTI, P.U., LEVI-MONTALCINI, R. y CARAMIA, F. (1972). Structural and ultrastructural changes in developing sympathetic ganglia induced by guanethidine. *Brain Research*, **43**: 515-525.
- AYALA, M.A. y DOMINGUEZ, R. (1988). Ovulatory response to the sequential administration of follicle stimulating hormone and human chorionic gonadotropin by autografted ovary in unilaterally ovariectomized adult rat with peripheral denervation induced by guanethidine treatment. *La Rev. Invest. Clín. (Méx.)*, **40**: 149-155.
- BAHR, J., KAO, L. y NALBANDOV, A.V. (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol. Reprod.*, **10**: 272.
- BARRACLOUGH, C.A. y WISE, P.M. (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocr. Rev.* **3**: 91.

- BECU-VILLALOBOS, D. y LACAU-MENGIDO, I.M. (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.*, 40: 1-17.
- BENNETT, T., GARDINER, S.M. y KEMP, P.A. (1982). An assesment of the effectiveness of neonatal treatment with guanethidine as a means of producing sympathectomy. *Br. J. Pharmac.*, 76: 557-564.
- BENNETT, J.P. y VICKERY, B.H. (1970). Rats and Mice. En: *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*. Hafez, E.S.E. Eds. Lea and Febiger. 299-315.
- BESEDOVSKY, H.O., DEL REY, A., SORKIN, E., DA PRADA, M. y KELLER, H.H. (1979). Immunoregulation mediated by the sympathetic nervous system. *Cell. Immunol.*, 48: 346-355.
- BODIS, J., TINNEBERG, H.R., TOROK, A., CLEDON, P., HANF, V. y PAPANFUSS, F. (1993). Effect of noradrenaline and dopamine on progesterone and estradiol secretion of granulosa cells. *Acta Endocrinologica*, 129: 165-168.
- BOULLIN, D.J., COSTA, E. y BRODIE, B.B. (1966). Discharge of tritium-labeled guanethidine by sympathetic nerve stimulation as evidence that guanethidine is a false transmitter. *Life Sciences*, 5: 803-808.
- BRINK, C.C. y GROB, H.S. (1973). Response of the denervated mouse ovary to exogenous gonadotropins. *Reprod.*, 9: 108.
- BURDEN, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines as hormone regulator*. N. Ben-Jonathan, J.M. Bahr y R.I. Weiner Eds. Raven Press, New York : 261-278.
- BURDEN, H.W., PRICE, G.T., RENEGAR, R.H. y HODSON, C.A. (1990). Effects of peripheral nerve lesions during pregnancy on parturition in rats. *Anat. Embryol.*, 182: 499-501.
- BURNSTOCK, G., EVANS, B., GANNON, B.J., HEATE, J.W. y JAMES, V. (1971). A new method of destroying adrenergic nerves in adult animals using guanethidine. *British Journal of Pharmacology*, 43: 295-301.
- CALKA, J., McDONALD, J.K. y OJEDA, S.R. (1988). The innervation of the immature rat ovary by calcitonin gene-related peptide. *Biology of Reproduction*, 39: 1215-1223.

- CAMPOS, M.B., CHIOCCHIO, S.R., CALANDRA, R.S. y RITTA, M.N. (1993). Effect of bilateral denervation of the immature rat testis on testicular gonadotropin receptors and *in vitro* androgen production. *Neuroendocrinology*, 57: 189-194.
- CARDINALI, D.P., ESQUIFINO, A.I., ARCE, A., VARA, E., ARIZNABARRETA, C. y TRESGUERRERES, J.A.F. (1994). Changes in serum growth hormone and prolactin levels, and in hypothalamic growth hormone-releasing hormone, thyrotropin-releasing hormone and somatostatin content, after superior cervical sympathectomy in rats. *Neuroendocrinology*, 59: 42-48.
- CHAVEZ, R. (1991). Participación de la inervación aferente al ovario en la regulación del crecimiento folicular y la ovulación. *La rata adulta como modelo de estudio (Tesis de Doctorado)*. Departamento de Fisiología Instituto de Investigaciones Biomédicas. UNAM.
- CHAVEZ, R., CARRIZOSA, L. y DOMINGUEZ, R. (1991). Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. *Med. Sci. Res.*, 19: 41-42.
- CLARK, M.M. y GALEF, B.G. Jr. (1988). Effects of uterine position on rate of sexual development in female mongolian gerbils. *Physiology & Behavior*, 42: 15-18.
- CLARK, M.M., MALENFANT, S.A., WINTER, D.A. y GALEF, B.G. Jr. (1990). Fetal uterine position affects copulation and scent marking by adult male gerbils. *Physiology & Behavior*, 47: 301-305.
- CURRY, Jr T.E., LAWRENCE, Jr I.E. y BURDEN, H.W. (1983). Ovarian follicular development following exogenous gonadotropin stimulation in the prepubertal guinea pig: effect of unilateral 6-hydroxydopamine. *Fed. Proc.*, 42: 316.
- DAMBER, J.E. (1990). The effect of guanethidine treatment of testicular blood flow and testosterone production in rats. *Experientia*, 46: 486-487.
- DAMBER, J.E. y JANSON, P.O. (1978). Testicular blood flow and testosterone concentrations in spermatid venous blood of anaesthetized rats. *J. Reprod. Fertil.*, 52: 365-269.
- DARNEY Jr., K.J., GOLDMAN, J.M. y VANDENBERGHE, J.G. (1992). Neuroendocrine responses to social regulation of puberty in the female house mouse. *Neuroendocrinology*, 55: 434-443.
- DEES, W.L., AHMED, C.E. y OJEDA, S.R. (1986). Substance P- and vasoactive intestinal peptide- containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology*, 119: 638-641.

- DLUZEN, D., GUAN, X. y VANDENBERGH, J.G. (1992). Puberty acceleration in female mice induced with a partially purified male urine extract: effects on catecholamine release from the olfactory bulbs and hypothalamus. *Brain Research*, 585: 367-371.
- DOHLER, K.D., WUTKE, W. (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, 94: 1003-1008.
- DOMINGUEZ, R. y RIBONI, L. (1971). Failure of ovulation in autographed ovary of the hemispayed rat. *Neuroendocrinology*, 7: 164.
- DYER, Ch.A. y ERICKSON, G.F. (1985). Norepinephrine amplifies human chorionic gonadotropin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-interstitial cells. *Endocrinology*, 116: 1645-1652.38.-EVANS, B. (1979). Influence of neuronal activity levels on the cytotoxic effects of guanethidine. *J. Pharmac. and Exp. Ther.*, 209: 205-214.
- EVANS, B., IWAYAMA, T. y BURNSTOCK, G. (1973). Long-lasting supersensitivity of the rats vas deferens to norepinephrine after chronic guanethidine administration. *Pharmac. and Exp. Ther.*, 185: 60-69.
- EVANS, B., y BURNSTOCK, G. (1979). Chronic guanethidine treatment of female rats including effects on the fetus. *J. Reprod. Fert.*, 56: 715-724.
- EVANS, B., HEATH, J.W., y BURNSTOCK, G. (1979). Reinnervation following guanethidine-induced sympathectomy of adult rats. *Journal of Neurocytology*, 8: 381-400.
- FLORES, A., AYALA, Ma.E. y DOMINGUEZ, R. (1990). Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation ovulation in the pubertal and the adult rat?. *Med. Sci. Res.*, 18: 817-818.
- FRANKEL, A. y RYAN, EL. (1981). Testicular innervation is necessary for the response of plasma testosterone levels to acute stress. *Biol. Reprod.*, 24: 491-495.
- GELDERD, J.B. y PEPLER, R.D. (1979). Effect of spinal cord transection on the reproductive system in the female rat. *Neuroendocrinology*, 29: 293.
- GERENDAI, I., MARCHETTI, B., MAUGERI, S., ROSAS, M.A. y SCAPAGNINI, V. (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovaries with 6-OHDA. *Neuroendocrinology*, 27: 272.

- GERENDAI, I., NEMESKERI, A. y CSERNUS, V. (1984). Depending on the dose 6-OHDA stimulates or inhibits the testis of immature rats. *Exp. Clin. Endocrinol.*, **84**: 27-36.
- GIBSON, W.R., ROCHE, P.S., SUMMERS, R.J. y WYLIE, S.N. (1984). Time course of sympathetic denervation of the rat ovary after freezing its nerve supply. *Journal of Reproduction and Fertility*, **72**: 429-433.
- GOLDMAN, B.D. (1981). Puberty. En: *Neuroendocrinology of Reproduction Physiology and Behavior*. N.T. Adler. Eds. *Cap. 8* p. 229. Plenum Press.
- GORE, A. y TERASAWA, E. (1991). A role for norepinephrine in the control of puberty in the female rhesus monkey, *Macaca Mulatta*. *Endocrinology*, **129**: 3009-3017.
- GRUMBACH, M.M. (1975). Onset of puberty. En: *Puberty*. Berenberg, S.R. Eds. H.E. Stenfert Kroese B.V., Leiden, Netherlands., **1**: 1-21.
- HAGE, A.J., GROEN-KLEVANT, A.C., WELSCHEN, R. (1978). Follicle growth in the immature rat ovary. *Acta Endocr., (Copenh.)*, **88**: 375-382.
- HEATH, J.W., y BURNSTOCK, G. (1977). Selectivity of neuronal degeneration produced by chronic guanethidine treatment. *J. of Neurocytology*, **6**: 397-405.
- HEINDEL, J.J., STEINBERGER, A., STRADA, S.J. (1981). Identification and characterization of a beta-1-adrenergic receptor in the rat Sertoli cell. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **22**: 349-358.
- HODSON, N. (1970). The nerves of the testis, epididymis and scrotum; in Johson, A.D. Gomes, W.R., Vandemark, V.D. (eds.): *The Testis*. New York, Academic Press, **1**: 47-80.
- INOMATA, T. y NAKAMURA, T. (1989). Influence of adrenalectomy on the development of the neonatal thymus in the rat. *S. Karger AG Basel. Prin. Switzerland Biol.*, **104**: 238-243.
- JAIM-ETCHEVERRY, G. y ZIEHER, L.M. (1971). Permanent depletion of peripheral norepinephrine in rats treated at birth with 6-hydroxydopamine. *European J. Pharmacol.*, **13**: 272-276.
- JOHNSON Jr., E.M., OEBRIEN, F. y WERBITT, R. (1976). Modification and characterization of permanent sympathectomy produced by the administration of guanethidine to newborn rats. *European J. Pharmacol.*, **37**: 45-54.

- LAMANO-CARVALEO, T.L., HODSON, N.P., BLANK, M.A., WATSON, P.F., MULDERY, P.K., BISHOP, A.E., GU, J., BLOOM, S.R. y POLAK, J.M. (1986). Occurrence, distribution and origin of peptide-containing nerves of guinea-pig and rat male genitalia and effects of denervation on sperm characteristics. *J. Anat.*, **149**: 121-141.
- LARA, H.E., McDONALD, J.K. y OJEDA, S.R. (1990). Involvement of nerve growth factor in female sexual development. *Endocrinology*, **126**: 364-375.
- LARA, H.E., McDONALD, J.K., AHMED, C.E. y OJEDA, S.R. (1990a). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. *Endocrinology*, **127**: 2199-2209.
- LAWRENCE, I.E. Jr. y BURDEN, H.W. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record.*, **196**: 51-59.
- LIVNAT, S., FELTEN, S.Y., CARLSON, S.L., BELLINGER, D.L. y FELTEN, D.L. (1985). Involvement of peripheral and central catecholamine systems in neural-immune interactions. *J. Neuroimmunol.*, **10**: 5-30.
- LORTON, D., HEWITT, D., BELLINGER, D.L., FELTEN, S.Y. y FELTEN, D. (1990). Noradrenergic reinnervation of the rat spleen following chemical sympathectomy with 6-Hydroxydopamine: pattern and time course of reinnervation. *Brain, Behavior, and Immunity*, **4**: 198-222.
- MACKINNON, P.C.B., MATTOCK, J.M. TER HAAR, M.B. (1976). Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. *J. Endocr.*, **70**: 361-371.
- MATSUMOTO, A.M., KARPAS, A.E., SOUTHWORTH, M.B., DORSA, D.M. y BREMNER, W.J. (1986). Evidence for activation of the central nervous system-pituitary mechanism for gonadotropin secretion at the time of puberty in the male rat. *Endocrinology*, **119**: 362-369.
- McDONALD, E.J. y AIRAKSINEN, M.M. (1974). The effect of 6-hydroxydopamine on the oestrus cycle and fertility of rats. *J. Pharm. Pharmac.*, **26**: 518-521.
- McDONALD, J.K., DEES, W.L., AHMED, C.E., NOE, B.D. y OJEDA, S.R. (1987). Biochemical and immunocytochemical characterization of neuropeptide Y in the immature rat ovary. *Endocrinology*, **120**: 1703-1710.

- MEIJS-ROELOFS, H.M.A., KRAMER, P., SANDER, H.J. (1983). Changes in serum concentrations of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty. *J. Endocr.*, **98**: 241-249.
- MOGER, W.H. y MURPHY, P.R. (1983). Beta-adrenergic agonist induced androgen production during primary culture of mouse Leydig cells. *Arch. Androl.*, **10**: 135-142.
- MORALES, L., CHAVEZ, R. y DOMINGUEZ, R. (1993). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of the unilateral and bilateral section of the nerve. *Med. Sci. Res.*, **21**: 15-17.
- NAGAI, K., MURANO, S., MINOKOSHI, Y., OKUDA, H. y KINUTANI, M. (1982). Effects of denervation and local 6-hydroxidopamine injection on testicular growth in rats. *Experientia*, **38**: 592-594.
- NEGRO-VILAR, A., OJEDA, S.R. y McCANN, S.M. (1979). Catecholaminergic modulation of luteinizing hormone-releasing hormone release by median eminence terminals in vitro. *Endocrinology*, **104**: 1749-1757.
- NELSON, D.K., SERVICE, J.E., STUDELSKA, D.R., BRIMIJOIN, S. y GO, V.L.W. (1988). Gastrointestinal neuropeptide concentrations following guanethidine sympathectomy. *J. of the Autonomic Nervous System*, **22**: 203-210.
- OJEDA, S.R., ADVIS, J.P. y ANDREWS, W.W. (1980). Neuroendocrine control of the onset of puberty in the rat. *Federation Proc.*, **39**: 2365-2371.
- OJEDA, S.R., ANDREWS, W.W., ADVIS, J.P., SMITH WHITE, S. (1980a). Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Rev.*, **1**: 228-257.
- 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**: 382-442.
- OJEDA, S.R., URBANSKI, H.F. (1988). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Knobil, E., Neill, J., et al. Eds. Raven Press Ltd., Nueva York, 1699-1737.
- PETER, H. (1970). Some aspects of early follicular development. En: *Ovarian Follicular Development and Function*. Midgley, A.R., Sadler, W.A., Eds. Raven Press, Nueva York. 1-3.
- RAMALEY, J.A. (1979). Development of gonadotropin regulation in the prepubertal mammal. *Biology of Reproduction*, **20**: 1-31.

- RAUM, W.J., GLASS, A.R. y SWERDLOFF, R.S. (1980). Changes in hypothalamic catecholamine neurotransmitters and pituitary gonadotropins in the immature female rat: relationships to the gonadostat theory of puberty onset. *Endocrinology*, 106: 1253-1258.
- RAUM, W.J. y SWERDLOFF, R. (1986). The effect of hypothalamic catecholamine synthesis inhibition by α -methyltyrosine on gonadotropin secretion during sexual maturation in the male wistar rat. *Endocrinology*, 119: 168-175.
- REBAR, R.W., MIYAKE, A., LOW, T.L.K. y GOLDSTEIN, A.L. (1981). Thymsin stimulates secretion of luteinizing hormone-releasing factor. *Science*, 214: 669-671.
- RENIER, G., GAULIN, J., GIBB, W., COLLU, R. y DUCHARME, J.R. (1987). Effects of catecholamines on porcine Sertoli and Leydig cells in primary culture. *Can J Physiol Pharmacol*, 65: 2053-2058.
- RIVIER, C., VALE, W. (1987). Inhibin: measurement and role in the immature female rat. *Endocrinology*, 120: 1688-1690.
- ROCHE, P.J., PARKINGTON, H.C. y GIBSON, W.R. (1985). Pregnancy and parturition in rats after sympathetic denervation of the ovary, oviduct and utero-tubal junction. *J. Reprod. Fert.*, 75: 653-661.
- ROSAS, P., ARGÜELLO, M.S. y DOMINGUEZ, R. (1989). Effects of noradrenergic peripheral denervation on spontaneous or induced puberty in normal and hypothyroid hairless female mice. *Med. Sci. Res.*, 17: 285-286.
- SANDER, H.J., MEIJS-ROELOFS, H.M.A., KRAMER, P., VAN LEEUWEN, E.C.M. (1987). Inhibin-like activity in ovarian homogenates of prepubertal female rats and its physiological significance. *J. Endocr.*, 107: 251-257.
- SETCHELL, B.P. (1978). Nerves of the testis and scrotum. En: *The mammalian testis*. Cornell University Press, New York, 4: 77.
- SJÖSTRAND, N.O. (1965). The adrenergic innervation of the vas deferens and the accessory male genital glands. *Acta Physiologica Scandinavica*, 65 (supplementum 257): 1-82.
- URBANSKI, H.F., OJEDA, S.R. (1983). The juvenile-peripubertal transition period in the female rat: establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*, 117: 644-649.

- URBANSKI, H.F., OJEDA, S.R. (1987). Gonadal-independent activation of enhanced afternoon luteinizing hormone release during pubertal development in the female rat. *Endocrinology*, 121: 907-913.
- WANG, J.M., MCKENNA, K.E., McVARY, K.T. y LEE, C. (1991). Requirement of innervation for maintenance of structural and functional integrity in the rat prostate. *Biology of Reproduction*, 44: 1171-1176.
- WUTTKE, W., HONMA, K., LAMBERTS, J., HOHN, K.G. (1980). The role of monoamines in female puberty. *Fed. Proc.*, 39: 2378-2383.
- WYLIE, S.N., ROCHE, P.J. y GIBSON, W.R. (1985). Ovulation after sympathetic denervation of the rat ovary produced by freezing its nerve supply. *Journal of Reproduction and Fertility*, 75: 369-373.
- ZIEHER, L.M., DEBELJUK, L., ITURRIZA, P., y MANCINI, R.E. (1971). Biogenic amine concentration in testes of rats at different ages. *Endocrinology*, 88: 351-354.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA