



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**EFFECTOS DEL BLOQUEO DEL SISTEMA  
SEROTONINÉRGICO EN LA  
MODULACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL  
TESTÍCULO DE LA RATA MACHO  
PREPÚBER**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**BIÓLOGO**  
P R E S E N T A  
**JULIO PÉREZ CAÑEDO**

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





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**Facultad de Estudios Superiores  
Zaragoza**

**Carrera de Biología**

**EFFECTOS DEL BLOQUEO DEL SISTEMA  
SEROTONINÉRGICO EN LA MODULACIÓN DE LAS  
FUNCIONES DEL TESTÍCULO DE LA RATA MACHO  
PREPÚBER**

**Tesis que presenta: Julio Pérez Cañedo**

**Directora de tesis: Dra. María Elena Ayala Escobar**

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

Durante la realización de esta tesis se contó con apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT Convenio IN-206805.

## **Agradecimientos:**

A la Dra. María Elena Ayala Escobar por su dirección y ayuda en la realización de la tesis.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá  
Dra. María Elena Ayala Escobar  
M. C. Raúl Zavala Chavero  
Dra. Leticia Morales Ledesma  
Dra. Patricia Rosas Saucedo

Por su valiosa contribución y asesoría en la elaboración de esta tesis.

Al Dr. Andrés Aragón Martínez por su colaboración en la realización de cortes, tinción y evaluación de los cortes histológicos y su apoyo y asesoría continúa.

Al Biol. Roberto Chavira, del laboratorio de hormonas esteroides del INCMN "Salvador Zubirán" por su colaboración en la realización de la técnica de radioinmunoanálisis.

A la técnico María Luisa Illescas por su colaboración en la realización de los cortes histológicos.

A Juanita, Eloir, Diana, Luís, Jessica y Daniel por crear un agradable ambiente de trabajo, convivencia y amistad en el laboratorio.

A todos los miembros de la Unidad de Investigación de Biología de la Reproducción.

A todo el personal del Bioterio de la FES Zaragoza por su cooperación en el mantenimiento de los animales.

## Dedicatorias

A mis padres por que a pesar de las adversidades siempre me apoyaron, y creyeron en mí

A mis hermanos por que siempre me hacen saber que cuento con su apoyo y comprensión

A Juanita, Eloir, Diana y Luís saben que los aprecio y que con su apoyo y amistad todo fue mucho más sencillo

A Evelin, Antonio, Jairo, Itzel, Salvador y Efrén por ser mis amigos en las buenas, malas y peores

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	i
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Aparato reproductor del macho .....	1
Espermatogénesis.....	3
Control hormonal de la espermatogénesis.....	6
Esteroidogénesis.....	8
Eje hipotálamo-hipófisis-testículo.....	10
Pubertad.....	11
Serotonina.....	13
Serotonina y funciones del testículo.....	15
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	20
<b>HIPÓTESIS</b> .....	21
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	21
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b> .....	22
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	23
Animales.....	23
Administración de fármacos.....	23
Procedimiento de autopsia.....	23

Cuantificación de hormonas esteroides y gonadotropinas.....	24
Cuantificación de neurotransmisores.....	24
Evaluación de la estructura histológica del testículo.....	26
Análisis estadístico.....	26
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
Peso corporal.....	27
Peso de órganos.....	28
Concentración de gonadotropinas.....	32
Concentración de hormonas esteroides.....	32
Estructura histológica del testículo.....	35
Concentración de 5-HT y 5-HIAA.....	39
Concentración de catecolaminas.....	45
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>47</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>57</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>58</b>

---

## RESUMEN

La serotonina participa en la regulación de la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y el funcionamiento del testículo de la rata. La serotonina modula la secreción de gonadotropinas principalmente de la hormona estimulante del folículo (FSH), aunque esta participación es diferencial (estimulante o inhibitoria) dependiendo del modelo de estudio, la edad y el sexo del animal. Además se ha sugerido que la serotonina tiene un efecto directo en el testículo. Con base en lo anterior en este estudio se analizaron los efectos de la administración de p-cloroanfetamina (pCA), un inhibidor de la síntesis de serotonina, y de sulfato de serotonina (S-5-HT) al día 30 de edad sobre la actividad del sistema serotoninérgico en el hipotálamo anterior, medio y posterior y en los núcleos dorsal y medial del rafe así como en la secreción de gonadotropinas, progesterona ( $P_4$ ), testosterona (T) y  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ), en la concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) en el hipotálamo y la estructura de los túbulos seminíferos.

La masa testicular y la concentración de testosterona en el suero de los animales tratados con pCA o S-5-HT fue significativamente menor que la de las ratas tratadas con solución salina. La concentración de progesterona y  $17\beta$ -estradiol no fue modificada por alguno de los tratamientos.

La concentración de 5-HT y su metabolito (5-HIAA) en el hipotálamo anterior, medio y posterior de los animales tratados con pCA fue menor que en los animales tratados con solución salina, a partir del día 32 de edad, mientras que la actividad de la neurona serotoninérgica fue mayor en el hipotálamo medio y posterior y no se observaron diferencias significativas en el rafe dorsal y medial.

La concentración de FSH fue mayor en los animales tratados con pCA y no se observaron diferencias en la concentración de la LH. En los animales tratados con S-5-HT la concentración de FSH fue menor que en los tratados con solución

salina, mientras que la concentración de LH fue mayor al comienzo y luego menor que en los animales testigo.

Las modificaciones en la secreción de hormonas esteroides y gonadotropinas por efecto de la acción de la serotonina en los diferentes componentes del eje hipotálamo-hipófisis-testículo provocaron alteraciones de la estructura de los túbulos seminíferos en los animales tratados con pCA y S-5-HT.

Con base en estos resultados proponemos que en la rata macho prepúber la serotonina participa de manera inhibitoria en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la función testicular (espermatogénesis y esteroidogénesis).

## INTRODUCCIÓN

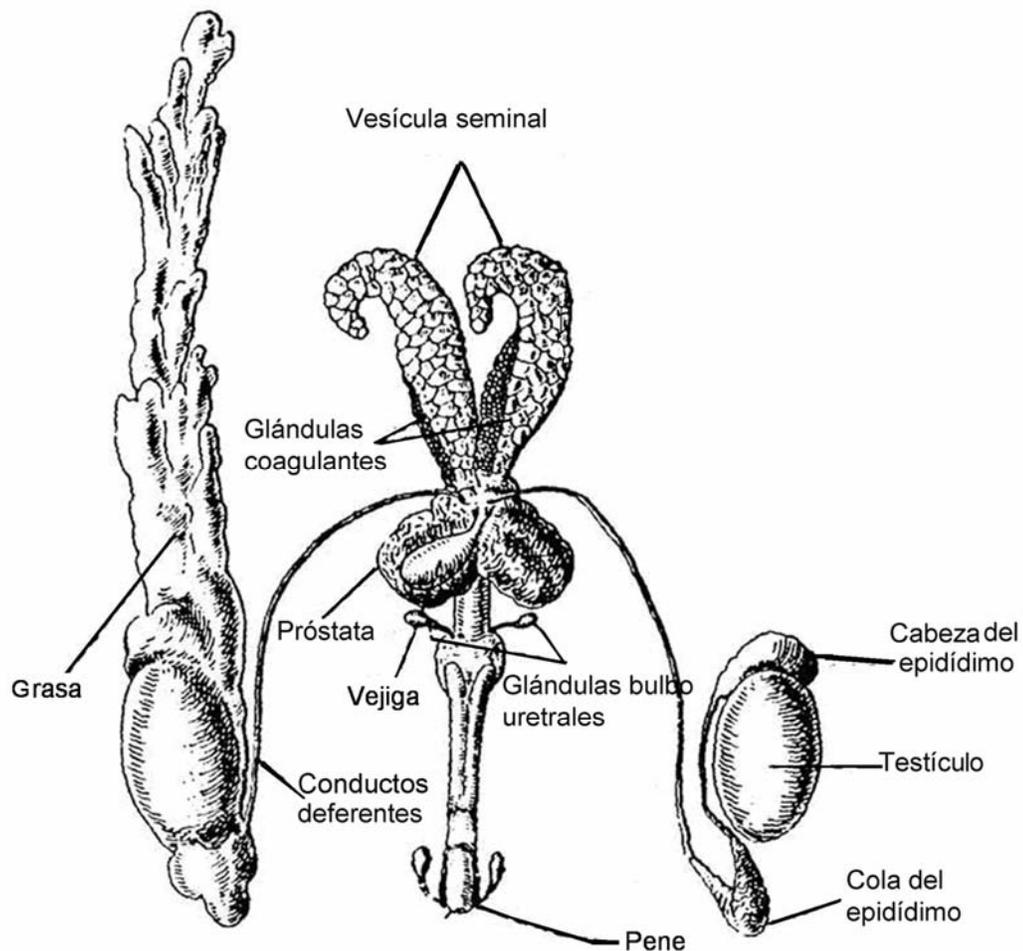
La reproducción es la función mediante la cual se generan nuevos individuos a partir de los ya existentes. Las funciones del sistema reproductor están encaminadas a garantizar la supervivencia de la especie y no de los individuos (Gadea, 1998). Los mecanismos que controlan el funcionamiento del aparato reproductor dependen de las interacciones neuroendócrinas entre el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Adams y Steiner, 1988).

### **Aparato reproductor del macho**

El aparato reproductor de la rata macho está constituido por órganos sexuales internos y externos. Los órganos sexuales internos son los testículos, epidídimos, conductos deferentes y las glándulas sexuales anexas (próstata, vesícula seminal y glándulas coagulantes) y el pene se encuentra como parte de los órganos sexuales externos (Setchel y col., 1994) (Figura1).

El testículo cumple dos funciones, producción de espermatozoides y de hormonas. A este órgano se le considera el órgano primario del aparato reproductor del macho debido a que mediante sus secreciones hormonales (la testosterona) mantiene la estructura y el funcionamiento del resto de los componentes del aparato reproductor (Kretser y Kerr, 1994).

En la etapa adulta los testículos son órganos pares generalmente ovalados o alargados, situados en la cavidad abdominal o en las bolsas escrotales en la mayoría de los mamíferos. Están formados por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso llamada túnica albugínea, los túbulos seminíferos y la porción glandular formada por las células de Leydig, vasos, tejido conectivo y fibras nerviosas (Estrada y Uribe, 2002; Johnson y col., 1999).



**Figura 1. Esquema del aparato reproductor de la rata macho; testículo, epidídimo, vesícula seminal, glándulas coagulantes, próstata, conductos deferentes, uretra y vejiga (tomado de Setchel y col., 1994).**

Las células de Leydig sintetizan la testosterona y otros andrógenos, se localizan aisladas o formando pequeños grupos en el tejido intersticial, son ovoides o de forma irregular, con núcleo esférico (Johnson y col., 1999; Estrada y Uribe, 2002).

Los túbulos seminíferos están formados por la membrana basal, las células germinales y de Sertoli. Están rodeados por una capa de células alargadas, denominadas mioides y que tienen la propiedad de contraerse. Las células de Sertoli son de forma alargada e irregular, su base se apoya sobre la membrana

basal y su extremo apical se dirige hacia la luz del túbulo seminífero. Su núcleo es basal y esférico, con uno o dos nucleolos y presenta proyecciones citoplasmáticas que le permite que se establezcan uniones intercelulares con las células de Sertoli vecinas, lo que junto con la membrana basal constituye la barrera hemato-testicular (Johnson y col., 1999). Esta barrera tiene gran importancia funcional ya que divide al túbulo seminífero en una región basal en donde se localizan las espermatogonias, y un estrato adluminal donde se encuentran los espermatoцитos secundarios y las espermátides en sus diferentes etapas. Las células de Sertoli proporcionan los elementos necesarios para la nutrición de las células germinales (Estrada y Uribe, 2002).

La población de células germinales en proliferación se ubican en las cercanías de la base del propio epitelio y a medida que se diferencian a espermatozoides se desplazan hacia la luz del túbulo. La lámina basal está rodeada por varias capas de células mioideas y de matriz extracelular. La contracción de las células mioideas ayuda en el desplazamiento del líquido intratubular (Bloom-Fawcett, 1985; Johnson y col., 1999; Tresguerres, 1999).

## **Espermatogénesis**

La secuencia de eventos que culmina con la formación de los espermatozoides maduros a partir de las espermatogonias es conocida como espermatogénesis. La producción de espermatozoides se inicia con la pubertad y prosigue durante la vida reproductiva del macho (Kretser y Kerr, 1994; Yen y col., 2001). La espermatogénesis se divide en tres etapas: Etapa proliferativa (mitosis), de meiosis y espermiogénesis.

Durante la etapa proliferativa una espermatogonia da origen a dos células hijas una de las cuales entran en el proceso de espermatogénesis y se divide seis veces por mitosis, la séptima generación es una espermatogonia que se

transforma en un espermatocito primario en preleptoteno y migra del compartimiento basal al adluminal del epitelio seminífero (O'Donnell y col., 2001; Yen y col., 2001).

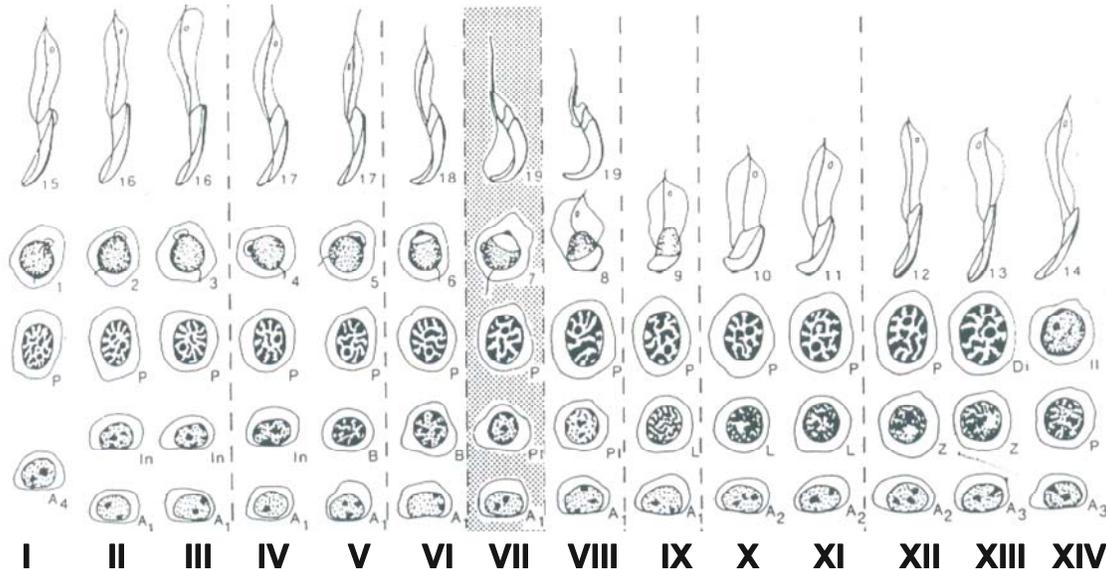
En la etapa de meiosis, los espermatocitos primarios inician la primera división meiótica y dan origen a los espermatocitos secundarios. Después de la segunda división meiótica, los espermatocitos secundarios se transforman en espermatides, células redondas con un número de cromosomas haploide (Yen y col., 2001).

Durante la espermiogénesis no ocurren divisiones celulares y en la espermatide redonda se produce una serie de cambios nucleares y citoplasmáticos que conducen a la formación del espermatozoide. Los principales cambios son: la espermatide redonda se alarga y se desarrolla un organelo especializado denominado acrosoma que se forma a partir del aparato de Golgi, se condensan los cromosomas en el núcleo y las histonas asociadas al ADN son reemplazadas por protaminas; se forma la cola o flagelo y la pieza media o cuello, en donde se reorganizan las mitocondrias encargadas de proporcionar la energía necesaria al espermatozoide para su movimiento (Kretser y Kerr, 1994; Yen y col., 2001).

Durante la división de las células germinales, éstas experimentan una división nuclear, pero no completan la división citoplasmática hasta casi el final de la diferenciación de la espermatide en espermatozoide. En consecuencia, las células germinativas en desarrollo están conectadas por puentes citoplasmáticos y constituyen un sincitio que se mantiene así hasta que se separan los espermatozoides (Yen y col., 2001).

La transformación secuencial de la espermatogonia en los diferentes tipos celulares hasta formar el espermatozoide en el túbulo seminífero se denomina ciclo del epitelio seminífero. Para su estudio se le ha dividido en catorce etapas,

las que se identifican con número romano (I a la XIV). Cada una de las etapas se caracteriza con base en el tipo de célula de la línea germinal presente, por la forma y estructura de la espermátide y del acrosoma. Los túbulos seminíferos que se encuentran entre las etapas I a la VIII se caracterizan porque el epitelio seminífero está conformado por espermatogonias, espermatocitos, espermátides redondas y espermatozoides. En los túbulos seminíferos en etapa IX a la XIV se observan espermatocitos y espermátides alargadas con formación del acrosoma en diferentes estadios. La división de los espermatocitos se observa en etapas VII y VIII y cuando ha finalizado la meiosis, etapa XIV (Rusell y col., 1990) (Figura 2).



**Figura 2. Esquema del ciclo del epitelio seminífero en el cual se observan las 14 etapas (I a XIV) en las que ha sido dividida la espermatogénesis en la rata (tomado de Sharpe, 1994).**

En la modulación de las funciones del testículo (espermatogénesis y esteroidogénesis) participan las gonadotropinas [hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH)] y las propias hormonas producidas por el testículo (Kretser y Kerr, 1994; Yen y col., 2001).

## **Control hormonal de la espermatogénesis**

Las gonadotropinas, junto con la testosterona, modulan el desarrollo de las células germinales. También existen otros mensajeros químicos que actúan como moduladores autócrinos o parácrinos en los diferentes compartimentos intratesticulares. Algunos de estos factores son las hormonas producidas por las células de Leydig (andrógenos), la angiotensina, el factor liberador de la corticotropina (CRF) y la vasopresina y las producidas en el compartimiento tubular, como son la inhibina y el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF $\beta$ ) que modulan la acción de la LH (Sharpe, 1994).

La FSH actúa en la célula de Sertoli y por sus efectos sobre esta célula regula la espermatogénesis. Las células de Leydig producen una proteína que actúa como transportadora de los andrógenos (ABP por sus siglas en inglés) que se une a la testosterona y la transporta en el plasma (Yen y col., 2001). Así mismo, secretan otras proteínas, algunas de las cuales actúan en la luz del túbulo seminífero y modulan la espermatogénesis, entre las que se encuentra la transferrina. La testosterona, que es esencial para estimular la espermatogénesis, es secretada por las células de Leydig bajo la estimulación de la LH, la cual actúa vía receptores ubicados en las células de Leydig. La testosterona y FSH son importantes en el mantenimiento de la espermatogénesis ya que inhiben la muerte de las células germinales (apoptosis) y estimulan la proliferación de las espermatogonias (Kretser y Kerr, 1994; Kiess y Gallaher, 1998).

La FSH es el principal regulador de la proliferación de las células de Sertoli durante la vida fetal y neonatal (testículo inmaduro) (McLachlan y col., 2002). En la rata, la multiplicación de las células de Sertoli se inicia entre el día diecinueve a veinte de vida fetal y culmina alrededor del día catorce o quince de vida (Nagy, 1972). Cuando culmina la multiplicación de las células de Sertoli se forman las uniones célula de Sertoli-Sertoli (Hirobe y col., 1992). Así mismo, la FSH es

importante en la iniciación de la espermatogénesis durante la pubertad y es un modulador del crecimiento testicular (Sharpe, 1994).

En el modelo del ratón Knokout, en el que la actividad biológica de la FSH es menor debido a que se modificó la subunidad  $\beta$  de la FSH, el tamaño del testículo es un 40 % menor que en los animales normales, hay un menor número de espermatozoides y la fertilidad también es menor. Es posible que estos efectos estén asociados a la disminución en el número de células de Sertoli o de las propias células germinales (McLachlan y col., 2002).

En la rata la concentración intratesticular de andrógenos es 100 veces mayor que en el suero. La acción de la testosterona en la espermatogénesis es mediada por las células de Sertoli, debido a que las células germinales no tienen receptores para los andrógenos. Un paso de la espermatogénesis que depende de la testosterona es la adhesión de las espermatides redondas a las células de Sertoli, así como la transformación de la espermatide redonda en alargada (McLachlan y col., 2002).

La idea de que la FSH y la LH tienen efectos tróficos y estimulan el crecimiento del testículo, es apoyada por las evidencias obtenidas de animales hipofisectomizados a los 21 días de edad. A los dos días de la hipofisectomía, el peso de los testículos es un 25% menor que en los animales testigo, mientras que seis días después del tratamiento el peso de las gónadas fue un 80% menor que en los no tratados, pero los efectos de la hipofisectomía son revertidos por la administración de FSH y LH (Tapanainen y col., 1993).

Cuando a ratas macho inmaduras de 20 días de edad se les administra suero anti-FSH durante 14 días, el peso del testículo es un 50 % menor que en los animales testigo y se debe a que el número de espermatoцитos, espermatides y células de Sertoli observado en estos animales es significativamente menor que en los animales no tratados. Cuando se administra suero anti-LH el peso del

epidídimo y próstata es menor debido a la menor secreción de la testosterona. Los cambios observados en el epitelio seminífero y en las glándulas accesorias del aparato reproductor de estos animales son el resultado de la falta de acción de la FSH en la célula de Sertoli y de la LH en Leydig (Madhwa y Martin, 1976).

## **Esteroidogénesis**

Las células de Leydig sintetizan testosterona a partir del colesterol. Otras hormonas que participan en la modulación de la síntesis de andrógenos son la prolactina (PRL), el cortisol, la insulina, inhibina y activina (Robertson y col., 1993). La LH, se une a receptores específicos situados en la membrana de las células de Leydig, y estimula la formación de adenosin monofosfato cíclico (AMPc), a partir del trifosfato de adenosina (ATP). El AMPc actúa como segundo mensajero y activa al sistema de cinasas que catalizan la fosforilación de proteínas intracelulares necesarias en la transformación del colesterol en pregnenolona y la producción de testosterona (Hall, 1994; Tresguerres, 1999).

Las células de Leydig sintetizan el colesterol a partir de acetyl-CoA, que lo obtienen del plasma o de los ésteres de colesterol que forman parte de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) que entran a la célula por endocitosis mediada por receptor. Los ésteres de colesterol se almacenan en el citoplasma y constituyen una fuente de reserva del colesterol libre que es utilizada en la síntesis de los andrógenos (Tresguerres, 1999).

La transformación del colesterol en pregnenolona, paso limitante de esta ruta de biosíntesis, se realiza en la mitocondria, por lo que el colesterol debe ser transportado e internalizado en esta. El transporte del colesterol a las mitocondrias se realiza por una proteína transportadora de esteroides (SCP<sub>2</sub>). En el transporte desde la cara externa de la membrana de la mitocondria hasta la interna, donde se realiza la transformación del colesterol a pregnenolona, intervienen los fosfolípidos

de membrana y un péptido activador de la esteroidogénesis (Hall, 1994; Tresguerres, 1999).

La pregnenolona se libera de la mitocondria y pasa al microsoma donde continúa la esteroidogénesis. En el testículo dos rutas conducen a la síntesis de testosterona, una a partir de la 17-hidroxi-pregnenolona, conocida como la ruta  $\Delta 5$ , y otra a partir de 17-hidroxi-progesterona o  $\Delta 4$ ; los esteroides intermedios de la ruta  $\Delta 5$  pueden convertirse en el  $\Delta 4$  correspondiente. La importancia relativa de estas dos rutas varía según la especie; en el testículo humano la más importante es la  $\Delta 5$ , mientras que en los roedores la  $\Delta 4$  es la que predomina (Tresguerres, 1999) (Figura 3).

La testosterona sintetizada en la célula de Leydig es transportada hacia el sistema vascular sanguíneo, al linfático o al túbulo seminífero. La testosterona que es transportada por sistema vascular sanguíneo llega a la hipófisis y al sistema nervioso central, en donde mediante un mecanismo de retroalimentación inhibitoria, modula la producción de la LH (Hall, 1994). El 98% de esta hormona circula en sangre unida a su proteína transportadora, la globulina principalmente (Hall, 1994).

La testosterona puede ser convertida por aromatización a  $17\beta$ -estradiol o reducida a  $5\alpha$ -dihidrotestosterona. La acción de la testosterona en muchos tejidos es mediada por su conversión a uno de estos metabolitos. Por ejemplo, la función de la testosterona en la diferenciación sexual del cerebro requieren de su aromatización a estradiol, mientras que en la próstata, las glándulas sebáceas y la piel requiere de la reducción a  $5\alpha$ -dihidrotestosterona (Bhasin, 1999).

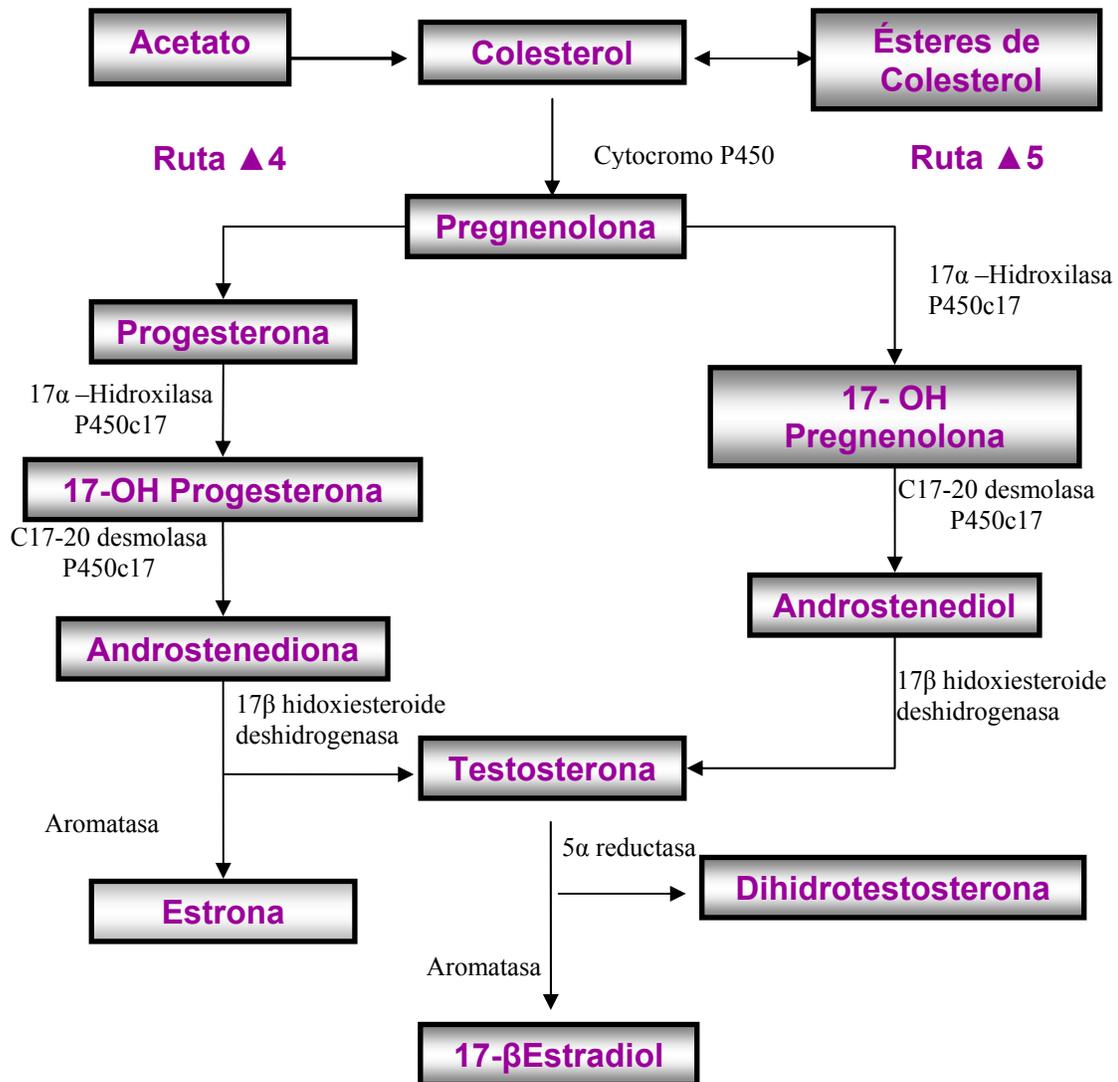


Figura 3. Esquema en la que se representa la síntesis de los andrógenos y estrógenos. La ruta  $\Delta 4$  es la más común en la rata y la  $\Delta 5$  en el humano (tomado de Yen y col., 2001).

### Eje hipotálamo-hipófisis-testículo

El hipotálamo regula las funciones del testículo mediante la secreción de la GnRH. En esta región existen células nerviosas peptidérgicas que comparten características de neuronas y de células endocrinas ya que secretan las hormonas y los factores liberadores e inhibitorios que modulan la producción de hormonas

hipofisiarias. La síntesis y liberación de las gonadotropinas es regulada por el hipotálamo vía la producción de la GnRH, la cual se sintetiza en el soma de neuronas especializadas, denominadas GnRHérgicas que se localizan en algunas áreas del hipotálamo como son: el núcleo paraventricular, el área preóptica, el hipotálamo anterior, en el área medio basal del hipotálamo medio, así como en otras estructuras del cerebro (Silverman y col., 1994).

La GnRH es liberada en la eminencia media, pasa a la sangre del sistema portal hipofisiario y llega a los gonadotropos en la adenohipófisis y estimula la secreción de la FSH y la LH. La expresión de los receptores a la GnRH es regulada por la propia GnRH y por los esteroides sexuales (Conn y Crowley, 1991). La testosterona, por medio de un mecanismo de retroalimentación negativa, inhibe la secreción de las gonadotropinas (Yen y col., 2001).

## **Pubertad**

Se define a la pubertad como la etapa entre la inmadurez y la madurez sexual o como la etapa en que el eje hipotálamo-hipófisis-testículo ha madurado anatómicamente y funcionalmente y es posible la reproducción (Adams y Steiner, 1988; Ramaley, 1979). El inicio de la pubertad está determinado genéticamente para cada especie y también es regulado por factores ambientales tales como los periodos de iluminación (luz-oscuridad), por la alimentación y las relaciones sociales (Ramirez 1973; Adams y Steiner, 1988). En la rata macho el inicio de la pubertad está marcado por la liberación de los espermatozoides a la luz del túbulo, los cuales se encuentran en el conducto deferente entre 13 y 14 días después (Ojeda y Urbanski, 1994).

Con base en parámetros morfológicos y fisiológicos el desarrollo prepuberal de la rata se ha dividido para su estudio en cuatro etapas: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal (Ojeda y Urbanski, 1994).

**Fase neonatal:** Inicia desde el nacimiento y culmina alrededor del día siete de vida del animal. Durante esta etapa se establece la vasculatura del sistema portal hipofisiario y comienza a ser funcional; la testosterona es el principal andrógeno producido por los testículos y la concentración de esta hormona es mayor a la del animal en la fase infantil (Ramaley, 1979; Ramirez, 1973). La concentración de FSH es similar a la del animal adulto y la de LH es aproximadamente el 50% del valor de lo que se presenta en el animal adulto (Adams y Steiner, 1988; Ojeda y Urbanski, 1994).

**Fase infantil:** Comprende desde el día ocho hasta el día 21 de edad. Durante esta etapa el androstenediol es el andrógeno predominante en la circulación. En el testículo, las células de Sertoli terminan de dividirse, en el túbulo seminífero se observan los primeros espermatoцитos a partir del día 21. Durante esta etapa la concentración de FSH permanece estable. En la hipófisis aumenta el número de receptores a la GnRH y se produce el descenso testicular (Ramirez, 1973; Adams y Steiner, 1988; Ojeda y Urbanski, 1994).

**Fase juvenil:** Inicia en el día 21 de edad y se prolonga hasta el día 35. Durante esta etapa se incrementa la secreción de FSH y la concentración máxima de esta hormona se alcanza alrededor del día 35 de vida. El número de receptores a la GnRH en la hipófisis también es máximo. Durante esta etapa la dihidrotestosterona y el androstenediol son las principales secreciones testiculares. En el túbulo seminífero se observan espermatoцитos en preleptoteno. Una de las funciones de la FSH es de inducir la expresión de los receptores a la LH en las células de Leydig (Adams y Steiner, 1988; Ojeda y Urbanski, 1994).

**Fase peripuberal:** Inicia en el día 36 de edad y finaliza alrededor del día 55-60. En esta etapa la célula de Leydig sintetiza principalmente testosterona en lugar de androstenediona, andrógeno que se produce en mayor cantidad en la etapa neonatal e infantil. La concentración de LH se incrementa entre los días 36 y 45 de edad. Durante esta etapa también se produce un mayor desarrollo de las

glándulas accesorias y del aparato reproductor y se observan los primeros espermatozoides en el lumen del túbulo seminífero (alrededor del día 45 de edad) (Adams y Steiner, 1988; Ojeda y Urbanski, 1994).

Una vez establecida la comunicación anatómica y funcional entre el hipotálamo-hipófisis-testículo, la síntesis y liberación de la GnRH es modulada por las hormonas esteroides (andrógenos principalmente) y por diferentes neurotransmisores como el ácido gama amino butírico (GABA), la sustancia P (SP), el neuropéptido Y (NPY), péptido intestinal vasoactivo (VIP), la angiotensina II, histamina y galanina, los neurotransmisores clásicos [adrenalina (A), noradrenalina (NA), dopamina (DA), serotonina (5-HT), acetilcolina (ACh) y aminoácidos (glutamato y aspartato)] (Kordon y col., 1994).

## **Serotonina**

La serotonina es una amina biogénica que se sintetiza a partir del triptofano, un aminoácido esencial. A principios del siglo XX se pensó que en las plaquetas se formaba una sustancia del suero que inducía la contracción del músculo liso e incrementaba el tono vascular. Posteriormente se aisló, purificó e identificó a esta sustancia como la indolamina, 5-hidroxitriptamina o serotonina (5-HT). En la actualidad se ha mostrado que las funciones de la serotonina son diversas y dependen de la especie en estudio (Azmitia, 2001; Ganong, 1996).

La serotonina es uno de los neurotransmisores que se encuentra presente en diferentes regiones del sistema nervioso central, como el hipotálamo y la glándula pineal, entre otras estructuras del encéfalo (Frazer y Hensler, 1999). También se ha identificado en la hipófisis, el páncreas, pulmón, timo, la tiroides, las gónadas, glándulas salivales y el corazón, así como en las células cromafines de la mucosa gastrointestinal, las plaquetas y los mastocitos, (Garattini y Valzelli, 1965; Azmitia, 2001).

En el encéfalo, la serotonina es sintetizada y liberada por neuronas que conforman el núcleo del rafé, el cual se divide en el núcleo dorsal, medial o del puente. Estos núcleos se localizan en el cerebro medio y de ellos parten fibras serotoninérgicas que se proyectan a diferentes áreas del sistema nervioso como la corteza, el hipotálamo, la eminencia media, el hipocampo y la amígdala. En el hipotálamo, estas fibras se distribuyen en los núcleos paraventricular, ventromedial, supraóptico, supraquiasmático, arcuato, ventromedial y las áreas periventricular preóptica (Crowley y Zemlan, 1981; Jennes y col., 1985; Frazer y Hensler, 1999).

Las funciones fisiológicas de la serotonina se llevan a cabo mediante su interacción con receptores específicos que se encuentran anclados en la membrana plasmática celular (Azmitia, 2001). Existen diferentes subtipos de receptores a serotonina: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1C</sub> y 5-HT<sub>1D</sub>, algunos de los cuales son presinápticos, como el 5-HT<sub>2</sub>. Esta clasificación se basa en sus características estructurales, funcionales y vías de señalización intracelular a las que se encuentran asociados. Estos receptores se identifican en diferentes regiones del sistema nervioso central y en los tejidos periféricos (Frazer y Hensler, 1999; Azmitia, 2001).

La serotonina es sintetizada a partir del aminoácido esencial, el L-triptofano, que después de su incorporación en la dieta, penetra en la circulación donde el 80-90% se une a la albúmina, mientras que el resto circula en forma libre. Posteriormente el triptofano se convierte en 5-hidroxitriptofano por la acción de la enzima triptofano hidroxilasa, paso limitante en la síntesis de la serotonina. En condiciones normales la enzima triptofano hidroxilasa no está saturada, por lo que la administración de triptofano se acompaña de un incremento en la formación de 5-hidroxitriptofano. Éste último es descarboxilado y se forma la serotonina. Después de la liberación de la serotonina a la hendidura sináptica, la serotonina es recapturada por la neurona serotoninérgica, e inactivada por la monoaminooxidasa

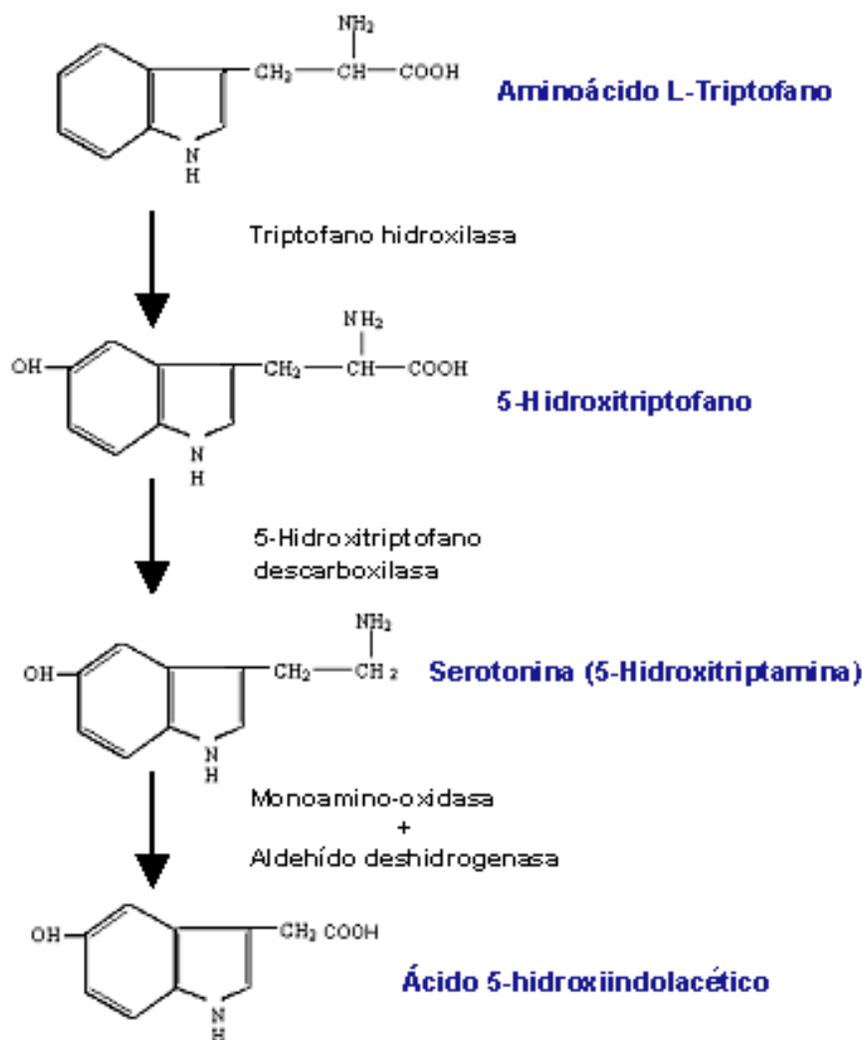
(MAO) y se forma el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), el principal metabolito de la serotonina (Ganong, 1996; Frazer y Hensler, 1999) (Figura 4).

La serotonina, modulador de la actividad neuronal en el sistema nervioso central participa en diversos procesos biológicos como la regulación de la temperatura, el sueño, del apetito, la contracción y relajación vascular, el comportamiento sexual, la secreción de las gonadotropinas y en el funcionamiento de las gónadas; (Crowley y Zemlan, 1981; Schmidt, 1993; Monroy y col., 2003; Aragón y col. 2005).

En la glándula pineal la serotonina es el precursor en la síntesis de melatonina. La secreción de esta hormona sigue un ciclo circadiano (duración de 24 h), la mayor concentración se presenta durante la fase de oscuridad y disminuye durante el día (Ganong, 1996).

### **Serotonina y Funciones del Testículo**

La inervación serotoninérgica del hipotálamo modula la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas tanto en la hembra como en el macho (Moguilevsky y col., 1985b; Kordon y col., 1994; Monroy y col., 2003; Aragón y col., 2005). Sin embargo, hasta el momento los resultados generados sobre la interrelación funcional que existe entre este sistema de neurotransmisión y la secreción de la GnRH son contradictorios. Algunos autores consideran que la serotonina estimula la secreción de las gonadotropinas (Wuttke y col., 1977; Vitale y col., 1986; Kordon y col., 1994), mientras que otros le atribuyen un papel inhibitorio (Donoso y col., 1971; Ladosky y Noronha citado en Van de Kar y col., 1978; Pinilla y col., 1994). Es posible que este efecto diferencial de la serotonina que se ha observado en los diversos estudios, sea el resultado del uso de modelos experimentales en los que no se considera la edad del animal o el ambiente hormonal.



**Figura 4. Ruta de síntesis de la serotonina (tomada de Ganong, 1996).**

Otros autores sugieren que la serotonina no participa en la regulación de la secreción de gonadotropinas, debido a que cuando se bloquea la síntesis de serotonina por la administración de p-Clorofenilalanina (PCPA, un inhibidor de la síntesis de serotonina) a ratas machos adultos castradas, no se modifica la secreción de la prolactina, LH y FSH (Moguilevsky y col., 1985a; Justo y col., 1989; Aguilar y col., 1994). Mientras que cuando se inhibe a la enzima monoamino oxidasa (que degrada a la serotonina) y como consecuencia aumenta la concentración de la amina, la producción de PRL y LH disminuyen o no se modifica la de LH (Donosso y col., 1971).

Los resultados obtenidos en los diferentes modelos experimentales, han permitido plantear que el sistema serotoninérgico participa de manera diferencial en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-testículo, tanto en el animal adulto como en el prepúber, así como en la hembra y en el macho (Donosso y col., 1971; Pilotte y Porter, 1979; Ruzsas y col., 1982; Moguilevsky y col., 1985a; Vitale y col., 1986; Justo y col., 1989).

La administración de serotonina o 5-hidroxitriptofano (precursor inmediato de la síntesis de serotonina) a ratas hembras de 16 ó 21 días de edad, resulta en la estimulación de la secreción de la LH. Cuando el mismo tratamiento se realiza en los días 21-26 no se observan cambios en la concentración plasmática de la LH, mientras que cuando la estimulación del sistema serotoninérgico se realiza a los 30 días de edad, la concentración de la hormona disminuye significativamente y no se modifica la de FSH (Moguilevsky y col., 1985b; Becú-villalobos y Lacau-Mengido, 1989; Justo y col., 1989). En cambio, cuando los mismos tratamientos se realizaron a ratas machos se observa un aumento en la concentración de FSH sin que se modificara la de LH. Cuando estos experimentos se realizan en ratas machos castradas a las 48 horas de vida, la respuesta al incremento en las concentraciones de serotonina es similar a la observada en las hembras (Moguilevsky y col., 1987; Justo y col., 1989; Pinilla y col., 1994).

Shishkina y Dygalo (2000), mostraron que cuando ratas macho de 30 ó 34 días de edad son tratadas con PCPA, no se modifican las concentraciones de testosterona a los 60 días. Sin embargo, cuando se tratan a los 40 ó 44 días de edad es menor la concentración de testosterona en plasma, el peso testicular, de las vesículas seminales y el número de espermatozoides en el epidídimo. Estos resultados permiten sugerir que durante el periodo prepúberal de la rata macho el sistema serotoninérgico modula de manera estimulante en el desarrollo sexual.

La denervación farmacológica serotoninérgica inducida por la administración de la PCPA en animales de 30 días de edad resulta en la disminución del peso testicular, en el número de espermatozoides y en el porcentaje de viabilidad y movilidad de los espermatozoides a los 65 días de edad. Estos cambios en la espermatogénesis se acompañan de la disminución en la concentración de FSH en suero, de serotonina y su metabolito en el hipotálamo (Aragón y col. 2005). Estos resultados permitieron sugerir que la serotonina participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de las funciones del testículo, posiblemente al modular la secreción de la FSH o al actuar directamente en la gónada.

Es posible que la serotonina también module directamente la secreción de las gonadotropinas. Por estudios de inmunocitoquímica e histoquímica en la hipófisis de rata se ha confirmado la presencia de fibras serotoninérgicas (Jhons y col., 1982; Westlund y Childs, 1982). Estas fibras se concentran en mayor proporción en el lóbulo intermedio y de aquí se proyectan al lóbulo anterior y se distribuyen en la periferia de esta región (Westlund y Childs, 1982). En esta glándula existe una estrecha relación entre el sistema vascular y las fibras serotoninérgicas. Estas evidencias anatómicas permitieron sugerir que la serotonina participa directamente en la modulación de la secreción de hormonas [hormona de crecimiento (GH), adrenocorticotropa (ACTH), prolactina y de las gonadotropinas] (Jhons y col., 1982). También se ha mostrado que cuando se mantienen en cultivo hipófisis de ratas hembras de 5 días de edad y se le adiciona al medio serotonina y GnRH, se inhibe la secreción de la LH (Martin y col., 1977).

Tinajero y col. (1993), mostraron que células de Leydig de rata mantenidas en cultivo secretan la serotonina y esta amina actúa como un regulador autocrino al unirse a los receptores 5-HT<sub>2</sub> localizados sobre la membrana de estas células. Al activarse los receptores 5-HT<sub>2</sub> se estimula la producción CRF, que inhibe la síntesis de testosterona. También es posible que la 5-HT liberada por las células de Leydig funcione como mediador en los cambios vasculares en el testículo

(Piner y col., 2002). Frungieri y col., (1999) mostraron que en ratas macho de 36 días de edad mantenidas en fotoperiodos cortos (6 horas de luz por 10 horas de oscuridad), la concentración de serotonina y de su metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) se incrementa en la cápsula y parénquima del testículo, estos cambios se acompañaron del aumento en la concentración de la LH y de los esteroides,  $3\alpha$ -androstene y  $17\beta$ -diol (androstenediol).

---

## JUSTIFICACIÓN

En la regulación de las funciones del testículo participan las gonadotropinas cuya secreción es modulada por diferentes neurotransmisores entre ellos la serotonina. Se sugiere que esta amina participa de manera estimulante en la modulación de la secreción de las gonadotropinas y como consecuencia en las funciones del testículo. Sin embargo, hasta el momento los resultados que se han descrito en la bibliografía son controversiales. Así mismo, se desconoce si el sistema serotoninérgico participa exclusivamente en la modulación de las funciones del testículo al actuar en los centros hipotalámicos que regulan la secreción de las gonadotropinas. Por ello en el presente estudio se analizaron los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico inducido por la administración de p-cloroanfetamina (pCA) o la estimulación serotoninérgica por la administración sistémica de sulfato de serotonina (S-5-HT) en la rata macho de 30 días sobre la esteroidogénesis y en la estructura del testículo.

## **HIPÓTESIS**

Dado que en el hipotálamo la serotonina regula de manera estimulante la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas, el bloqueo de este sistema de neurotransmisión provocará la disminución en la esteroidogénesis e inducirá cambios en la estructura del testículo en la rata prepúber, mientras que la estimulación del sistema provocará un aumento de la secreción de estas gonadotropinas y de las funciones testiculares.

## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar los efectos del bloqueo y la estimulación del sistema serotoninérgico sobre la esteroidogénesis y la estructura del testículo en la rata juvenil.

### OBJETIVOS PARTICULARES

- Evaluar los efectos de la administración de la pCA en la concentración de 5-HT, 5-HIAA y la relación [5-HIAA]/[5-HT] en el hipotálamo (anterior, medio y posterior) y en el rafe (dorsal y medial).
- Analizar los efectos de la administración de la pCA y S-5-HT en la concentración de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y 17 $\beta$ -estradiol) en suero.
- Analizar los efectos de la administración de la pCA y S-5-HT en la concentración de la FSH y LH en suero.
- Analizar los efectos de la administración de la pCA y S-5-HT en la estructura del túbulo seminífero de las ratas tratadas al día 30 y sacrificadas al día 31, 33 y 37 de edad.
- Evaluar los efectos de la administración de la pCA en la concentración de NA, DA, MHPG y DOPAC en el hipotálamo anterior y medio.

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Animales

Se utilizaron ratas macho de la cepa CII-ZV de 30 días de edad mantenidas en condiciones controladas de iluminación (14 horas de luz y 10 horas de oscuridad) con libre acceso a la madre hasta el destete (21 días de edad), al agua y al alimento (Harlan, USA).

### Administración de fármacos

Ratas macho de 30 días de edad se dividieron en cuatro grupos experimentales. Un grupo de animales fueron tratados con solución salina al 0.9% vía intraperitoneal (grupo VH), a otro grupo de animales se les administró una dosis de 10 mg/Kg de p.c. de pCA (Sigma Chemical, St Louis, USA) disuelta en solución salina (0.9%), por vía i.p. (grupo pCA). Otro grupo de animales se inyectaron diariamente con 37.5 mg/Kg de p.c. de sulfato de serotonina (Sigma Chemical, St Louis, USA) disuelta en solución salina (0.9%), por vía subcutánea (grupo S-5-HT). La administración del VH, pCA o S-5-HT se realizó entre las 11:00 y 11:30 h. Como grupo de comparación se utilizaron animales de la misma edad que no recibieron ningún tratamiento (Grupo TA).

### Procedimiento de Autopsia

Grupos de animales de los diferentes tratamientos se sacrificaron por decapitación al día 31, 32, 33, 34, 35, 36 ó 37 de edad, entre las 12:00 y 13:00 h. Se colectó la sangre del tronco y se dejó reposar durante 20 minutos, se centrifugó a 3500 rpm por quince minutos. El suero se separó y congeló a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para la posterior cuantificación de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y  $.17\text{-}\beta$  estradiol) y de gonadotropinas (FSH y LH).

En el momento de la autopsia se extrajeron y disecaron los testículos, epidídimos, próstata y vesícula seminal y se pesaron en balanza de precisión. El peso de los órganos se expresó en miligramos (mg) o gramos (g). Los testículos se fijaron por inmersión en solución de Bouin.

### **Cuantificación de hormonas esteroideas y gonadotropinas**

La concentración de esteroideas (progesterona, testosterona y  $17\beta$  estradiol) en suero se cuantificó por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida, con un kit Coat-A-Count, USA (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA) para cada hormona. La concentración de progesterona y testosterona se expresó en ng/ml y la de  $17\beta$ -estradiol en pg/ml.

La cuantificación de LH y FSH se realizó por la técnica de radioinmunoanálisis de doble anticuerpo, empleando anticuerpos para NIAMDD-Rat-A-LH-RP-3 y NIAMDD-Rat-FSH-RP-2 proporcionados por la National Hormone and Pituitary Program (Baltimore, MD, USA). La concentración de las gonadotropinas se expresó en ng/ml.

### **Cuantificación de neurotransmisores**

Al momento de la autopsia se extrajo el cerebro de los animales, el cual se colocó en solución salina fría ( $0^{\circ}\text{C}$ ). Siguiendo las coordenadas del atlas de Paxinos y Watson (1982), se diseccionó el hipotálamo anterior, medio y posterior y los núcleos dorsal y medial del rafe. Las muestras se almacenaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la cuantificación de serotonina (5-HT) y ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA), noradrenalina (NA), ácido 4-hidroxi 3-metoxifeniletenglicol (MHPG), dopamina (DA) y el ácido 3,4-dihidroxifenilacetico (DOPAC) por la técnica de cromatografía de líquidos (HPLC).

El cerebro de los animales tratados con S-5-HT no se procesó debido a que se ha reportado que la administración de S-5-HT por vía subcutánea no modifica la concentración de la amina en el hipotálamo (Gallegos, 2003).

Las muestras de hipotálamo se pesaron y homogenizaron en 300 µL de ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) al 0.1 N. Las muestras del rafe dorsal y medial se homogenizaron en 150 µL de ácido perclórico, se centrifugaron a 12,500 rpm, a -4 °C durante 30 minutos, el sobrenadante se filtró usando filtros de celulosa regenerada de tamaño de poro de 0.45 µm, y se inyectaron 20 µL del filtrado al sistema de cromatografía.

El sistema de cromatografía consistió de una bomba isocrática (Modelo L-250, Perkin Elmer), una válvula de inyección (Reodine modelo 7125 con una capacidad de 20 µl, una precolumna de sílica (3.5 cm x 4.6 mm) y una columna C-18 de fase reversa (25cmx4.6mm) acoplada a un detector electroquímico amperométrico LC-4C (Bioanalytical System Inc. USA) acoplado a un inyector Nelson 1020 (Perkin Elmer).

Los diferentes neurotransmisores y sus respectivos metabolitos se identificaron y cuantificaron por el integrador. El equipo identificó al neurotransmisor por su tiempo de retención y realizó el cálculo de su concentración, al comparar el área bajo la curva de los picos de la muestra problema, con el área bajo la curva de los respectivos estándares.

La concentración del neurotransmisor se expresó en ng/mg de tejido y la actividad de los diferentes sistemas de neurotransmisión se calculó siguiendo la relación de Kerdelhue y col., (1989).

$$\text{Actividad de la neurona} = \frac{[\text{Metabolito}]}{[\text{Neurotransmisor}]}$$

---

## **Evaluación de la estructura histológica del testículo**

Los testículos de los animales que recibieron VH, pCA o S-5-HT y sacrificados a los 31, 33 ó 37 días se deshidrataron e incluyeron en parafina y se realizaron cortes seriados de 8  $\mu\text{m}$ . de grosor. Los cortes fueron teñidos por la técnica de Hematoxilina –PAS para el posterior análisis de la estructura de los túbulos seminíferos siguiendo el criterio descrito por Russell y col. (1990). Aquellos túbulos que no presentaron un arreglo del epitelio seminífero como lo describe Russell, se consideraron como túbulos anormales caracterizados por la presencia de más de dos células muertas, escaso epitelio seminífero y distensión del lumen.

## **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos de los pesos de órganos, la concentración de progesterona, testosterona,  $17\beta$ -estradiol y de gonadotropinas (FSH y LH) en suero, así como la concentración de los neurotransmisores y sus metabolitos en el hipotálamo y rafe dorsal y medial fueron analizados por una prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de una prueba de Tukey. En el caso de la comparación de dos grupos, los resultados se analizaron por una prueba “t” de Student. Los porcentajes de túbulos anormales fueron evaluados por la prueba de Ji-cuadrada. En todos los casos se consideraron como diferencias significativas aquellas en las que la probabilidad fue menor o igual a 0.05.

## RESULTADOS

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, la inyección de la solución salina (VH) no modificó ninguno de los parámetros evaluados, con excepción de los animales sacrificados a los 36 días de edad cuando el peso del epidídimo y el peso de la próstata en los animales de 37 días fueron mayores que lo observado en los animales testigo absoluto (Cuadros 1 y 2).

**Cuadro 1. Peso corporal (g), masa testicular, masa del epidídimo, próstata y vesícula seminal (mg) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho sin tratamiento (TA) o tratadas con solución salina (VH) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

Edad (días)	Tratamiento	Peso corporal	Masa testicular	Próstata	Masa del Epidídimo	Vesícula seminal
31	TA	93 $\pm$ 2.4	650 $\pm$ 70	50 $\pm$ 6	80 $\pm$ 8	30 $\pm$ 3.0
	VH	97 $\pm$ 5.8	720 $\pm$ 50	50 $\pm$ 6	100 $\pm$ 5	30 $\pm$ 2.0
32	TA	96 $\pm$ 5.0	750 $\pm$ 40	60 $\pm$ 7	100 $\pm$ 5	40 $\pm$ 5.0
	VH	94 $\pm$ 2.8	730 $\pm$ 40	50 $\pm$ 3	90 $\pm$ 4	30 $\pm$ 3.0
33	TA	116 $\pm$ 4.0	980 $\pm$ 30	60 $\pm$ 7	120 $\pm$ 4	50 $\pm$ 6.0
	VH	109 $\pm$ 3.5	890 $\pm$ 30	50 $\pm$ 4	110 $\pm$ 4	40 $\pm$ 4.0
34	TA	109 $\pm$ 2.4	980 $\pm$ 60	60 $\pm$ 6	100 $\pm$ 5	30 $\pm$ 5.0
	VH	118 $\pm$ 4.8	1080 $\pm$ 60	60 $\pm$ 11	120 $\pm$ 9	40 $\pm$ 9.0
35	TA	118 $\pm$ 1.1	1010 $\pm$ 70	60 $\pm$ 6	100 $\pm$ 5	40 $\pm$ 2.0
	VH	111 $\pm$ 3.1	1000 $\pm$ 40	50 $\pm$ 5	110 $\pm$ 4	50 $\pm$ 7.0
36	TA	128 $\pm$ 1.5	1270 $\pm$ 30	70 $\pm$ 9	140 $\pm$ 6	60 $\pm$ 4.0
	VH	115 $\pm$ 3.5	1090 $\pm$ 50	60 $\pm$ 6	120 $\pm$ 6 *	40 $\pm$ 6.0
37	TA	118 $\pm$ 4.0	1120 $\pm$ 40	70 $\pm$ 5	120 $\pm$ 5	50 $\pm$ 4.0
	VH	127 $\pm$ 3.0	1170 $\pm$ 60	130 $\pm$ 5 *	120 $\pm$ 6	60 $\pm$ 8.0

\* $p < 0.05$  vs. VH "t" Student

### Peso corporal

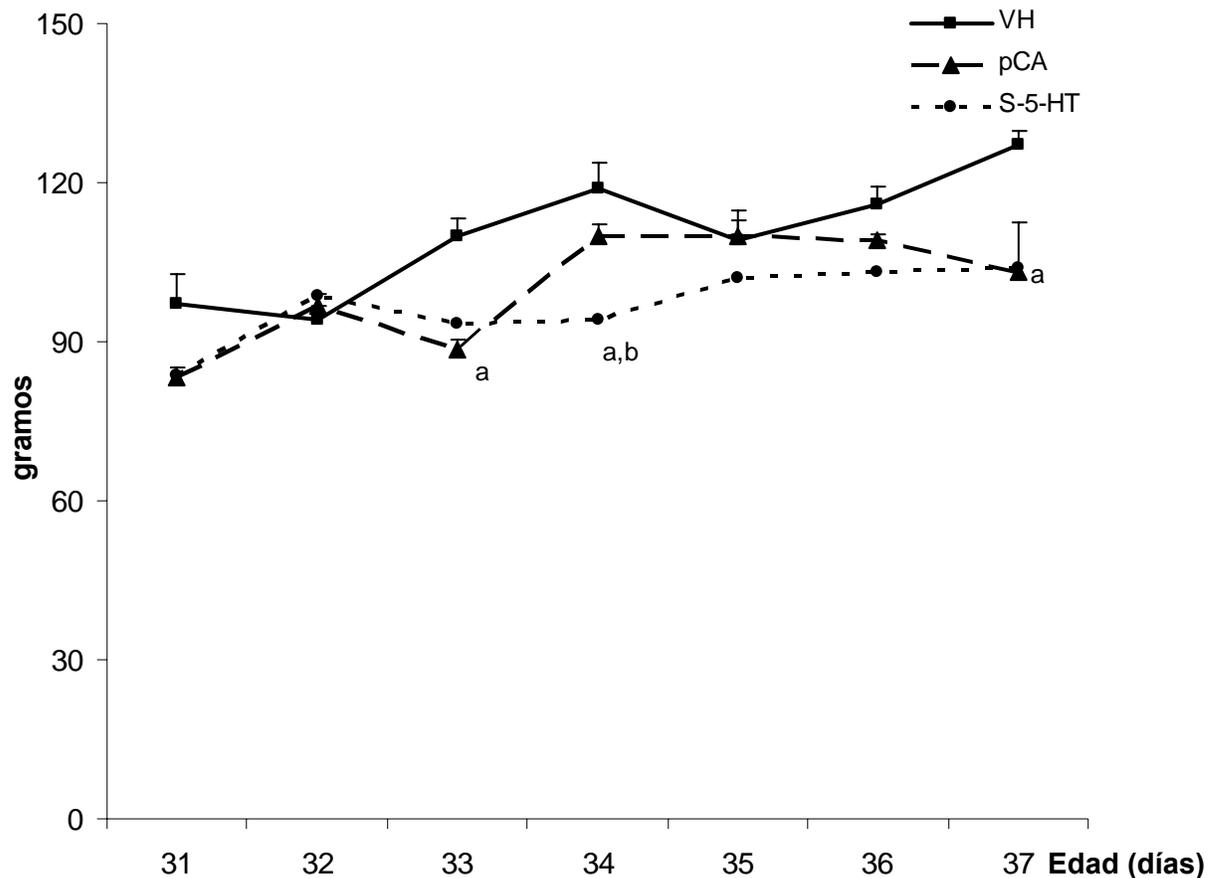
En comparación con los animales inyectados con VH, en el grupo de animales que recibieron S-5-HT el peso corporal fue menor cuando se autopsiaron a los 33, 34 y 37 días de edad. En los animales que fueron inyectados con pCA el peso corporal fue menor al día 33 y 37 de edad (Figura 5).

**Cuadro 2. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T), 17- $\beta$  estradiol (E<sub>2</sub>), hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH) en ratas macho sin tratamiento (TA) y tratadas con solución salina (VH) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

Edad (días)	Tratamiento	P <sub>4</sub> (ng/ml)	T (ng/ml)	E <sub>2</sub> (pg/ml)	FSH (ng/ml)	LH (ng/ml)
31	TA	6.2 $\pm$ 1.2	0.13 $\pm$ 0.04	10.5 $\pm$ 1.6	6.4 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 0.30
	VH	2.0 $\pm$ 0.5	0.16 $\pm$ 0.00	8.0 $\pm$ 1.6	5.6 $\pm$ 0.7	0.8 $\pm$ 0.10
32	TA	13.7 $\pm$ 4.2	0.09 $\pm$ 0.03	12.5 $\pm$ 2.9	6.5 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.30
	VH	10.9 $\pm$ 3.7	0.10 $\pm$ 0.03	15.0 $\pm$ 3.3	8.6 $\pm$ 0.9	1.0 $\pm$ 0.20
33	TA	11.3 $\pm$ 1.7	0.40 $\pm$ 0.10	7.5 $\pm$ 1.6	7.6 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 0.10
	VH	11.7 $\pm$ 2.1	0.29 $\pm$ 0.06	9.3 $\pm$ 2.0	7.8 $\pm$ 0.8	0.9 $\pm$ 0.10
34	TA	7.5 $\pm$ 1.5	0.23 $\pm$ 0.04	11.5 $\pm$ 2.3	6.7 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.06
	VH	4.1 $\pm$ 0.7	0.59 $\pm$ 0.16	9.2 $\pm$ 2.3	7.9 $\pm$ 0.6	1.6 $\pm$ 0.20
35	TA	13.6 $\pm$ 1.3	0.33 $\pm$ 0.08	6.3 $\pm$ 0.5	8.5 $\pm$ 0.3	1.5 $\pm$ 0.20
	VH	13.4 $\pm$ 3.1	0.62 $\pm$ 0.29	5.0 $\pm$ 0.9	7.3 $\pm$ 0.6	1.3 $\pm$ 0.09
36	TA	6.8 $\pm$ 1.4	0.78 $\pm$ 0.21	5.1 $\pm$ 0.8	7.4 $\pm$ 0.4	1.1 $\pm$ 0.10
	VH	5.3 $\pm$ 1.0	0.29 $\pm$ 0.06	7.9 $\pm$ 1.5	7.3 $\pm$ 0.5	0.8 $\pm$ 0.06
37	TA	7.2 $\pm$ 1.2	0.36 $\pm$ 0.09	9.9 $\pm$ 2.8	6.6 $\pm$ 0.3	1.0 $\pm$ 0.06
	VH	7.0 $\pm$ 1.1	0.22 $\pm$ 0.09	8.5 $\pm$ 2.4	7.3 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.10

### Peso de órganos del aparato reproductor

En los animales tratados con pCA o S-5-HT la masa testicular fue menor que en los animales tratados con el vehículo en los días 33-37 de edad (Figura 6).

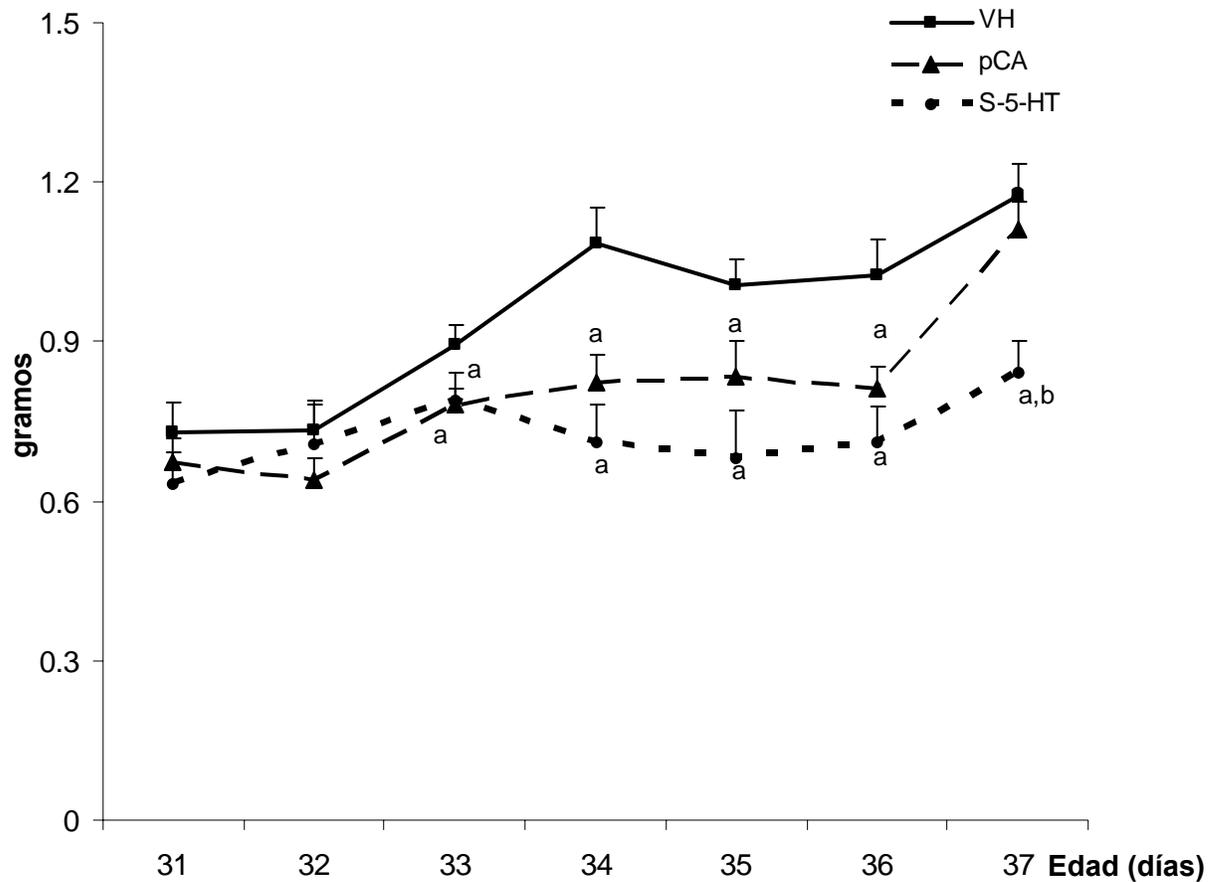


a,  $p < 0.05$  vs. VH (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

b,  $p < 0.05$  vs. pCA (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**Figura 5.-** Peso corporal (g) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o con 37.5 mg/Kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.

La administración de pCA o S-5-HT no resultó en cambios significativos en el peso del epidídimo, la próstata y vesícula seminal (Cuadros 3, 4 y 5).



a,  $p < 0.05$  vs. VH (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).  
b,  $p < 0.05$  vs. pCA (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**Figura 6. Masa testicular (g) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o con 37.5 mg/Kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

**Cuadro 3. Masa del epidídimo (mg) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA), o con 37.5 mg/kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 de edad y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

Tratamiento	Edad (días)						
	31	32	33	34	35	36	37
VH	100 $\pm$ 5	90 $\pm$ 4	110 $\pm$ 4	120 $\pm$ 9	120 $\pm$ 4	120 $\pm$ 6	130 $\pm$ 6
PCA	80 $\pm$ 3	100 $\pm$ 4	110 $\pm$ 7	110 $\pm$ 6	110 $\pm$ 7	110 $\pm$ 5	130 $\pm$ 4
S-5-HT	90 $\pm$ 5	100 $\pm$ 8	100 $\pm$ 5	90 $\pm$ 7	80 $\pm$ 7	90 $\pm$ 8	110 $\pm$ 5

**Cuadro 4. Peso de la próstata (mg) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o con 37.5 mg/kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 días de edad y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

Tratamiento	Edad (días)						
	31	32	33	34	35	36	37
VH	40 $\pm$ 6	40 $\pm$ 3	50 $\pm$ 5	60 $\pm$ 10	50 $\pm$ 5	60 $\pm$ 6	80 $\pm$ 8
PCA	40 $\pm$ 4	40 $\pm$ 5	70 $\pm$ 5	60 $\pm$ 5	50 $\pm$ 5	60 $\pm$ 5	80 $\pm$ 8
S-5-HT	40 $\pm$ 3	40 $\pm$ 4	50 $\pm$ 4	50 $\pm$ 12	50 $\pm$ 11	50 $\pm$ 6	60 $\pm$ 7

**Cuadro 5. Peso de la vesícula seminal (mg) (media  $\pm$  e.e.m.) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) o con 37.5 mg/kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

Tratamiento	Edad (días)						
	31	32	33	34	35	36	37
VH	30 $\pm$ 2	30 $\pm$ 3	40 $\pm$ 4	50 $\pm$ 8	50 $\pm$ 7	40 $\pm$ 6	60 $\pm$ 8
PCA	30 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4	40 $\pm$ 3	50 $\pm$ 2	60 $\pm$ 1	40 $\pm$ 3	60 $\pm$ 5
S-5-HT	40 $\pm$ 5	40 $\pm$ 2	40 $\pm$ 2	30 $\pm$ 4	40 $\pm$ 9	40 $\pm$ 7	40 $\pm$ 1

---

### **Concentración de gonadotropinas**

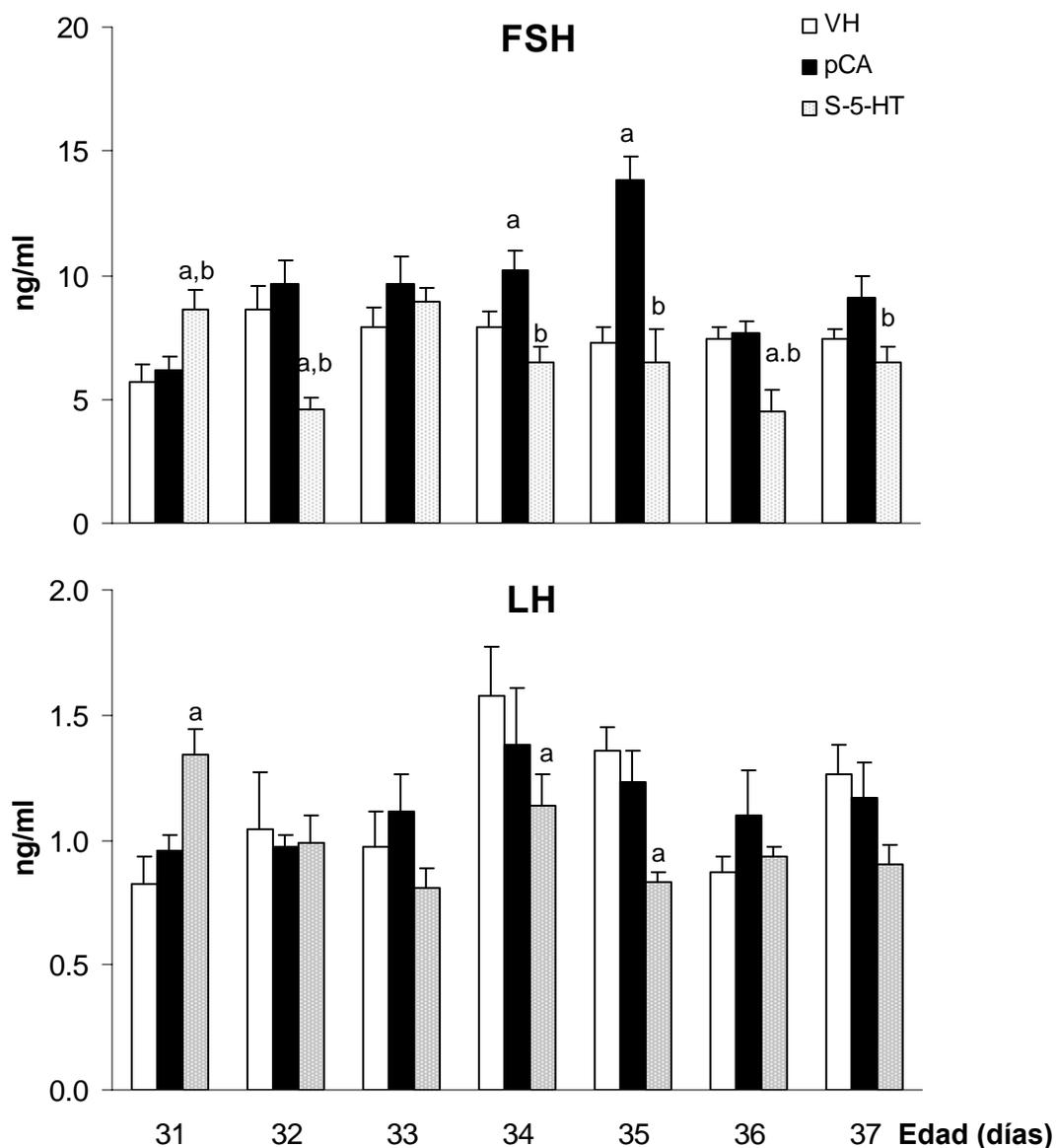
A partir del día 32 y hasta el 35 de edad la concentración de la FSH en los animales inyectados con pCA fue mayor que en el grupo inyectado con VH, pero fue estadísticamente significativo solo al día 34 y 35. Mientras que en los animales que recibieron S-5-HT la concentración de esta hormona fue menor en los animales sacrificados a los 32, 35, 36 y 37 de edad (Figura 7).

En los animales que recibieron S-5-HT y se sacrificaron a los 31 días de edad la concentración de LH fue significativamente mayor que en el grupo inyectado con VH. Esta tendencia se invirtió en los animales sacrificados a los 34 o 35 días de edad. No se presentaron cambios en los animales sacrificados en las otras edades. La administración de la pCA no resultó en cambios significativos en la concentración sérica de la LH en ninguna de las edades estudiadas.

### **Concentración de hormonas esteroides en suero**

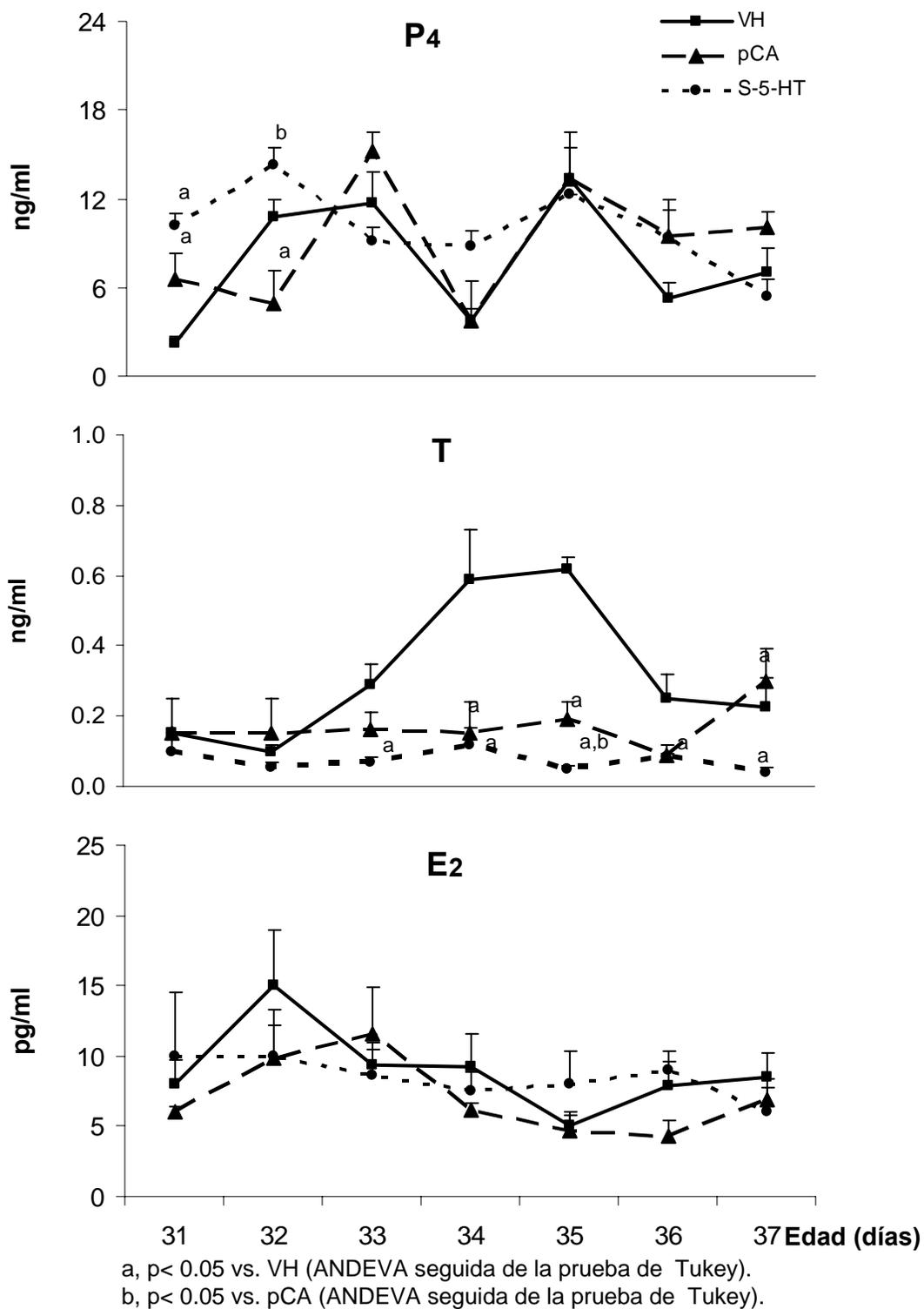
En los animales que recibieron la pCA, la concentración de progesterona fue significativamente mayor a los 31 y 32 días de edad que en los animales tratados con VH. En los animales que recibieron S-5-HT y sacrificados a las edades antes mencionadas se incrementó la concentración de esta hormona. No se observaron diferencias en los animales sacrificados a otras edades (Figura 8).

En comparación con los animales que recibieron VH, en el suero de los animales que se inyectaron con pCA o S-5-HT la concentración de testosterona fue menor a partir de los 32 días de edad (Figura 8). La concentración de  $17\beta$ -estradiol no se modificó en ninguno de los tratamientos.



a,  $p < 0.05$  vs. VH (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).  
 b,  $p < 0.05$  vs. pCA (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**Figura 7. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) en suero de la hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH) de ratas macho tratadas con solución salina (VH), p-cloroanfetamina (pCA) o con sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**



**Figura 8. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T) y 17 $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>) en el suero de ratas macho tratadas con solución salina (VH), p-cloroanfetamina (pCA), o con sulfato de serotonina (S-5-HT) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**

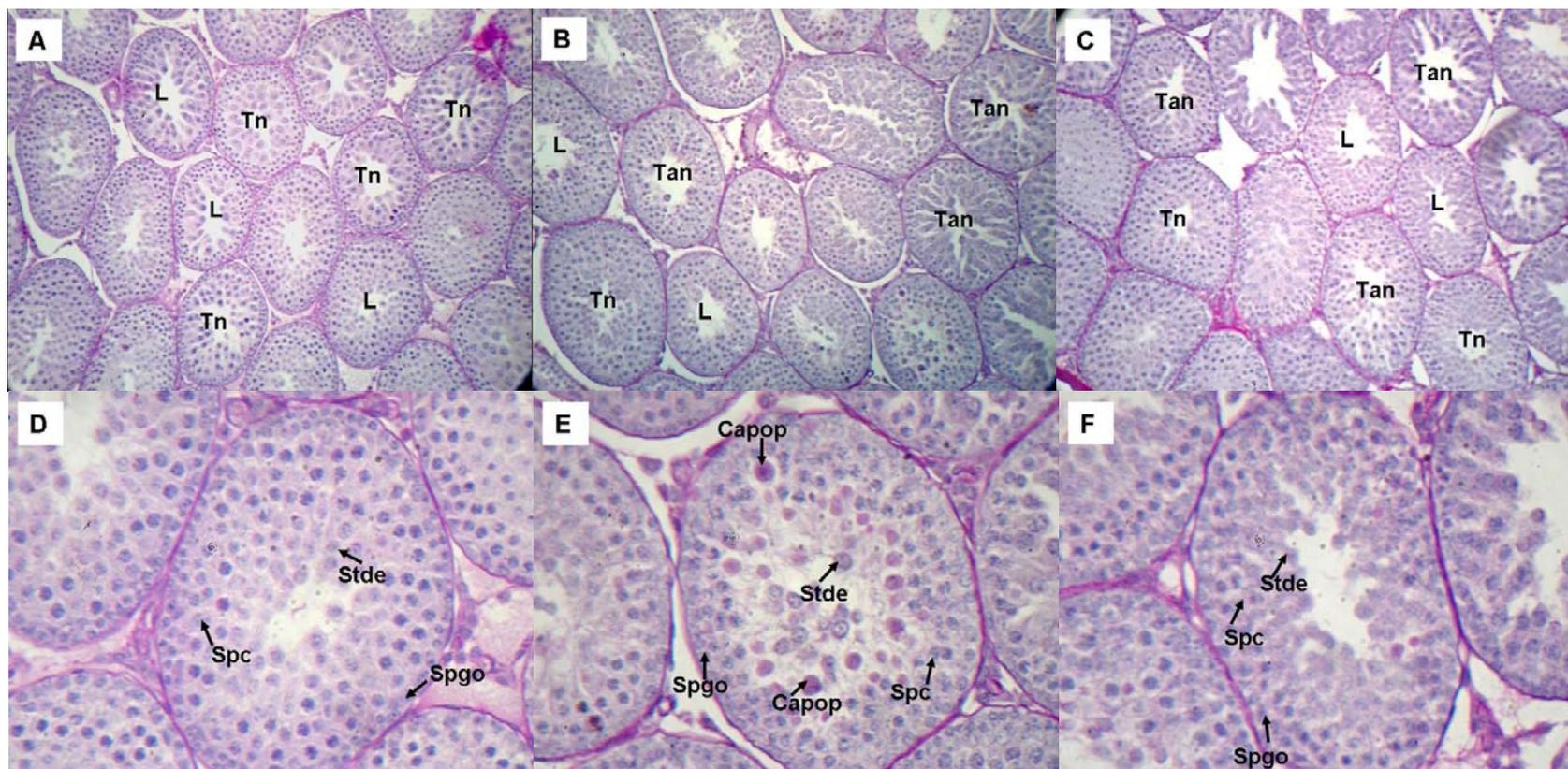
---

## Estructura histológica del testículo

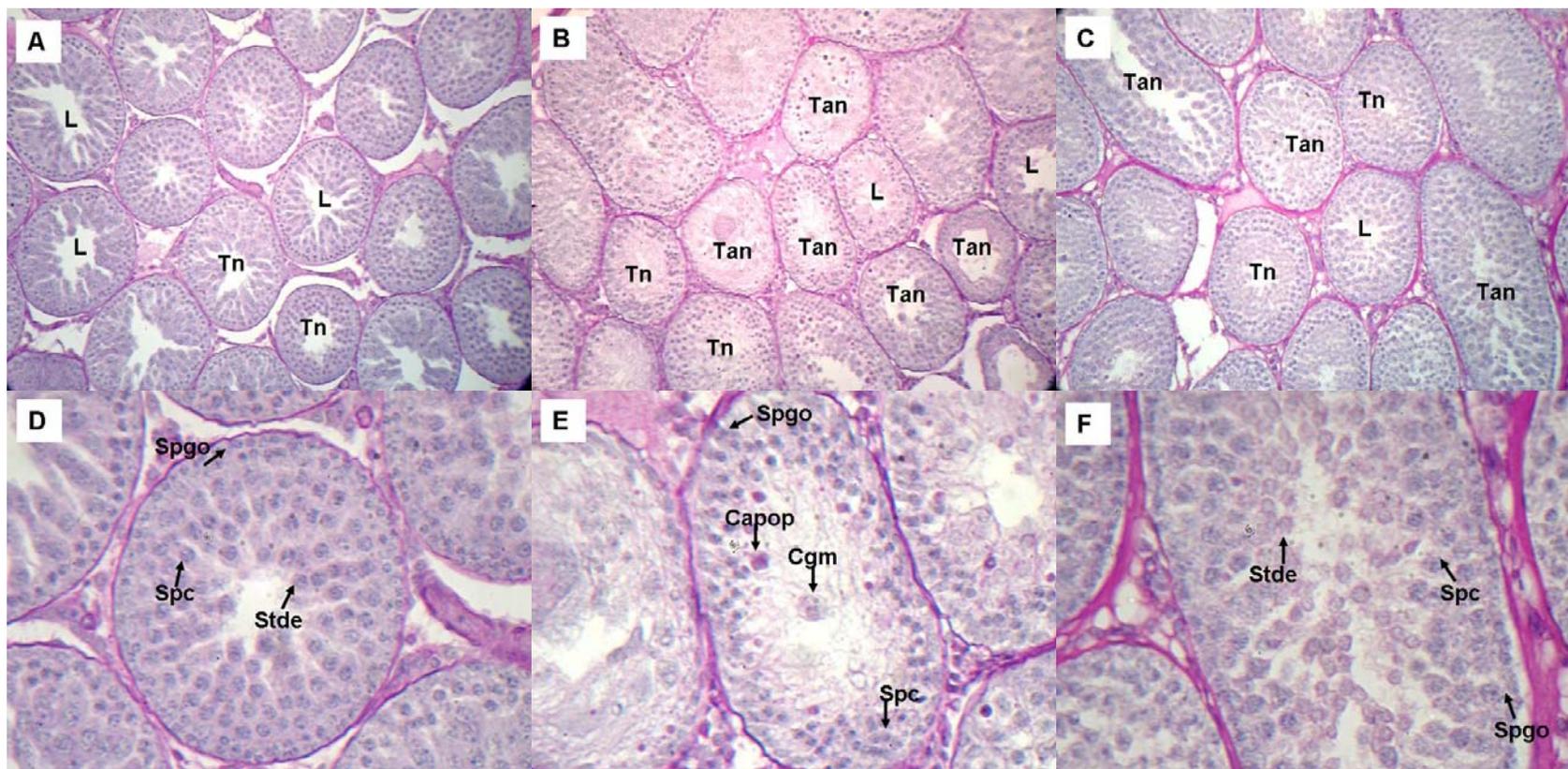
En los testículos de los animales tratados con solución salina (VH) se observó que la mayoría de los túbulos seminíferos presentaban una forma circular con un arreglo del epitelio seminífero normal, que se caracteriza por estar conformado de: Espermatogonias, espermatocitos y espermatides (Figuras 9A, 9D, 10A, 10D, 11A y 11D).

En comparación con el grupo VH, en los animales que se inyectaron con pCA o con S-5-HT y sacrificados a los 31 días de edad no presentaron diferencias en las formas de los túbulos y en el arreglo celular del epitelio seminífero. Mientras que en los animales que recibieron pCA o S-5-HT y sacrificados al día 33 de edad se observó el incremento en el número de túbulos anormales (pCA 25% y S-5-HT 22.7% vs VH 3.6%,  $p < 0.05$ ) caracterizados por la pérdida de células germinales (Figuras 10B, 10C, 10E y 10F).

Al analizar la estructura de los túbulos seminíferos de los animales tratados con pCA o S-5-HT sacrificados al día 37 se observó un aumento en el número de túbulos con anomalías (pCA 25% y S-5-HT 23% vs VH 17%,  $p < 0.05$ ) caracterizados por la pérdida de células germinales principalmente de espermatides y espermatocitos lo cual se acompañó de un aumento evidente del lumen y la frecuencia de células apoptóticas en este tipo de túbulos. Este efecto fue similar al observado en los animales sacrificados a los 33 días de edad (Figuras 11B, 11C, 11E y 11F).



**Figura 9.** Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas tratadas con solución salina (A), pCA (B) o S-5-HT (C) al día 30 de edad y sacrificada al día 31 (20x) o 40x (D), (E) y (F) respectivamente, en donde se observan túbulos normales (Tn) y anormales (Tan) constituidos por diferentes células germinales: espermatogonias (Spgo), espermatocitos (Spc), espermatides redondas (Stde) y células apoptóticas (Capop).



**Figura 10.** Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas tratadas con solución salina (A), pCA (B) o S-5-HT (C) al día 30 de edad y sacrificada al día 33 (20x) o 40x (D), (E) y (F) respectivamente, en donde se observan túbulos normales (Tn) y anormales (Tan) constituidos por diferentes células germinales: espermatogonias (Spgo), espermatocitos (Spc), espermatides redondas (Stde) y células apoptóticas (Capop).

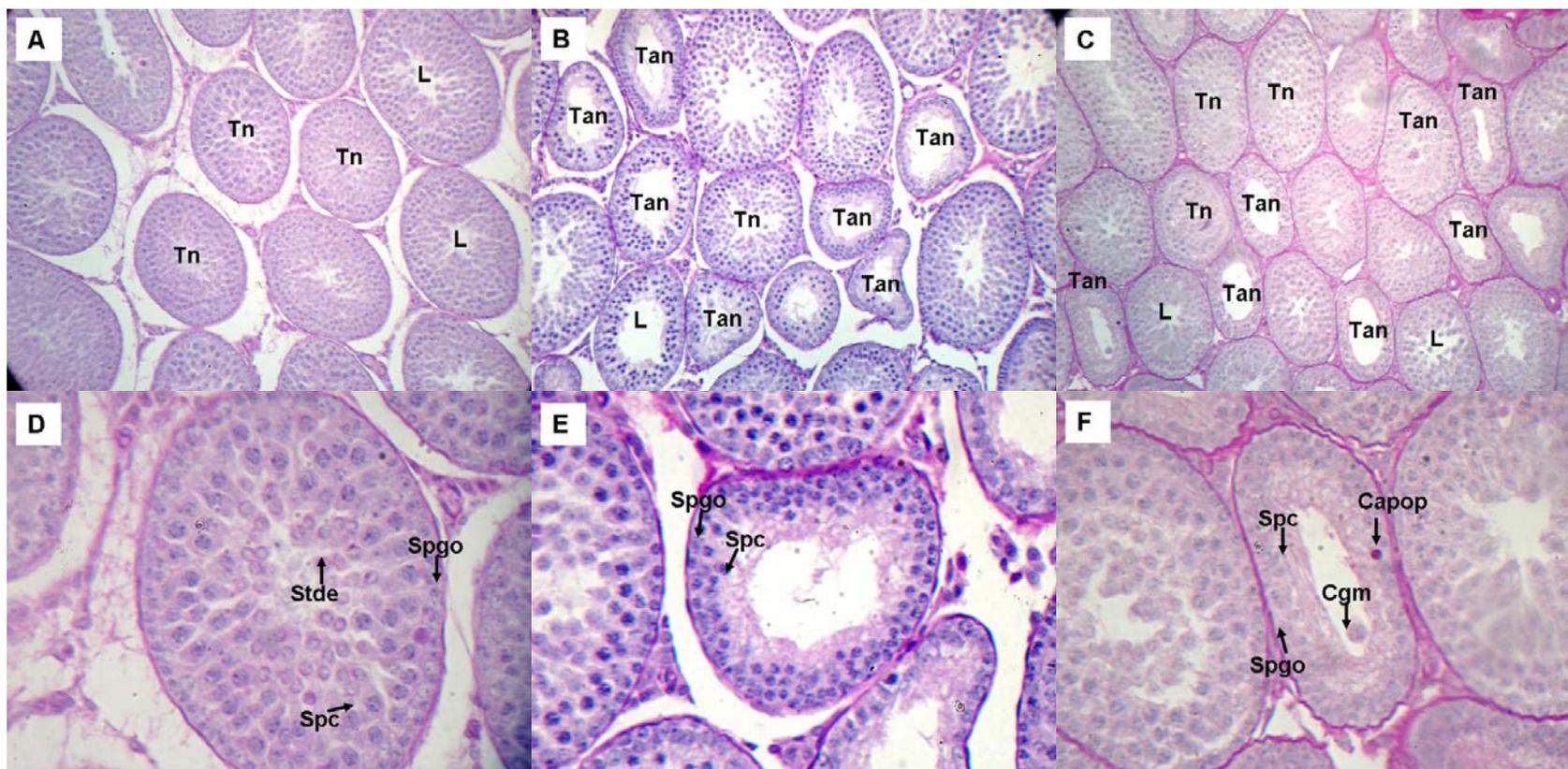


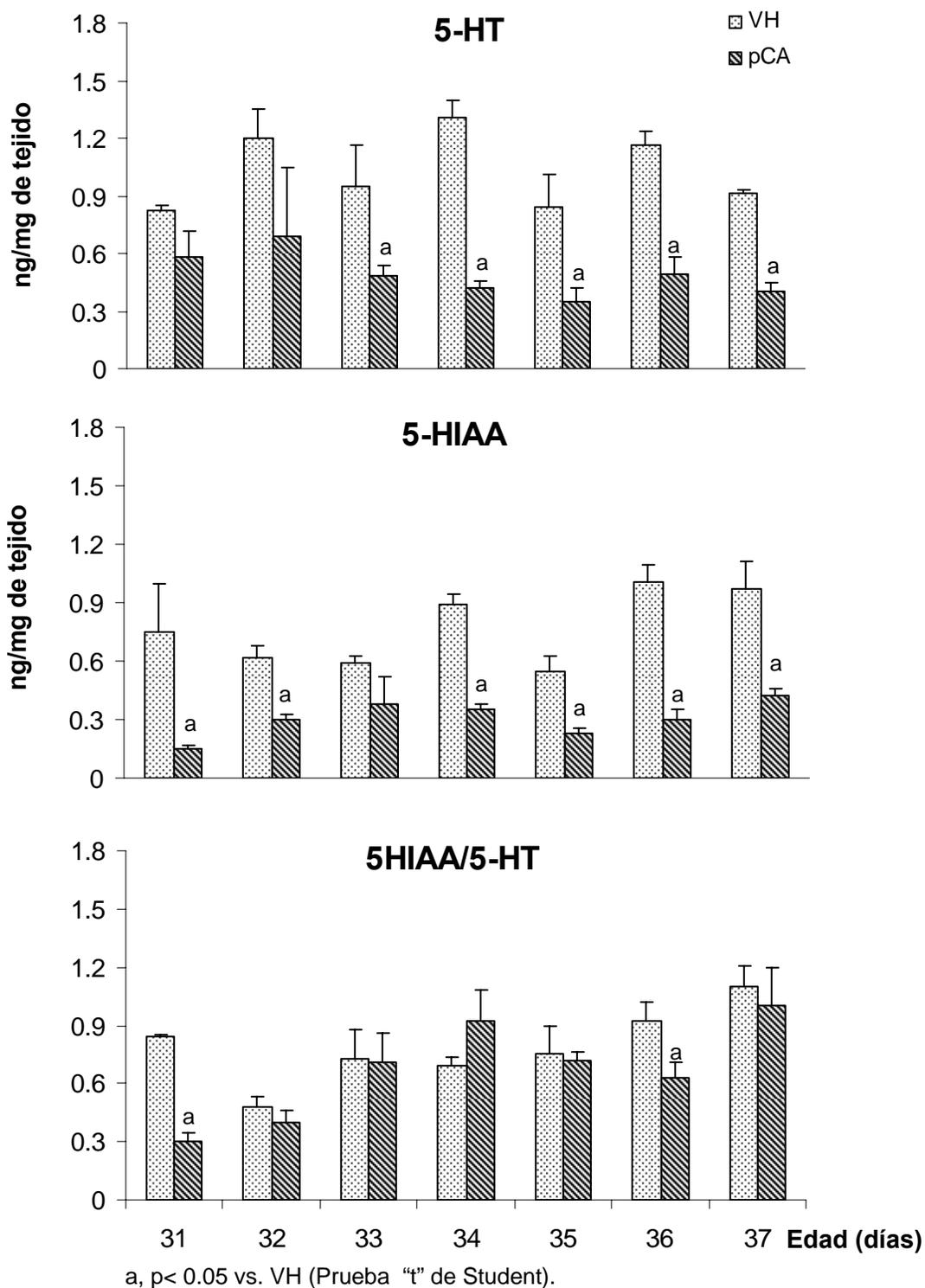
Figura 11. Fotomicrografías de cortes histológicos de testículo de ratas tratadas con solución salina (A), pCA (B) o S-5-HT (C) al día 30 de edad y sacrificada al día 37 (20x) o 40x (D), (E) y (F) respectivamente, en donde se observan túbulos normales (Tn) y anormales (Tan) constituidos por diferentes células germinales: espermatogonias (Spgo), espermatocitos (Spc), espermatides redondas (Stde) y células apoptóticas (Capop).

---

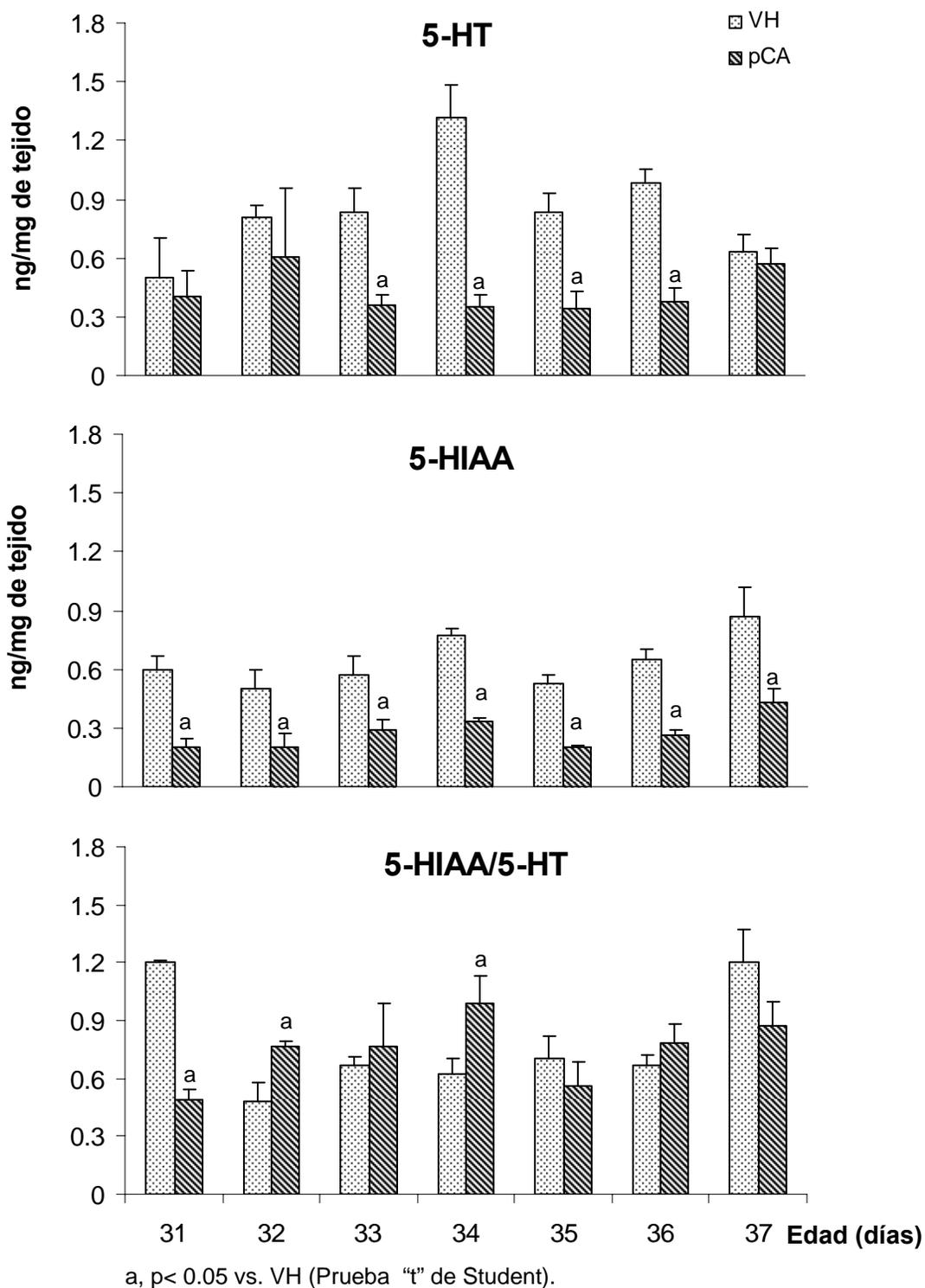
### **Concentraciones de serotonina y 5-HIAA**

En comparación con los animales inyectados con VH, en el hipotálamo anterior y medio de los animales que se inyectaron con la pCA la concentración de serotonina fue menor a partir del día 31, pero esta disminución es significativa a partir del día 33 de edad. La concentración del ácido 5-HIAA fue menor a partir del día 31 (Figuras 12 y 13). En el hipotálamo posterior, las concentraciones de la serotonina y de su metabolito fueron menores a partir de los 31 a 34 días de edad, mientras que en las otras edades no se presentaron diferencias significativas (Figura 14). A partir de los 31 días de edad, en el hipotálamo anterior y medio, la relación 5-HIAA/5-HT fue significativamente menor que la observada en los animales tratados con VH. Esta tendencia se invirtió en el hipotálamo medio y posterior de los animales sacrificados a los 32, 33 o 34 días y en las otras edades no se presentaron cambios (Figuras 12, 13 y 14).

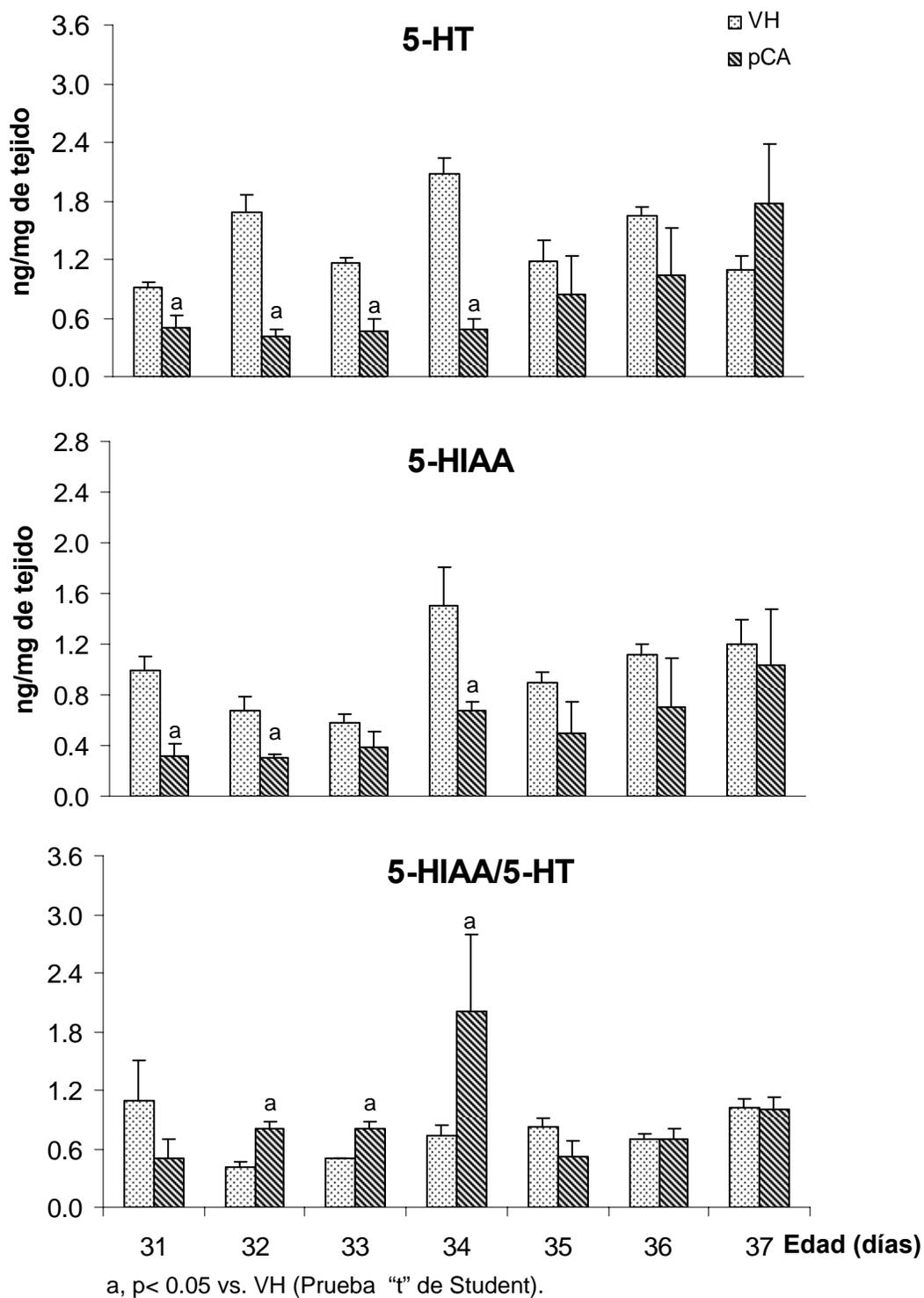
En comparación con los animales tratados con VH, en el grupo de animales tratados con pCA, no se observaron diferencias significativas en la concentración de serotonina, del 5-HIAA y de la relación 5-HIAA/5-HT en los núcleos dorsal o medial del rafe (Figuras 15 y 16).



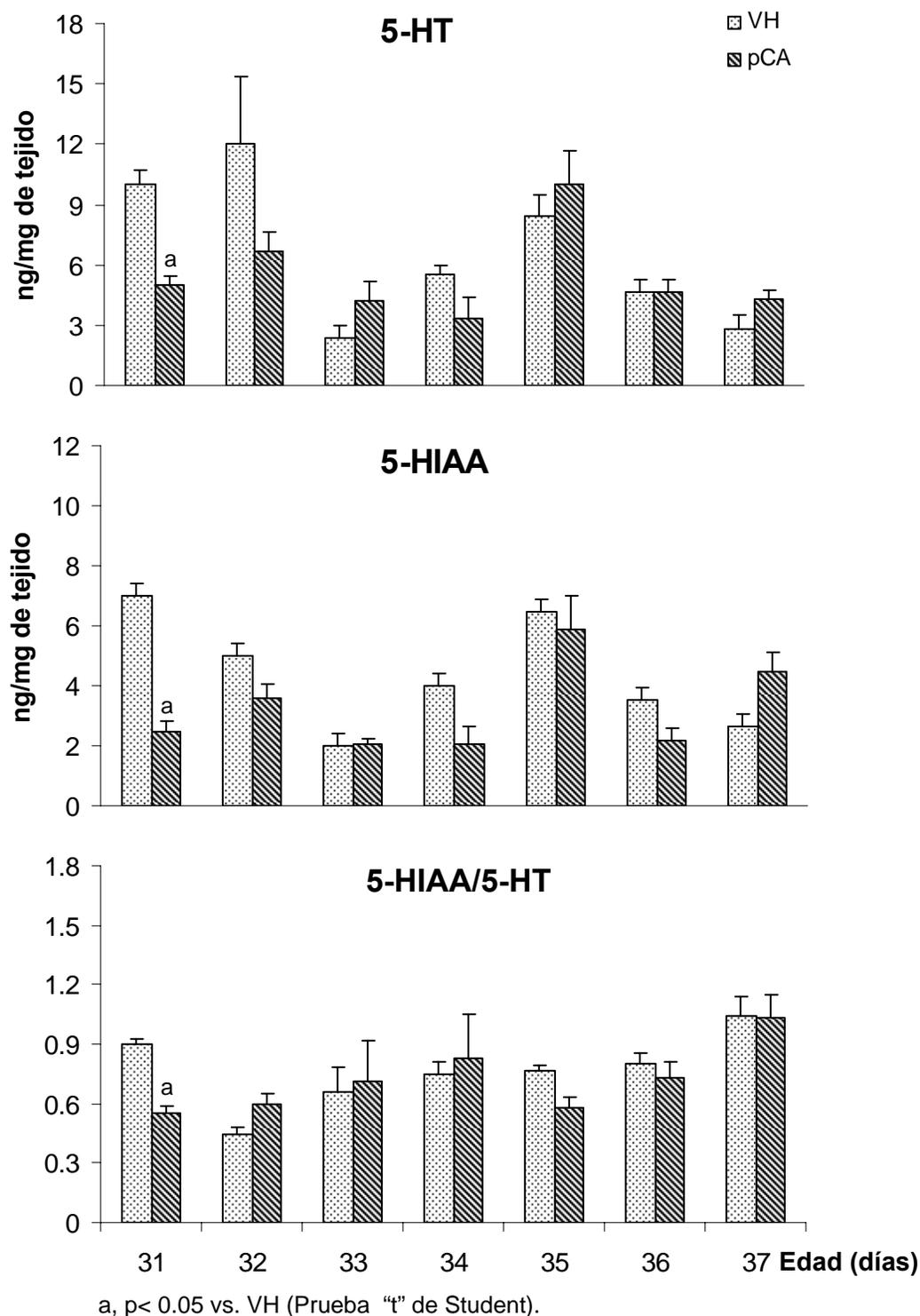
**Figura 12.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación (5-HIAA)/(5-HT) en el hipotálamo anterior de ratas macho inyectadas con solución salina (VH) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.



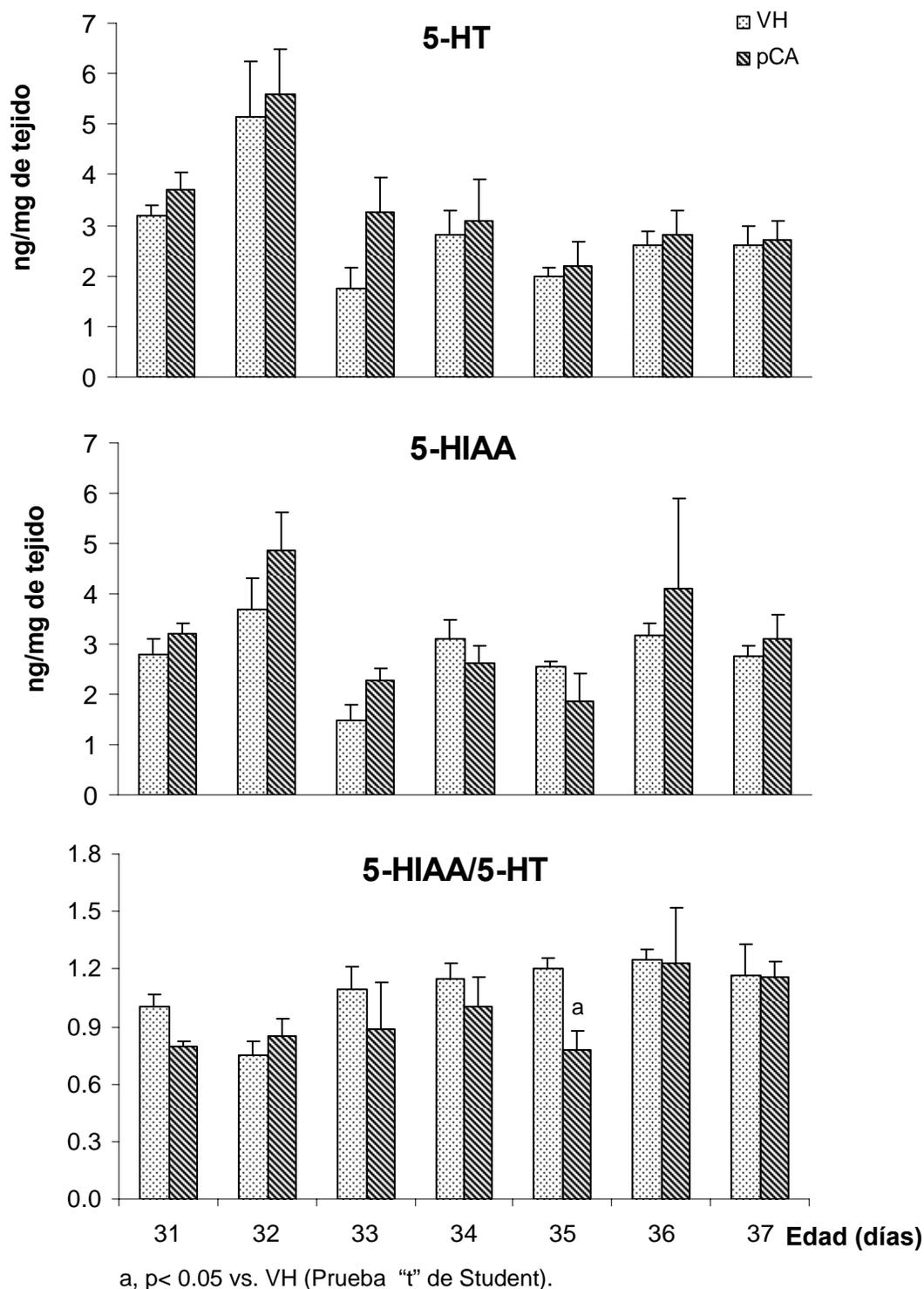
**Figura 13.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación (5-HIAA)/(5-HT) en el hipotálamo medio de ratas macho inyectadas con solución salina (VH) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.



**Figura 14.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación (5-HIAA)/(5-HT) en el hipotálamo posterior de ratas macho inyectadas con solución salina (VH) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.



**Figura 15.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación (5-HIAA)/(5-HT) en el núcleo dorsal del rapé de ratas macho inyectadas con solución salina (VH) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.



**Figura 16.** Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de serotonina (5-HT), del ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) y de la relación (5-HIAA)/(5-HT) en el núcleo medial del rafé de ratas macho inyectadas con solución salina (VH) o con 10 mg/kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.

### Concentraciones de Catecolaminas

Las concentraciones de NA, MHPG, DA y DOPAC en el hipotálamo anterior y medio de los animales tratados con pCA, fueron similares a lo observado en los grupos de animales tratados con VH (Cuadros 6 y 7).

**Cuadro 6. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de noradrenalina (NA) y del ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletilenglicol (MHPG) en el hipotálamo anterior y medio de ratas macho tratadas con solución salina (VH) o con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepúberal.**

Edad (días)	Tratamiento	Hipotálamo Anterior (ng/mg de tejido)		Hipotálamo Medio (ng/mg de tejido)	
		NA	MHPG	NA	MHPG
31	VH	1.27 $\pm$ 0.15	0.45 $\pm$ 0.11	2.02 $\pm$ 0.16	0.87 $\pm$ 0.38
	pCA	1.60 $\pm$ 0.20	0.88 $\pm$ 0.07	1.66 $\pm$ 0.15	0.50 $\pm$ 0.15
32	VH	1.85 $\pm$ 0.13	0.38 $\pm$ 0.05	2.01 $\pm$ 0.20	1.78 $\pm$ 0.37
	pCA	1.76 $\pm$ 0.21	0.72 $\pm$ 0.32	2.06 $\pm$ 0.40	1.08 $\pm$ 0.10
33	VH	1.21 $\pm$ 0.32	0.56 $\pm$ 0.25	1.80 $\pm$ 0.25	1.67 $\pm$ 0.83
	pCA	1.74 $\pm$ 0.05	0.26 $\pm$ 0.02	1.84 $\pm$ 0.14	0.39 $\pm$ 0.07
34	VH	1.67 $\pm$ 0.04	1.00 $\pm$ 0.60	1.69 $\pm$ 0.28	1.03 $\pm$ 0.26
	pCA	1.46 $\pm$ 0.15	0.37 $\pm$ 0.03	1.91 $\pm$ 0.14	0.69 $\pm$ 0.15
35	VH	1.01 $\pm$ 0.14	0.70 $\pm$ 0.31	1.29 $\pm$ 0.16	0.65 $\pm$ 0.11
	pCA	1.47 $\pm$ 0.39	0.56 $\pm$ 0.08	1.80 $\pm$ 0.22	0.84 $\pm$ 0.10
36	VH	1.60 $\pm$ 0.11	0.45 $\pm$ 0.04	1.80 $\pm$ 0.20	0.84 $\pm$ 0.16
	pCA	1.78 $\pm$ 0.16	0.35 $\pm$ 0.04	1.90 $\pm$ 0.14	0.54 $\pm$ 0.14
37	VH	1.29 $\pm$ 0.19	0.82 $\pm$ 0.37	1.77 $\pm$ 0.36	1.07 $\pm$ 0.37
	pCA	1.88 $\pm$ 0.14	0.77 $\pm$ 0.15	1.74 $\pm$ 0.31	2.30 $\pm$ 0.44

**Cuadro 7. Concentración (media  $\pm$  e.e.m.) de dopamina (DA) y del ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) en el hipotálamo anterior y medio de ratas macho tratadas con solución salina (VH) o con 10 mg/Kg de p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día 30 y sacrificadas a diferentes edades del desarrollo prepúbereal.**

Edad (días)	Tratamiento	Hipotálamo anterior (ng/mg de tejido)		Hipotálamo medio (ng/mg de tejido)	
		DA	DOPAC	DA	DOPAC
31	VH	0.17 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.007	0.25 $\pm$ 0.02	0.16 $\pm$ 0.02
	pCA	0.22 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.008	0.36 $\pm$ 0.06	0.11 $\pm$ 0.01
32	VH	0.24 $\pm$ 0.03	0.09 $\pm$ 0.009	0.65 $\pm$ 0.10	0.22 $\pm$ 0.05
	pCA	0.27 $\pm$ 0.14	0.11 $\pm$ 0.025	0.49 $\pm$ 0.18	0.17 $\pm$ 0.04
33	VH	0.77 $\pm$ 0.50	0.37 $\pm$ 0.25	0.52 $\pm$ 0.26	0.22 $\pm$ 0.06
	pCA	0.20 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.02	0.37 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.30
34	VH	0.24 $\pm$ 0.22	0.08 $\pm$ 0.01	0.30 $\pm$ 0.06	0.14 $\pm$ 0.05
	pCA	0.20 $\pm$ 0.18	0.09 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.05	0.18 $\pm$ 0.03
35	VH	0.22 $\pm$ 0.02	0.11 $\pm$ 0.03	0.51 $\pm$ 0.11	0.26 $\pm$ 0.09
	pCA	0.25 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.04	0.60 $\pm$ 0.23	0.28 $\pm$ 0.10
36	VH	0.22 $\pm$ 0.01	0.08 $\pm$ 0.02	0.44 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.06
	pCA	0.27 $\pm$ 0.02	0.08 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.02	0.10 $\pm$ 0.01
37	VH	0.27 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.04	0.48 $\pm$ 0.29	0.12 $\pm$ 0.01
	pCA	0.26 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.02	0.64 $\pm$ 0.14	0.31 $\pm$ 0.10

---

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que durante el desarrollo prepuberal de la rata macho, el sistema serotoninérgico modula de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas y como consecuencia la esteroidogénesis del testículo. El menor peso de los testículos, el daño observado en los túbulos seminíferos y la menor concentración de testosterona en suero de las ratas tratadas con pCA o S-5-HT apoyan esta interpretación. Una conclusión semejante, utilizando también el modelo de la rata macho prepúber fue propuesta por Shiskina y Dygalo (2000), quienes mostraron que la administración de PCPA, resulta en una reducción significativa de la concentración de testosterona en plasma y del testículo.

El sistema serotoninérgico estimula la secreción de la hormona de crecimiento, ya que en el hipotálamo induce la liberación de la somatostatina (Weiner y Ganong, 1978). Dado que la administración sistémica de pCA resulta en la inhibición del sistema serotoninérgico en diferentes regiones del encéfalo incluyendo al hipotálamo (Sanders-Bush y col., 1972), pensamos que la falta de efecto de la pCA sobre el peso de los animales observada en nuestro estudio es el resultado de que las evaluaciones se realizaron en periodos de tiempo cortos y el tiempo que transcurrió no fue suficiente para que se manifestaran los efectos en el desarrollo de los animales, por lo cual el menor peso observado en los animales de 33 y 34 días de edad no estaría vinculado a modificaciones en la secreción de la hormona de crecimiento.

El menor peso de los testículos observado en los animales que recibieron la pCA o S-5-HT, puede estar relacionado con la menor concentración de testosterona en sangre observada en estos animales a partir de los 32 días de edad, ya que se ha mostrado que esta hormona es un factor importante en el mantenimiento de la estructura y funcionamiento del testículo (Bhasin, 1999).

---

La testosterona participa en la regulación de la espermatogénesis principalmente durante las divisiones meióticas y en particular de la espermiogénesis. Se ha mostrado que cuando se bloquea la acción de la testosterona por la administración de un antiandrógeno como el casodex, disminuye el número de células germinales (Chandolia y col., 1991). Mientras que, cuando se administra testosterona a ratas hipofisectomizadas se previene la involución testicular y se mantiene la espermatogénesis (Sun y col., 1989; Awoniyi y col., 1992). Con base en las evidencias y nuestros resultados es posible pensar que el menor peso del testículo observado en los animales tratados con la pCA o S-5-HT puede ser el reflejo de alteraciones en la proliferación y el mantenimiento de las poblaciones celulares del testículo, como son las células germinales (espermatogonias, espermatocitos, espermatides y espermatozoides), como resultado de la disminución en la concentración de la testosterona. En relación a esto, Aragón y col., (2005) mostraron que la pCA administrada cada ocho días a ratas macho de 30 días y sacrificadas al día 45 ó 65 de edad provoca la muerte de células germinales por apoptosis y esto se asocia a la disminución del peso testicular de las ratas sometidas a este tratamiento.

En los animales que recibieron pCA el menor peso del testículo no parece estar vinculado a las modificaciones en la secreción de la FSH, ya que la concentración de esta hormona fue mayor en los animales sacrificados al día 34 ó 35 de edad o no se modificó en el resto de las edades. Según diversos autores, la FSH es la principal hormona estimulante de la proliferación de las células germinales (Amory y Bremner, 2001). Cuando ratas macho adultas son hipofisectomizadas, la concentración de FSH en suero y el peso del testículo son significativamente menores a las 16 horas posteriores a la intervención y es más evidente a los tres ó siete días. Este efecto se revierte cuando se realiza el reemplazo hormonal con FSH (Au y col, 1985). Por ello, es posible pensar que en los animales que fueron tratados con la anfetamina el menor peso del testículo es una consecuencia de la disminución de la capacidad de la respuesta del testículo a la acción de la FSH inducida por la falta de serotonina.

La idea de que la disminución en el peso del testículo observada en los animales que recibieron pCA esta relacionada con su efecto directo en la gónada, es apoyada por los resultados de Syed y col., (1999), quienes mostraron que en la célula de Sertoli existen receptores a serotonina y que la amina regula sus funciones secretoras. Además, se ha mostrado que diferentes factores de crecimiento y hormonas (factor de crecimiento parecido a la insulina tipo 1 (IGF-1, por sus siglas en inglés) y la inhibina) que son secretados por la célula de Sertoli participan en la regulación de la proliferación celular, (Van Dissel y col, 1989; Venkataraman y col, 2004). Cuando a ratones o cricetos se les inyecta inhibina a nivel intratesticular se reduce el número de espermatoцитos primarios que inician la meiosis y dos días después aumenta la degeneración celular (Van Dissel y col, 1989). Así mismo, en ratones que no expresan el gen para la secreción del IGF-1, el peso testicular es en un 60-70% menor con respecto a un ratón normal y el número de células de Leydig es reducido (Baker y col, 1996).

A diferencia de lo observado en los animales inyectados con pCA, en los que recibieron S-5-HT el menor peso del testículo se acompañó de una disminución en la concentración de FSH en suero a los 32 y 36 días de edad. Estos hechos nos permiten pensar que la menor concentración de FSH se reflejo en el peso de la gónada. Tal interpretación es apoyada por los estudios en los que se muestra que en ratones con modificaciones de la cadena  $\beta$  de la FSH se reduce el tamaño del testículo y la espermatogénesis (Burns y Matzuk, 2002).

Otra posible explicación al menor peso del testículo observado en los animales que recibieron S-5-HT puede ser el resultado de la acción de la serotonina a nivel testicular, ya que la serotonina es un vasoconstrictor de las arterias testiculares y como consecuencia modifica la irrigación del testículo en la rata adulta (Davis, 1992). Con base en esta evidencia es posible sugerir que la activación de los receptores a serotonina 5-HT<sub>1</sub> y 5-HT<sub>2</sub> que se localizan en los vasos sanguíneos que irrigan al órgano (Piner y col., 2002), provocó la vasoconstricción de los mismos y como consecuencia disminuyó la disponibilidad

---

de los nutrientes y de la FSH que son esenciales para el funcionamiento del testículo. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Piner y col. 2002, quienes mostraron que cuando se administra el agonista a serotonina, GR40370X, (el cual activa los receptores del tipo 5-HT<sub>1</sub>) se modifica el flujo sanguíneo del testículo y se provoca distensión del lumen de los túbulos seminíferos en el testículo así como un incremento acelerado durante las primeras cuatro horas del peso testicular debido a la acumulación de fluido en el túbulo seminífero provocado por la vasoconstricción de los vasos y capilares, pero posteriormente el peso del testículo se reduce.

La mayor concentración de FSH observada en los animales tratados con pCA y la menor concentración observada en los que recibieron S-5HT nos permite sugerir que la serotonina ejerce un efecto inhibitorio sobre la secreción de la FSH en esta etapa del desarrollo, efecto que puede estar relacionado con la alteración en la secreción de GnRH, ya que en el área preóptica existe comunicación sináptica entre las neuronas GnRHérgicas y serotoninérgicas (Jennes y col, 1985; Kiss y Halasz, 1985). Además se ha propuesto que el efecto de la serotonina en la secreción de las gonadotropinas depende del sitio de acción, ya que se ha propuesto que en el hipotálamo medio basal inhibe la secreción de gonadotropinas, mientras que en la región preóptica-supraquiasmática la estimula (Kordon y Glowinsky, 1972).

Nuestros resultados confirman los resultados de Justo y col., (1989) y Moguilevsky y col., (1987), sobre la idea de que en la rata macho de 30 días de edad el sistema serotoninérgico participa en la modulación de los mecanismos que regulan la secreción de la FSH y no modifica la de LH. El hecho de que en los animales que se trataron con la anfetamina no se afectó la concentración de LH apoya la interpretación.

---

El efecto diferencial en la secreción de gonadotropinas observado en los animales que recibieron pCA o S-5-HT puede deberse a la existencia de un factor liberador de la FSH y otro para la LH. La idea de la existencia de más de un factor liberador para las gonadotropinas lo han propuesto otros autores (Igarashi y McCann, 1964; Padmanabhan y McNeilly, 2001). Otra posibilidad es que la sensibilidad a la GnRH de las subpoblaciones de los gonadotropos en la secreción de FSH y LH sea diferente. Wise y col. (1979) mostraron que en la rata hembra cuando se dan pulsos de GnRH de baja frecuencia se estimula la secreción de la FSH y no se modifica la de LH.

La posibilidad de que en los animales tratados con pCA se modificara la secreción de la GnRH y como consecuencia de la FSH, es apoyada por la menor concentración de serotonina y del ácido 5-HIAA observada en las tres regiones del hipotálamo de los animales que recibieron la anfetamina. Estas modificaciones posiblemente se relacionan con la reducción en el proceso de síntesis y metabolismo de la serotonina. La pCA inhibe la actividad de la enzima triptofano-hidroxilasa, que es la enzima que interviene en el paso limitante de la síntesis de la serotonina y de la enzima monoamino oxidasa (MAO), cuya función es transformar a la serotonina en su principal metabolito el 5-HIAA (Sanders-Bush y Sulser, 1970; Costa y Revuelta, 1972; Sanders-Bush y col., 1972).

A diferencia de lo observado en las tres regiones del hipotálamo, la administración de pCA no resultó en modificaciones del sistema serotoninérgico en los núcleos dorsal y medial del rafé, por lo que podemos pensar que el sistema serotoninérgico de estos núcleos responde de manera diferente a lo que sucede en el hipotálamo. Es posible que el efecto diferencial de la pCA en el hipotálamo y los núcleos del rafé esté vinculado a la conformación de estas dos estructuras del encéfalo. Se ha descrito que las regiones del encéfalo que contienen un gran número de fibras serotoninérgicas como el hipotálamo son muy sensibles a los efectos neurotóxicos de las anfetaminas, mientras que las regiones que están conformadas por fibras y somas serotoninérgicos como los núcleos dorsal y

---

medial del rafé son menos sensibles a los efectos de las anfetaminas (Champney y Matthews, 1991).

La menor concentración de FSH observada en los animales que recibieron S-5-HT posiblemente es el resultado de que se redujo la liberación de la GnRH en el sistema portal-hipotalámico-hipófisiario. En apoyo tal idea se ha mostrado que cuando el S-5-HT se administra por vía sistémica no atraviesa la barrera hematoencefálica debido a sus propiedades hidrofílicas (Bouchaud, 1972) y que no modifica las concentraciones de serotonina y del 5-HIAA en el hipotálamo anterior y medio (Gallegos, 2003). La posibilidad de que el S-5-HT afectara la liberación de la GnRH es apoyada por las evidencias anatómicas de que en la eminencia media que se encuentra fuera de la barrera hemato-encefálica existe una comunicación entre la terminal de la neurona que produce la GnRH y la serotoninérgica (Jennes y col., 1985). Aunado a esto, en la rata hembra se ha propuesto que las terminales serotoninérgicas que se ubican en la eminencia media ejercen un control inhibitorio en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (Kordon y Glowinsky, 1972).

Las modificaciones en la concentración de la FSH observada en los animales que se inyectaron con la pCA o S-5-HT posiblemente son el resultado de su acción en la adenohipófisis, ya que por estudios de inmunocitoquímica se ha mostrado que la serotonina se encuentra en esta glándula (Jhons y col., 1982) y cuando hipófisis de ratas hembras de cinco días de edad se mantienen *in vitro* y se adiciona serotonina y GnRH al medio disminuye la secreción de LH (Martín y col., 1977). Con base en nuestros resultados y de otros autores pensamos que la serotonina modula la síntesis y liberación de las gonadotropinas directamente en la hipófisis.

La menor producción de testosterona observada en los animales que recibieron S-5-HT puede ser el resultado de que la serotonina actuó directamente en el testículo, ya que se ha mostrado que las células de Leydig secretan

---

serotonina, la cual actúa como modulador autocrino en las células de Leydig (Campos y col., 1990). En la célula de Leydig la serotonina estimula la producción del factor liberador de la corticotropina e inhibe la formación de adenosin monofosfato cíclico, lo cual se refleja en la inhibición de la esteroidogénesis (Tinajero y col., 1993).

En los animales tratados con la pCA la menor concentración de testosterona en suero es similar a lo descrito por Shishkina y Dygalo (2000). En estos momentos no se tiene una explicación de la disminución en la concentración de testosterona sin modificaciones en la secreción de LH observada en los animales que recibieron la anfetamina. Es posible que la alteración en la actividad del sistema serotoninérgico del hipotálamo modificó una vía de “comunicación neural” entre el hipotálamo y el testículo, lo cual se reflejó en la disminución del funcionamiento de la célula de Leydig y como consecuencia en la menor producción de testosterona. La idea de la comunicación neural entre el hipotálamo y el testículo ha sido planteada por Selvage y Rivier (2003). Estos autores mostraron que cuando se inyecta un agonista de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en el núcleo paraventricular se reduce la producción de testosterona. Estos hechos los llevaron a proponer que el núcleo paraventricular se comunica con células noradrenérgicas del grupo A5 las que establecen la comunicación con neuronas transinápticamente unidas al testículo y en particular a la célula de Leydig (Banczerowski y col., 2000).

Los cambios en la secreción de FSH que se observaron en los animales que fueron tratados con pCA o S-5-HT pueden también estar asociados a modificación en la secreción de la activina, inhibina o folistatina por la célula de Sertoli, como resultado de modificaciones en la disponibilidad de serotonina por la célula. Las hormonas antes mencionadas actúan en los diferentes componentes del eje hipotálamo- hipófisis: En el hipotálamo, la activina estimula la liberación de GnRH, en la hipófisis estimula la secreción de FSH y la expresión de los receptor a la GnRH; la inhibina y folistatina bloquean los efectos de la activina al evitar que

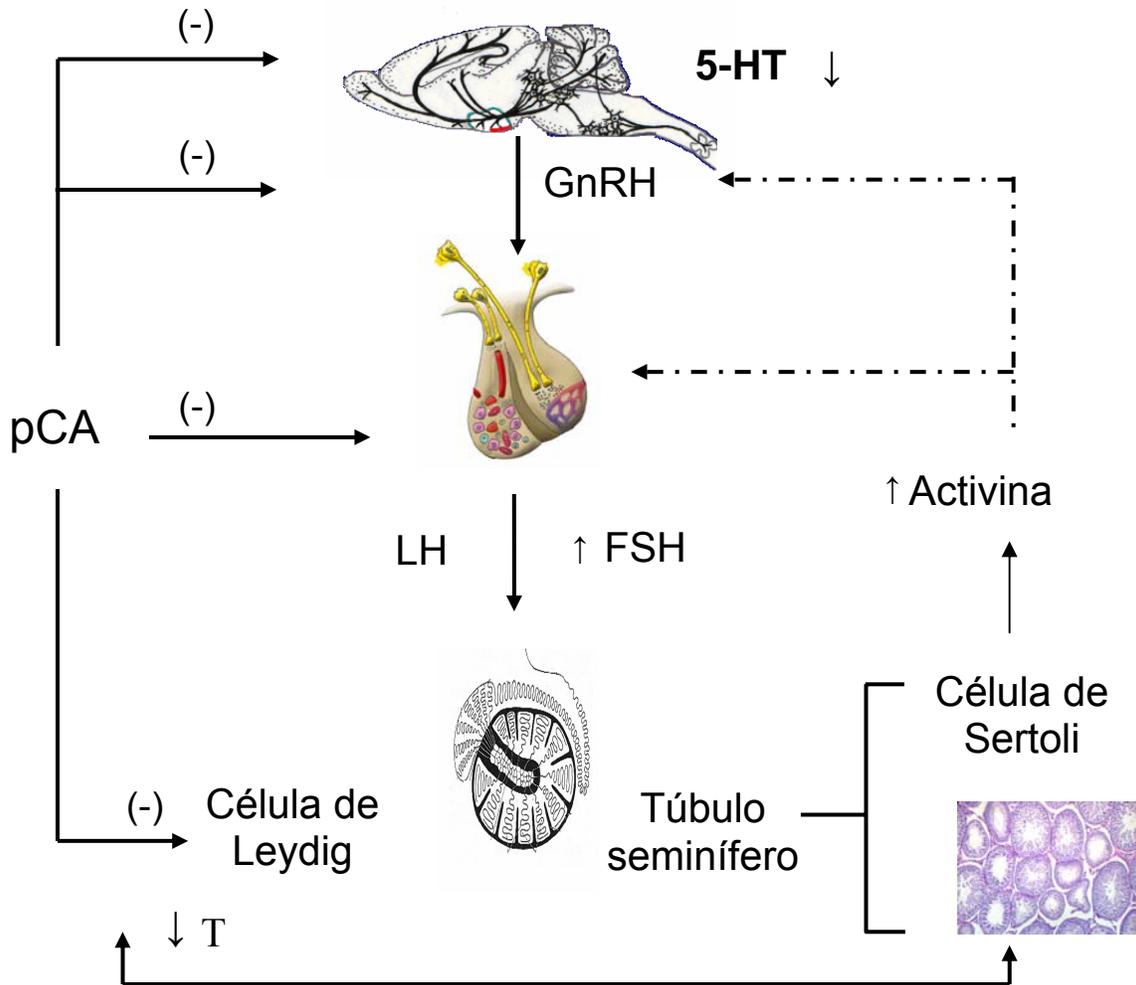
---

se una a su receptor de membrana (Gregory y Kayser, 2004). Con base en nuestros resultados y de otros autores (Syed y col, 1999) es posible pensar que la administración de pCA incrementó la secreción de activina y como consecuencia la de FSH (Figura 17), mientras que cuando se administra el S-5-HT se estimula la secreción de inhibina o folistatina lo que resulto en la menor secreción de FSH (Figura 18).

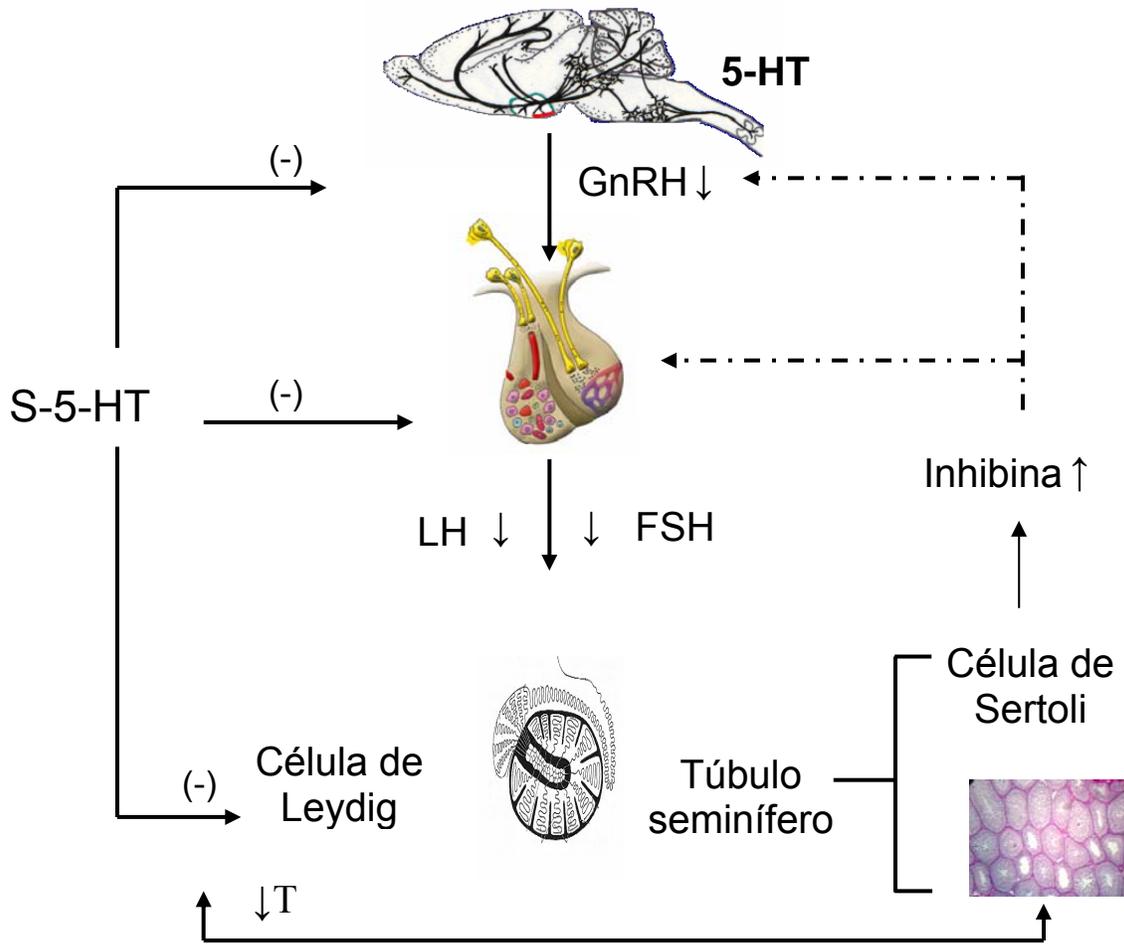
Otra posibilidad es que en el grupo de animales tratados con S-5-HT la menor concentración de testosterona y FSH (factores esenciales de supervivencia) observada alteró la función normal de la célula de Sertoli y por tanto la célula no secretó de manera normal la activina y no se tiene una regulación testicular normal de la secreción de FSH.

Las alteraciones en el epitelio seminífero observadas en los animales que fueron tratados con pCA o S-5HT posiblemente están relacionadas con la menor concentración de testosterona en sangre observada en estos animales. Se ha mostrado que esta hormona es un factor de sobrevivencia de las células germinales y evita su degeneración. Das y col., (1985), mostraron que al inyectar intraventricularmente 5-6 dihidroxitriptamina, un neurotóxico selectivo de las neuronas serotoninérgicas disminuye la secreción de testosterona y esto se acompaña de degeneración de las espermatides. Efecto que es revertido cuando a los animales se les administra gonadotropina coriónica humana (hCG).

Tomados en conjunto, nuestros resultados nos permiten proponer que la serotonina en la rata macho juvenil modula la secreción de gonadotropinas y en particular de manera inhibitoria en la secreción de FSH al día 32, 34, 35 y 36 de edad y que esta amina es necesaria para el mantenimiento de la esteroidogénesis y como consecuencia la estructura del testículo.



**Figura 21. Modificaciones en la comunicación del eje hipotálamo-hipófisis-testículo inducidas por la administración de 10 mg/Kg de p- cloroanfetamina (pCA) a ratas macho de 30 días de edad y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepuberal.**



**Figura 22. Modificaciones en la comunicación del eje hipotálamo-hipófisis-testículo inducidas por la administración de 37.5 mg/Kg de sulfato de serotonina (S-5-HT) a ratas macho de 30 días de edad y sacrificados a diferentes edades del desarrollo prepúberal.**

## CONCLUSIONES

- La serotonina participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del testículo en la rata macho juvenil.
- En la rata macho juvenil de 34 y 35 días de edad el sistema serotoninérgico inhibe la secreción de la FSH, LH y estimula la de LH al día 31.
- La serotonina participa en la modulación de la esteroidogénesis y en el mantenimiento de la estructura del túbulo seminífero, posiblemente al actuar directamente en el testículo en la rata macho juvenil.

---

**BIBLIOGRAFÍA**

- Adams L., Steiner R. (1988). Puberty. *Reviews of Reproductive Biology*, 10: 1-52.
- Aguilar E., Ranchal A., Tena-Sempere M., Pinilla L. (1994). Serotonergic control of prolactin secretion in prepuberal male rats. *European Journal of Endocrinology*, 131: 547-554.
- Amory JK., Bremner W. (2001). Endocrine regulation of testicular function in men: implications for contraceptive development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 182: 175-179.
- Aragón A., Ayala ME., Marín M., Avilés A., Matsumara P., Domínguez R. (2005). Serotonergic system blockage in the prepubertal rat inhibits spermatogenesis development. *Reproduction*, 129: 717-727.
- Au C.L., Robertson D.M., Kretser D.M. (1985). Effects of hypophysectomy and subsequent FSH and testosterone treatment on inhibin production by adult rat testes. *Journal of Endocrinology*, 105: 1-6
- Awoniyi CA., Zirkin BR., Chandrashekar V., Schlaff WD. (1992). Exogenously administered testosterone maintains spermatogenesis quantitatively in adult rats actively immunized against gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology*, 130: 3283-3288.
- Azmitia CE. (2001). Modern views on an ancient chemical: Serotonin effects on cell proliferation, maturation and apoptosis. *Brain Research Bulletin*, 56: 413-424.
- Baker J., Hardy M.P., Zhou J., Bondy C., Lupu F., Belivé A., Efstratiadis A. (1996). Effects of an IGF1 gene null mutation on mouse reproduction. *Molecular Endocrinology*, 10: 903-918.
- Banczerowski P., Csaba Z., Csernus V., Gerendai I. (2000). The effect of callosotomy on testicular steroidogenesis in hemiorchidectomized rats: a pituitary-independent regulatory mechanism. *Brain Research Bulletin*, 53 (2): 227-232.
- Bhasin SM. (1999). Androgens, effect in mammals. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Academy Press, New York 4: 197-205.
- Becú-Villalobos D., Lacau-Mengido IM., Libertun C. (1989). Developmental Changes in FSH secretion induced by 5-hidroxitriptophan, nalaxone and haloperidol in male and female rats. *Developmental Brain Research*, 47: 181-186.
- Bloom-Fawcett (1985). *Tratado de Histología*. Ed McGraw Hill-Panamericana 830-860.

---

Bouchaud C. (1972). Autoradiographic demonstration of an hematoencephalic barrier against 5-hydroxytryptamine. *CR Acad. Sci. Hebd. Seances*, 275 (9): 975-978.

Burns KH., Matzuk MM. (2002). Minireviews: Genetic Models for the study of gonadotropin actions. *Endocrinology*, 143: 2823-2835.

Campos MB., Vitale ML., Calandra RS., Chiochio SR. (1990). Serotonergic innervation of the rat testis. *J. Reproduction and Fertility*, 88: 475-479.

Chandolia RK., Weinbauer GF., Behre HM., Nieschlag E. (1991). Evaluation of peripherally selective antiandrogen (Casodex) as a tool for studying the relationship between testosterone and spermatogenesis in the rat. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*, 38: 367-375.

Champney TH., Matthews RT. (1991). Pineal serotonin is resistant to depletion by serotonergic neurotoxins in rats. *J. Pineal Research*, (3-4): 163-167.

Conn PM., Crowley WF. (1991). Gonadotropin-releasing hormone and its analogs. *N. Engl J Medical*, 324: 93-103.

Costa E., Revuelta A. (1972). (-)-p-Chloroamphetamine and serotonin turnover in rat brain. *Neuropharmacology*, 11: 291-295.

Crowley WR., Zemlan FP. (1981). Neurotransmitter Systems. Anatomy and pharmacology. *Neuroendocrinology of Reproduction*. (ed) N. Adler Physiology and Behavior. Edit. Plenum Press, New York., USA 65-85.

Das TK., Mazumber R., Biswas NM. (1985). Effect of intraventricular injection of 5,6-dihydroxytryptamine on spermatogenesis and plasma testosterone levels in the rat. *J. Endocrinology*, 106: 395-400.

Davis JR. (1992). Comparison of norepinephrine and serotonin vasoconstriction of the rat isolated testicular subcapsular artery at physiological and elevated transmural pressures. *Biology of Reproduction*, 47: 692-697.

Donosso A., Bishop W., Fawcett P., Krulich L., McCann M. (1971). Effects of drugs that modify brain monoamine concentrations on plasma gonadotropin and prolactin levels in the rat. *Endocrinology*, 89: 77-89.

Estrada E., Uribe M. (2002). Atlas de Histología de Vertebrados. McGraw-Hill México UNAM. 46-67.

Frazer A., Hensler JG. (1999). Serotonin. En: Basic neurochemistry, molecular, cellular and medical aspect. GJ Siegel BW. Agranoff, RW. Albers, PB. Mollinoff (edits). Raven Press, New York, USA, 263-292.

---

Frungieri BM., González-Calvar S., Rubio M., Ozu M., Lustig L., Calandra R. (1999). Serotonin in golden hamster testes: testicular levels, immunolocalization and role during sexual development and photoperiodic Regresión-recrudescence transition. *Neuroendocrinology*, 69: 299-308.

Gadea E. (1998). La organización de la vida. Tomado de Nadal J. Vertebrados; Origen, Organización y Diversidad Biológica. Omega- Barcelona 12-15.

Gallegos E. (2003). Participación de la serotonina en el proceso de apoptosis y atresia folicular durante el desarrollo prepuberal de la rata. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza. UNAM.

Ganong WF. (1996). Fisiología Médica. 5ta ed. Edit. Manual Moderno. México D.F. 962-980.

Garattini S., Valzelli L. (1965). Serotonine. Elsevier, Amsterdam (17) 53-64.

Gregory SJ., Kaiser UB. (2004). Regulation of gonadotropins by inhibin and activin. *Semin. Reprod. Med*, 22(3): 253-267.

Hall PF. (1994). Testicular Steroid Synthesis: Organization and Regulation. En: *Physiology of Reproduction*. Raven Press, LTD New York, 1335-1342.

Hirobe S., He WW., Lee MM., Donahoe PK. (1992). Mullerian inhibiting substance mRNA expression in ganulosa and Sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinology*, 131: 854-862.

Igarashi M., McCann SM. (1964). A hypothalamic follicle stimulating hormone releasing factor. *Endocrinology* 74: 446-452.

Jennes L., Stumpt WE., Sheedy ME. (1985). Ultrastructural characterization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) producing neurons. *J. Comp. Neurol*, 232: 534-547.

Jhons MA., Azmitia CE., Krieger DT. (1982). Specific *in Vitro* uptake of serotonin by cells in the anterior pituitary of the rat. *Endocrinology*, 110 (3): 754-760.

Johnson L., McGowen T., Keyllor G. (1999). Testis Overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Academy Press, 769-784.

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

---

Kerdelhue B., Bojna F., Lesieur P., Pasqualini C., El Abad A., Lenoir B., Doviller P., Chiueh MC., Palkovits M. (1989). Median eminence dopamine and serotonin neuronal activity. *Neuroendocrinology*, 49: 176-180.

Kiess W., Gallaher B. (1998). Hormonal control of programmed cell death/apoptosis. *European Journal of Endocrinology*, 138(5): 482-491.

Kiss J., Halasz B. (1985). Demonstration of serotonergic axons terminating on luteinizing hormone-releasing hormone neurons in the preoptic area of the rat using combination of immunocytochemistry and high resolution autoradiography. *Neuroscience*, 14: 69-78.

Kordon C., Drouvas SV., Martines de la Escalera EG., Weiner RI. (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. En: *The Physiology of Reproduction*. E. Knobil Raven Pres, New York, 1621-1681.

Kordon C., Glowinski I. (1972). Role of hypothalamic monoaminergic neurons in the gonadotrophin release-regulating mechanisms. *Neuropharmacology*, 11; 153-162.

Kretser DM., Kerr JB. (1994). Cytology of the testis. En: *The Physiology of Reproduction*. Raven Pres, New York, 1177-1290.

Madhwa Raj HG., Martin D. (1976). The effects of selective withdrawal of FSH or LH on spermatogenesis in the immature rat. *Biology of Reproduction*, 14: 489-494.

Martin J., Engel J., Klein D. (1977). Inhibition of the in Vitro pituitary response to luteinizing hormone-releasing hormone by melatonin, serotonin, and 5-methoxytryptamine. *Endocrinology*, 100 (3): 675-680.

McLachlan RI, O'Donnell L, Meachem SJ, Stanton PG, de K, Pratis K, Robertson DM. (2002). Hormonal regulation of spermatogenesis in primates and man: insights for development of the male hormonal contraceptive. *J. Andrology*, 23(2):149-62.

Moguilevski J., Faigon M., Rubio M., Scacchi P., Szwarcfarb B. (a) (1985). Sexual differences in the effect of serotonin on LH secretion in rats. *Acta Endocrinologica*, 109: 320-325.

Moguilevsky J., Faigon M., Scacchi P., Szwarcfarb B. (b) (1985). Effect of the serotonergic system on luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats. *Neuroendocrinology*, 40: 135-138.

---

Moguilevsky JA., Faigon MR., Scacchi P., Szwarcfarb B. (1987). Role of sexual differentiation of the hypothalamus in the differential effect of the serotonergic system on LH in prepubertal male and female rats. *Neuroendocrinology*, 45(4): 274-277.

Monroy J., Ayala ME., Chavira R., Damián-Matsumura P., Domínguez R. (2003). Comparative effects of injecting 5,6-dihydroxytryptamine in the dorsal or medial raphe nuclei on rat puberty. *Brain Research Bulletin*, 60: 307-315.

Nagy F. (1972). Cell division kinetics and DNA síntesis in the immature Sertoli cells of the rat testis. *J. Reproduction and Fertility*, 28: 389-395.

O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER. (2001). Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev*, 22 (3): 289-318.

Ojeda RS., Urbanski FH. (1994). Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, 363-404.

Padmanabhan V., McNeilly A.S. (2001). Is there an FSH-releasing factor?. *Reproduction*, 121: 21-30.

Paxinos G., Watson C. (1982). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press Australia.

Pilotte NS. Porter JC. (1979). Circulating luteinizing hormone and prolactin concentrations in intact or castrated male rats treated with 5-hydroxytryptamine. *Endocrinology*, 105(4): 875-878.

Piner J., Sutherland M., Millar M., Turner K., Nerwall D y Sharpe R. (2002). Changes in vascular dynamics of the adult rat testis leading to transient accumulation of seminiferous tubule fluid after administration of a novel 5-hydroxytryptamine (5-HT) agonist. *Reproductive Toxicology*, 16: 141-150.

Pinilla L., Ranchal A., Aguilar R., Aguilar E. (1994). Role of the serotonergic system in the control of gonadotropin secretion in prepúberal male rats. *European Journal of Endocrinology*, 130: 617-624.

Ramaley J. (1979). Development of gonadotropin regulation in the prepubertal mammal. *Biology of Reproduction*, 20: 1-31.

Ramirez VD.(1973). Endocrinology of puberty. En: *Handbook of Physiology*. Vol. II sec 7. Astwood (Eds) Washington, USA 1-28.

Robertson DM., Risbridger GP., Hedger M., McLachlan RI. (1993). Growth Factors in the Control of Testicular Function. En: *Molecular Biology of the Male Reproductive System*. De Krester D. (Ed.). Academic Press, Inc. USA. 411-438.

---

Russell LD., Etlin RA, Sinha H., Clegg ED. (1990). Histological and histopathological evaluation of the testis. Cache River Press 41-118.

Ruzsas, C., Limonta P., Martín L. (1982). Role of serotonergic neurones in the control of gonadotrophin and prolactin secretion in the rat. *Journal of Endocrinology*, 94: 83-89.

Sanders –Bush E y Sulser F. (1970). p-Choloamphetamine: *in Vivo* investigations on the mechanism of action of the selective depletion of cerebral serotonin. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 175(2): 419-426.

Sanders –Bush E., Bushing JA., Sulser F. (1972). p-Cloroamphetamine inhibition of cerebral tryptophan hydroxylase. *Biochemical Pharmacology*, 21: 1501-1510.

Schmidt G. T. (1993). *Fisiología Humana*. Interamericana España. 1021-1031.

Selvage D., Rivier C. (2003). Importance of the paraventricular nucleus of the hypothalamus as a component of a neural pathway between the brain and the testes that modulates testosterone secretion independently of the pituitary. *Endocrinology*, 144 (2): 594-598.

Setchel B., Maddocks S., Brooks DE. (1994). Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract. Chapter 18. En: *The Physiology of Reproduction*. E Knobil. Raven Press D. Neill: 1063-1170.

Sharpe RM. (1994). Regulation of spermatogenesis En: *The Physiology of Reproduction* E. Knobil. Raven Press, New York, 1363-1434.

Shishkina GT., Dygalo NN. (2000). Role of the serotonergic system in the acceleration of sexual maturation in wild Norway rats selected for reduced aggressiveness toward humans. *Comparative Biochemistry and physiology part C. Toxicology & Pharmacology*, 125: 45-51.

Silverman AS., Liune I., Witki JW. (1994). The gonadotrophin-releasing –hormone (GnRH) neuronal systems: Immunocytochemistry. En: *The Physiology of Reproduction*. Raven Press, New York, 1683-1710.

Sun YT., Robertson DM., Gonzales G., Risbridger GP., de Kretser DM. (1989). Effect of testosterone on serum immunoreactive inhibin concentrations in intact and hypophysectomized male rats. *J. Reproduction and Fertility*, 87 (2): 795-801.

Syed V., Gomez E., Hecht N. (1999). Messenger ribonucleic acids encoding a serotonin receptor and novel gene are induced in Sertoli cells by a secreted factor(S) from male rat meiotic germ cells. *Endocrinology*, 140: 5754-5760.

---

Tapanainen JS, Tilly J., Vihko K., Hsueh A. (1993). Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: Gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors. *Molecular Endocrinology*, 7: 643-650.

Tinajero JC., Fabbri A., Ciocca DR., Dafau ML. (1993). Serotonin secretion from Rat Leydig cells. *Endocrinology*, 133(6): 3026-3029.

Tresguerres JFA. (1999). *Fisiología Humana*. McGraw-Hill. Madrid España, 1033-1047.

Van de Kar L., Levin J., Van orden I. (1978). Serotonin in hypothalamic nuclei: Increased content alter castration of male rats. *Neuroendocrinology*, 27:186-192.

Van Dissell F., Grootenhuis A.J., Jong F., De Rooij D.G. (1989). Inhibin reduces spermatogonial numbers in testes of adult mice and Chinese hamsters. *Endocrinology* 125: 1899-1903.

Venkataraman S., Jagannadha Rao A. (2004). Evaluation of the role of FSH in regulation of Leydig cell function during different stages of its differentiation. *Molecular and cellular endocrinology* 224: 73-82.

Vitale M., Parisi M., Chiocchio R., Tramezzani J. (1986). Serotonin induces gonadotrophin release trough stimulation of LH-releasing hormone release from the mediam eminence. *J. Endocrinology*, 111: 309-315.

Weiner RR., Ganong WF. (1978). Role of the brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiological Reviews*, 58: 905-976.

Westlund KN., Childs GV. (1982). Localization of serotonin fibers in the rat adenohipophysis. *Endocrinology*, 111(5): 1761-1763.

Wise P.M., Rance N., Barr G.D., Barraclough C. (1979). Further evidence that luteinizing hormone-releasing hormone also is follicle-stimulating hormone-releasing hormone. *Endocrinology*, 104: 940-947.

Wuttke W., Bjorklund A., Baumgarten HG., Lachenmayer L., Fenske M., Klemm HP. (1977). De- and regeneration of brain serotonin neurons following 5,7-dihydroxytryptamine treatment: effects on serum LH, FSH and prolactin levels in male rats. *Brain Research*, 134(2): 317-331.

Yen S., Jaffe R., Barbieri R. (2001). *Endocrinología de la reproducción*. 4ta ed. Edit. Panamericana México, 634-639.