



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE AGONISTAS DE LOS
RECEPTORES A SEROTONINA 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} Y 5-HT_{2C} EN BURSA
DEL OVARIO EN LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA,
TESTOSTERONA Y ESTRADIOL.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

DANIEL BAHENA ALVAREZ

DIRECTORA: Dra. María Elena Ayala Escobar



México, D.F.

Septiembre, 2009



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

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE AGONISTAS DE LOS RECEPTORES A
SEROTONINA 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} Y 5-HT_{2C} EN BURSA DEL OVARIO EN LA
SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA Y ESTRADIOL.

Tesis que para obtener e título de biólogo presenta: Daniel Bahena Alvarez

Directora de tesis: Dra. María Elena Ayala Escobar.

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

Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de
DAGAPA-PAPIIT convenio IN219408.

Agradecimientos:

Especialmente a la Dra. María Elena Ayala Escobar por todo el apoyo y paciencia brindados para la realización de esta tesis

A los miembros del Jurado:

Dra. María Elena Ayala Escobar

Dra. Leticia Morales Ledesma

Dra. Juana Monroy Moreno

Dra. María Esther Cruz Beltrán

M C. Raúl Zavala Chavero.

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

A Jessica, Eloir, Omar, Juanita, Diana, Luis, Julio, Andrea y Maritza, por su apoyo, tiempo y amistad.

Al personal del bioterio de la FES-Zaragoza por su valiosa cooperación en el mantenimiento de los animales

Dedicatorias:

A mi Mamá Virginia Leticia que siempre has estado con migo, que me has enseñado a que debo de avanzar.

A mi Papá Juan Manuel que me has enseñado tantas cosas valiosas para mi vida y que me impulsas para que continúe creciendo.

A mis Hermanos Madelyn Jovana, Emmanuel Leonardo, Leticia Citlali, Juan Esteban, de quienes siempre he aprendido cosas nuevas y se que a pesar de nuestras diferencias en el carácter, siempre estaremos juntos. Gracias hermanos.

A mi BPJ por todo tu cariño, amor y el apoyo que me has brindado y se que siempre estarás con migo, gracias por todo.

A mis abuelos: Francisca, Julio, Oliva y Romulo quienes son parte de mis raíces.

A mis amigos Enrique y Ernesto con quienes he pasado buenos momentos y se que puedo contar con ustedes.

A Eloir, Omar, Juanita, Diana, Luis, Julio, Andrea y Maritza, por compartir su conocimiento, apoyo y tiempo en el laboratorio.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	1
Funciones del ovario	2
Esteroidogénesis	5
Serotonina	8
Serotonina y funciones del ovario	9
Herramientas en el estudio de los receptores a serotonina	13
JUSTIFICACIÓN	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO GENERAL	19
OBJETIVOS PARTICULARES	19
MATERIAL Y MÉTODO	21
Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa del Ovario	21
Administración de sulfato de serotonina	21
Administración de agonistas de los receptores a serotonina en bursa del ovario y sulfato de serotonina por vía sistémica	22
Procedimiento de autopsia	22
Cuantificación de hormonas esteroides	23
Cuantificación de serotonina y catecolaminas	23
Análisis estadístico de los resultados	24

RESULTADOS	26
Administración de agonistas a serotonina en bursa del ovario	26
Administración de Sulfato de Serotonina	30
Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa del Ovario y Sulfato de Serotonina por vía Sistémica	34
DISCUSIÓN.....	44
CONCLUSIONES	51
BIBLIOGRAFÍA	52

RESUMEN

La serotonina actúa en el eje hipotálamo-hipófisis donde modula la secreción de las gonadotropinas y las funciones del ovario (esteroidogénesis y ovulación). Esta amina también se le encuentra en diferentes tejidos del cuerpo entre ellos el ovario, donde posiblemente regula directamente la secreción de esteroides. Con la finalidad de analizar la participación de la serotonina en el proceso de esteroidogénesis del ovario, en el presente trabajo se analizó el efecto de la administración del agonista de los receptores 5-HT_{1A}, (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (8-DPAT) o del agonista de los receptores 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C}, α -metil-serotonina (α -metil) directamente en la bursa del ovario sobre las concentraciones séricas de progesterona, testosterona y estradiol en la rata hembra prepúber.

En comparación con el grupo testigo absoluto, los animales que recibieron la α -metil serotonina o el 8-DPAT en bursa del ovario y que fueron sacrificados a las 24 horas postratamiento, se observó que la concentración de serotonina fue menor (0.25 ± 0.06 vs. 1.12 ± 0.23 ng/mg de tejido, $p < 0.05$), (0.39 ± 0.03 vs. 1.12 ± 0.23 , $p < 0.05$) respectivamente, mientras que la concentración del ácido 5-hidroxi-indolacético (5-HIAA) fue menor únicamente en los animales que recibieron el 8-DPAT y sacrificados 48 horas después del tratamiento (0.12 ± 0.03 vs. 1.12 ± 0.23 ng/mg de tejido, $p < 0.05$). La concentración de progesterona fue menor en los animales que recibieron la α -metil serotonina y sacrificados a las 24 horas (6.01 ± 1.97 vs. 16.45 ± 1.83 ng/ml de suero, $p < 0.05$) y en los que recibieron el 8-DPAT y sacrificados a las 24 ó 48 horas (24 horas: 0.99 ± 0.18 vs. 16.45 ± 1.83 ; 48 horas: 2.98 ± 0.48 vs. 13.34 ± 4.81 , $p < 0.05$). Mientras que, la concentración de estradiol fue mayor en los animales que recibieron el 8-DPAT y sacrificados a las 24 horas (24.2 ± 1.86 vs. 19.1 ± 1.15 ng/ml de suero, $p < 0.05$).

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, en los que se trataron con el sulfato de serotonina por vía sistémica y sacrificados a las 48 horas, la concentración de serotonina en el ovario fue mayor (1.28 ± 0.14 vs. 0.41 ± 0.06 , p

<0.05). La concentración de progesterona fue menor a las 24 horas (9.10 ± 1.54 vs. 16.5 ± 1.83 , $p < 0.05$).

En comparación con el grupo que recibió el sulfato de serotonina por vía sistémica, cuando los animales recibieron el α -metil serotonina en bursa del ovario más sulfato de serotonina por vía sistémica y sacrificados a las 48 horas, se observó la disminución en la concentración de serotonina en el ovario (0.61 ± 0.07 vs. 1.73 ± 0.39 , $p < 0.05$). En aquellos animales que recibieron el 8-DPAT en bursa más sulfato de serotonina por vía sistémica, la concentración de serotonina y del 5-HIAA fue menor a las 48 horas (serotonina: 1.17 ± 0.13 vs. 1.73 ± 0.39 ; 5-HIAA: 0.04 ± 0.008 vs. 0.23 ± 0.050 , $p < 0.05$), así como la concentración de progesterona (3.52 ± 0.86 vs 7.35 ± 2.10 , $p < 0.05$).

Con base en los resultados obtenidos en este estudio es posible sugerir que en la rata hembra prepúber la serotonina del ovario estimula la síntesis de hormonas esteroideas al unirse con sus receptores (5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT_{1A}).

INTRODUCCIÓN

El aparato reproductor de la hembra se localiza en la cavidad pélvica y está constituido por la vagina, el útero, los cuernos uterinos, los oviductos y los ovarios. El ovario es el órgano del aparato reproductor que mediante sus secreciones hormonales mantiene la estructura y el funcionamiento del resto de los componentes del aparato reproductor (Rehm y col., 2007).

En la mujer, Los ovarios tienen una forma ovoide ligeramente aplanada, se encuentran unidos a la cavidad pélvica a través del ligamento suspensorio y se unen al útero por el ligamento ancho del útero, este ligamento se une al ovario por medio de un pliegue del peritoneo llamado mesoovario (Ross y col., 2003, Lesson y col., 1988).

El exterior del ovario está recubierto por una capa simple de células de forma cúbica de tejido conectivo que recubren al ovario, denominada tejido germinal, por debajo del tejido germinal se encuentra la túnica albugínea la cual está formada por tejido conectivo denso. En este órgano se distinguen tres zonas: la externa o corteza que cubre la médula y contiene a los folículos ováricos en las diferentes etapas del desarrollo inmersos en el tejido conectivo; La médula se localiza en el centro del ovario y la conforman el tejido conectivo laxo, vasos sanguíneos y linfáticos (Havelock y col., 2004; Ross y col., 2003). La tercera región es el hilio por el cual los vasos sanguíneos y nervios penetran el ovario (Anesetti y col., 2001).

En los roedores el ovario se encuentra rodeado por una membrana de peritoneo llamada bursa ovárica (Li y col., 2007), La cual está conformada por tres capas; la primera se encuentra próxima al ovario y está constituida de tejido epitelial discontinuo; la segunda capa, o intermedia, es de tejido conectivo la cual contiene fibroblastos, fibras musculares lisas y vasos sanguíneos; la tercer capa es tejido epitelial continuo (Martin y col., 1981). La función de esta membrana es mantener

un microambiente para los ovocitos antes de que estos lleguen al oviducto y pueda ser fecundado (Li y col., 2007).

El ovario está constituido de tres compartimentos: 1) folicular que comprende los folículos ováricos en diferentes etapas del desarrollo; 2) el luteal, que se forma de las células de la granulosa y de la teca de los folículos que han liberado su ovocito y que secreta progesterona; 3) La glándula intersticial que se compone de cuatro tipos de células, intersticiales primarias, tecales, secundarias e hiliares, las cuales se clasifican por su posición en el ovario. Las intersticiales primarias se forman durante los primeros días de desarrollo y desaparecen para formar los diferentes tipos de células intersticiales, las intersticiales tecales derivan de las células de la teca interna y externa del folículo maduro, las células secundarias provienen de folículos atrésicos. La principal función de la glándula intersticial es la secreción de andostrenediona y testosterona. Como respuesta al estímulo de la hormona luteinizante (LH) (figura 1) (Ross y col., 2003; Tresguerres, 1999; Yen y col., 2001).

Funciones del Ovario

En el ovario se lleva acabo la maduración y liberación de ovocitos, y la secreción de hormonas (esteroides y proteicas). Entre las hormonas esteroides se encuentra la progesterona, testosterona y el estradiol (Ross y col., 2003; Havelock y col., 2004); y las proteicas como la inhibina y la activina. En el ovario también se producen aminos, como la serotonina y diferentes factores de crecimiento, como el de crecimiento parecido a la insulina (IGF-I), y el epidermal (EGF) los cuales son secretados por las células de la granulosa (Jeffrey y col., 1991; Sirotkin y col., 1998; Tang y col., 1994).

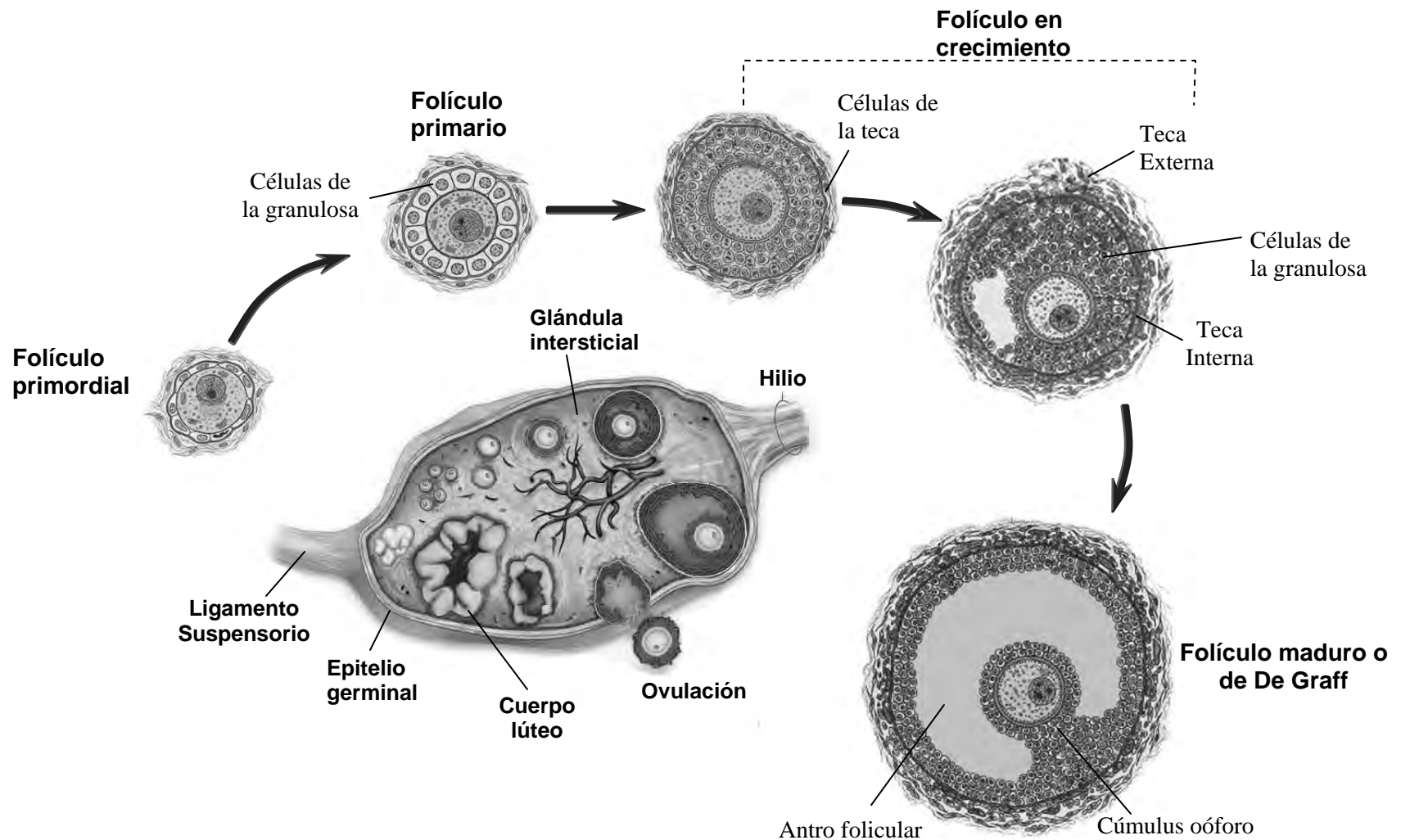


Figura 1. Esquema del ovario donde se muestran los folículos en las diferentes etapas de desarrollo y los componentes del folículo ovárico (modificado de McKinley y O'Loughlin, 2005; Ross, 2003).

El folículo es la unidad anatómica y funcional del ovario, a partir del cual se forma el cuerpo lúteo y la glándula intersticial. El folículo está formado por el ovocito, cuyo tamaño varía entre 20 y 70 μm de diámetro. Rodeando al ovocito se encuentra una o más capas de células de la granulosa. Otro de los componentes del folículo es la membrana basal que aísla a las células de la granulosa de las de la teca, la cual se divide en dos capas, teca interna y teca externa, esta última conformada por células de tejido conectivo, células musculares lisas y haces de fibras colágenas (Ross y col., 2003). En el ovario se encuentran folículos en las diferentes etapas de desarrollo, el folículo primordial, primario, secundario o en crecimiento y el maduro o de Graff (figura 1) (Gore-Langton y Daniels, 1990; Ross y col., 2003).

El desarrollo folicular, comprende diferentes estadios, los folículos primordiales tienen un diámetro de $>30 \mu\text{m}$, esta conformado por el ovocito y por una capa de células foliculares aplanadas que lo rodean, se considera folículo primario cuando el ovocito aumenta su diámetro y se ha formado la zona pélucida que rodea al ovocito, en esta etapa el folículo alcanza un diámetro aproximado de $100 \mu\text{m}$ (Aerts y Bols, 2008); las células de la granulosa continúan dividiéndose y el folículo alcanza un diámetro $\leq 120 \mu\text{m}$ y se constituye el folículo en crecimiento; las células de la granulosa del folículo en crecimiento expresan receptores a la hormona estimulante del folículo (FSH). En esta etapa de desarrollo se diferencia la teca, que forman una cubierta que rodea a las células de la granulosa. En la teca se desarrollan vasos linfáticos y sanguíneos, en esta etapa se expresan los receptores a la LH en las células tecales. Durante la multiplicación de las células de la granulosa se forman cavidades, las que se unen y forman una cavidad única denominada antro y se constituye el folículo preovulatorio o de De Graff. En este folículo, un grupo de células de la granulosa rodean al ovocito y se denominan el complejo cúmulos ooforo (figura. 1) (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Ross y col., 2003).

Esteroidogénesis

Durante el proceso de crecimiento y diferenciación del folículo ovárico este adquiere la capacidad de sintetizar los esteroides sexuales. La secreción de tales hormonas es regulada principalmente por dos gonadotropinas la FSH y la LH, por algunos factores de crecimiento como el EGF, transformante ($TGF\alpha$ y $TGF\beta$) y de crecimiento neural (NGF), así como, por las prostaglandinas, aminos biogénicas y por los propios andrógenos y estrógenos producidos por el ovario (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Havelock y col., 2004; Sirotkin y col., 1998; Tang y col., 1994).

El sustrato químico en la síntesis de las hormonas esteroides es el colesterol el cual puede ser sintetizado en las células de la teca a partir de la acetil CoA o el aportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL) que llegan a la célula por vía sanguínea (Yen y col., 2001). Las LDL ingresan a la célula por endocitosis, formando vacuolas que posteriormente se fusionan con el lisosoma y se produce la hidrólisis del LDL para formar colesterol libre que puede ser reesterificado, se almacena y se transporta a la mitocondria para la síntesis de las hormonas esteroides (Yen y col., 2001, Gore-langton y Armstrong 1994).

Un paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides es la transformación de colesterol a pregnenolona por medio de la enzima citocromo P450, en el ovario esta reacción sucede en la membrana de la mitocondria de las células de la teca, posteriormente la esteroidogénesis puede seguir dos vías: la Δ^5 donde la pregnenolona se transforma a 17OH-pregnenolona por la acción de la enzima 17- α -hidroxilasa (CPY17). Así, la enzima C17-20 liasa (CPY17), convierte a la 17-OH-pregnenolona en dehidroepiandrostenediona la (DHEA) que por acción de la HSD3B2 se transforma a androstenediona y esta a su vez se convierte a testosterona. En la vía Δ^4 la pregnelolona se forma la progesterona en donde la enzima 17- α -hidroxilasa (CPY17) cataliza la biotransformación de la progesterona a 17 α -hidroxi-progesterona y posteriormente a androstenediona y esta a testosterona,

la cual por difusión pasa a las células de la granulosa para ser aromatizada a estradiol (figura 2) (Gore-langton y Armstrong 1994).

En la síntesis de los estrógenos por parte del ovario participan dos tipos de células del folículo. Las células de la teca y de la granulosa, en donde actúan las gonadotropinas, LH y FSH respectivamente (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Havelock y col., 2004).

La LH al unirse a sus receptores de membrana en las células de la teca, activa las proteínas G, y a la enzima adenilato ciclasa, que a su vez estimula la formación de la molécula de adenosin monofosfato cíclico (AMPc), a partir del trifosfato de adenosina. El AMPc funciona como segundo mensajero y desencadena la cascada de reacciones que involucra la formación de la pregnenolona y su transformación a testosterona (Havelock y col., 2004; Murray y col., 2000). La FSH se une a sus receptores de membrana y desencadena la cascada de reacciones que culmina con la síntesis de la aromatasa que transforman los andrógenos a estrógenos, los que se liberan a la circulación general o actúan en las células de la granulosa y estimulan su multiplicación (Findlay y col., 2000).

Las hormonas esteroides, como la progesterona y el estradiol, mediante mecanismos de retroalimentación regulan el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis. En el hipotálamo modulan la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH). Esta hormona es un decapeptido producido por neuronas denominadas GnRHérgicas que se localizan en los núcleos preóptico medial, anterior y arcuato, así como en el septo y la estría terminal. Las terminales de estas neuronas se proyectan a la eminencia media en donde se localizan capilares que constituyen el sistema portal (Prieto-Gómez y Velásquez, 2002; Smith y Jennes, 2001). En la hipófisis la GnRH se une a sus receptores de membrana en los gonadotropos donde estimula la secreción de la FSH y LH (Yen y col., 2001).

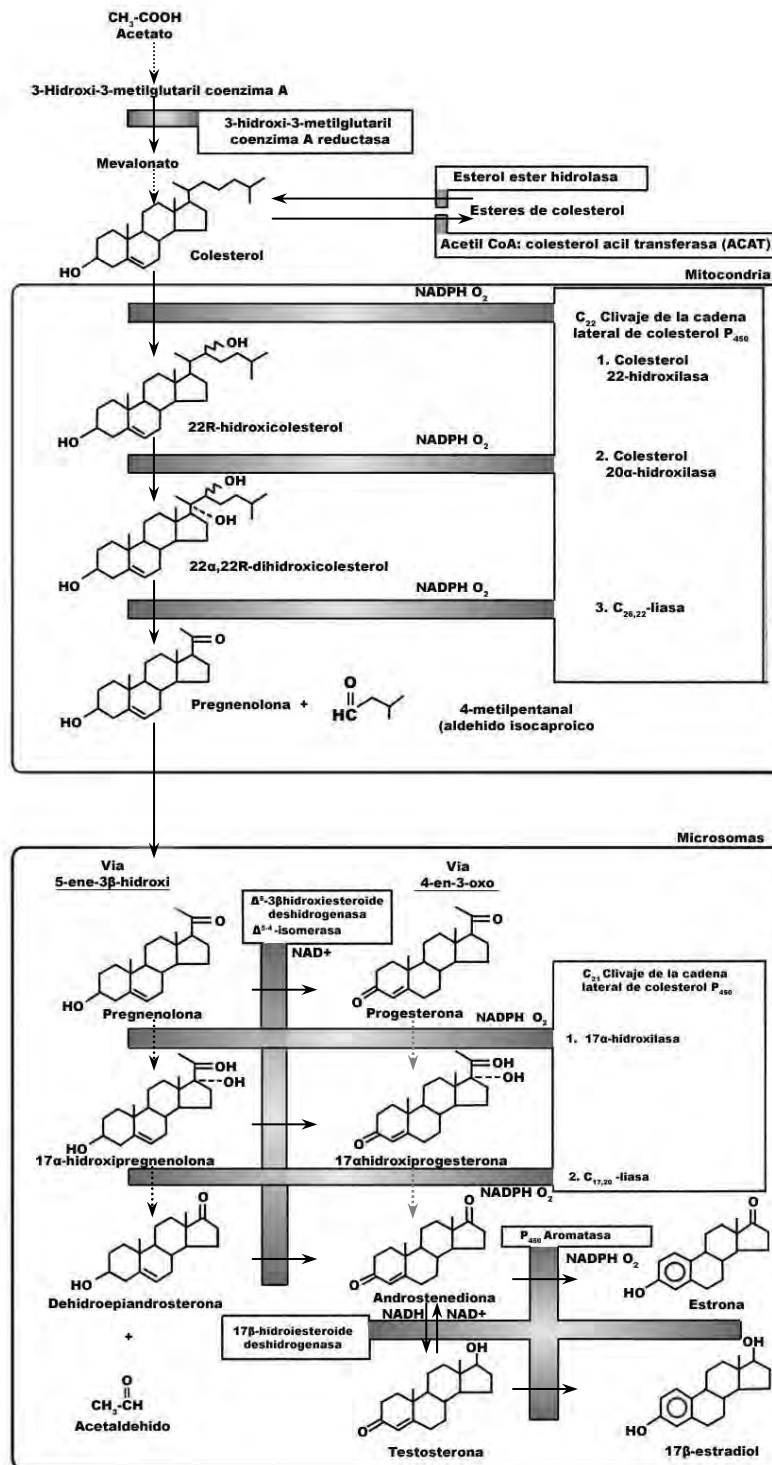


Figura 2. Biosíntesis de las hormonas esteroideas en el ovario. NAD⁺, Nicotinamida adenina dinucleotido forma oxidada; NADH, nicotinamida adenina dinucleotido forma reducida; NADPH, Nicotinamida-Adenina Dinucleotido fosfato. Vía Δ⁵:> 5-ene-3β-hidroxil; vía Δ⁴:> 4-en-3-oxo (modificado de Gore-Lantong y Armstrong (1994)).

En la síntesis y liberación de la GnRH, además de las hormonas esteroides intervienen también los neurotransmisores como: noradrenalina, serotonina, ácido γ -aminobutírico y aminoácidos como el glutamato, aspartato, y péptidos como los opioides, hormona liberadora de la corticotropina (CRH), vasopresina, neuropeptido Y (NPY), sustancia P (SP), péptidos intestinal vaso activo (VIP) (Brüssow y col., 2001; Smith y Jennes, 2001; Vitale y Chiocchio, 1993).

Serotonina

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) fue identificada en 1948, es una amina biogénica, cuya su estructura química es un anillo indólico y una cadena lateral etilamino. En un principio esta amina fue identificada en las plaquetas; posteriormente fue aislada y purificada del suero de la sangre de vaca. En 1952 fue detectada en el aparato digestivo y en el sistema nervioso central (Rang y col., 2004; Flórez y col., 2004).

La serotonina se encuentra en tejidos y órganos periféricos en las células cromafines de la glándula adrenal, en la pared del intestino delgado, el estomago, y en las células nerviosas del plexo mientérico. También se ha identificado en las plaquetas, en donde la amina se acumula y es liberada en respuesta a una lesión tisular. Se le encuentra en diferentes regiones del sistema nervioso central en donde actúa como neurotransmisor (Rang y col., 2004).

Se sugiere que en los tejidos periféricos, la serotonina actúa en la regulación del tono muscular, en la contracción y relajación del músculo cardiaco, la motilidad intestinal, en la proliferación de diferentes tipos celulares como los fibroblastos o linfocitos, la diferenciación de osteoblastos, la regeneración del hígado, en el desarrollo de la glándula mamaria y la secreción de hormonas esteroides por las gónadas (Dubé y Amireault, 2007).

La síntesis de serotonina se inicia a partir del aminoácido L-triptofano proveniente de la dieta, tras su ingestión este es absorbido por las células cromafines, enterocromafines y neuronas serotoninérgicas donde se oxida y transforma en 5-hidroxitriptofano (5-HTP) por acción de la enzima triptofano hidroxilasa, posteriormente el 5-HTP es descarboxilado y se convierte en serotonina (figura 3). Esta amina que se almacena en vesículas es liberada por exocitosis a la hendidura sináptica y se une a sus receptores posinápticos. La serotonina que no se une a sus receptores, es recapturada por la terminal serotoninérgica y se transforma en un metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), por la acción de la mono amino oxidasa (MAO) (Flórez y col., 2004).

Se han identificado 7 clases y 14 subtipos de receptores a serotonina. Todas los receptores están acoplados a proteínas G, con excepción del receptor 5-HT₃ el cual se asocia a canales iónicos (Dubé y Amireault, 2007).

Serotonina y Funciones del Ovario

La serotonina participa en la modulación de las funciones del ovario de manera indirecta, al regular la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas (Vitale y Chiochio, 1993; Kordon y col., 1994). Así mismo, existen evidencias que indican que esta amina actúa directamente en el ovario (Clausell y Soliman, 1978; Gallegos, 2007; O'steen, 1964).

En estudios con animales se ha mostrado que la serotonina estimula o inhibe la liberación de la GnRH. Esta dualidad de la participación de la serotonina en la regulación de la secreción de las gonadotropinas se asocia a la expresión de los subtipos de receptores a serotonina que se expresan en el hipotálamo o al medio ambiente hormonal del animal en el momento del estudio (Moguilevsky y Wuttke, 2001; Hery y col., 1997; Siddiqui y col., 2004).

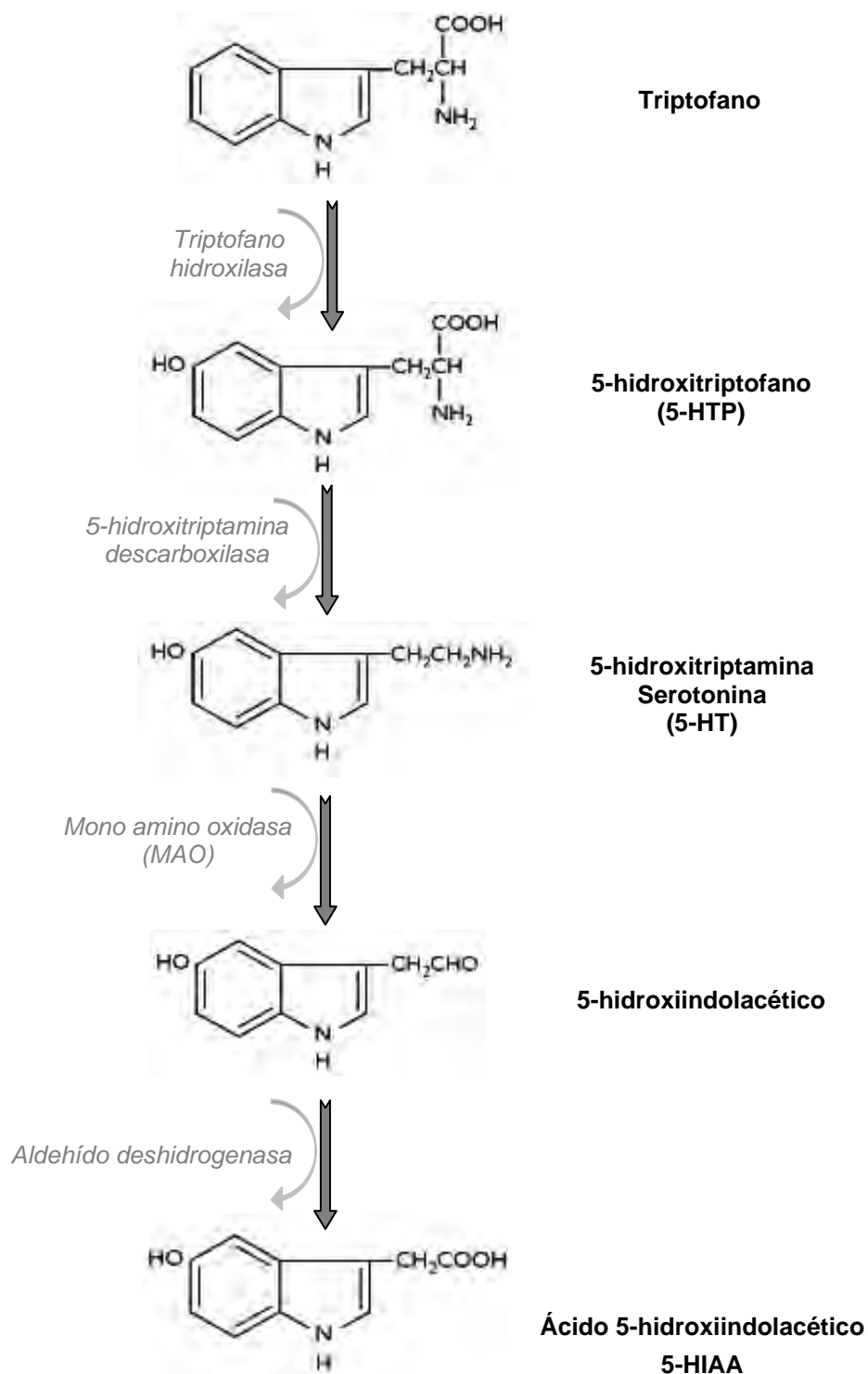


Figura 3. Biosíntesis y metabolismo de la serotonina (5-hidroxitriptamina) (modificado de Nussey 2001).

Existen resultados que apoyan la idea de que la serotonina en el sistema nervioso central es esencial en la modulación de las funciones del ovario. La lesión térmica o química del núcleo dorsal del rafe, en ratas de 30 días de edad, bloquea la primera ovulación y disminuye la concentración de serotonina en el hipotálamo y en el ovario incrementa la incidencia de atresia en los folículos (Ayala y col., 1994; Monroy y col., 2003). Con base en estos resultados se sugiere que la inervación serotoninérgica que recibe el hipotálamo es esencial para que se lleve a cabo la ovulación. Sin embargo, hasta el presente existen pocos estudios que analizan la acción de la serotonina directamente en la regulación de las funciones del ovario.

Además de la presencia de serotonina y de sus receptores en el sistema nervioso, se ha identificado en algunos componentes del aparato reproductor de la hembra, como en el ovario, oviducto, útero y cerviz de la rata (Amenta y col., 1992). La posibilidad que la serotonina actúe directamente en el ovario modulando su funcionamiento, se apoya en el hecho de que, en este órgano existe serotonina, que se origina de los mastocitos y las plaquetas o de la síntesis *de novo* (Levier y Spaziani, 1966; Amenta y col., 1992; Gaytan y col., 1991). Por estudios de inmunohistoquímica se ha mostrado que en la arteria ovárica existen fibras nerviosas inmunoreactivas para serotonina (Amenta y col., 1992). Se ha identificado a la MAO, enzima que metaboliza a la serotonina, en la glándula intersticial, en el cuerpo lúteo y en los vasos sanguíneos que irrigan al ovario (Yoshimoto y col., 1986). En el ratón, se ha identificado en las células de las granulosa que rodean al ovocito en el folículo en crecimiento triptofano hidroxilasa (enzima que participa en la síntesis de serotonina), así como el receptor 5-HT_{2A} (Amireault y Dubé, 2005 a y b). En el líquido folicular de la mujer también se encuentra la serotonina (Bodis y col., 1992).

En el ovario de la rata adulta la concentración de esta amina varía a lo largo del ciclo estral. Es en el día del estro cuando se observa la mayor concentración de serotonina (Clausell y Soliman, 1978). Esta amina induce la contracción de la pared del folículo, lo cual ayuda a la expulsión del ovocito (Espey y col., 1989). Con base

en estos resultados se sugiere que la serotonina participa en la regulación de la ovulación. Schmidt y colaboradores (1988), mostraron que al profundir el ovario de ratas inmaduras con serotonina, se presenta la reacción inflamatoria que precede a la ruptura del folículo. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que este neurotransmisor al igual que la LH y la histamina aumentan el flujo sanguíneo del folículo y como consecuencia contribuye de manera directa al mecanismo de ovulación.

Con base en estudios farmacológicos se sugiere que en el ovario de la rata se expresen los receptores a serotonina del tipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₇ (Amireault y Dubé, 2005b; Battista y Condon, 1986; Krishna y Terranova, 1985; Tanaka y col., 1993). Lo que llevo a proponer que la serotonina participa en la regulación de las funciones del ovario, como la esteroidogénesis (Battista y Condon, 1986; Krishna y Terranova, 1985).

Cuando a ratas hembras adultas se les administra por vía oral la ketanserina, bloqueador de los receptores 5-HT_{2A}, disminuye la concentración de estradiol en el suero (Tanaka y col., 1993). Cuando a ratas hembras de 30 días de edad se les administra diariamente el sulfato de serotonina, por vía sistémica y se sacrifican en el día del primer estro vaginal (día 38), disminuye la producción de estradiol (Moran y col., 2001). Estos resultados llevaron a los autores a concluir que la serotonina ejerce un efecto estimulante o inhibitorio en la secreción de estradiol. Cuando se le adición metisergide, bloqueador de los receptores 5-HT_{1A} y 5-HT_{2C} a células de cuerpo lúteo mantenidas in vitro, se incrementa la producción de progesterona (Battista y Condon, 1985). Estos resultados llevaron a los autores a concluir que la serotonina inhibe la producción de progesterona. Estas evidencias controversiales posiblemente son el resultado de que se trabaja con modelos diferentes o que se están expresando diferentes tipos de receptores a serotonina.

Herramientas en el estudio de los receptores a serotonina

Entre las herramientas que se han diseñado para el estudio de los diferentes sistemas de neurotransmisión, así como la interacción de estos con sus respectivos receptores, se utilizan a los agonistas o antagonistas.

Se define el agonista como la sustancia que se une al receptor en la célula, lo activa e induce una respuesta biológica semejante al neurotransmisor endógeno. Este frecuentemente imita la acción de la sustancia endógena e induce una respuesta similar a la hormona o neurotransmisor que interactúa naturalmente con el receptor (Lüllman y Mohr, 2006). También se considera como agonista a aquella sustancia que al ser captada por la célula incrementa la concentración del neurotransmisor o su acción (Velasco y col., 2003). Cuando un agonista tiene una alta afinidad por un tipo o subclase de receptor se considera que es un agonista selectivo, mientras que el no selectivo tiene la capacidad de unirse a más de un tipo de receptor (Hoyer y col., 1994).

En el sistema nervioso central se ha mostrado que la administración de agonistas o antagonistas a los receptores a serotonina es una estrategia experimental que ha permitido avanzar en el conocimiento de la función que cumple la serotonina en el encéfalo (cuadro1).

El sulfato de serotonina es un agonista del sistema serotoninérgico que se une a todos los receptores a serotonina (Ismail, 1990, Amireault y Dúbe, 2005). Se ha empleado en el análisis del catabolismo de la serotonina en el sistema nervioso (Squires, 2007). Tiene la misma estructura que la serotonina, con excepción de que en su estructura se encuentra unido un grupo sulfato (cuadro. 2). El α -metil serotonina es un agonista no selectivo; debido a que a diferencia de la estructura de la serotonina en la cadena lateral etilamino; tiene acoplado un grupo metil. El grupo metil provoca, que tenga una mayor afinidad por los receptores 5-HT₂ (Ismail, 1990), por lo que es utilizado en el estudio de aspectos fisiológicos en los que la

serotonina interactúa con los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} (cuadro 2) (Campos-Bedolla, 2006; Ismaiel, 1990) (cuadro 2).

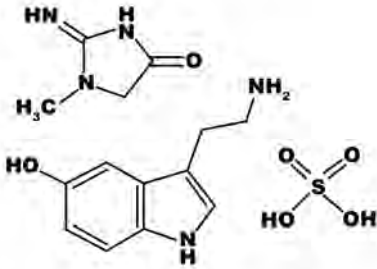
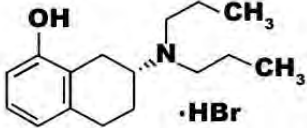
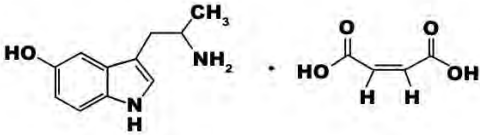
Otro agonista de la serotonina es el (R)-(+)-8-Hidroxi-DPAT hidrobromide (8-DPAT), este fármaco no tiene una estructura similar a la serotonina, sin embargo es considerado como un agonistas selectivo del receptor 5-HT_{1A}, algunos autores consideran que también tiene afinidad por el receptor 5-HT₇, este fármaco es utilizado como una herramienta farmacológica principalmente en el estudio del funcionamiento de la serotonina en el sistema nervioso central (Crane y col., 2007; Yoshitake y Kehr, 2004) (cuadro 2).

Cuadro 1. Subtipos de receptores a serotonina, y fármacos agonistas y antagonistas específicos para cada uno de estos (Modificado de Hoyer, 1994, 2002).

Clase	Subclase	Agonistas	Antagonistas
5-HT₁	5-HT _{1A}	(R)-(+)-8-Hidroxi-DPAT hidrobromide	(±)WAY 00635
	5-HT _{1B}	Sumatriptan L 694247	GR 55562 SB 224289 SB 236057
	5-HT _{1D}	Sumatriptan PNU 109291	BRL 15572
	5-HT _{1E}	-----	-----
	5-HT _{1F}	LY 334370	-----
5-HT₂	5-HT _{2A}	DOI α-Metil serotonina	Ketanserina MDL 100907
	5-HT _{2B}	BW 723C86 α-Metil serotonina	SB 200646 SB 204741
	5-HT _{2C}	Ro 600175 α-Metil serotonina	Mesulergine SB 242084
5-HT₃	5-HT ₃	m-chlorophenil-biguanidin	Granisetron Ondansetron
5-HT₄	5-HT ₄	BIMU RS 67506	GR 113808 SB 204070
5-HT₅	5-HT _{5A}	-----	-----
	5-HT _{5B}	-----	-----
5-HT₆	-----	-----	Ro 630563 SB 271046
5-HT₇	-----	-----	SB 258719 SB 269970
Todos los receptores a serotonina		Sulfato de serotonina	-----

--- no existe agonista o antagonista específico

Cuadro 2. Nombre, formula química y tipo de receptor con el que interactúan algunos agonistas serotoninérgicos

Nombre del fármaco	Fórmula	Acción	Receptores
Creatinina sulfato de serotonina (5-HT)		Agonista	Todos los receptores 5-HT
(R)-(+)-8-Hidroxi-DPAT hidrobromide (8-DPAT)		Agonista	5-HT _{1A} 5-HT ₇
A-Metil serotonina maleato (α-Metil)		Agonista	5-HT _{2A} 5-HT _{2C}

JUSTIFICACIÓN

En la regulación de las funciones del ovario participan las gonadotropinas, las propias hormonas esteroides, y los factores de crecimiento entre otros. Se sugiere que las aminos, como la serotonina estén implicadas en la regulación de las funciones del ovario (ovulación y esteroidogénesis). Hasta el momento la información sobre la función de la serotonina en la esteroidogénesis es contradictoria. Para dilucidar la participación de la serotonina en la esteroidogénesis ovárica se utilizó el modelo de la rata prepúber, en la cual se administró en la bursa del ovario el agonista de los receptores 5-HT_{1A} [(R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (8-DPAT)] o de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} [α -metil serotonina (α -metil),] en las concentraciones séricas de progesterona, testosterona y estradiol. Así mismo, con la finalidad de analizar si los agonistas antes mencionados son selectivos para el sistema serotoninérgico y no modifican las catecolaminas, que se encuentran en el ovario y participan en la regulación de la esteroidogénesis, se cuantificó en este órgano la concentración de NA, DA y sus respectivos metabolitos, MHPG y DOPAC por la técnica de cromatografía de líquidos.

Con el propósito de analizar si los efectos en la concentración de hormonas esteroides son el resultado de la presencia de más receptores a serotonina en el ovario, se decidió administrar los agonistas en bursa del ovario 8-DPAT o α -metil, más el sulfato de serotonina vía sistémica.

HIPÓTESIS

Si en la rata hembra prepúber la serotonina tiene un efecto inhibitorio en la secreción de hormonas esteroides por el ovario, entonces la administración de agonistas de los receptores 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, modificará la secreción de progesterona, testosterona y estradiol.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar en la rata hembra prepúber los efectos de la estimulación de los receptores a serotonina 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} en el ovario, sobre la secreción de progesterona, testosterona y estradiol. Así como, correlacionar los resultados con en el sistema serotoninérgico, dopaminérgico y noradrenérgico del ovario.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Evaluar los efectos de la administración de α -metil serotonina (agonista de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (agonista de los receptores 5-HT_{1A}) en la bursa del ovario, sobre la concentración de serotonina y del 5-HIAA en el ovario.
2. Evaluar los efectos de la administración de α -metil serotonina (agonista de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (agonista de los receptores 5-HT_{1A}) en la bursa del ovario, sobre la concentración de noradrenalina, dopamina y sus metabolitos (MHPG y DOPAC).
3. Evaluar los efectos de la administración de α -metil serotonina (agonista de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (agonista de los receptores 5-HT_{1A}) en la bursa del ovario, en la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero.
4. Analizar los efectos de la administración de sulfato de serotonina por vía sistémica en la concentración de serotonina en el ovario.
5. Analizar los efectos de la administración de sulfato de serotonina por vía sistémica en la concentración progesterona, testosterona y estradiol en el suero.

6. Evaluar los efectos de la administración de α -metil serotonina (agonista de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (agonista de los receptores 5-HT_{1A}) en bursa del ovario más sulfato de serotonina por vía sistémica en la concentración de serotonina en el ovario.

7. Evaluar los efectos de la administración de α -metil serotonina (agonista de los receptores 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) (agonista de los receptores 5-HT_{1A}) en bursa del ovario más sulfato de serotonina por vía sistémica en la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero.

MATERIAL Y MÉTODO

En el presente estudio se emplearon ratas hembras de 30 días de edad de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (14 hrs. luz/10 hrs. oscuridad) y con libre acceso de las crías a la madre hasta los 21 días de edad (destete), así como al agua y alimento hasta el día de sacrificio. Los animales se dividieron al azar en los siguientes grupos experimentales:

1.-Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa del Ovario

Entre las 9:00 y 11:00 horas animales de 30 días fueron anestesiados con éter, se realizó una incisión de piel y músculo en la región ventral a la altura del abdomen. Se localizaron los ovarios y en la bursa se realizó la inyección de 0.1mg/40µl por ovario de la α -metil serotonina (Sigma Chemical, ST Louis, USA) disuelto en solución salina al 0.9% o de 0.1mg/40µl por ovario de 8-DPAT (Sigma Chemical, ST Louis, USA) disuelto en ácido ascórbico al 0.01%. Después de realizar la inyección del fármaco, la jeringa se mantuvo en esa posición por un lapso de 1 minuto para que la solución del fármaco se difundiera homogéneamente en el ovario. Posteriormente se retiró la jeringa. Este procedimiento se realizó en ambos ovarios. Concluida la microinyección, estos fueron devueltos a la cavidad abdominal y se suturó músculo y piel. Como grupo de comparación se utilizaron ratas de 31 ó 32 días de edad, las cuales se denominaron testigo absoluto (TA).

2.-Administración de Sulfato de Serotonina

A ratas de 30 días de edad se les administró por vía subcutánea, sulfato de serotonina (Sigma Chemical, ST Louis, USA) en una dosis 37.5 mg/kg de p.c. disuelta en solución salina al 0.9%. La dosis y vía de administración del fármaco ya ha sido previamente utilizada por nuestro grupo de trabajo (Gallegos, 2007).

3.-Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa del Ovario y Sulfato de Serotonina por vía Sistémica.

El sulfato de serotonina es un agonista de todos los receptores a serotonina 5-HT, con la finalidad de activar los diferentes subtipos de receptores presentes en el ovario, se procedió a realizar la inyección de α -metil serotonina o 8-DPAT en la bursa del ovario, en la dosis y forma arriba mencionada. Una hora después los animales se inyectaron con sulfato de serotonina por vía subcutánea en una dosis de 37.5mg/Kg de p.c. Como grupos de comparación se utilizaron los animales que recibieron sulfato de serotonina por vía sistémica a los 30 días de edad o aquellos que no recibieron ningún tratamiento, grupo TA.

Procedimiento de Autopsia

Animales de los diferentes grupos experimentales (testigo absoluto, sulfato de serotonina, α -metil serotonina, α -metil serotonina más sulfato de serotonina, 8-DPAT, 8-DPAT más sulfato de serotonina) se sacrificaron por decapitación a las 24 ó 48 horas posteriores al tratamiento. Se colectó la sangre del tronco, se dejó coagular por 20 minutos, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm. durante 15 min., el suero se separó y se almacenó a -20°C para la posterior cuantificación de progesterona, testosterona y 17β -estradiol por radioinmunoanálisis.

En el momento de la autopsia se disecaron los ovarios de los animales de los diferentes grupos experimentales, se almacenaron a -70 grados para cuantificar la concentración de serotonina y su metabolito el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), noradrenalina (NA), ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglico (MHPG), dopamina (DA) y del ácido 3, 4-dihidroxifenilacético (DOPAC), por medio de la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

Cuantificación de Hormonas Esteroides

Las concentraciones de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y estradiol) se cuantificaron por la técnica de radioinmunoanálisis de fase sólida; para cada hormona se utilizó un kit Coat-A-count (diagnostic products, los Angeles, CA, USA); la concentración de testosterona y 17β -estradiol se expresó en pg/ml y las concentraciones de progesterona en ng/ml. Los coeficientes de variación intraensayo e interensayo fueron, 4.3 y 7.8% para progesterona, 8.1 y 4.1% para testosterona y 7.2 y 8.5% para el 17β -estradiol. La sensibilidad del método y las concentraciones de la curva patrón se presentan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Sensibilidad del método de radioinmunoanálisis para la cuantificación de progesterona, testosterona y estradiol en el suero y las concentraciones de sus respectivas curvas patrón.

Concentración	Progesterona ng/ml de suero	Testosterona pg/ml de suero	Estradiol pg/ml de suero
Sensibilidad del método	0.02 ng/ml	0.85 pg/ml	8 pg/ml
Curva patrón			
A	0	0	0
B	0.1	200	20
C	0.5	500	50
D	2	1000	150
E	10	4000	500
F	20	8000	1800
G	40	16000	3800

Cuantificación de serotonina y catecolaminas

Los ovarios que fueron almacenados a -70°C , se pesaron y se homogenizaron en 300 μl de ácido perclórico (HClO_4) al 0.1 N, se centrifugaron a 12,500 rpm, a 4°C durante 30 minutos; el sobrenadante se filtró a través de filtros de celulosa regenerada de tamaño de poro 0.2 μm ; se inyectaron 20 μl deo filtrado al sistema de cromatografía.

El equipo de HPLC consistió en una bomba isocrática (modelo L-250, Perkin Elmer), una válvula de inyección (Reodine modelo 7125 con capacidad de 20 μ l), una precolumna de sílica (3.5cm. x 4.6mm) y una columna C18 de fase reversa (25cm X 4.6mm) conectado a un detector electroquímico amperométrico LC-4C (Bioanalytical System Inc. USA) acoplado a un inyector Nelson 1020 (Perkin Elmer) (figura 4.). La concentración de los neurotransmisores se expresó en ng/mg de tejido.

La serotonina, 5-HIAA, NA, MHPG, DA y DOPAC se cuantificaron en los ovarios de los animales de los diferentes grupos experimentales por el sistema de HPLC. El equipo de HPLC identificó automáticamente la serotonina, 5-HIAA, NA, MHPG, DA, DOPAC al comparar el tiempo de retención de un estándar, y realizó el cálculo de su concentración, al comparar el área debajo de la curva de las muestras problema, con el área de las muestras estándar.

Análisis Estadístico de Resultados

Las concentraciones de serotonina, 5-HIAA, NA, MHPG, DA, DOPAC en el ovario, así como la concentración de, progesterona, testosterona y 17β -estradiol e el suero, se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (MANOVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando se realizó la comparación de dos grupos, los resultados se analizaron con la prueba de "t" de Student. Las diferencias solo fueron consideradas significativas cuando la probabilidad fue igual o menor al 0.05.

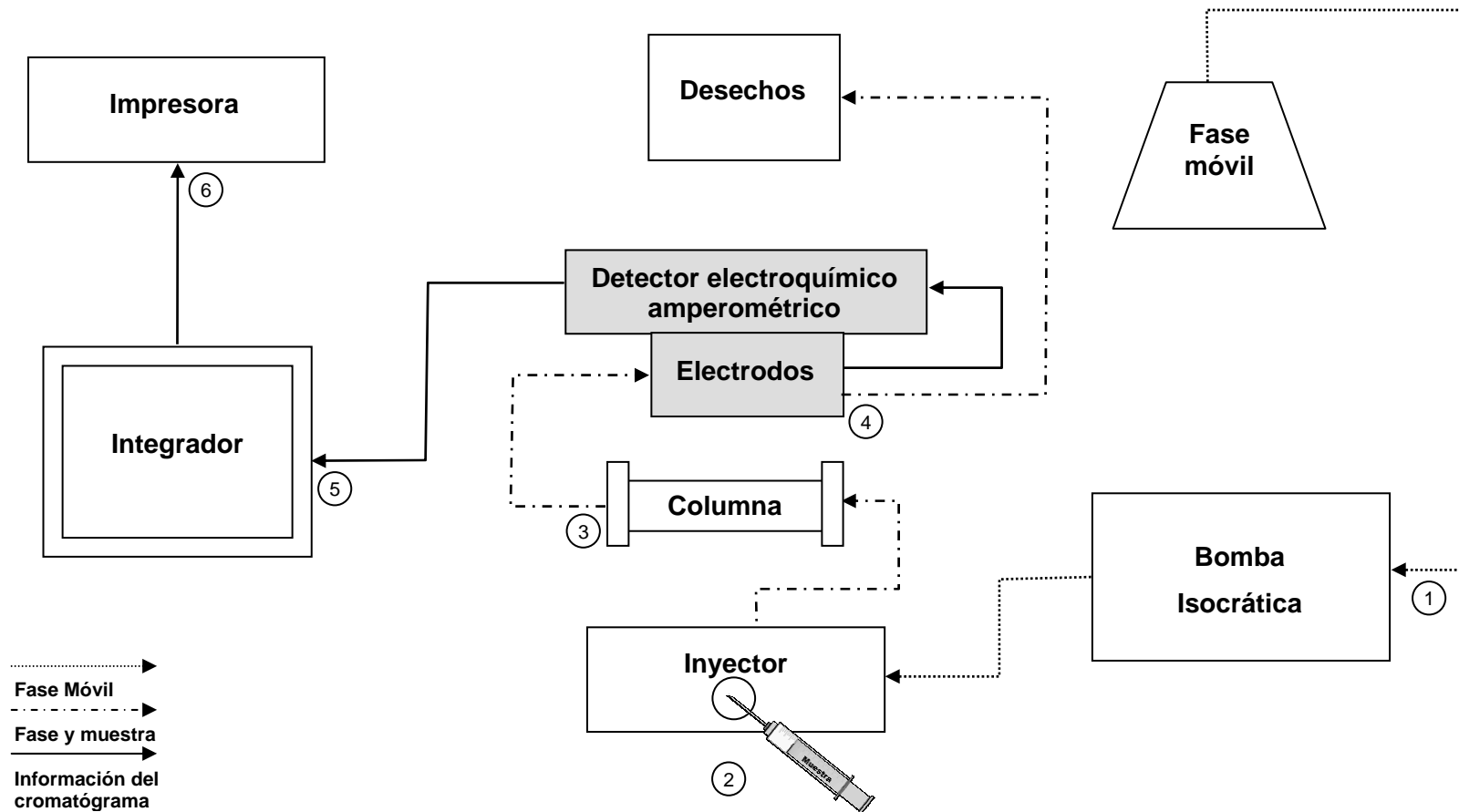


Figura 4. Diagrama de flujo en el que se representan los diferentes componentes del equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). 1. La fase móvil es bombeada por la bomba isocrática para la separación de los componentes de la muestra a cuantificar por HPLC; 2. Inyección en el equipo de la muestra a cuantificar; 3. Transporte de la muestra a cuantificar junto con la fase móvil a la columna de cromatografía para la separación de los componentes de la muestra; 4. Paso de los componentes de la muestra problema por el detector para su oxidación o reducción en los electrodos; 5. El integrador interpreta los cambios de voltaje que se generan de la oxidación o reducción de los componentes de la muestra; 6. Impresión de los resultados (neurotransmisores cuantificados).

RESULTADOS

1.-Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa del Ovario

En el cuadro 4 se presenta la concentración de NA y de su metabolito en el ovario de los animales que recibieron los agonistas a serotonina, en el que se observa que la concentración de NA únicamente disminuyó en los ovarios de los animales que se inyectaron con la α -metil serotonina y se sacrificaron a las 48 horas en comparación con el grupo testigo absoluto. En los tratados con el 8-DPAT no se modificó la concentración de esta amina en ninguno de los periodos estudiados. La concentración de MHPG disminuyó en los animales tratados con α -metil serotonina y sacrificados 24 horas después del tratamiento, y en los que recibieron el 8-DPAT se observó un comportamiento inverso.

En los animales TA y en los tratados con α -metil serotonina y sacrificados a las 24 horas, la concentración de DA estuvo por debajo de la sensibilidad del método (0.001 ng/ mg de tejido). La concentración de DOPAC no se modificó en ninguno de los tratamientos en comparación con el grupo TA (cuadro 4).

En la figura 5 se muestra que la concentración de serotonina disminuyó en el ovario de los animales tratados con α -metil serotonina o 8-DPAT y sacrificados a las 24 horas postratamiento, en comparación con el grupo testigo absoluto; no se presentaron cambios a las 48 horas.

Cuadro 4. Media \pm e.e.m. de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA), ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglico (MHPG), dopamina (DA) y del ácido 3, 4-dihidroxifenilacético (DOPAC) en los ovarios de ratas testigo absoluto (TA), tratadas con α -metil serotonina (α -metil) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (8-DPAT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas postratamiento.

	Grupo	N	NA	MHPG	DA	DOPAC
24 horas	TA	16	0.25 \pm 0.03	0.53 \pm 0.06	<0.001	0.16 \pm 0.01
	α -metil	10	0.26 \pm 0.15	0.34 \pm 0.06 ^a	<0.001	0.12 \pm 0.4
	8-DPAT	10	0.22 \pm 0.03	0.87 \pm 0.16 ^{a,b}	0.04 \pm 0.01	<0.001
48 horas	TA	13	0.23 \pm 0.02	0.38 \pm 0.03	<0.001	0.05 \pm 0.01
	α -metil	10	0.14 \pm 0.04 ^a	0.52 \pm 0.1	0.14 \pm 0.07	0.1 \pm 0.03
	8-DPAT	18	0.26 \pm 0.04	1.33 \pm 0.1	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.01

a, $p < 0.005$ vs TA ANDEVA seguida de Tukey.

b, $p < 0.05$ vs. α -metil ANDEVA seguida de Tukey

En comparación con el grupo testigo absoluto, en los animales que se les inyectó α -metil serotonina o 8-DPAT y sacrificados a las 24 ó 48 horas se observó disminución en la concentración de progesterona y esta disminución fue más evidente en los animales inyectados con la 8-DPAT. La concentración de testosterona también disminuyó en los animales tratados con los agonistas. La concentración de estradiol fue mayor en los animales tratados con 8-DPAT y sacrificados a las 24 horas (figura 6).

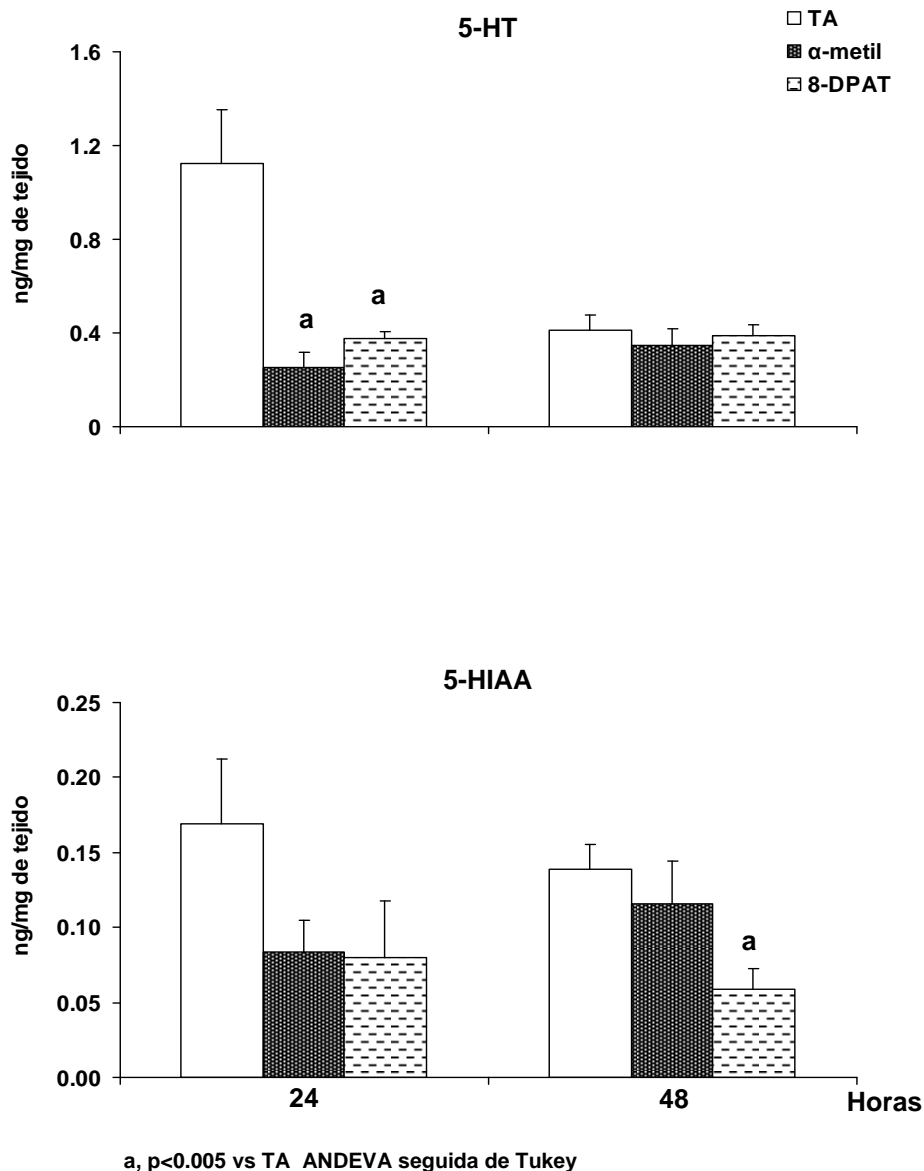


Figura 5. Media \pm e.e.m. de la concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi indolacético (5-HIAA) en el ovario de ratas testigo absoluto (TA), tratadas con α -metil serotonina (α -metil) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (8-DPAT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

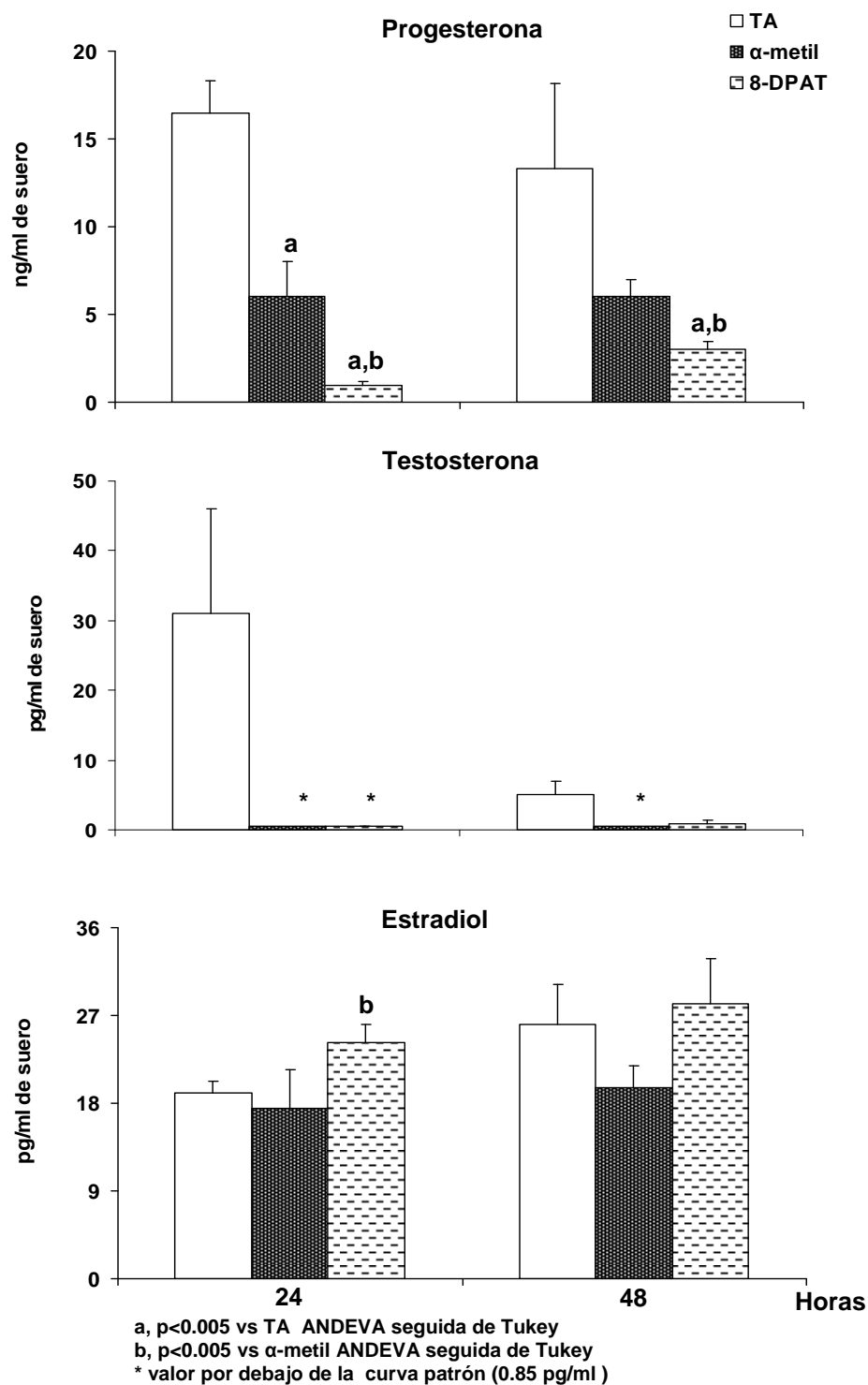


Figura 6. Media ± e.e.m. de la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas testigo absoluto (TA), tratadas con α-metil serotonina (α-metil) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide (8-DPAT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

2.-Administración de Sulfato de Serotonina.

En el cuadro 5 se muestra la concentración de NA y MHPG en los animales TA o que recibieron el sulfato de serotonina. La concentración de DA en los diferentes grupo experimentales estuvo por debajo de la sensibilidad del método (0.001ng/mg de tejido), así como en la concentración del DOPAC en los animales que se inyectaron con sulfato de serotonina y sacrificados a las 24 horas, en los sacrificados a las 48 horas, no se presentaron cambios en la concentración de este metabolito.

Cuadro 5. Media \pm e.e.m. de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA), ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglico (MHPG), dopamina (DA) y del ácido 3, 4-dihidroxifenilacético (DOPAC) en los ovarios de ratas testigo absoluto (TA), o tratadas con sulfato de serotonina (S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

Grupos		N	NA	MHPG	DA	DOPAC
24 horas	TA	16	0.25 \pm 0.03	0.53 \pm 0.06	<0.001	0.16 \pm 0.1
	S5-HT	16	0.27 \pm 0.02	0.52 \pm 0.08	<0.001	<0.001
48 horas	TA	13	0.23 \pm 0.02	0.38 \pm 0.03	<0.001	0.05 \pm 0.01
	S5-HT	16	0.29 \pm 0.02	0.43 \pm 0.06	<0.001	0.03 \pm 0.01

En comparación con el grupo TA, en los animales en los que se les inyectó el sulfato de serotonina y sacrificados a las 48 horas se observó el incremento en la concentración de serotonina. Mientras que, no se observaron cambios en la concentración del 5-HIAA (figura 7).

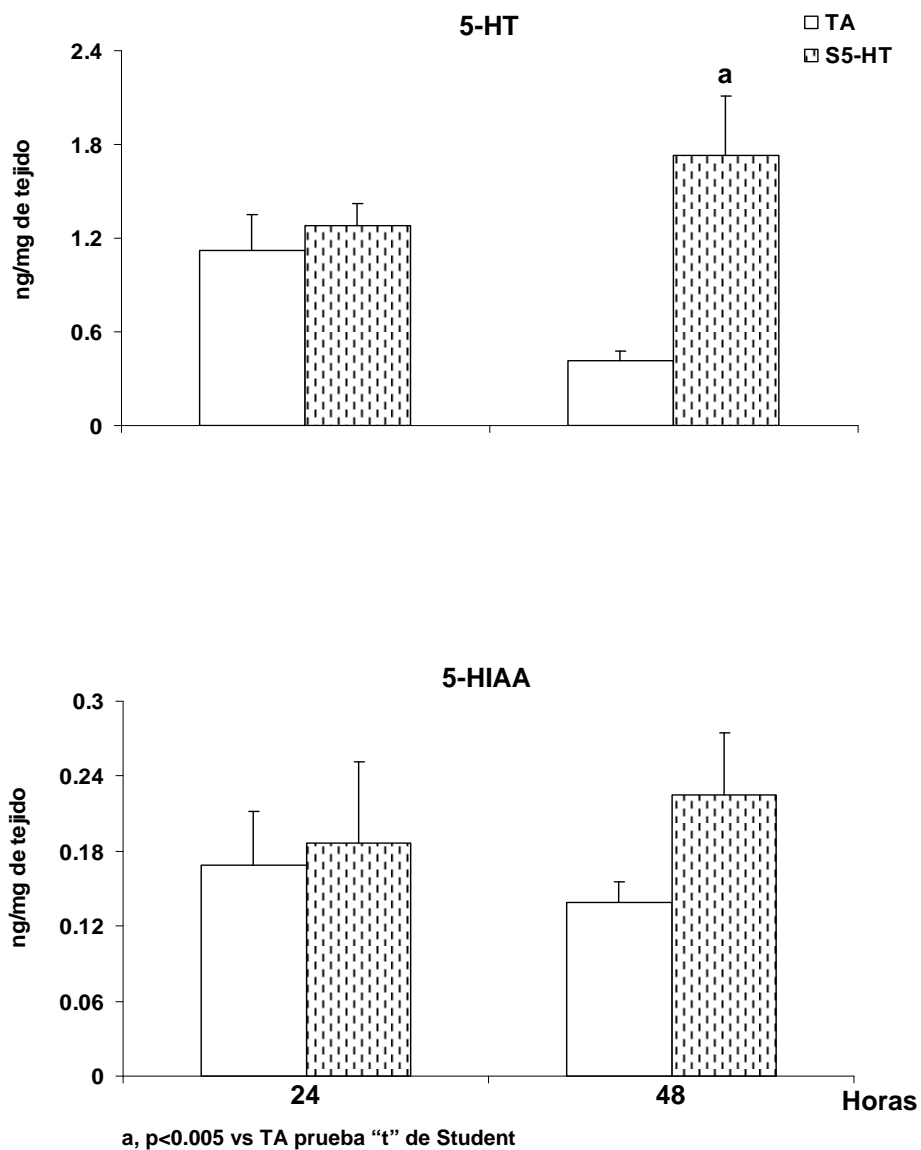


Figura 7. Media \pm e.e.m. de la concentración de serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi indolacético (5-HIAA) en el ovario de ratas testigo absoluto (TA), o tratadas con sulfato de serotonina (S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, en los que recibieron sulfato de serotonina por vía sistémica y sacrificados a las 24 horas, la concentración de progesterona y testosterona fue menor mientras que en los sacrificados a las 48 horas se observó un comportamiento inverso en la concentración de testosterona. La concentración de estradiol no se modificó en ninguno de los grupos experimentales (figura 8).

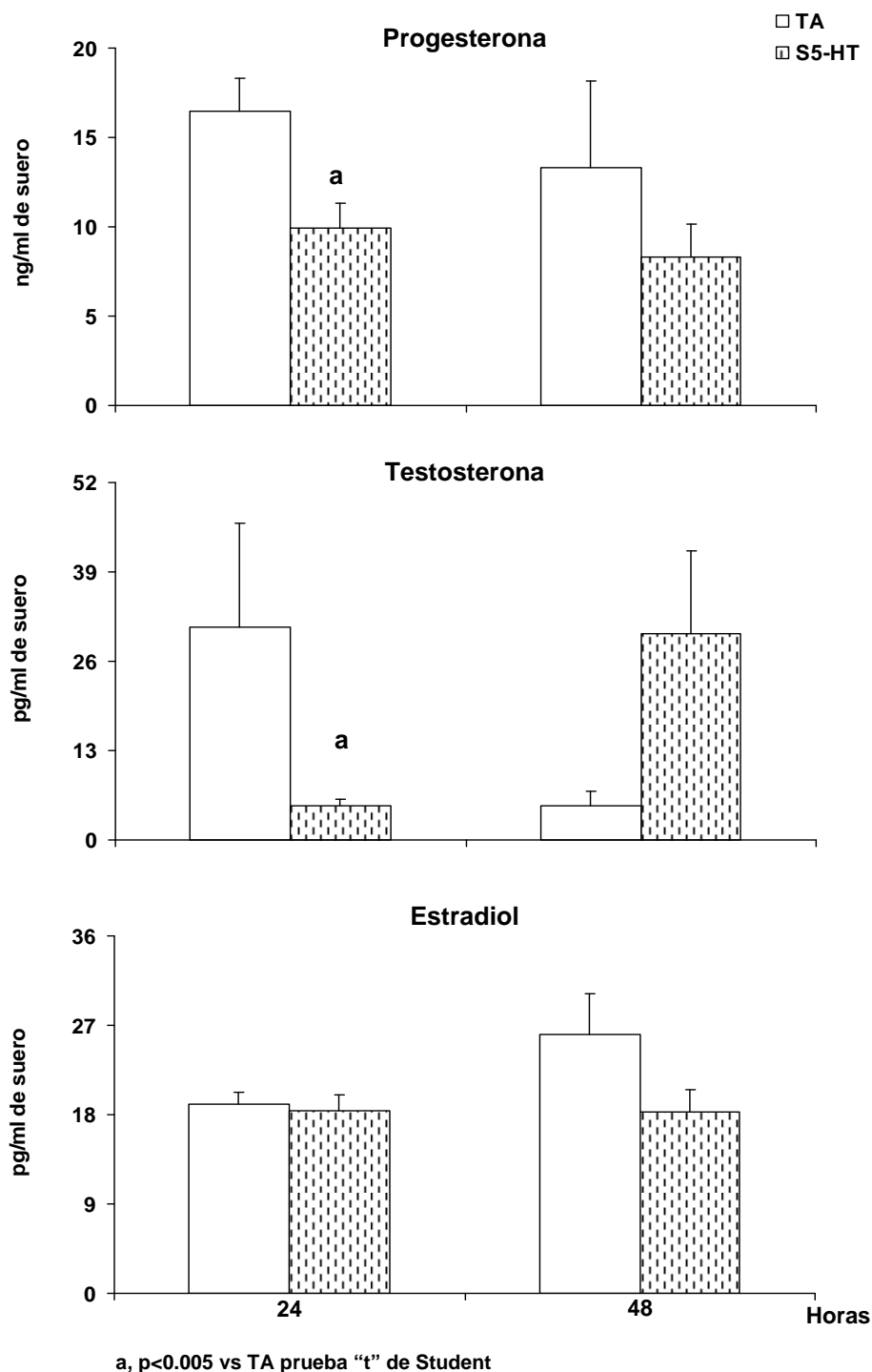


Figura 8. Media \pm e.e.m. de la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas testigo absoluto (TA), o tratadas con sulfato de serotonina (S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

3.-Administración de Agonistas de los Receptores a Serotonina en Bursa Del Ovario y Sulfato de Serotonina por vía Sistémica.

En esta serie de resultados, el grupo de comparación fue aquel que recibió por vía subcutánea sulfato de serotonina, la inyección de α -metil+S5-HT o 8-DPAT+S5-HT no modificó la concentración de NA. Mientras que, la concentración del MHPG se incrementó únicamente en los animales que se trataron con el 8-DPAT+S5-HT. La concentración de dopamina en los animales que se inyectaron con el 8-DPAT+S5-HT y sacrificados a la 24 horas o con α -metil+S5-HT sacrificados a las 48 horas estuvo por debajo de la sensibilidad del método (<0.001 ng/mg de tejido) (Cuadro 6).

La concentración del DOPAC en los animales que recibieron sulfato de serotonina y sacrificados a las 24 horas o α -metil+S5-HT y sacrificados a las 48 horas estuvo por debajo de la sensibilidad del método. En los otros grupos experimentales no se presentaron cambios en este parámetro (Cuadro 6).

En los animales que recibieron 8-DPAT en bursa del ovario más sulfato de serotonina por vía sistémica, la concentración de serotonina en los ovarios fue menor a las 24 y 48 horas. Mientras que, en los que se trataron con α -metil+S5-HT la concentración de este neurotransmisor fue menor únicamente en los animales sacrificados a las 48 horas (figura 9).

La concentración del 5-HIAA no se modificó en los animales tratados con α -metil+S5-HT. En los animales que previo a la administración del sulfato de serotonina se administró el 8-DPAT la concentración de serotonina fue mayor a las 24 horas y menor a las 48 horas en comparación con los que únicamente se les administró el sulfato de serotonina (figura 9).

Cuadro 6. media \pm e.e.m. de la concentración (ng/mg de tejido) de noradrenalina (NA), ácido 4-hidroxi-3-metoxifeniletenglico (MHPG), dopamina (DA) y del ácido 3, 4-dihidroxifenilacético (DOPAC) en los ovarios de ratas tratadas con sulfato de serotonina (S5-HT), α -metil serotonina más sulfato de serotonina (α -metil + S5-HT) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide más sulfato de serotonina (8-DPAT + S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

Grupos		N	NA	MHPG	DA	DOPAC
24 horas	S5-HT	16	0.27 \pm 0.02	0.52 \pm 0.08	<0.001	<0.001
	α -metil+S5-HT	14	0.26 \pm 0.05	0.45 \pm 0.07	0.07 \pm 0.04	0.076 \pm 0.03
	8-DPAT+S5-HT	20	0.33 \pm 0.11	0.88 \pm 0.12 ^{a,b}	<0.001	0.14 \pm 0.05
48 horas	S5-HT	16	0.29 \pm 0.02	0.43 \pm 0.06	<0.001	0.03 \pm 0.01
	α -metil+S5-HT	10	0.36 \pm 0.16	0.37 \pm 0.08	<0.001	<0.001
	8-DPAT+S5-HT	17	0.31 \pm 0.05	0.88 \pm 0.11 ^{a,b}	0.04 \pm 0.01	0.06 \pm 0.018

a, $p < 0.005$ vs S5-HT ANDEVA seguida de Tukey

b, $p < 0.005$ vs α -metil+S5-HT ANDEVA seguida de Tukey

En comparación con el grupo de animales que se inyectó con sulfato de serotonina, en los animales tratados con α -metil+S5-H o 8-DPAT+S5-HT disminuyó la concentración de progesterona, pero esta diferencia únicamente fue significativa en los tratados con 8-DPAT+S5-HT y sacrificados a las 48 horas. La concentración de testosterona disminuyó en los animales que se trataron con los agonistas en bursa del ovario (figura 10).

En todos los animales que recibieron el 8-DPAT+S5-HT se observó el incremento en la concentración de estradiol en comparación con los que recibieron α -metil+S5-H (figura 10).

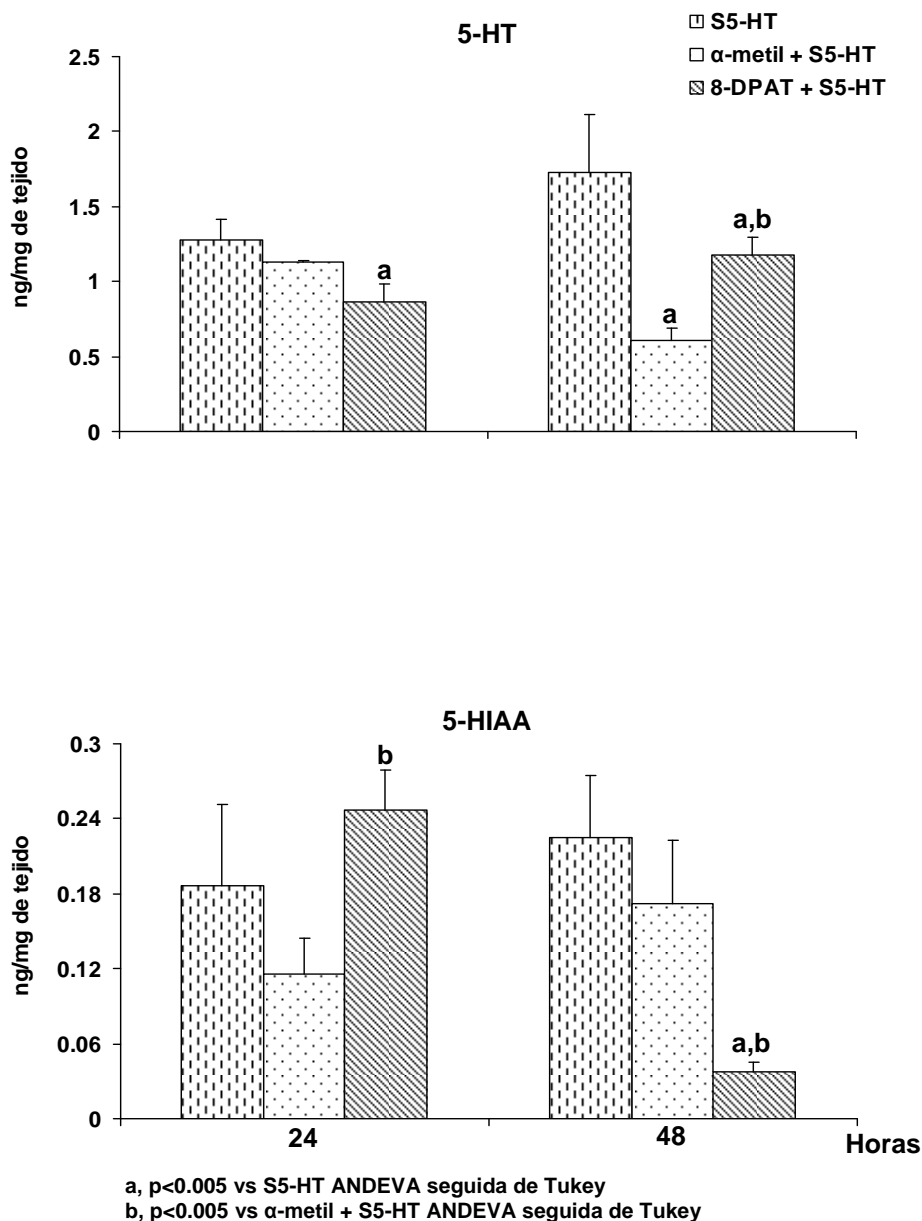


Figura 9. Media \pm e.e.m. de la concentración serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi indolacético (5-HIAA) en el ovario de ratas tratadas con sulfato de serotonina (S5-HT), α -metil serotonina más sulfato de serotonina (α -metil+S5-HT) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide más sulfato de serotonina (8-DPAT+S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

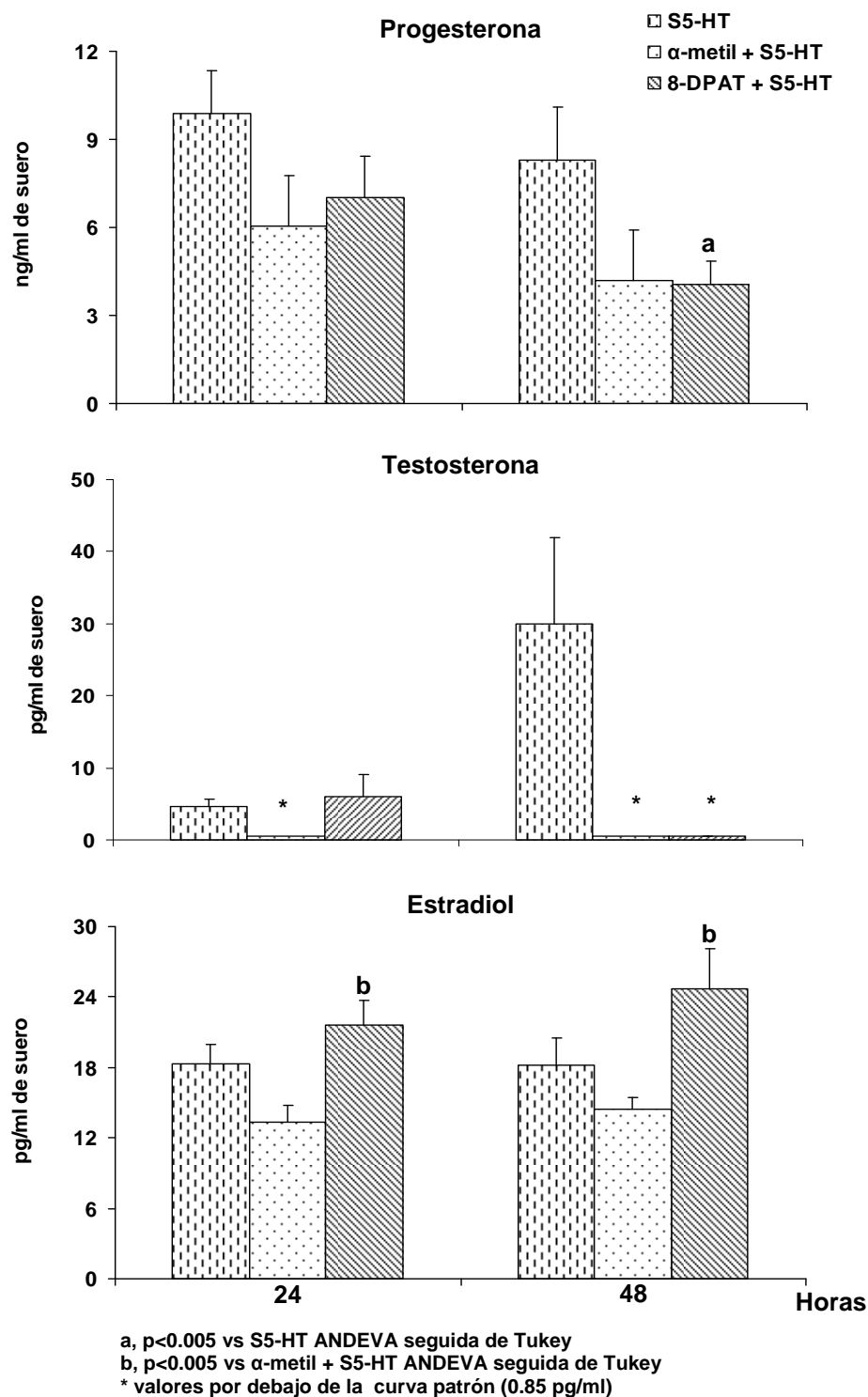


Figura 10. Media \pm e.e.m. de la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas tratadas con sulfato de serotonina(S5-HT), α -metil serotonina más sulfato de serotonina (α -metil+S5-HT) o con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide más sulfato de serotonina (8-DPAT + S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

Cuando se comparan los resultados con respecto al grupo que sólo recibió agonista observamos el incremento significativo descrito previamente en la concentración de serotonina y la del 5-HIAA no se modificó por la inyección subcutánea de la serotonina (figura 11). Esto se acompañó de la disminución en la concentración de estradiol a las 48 horas y no se modificó la de progesterona y testosterona (figura 12).

En comparación con el grupo de animales testigo absoluto, en los que recibieron la α -metil y sacrificados 24 horas después, la concentración de serotonina fue menor, mientras que en el grupo que se le administró el agonista más sulfato de serotonina se observó la recuperación de este parámetro (figura 11).

Cuando se administró sólo α -metil serotonina o en combinación con el sulfato de serotonina la concentración de progesterona fue menor que en el grupo testigo. La concentración de testosterona en todos los animales tratados con el agonista fue igual o menor al punto mas bajo de la curva. Esto se acompañó de la disminución en la concentración de estradiol en aquellos animales que recibieron el α -metil serotonina más sulfato de serotonina y sacrificados a las 24 ó 48 horas postratamiento.

La concentración de serotonina en el ovario de los animales tratados con 8-DPAT+S5-HT aumentó a las 24 o 48 horas, en comparación con los que recibieron únicamente el 8-DPAT en bursa del ovario, lo que se acompañó del aumento en la concentración del 5-HIAA en los animales sacrificados a las 24 horas (figura 13). En estos animales, se observó el incrementó en la concentración de progesterona y testosterona en suero, sin modificaciones en la concentración de estradiol en los animales tratados con 8-DPAT en bursa del ovario más S5-HT por vía sistémica y sacrificados a las 24 horas (figura 14).

En los animales que recibieron el agonista mas el sulfato de serotonina la concentración de serotonina fue similar a la del grupo testigo absoluto. La concentración del metabolito únicamente se recuperó a las 24 horas (figura 13).

En comparación con el grupo testigo absoluto, en los animales que recibieron el 8-DPAT o 8-DPAT más sulfato de serotonina la concentración progesterona y testosterona en suero fue menor y la de estradiol se incrementó únicamente en los tratados con el agonista y sacrificados a las 24 horas (figura 14).

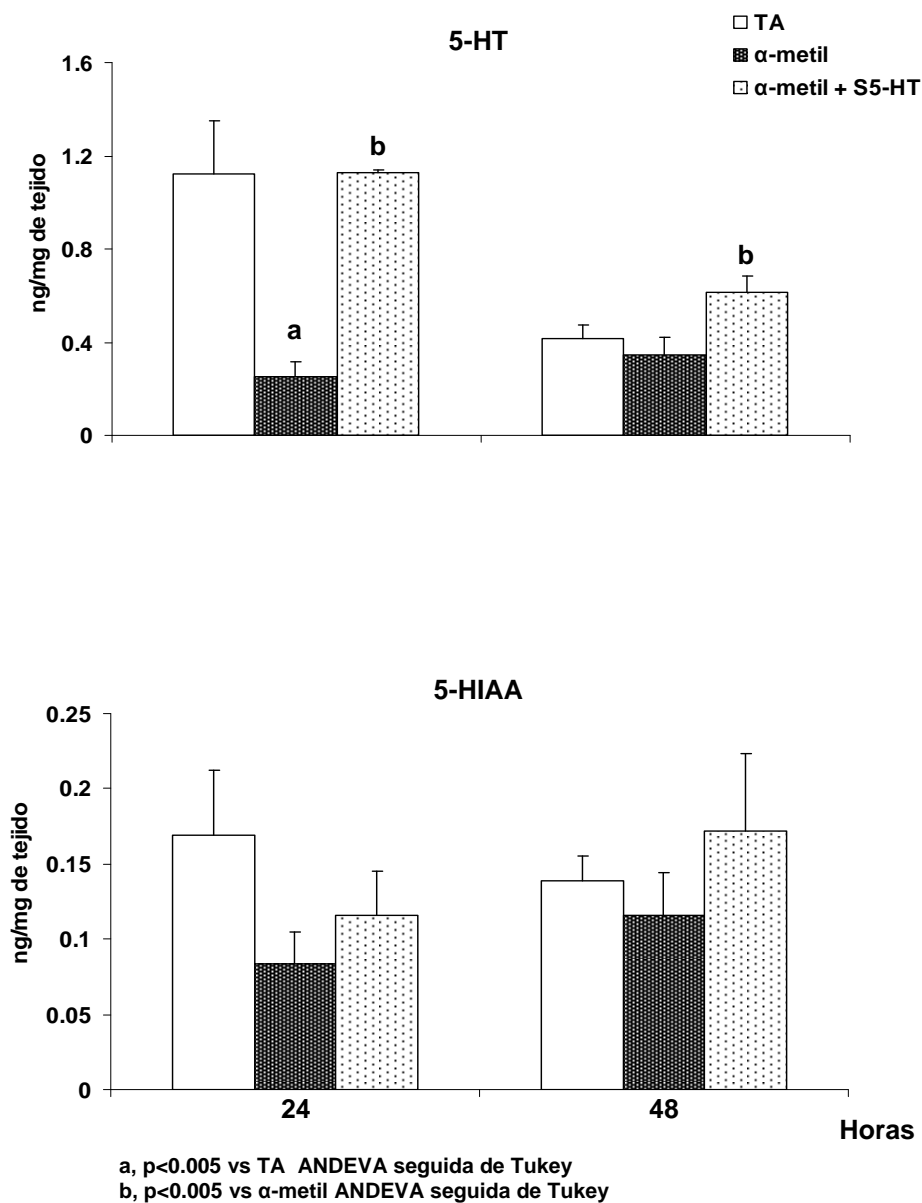
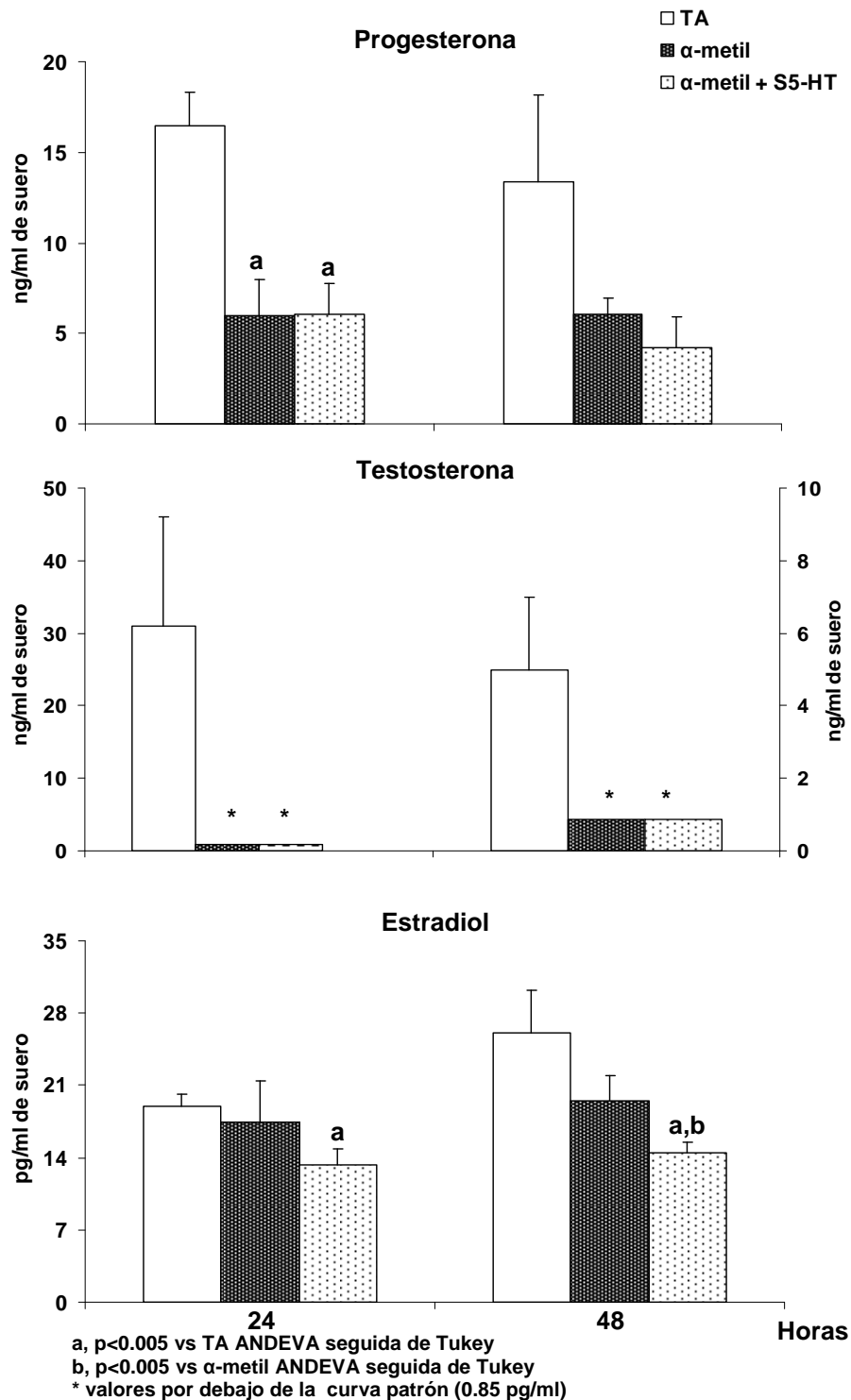


Figura 11. Media \pm e.e.m. de la concentración serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi indolacético (5-HIAA) en el ovario de ratas tratadas con α -metil serotonina (α -metil) o α -metil serotonina más sulfato de serotonina (α -metil+S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.



Nota: La concentración de testosterona de los animales sacrificados a las 48 horas, corresponde a la escala derecha en la gráfica de testosterona

Figura 12. Media \pm e.e.m. de la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas tratadas con α -metil serotonina (α -metil) o α -metil serotonina más sulfato de serotonina (α -metil+S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

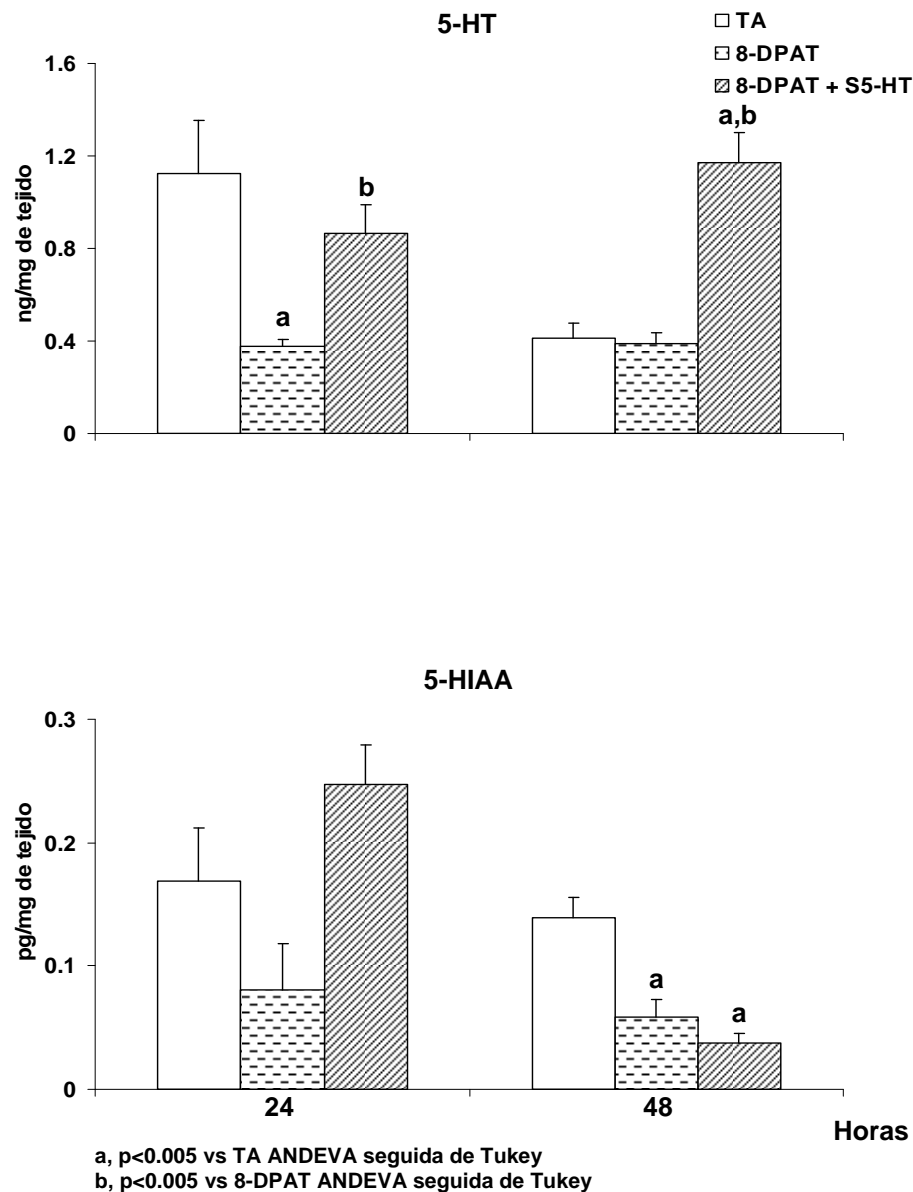
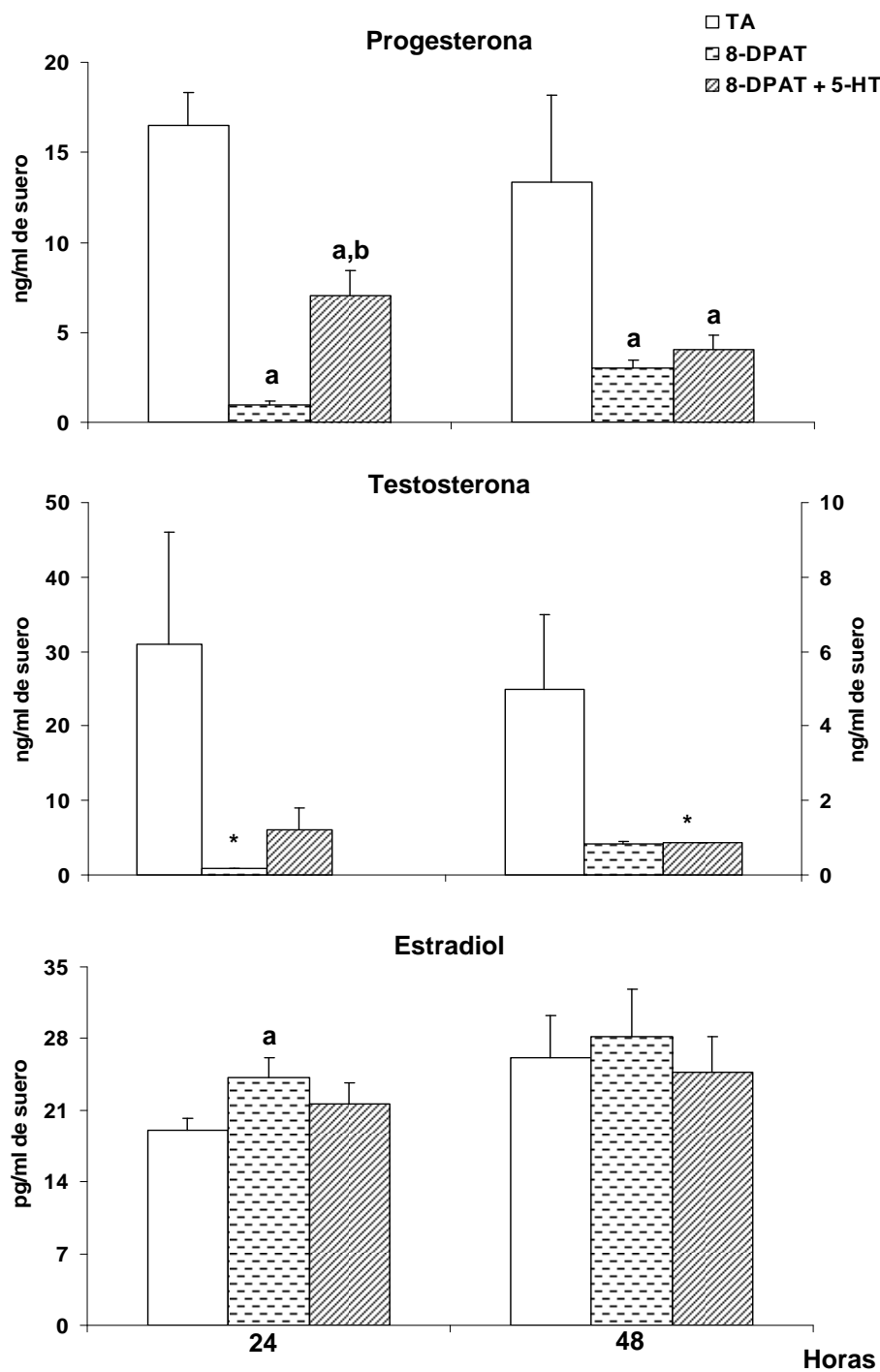


Figura 13. Media \pm e.e.m. de la concentración serotonina (5-HT) y del ácido 5-hidroxi indolacético (5-HIAA) en el ovario de ratas tratadas con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide(8-DPAT) ó (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide más sulfato de serotonina (8-DPAT+S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.



a, $p < 0.005$ vs TA ANDEVA seguida de Tukey
 b, $p < 0.005$ vs 8-DPAT ANDEVA seguida de Tukey
 * valores por debajo de la curva patrón (0.85 pg/ml)

Nota: La concentración de testosterona de los animales sacrificados a las 48 horas, corresponde a la escala derecha en la gráfica de testosterona

Figura 14. Media \pm e.e.m. de la concentración de progesterona, testosterona y estradiol en el suero de ratas tratadas con (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide(8-DPAT) o (R)-(+)-8-hidroxi-2-(di-n-propilamino) hidrobromide más sulfato de serotonina (8-DPAT+S5-HT) en el día 30 y sacrificadas a las 24 ó 48 horas.

CONCLUSIONES

- En la rata hembra prepúber, la serotonina actúa directamente en el ovario modulando la secreción de progesterona y testosterona.
- La estimulación de los receptores a serotonina 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, no modifica la síntesis de estradiol por el ovario, mientras que la activación del receptor 5-HT_{1A} estimula la secreción de este esteroide.
- La activación del receptor 5-HT_{1A} se traduce en la estimulación de la biotransformación de testosterona a estradiol.
- En la rata hembra prepúber los receptores la activación de los receptores 5HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} incrementa el metabolismo de la noradrenalina y estimula la síntesis de dopamina.

BIBLIOGRAFÍA

- Aerts JMJ, Bols PEJ. (2008). Ovarian follicular Dynamics; A Review with Emphasis on the Bovine Species. Part I: Folliculogenesis and Preantral Follicle Development. **Cell and Tissue Research**, 300(1): 47-56.
- Amenta F, Vega JA, Ricci A, Collier WL. (1992). Localization of 5-hydroxytryptamine-like immunoreactive cells and nerve fibers in the rat female reproductive system. **Anatomical Record**, 233 (3): 478-484.
- Amireault P, Dubé F. (2005a). Serotonin and antidespressant-sensitive transport in mouse cumulus-oocyte complexes and early embryos. **Biology of Reproduction**, 73: 358-365.
- Amireault P, Dubé F. (2005b). Intracellular cAMP and calcium signaling by serotonin in mouse cumulus-oocyte complex. **Molecular Pharmacology**, 68 (6):1678-1687.
- Anesetti G, Lombide P, D'Albora H, Ojeda SR. (2001). Intrinsic Neurons in The Human Ovary. **Cell and Tissue Research**, 306: 231-237.
- Ayala ME, Rosas P, Dominguez R. (1994). Different effects of unilateral and bilateral lesions of the dorsal raphe nucleus on puberty and first ovulation. **Brain Research Bulletin**, 60: 307-315.
- Barnes NM, Sharp T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their fuction. **Neuropharmacology**, 38: 1083-1152.
- Battista PJ, Condon WA. (1986). Serotonin-induced stimulation of progesterone production by cow luteal cells in vitro. **Journal of Reproduction and Fertility**, 76: 231-238.
- Bodys J, Török A, Tinnebrg HR, Hanf V, Harmori M, Clendon P. (1992). Influence of serotonin on progesterone and estradiol secretion of cultured human granulose cells. **Fertility and Sterility**, 57 (5): 1008-1011.
- Brüssow KP, Schneider F, Nürnberg G. (2001). Alteration of gonadotrophins and steroid hormone release and of ovarian function by a GnRH antagonist in gilts. **Animal Reproduction Science**, 66: 117-128.

- Campos-Bedolla P, Vargas MH, Calixto E, Segura P, Mendoza-Patiño N, Figueroa A, Flores-Soto E, Barajas-López C, Montaña LM. (2006). α -Methyl-5-HT, a 5-HT₂receptor agonista, stimulates β_2 -adrenoceptors in guinea pig airway smooth muscle. **Pharmacological Research**, 54: 468-473.
- Clausell DE, Soliman FA. (1978). Ovarian serotonin content in relation to ovulation. **Experientia**, 34: 410-411.
- Crane JC, Shimizu K, Carrasco GA, Garcia F, Ji C, Sullivan NR, D'Souza DN, Zhang Y, Louis D, Van de Kar NAM, Battaglia G. (2007). 5-HT_{1A} receptors mediate (+)8-OH-DPAT-stimulation of extracellular signal-regulated kinase (MAP kinase) in vivo in rat hypothalamus: Time dependence and regional differences. **Brain Research**, 1183: 51-59.
- D'albora H, Lombide P, Ojeda SR. (2000). Intrinsic neurons in the rat ovary: an Immunohistochemical study. **Cell and Tissue Research**, 300:47-56.
- Delgado CA, Minguillón LC, Joglar T J. (2003). Introducción a la química terapeutica. 2da ed. Edit. Diaz de Santos pp.519.
- Dicksic M, Young SN. (2001). Study of the brain serotonergic system with labeled alpha-methyl-L-tryptophan. **Journal Neurochem**, 78, (6): 1185-2000.
- Dubé F, Amireault P. (2007). Local serotonergic in mammalian follicles oocytes and aerly embryos. **Life Sciences**, 81: 1627- 37.
- Espey LL, Tanaka N, Woodard DS, Harper MJ, Okunaru H. (1989). Decrease in ovarian platelet-activating factor during ovulation in the gonadotropin-primed immature rat. **Biology of Reproduction**, 41: 104-110
- Findlay JK, Drummond AE, Britt KL, Dyson M, Wreford NG, Robertson DM, Groome NP, Jone MEE, Simpson ER. (2000). The roles of activins, inhibins and estrogen in early committed follicles. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 163: 81-87.
- Fink K, Göthert M. (2007). 5-HT Receptor Regulation of Neurotransmitter Release. **Pharmacological Reviews**, 59(4): 360-417.
- Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A. (2004). Farmacología humana. 4ª ed. Edit. Masson. España 337-340.

- Gallegos E. (2007). Participación de serotonina en los mecanismos que regulan el proceso de atresia y apoptosis en el ovario de la rata durante la etapa prepuberal. **Tesis de Maestría, Maestro en Ciencias Biológicas, U.N.A.M.**
- Gaytan F, Aceitero J, Bellido C, Sanchez-Criado JE, Aguilar E. (1991). Estrous cycle-related changes in mast cell numbers in several ovarian compartments in the rat. **Biology of Reproduction**, 45: 27-33.
- Ghersevich S, Akinola L, Kaminski T, Poitanen M, Isomaa V, Vhiko R, Vhiko p. (2000). Activin-A, but not inhibin regulates 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 activity and expresión in cultured rat Granulosa Cells. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 73(5): 203-210.
- Gore-Langton RE., Armstrong DT. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: **The Physiology of Reproduction**. E. Knobil y JD Neil (Eds). 2a ed. Raven Press, New York. Pp 571-628
- Gore-Langton RE., Daniels SAJ. (1990). Follicle-estimulating hormone and estradiol regulate antrum-like reorganizaton of granulosa cells in rat preantral follicle cultures. **Biology of Reproduction**, 43: 65-72
- Havelock JC, Rainey WE, Carr BR. (2004). Ovarian granulosa cell lines. **Molecular and Cellular Endocrinology**, 228: 67–78.
- Hery M, Francois-Bellan AM, Hery F, Deprez P, Becquet D. (1997). Serotonin directly stimulates luteinizing hormone-releasing hormone release from GT1 cells via 5-HT₇ receptors. **Endocrine**, 7: 261-265.
- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Harting PR, Martin GR, Mylecharane EJ, Saxena PR, Humphery PPA. (1994). VII. International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). **Pharmacological Reviews**, 2 (46): 157-203.
- Hoyer D, Hannon J, Martin GR. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, 71: 533-554.
- Ismaiel AM, Titeler M, Miller KJ, Smith TS, Glennon RA. (1990). 5-HT₁ and 5-HT₂ Biding Profiles of the Serotonergic Agents α -Methylserotonin and 2-

- Methylserotonin. **Journal of Medicinal Chemistry**, 33: 755-758.
- Jannes L, Beckman WC, Stumpf WE, Grzanna R. (1982). Anatomical Relationships of Serotonergic and Noradrenalinergic Projections with the GnRH System in septum and Hypothalamus. **Experimental Brain Research**, 46: 331-338.
 - Jeffrey JJ, Ehlich LS, Roswit WT. (1991). Serotonin: inducer of collagenase in myometrial smooth muscle cells. **Journal of cellular physiology**, 3: 399-406.
 - Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM. (1991). Principles of neural science. 3ra edition Edit. Elsevier Science Publishing Co. Inc, USA. Pp 1055-10556.
 - Kerdelhué B, Bojda F, Lesieur P, Pasqualini C, El Abed A, Lenoir V, DouilletP, Chiueh MC, Palkovits M. (1989). Median Eminence Dopamine and Serotonin Neuronal Activity. **Neuroendocrinology**, 49: 176-180.
 - Kodon C, Drouva SV, Martinez de la Escalera G, 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 y JD. Neil (Eds). 2a ed. Raven Press, New York. Pp 1671-1682.
 - Krishna A, Terranova PF. (1985). Alterations in mast cell degranulation and ovarian histamine in the proestrous hamster. **Biology of Reproduction**, 32: 1211-1217.
 - Leeson TS, Lesson CR. Paparo AA. (1988). Texto/Atlas de Histología. 1 er ed. Edit. Interamericana McGraw-Hill. México, 599-610.
 - Levier RR, Spaziani E. (1966). The effects of estradiol on the occurrence of mast cells in the rat uterus. **Experimental cell Research**, 41: 244-252.
 - Li M, Zhou T, Gao Y, Zhang N, Li J. (2007). Ultraestructure and estrogen regulation of the lymphatic stomata of ovarian bursa in mice. **The Anatomical Record**, 290: 1195-122.
 - Linder AE. Wei N. Diaz JL. Szasz T. Burnett R. Watts SW. (2007). Serotonin (5-HT) in Veins: Not All in Vain. **The Journal of Pharmacology and Experimental: Therapeutics**. 323: 415-421.
 - Lülman H, Mohr K. (2006). Atlas de farmacología, 1er ed. ED Elsevier, España, 381 pp.

- Martin GG, Sack M, Talbot P. (1981) Structure of bursae ovaricae surrounding the ovaries of golden hamster. **The Anatomical record**, 201 (3): 485-498.
- McKinley MP, O'Loughlin VD. (2005). Human anatomy. 1er ed., Edit Mc-Graw-Hill.
- Meng-Chun H, Hwei-Jan H, Ing-Cherng G, Bon-chu C. (2004). Fuction of *Cyp11a1*in animal models. **Molecular and Cellular Endocrynology**, 215: 95-100.
- Moguilevsky JA, Wuttke W. (2001). Changes in the control of gonadotropin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. **Experimental and Clinical Endocrinology & diabetes**, 109: 188-195.
- Monrroy J, Ayala ME, Chavira R, Damián-Matsumura P, Domínguez R. (2003). Comparative effects of injecting 5,6dihydroxytryptamine in the dorsal or medial raphe nuclei on rat puberty. **Brain Research Bulletin**, 60: 307-315.
- Morán MJ, Ayala ME, Monrroy J, Damián-Matsumara P, Domínguez R. (2001). Estudio sobre la participación de la serotonina en la regulación del inicio de la pubertad y la primera ovulación en la rata. En. **XXVI Reunion Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción** pp. 271.
- Mori H, Arakawa S, Ohkawa T, Ohkawa R, Takada S, Morita T, Okinaga S. (1994). The involvement of dopamine in the regulation of steroidogenesis in the rat ovarian cells. **Hormonal Research**, 41 (1): 36- 40.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. (2000). Bioquímica de Harper. 15ª ed. **Edit. Manual moderno**. México. 681-86.
- Nussey SS. Whitehead SA. (2001). Endocrinology an integrated approach. 1a ed. Taylor and Francis Group. United Kingdom.
- O'steen WK. (1964). Serotonin suppression of luteinization in gonadotrophin-treated immature rats. **Endocrinology**, 74: 885-888.
- Papageorgiou A, Deneff C. (2007). Stimulation of growth hormone release by 5-Hydroxytryptamine (5-HT) in cultured rat anterior pituitary cells aggregates: evidence for mediation by 5-HT_{2B}, 5-HT₇, 5-HT_{1B}, and ketanserin sensitive-receptors. **Endocrinology**, 148 (9): 4509-4522.
- Payette RF, Gershon MD, Nunez EA. (1985). Serotonergic Elements of the Mammalian Pituitary. **Endocrinology**, 116(5): 1933-1941.

- Prieto-Gómez B, Velásquez M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. Rev. Fac. Med. UNAM Vol. 45 (6).
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, Lamantia Antoni-samuel, McNamara JO, Williams SM. (2001). The parasympathetic division of the visceral motor system. En: **Neuroscience**. 2a ed. Sinauer Associates, U.S.A.
- Rang H., Dale M., Ritter J., Moore P. (2004). **Farmacología** 5ta ed. Edit. Elsevier España, 184-186.
- Rehm S, Stanislaus DJ, Williams AM. (2007). Estrous cycle-dependent histology and review of sex steroid receptor expression in dog reproductive tissues and mammary gland and associated hormone levels. Birth defects research. Part B, **Developmental and Reproductive Toxicology**, 80: 233-245.
- Romero RJ. (2008). Efecto de la administración de antagonistas de los receptores a serotonina del tipo 5-HT_{2A} y 5-HT_{2C} en la bursa del ovario en la secreción de progesterona, testosterona y estradiol. **Tesis profesional. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.**
- Rose FA, Bleszinsky WS. (1971). The metabolism of 5-hydroxytryptamine O[³⁵S]-sulfate in the rat. **The Biochemical Journal**, 122: 601-603.
- Ross MH. Romrell LJ, Gordon IK. (2003). Histología Texto y atlas. 3ª ed. Edit. Medica panamericana. 676-678.
- Schimidt G. Kannisto P. Owman C. Sjöberg N-O. (1988). Is serotonin involved in the ovulatory process of the rat ovary perfused *in vitro*. **Acta physiologica Scandinavica**, 132: 251-256.
- Schwartz JR, Roy SK. (2000) Expression of P450 side- Chain Cleavage (CYP11A1) and p450 17 α -Hydroxylase-17/20 Lyase (CYP17) Messenger Ribonucleic Acid in Hamster Primary Interstitial Cells In Vitro; Differential Regulation of Steroidogenesis by Cyclic Adenosine Monophosphate. **Biology of Reproduction**, 63: 503-507.
- Seal RC, Urban RJ, Sekar N, Veldhuis JD. (2004). Up- Regulation of Basal Transcriptional Activity of the cytochrome P450 cholesterol Side. Chain Cleavage (CYP11A) Gene by Isoform-Specific Calcium-Calmodulin-

Dependent Protein Kinase in Primary Cultures of Ovarian Granulosa Cells. **Endocrinology**, 145 (12): 5616-5622.

- Siddiqui A, Abu-Amara A, Aldairy C, Hagan JJ, Wilson C. (2004). 5-HT₇ Receptor subtype as a mediator of the serotonergic regulation of luteinizing hormona release in the zona incerta. **European Journal of Pharmacology**, 491: 77-84.
- Siegel GJ, Agranoff BW, Fisher SK, Albers RW, Uhler MD. (1999) Basic Neurochemistry Molecular: Cellular and Medical Aspects. En: Serotonin . Frazer A., Hensler. JG. 6a ed. Lippincott, Williams and Wilkins. Philadelphia.
- Sirotkin AV, Makarevich AV, Kotwica J, Marnet PG, Kwon HB, Hetenyi L. (1998). Isolated porcine ovarian follicles as a model for the study of hormone and growth factor action on ovarian secretory activity. **Journal of Endocrinology**, 159: 313- 21.
- Smith MJ, Jennes L. (2001). Neural signals that regulate GnRH neurones directly during the oestrous cycle. **Reproduction**, 122: 1-10.
- Squieres LN, Talbot KN, Rubakhin SS, Sweedler JV. (2007). Serotonin catabolism in the central enteric system of rats upon induction of serotonin syndrome. **Journal of Neurochemistry**, 103: 174-180.
- Tanaka E, Baba N, Tosida K, Suzuki K. (1993). Serotonin stimulates steroidogenesis in rat preovulatory follicles: involvement of 5-HT₂ receptor. **Life Sciences**, 53: 563-570.
- Tang XM, Rossi MJ, Masterson BJ, Chegini N. (1994). Insulin- like Growth factor I (IGF-I), IGF-I receptors, and IGF binding proteins1-4 in human uterine tissue: tissue localization and IGF-I action in endometrial stromal and myometrial smooth muscle cells in vitro. **Biology of Reproduction**, 50: 1113-1125.
- Terranova PF, Uilenbroek JT, Saville L, Horst D, Nakamura Y. (1990). Serotonin enhances oestradiol production by hamster preovulatory follicles in vitro: effects of experimentally induced atresia. **The Journal of Endocrinology**. 125 (3): 433-438.
- Tresguerres JAF. (1999). Fisiología human. 2da ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana México. Pp 1021-1032

- Velasco MA, San Róman LB, Serrano MJS, Martínez, RS, Cadavid TMI. (2003). *Farmacología Fundamental*. 1 er ed. Edit. McGraw-Hill Interamericana. España, 346-370.
- Vitale ML, Chiochhio SR. (1993). Serotonin, a Neurotransmitter Involved in the Regulation of Luteinizing Hormone Rease. **Endocrine Reviews**, 14(4); 480-493.
- Vitale ML, Chiochhio SR, Tramezzani JH. (1986). Serotonin induces gonadotrophin release trough stimulation of LH-releasing hormone release from the median eminente. **Journal of Endocrinology**, 111: 309-315.
- Yen S, Jafee R, Barbieri R. (2001). *Endocrinología de la reproducción*. 4ta ed. Edit. Panamericana México, 164-165.
- Yoshimoto Y, Sakumoto T, Arai R, Miyake A, Kimura H, Aono T, Tanizawa O, Maeda T. (1986). Monoamine oxidase in rat ovary during the estrous cycle. A. histochemical study by a new coupled peroxidatic oxidation method. **Endocrinology**, 119 (4): 1800-1804.
- Yoshitake T, kehr J. (2004). Differential effects of (R)-, (R,S)- and (S)-8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin on hippocampal serotonin release and induction of hypothermia in awake rats. **Basic Life Sciences**, 74: 2865-2875.