

51261

2
209



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

"ZARAGOZA"

**ESTUDIO DE LA PARTICIPACION DEL SISTEMA
NORADRENERGICO PERIFERICO SOBRE LA
PUBERTAD DE LA RATA HEMBRA**

FALLA DE ORIGEN

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN INVESTIGACION EN
BIOLOGIA DE LOS SISTEMAS HUMANOS**

**PRESENTA :
ANGELICA FLORES RAMIREZ**

- 1991 -



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES *ZARAGOZA*

ESTUDIO DE LA PARTICIPACION DEL SISTEMA NORADRENERGICO
PERIFERICO SOBRE LA PUBERTAD DE LA RATA HEMBRA

Tesis que presenta: Angélica Flores Ramírez

Para obtener el grado de Maestra en Investigación en Biología
de los Sistemas Humanos.

Director de Tesis: Dr. Roberto Domínguez Casalá

Esta tesis fue realizada en la Unidad de Investigación en
Biología de la Reproducción, ENEP-Zaragoza, U.N.A.M.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo del
CONACyT, convenio, P219CCOL880206-60206 y del Programa
Universitario de Investigación en Salud (PUIS), U.N.A.M.

Este trabajo se basa en los siguientes resultados ya publicados:

DOES NORADRENERGIC PERIPHERAL INNERVATION HAVE A DIFFERENT ROLE IN THE REGULATION OF OVULATION IN THE PREPUBERTAL AND ADULT RAT?

A.Flores, M.E.Ayala, R.Domínguez

Medical Science Research 18; 817-818; 1990

LA PARTICIPACION DE LA INERVACION NORADRENERGICA PERIFERICA EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD Y LA OVULACION ESPONTANEA E INDUCIDA EN LA RATA NORMAL Y LA ANDROGENIZADA AL NACIMIENTO.

A.Flores, R.Domínguez

A.I.B.I.R. XV; 56-65; 1990

THE EFFECTS OF NORADRENERGIC PERIPHERAL DENERVATION ON GONADOTROPIN-INDUCED OVULATION IN PREPUBERTAL RATS AND ANOVULATORY SYNDROME INDUCED BY TESTOSTERONE PROPIONATE (TP) ADMINISTRATION AT BIRTH.

R.Domínguez, A.Flores

Biology of Reproduction 42; suplemento 1, 196; 1990.

DIFERENTES RESPUESTAS DE LA OVULACION EN LA PUBERTAD, INDUCIDAS POR LA ADMINISTRACION DE ANDROGENOS O ESTROGENOS EN LOS PRIMEROS CINCO DIAS DE VIDA.

A.Flores, R.Domínguez

Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas 10; endo-r-21, 1991.

THE OVULATORY RESPONSE OF PREPUBERTAL RATS TO GONADOTROPINS DEPENDS ON ANIMAL AGE.

J.Villavicencio, A.Flores

Biology of Reproduction 44; suplemento 1, 461; 1991

I N D I C E

	PAGINA
PUBLICACIONES	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN.....	2
INTRODUCCION	
PUBERTAD.....	5
FASES PERIPUBERALES.....	6
INERVACION.....	17
ANDROGENIZACION.....	20
ESTROGENIZACION.....	23
INERVACION Y DIFERENCIACION SEXUAL DE LA REGULACION DE LA SECRECION DE LAS GONADOTROPINAS.....	24
FUNDAMENTO DEL PROYECTO.....	25
HIPOTESIS.....	27
OBJETIVOS.....	27
MATERIALES Y METODOS GENERALES.....	28
RESULTADOS	
DESNERVACION Y OVULACION.....	30
DESNERVACION Y ANDROGENIZACION.....	44
DESNERVACION Y ESTROGENIZACION.....	52
DISCUSION GENERAL.....	66
CONCLUSIONES.....	75
BIBLIOGRAFIA.....	76
APENDICE.....	85

RESUMEN

Existen datos experimentales que muestran el papel de la inervación noradrenérgica ovárica en la modulación de la respuesta del ovario a las gonadotropinas. Con el fin de estudiar si la inervación noradrenérgica ovárica participa en la regulación neuroendócrina de la pubertad y la primera ovulación, en el presente trabajo se analizaron los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica producida desde el nacimiento por la administración de guanetidina sobre la pubertad y la primera ovulación espontánea e inducida. Dado que la administración de andrógenos o estrógenos en la rata recién nacida modifica los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas y afectan el contenido de noradrenalina en el hipotálamo, también se estudiaron los efectos de la desnervación noradrenérgica del ovario sobre la masculinización y la desfeminización producidas por el tratamiento con andrógenos o estrógenos, respectivamente, inyectados a la rata hembra neonatal.

En los animales tratados con guanetidina (20 mg/Kg P.C.) se observó retraso de la edad de la apertura vaginal (42.3 ± 1.1 días vs 37.2 ± 0.4 , $p < 0.01$) y del primer estro (42.7 ± 1.1 vs 37.5 ± 0.4 , $p < 0.01$). La tasa de ovulantes fue similar a la del grupo testigo, pero el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó significativamente (9.9 ± 0.8 vs 7.1 ± 0.5 , $p < 0.05$). El peso absoluto de los ovarios y las adrenales disminuyó significativamente en los animales desnervados (30.9 ± 2 mg vs 36.5 ± 1.5 , $p < 0.05$; 26.9 ± 1.5 vs 34 ± 1.5 , $p < 0.05$). Estos resultados indican que la inervación noradrenérgica del ovario tiene un papel de tipo inhibitorio en la ovulación del animal prepúber.

El tratamiento con 8 u.i. de la gonadotropina sérica de la yegua preñada (PMSG) a ratas de 18 a 28 días de edad adelantó la edad de la apertura vaginal, que se produjo alrededor de las 72 horas postratamiento, excepto en aquellos inyectados a los 18 días, en los que ésta se produjo a las 96 horas. La tasa de animales ovulantes aumentó conforme el animal alcanza la madurez (18 días 0/12; 21 días 2/9; 24 días 6/12; 28 días 9/10). En los animales tratados a los 24 días de edad el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue mayor que en los tratados a los 28 días y en los autopsiados en el día del primer estro vaginal espontáneo (12.0 ± 1.0 vs 6.8 ± 0.4 y 7.5 ± 0.5 , $p < 0.01$). El peso de los ovarios y del útero aumentó significativamente en los animales tratados con PMSG independientemente de la edad en que fueron inyectados. Estos resultados indican que la capacidad de respuesta ovulatoria es una función de la edad del tratamiento.

En los animales con desnervación noradrenérgica periférica tratados con PMSG a los 18 días, se observó retraso de la edad de la apertura vaginal (24.7 ± 0.3 días vs 21.9 ± 0.1 , $p < 0.05$) y del primer estro (24.7 ± 0.3 vs 22.0 ± 0.0 , $p < 0.05$) respecto al grupo tratado solamente con la hormona.

Cuatro de los nueve animales desnervados y tratados con PMSG ovularon vs 0/12 en los tratados sólo con la hormona, $p < 0.05$). El peso absoluto de los ovarios y del útero fue menor en los animales desnervados que en los normales. Por lo anterior se puede suponer que en la rata prepúber, la información noradrenérgica que se origina en el ovario actúa de manera inhibitoria sobre el mecanismo de retrocontrol de los estrógenos que culmina con la ovulación.

La administración de 75 ug de testosterona al nacimiento o a los 5 días de edad no modificó ninguno de los parámetros estudiados. En cambio, en los animales inyectados con 75 ug de propionato de testosterona (PT) a los 5 días de edad se observó disminución del peso corporal (93 ± 4.8 g vs 114 ± 2.5 , $p < 0.05$), adelanto de la edad de la apertura vaginal (34.0 ± 1.1 días vs 37.9 ± 0.5 , $p < 0.05$) y del primer estro vaginal (34.7 ± 1.1 vs 38.5 ± 0.6 , $p < 0.05$). La tasa de animales ovulantes fue menor (3/11 vs 27/30, $p < 0.05$), pero el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar (8.7 ± 1.9 ovocitos vs 8.3 ± 0.4). El peso de los ovarios y del útero disminuyó significativamente en los animales tratados al día 5 de edad.

Todos los animales desnervados tratados con 75 ug de PT al nacimiento, abrieron vagina vs 0/10 de los intactos con igual tratamiento, $p < 0.01$, aunque con retraso respecto al grupo testigo (51.3 ± 0.9 días vs 37.9 ± 0.5 , $p < 0.05$). Además, 4/7 ratas ovularon en el día del primer estro vaginal comparado con 0/10 ($p < 0.05$) de los sólo androgenizados. El peso absoluto de los órganos disminuyó respecto a los animales androgenizados. Con base en estos resultados se puede concluir que la masculinización de los mecanismos que regulan la secreción hormonal que culmina con la ovulación, implica la participación de la inervación noradrenérgica del ovario.

La tasa de animales ovulantes disminuyó en los tratados al nacimiento con 10 ug de estradiol (3/12 vs 27/30, $p < 0.05$). No se observaron cambios en el número de ovocitos liberados por animal ovulante, mientras que disminuyó el peso de los órganos. El tratamiento a los 5 días de edad provocó adelanto de la edad de la apertura vaginal (32.0 ± 1.3 días vs 37.9 ± 0.5 , $p < 0.05$) y el primer estro vaginal (32.5 ± 1.3 vs 38.5 ± 0.6). El peso de los órganos disminuyó significativamente.

La administración de 10 ug de benzoato de estradiol (BE) al nacimiento o a los 5 días de edad adelantó la edad de la apertura vaginal (Nacimiento = 26.9 ± 0.3 días, día 5 = 35.7 ± 0.6 vs 37.9 ± 0.5 , $p < 0.05$), mientras que la edad del primer estro se adelantó sólo en los animales tratados al nacimiento (27.9 ± 0.6 días vs 38.5 ± 0.6 , $p < 0.05$). Solamente ovuló 1/20. El peso de los órganos disminuyó, independientemente del día en que los animales fueron inyectados.

Los animales que fueron desnervados y tratados con estradiol al nacimiento presentaron adelanto en la edad de la apertura vaginal y del primer estro y disminución del peso absoluto de los ovarios

La desnervación noradrenérgica periférica en los

animales tratados con BE al nacimiento o a los 5 días de edad provocó adelanto de la edad de la apertura vaginal y del primer estro respecto a los animales tratados solamente con la hormona. Ninguno de los animales presentó ovulación. El tratamiento al nacimiento indujo disminución del peso absoluto de los ovarios (9.02 ± 0.6 mg vs 15.3 ± 1.6 , $p < 0.05$) y a los 5 días de edad disminución del peso de los órganos cuantificados. A partir de estos resultados se puede argüir que el aumento brusco de las concentraciones plasmáticas de andrógenos y estrógenos afectan de manera diferente los mecanismos que regulan la ovulación, y que a diferencia de lo observado en los animales tratados con propionato de testosterona, las acciones de los estrógenos no son afectadas por la desnervación noradrenérgica periférica.

Vistos en conjunto, los resultados del presente estudio apoyan la idea de que la inervación noradrenérgica del ovario tiene un papel de tipo inhibitorio en la capacidad ovulatoria del animal prepúber y que por otro lado, dicha inervación modula de manera estimulante el crecimiento del ovario y la secreción de estrógenos. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo del animal androgenizado o estrogenizado sugiere que el grado de alteración de los mecanismos que regulan la ovulación depende del tiempo de acción de las hormonas gonadales sobre sus efectores y parcialmente de la inervación noradrenérgica del ovario.

INTRODUCCION

PUBERTAD

El término pubertad define la fase biológica del individuo en la que ocurren una serie de eventos neuroendócrinos y fenotípicos que enlazan la inmadurez con la madurez sexual (23), o la fase biológica que une a la inmadurez con la madurez sexual en donde se alcanza el estado de desarrollo psicosexual y la capacidad de reproducirse (72) o la fase de desarrollo sexual secundario el cual culmina con la fertilidad (41, 70).

En la regulación de los eventos que culminan con la pubertad participan la información genética del individuo, la nutrición, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales (como el fotoperíodo en el que se desarrollan los animales). La edad de la pubertad varía entre las especies y ocurre tan temprano como al mes en el criceto, entre 1 y 2 meses en el ratón, entre 1 y 3 meses en la rata, o tan tardía como a los 8 años en el chimpancé o entre los 12 y 13 años en el hombre (33, 72).

Durante la pubertad ocurren tanto cambios neuroendócrinos como modificaciones en las funciones de las gónadas y otras glándulas endócrinas. A su vez, las hormonas gonadales inducen cambios en la apariencia fenotípica del individuo, es decir, que aparecen las características sexuales secundarias (41, 70, 72).

En los animales de experimentación es difícil de mostrar la secuencia ordenada de las características que marcan la pubertad en el hombre. Según Ramaley (70) en la rata hembra o macho, la pubertad se inicia entre los 15 y 20 días de edad, con el comienzo del desarrollo de los folículos o de la espermatogénesis, respectivamente. En la hembra, el inicio de la pubertad se caracteriza por la canalización de la vagina, precedida por la hinchazón y el cambio de color de la membrana vaginal.

En la rata, la canalización de la vagina es estimulada por los estrógenos y es la característica sexual secundaria más llamativa. Habitualmente ocurre el día posterior a la primera liberación preovulatoria de las gonadotropinas. Uno o dos días después de haberse producido la apertura vaginal, se presenta la ovulación y el comportamiento sexual de estro. En algunas cepas de ratas la citología vaginal muestra células cornificadas (estro vaginal) en ese día (41, 70, 72).

FASES PERIPUBERALES

Con base en parámetros morfológicos y fisiológicos, la etapa previa a la pubertad de la rata hembra se ha dividido en 4 fases (63):

- 1) Neonatal. Se inicia al nacimiento y termina a los 7 días de vida posnatal.
- 2) Infantil. Se extiende desde el día 8 al 21.
- 3) Prepúber o juvenil. Termina alrededor de los 30-32

días de edad. El límite más preciso es que se presenten las primeras manifestaciones del aumento de la actividad estrogénica, expresada por la presencia de líquido en la luz del útero (61). El final de la fase juvenil puede ser considerado por el establecimiento de diferencias matutinas y vespertinas en la liberación pulsátil de la hormona luteinizante (LH) (83, 84, 85).

4) Peripuberal. Tiene una duración variable o incluye los días que preceden y suceden a la primera ovulación.

FASE NEONATAL

En la fase neonatal, el ovario es relativamente insensible a las gonadotropinas, por lo menos hasta los cuatro o cinco días y no secreta estrógenos. Al parecer, la falta de respuesta del ovario a las gonadotropinas se debe al bajo contenido de receptores gonadotrópicos o a la deficiencia de enzimas esteroidogénicas (38).

La ovariectomía en el animal recién nacido no provoca el aumento de las concentraciones plasmáticas e hipofisarias de las gonadotropinas, por lo que los efectos inhibitorios que en el animal adulto ejercen los estrógenos sobre la secreción de las gonadotropinas, no son efectivos en esta fase de la vida. Esta falta de respuesta no se debe a la ausencia de receptores a estrógenos en el hipotálamo y la hipófisis, sino a la presencia de la alfa-fetoproteína en concentraciones elevadas en el suero y los tejidos. La alfa-fetoproteína es una molécula que tiene la capacidad de enlazar ávidamente a

los estrógenos e impedir que estén disponibles para unirse a sus receptores. Este hecho permite postular que la alfa-fetoproteína protege al cerebro de cantidades excesivas de estrógenos y regula la disponibilidad de éstos, a los sistemas neuronales sensibles a ellos (63).

En el folículo ovárico de la rata después de los cuatro días de edad, la hormona estimulante del folículo (FSH) estimula la conversión de testosterona a estrógenos (38). Esto se debe a que la FSH induce la síntesis o la expresión de sus receptores desde los cuatro hasta los 16-20 días de edad. Los estrógenos estimulan el inicio de la foliculogénesis ya que la administración de antisuero a estrógenos durante esta fase provoca la disminución significativa del diámetro de los folículos y el peso de los ovarios (70).

Por otro lado, las gonadotropinas son esenciales para mantener el desarrollo folicular. Al final de la fase neonatal, en respuesta a la administración de gonadotropinas el ovario crece y secreta estrógenos (63, 70).

FASE INFANTIL

Se postula que en la fase infantil ocurren una serie de cambios en el eje sistema nervioso central-hipófisis que representan los primeros eventos neuroendócrinos que se producen y tienen un impacto directo sobre el momento en el que se inicia la pubertad (63). Las concentraciones séricas de la FSH incrementan hasta alcanzar valores máximos

alrededor del día 12 y declinan progresivamente hasta llegar a valores muy bajos poco antes del primer proestro. La FSH induce la actividad aromatásica del ovario lo que se traduce en la liberación de estrógenos (63).

Mientras que la concentración de la FSH plasmática parece que se eleva de manera tónica, el incremento en la concentración sérica de la LH es de tipo pulsátil (28). Este modelo de secreción de la FSH y la LH que caracteriza a la fase infantil de la rata hembra, puede ser interpretado como el reflejo de los eventos de maduración que ocurren en el sistema nervioso central (SNC) y la adenohipófisis y se asume que los estrógenos juegan un papel definitivo en la modulación de tales eventos (63).

Hacia el día 16 de edad disminuye la concentración sérica de la alfa-fetoproteína y por lo tanto aumenta la concentración de estrógenos libres en la circulación y en el SNC (9). Este cambio posibilita que los estrógenos ejerciten su acción inhibitoria, lo que puede explicar la disminución de la concentración de la FSH plasmática después del día 12 de vida posnatal (10).

En la rata hembra adulta, la concentración plasmática de la FSH es regulada por los efectos de los esteroides sexuales y la foliculoestatina o inhibina, proteína que inhibe la secreción de la FSH y que se encuentra en el líquido folicular de los folículos ováricos. Se puede argumentar que la disminución de la secreción de la FSH después del día 12 de edad, es el resultado del efecto combinado del aumento en

la concentración de estradiol libre y de la producción de la foliculoestatina por los folículos que están madurando (70).

Conforme aumenta el número de folículos en crecimiento también lo hace la concentración plasmática de estradiol, lo que es seguido de un breve incremento en la liberación de progesterona alrededor del día 15 de edad, que declina antes de que termine la fase infantil. Durante esta fase el útero se vuelve sensible a la estimulación estrogénica (61).

Existen evidencias de que los ovarios presentan un modelo bifásico de esteroidogénesis. En las fases neonatal, infantil y después de la pubertad, los principales esteroides C-19 formados por el ovario a partir de la progesterona, son la androstenediona y la testosterona. Entre los 20 y 28 días de edad (final de la fase infantil y durante la juvenil) los principales esteroides C-19 que se producen son productos 5 α -reducidos como la androsterona y el 5 α -androstano-3 α , 17 β -diol. Dado que en la rata inmadura existen altas concentraciones plasmáticas de estos compuestos, se sugiere que durante esta fase participan en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (11, 28, 63, 70).

Debido a que en la fase infantil los ovarios de la rata producen androstenediona y testosterona, se sugiere que el inicio de la retroalimentación inhibitoria ejercida por los esteroides sobre la secreción de las gonadotropinas, se realiza por intermedio de los andrógenos aromatizables. No se conoce si el efecto de la testosterona es debido a su capacidad androgénica o porque es aromatizada a estrógenos en

el hipotálamo (11). Sin embargo, se ha observado que entre los 16 y 20 días de vida posnatal es necesario que aumente la secreción de esteroides para que aumente la secreción de la LH (61).

FASE JUVENIL

En la fase juvenil desaparece la secreción pulsátil de la LH, disminuyen las concentraciones plasmáticas de la FSH y sobre todo las de la alfa-fetoproteína y hay más estrógenos libres (63).

Con el inicio de la fase juvenil o prepúber (día 22 de edad) el animal responde al aumento de las concentraciones plasmáticas de estrógenos, con la liberación de la LH en cantidades similares a las del proestro (12). En este tiempo, la secreción tónica de las gonadotropinas es regulada de manera inhibitoria por los estrógenos, los que reemplazan a los andrógenos aromatizables que jugaban un papel predominante durante la fase infantil, aunque los andrógenos siguen contribuyendo en menor magnitud a este control.

Por otro lado, aún cuando en esta fase se presentan ondas de crecimiento y atresia folicular, los folículos todavía no alcanzan el estado ovulatorio. La adquisición de esa capacidad en el momento de la pubertad está regulada por múltiples factores hormonales y neurogénicos que operan bajo la dirección del SNC (63).

Además de la FSH y la LH, la adenohipófisis secreta otras dos hormonas, la prolactina y la hormona de crecimiento

o somatotropina, las cuales juegan un papel determinante en la pubertad de la rata hembra. Al inicio de la fase juvenil, la secreción de ambas hormonas es baja pero va incrementando gradualmente (28, 62).

La administración de prolactina provoca el adelanto del inicio de la pubertad por sus efectos sobre el SNC y el ovario. En este último, la prolactina favorece el desarrollo folicular y aumenta la secreción de estrógenos en respuesta a las gonadotropinas ya que facilita la acción de la LH porque mantiene o incrementa la formación de receptores a ésta, o por ambos factores. Poco se conoce del mecanismo por el que la prolactina actúa sobre el SNC ya que los resultados son discutibles (61, 63).

Al inicio de la fase juvenil la prolactina se libera cada tres horas, con una secreción mayor a media tarde y durante las horas tempranas de la mañana. Conforme el animal alcanza el final de esta fase desaparece el incremento nocturno en la concentración plasmática de la prolactina al tiempo que es más prominente en la tarde (hacia la tercera semana de vida posnatal). Se ha sugerido que los cambios vespertinos en la secreción de la prolactina se inician en el SNC por un mecanismo que es independiente de las gónadas, pero cuya señal es amplificada por los estrógenos (63).

Los cambios significativos en la concentración de la hormona de crecimiento que precede por varios días a la liberación de las gonadotropinas, que acompañan normalmente el inicio de la pubertad, sugieren que esta hormona puede

jugar un papel fisiológico en el control de dicho proceso (62). La inhibición de su liberación retrasa el inicio de la pubertad, lo cual no está relacionado con cambios en el peso corporal, pero provoca retraso en el desarrollo ovárico.

Al igual que la prolactina, la hormona de crecimiento puede actuar sobre el ovario donde aumenta la secreción de hormonas esteroides en respuesta a la estimulación gonadotrópica (2). En cultivo de células de la granulosa de ovarios de ratas inmaduras hipofisectomizadas se ha demostrado que la hormona de crecimiento facilita la capacidad de la FSH para inducir la síntesis o expresión de receptores a la LH y para estimular la secreción de progesterona. Sin embargo, la hormona de crecimiento también facilita el efecto estimulador del AMPc sobre la secreción de progesterona, lo que indica que actúa principalmente estimulando la función de las células de la granulosa. Así, durante la fase juvenil el ovario madura principalmente bajo la influencia estimuladora de la FSH y la LH, y de manera complementaria por los efectos estimulantes de la prolactina y la hormona de crecimiento (61, 63).

FASE PERIPUBERAL

Conforme se alcanza la pubertad los ovarios adquieren gradualmente la capacidad para secretar estrógenos en respuesta a la estimulación gonadotrópica (63). Este cambio está asociado íntimamente con dos eventos. El primero, es un incremento en los receptores a la LH, que aunque ya se

manifestó durante el desarrollo de la fase infantil, es más pronunciado a la cuarta semana de vida. El segundo, es una disminución en el número de receptores a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que se inicia durante la segunda mitad de la fase juvenil (27) y es más evidente durante los días que acompañan a la primera ovulación. Dado que la GnRH inhibe la función gonadal se puede sugerir que la disminución en el contenido de receptores a la GnRH refleja una disminución de la influencia inhibitoria del péptido sobre el desarrollo folicular. Así, el incremento simultáneo de los receptores a la LH provee la amplificación necesaria para su acción estimuladora (63).

Aunque el inicio de la pubertad está determinado por múltiples factores interrelacionados, algunos de los cuales tienen su origen durante la fase infantil, las manifestaciones neuroendócrinas del proceso se vuelven evidentes después de la cuarta semana de vida. En este tiempo (fase peripuberal) las concentraciones plasmáticas de la prolactina y la hormona de crecimiento incrementan significativamente respecto a las observadas durante la fase juvenil, lo mismo que la secreción de estrógenos por el ovario en respuesta al estímulo gonadotrópico (2, 62, 63).

Los cambios diurnos en el patrón de secreción de la LH que no son detectables en ratas juveniles de 22 a 24 días de edad, son demostrables en las de 28 a 29 días y son claramente evidentes entre los 35 y 39 días de vida. Alrededor de la quinta semana de vida posnatal aumenta la

magnitud de los pulsos vespertinos, así como la liberación de la LH basal, lo que estimula la secreción de los esteroides (84). Esta conclusión deriva de experimentos realizados in vitro con ovarios de ratas inmaduras perfundidos con una concentración tónica de la FSH y pulsos de la LH, con una amplitud similar a lo observado en los animales intactos en la mañana o en la tarde de la fase peripuberal. Bajo estas condiciones, los ovarios respondieron a los pulsos vespertinos de la LH, con aumento de la secreción de estradiol y progesterona (83).

En los animales peripuberales también se ha registrado otro cambio adicional en la secreción de la LH que consiste en la secreción episódica que se da por una o dos horas, denominada "miniaumento" y que es dependiente de estrógenos (85). Estos miniaumentos a su vez estimulan la producción de estradiol por el ovario, lo que indica que la secuencia de eventos hormonales que permite la primera liberación preovulatoria de gonadotropinas es iniciada por los cambios vespertinos de la liberación pulsátil de la LH.

El incremento en la concentración plasmática de la LH estimula la producción de estradiol por el ovario, lo que a su vez evoca los miniaumentos en la secreción de la LH. La estimulación del ovario por el efecto combinado de los pulsos vespertinos de LH incrementados y los miniaumentos, llevan a que las concentraciones de estradiol alcancen una magnitud y duración suficiente como para estimular la primera liberación preovulatoria de gonadotropinas (64).

El hecho de que concentraciones preovulatorias de estradiol puedan estimular la liberación de la LH, tan temprano como cuando se inicia la fase juvenil (día 21), parece indicar que el tiempo de la pubertad depende de que el ovario adquiera la capacidad de producir concentraciones de estradiol de magnitud preovulatoria. En contraste, el cambio en la liberación de la LH pulsátil, que señala el inicio de la pubertad, es originado centralmente y es un evento independiente de las gónadas. Esta es una conclusión que se deriva del análisis del perfil pulsátil de la LH en animales ovariectomizados durante las fases de desarrollo juvenil o peripuberal. En estos experimentos, cuando los animales alcanzaron una edad mayor, la secreción de la LH total presentó un incremento considerable (64).

El incremento en la secreción de la GnRH induce el aumento en la secreción de las gonadotropinas, las que a su vez estimulan la respuesta ovárica, que se refleja por el aumento de la concentración plasmática de estrógenos. Por otro lado, la secreción de progesterona que aumenta al final de la fase prepúber, sigue incrementándose también en la fase peripuberal y estimula la liberación de la GnRH. Todos estos eventos inducen la aceleración del crecimiento y la maduración folicular que culmina con la ovulación (1, 35). Con base en lo mencionado, se puede afirmar que la pubertad es el resultado de la integración final de varios procesos que se desarrollan en diferentes fases durante la inmadurez.

INERVACION

Generalmente se asume que la actividad cíclica del ovario, la síntesis de esteroides, el crecimiento folicular, la selección de los folículos preovulatorios y la ovulación están controlados hormonalmente por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Sin embargo, estudios de diversos autores permiten sugerir que, además de las gonadotropinas y de las hormonas ováricas, la inervación ovárica participa en la regulación de varios aspectos de su función, modulando su reactividad a la acción de las gonadotropinas y enviando información de su funcionamiento hacia el SNC, donde el conjunto de informaciones es procesada por el hipotálamo y tiene como resultado, la modificación de la secreción de la GnRH (26, 31).

La vinculación neural directa entre el hipotálamo y el ovario, estaría mediada por vías nerviosas que salen e ingresan a la médula espinal al nivel de T-10, T-11 y T-13, L-1 y L-6 y S-1 y S2 (26, 55).

Los nervios adrenérgicos que llegan al ovario provienen del plexo ovárico (que sigue el trayecto de la arteria ovárica) y del nervio ovárico superior (que es una rama del plexo celíaco y transcurre por el borde superior del ligamento suspensorio). Ambos penetran al estroma por el hilio del ovario y llegan a las células del tejido muscular liso que rodean a la teca folicular externa, a la glándula intersticial y continúan a lo largo de los vasos sanguíneos. Las fibras noradrenérgicas están presentes en todos los

estados de desarrollo folicular, pero no entran en contacto directo con las células de la granulosa o del cuerpo lúteo (26, 60).

Las catecolaminas del ovario provienen de cuatro fuentes: las circulantes, que se secretan en la médula suprarrenal [adrenalina]; las liberadas en las terminaciones nerviosas adrenérgicas, noradrenalina (NA); las sintetizadas por las células de la granulosa (NA) y las secretadas por las células cromogranulinas (30).

La participación de la inervación del ovario en la regulación de su función ha sido estudiada utilizando diferentes metodologías, que incluyen la medición de las concentraciones de neurotransmisores y los efectos de la desnervación, tanto quirúrgica como farmacológica.

En el ovario intacto de la rata prepúber la concentración de NA aumenta desde los 20 a los 35 días de edad, lo que se acompaña de la disminución significativa de la concentración de la FSH plasmática (14, 21, 22). El contenido de receptores β -adrenérgicos se duplica en los días cercanos al primer proestro, disminuye drásticamente en la tarde de ese día y permanece bajo en el día del primer estro (7).

Por otro lado, la extirpación de la médula adrenal en el animal prepúber retrasa la edad de la apertura vaginal, provoca alteraciones del ciclo estral y disminución del número de ovocitos liberados (5). En animales de 24 días de edad la sección bilateral del nervio ovárico superior provoca

disminución en el contenido de NA ovárica, aunque no modifica la edad de la pubertad ni de la primera ovulación, lo que sugiere que las fibras noradrenérgicas que llegan al ovario por esta vía regulan de manera estimulante la capacidad de síntesis de hormonas esteroides, mientras que la cantidad de receptores en el ovario del animal prepúber facilita su respuesta a las gonadotropinas (3, 4).

La desnervación farmacológica se ha realizado por la administración de drogas que pueden potenciar o bloquear el estímulo del neurotransmisor en la sinapsis. La guanetidina es un bloqueador noradrenérgico exclusivamente periférico, ya que no atraviesa la barrera hematoencefálica, por lo que los efectos observados serían en principio la resultante de la falta de la comunicación nerviosa entre el SNC y el ovario (8, 49, 51, 55, 57, 59).

La administración crónica de guanetidina a ratas adultas altera el ciclo estral y disminuye el número de ovocitos liberados en forma espontánea (13, 32). En estos animales, la respuesta ovulatoria y el aumento del peso del ovario al estímulo secuencial con la FSH y la LH es semejante al de los animales testigo (13), mientras que en aquellos estimulados con gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG) y 56 horas más tarde con gonadotropina coriónica humana (hCG), los resultados dependen del tiempo transcurrido entre la finalización del tratamiento con guanetidina y la prueba ovulatoria (32). Estos hechos permiten sugerir que la desnervación del órgano, altera su reactividad tanto a las

gonadotropinas endógenas como exógenas (32).

Otra prueba de la participación del sistema noradrenérgico periférico en la regulación de la ovulación ha sido obtenida en el modelo del animal hemicastrado con autoinjerto de ovario. El ovario autoinjertado en la rata adulta hemicastrada no ovula de manera espontánea (31), ni en respuesta a la administración secuencial de FSH-LH (13); sin embargo, cuando estos animales son tratados con guanetidina, el autoinjerto ovula en respuesta a la administración secuencial de FSH-LH.

En el ratón prepúber la desnervación noradrenérgica desde el nacimiento por la administración de guanetidina, posibilita que la administración de PMSG a los 16 días de edad induzca la ovulación, hecho que no sucede en los animales intactos (75). Estos resultados nos permiten sugerir que el papel de la inervación noradrenérgica del ovario depende de la edad del animal, de la especie y de las condiciones neuroendócrinas del mismo.

ANDROGENIZACION

Desde los ya clásicos trabajos de Pfeiffer (66, 67, 68) y de Barraclough (16, 17), se sabe que los mecanismos que regulan la secreción de la LH son diferentes en la hembra y en el macho. Estas diferencias no parecen depender exclusivamente de la información genética de cada sexo, sino que están vinculadas a las acciones que las hormonas testiculares ejercen sobre los centros nerviosos durante su

proceso de maduración (especialmente hipotalámicos) y cuya diferenciación se realiza durante la etapa posnatal inmediata.

Durante el desarrollo temprano de la rata macho, la falta de andrógenos testiculares, sea por castración o por la administración de antiandrógenos, da como resultado el modelo de secreción de las gonadotropinas de tipo cíclico o "fásico" característico de la hembra. Esto se demuestra por el hecho de que si a un macho castrado al nacimiento se le injerta un ovario y un trozo de vagina, cuando el animal alcanza la vida adulta, el injerto de ovario presenta signos de ovulación y el epitelio vaginal muestra los cambios típicos del ciclo estral. Lo mismo sucede si se castra una rata hembra recién nacida y se le injertan ovarios cuando el animal alcanza la vida adulta. Así, la ausencia del ovario durante el desarrollo temprano no modificó el modelo de liberación cíclico de las gonadotropinas (34, 68).

El injerto de testículo de animales recién nacidos en ratas hembras de la misma edad, induce la aparición pospuberal de un cuadro caracterizado por estro vaginal persistente, ovario poliquístico, falta de ovulación (ausencia de cuerpos lúteos) y esterilidad permanente, denominado Síndrome de Androgenización. También se ha mostrado que la administración de preparaciones de testosterona provocan los mismos efectos de las secreciones testiculares sobre la diferenciación del sistema de regulación de la secreción de las gonadotropinas. Resultados

similares se obtienen por la administración de testosterona, androstenediona o propionato de testosterona (16, 18, 24, 44, 68, 80).

Barraclough (16) al analizar los efectos de la administración de una sola dosis de propionato de testosterona a ratas hembras de diferentes días de edad, muestra que existe una "fase crítica" o de máxima susceptibilidad para provocar la masculinización del modelo de liberación de las gonadotropinas y que ocurre dentro de los primeros 5 días de vida posnatal. En 1970, a partir de los datos de Harris (45) se sugiere que en las ratas, la máxima sensibilidad a los efectos masculinizantes de las secreciones testiculares sobre la regulación de la secreción de las gonadotropinas ocurre dentro de los tres primeros días de vida posnatal. Cuando castran ratas macho en el primer día de edad y posteriormente en la etapa adulta realiza un trasplante intraocular de tejido ovárico, el trasplante muestra evidencias de ovulación en 58 de 61 casos. Cuando la castración la realiza en el día dos, la tasa es de 7 de 33 y cuando se produce en el tercer día o posterior a éste, la tasa es de cero de 33. Estos datos sugieren que las secreciones de los testículos masculinizan a los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas más efectivamente dentro de las primeras 24 horas de nacimiento, aún cuando la administración de grandes dosis de andrógenos pueda provocar masculinización en la mayoría de los animales dentro de los primeros cinco días de edad.

ESTROGENIZACION

Estudios posteriores han mostrado que los andrógenos capaces de inducir la diferenciación sexual de los mecanismos de regulación de la secreción gonadotrópica, son aquellos que pueden ser aromatizados y convertidos a estrógenos. Esto se basa en el hecho de que una inyección de una preparación de estradiol, a ratas hembras neonatales, también causa esterilidad anovulatoria, conocido como Síndrome de Estrogenización o desfeminización, con pérdida de la capacidad de liberar la GnRH de manera cíclica en respuesta al estímulo con estrógenos y de la capacidad de presentar respuesta de lordosis (34, 42). Esta hipótesis también es apoyada por el hecho de que la inyección de un antiestrógeno sintético bloquea la acción masculinizante de los andrógenos sobre el modelo de secreción de las gonadotropinas (53). Los andrógenos que pueden ser convertidos a estrógenos (andrógenos aromatizables) son más efectivos que los andrógenos no aromatizables en la inducción de la virilización del sistema regulador de las gonadotropinas (54).

Es necesario considerar, sin embargo, que los andrógenos no aromatizables son capaces de unirse a los tejidos neurales e hipofisarios que están involucrados en la regulación de la secreción gonadotrópica (79) y que la 5-alfa dihidrotestosterona (andrógeno no aromatizable) puede afectar permanentemente el sistema de liberación de las

gonadotropinas (39). En la rata hembra recién nacida, la androgenización o la estrogenización provocan cambios diferentes en el crecimiento folicular y en el peso de los ovarios (37, 56), aún antes de que se observen cambios en las concentraciones plasmáticas de la FSH (82).

Estos hechos llevan a plantear que en el proceso de desfeminización hipotalámica, no sólo los andrógenos que se aromatizan son importantes, sino que aquellos que no lo hacen también participan en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas. Asimismo, que los efectos de los andrógenos o de los estrógenos no sólo son a nivel central sino que posiblemente también son sobre la gónada.

INERVACION Y DIFERENCIACION SEXUAL DE LA REGULACION DE LA SECRECION DE LAS GONADOTROPINAS

En los diferentes modelos experimentales en los que se utilizan a los roedores como modelo de estudio, aún no ha sido dilucidada la participación de los sistemas de neurotransmisores en el proceso de diferenciación sexual para explicar los cambios que se suceden en los mecanismos de regulación de la secreción hormonal.

El sistema noradrenérgico que inerva al hipotálamo es fundamental para explicar la regulación de la secreción de la LH, principalmente en el día del proestro (19, 20). En los animales tratados con propionato de testosterona dentro de las primeras 36 horas de vida, en el momento en que ha desarrollado el Síndrome de androgenización, la concentración

de NA en el hipotálamo está disminuida en comparación con los animales testigo en el día del estro. Sin embargo, la administración de testosterona durante la fase posnatal inmediata, provoca elevación de la concentración de NA en el hipotálamo (74) y el bloqueo de la síntesis de NA con DL-alfa-metil-p-tirosina impide el desarrollo del Síndrome de androgenización, por lo que la elevación inicial de las concentraciones del neurotransmisor sería una de las causas de las alteraciones posteriores. Esta interpretación es apoyada por el hecho de que la administración de testosterona a la rata hembra recién nacida, provoca la disminución de la concentración de la catecolamino-o-metil-transferasa, enzima que inactiva la NA en el espacio sináptico (50).

FUNDAMENTO DEL PROYECTO

Dado que la inervación catecolaminérgica del ovario modula la reactividad del órgano a las gonadotropinas y que el papel de esta inervación parece depender de la edad del animal, se decidió estudiar si el sistema noradrenérgico periférico participa en la regulación de la pubertad de la rata hembra, para lo que se analizaron los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica, producida por medios farmacológicos, durante la etapa peripuberal.

Dado que durante el proceso de diferenciación sexual de los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas:

1- se presentan modificaciones en el sistema

catecolaminérgico del SNC,

2- que éste sistema es influido por las hormonas sexuales,

3- que la secreción de los esteroides sexuales por el ovario es modulado por la inervación noradrenérgica del órgano,

4- que en el animal recién nacido, la administración de andrógenos o estrógenos modifica el patrón de la secreción de las gonadotropinas y la reactividad del ovario a las mismas y

5- que los efectos que ejercen los esteroides sexuales sobre el SNC dependen de la naturaleza de la hormona en estudio y

de la edad del animal a la que se le trata,

se decidió comparar los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre las acciones masculinizantes

o desfeminizantes que produce la administración de andrógenos o estrógenos con diferente vida media plasmática, cuando son

administrados a la rata hembra recién nacida o al final de la fase neonatal.

HIPOTESIS

En el animal prepúber, la inervación noradrenérgica del ovario modula de manera inhibitoria la sensibilidad del folículo a las gonadotropinas. Los efectos de las hormonas gonadales sobre el desarrollo de los síndromes de masculinización y desfeminización inducidos por las hormonas esteroideas gonadales, dependen del tiempo de permanencia de éstos en la circulación plasmática y de las modificaciones que ejerzan sobre la inervación del ovario.

OBJETIVOS

Estudiar la participación del sistema noradrenérgico periférico sobre los mecanismos neuroendócrinos que regulan la pubertad y la ovulación espontánea e inducida en la rata hembra.

Estudiar la participación del sistema noradrenérgico periférico en los efectos masculinizantes de los andrógenos de vida media plasmática corta y larga, inyectados a la rata hembra neonatal, sobre la pubertad.

Estudiar la participación del sistema noradrenérgico periférico en los efectos desfeminizantes de los estrógenos de vida media plasmática corta y larga, inyectados a la rata hembra neonatal, sobre la pubertad.

MATERIALES Y METODOS GENERALES

Se utilizaron ratas hembra de la cepa C II Z-V de diferentes edades, mantenidas en fotoperíodo controlado de 14 horas de luz (05:00-19:00 h) y 10 horas de oscuridad, que tuvieron acceso libre a la madre hasta el día del destete (21 días de edad) y luego al alimento y al agua.

La PMSG, hCG, el benzoato de estradiol, 17 β -estradiol, propionato de testosterona y la testosterona utilizados en este trabajo, fueron obtenidas de Sigma Chemical Co., St. Louis Mo., EE.UU. La guanetidina fue un obsequio de Ciba-Geigy de México.

Los fármacos o soluciones utilizados en las diferentes experiencias, fueron inyectados por vía subcutánea entre las 09:00 y 11:30 h. Como grupos de comparación se utilizaron animales tratados con el vehículo y animales sin tratamiento. A los animales se les registró el día de la apertura vaginal, el que fue considerado como pubertad. A partir de ese día se tomaron frotis vaginales y los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal, salvo que se especifique lo contrario.

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Los animales fueron sacrificados por decapitación. A la autopsia se disecaron los oviductos, se buscó la presencia de ovocitos, los que fueron contados en un microscopio estereoscópico. Se disecaron los ovarios, las adrenales y el

útero y se pesaron en balanza de precisión. El peso de los órganos se expresó en miligramos (peso absoluto) y en miligramos por 100 gramos de peso corporal (peso relativo).

Los ovarios fueron fijados en líquido de Bouin, incluidos en parafina, cortados en forma seriada a 10 μ m y teñidos con hematoxilina y eosina.

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

Los resultados del número de ovocitos, la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal fueron analizados por la prueba H de Kruskal-Wallis seguido de la de U de Mann-Whitney. En los casos en que se compararon dos grupos, el análisis se realizó por la prueba de "t" de Student. Los resultados del peso de los órganos fueron comparados por análisis de varianza multifactorial (ANDEVA) seguido por la prueba de Duncan. En los casos en que se compararon dos grupos se utilizó la prueba de "t" de Student. La tasa de animales ovulantes (número de animales ovulantes/total de animales tratados) fue evaluada por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o la prueba de chi cuadrada. En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en los que la probabilidad fue igual o menor al 0.05.

Dado que no se observaron diferencias significativas en la pubertad (edad de la apertura vaginal), la edad del primer estro vaginal, la tasa de ovulación, el número de ovocitos liberados por animal ovulante o el peso corporal de los

órganos entre los animales testigo absoluto y los tratados con vehículo, los resultados fueron combinados para formar un nuevo grupo testigo.

I. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA DESNERVACION NORADRENERGICA PERIFERICA, PRODUCIDA POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO SOBRE LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA PUBERTAD Y LA OVULACION ESPONTANEA EN LA RATA HEMBRA

1.1: Efectos de la deservación noradrenérgica periférica desde el nacimiento sobre la edad de la pubertad, del primer estro vaginal y la ovulación espontáneos

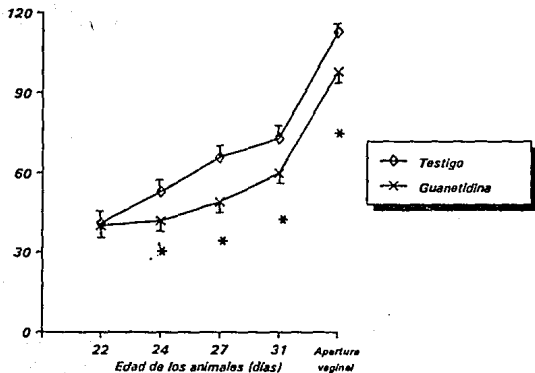
Para analizar si la inervación noradrenérgica periférica participa en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante la prepubertad y la pubertad, se estudiaron los efectos de la deservación noradrenérgica periférica inducida por la administración de guanetidina a partir del nacimiento.

Para ello, ratas hembra recién nacidas fueron tratadas de lunes a viernes con guanetidina (20 mg/kg p.c.) o con 0.05 ml de vehículo hasta la presencia del primer estro vaginal.

RESULTADOS

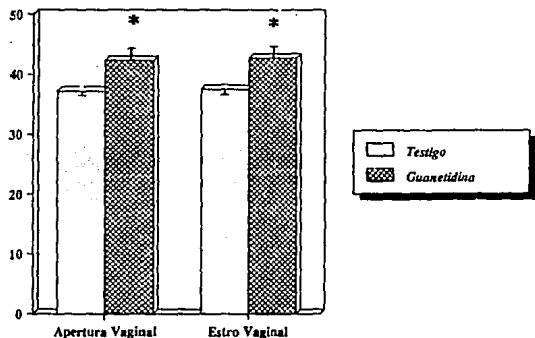
Los animales con deservación noradrenérgica periférica presentaron disminución del peso corporal y retraso de la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal (Figs. 1 y 2). La tasa de animales ovulantes fue similar a la del grupo testigo, pero el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó significativamente. Dicho aumento sólo fue significativo para el ovario derecho (Tabla 1).

Fig. 1: Peso corporal (g) de ratas Testigo o tratadas con Guanetidina, autopsiadas a diferentes edades



* $P < 0.05$ comparado con el Testigo (prueba de "t" de Student)

Fig. 2: Edad (días) de la apertura vaginal y del primer estro de animales Testigo o tratados con Guanetidina



* $P < 0.05$ comparado con el Testigo (Prueba de "t" de Student)

TABLA 1: TASA DE ANIMALES OVULANTES Y MEDIA \pm e.e.m. del NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR AMBOS OVARIOS (OVOCITOS TOTALES), POR EL OVARIO IZQUIERDO (O.I.) O EL OVARIO DERECHO (O.D.), EN ANIMALES TESTIGO O DESNERVADOS POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

GRUPO	Tasa ovulatoria	Ovocitos totales	Ovocitos O.I.	Ovocitos O.D.
Testigo	16/17	7.1 \pm 0.5	3.6 \pm 0.6	3.4 \pm 0.5
Desnervado	12/15	9.9 \pm 0.8*	4.8 \pm 0.9	5.2 \pm 0.5*

* P < 0.02 comparado con el grupo testigo (prueba de "t" de Student).

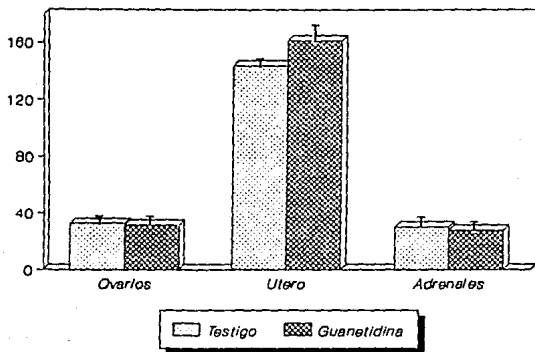
El peso absoluto de los ovarios y las adrenales fue menor en los animales desnervados que en los testigos. No se observaron diferencias significativas en el peso del útero (Tabla 2). Cuando los resultados se analizaron en función del peso corporal (peso relativo), estas diferencias desaparecen (Fig.3).

TABLA 2: MEDIA \pm e.e.m. del PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES, DE ANIMALES TESTIGO O DESNERVADOS POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

GRUPO	n	Ovarios	Utero	Adrenales
Testigo	17	36.5 \pm 1.5	163 \pm 6.2	34.0 \pm 1.5
Desnervado	15	30.9 \pm 2.0*	157 \pm 8.8	26.9 \pm 1.5*

* P < 0.05 comparado con el grupo testigo (prueba de "t" de Student).

Fig. 3: Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y las adrenales de animales Testigo y tratados con Guanetidina



Los resultados obtenidos en este experimento nos permiten afirmar que el crecimiento ponderal del animal depende de la inervación noradrenérgica periférica, aunque no sepamos sobre cual de los mecanismos de regulación es modulado por la inervación. La participación de la inervación noradrenérgica del ovario en la regulación de la ovulación, medida por el número de ovocitos liberados, es opuesta en el animal prepúber y el adulto. En la rata prepúber es de tipo inhibitorio, mientras que en el adulto es estimulatorio (13).

1.2: Efectos de la desnervación noradrenérgica periférica desde el nacimiento sobre la ovulación inducida en la rata prepúber

Con el propósito de analizar algunos de los mecanismos neuroendócrinos por los que inervación noradrenérgica del ovario regula de manera inhibitoria la ovulación, se plantearon las siguientes preguntas

- 1) ¿A partir de qué edad la administración de gonadotropinas induce la ovulación y si la desnervación noradrenérgica del ovario afecta este proceso?
- 2) ¿La desnervación noradrenérgica del ovario afecta el mecanismo de regulación estimulante que ejercen los estrógenos sobre la pubertad y la primera ovulación?

Para responder a éstas, se realizaron los siguientes experimentos:

1.2.1: Estudio de la respuesta ovulatoria de los animales de diferente edad al estímulo gonadotrópico

Ratas hembra de 18, 21, 24 o 28 días de edad fueron inyectadas con 8 u.i. de PMSG o con 0.05 ml del vehículo.

RESULTADOS

La edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal se adelantó en los animales tratados con PMSG. Los animales de 18 días no ovularon. La ovulación fue inducida en

los animales de 21 días o más y la tasa de animales ovulantes aumentó conforme a la edad en la que se aplicó el tratamiento. El número de ovocitos liberados por los animales ovulantes tratados a los 24 días de edad es mayor que el de los tratados a los 28 días de edad y al grupo testigo (Tabla 3).

El peso absoluto (Tabla 4) o relativo (Fig. 4) de los ovarios y del útero aumentó en los animales tratados con PMSG, independientemente de la edad del tratamiento, mientras que el peso de las adrenales sólo aumentó en los animales inyectados a los 28 días.

TABLA 3: TASA DE ANIMALES OVULANTES Y MEDIA \pm e.e.m. DE LA EDAD DE APERTURA VAGINAL, DEL PRIMER ESTRO VAGINAL (P.E.V.), Y DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DE RATAS PREPUBERES TRATADAS CON PMSG A DIFERENTES DIAS DE EDAD Y SACRIFICADAS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Edad de tratamiento (días)	A.V. (días)	P.E.V. (días)	Tasa de ovulantes	Número de ovocitos
T	36.7 \pm 0.3	36.9 \pm 0.3	10/11	7.5 \pm 0.5#
18	21.9 \pm 0.1*	22.0 \pm 0.0*	0/12	0
21	24.0 \pm 0.0*	24.0 \pm 0.0*	2/ 9	19, 10
24	27.0 \pm 0.0*	27.3 \pm 0.2*	6/12	12.0 \pm 1.0
28	31.0 \pm 0.0*	31.0 \pm 0.0*	9/10	6.8 \pm 0.4#

* P < 0.01 comparado con el grupo testigo (T) sacrificado al P.E.V. (prueba de H de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney).

P < 0.01 comparado con el grupo de animales tratados a los 24 días de edad (prueba H de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney).

TABLA 4: MEDIA \pm e.e.m. del PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO y LAS ADRENALES DE ANIMALES PREPUBERES TRATADOS CON PMSG A DIFERENTES DÍAS DE EDAD Y SACRIFICADOS EN EL DÍA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Edad de Tratamiento (días)	Ovarios	Utero	Adrenales
21 testigo	22.0 \pm 0.6	37 \pm 1.5	24.1 \pm 1.0
21 tratado	38.4 \pm 4.3*	134 \pm 11.0*	23.7 \pm 1.3
24 testigo	21.8 \pm 1.0	51 \pm 2.7	22.6 \pm 1.0
24 tratado	49.8 \pm 3.8*	122 \pm 6.7*	25.0 \pm 1.5
28 testigo	21.3 \pm 0.6	55 \pm 3.2	24.6 \pm 0.9
28 tratado	41.0 \pm 2.1*	118 \pm 3.1*	40.1 \pm 2.1*

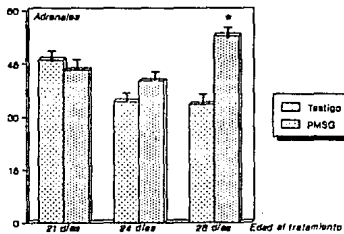
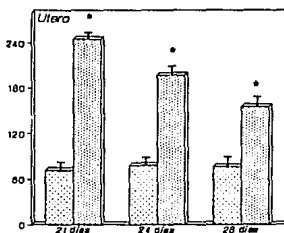
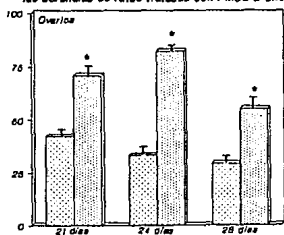
* P < 0.01 comparado con el grupo testigo sacrificado a la misma edad (prueba de "t" de Student).

1.2.2: Efectos de la desnervación noradrenérgica periférica desde el nacimiento sobre la respuesta ovulatoria inducida en ratas de 18 días de edad

Con base a los resultados obtenidos en el experimento anterior (1.2.1) ratas de 18 días de edad fueron inyectadas con 8 ui de PMSG y 56 horas más tarde con 10 ui de hCG. Otro grupo de animales de 18 días de edad fue inyectado con 10 ug de benzoato de estradiol.

Otros grupos de animales tratados con guanetidina desde el nacimiento con la misma dosis y secuencia que en el grupo 1.1, fueron inyectados a los 18 días de edad con PMSG, PMSG-hCG o con benzoato de estradiol y se continuó la administración de guanetidina hasta el día del primer estro vaginal.

* Fig. 4: Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y las adrenales de ratas tratadas con PMSG a diferentes días



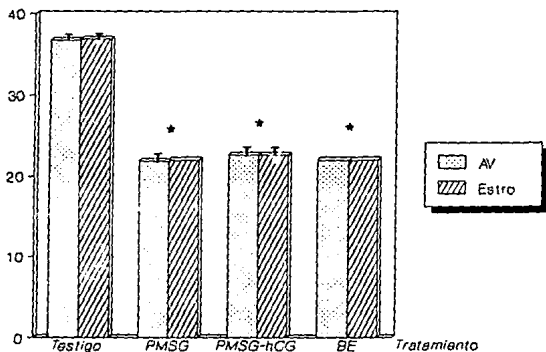
* P.G. de comparación con el Testigo de la misma edad (prueba de "t" de Student)

Los animales tratados fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal, mientras que los inyectados con vehículo y aquellos sin tratamiento, fueron sacrificados a las mismas edades que los respectivos grupos experimentales.

RESULTADOS

La edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal se adelantaron en los animales tratados con PMSG, PMSG-hCG o benzoato de estradiol (Fig. 5). Ninguno de los tratamientos indujo la ovulación. El peso de los ovarios aumentó significativamente en los animales tratados con PMSG o PMSG-hCG, mientras que el peso del útero aumentó en todos los animales tratados. El peso de las adrenales disminuyó significativamente en los animales tratados con PMSG o PMSG-hCG (Tabla 5).

Fig. 5: Edad (días) de la apertura vaginal y el primer estro de ratas de 18 días tratadas con diferentes hormonas



* $P < 0.05$ comparado con el Testigo (Prueba de "t" de Student)

TABLA 5: TASA DE ANIMALES OVULANTES y MEDIA \pm e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS A LOS 18 DIAS DE EDAD CON PMSG, PMSG-hCG O CON BENZOATO DE ESTRADIOL, SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

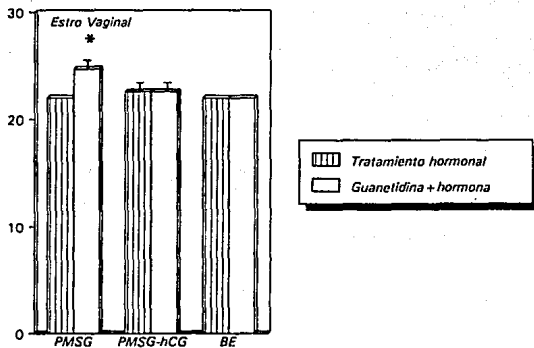
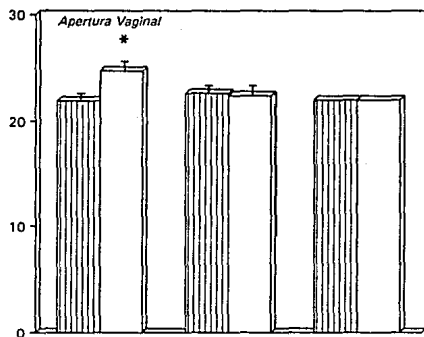
Grupo	Tasa ovulatoria	Número de ovocitos	Ovarios	Utero	Adrenales
Testigo	0/19	0	21.0 \pm 0.8	38 \pm 1.9	23.2 \pm 1.2
PMSG	0/12	0	29.6 \pm 1.6*	130 \pm 5.4*	19.6 \pm 0.7*
PMSG-hCG	0/ 7	0	56.6 \pm 2.6*	73 \pm 7.1*	17.7 \pm 1.5*
BE	0/11	0	21.5 \pm 0.7	54 \pm 3.5*	23.9 \pm 1.3

* P < 0.05 comparado con el grupo testigo (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

En comparación con los animales de 18 días tratados con PMSG, PMSG+hCG o benzoato de estradiol, en los animales tratados con guanetidina la apertura vaginal y el primer estro vaginal estuvieron retrasados cuando las ratas fueron tratadas con PMSG y no fueron modificados cuando se les administró PMSG-hCG o benzoato de estradiol (Fig. 6).

El 44% de los animales desnervados y tratados con PMSG a los 18 días ovularon y liberaron un promedio de 3.5 \pm 0.6 ovocitos por animal ovulante. El peso absoluto o relativo de los ovarios y del útero fue menor en los animales desnervados estimulados con la gonadotropina, que en los que sólo fueron tratados con ésta. En los animales tratados con PMSG, el peso absoluto de las adrenales fue menor que el del grupo testigo, pero cuando se expresa en función del peso corporal, este resultado se invierte (Tabla 6, Fig. 7).

Fig. 6: Edad (días) de la apertura vaginal y el primer estro en ratas desnervadas o no, tratadas con diferentes hormonas



* $P < 0.05$ comparado con el tratado sólo con la hormona (Prueba de "*" de Student)

La desnervación noradrenérgica periférica no modificó la falta de respuesta ovulatoria en los animales tratados con PMSG+hCG o con benzoato de estradiol. El peso absoluto o relativo de los ovarios de los animales desnervados tratados con las hormonas fue siempre menor que el de los inyectados con éstas, mientras que el peso del útero y el de las adrenales fue semejante en ambos grupos (Tabla 6, Fig.7)

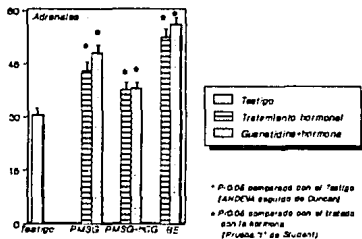
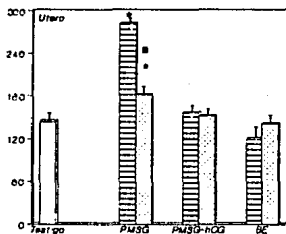
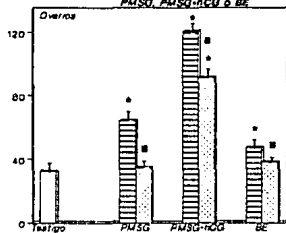
TABLA 6: TASA DE ANIMALES OVULANTES y MEDIA \pm e.e.m. DEL NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS A LOS 18 DÍAS DE EDAD CON PMSG, PMSG-hCG O CON BENZOATO DE ESTRADIOL, DESNERVADOS DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA (GTD) Y SACRIFICADOS EN EL DÍA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Grupo	Tasa ovulatoria	Número de ovocitos	Ovarios	Útero	Adrenales
PMSG	0/12	0.0	29.6 \pm 1.6	130 \pm 5.4	19.6 \pm 0.7
GTD + PMSG	4/ 9#	3.5 \pm 0.6*	14.8 \pm 1.5*	78 \pm 5.8*	20.4 \pm 0.9
PMSG-hCG	0/ 7	0.0	56.6 \pm 2.6	73 \pm 7.1	17.7 \pm 1.5
GTD + PMSG-hCG	0/ 5	0.0	40.4 \pm 3.5*	67 \pm 4.7	16.7 \pm 1.5
BE	0/11	0.0	21.5 \pm 0.7	54 \pm 3.5	23.9 \pm 1.3
GTD + BE	0/11	0.0	15.9 \pm 1.0*	59 \pm 3.8	23.4 \pm 1.1

P < 0.05 comparado con el grupo tratado con PMSG (prueba de probabilidad exacta de Fisher).

* P < 0.05 comparado con el grupo tratado con la misma hormona (prueba de "t" de Student).

Fig. 7. Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y adrenales de ratas de 18 días desahorradas o no, tratadas con PMSG, PMSG-hCG o BE



Testigo
 Tratamiento hormonal
 Guaretidine-hormona

* P.05 comparado con el Testigo (ANCOVA después de Duncan)
 • P.05 comparado con el tratado con la hormona (Prueba T de Student)

El estudio histológico de los ovarios de los animales tratados con PMSG-hCG mostró la presencia de cuerpos lúteos jóvenes. La misma imagen se observó en aquellos animales que fueron tratados con guanetidina desde el nacimiento. En este caso varios de los ovarios presentaron ovocito atrapado.

En los ovarios de los animales tratados con benzoato de estradiol, desnervados o no, se observaron folículos en diferentes etapas de crecimiento y maduración, pero no se observaron cuerpos lúteos.

Los resultados de este estudio confirman que en el animal prepúber la respuesta ovulatoria inducida por la administración de PMSG está en función de la edad del animal. El hecho que en los animales tratados con PMSG-hCG no se observaran ovocitos en el día del primer estro, pero los ovarios presentan cuerpos lúteos jóvenes, indica que la capacidad de secreción de estrógenos por el ovario de la rata al final de la etapa infantil es baja. Con base en el número de ovocitos liberados por éstos, se sugiere que la reactividad de los folículos a las gonadotropinas disminuye conforme el animal se acerca a la pubertad.

Los resultados obtenidos en los animales desnervados tratados con PMSG confirmar nuestra hipótesis de que la innervación noradrenérgica ovárica juega un papel de tipo inhibitorio en la reactividad del folículo a las gonadotropinas.

II. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA DESNERVACION NORADRENERGICA PERIFERICA PRODUCIDA POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO, SOBRE LA ACCION MASCULINIZANTES DE ANDROGENOS DE VIDA MEDIA PLASMATICA CORTA Y LARGA, INYECTADOS A LA RATA HEMBRA NEONATAL.

Para analizar si la inervación noradrenérgica del ovario regula la acción masculinizante de los andrógenos cuando se les administra a la rata hembra neonatal, se plantearon las siguientes preguntas:

- 1) ¿El tratamiento con un andrógeno de vida media plasmática corta produce los mismos efectos sobre la pubertad y la ovulación espontánea, que uno de vida media prolongada, cuando se administran en dos días de la fase crítica de la diferenciación sexual de los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas?
- 2) ¿Qué papel tiene la inervación noradrenérgica periférica en los efectos masculinizantes que producen los andrógenos?

Para responder a éstas, se realizaron los siguientes experimentos:

2.1: Efectos de la administración de un andrógeno de vida media plasmática corta (testosterona) o larga (propionato de testosterona) a la rata hembra neonatal sobre la edad de la pubertad, del primer estro y la ovulación espontáneos

Ratas hembra recién nacidas o de cinco días de edad fueron tratadas con 75 ug de testosterona, 75 ug de propionato de testosterona o con 0.05 ml del vehículo (aceite de maíz).

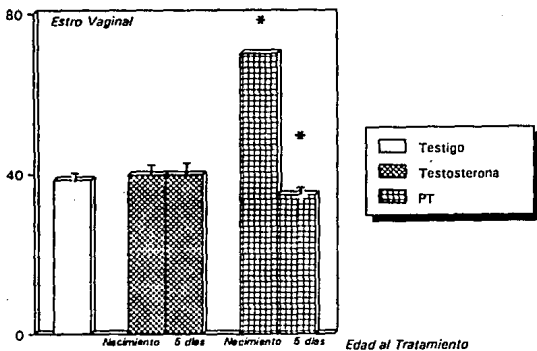
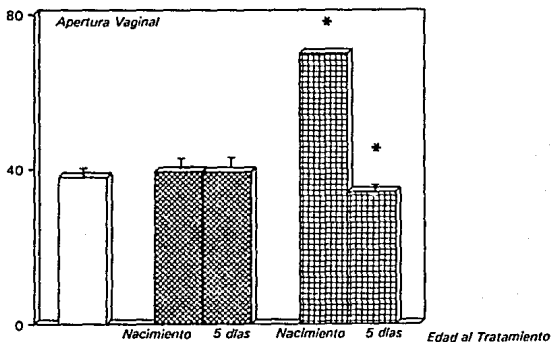
RESULTADOS

La edad de apertura vaginal y del primer estro no fueron modificadas por la administración de testosterona al nacimiento o a los cinco días de edad. La tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por animal ovulante, el peso absoluto o relativo de los ovarios, del útero y las adrenales fueron semejantes en los animales tratados y testigo, mientras que el peso corporal de los animales inyectados al nacimiento fue menor que en el grupo testigo [104 ± 2.6 vs 114 ± 2.5 , $P < 0.02$] (Figs. 8, 9 y Tabla 7).

Los animales tratados con propionato de testosterona al nacimiento, no presentaron apertura vaginal por lo que fueron sacrificados a los 62 días de edad. En el momento del sacrificio el peso corporal de la animales tratados fue mayor que el grupo testigo [143 ± 5 vs 114 ± 2.5 , $p < 0.02$], aunque el grupo testigo fue sacrificado en el día del primer estro vaginal que se presentó a los 38.5 ± 0.6 días. No se observaron diferencias en el peso absoluto de los ovarios, pero al expresarlo en función del peso corporal se muestra disminución de éste. El tratamiento al nacimiento provocó aumento en el peso absoluto o relativo del útero y del peso absoluto de las adrenales (Tabla 7 y Fig. 9).

El estudio histológico de los ovarios de los animales inyectados con propionato de testosterona al nacimiento mostró la presencia de folículos grandes, sin signos de ovulación. En la mayoría de los casos no se observó la presencia de folículos medianos y pequeños.

Fig. 8: Edad (días) de la apertura vaginal y el primer estro de ratas tratadas con andrógenos en diferentes días



* $P < 0,05$ comparado con el Testigo (ANDEVA seguido de Duncan)

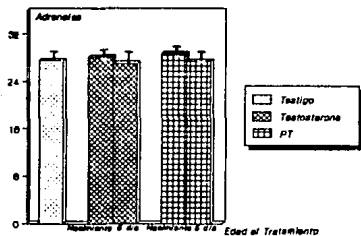
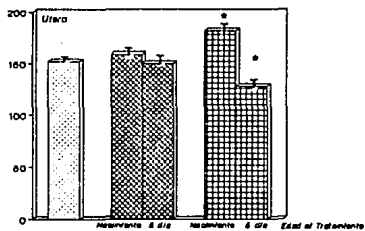
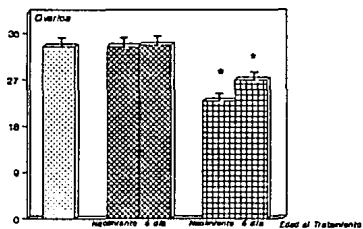
TABLA 7: TASA DE ANIMALES OVULANTES Y MEDIA \pm e.e.m. DEL NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL ÚTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS TESTOSTERONA AL NACIMIENTO (TES-rn) o LOS CINCO DÍAS DE EDAD (TES-5) o CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO (PT-rn) o A LOS CINCO DÍAS DE EDAD (PT-5) Y SACRIFICADOS EN EL DÍA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Grupo	Tasa de ovulación	Número de ovocitos	Ovarios	Útero	Adrenales
T	27/30	8.3 \pm 0.4	37.6 \pm 1.3	172 \pm 5.7	31.3 \pm 1.1
TES-rn	13/13	8.9 \pm 0.9	34.8 \pm 2.3	164 \pm 7.7 θ	28.9 \pm 0.9 θ
TES-5	9/10	9.2 \pm 1.1	38.7 \pm 3.1 $\#$	171 \pm 8.8 $\#$	31.0 \pm 1.5 $\#$
PT-rn	0/10 $\#$	0.0 $\&$	33.4 \pm 2.7	263 \pm 9.9 \ast	41.8 \pm 2.2 \ast
PT-5	3/11 $\#$	8.7 \pm 1.9	25.3 \pm 2.8 $\ast\theta$	124 \pm 18.8 $\ast\theta$	25.5 \pm 2.3 $\ast\theta$

$\#$ P < 0.05 respecto al grupo testigo (T) (prueba de probabilidad exacta de Fisher).
 $\&$ P < 0.05 respecto al grupo testigo (prueba: "t" de Student)
 \ast P < 0.05 respecto al grupo testigo; θ P < 0.05 respecto al grupo tratado con PT-rn; $\#$ P < 0.05 respecto al grupo tratado con PT-5 (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

En el grupo de animales inyectados con propionato de testosterona a los cinco días de edad, a diferencia de los tratados al nacimiento, se presentó apertura vaginal. Esta y la edad del primer estro vaginal fueron adelantadas respecto al grupo testigo (Fig. 8), lo que se acompañó de la disminución del peso corporal [93 \pm 4.8 vs 114 \pm 2.5, p<0.02].

Fig. 6. Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y las adrenales de animales tratados con andrógenos



* P < 0.05 separación con el Testigo (ANDEW después de Dunnett)

La tasa de animales ovulantes disminuyó en los animales tratados con propionato de testosterona a los cinco días de edad, aunque el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar al testigo. De igual forma, se observó disminución del peso absoluto y relativo de los ovarios y del útero y del peso absoluto de las adrenales (Tabla 7 y Fig. 9).

El estudio histológico de los ovarios de los animales inyectados que no ovularon, mostró la presencia de folículos grandes, sin signos de ovulación. A diferencia de lo observado en los ovarios de los animales tratados al nacimiento, en los tratados en el día cinco se observó la presencia de folículos pequeños y medianos.

2.2: Efectos de la desnervación noradrenérgica periférica provocada por la administración de guanetidina desde el nacimiento, sobre las acciones del propionato de testosterona inyectado al nacimiento, sobre la edad de la pubertad, del primer estro y la ovulación.

Con base en los resultados obtenidos en el grupo anterior (2.1), ratas hembra recién nacidas fueron tratadas con guanetidina en la misma dosis y secuencia que en el grupo 1.1 y simultáneamente con propionato de testosterona. La administración de guanetidina se continuó hasta el día del primer estro vaginal.

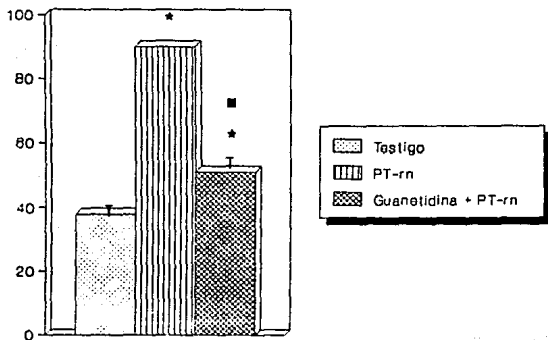
RESULTADOS

Todos los animales tratados con guanetidina y propionato

de testosterona al nacimiento abrieron vagina, aunque ésta se presentó con retraso respecto al grupo testigo (Fig. 10). De igual forma, el 57% de esos animales ovularon y el número de ovocitos liberados fue similar al grupo testigo (Tabla 8).

El peso absoluto (Tabla 8) de los ovarios, del útero y las adrenales fue menor en los animales desnervados que en los testigos, pero esta diferencia no se observó cuando los resultados fueron expresados en términos relativos (Fig 11).

Fig. 10: Edad (días) de la apertura vaginal de ratas testigo desnervadas o no, tratadas con propionato de testosterona



* $P < 0.05$ comparado con PT-rn (Prueba de "t" de Student)

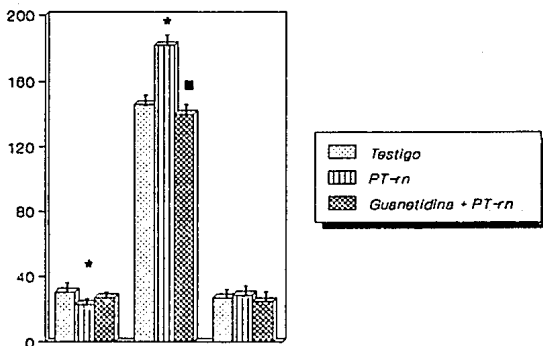
■ $P < 0.05$ comparado con el Testigo (Prueba de "t" de Student)

TABLA 8: TASA DE ANIMALES OVULANTES Y MEDIA \pm e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA (PT), DESNERVADOS O NO, POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA (GTD)

Grupo	Tasa de ovulación	Número de ovocitos	Ovarios	Utero	Adrenales
T	20/21	7.9 \pm 0.5	35.9 \pm 1.4	174 \pm 7.0	32.2 \pm 1.5
PT-rn	0/10	0.0	33.4 \pm 2.7	263 \pm 9.9*	41.8 \pm 2.2*
GTD+PT-rn	4/ 7	6.7 \pm 1.7	28.3 \pm 2.6*	144 \pm 15.0*#	26.8 \pm 2.2*#

* P < 0.05 comparado con el grupo Testigo (T) sacrificado al primer estro vaginal; # P < 0.05 comparado con el grupo tratado con propionato de testosterona al nacimiento (PT-rn) [ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

Fig. 11: Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y adrenales de ratas desnervadas tratadas con andrógenos



* P < 0.05 comparado con el testigo (Prueba de "t" de Student)

P < 0.05 comparado con el grupo PT-rn (Prueba "t" de Student)

En los animales que fueron simultáneamente desnervados y androgenizados se presentó disminución del peso absoluto y relativo del útero en comparación con los animales androgenizados (Tabla 8 y Fig.11).

El estudio histológico de los ovarios de los animales desnervados que no ovularon, mostró la presencia de folículos grandes sin signos de ovulación.

Con base en los resultados obtenidos se sugiere que para que los andrógenos alteren los mecanismos de regulación de la ovulación, requieren de un tiempo prolongado de acción sobre sus órganos blancos, lo cual es más evidente cuando se administran al nacimiento. Del mismo modo, los resultados de los animales simultáneamente desnervados y androgenizados indican que la inervación noradrenérgica ovárica favorece el desarrollo del Síndrome de masculinización, por lo que el ovario es otro de los órganos blanco que es afectado por la elevación prolongada de las concentraciones sanguíneas de andrógenos.

III. ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA DESNEVACION NORADRENERGICA PERIFERICA PROVOCADA POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO, EN LAS ACCIONES DESFEMINIZANTES DE LOS ESTROGENOS DE VIDA MEDIA PLASMATICA CORTA Y LARGA, INYECTADOS A LA RATA HEMBRA NEONATAL

Para analizar si la acción desfeminizante de los estrógenos administrados en la rata hembra neonatal involucra a la inervación noradrenérgica del ovario como se observó en los animales tratados con andrógenos y para conocer si los

efectos de los estrógenos provocan las mismas modificaciones que los andrógenos, se plantearon las siguientes preguntas:

1) ¿El tratamiento con un estrógeno de vida media plasmática corta produce los mismos efectos sobre la pubertad y la ovulación espontánea, que uno de vida media prolongada, cuando se administran en dos días de la fase crítica de la diferenciación sexual de los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas?

2) ¿Si la desnervación noradrenérgica periférica modifica los efectos desfeminizantes que producen los estrógenos? Para responder a éstas, se realizaron los siguientes experimentos:

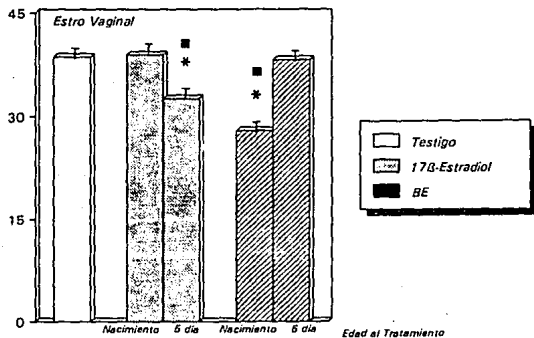
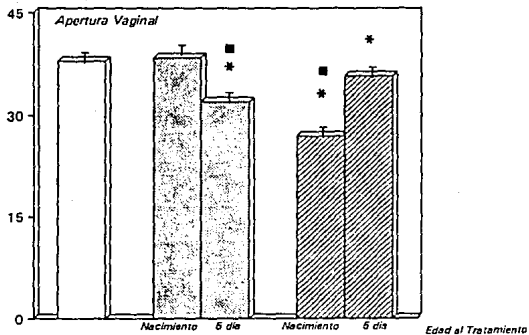
1.1: Efectos de la administración de un estrógeno de vida media plasmática corta (17 β -estradiol) o larga (benzoato de estradiol) a la rata hembra neonatal sobre la edad de la pubertad, del primer estro y la ovulación espontáneos

Ratas hembra recién nacidas o de cinco días de edad fueron tratadas con 10 ug de estradiol, 10 ug de benzoato de estradiol o con 0.05 ml del vehículo (aceite de maíz).

RESULTADOS

Los animales tratados con 17 β -estradiol a los cinco días de edad, mostraron adelanto de la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal, lo que no ocurrió en los tratados al nacimiento (Fig. 12). La ovulación se produjo sólo en el 25% de los animales tratados, pero el número de ovocitos liberados fue similar al del grupo testigo. Ninguno de los animales tratados en el día cinco ovularon (Tabla 9).

Fig. 12: Edad (días) de la apertura vaginal y del primer estro de animales tratados con estrógenos



* $P < 0.05$ comparado con el Testigo (ANDEVA seguido de Duncan)

* $P < 0.05$ respecto al tratado en diferente día (t de Student)

TABLA 9: TASA DE ANIMALES OVULANTES Y MEDIA \pm e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS CON 17 β -ESTRADIOL AL NACIMIENTO (E-rn) o LOS CINCO DIAS DE EDAD (E-5) o CON BENZOATO DE ESTRADIOL AL NACIMIENTO (BE-rn) o A LOS CINCO DIAS DE EDAD (BE-5) Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Grupo	Tasa de Ovulación	Número de Ovocitos	Ovarios	Utero	Adrenales
a					
T-PEV	27/30	8.3 \pm 0.4	37.6 \pm 1.3	172 \pm 5.7	31.3 \pm 1.1
E-rn	3/12 [#]	9.0 \pm 1.0	26.3 \pm 1.6*	134 \pm 14.6*	25.0 \pm 1.3*
b					
t-1	0/10	0	20.8 \pm 1.1	48 \pm 4.1	24.1 \pm 1.6
E-5	0/11 [#]	0 ^{&}	19.9 \pm 1.4*	65 \pm 6.9*	21.7 \pm 1.8*
c					
t-2	0/ 9	0	20.8 \pm 1.0	54 \pm 2.4	21.8 \pm 1.6
BE-rn	0/10 [#]	0 ^{&}	15.3 \pm 1.6* [#]	36 \pm 3.1* [#]	22.7 \pm 1.0*
BE-5	1/10 [#]	1, 2 ^{&}	20.9 \pm 1.5*	82 \pm 14.2*	25.8 \pm 0.9*

[#] P < 0.05 comparado con el grupo T-PEV (prueba de chi cuadrada).

[&] P < 0.05 comparado con el grupo T-PEV (prueba de H de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney).

^{*} P < 0.05 comparado con el grupo T-PEV (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

[#] P < 0.05 comparado con el grupo t-2 (prueba: "t" de Student
^a = grupo testigo sacrificado en el día del primer estro vaginal; ^b = grupo testigo sacrificado a los 31 días de edad; ^c = grupo testigo sacrificado a los 27.2 \pm 0.2 días de edad.

En los animales se observó disminución del peso corporal en los inyectados al nacimiento o a los cinco días de edad (102 \pm 4.5g; 80 \pm 4.8 vs 114 \pm 2.5, P < 0.05) respecto al grupo testigo sacrificado al primer estro. Lo mismo ocurrió con el peso absoluto y relativo de los ovarios y del útero

independientemente del día en que se realizó el tratamiento. La disminución del peso absoluto de las adrenales desaparece al ser expresado en función del peso corporal respecto al testigo sacrificado al estro (Tabla 9 y Fig. 13).

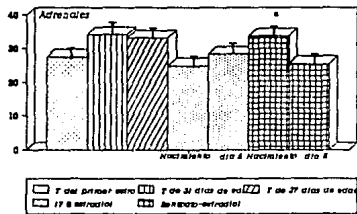
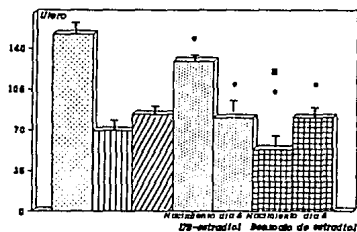
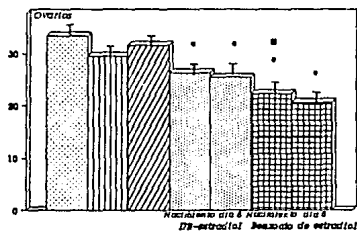
En los animales tratados con 17 β -estradiol en el día cinco, el peso corporal ($80 \pm 4.8g$ vs 70 ± 2.5) y el peso absoluto o relativo de los órganos fue similar al de los animales testigo de la misma edad (Tabla 9 y Fig. 13).

Los animales tratados con benzoato de estradiol al nacimiento o a los cinco días de edad, adelantaron la edad de la apertura vaginal, mientras que la edad del primer estro se adelantó sólo en los animales tratados al nacimiento (Fig. 12). Sólo ovuló uno de los 20 animales tratados (Tabla 9).

En estos animales se observó disminución del peso corporal ($68 \pm 3.7g$; 102 ± 3.0 vs 114 ± 2.5 , $P < 0.05$) respecto al grupo testigo sacrificado al primer estro vaginal. Esta disminución también se observó en el peso absoluto y relativo de los ovarios y del útero. En los animales inyectados al nacimiento el peso de las adrenales fue menor en términos absolutos, pero aumenta el peso relativo de las mismas respecto al grupo testigo sacrificado al primer estro (Tabla 9 y Fig. 13).

En los animales inyectados al nacimiento, aunque no se observaron diferencias en el peso corporal respecto a los testigos de la misma edad ($68 \pm 3.7g$ vs 66 ± 1.2), disminuyó el peso absoluto y relativo de los ovarios y del útero (Tabla 9 y Fig. 13).

Fig.13. Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, del útero y de las adreñales de animales tratados con estrógenos



* P < 0.05 respecto al peso del útero (ANDEVA-Duncan)
 * P < 0.05 respecto al peso de 27 días (t de Student)

En los ovarios de los animales tratados con 17 β -estradiol al nacimiento o al día cinco, se observa mayor desarrollo de la glándula intersticial, la presencia de numerosos folículos preovulatorios con signo de atresia y escasos folículos medianos.

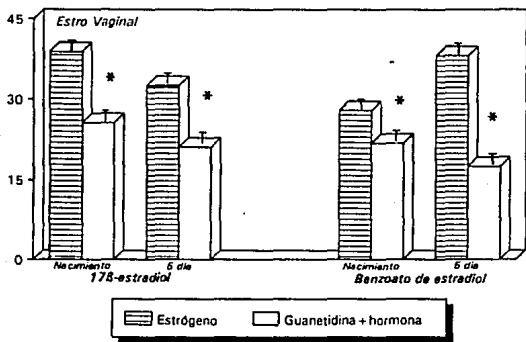
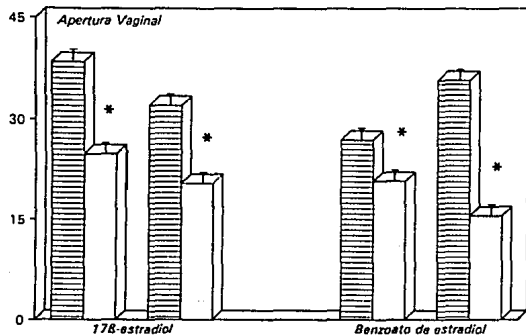
3.2: Efectos de la desnervación noradrenérgica periférica provocada por la administración de guanetidina desde el nacimiento, en ratas tratadas con 17 β -estradiol o benzoato de estradiol en la etapa neonatal sobre la edad de la pubertad, del primer estro y la ovulación espontáneos

Con base en los resultados obtenidos en el grupo anterior (3.1), ratas hembra tratadas con guanetidina desde el nacimiento en la misma dosis y secuencia que en el grupo 1.1 fueron inyectadas al nacimiento o a los cinco días de edad con 17 β -estradiol o con benzoato de estradiol y se continuó la administración de guanetidina hasta el día del primer estro vaginal.

RESULTADOS

Los animales que fueron desnervados y tratados con 17 β -estradiol, al nacimiento o a los cinco días de edad, presentaron adelanto en la edad de la apertura vaginal y del primer estro, respecto a los que fueron solamente tratados con la hormona (Fig. 14). Ninguno de los animales presentó ovulación (Tabla 10).

Fig. 14: Edad (días) de la apertura vaginal y el primer estro de ratas desnervadas o no, tratadas con estrógenos



* $P < 0.05$ respecta al tratado con la hormona (t de Student)

En los animales desnervados e inyectados con 17 β -estradiol al nacimiento se presentó disminución del peso corporal respecto a los tratados sólo con la hormona ($50 \pm 2.5g$ vs 102 ± 4.5 , $P < 0.05$). El mismo comportamiento se observó en los animales inyectados a los cinco días de edad respecto al grupo tratado con la hormona ($37 \pm 1.8g$ vs 80 ± 4.8 , $P < 0.05$) y al grupo testigo de la misma edad ($37 \pm 1.8g$ vs 42 ± 0.8 , $P < 0.05$).

En los animales con desnervación noradrenérgica ovárica tratados con 17 β -estradiol al nacimiento disminuyó el peso absoluto de los órganos respecto a los tratados con la hormona, hecho similar respecto a los testigos de la misma edad, a pesar de que no se observaron diferencias en el peso corporal entre ambos grupos ($50 \pm 2.5g$ vs 64 ± 6.3 , n.s., Tabla 10).

Cuando los resultados son expresados en función del peso corporal, en los animales desnervados y tratados con 17 β -estradiol al nacimiento se presentó aumento del peso de los ovarios y las adrenales, pero disminución del peso del útero respecto a los animales tratados con la hormona. No se presentaron diferencias significativas cuando los resultados son comparados con el grupo testigo sacrificado a la misma edad (Fig. 15).

La administración de guanetidina en los animales tratados con la hormona a los cinco días provocó disminución del peso absoluto del útero respecto al grupo tratado con la hormona o al sacrificado a la misma edad (Tabla 10). En

hormona o al sacrificado a la misma edad (Tabla 10). En función del peso corporal, el peso de los ovarios y el de las adrenales aumentó respecto al grupo tratado con el 17 β -estradiol (Fig. 15).

TABLA 10: TASA DE OVULACION Y MEDIA \pm e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS CON 17 β -ESTRADIOL AL NACIMIENTO (E-rn) O A LOS CINCO DIAS (E-5), DESNERVADOS O NO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA (GTD) Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

Grupo	Tasa de Ovulación	Número de ovocitos	Ovarios	Utero	Adrenales
E-rn	3/12	9.0 \pm 1.0	26.3 \pm 1.6	134 \pm 14.6	25.0 \pm 1.3
a					
t-1	0/ 4	0	24.5 \pm 1.3	45 \pm 1.5	26.8 \pm 1.4
GTD+E-rn	0/ 8	0#	17.4 \pm 1.6* $\&$	32 \pm 2.6* $\&$	22.4 \pm 0.5 $\&$
E-5	0/11	0	19.9 \pm 1.4	65 \pm 6.9	21.7 \pm 1.8
b					
t-2	0/10	0	19.6 \pm 0.9	38 \pm 3.0	20.8 \pm 0.9
GTD+E-5	0/ 8	0	15.7 \pm 2.0	26 \pm 1.2# $\&$	18.7 \pm 1.3

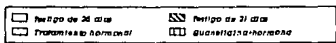
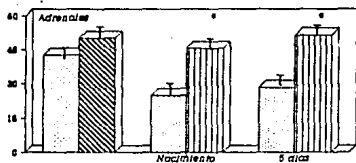
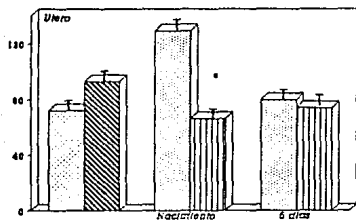
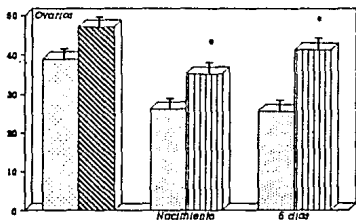
P < 0.05 comparado con el grupo E-rn (prueba: "t" de Student)
 * P < 0.05 comparado con el grupo E-rn; $\&$ P < 0.05 comparado con el grupo t-1 (prueba de "t" de Student)

P < 0.05 comparado con el grupo E-5; $\&$ P < 0.05 comparado con el grupo t-2 (prueba de "t" de Student)

a = grupo testigo sacrificado a los 25.5 \pm 0.3 días de edad;
 b = grupo testigo sacrificado a los 21 días de edad.

La edad de la apertura vaginal y del primer estro se adelantó en los animales desnervados tratados con benzoato de estradiol, al nacimiento o a los cinco días de edad, pero ninguno ovuló (Fig. 14).

Fig. 18. Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y adrenales de ratas desovadas o no. Tratadas con estrógeno.



* P < 0.05 respecto al control con la hormona (1 de Student)

En los animales desnervados y tratados con benzoato de estradiol al nacimiento se presentó disminución del peso corporal respecto al grupo tratado con la hormona ($43 \pm 1.1g$ vs 68 ± 3.7 , $P < 0.05$), sin cambios respecto al grupo testigo sacrificado a la misma edad ($43 \pm 1.1g$ vs 42 ± 1.7 , n.s.). El peso absoluto y relativo de los ovarios y del útero disminuyó respecto al grupo testigo de la misma edad. También se observó disminución del peso absoluto de los ovarios respecto al grupo tratado sólo con la hormona. El peso relativo de las adrenales fue mayor comparado con ambos grupos (Tabla 11 y Fig. 16).

TABLA 11: TASA DE OVULACION Y MEDIA \pm e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, DEL PESO ABSOLUTO (mg) DE LOS OVARIOS, EL UTERO Y LAS ADRENALES DE ANIMALES TRATADOS CON BENZOATO DE ESTRADIOL AL NACIMIENTO (BE-rn) O A LOS CINCO DIAS DE EDAD (BE-5), DESNERVADOS O NO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA (GTD) Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL

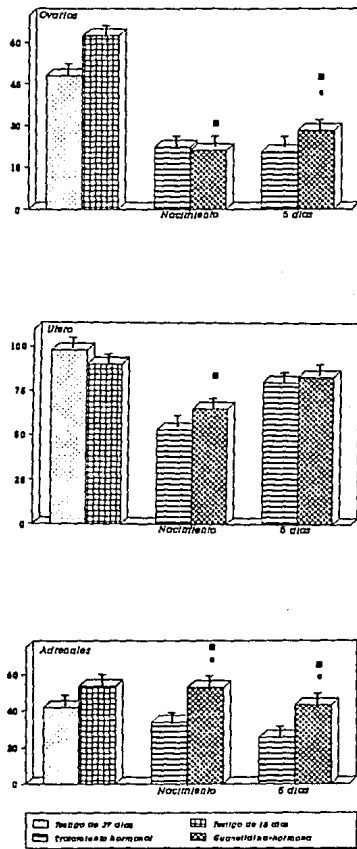
Grupo	Tasa de Ovulación	Número de ovocitos	Ovarios	Utero	Adrenales
BE-rn	0/10	0	15.3 ± 1.6	36 ± 3.1	22.7 ± 1.0
a					
t-1	0/10	0	19.9 ± 0.7	40 ± 3.1	17.6 ± 3.2
GTD+BE-rn	0/13	0	$9.0 \pm 0.6^* \text{ \&}$	$28 \pm 2.5 \text{ \&}$	22.4 ± 1.5
BE-5	1/10	1, 2	20.9 ± 1.5	82 ± 14.2	25.8 ± 0.9
b					
t-2	0/11	0	22.7 ± 1.3	33 ± 1.7	19.4 ± 1.1
GTD+BE-5	0/ 8	0	$9.9 \pm 0.9^* \text{ \&}$	$30 \pm 2.4^* \text{ \&}$	$15.3 \pm 1.1^* \text{ \&}$

* $P < 0.05$ comparado con el grupo BE-rn; \& $P < 0.05$ comparado con el grupo t-1 (prueba de "t" de Student)

$P < 0.05$ comparado con el grupo BE-5; & $P < 0.05$ comparado con el grupo t-2 (prueba de "t" de Student)

▲ = grupo testigo sacrificado a los 22 días de edad; b = grupo testigo sacrificado a los 18 días de edad.

Fig. 16: Peso relativo (mg/100 g) de los ovarios, el útero y adrenales de ratas desovadas o no, tratadas con bupropión de estradiol



En los animales desnervados y tratados con benzoato de estradiol a los cinco días de edad se presentó disminución del peso corporal respecto al grupo tratado con la hormona ($35 \pm 1.1g$ vs 102 ± 3.0 , $P < 0.05$), sin cambios respecto al grupo testigo de la misma edad ($35 \pm 1.1g$ vs 36 ± 0.2 , n.s.).

La administración de guanetidina desde el nacimiento en los animales tratados con benzoato de estradiol en el día cinco de edad provocó disminución del peso absoluto de los órganos respecto al de los tratados con la hormona, pero en términos relativos aumentó el peso de los ovarios y las adrenales. El peso absoluto y relativo de los ovarios y las adrenales disminuyó respecto a los sacrificados a la misma edad (Tabla 11 y Fig. 16).

El estudio histológico de los ovarios de los animales desnervados y tratados con estradiol al nacimiento mostró la presencia de folículos con varios ovocitos por folículo.

Los resultados obtenidos en estos experimentos confirman que la administración de estrógenos a la rata hembra en los primeros días de vida, altera los mecanismos que regulan la ovulación. Dado que la desnervación noradrenérgica periférica, provocada por la guanetidina, no modificó significativamente la ovulación en los animales estrogenizados, los mecanismos afectados por los estrógenos son parcialmente diferentes a los que modifican los andrógenos cuando son inyectados en la etapa neonatal.

DISCUSION GENERAL

Los resultados obtenidos en este estudio confirman, lo mostrado por otros (3,4, 6, 26,29, 40, 58), que la *inervación noradrenérgica que llega al ovario* participa en los mecanismos que regulan la función del ovario y la ovulación.

La participación de la *inervación noradrenérgica periférica* en la regulación del proceso de la pubertad de la hembra es diferente entre la rata y el ratón. En el ratón hembra la administración de guanetidina no modificó la edad de la apertura vaginal (75). En cambio, en la rata prepúber la *inervación noradrenérgica periférica* tiene un papel de tipo estimulante sobre la apertura vaginal y el primer estro vaginal, ya que cuando los animales fueron desnervados se presentó un retraso en ambos parámetros. Esto podría indicar una disminución, un retraso o ambos, en la secreción de estrógenos, ya que diversos autores han demostrado que la *inervación catecolaminérgica ovárica*, modula la capacidad esteroidogénica del órgano y su respuesta ovulatoria a las gonadotropinas (3, 4, 7, 61).

El aumento del número de ovocitos liberados por los animales desnervados permite suponer que en condiciones normales, la *inervación noradrenérgica del ovario* modula de manera inhibitoria el proceso de la ovulación. Los efectos de la *desnervación noradrenérgica periférica* sobre la ovulación del animal adulto son inversos, es decir, que en el animal adulto desnervado, de manera crónica o aguda, disminuye el

número de ovocitos liberados (13, 36).

El aumento del número de ovocitos liberados puede ser el reflejo de la regulación inhibitoria de la sensibilidad del folículo a las gonadotropinas ejercida por la inervación noradrenérgica del ovario. Con base en estos resultados se puede sugerir que el papel de la inervación noradrenérgica periférica sobre la ovulación, es de tipo estimulante en el animal adulto e inhibitoria en el prepúber (36).

La extirpación de la médula adrenal en la rata hembra de 24 días de edad, retrasa la edad de la apertura vaginal y la primera ovulación, por lo que en condiciones normales la adrenalina plasmática puede interactuar con los receptores β -adrenérgicos ováricos y amplificar el efecto estimulatorio de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica. También se produce una disminución en las concentraciones de la hormona de crecimiento, sin que afecte el peso de los ovarios, lo que sugiere que la adrenalina también actuaría indirectamente sobre el SNC, facilitando la secreción de la hormona de crecimiento (5).

Asimismo, se ha observado que la inhibición de la secreción de la hormona de crecimiento retrasa el inicio de la pubertad y el desarrollo del ovario, ya que esta hormona facilita la capacidad de la FSH para inducir receptores a la LH y el efecto estimulatorio del AMPc sobre la secreción de progesterona, lo que indica que actuaría principalmente estimulando la función de las células de la granulosa (2, 61, 63, 71).

Nuestros resultados nos permiten sugerir que en la rata prepúber la desnervación afecta la esteroidogénesis por la falta del estímulo de las catecolaminas y disminuye la concentración de la hormona de crecimiento, ya que el peso corporal de los animales fue menor que el de los animales testigo, lo cual no se reflejó en el peso relativo de los órganos analizados. Este resultado concuerda con los obtenidos por otros autores, quienes observaron disminución del peso corporal en animales con desnervación noradrenérgica periférica iniciada al séptimo día de vida (49, 51).

A partir de estos resultados, se puede sugerir que en la rata prepúber, el proceso de la pubertad y la ovulación están controlados por mecanismos endócrinos homeostáticos en los que la interacción del eje hipotálamo-hipófisis-gónada se realiza por medios hormonales y neurales, en particular la relación neural entre el SNC [hipotálamo] y el ovario. De igual forma, se ha demostrado que la participación de la inervación noradrenérgica periférica depende de la edad del animal y de la especie.

Con el inicio de la fase juvenil (día 22 de edad), el animal adquiere la capacidad para responder al aumento de las concentraciones plasmáticas de estrógenos, con la liberación de LH en una magnitud semejante a la del proestro. Sin embargo, aún cuando en esta fase se presentan ondas de crecimiento folicular y de atresia, los folículos aún no son capaces de ovular (52, 63, 72, 81, 92, 93), a pesar de ser estimulados con hCG, pero sí lo hacen parcialmente si se les

trata con GnRH (87).

En el animal prepúber tratado con PMSG se produce la liberación de la LH entre 48 y 60 horas después del tratamiento y la ovulación ocurre entre 10 y 12 horas después (65, 69, 76, 77, 90, 94). La liberación preovulatoria de la LH es un reflejo del crecimiento folicular y la secreción de estrógenos inducidos por el tratamiento con la PMSG, que también trae como consecuencia aumento del peso de los ovarios y del útero y culmina con el cierre del circuito neuroendócrino, la liberación de GnRH, de LH y la ovulación (25, 46, 47, 48, 73, 78, 88, 89, 90).

Nuestros resultados confirman que la tasa de animales ovulantes de la rata prepúber tratada con PMSG está en función de la edad del animal y que el número de ovocitos liberados disminuye conforme el animal se acerca a la edad de la pubertad (72, 81, 93, 94).

El ovario de los animales de 18 días de edad es capaz de secretar estrógenos en cantidades similares a las de los animales de 28 días, dado que el aumento en el peso del útero y el tiempo necesario para inducir la apertura vaginal fueron semejantes en todos los grupos tratados con la PMSG. Sin embargo, el sistema neuroendócrino no tiene la capacidad de liberar la LH necesaria para inducir la ovulación, pese a que el ovario libera los ovocitos cuando se le estimula de manera secuencial con PMSG y hCG.

El hecho de que los animales con desnervación noradrenérgica periférica desde el nacimiento ovulan de

manera espontánea al ser tratados con la PMSG a los 18 días de edad, apoya nuestra sugerencia inicial de que la inervación noradrenérgica del ovario regula de manera inhibitoria la sensibilidad del folículo a las gonadotropinas, lo que ocurre tanto en la rata como en el ratón (75). Además, que el ovario envía información por vía neural hacia los centros hipotalámicos que regulan la secreción de la GnRH y por ende de las gonadotropinas. En función de los resultados obtenidos en el presente estudio, en el animal prepúber esta información también sería de tipo inhibitorio.

La disminución en el peso del útero observado en los animales desnervados tratados con PMSG, respecto a los tratados sólo con la hormona, indicaría que el ovario desnervado no es capaz de secretar la cantidad o el tipo de estrógenos necesarios como para estimular el crecimiento uterino. La sensibilidad del útero al benzoato de estradiol no fue afectada por la desnervación noradrenérgica periférica, a diferencia de lo observado en otro estudio (15), diferencia que puede estar explicada por el tiempo de tratamiento y las dosis utilizadas.

Con base en los resultados obtenidos en el modelo del animal desnervado y androgenizado se puede afirmar que la inervación noradrenérgica del ovario no sólo modula la reactividad de los folículos a las gonadotropinas y la ovulación, sino que también lo hace sobre los efectos que tienen los andrógenos sobre la diferenciación sexual de los

mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas.

Los andrógenos capaces de inducir la masculinización de los mecanismos que regulan la secreción de la LH, son aquellos que pueden ser aromatizados y convertidos a estrógenos (18, 19, 20, 34). Los resultados presentados en este estudio muestran que los efectos sobre las funciones del ovario, ovulación y secreción de hormonas que provocan la apertura vaginal, difieren en los animales tratados al nacimiento con andrógenos y estrógenos. Los animales tratados con propionato de testosterona al nacimiento no presentaron apertura vaginal, lo que puede ser explicado por las alteraciones que provocan los andrógenos sobre el estroma y epitelio vaginal durante los dos primeros días de vida (91). En cambio en las ratas tratadas con propionato de testosterona a los 3 días de edad o con benzoato de estradiol al nacimiento, la canalización vaginal es inducida por la queratinización del epitelio vaginal (91). Esto explicaría la apertura vaginal en los animales tratados con propionato de testosterona a los 5 días de edad y con benzoato de estradiol o con estradiol en cualquiera de las edades de estudio.

La inervación noradrenérgica de la vagina modula de manera inhibitoria la reactividad del órgano a las hormonas, ya que todos los animales desnervados, tratados con propionato de testosterona al nacimiento, abrieron vagina aunque con retraso respecto a los animales testigo.

Según algunos autores la inervación noradrenérgica del hipotálamo no tendría participación en el desarrollo del

Síndrome de androgenización (86), mientras que para otros las alteraciones inducidas por la administración de andrógenos al nacimiento sobre ese sistema, serían las responsables de las modificaciones en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas (19, 20, 74).

Nuestros resultados indican que la desnervación noradrenérgica periférica impide parcialmente el desarrollo de dicho síndrome. Dado que hasta el presente la información disponible indica que la guanetidina no atraviesa la barrera hemato-encefálica (8, 49, 51, 55, 57, 59) y por lo tanto no puede modificar los centros neurales que serían afectados por los andrógenos, estos hechos podrían ser explicados por la desnervación noradrenérgica de la eminencia media, por las alteraciones de la inervación del ovario y por ende de la información neural que éste envía al hipotálamo (31), o por ambos.

La ovulación en los animales androgenizados que fueron desnervados desde el nacimiento, supone que éstos se produjo el pico preovulatorio de estrógenos y de LH.

Los efectos de los andrógenos sobre la diferenciación sexual de los mecanismos que regulan la secreción de las gonadotropinas, no se producen cuando los animales son tratados al mismo tiempo con depresores del SNC (43). Además, las concentraciones de noradrenalina en el hipotálamo de los animales androgenizados aumentan en los primeros 15 días de vida y descienden posteriormente de manera que cuando el

animal alcanza la edad adulta, la cantidad de noradrenalina del hipotálamo anterior es significativamente menor que la de los testigos (19, 20, 74).

Dado que la desnervación noradrenérgica periférica posibilita que se mantengan los circuitos neuroendócrinos necesarios para la liberación tónico-fásica de las gonadotropinas, podemos sugerir que en el desarrollo síndrome de androgenización no sólo se afectan los circuitos del SNC, sino que la información neural que se origina en el ovario, y que es mediada por la noradrenalina, es necesaria para que se desarrolle dicho síndrome.

En este estudio se ha confirmado que el tratamiento con estrógenos a la rata neonatal induce alteración de los mecanismos de regulación de la secreción de la LH necesaria para la ovulación y sus efectos dependen del tiempo en que los estrógenos permanecen en la circulación.

Con base a los resultados obtenidos, se puede sugerir que los estrógenos también requieren de un tiempo prolongado de acción (benzoato de estradiol) para que puedan alterar los mecanismos de regulación de la secreción de la LH, lo que explicaría que los animales tratados con estradiol al nacimiento no presentan alteraciones en el número de ovocitos liberados por animal ovulante, aunque disminuya la tasa de animales ovulantes y de los demás parámetros evaluados en este estudio.

En conjunto, estos resultados nos permiten concluir que en el proceso de diferenciación sexual de los centros que

regulan la secreción de las gonadotropinas, principalmente de la LH, no sólo importa la conversión de los andrógenos a estrógenos, sino que los propios andrógenos juegan un papel en la diferenciación, el que está mediado por la inervación noradrenérgica del ovario, lo que no sucede con los efectos de los estrógenos. Asimismo, que el grado de alteración en los mecanismos que regulan la secreción de la LH depende del tiempo de acción de los andrógenos o los estrógenos sobre sus efectores.

CONCLUSIONES

1.- En la rata hembra prepúber la inervación noradrenérgica del ovario modula de manera estimulante el crecimiento del ovario y el crecimiento del útero.

2.- El papel de la inervación noradrenérgica del ovario sobre el proceso de la ovulación espontánea en la rata prepúber es de tipo inhibitoria.

3.- En los mecanismos neuroendócrinos que regulan la pubertad y la ovulación inducida, además de los factores hormonales u la inervación noradrenérgica del ovario, la madurez del animal es un factor clave para la expresión de dichos eventos.

4.- El grado de alteración en los mecanismos que regulan la ovulación depende del tiempo de acción de las hormonas gonadales sobre sus efectores.

5.- Las modificaciones en la ovulación inducidas por los andrógenos durante la etapa neonatal de la rata se deben parcialmente a los efectos que ejercen sobre la inervación noradrenérgica del ovario, además de alterar al sistema catecolaminérgico central.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADVIS, J.P., W.W.ANDREWS, S.R.OJEDA (1979). Changes in ovarian steroidal and prostaglandin E responsiveness to gonadotropins during the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology* 104: 653-658.
- 2.- ADVIS, J.P., S.SMITH-WHITE, S.R.OJEDA (1981). Activation of growth hormone short loop negative feedback delays puberty in the female rat. *Endocrinology* 108: 1343 - 1352.
- 3.- AGUADO, L.I., S.R.OJEDA (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology* 114: 1845 - 1853.
- 4.- AGUADO, L.I., S.R.OJEDA (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114: 1944-1946.
- 5.- AGUADO, L.I., S.R.OJEDA (1984). Effect of selective removal of the adrenal medulla on female sexual development. *Biology of Reproduction* 31: 605-618.
- 6.- AGUADO, L.I., S.R.OJEDA (1986). Prepubertal rat ovary: Hormonal modulation of β -adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. *Biology of Reproduction* 34: 45-50.
- 7.- AGUADO, L.I., S.L.PETROVIC, S.R.OJEDA (1982). Ovarian β -adrenergic-receptors during the onset of puberty: characterization, distribution and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 110: 1124-1132.
- 8.- ALBUQUERQUE-ARAUJO, W.I.C., A.A.M.ROSA-E-SILVA, J.J.A.FRANCI, A.L.V.FAVARETTO, J.ANTUNES-RODRIGUES (1990). The effect of guanethidine-induced denervation of the peripheral sympathetic nervous system on the onset of puberty in female rats. *Brazilian Journal of Medical Biology Research* 23: 1181-1184.
- 9.- ANDREWS, W.W., G.J.MIZEJEWSKI, S.R.OJEDA (1981). Development of estradiol-positive feedback on luteinizing hormone release in the female rat: A quantitative study. *Endocrinology* 109: 1404-1413.
- 10.- ANDREWS, W.W., S.R. OJEDA (1977). On the feedback actions of estrogen on gonadotropin and prolactin release in infantile female rats. *Endocrinology* 101: 1517-1523.

- 11.- ANDREWS,W.W., S.R.OJEDA (1981). A quantitative analysis of the maturation of steroid negative feedbacks controlling gonadotropin release in the female rat: the infantile-juvenile periods, transition from an androgenic to a predominantly estrogenic control. *Endocrinology* 108:1313-1320.
- 12.- ANDREWS,W.W., S.R.OJEDA (1981). A detail analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty *Endocrinology* 109: 2032-2039.
- 13.- AYALA,M.E., R. DOMINGUEZ (1988). Ovulatory response to the sequential administration of follicle stimulating hormone and human chorionic gonadotropin by autografted ovary in unilaterally ovariectomized adult rat with peripheral denervation induced by guanethidine treatment. *Revista de Investigación Clínica* 40: 149-155.
- 14.- BAHR,J.M., N.BEN-JONATHAN (1981). Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Neuroendocrinology* 108: 1815-1820.
- 15.- BARNEA,A., J.GORSKI (1970).Guanethidine effects on the metabolic response of the rat uterus to estrogen. *Endocrinology* 86: 909-911.
- 16.- BARRACLOUGH,C.A., R.A.GORSKI (1961). Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. *Endocrinology* 68: 68-79.
- 17.- BARRACLOUGH,C.A. (1961). Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. *Endocrinology* 68: 62-67.
- 18.- BARRACLOUGH,C.A. (1983). The role of catecholamines in regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphologica Hungaricae* 31: 101-106.
- 19.- BARRACLOUGH,C.A., K.J.LADKINGLAND, P.M.WISE (1984). Role of hypothalamic noradrenergic system in sexual differentiation of the brain. En: *Sexual Differentiation: Basic and Clinical Aspects*. Eds. Serio, M., M. Motta, M. Zanisi and L. Martini. Raven Press, New York. pp. 99-106.
- 20.- BARRACLOUGH,C.A., P.M. WISE (1982).The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrine Reviews* 3: 91-119.
- 21.- BEN-JONATHAN,N., L.A.ARBOGAST, T.A.RHOADES, J.M. BAHR (1984). Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and the novo synthesis. *Endocrinology* 115: 1426-1431.

22.- BEN-JONATHAN, N., R.H.BRAW, N.R.LAUFER, J.BAHR, A.TSAFRIRI (1982). Norepinephrine in graffian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110: 457-461.

23.- BLANDAU, R.J., W.L.MONEY (1943). The attainment of sexual maturity in the female albino rat as determined by the copulatory response. *Anatomical Record* 86: 215.

24.- BRADBURY, J.T. (1941). Permanent after-effects following masculinization of the infantile female rat. *Endocrinology* 28 101-106.

25.- BRAW, R.H., A.TSAFRIRI (1980). Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary. *Journal of Reproduction and Fertility* 59: 267-272.

26.- BURDEN, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines as hormone regulators*. Eds. Ben-Jonathan, N., J.M.Bahr and R.I.Weiner. Raven Press, New York. pp. 261-278.

27.- DALKIN, A.C., G.A.BOWNE, D.R.PIEPER, S.REGIANI, J.C.MARSHALL (1981). Pituitary and gonadal gonadotropin-releasing hormone receptors during sexual maturation in the rat. *Endocrinology* 108: 1658-1664.

28.- DOHLER, K.D., W.WUTTKE (1975). Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocrinology* 97: 898-907.

29.- DOMINGUEZ, R., M.E.CRUIZ, R.CHAVEZ (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: *Growth Factors and the Ovary*. Eds.Hirshfield, A.N. Plenum Press, New York. pp.321-325.

30.- DOMINGUEZ, R., R.CHAVEZ, M.E.CRUIZ (1991). La regulación del crecimiento y el desarrollo del folículo ovárico. En: *Tópicos Selectos en Biología de la Reproducción*. Editor R. Domínguez. U.N.A.M.-M.A.Porrúa, México. pp. 161-192.

31.- DOMINGUEZ, R., L.RIBONI (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7: 164-170.

32.- DOMINGUEZ, R., D.ZIPITRIA (1980). Longterm effects of guanethidine administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS Medical Science* 8: 352.

33.- EVANS, A.L. (1986). Age at puberty and first litter size in early and late paired rats. *Biology of Reproduction* 34: 322-326.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

34.- FEDER, H.H. (1981). Hormonal actions on the sexual differentiation of the genitalia and the gonadotropin - regulating systems. En: Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior. Eds. Adler, N.T.. Plenum Press, New York & London. pp. 89-126.

35.- FINK, G. (1986). The endocrine control of ovulation. Scientific Progress Oxford 70: 403-423.

36.- FLORES, A., M.E.AYALA, R.DOMINGUEZ (1990). Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation ovulation in the pubertal and the adult rat? Medical Science Research 18: 817-818.

37.- FLORES, A., L.MORALES, M.E.AYALA, R.DOMINGUEZ (1987). Efecto de la administración de benzoato de estradiol (BE) o propionato de testosterona (PT) a ratas recién nacidas sobre la población folicular estudiada en el día de la apertura vaginal (DAV) y a los 60 días de edad. XXX Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, D-1, México.

38.- FUNKENSTEIN, B., A.NIMROD, H.R.LINDNER (1980). The development of steroidogenic capability and responsiveness to gonadotropins in cultured neonatal rat ovaries. Endocrinology 106: 98-106.

39.- GERRALL, A.A., J.L.DUNLAP, R.A.WAGNER (1976). Effects of dihydrotestosterone and gonadotropins on the development of female behavior. Physiology and Behaviour 17: 121

40.- GERENDAI, I., B.MARCHETTI, M.A.ROXAS, U.SCAPAGNINI (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA. Neuroendocrinology 27: 272-278.

41.- GOLDMAN, B.D. (1981). Puberty. En: Neuroendocrinology of Reproduction. Dir. Adler, N.T.. Plenum Press, New York & London, Chapter 8: 229-239.

42.- GORSKI, R.A. (1963). Modification of ovulatory mechanisms by postnatal administration of estrogen to the rat. American Journal of Physiology 205: 842

43.- GORSKI, R.A. (1973). Perinatal effects of sex steroids on brain development and function. Progress in Brain Research 39: 149-163.

44.- GORSKI, R.A., WAGNER, J.W. (1965). Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. Endocrinology 226-239.

- 45.- HARRIS,G.W. (1970). Hormonal differentiation of the developing central nervous system with respect to patterns of endocrine function. Philosophical Translation of the Royal Society of London (Biology) 259: 165.
- 46.- HIRSHFIELD,A.N., A.R.MIDGLEY (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. Biology of Reproduction 19: 592-605.
- 47.- HIRSHFIELD,A.N., A.R.MIDGLEY (1978). The role of FSH in the selection of large ovarian follicles in the rat. Biology of Reproduction 19: 606-611.
- 48.- HIRSHFIELD,A.N., L.V.DePAOLO (1981). Effect of supression of the surge of follicle-stimulating hormone with porcine follicular fluid on follicular development in the rat Journal of Endocrinology 88: 67-71.
- 49.- JOHNSON,E.M.Jr., F.O'BRIEN, R.WERBITT (1976). Modification and characterization of the permanent sympathectomy produced by the administration of guanethidine to newborn rats. European Journal of Pharmacology 37: 45-54.
- 50.- LADOSKY,W., H.F.SCHNEIDER, J.BRAXILIAN (1981). Medical Science Research 14: 409-413.
- 51.- LARA,H.E., J.K.McDONALD, C.E.AHMED, S.R.OJEDA (1990). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. Endocrinology 127: 2199-2209.
- 52.- McCOMARCK,C.E., R.K.MEYER (1964). Minimal age for induction of ovulation with progesterone in rats. Evidence for neural control. Endocrinology 74: 793-799.
- 53.- McDONALD,P.G., C.DOUGHTY (1972). Inhibition of androgen-sterilization in the female rat by administration of an anti-oestrogen. Journal of Endocrinology 55: 455
- 54.- McDONALD,P.G., C.DOUGHTY (1974). Effect of neonatal administration of different androgens in the female rat: Correlation between aromatization and the induction of sterilization. Journal of Endocrinology 61: 95
- 55.- McGEER,P.L., J.C.ECCLES, E.G.McGEER (1987). Catecholamine neurons. En: Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain. Eds. McGeer, P.L., Sir J.C. Eccles and E.G. McGeer. Plenum Press, New York & London. pp. 265-317.

56.- MORALES, L., M.E. AYALA, A. FLORES, R. DOMINGUEZ (1988). Variaciones en el crecimiento y la diferenciación folicular inducidas por la administración de propionato de testosterona (PT) al nacimiento. XXXI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, C-92, México.

57.- MÜLLER, E.E., G. NISTICO, U. SCAPAGNINI (1977). Proved and putative neurotransmitters in the central nervous system. En: Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function Academic Press, New York, San Francisco, London. pp. 13-141.

58.- NANCE, D.M., J.P. WHITE, W.H. MOGER (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. Brain Research Bulletin 10: 353-355.

59.- NICKERSON, M., B. COLLIER (1978). Fármacos que inhiben los nervios adrenérgicos y los órganos que estos inervan. En: Bases farmacológicas de la terapéutica. Eds Goodman y Gilman, 5a. ed. Interamericana, México. pp. 447-473.

60.- OJEDA, S.R., L.I. AGUADO (1985). Adrenergic control of the prepubertal ovary: Involvement of local innervation and circulating catecholamines. En: Catecholamines as hormone regulators. Eds. Ben-Jonathan, N., J.M. Bahr and R.I. Weiner, Raven Press, New York, pp. 293-310.

61.- OJEDA, S.R., L.I. AGUADO, S. SMITH-WHITE (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rat as a model. Neuroendocrinology 37: 306-313.

62.- OJEDA, S.R., H.E. JAMESON (1977). Developmental patterns of plasma and pituitary growth hormone (GH) in the female rat. Endocrinology 100: 881-889.

63.- OJEDA, S.R., H.F. URBANSKI, C.E. AHMED (1986). The onset of female puberty: Studies in the rat. Recent Progress in Hormone Research 42: 385-440.

64.- OJEDA, S.R., H.F. URBANSKI, L.C. ROGERS, D. GONZALEZ, W.H. FAHRENBACH (1989). Neuroendocrine control of female puberty: Physiological and Molecular Approaches. En: Neural Control of Reproductive Function. De Neurology and Neurobiology. Eds. J.M. Lakoski, J.R. Pérez-Polo, D.K. Rassin. A.R. Liss. Inc., New York, USA. pp. 61-77.

65.- PARKER, C.R. Jr, A. COSTOFF, T.G. MULDOON, V.B. MAHESH (1976) Actions of pregnant mare serum gonadotropin in the immature female rat: Correlative changes in blood steroids, gonadotropins, and cytoplasmatic estradiol receptors of the anterior pituitary and hypothalamus. Endocrinology 98:129-138

66.- PFEIFFER,C.A. (1935). Origin of functional differences between male and female hypophyses. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine 32: 603-605.

67.- PFEIFFER,C.A. (1936). Sexual differences of the hypophyses and their determination by the gonads. American Journal of Anatomy 58: 195-225.

68.- PFEIFFER,C.A. (1941). Effect of ovarian transplants upon the development and maintenance of the seminal vesicle and prostate gland of the albino rat. Anatomical Record 79: 213-237.

69.- QUINN,D.L., M.X.ZARROW (1964). Inhibition of pregnant-mare's serum induced ovulation in the immature rat. Endocrinology 74: 309-313.

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

71.- RAMALEY,J.A., C.K. PHARES (1980). Delay of puberty onset in females due to suppression of growth hormone. Endocrinology 106: 1989-1993.

72.- RAMIREZ,V.D. (1973). Endocrinology of puberty. En: Handbook of Physiology. American Physiological Society. pp. 1-28.

73.- RAMIREZ,V.D., H.H.FEDER, C.H. SAWYER (1984). The role of brain catecholamines in the regulation of LH secretion: A critical inquiry. En: Frontiers in Neuroendocrinology. Eds. Martini,L. y W.F.Ganong. Raven Press, New York. pp. 27-71.

74.- REZNIKOV,A.G., N.D.NOSENKO (1983). It is possible that noradrenaline is the biogenic amine responsible for androgen-dependent sexual brain differentiation. Experimental and Clinical Endocrinology 81: 91-93.

75.- ROSAS,P., M.S.ARGÜELLO, R.DOMINGUEZ (1989). Effects of noradrenergic peripheral denervation on spontaneous or induced puberty in normal and hypothymic hairless female mice. Medical Science Research 17: 285-286.

76.- SASAMOTO,S., S.HARADA, K.TAYA (1977). Selective release of follicle-stimulating hormone during the period of ovulation induced by human chorionic gonadotrophin in dioestrus rats. Journal of Endocrinology 75: 179-180.

77.- SASAMOTO,S., T.JOHKE (1975). FSH and LH release during the first ovulation period of immature rat pretreated with PMS. Biology of Reproduction 13: 195-202.

- 78.- SCHWARTZ,N.B. (1974). The role of FSH and LH and of their antibodies on follicle growth and ovulation. *Biology of Reproduction* 10: 236-272.
- 79.- SHERIDAN,P.Jr, M.SAR, W.E.STUMPF (1974). Interaction of exogenous steroids in the developing rat brain *Endocrinology* 95: 1749
- 80.- SWANSON,H.E., J.J.VAN DER WERFF TEN BOSCH (1963). Sex differences in growth of rats, and their modification by a single injection of testosterone propionate shortly after birth. *Journal of Endocrinology* 26: 197-207.
- 81.- TAYA,K., J.SASAMOTO, S.SASAMOTO (1974). The effect of the initial age and body weight on PMS-induced ovulation in immature rats. *Japan Journal of Animal Science* 20: 1-6.
- 82.- ULLOA-AGUIRRE,A., R.ESPINOZA, P.DAMIAN, R.DOMINGUEZ, A.FLORES, L.MORALES (1988). Change heterogeneity of anterior pituitary (AP) follicle-stimulating hormone (FSH) in the androgenized female rat. *Endocrinology* 09-18-014.
- 83.- URBANSKI,H.F., S.R.OJEDA (1985). In Vitro simulation of prepubertal changes in pulsatile luteinizing hormone release enhances progesterona and 17 β -estradiol secretion from immature rat ovaries. *Endocrinology* 117: 638 - 643.
- 84.- URBANSKI,H.F., S.R.OJEDA (1985). The juvenile-peripubertal transition period in the female rat: Establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 117: 644-649.
- 85.- URBANSKI,H.F., S.R.OJEDA (1986). The development of afternoon minisurges of luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats is ovary dependent. *Endocrinology* 118 1187-1193.
- 86.- VIDAL,M.J., E.AGUILAR (1985). On steroid noradrenergic system interaction during the hypothalamic differentiation period in the female rat. *Experimental and Clinical Endocrinology* 86: 165-170.
- 87.- VILLAVICENCIO,J. (1991). Un estudio de los mecanismos que regulan el crecimiento y la diferenciación folicular en la rata prepúber: El papel de la hormona estimulante del folículo y sus isohormonas. Tesis de Maestría. UAM-Iztapalapa
- 88.- VILLAVICENCIO,J., A.FLORES (1991). The ovulatory response of prepubertal rats to gonadotropins depends on animal age. *Biology of Reproduction* 44: supl.1, 461.

89.- WELSCHEN,R., J.DULLAART (1974). Serum concentrations of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone after unilateral ovariectomy in the adult rat. Journal of Endocrinology 63: 421-422.

90.- WELSCHEN,R., J.DULLAART (1976). Administration of antiserum against ovine follicle-stimulating hormone or ovine luteinizing hormone at pro-oestrus in the rat.: Effects on follicular development during the oncoming cycle. Journal of Endocrinology 70: 301-306.

91.- YOSHIDA,H., Ch.B.HUGGINS (1981). The age-dependent difference in the response of the vagina to the neonatal administration of testosterone propionate in Long-Evans female rats. Experientia 37: 1210-1211.

92.- ZARROW, M.X., R.D.GALLO (1969). Action the progesterone on PMS-induced ovulation in the immature rat. Endocrinology 84: 1274-1276.

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

94.- ZARROW,M.X., E.D.WILSON (1961). The influence of age on superovulation in the immature rat and mouse. Endocrinology 69: 851-855.

APENDICE

Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation ovulation in the pubertal and the adult rat?

Angélica Flores, Ma. Elena Ayala and Roberto Dominguez

Laboratory of Biology of Reproduction. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México. A.P. 9-020, C.P. 15000, México D.F., México

Keywords: Guanethidine, noradrenergic denervation, ovulation, gonadotrophin.

Introduction: We have previously shown, through the effects of noradrenergic denervation by guanethidine [1-3], that ovarian noradrenergic innervation has a stimulatory role as regards ovulation in adult rats, but and is inhibitory in prepubertal mice.

We have now conducted experiments to determine if these differences observed between adult rats and prepubertal mice are related to species differences or to gonadotrophin administration. In the present study we have investigated the effects of peripheral noradrenergic denervation (induced by guanethidine administration) to both newborn and adult rats on puberty and spontaneous ovulation. Several studies have shown that guanethidine only affects peripheral noradrenergic synapsis because it does not cross the blood-brain barrier [4].

Materials and methods: In-house-bred 24 adult (190-225 g) virgin rats of the C11 Z-V strain from our stock maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water along with 32 newborn rats were used. In adult rats oestrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only animals with regular 4-day cycles were used. The day of vaginal opening (puberty) was recorded in prepubertal animals.

Beginning on dioestrous day 1, the adult animals were injected every other day with guanethidine (20 mg kg⁻¹, b.w.) (Ciba-Geigy, Mexico) until day 30, with vehicle or left untreated. The vaginal cycle was followed daily and the animals were killed by decapitation under ether anaesthesia in the morning of the first day of vaginal cornification preceded by a pro-oestrous smear.

Newborn (day one of life) animals were treated with guanethidine (20 mg kg⁻¹ b.w.) or with vehicle from Monday to Friday until the day of first vaginal oestrous when they were sacrificed. A non-treated group of animals sacrificed on the day of first vaginal oestrous was used as another control group.

At autopsy the oviducts were dissected and tubal ova removed and counted under a dissecting microscope. The ovaries and uterus were dissected out and weighed.

Data on number of ova shed and weight of the ovaries and uterus were analysed by Student's *t*-test; ovulation rate (number of ovulating rats/number of rats treated) and oestrous cyclicity (number of cyclic/number of animals treated) were analysed by a Chi-square test.

Results and discussion: Since no differences were observed between vehicle-treated and untreated animals, the data from these were combined to form a single control group. In adult rats, oestrous cyclicity was modified by guanethidine administration, when an increase in the number of days with dioestrous vaginal smears was observed. The length of oestrous

Table 1: Ovulation rate and body weight, number of ova shed and weight of the ovaries [mg 100 g b.w.] (means \pm SE) of adult rats treated with guanethidine, sacrificed at the first day of vaginal oestrous.

Group	Ovulation rate	Body weight	Number of ova shed		Weight of the ovaries
			left	right	
Control	12/14	190 \pm 6	10.6 \pm 0.4	27.3 \pm 1.6	
GTD	8/10	190 \pm 5	6.3 \pm 0.4*	22.6 \pm 1.2*	
			By the left and right ovary		
			Number of ova shed	Weight of the ovary	
			left	right	
Control			5.9 \pm 0.5	4.1 \pm 0.6	13.9 \pm 1.0
GTD			2.8 \pm 0.6*	2.5 \pm 0.7	11.8 \pm 0.5
					10.9 \pm 0.7*

* In comparison with control, $p < 0.05$.

cycles following guanethidine administration was: first 10.0 \pm 1.3 days; second 6.6 \pm 0.6; third 8.0 \pm 0.2.

Ovulation rates were similar in guanethidine-treated and control animals. The number of ova shed was, however, lower in the guanethidine-treated animals; reduction in the number of ova shed was greater in the left ovary than in the right. The weight of the ovary was also smaller in guanethidine-treated animals than in the controls (Table 1). No differences in the weight of uterus were observed.

Both puberty and the age of the first vaginal oestrous were delayed in rats treated with guanethidine. Ovulation rate was not modified by guanethidine administration, but the number of ova released by ovulating animals was increased in both ovaries (significantly only in right ovary). The weight of the ovaries was lower in guanethidine-treated rats. The body weight in guanethidine-treated animals was lower than that in the control group (Table 2). No differences in the weight of the uterus were observed. Our results suggest that the participation of noradrenergic ovarian innervation in the regulation of ovulation is different in the prepubertal and adult rat.

Because the number of ova shed increased in the prepubertal denervated rat, the noradrenergic innervation of the ovary would inhibit the reactivity of the follicles in the gonadotrophins inducing ovulation. The possibility that guanethidine was acting on the median eminence, a zone of the central nervous system outside of the hemato-encephalic barrier, increasing the release of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) and gonadotrophins, cannot be supported since noradrenaline has a stimulatory role in the release of GnRH. The diminution in the weight of the ovaries would reflect a diminution in the tonic levels of gonadotrophins, while the delay in the vaginal opening can be explained by a diminution in the release of oestrogens, since it has been shown that noradrenaline stimulates the synthesis of oestrogens [5, 6].

In the adult rat, however, the peripheral noradrenergic denervation could affect ovulation in two different ways. Noradrenergic innervation modulates in a stimulatory way the reactivity of the follicles to gonadotrophins, and/or the

Table 2: Ovulation rate and body weight, age of vaginal opening (VO), age of first vaginal oestrus (FVO), number of ova shed and weight of the ovaries (means \pm SEM) of pubertal rats treated with guanethidine from birth, autopsied at the first day of vaginal oestrus.

Group	Ovulation rate	Body weight	VO	FVO	Number of ova shed	Weight of the ovaries
Control	16/17	113 \pm 2	37 \pm 0.3	37 \pm 0.4	7.1 \pm 0.5	36.4 \pm 1.5
GTD	12/15	98 \pm 4*	42 \pm 1.1*	43 \pm 1.1*	9.9 \pm 0.8*	30.9 \pm 2.0*

Group	By the left and right ovary		Weight of the ovary	
	left	right	left	right
Control	3.6 \pm 0.6	3.4 \pm 0.5	19.1 \pm 0.8	17.5 \pm 1.0
GTD	4.8 \pm 0.9	5.2 \pm 0.5*	15.4 \pm 1.2*	15.5 \pm 1.0

* In comparison with control, $p < 0.05$.

denervation of the median eminence diminishes the release of GnRH and gonadotrophins. It also seems that there are species differences in the participation of noradrenergic innervation in the regulation of puberty, since noradrenergic peripheral denervation induced by guanethidine did not modify puberty in mice [3], and delayed it in rats.

In prepubertal animals, mice and rats, noradrenergic peripheral innervation seems to inhibit the follicular reactivity to gonadotrophins both exogenous [3] and endogenous (present results). It is possible that the role of noradrenergic innervation is related to the effects of follicle stimulating hormone (FSH) on the ovary since an inverse relationship has been shown between the norepinephrine levels in the ovary and FSH plasma levels [7].

We have previously proposed that the asymmetry in the ovulatory ability observed between the left and right ovary is related to ovarian innervation [8]. The results obtained in the present study add further to our proposal. They also show that the differences in the response of the left and right ovary to noradrenergic denervation changes when the animal matures. At present we have no explanation for these differences.

Taken together, the present results and those previously mentioned suggest that the participation of catecholaminergic

innervation will change from the regulation of the ovulatory ovarian reactivity to luteinising hormone in the prepubertal animal to the modulation of the ovarian follicle reaction to FSH related to ovulation in the adult rat.

1. Dominguez, R. and Zapata, D. 1980. *IRCS Med. Sci.*, **8**, 352.
2. Ayala, M.E. and Dominguez, R. 1986. *Rev. Invest. Clin.*, **40**, 149-155.
3. Rosati, P., Arguello, M.S. and Dominguez, R. 1989. *Med. Sci. Res.*, **17**, 245-286.
4. McGeer, P.L., Eccles, J.C. and McGeer, E.G. 1987. In: McGeer, P.L., Eccles, J.C. and McGeer, E.G. (eds.), *Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain*, 2nd edn, chap. 9, pp. 265-317. Plenum Press, New York and London.
5. Aguado, I.I. and Ojeda, S.R. 1984. *Endocrinology*, **114**, 1845-1853.
6. Aguado, I.I. and Ojeda, S.R. 1984. *Endocrinology*, **114**, 1944-1946.
7. Ben-Jonathan, N., Braw, R.H., Laufer, N.R., Bahr, J. and Tufin, A. 1982. *Endocrinology*, **110**, 457-461.
8. Dominguez, R., Cruz, M.E. and Chávez, R. 1999. In: Hirschfeld, A.M. (ed.), *Growth Factors and the Ovary*, chap. 39, pp. 321-325. Plenum Press, New York.

This study was supported by CONACYT, grants PCSACNA 50972 and P21CCOLAR206, and Programa Universitario de Investigación en Salud, U.N.A.M. Guanethidine was a generous gift of Ciba Geigy, México.

Reprint requests to: Dr Angélica Flores, Laboratorio de Biología de la Reproducción, ENEP Zaragoza, AP 9-420, C.P. 15000, México DF.

Paper received: 7th July, 1990; amended 21st September, 1990.

1974
1975

ACIENCO S.A. DE C.V.
CALLE DE LOS GALLOS
CERES, PUEBLO DE LOS GALLOS
ESTADO DE PUEBLO
C.P. 71000

XV REUNION ANUAL

ACADEMIA DE INVESTIGACION EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

MAYO 30 - JUNIO 2, 1990

ACAPULCO, MEXICO

PROGRAMA CIENTIFICO

MAYO 30, MIERCOLES

- 16:30 - 17:00 CEREMONIA DE INAUGURACION
- 17:00 - 19:20 SIMPOSIO I. COORDINADOR: TOMAS MORATO
- 19:20 - 20:00 R E C E S O
- 20:00 - COCKTAIL DE BIENVENIDA

MAYO 31, JUEVES

- 8:15 - 11:15 TRABAJOS LIBRES. COORDINADOR: JUAN J. HICKS
- 8:15 - 8:45 Actividad Reproductiva de la yegua y burra durante los días con menor cantidad de horas luz. José Luis Orozco Hernández, Pco. Javier Escobar Medina, Federico de la Colina Flores.
- Comentario: Luis Zarco
- 8:45 - 9:15 Características del Síndrome climatérico en cuatro ciudades mexicanas. Gloria Alvarado, Roberto Rivera, Marcela Ontiveros, Fernando Flores, Angela Cabeza de Flores, José Luis de la Torre, J. Manuel Malacara, Alfonso García Vela, Gerardo Forsbach, Jesús Contreras Soto, Teresa Bribiesca.

Comentario: Ramón Aznar

LA PARTICIPACION DE LA INERVACION NORADRENERGICA PERIFERICA EN LA REGULACION DE LA PUBERTAD Y LA OVULACION ESPONTANEA E INDUCIDA EN LA RATA NORMAL Y LA ANDROGENIZADA AL NACIMIENTO.

Angélica Flores y Roberto Domínguez. Laboratorio de Biología de la Reproducción. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza UNAM

RESUMEN

Con el fin de analizar la participación del sistema noradrenérgico periférico en la regulación neuroendócrina de la ovulación del animal prepúber, en el presente trabajo, se analizaron los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica producida desde el nacimiento por la administración de guanetidina (20 mg/kg), sobre la pubertad y la primera ovulación espontánea e inducida y sobre la capacidad masculinizante de los andrógenos inyectados a la rata hembra recién nacida. La desnervación noradrenérgica periférica provocó retraso de la edad de la apertura vaginal y del primer estro respecto al grupo testigo. Sin embargo, el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó significativamente (9.9 ± 0.8 vs 7.1 ± 0.5 , $P < 0.02$). En los animales de 18 días de edad con desnervación noradrenérgica periférica, el tratamiento con PMSG indujo la ovulación en el 44.4% de animales, lo que no ocurre en ninguno de los animales enteros tratados con la hormona. En los animales androgenizados al nacimiento con 75 µg de propionato de testosterona, la administración de guanetidina provocó que 7/7 animales presentaran apertura vaginal y el 43% de ellos ovulara, mientras que los que sólo están androgenizados, a los 62 días de edad no presentaron apertura vaginal. Nuestros resultados apoyan la idea de que la inervación noradrenérgica del ovario tiene un papel de tipo inhibitorio en la capacidad ovulatoria del animal prepúber. Por otro lado, modula la reactividad del ovario a las gonadotropinas ya que en todos los casos, el peso de los ovarios de los animales desnervados es menor que el de los enteros. Finalmente, los resultados obtenidos en el modelo del animal androgenizado sugiere que los andrógenos inyectados al nacimiento afectan tanto al sistema catecolaminérgico central como al que inerva al ovario.

INTRODUCCION

El inicio de la pubertad en la rata hembra se caracteriza por la canalización vaginal, la hinchazón y el cambio de color de la membrana vaginal antes de su ruptura y la ovulación se presenta a las 24-48 horas. Sin embargo, algunos autores sugieren que la pubertad inicia alrededor de los 15-20 días de edad con el inicio del desarrollo folicular. En el período neonatal el ovario es relativamente insensible a las gonadotropinas, por lo menos hasta los 4-5 días que siguen al nacimiento y no secretarían estrógenos. Al parecer, esta falta de respuesta se debe al bajo contenido de receptores a las gonadotropinas. Después del día 4 de edad, la hormona estimulante del foliculo (FSH) estimula la síntesis de sus propios receptores por el ovario, lo cual permite la conversión de testosterona a estrógenos. La presencia de concentraciones plasmáticas elevadas de la FSH se extiende hasta los 16-20 días (16, 21, 22,

Desde los ya clásicos trabajos de Pfeiffer y de Barraclough (6, 7, 8, 23) se sabe que la secreción de las gonadotropinas es diferente en la hembra y en el macho (especialmente la liberación de LH). Esta diferencia no parece tener bases genéticas, sino que esta vinculada a los efectos que los andrógenos secretados por el testículo fetal o del animal recién nacido, ejercen sobre el hipotálamo indiferenciado. Estudios posteriores han demostrado que los andrógenos capaces de inducir la diferenciación sexual de los mecanismos de regulación de la secreción gonadotrópica, son aquellos que pueden ser aromatizados y convertidos a estrógenos (15).

Generalmente se asume que la actividad cíclica del ovario, la síntesis de esteroides, el crecimiento folicular, la selección de los folículos preovulatorios y la ovulación, son regulados por el eje hipotálamo-hipófisis. Estudios de diversos autores sugieren que la innervación ovárica participa en la regulación de varios aspectos de su función, modulando su reactividad a la acción de las gonadotropinas y enviando información de su funcionamiento hacia el sistema nervioso central (SNC), donde el conjunto de informaciones es procesada por el hipotálamo y que tiene como resultado la modificación de la secreción del GnRH (11, 13, 22).

Uno de los métodos utilizado en el estudio de la participación de la innervación en la regulación de la función del ovario es la deservación farmacológica provocada por la administración de drogas del tipo de la guanetidina, las que no atraviesan la barrera hematoencefálica (12, 18, 19, 20), por lo que los efectos observados serían en principio la resultante de la falta de comunicación nerviosa entre el SNC y el ovario. La administración de guanetidina de manera crónica o aguda a ratas adultas provoca alteración del ciclo estral y disminución del número de ovocitos liberados en forma espontánea (3, 14). Por otra parte, se ha observado que en el ovario de la rata prepúber la concentración de noradrenalina aumenta a partir de los 25 días, lo que se acompaña de la disminución significativa de la concentración plasmática de la FSH (4, 9, 10).

En los diferentes modelos experimentales en los que se utilizan a los roedores como modelo de estudio, aún no ha sido dilucidada la participación de los sistemas de neurotransmisores en el proceso de diferenciación sexual para explicar los cambios que se suceden en los mecanismos de regulación de la secreción hormonal. Según Barraclough y col. (6, 7, 8) el sistema noradrenérgico que innerva al hipotálamo es fundamental para explicar la regulación de la secreción de la LH, principalmente en el día del proestro. En el animal androgenizado al nacimiento, en el momento en el que los animales desarrollan el Síndrome de androgenización, la concentración de noradrenalina en el hipotálamo está disminuida en comparación con los animales en el día del estro. Sin embargo, la administración de testosterona durante el periodo posnatal inmediato, provoca la elevación de la concentración de noradrenalina en el hipotálamo y el bloqueo de la síntesis de noradrenalina con DL- α -metil-p-tirosina, impide el desarrollo del síndrome de androgenización, por lo que la elevación inicial de las concentraciones del neurotransmisor sería la causal de las alteraciones posteriores (26). Esta interpretación es apoyada por el hecho que la administración de testosterona a la

rata hembra recién nacida, provoca disminución de la concentración de la catecolamino- α -metil-transferasa, enzima que inactiva la noradrenalina en el espacio sináptico (17).

Con fundamento en los hechos antes mencionados, en el presente trabajo se estudiaron los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica, producida desde el nacimiento por la administración de guanetidina, sobre la pubertad y la primera ovulación espontánea o inducida, y sobre la capacidad masculinizante de los andrógenos inyectados a la rata hembra recién nacida.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras de la cepa C II 7-V de diferentes edades mantenidas en fotoperíodo controlado de 14 horas de luz (05:00-19:00 h) y de 10 horas de oscuridad, que tuvieron acceso libre a la madre lactante hasta el día del destete (21 días de edad) y luego al alimento y al agua. A todos los grupos de animales tratados y testigos sin tratamiento, se les registró el día de la apertura vaginal, se tomaron frotis vaginales diarios; todos los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal, salvo que se especifique lo contrario.

Experimento 1. Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la pubertad espontánea, la edad del primer estro vaginal y la ovulación

Ratas recién nacidas fueron inyectadas de lunes a viernes con guanetidina (Ciba-Geigy, México) [20 mg/kg], s.c. o con 0.05 ml de vehículo, hasta la aparición del primer estro vaginal. Como grupo de comparación se utilizaron ratas sin tratamiento.

Experimento 2 Estudio de la respuesta ovulatoria inducida por la administración de la gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG) en diferentes edades de la rata hembra prepóber normal y con desnervación noradrenérgica periférica.

Ratas de 18, 21, 24 y 28 días fueron inyectadas con 8 u.i. de PMSG (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. EE.UU.) o con 0.05 ml de vehículo. Con base a los resultados obtenidos, un grupo de ratas recién nacidas inyectadas con guanetidina [20 mg/kg], a los 18 días de edad fueron tratadas con 8 ui de PMSG. Los animales tratados con PMSG fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal y los tratados con vehículo a las edades correspondientes.

Experimento 3. Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la acción masculinizante de los andrógenos inyectados a la rata recién nacida, sobre la pubertad, la edad del primer estro vaginal y la ovulación

Ratas hembras recién nacidas fueron tratadas con 75 μ g de propionato de testosterona (Sigma Chem. Co.) disuelto en aceite o con vehículo. Otro grupo de ratas tratadas con propionato de testosterona (75 μ g) recibieron guanetidina (20 mg/kg) desde el día del nacimiento hasta la presentación del primer estro vaginal, cuando fueron sacrificadas. Los animales tratados con propionato de testosterona fueron sacrificados a los 62 días de edad (véase resultados).

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Los animales fueron sacrificados por decapitación; a la autopsia se disecaron los oviductos, se buscó la presencia de ovocitos y cuando estuvieron presentes se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Se disecaron y pesaron los ovarios, las adrenales, el útero y la hipófisis.

ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los resultados de los pesos de los órganos, número de ovocitos y edad de la apertura vaginal y el primer estro fueron evaluados por análisis de varianza multifactorial seguido por la prueba de Duncan. La tasa de animales ovulantes fue evaluada por la prueba de χ^2 . En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en los que la probabilidad fue igual o menor al 0.05%.

RESULTADOS

Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la pubertad espontánea, la edad del primer estro vaginal y la ovulación

Debido a que no se observaron diferencias en la pubertad (edad de la apertura vaginal, del primer estro vaginal, la tasa de ovulatoria, el número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los órganos, entre los animales tratados con Vh y los testigos absolutos, los grupos fueron combinados para formar un grupo testigo único.

La desnervación noradrenérgica periférica provocó retraso de la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal respecto al grupo testigo (42.3 ± 1.1 vs 37.2 ± 0.4 , $p < 0.05$; 42.7 ± 1.1 vs 37.5 ± 0.4 , $p < 0.001$, respectivamente). Al día del primer estro vaginal, en los animales tratados la tasa de ovulantes es similar a la del grupo testigo (12/15 vs 16/17), pero el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó significativamente (Tabla 1).

TABLA 1: MEDIA \pm e.e.m. del NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR EL OVARIO IZQUIERDO (O.I.), EL OVARIO DERECHO (O.D.) O AMBOS (OVOCITOS TOTALES) EN ANIMALES TESTIGO O DESNERVADOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE GUAJETIDINA DESDE EL NACIMIENTO Y SACRIFICADOS EN EL DÍA DEL PEV

GRUPO	n	Ovocitos O.I.	Ovocitos O.D.	Ov. Totales
Testigo	16	3.6 ± 0.6	3.4 ± 0.5	7.1 ± 0.5
Desnervado	12	4.8 ± 0.9	$5.2 \pm 0.5^*$	$9.9 \pm 0.8^*$

* $p < 0.02$ comparado con el grupo testigo

El peso corporal, de los ovarios y las adrenales fueron menores que en el grupo testigo. No se observaron diferencias significativas en el peso del útero y la hipófisis (Tabla 2).

TABLA 2: MEDIA±s.e. del PESO CORPORAL, PESO DE LOS OVARIOS, ÚTERO, ADRENAL E HIPOFISIS DE ANIMALES TESTIGO O DESNERVADOS POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL.

GRUPO	n	Peso corporal(g)	Ovarios (mg)	Útero (g)	Adrenal (mg)	Hipófisis (mg)
Testigo	17	113±2.3	36.5±1.5	163±6.2	34.0±1.5	8.5±0.5
Desnervado	15	98±3.7*	30.9±2.0*	157±8.8	26.9±1.5*	7.3±0.4

* p<0.05 comparado con el testigo

Estudio de la pubertad inducida por la administración de la PMSG en diferentes días de edad de la rata hembra prepúber y la respuesta ovulatoria

El tratamiento con PMSG a ratas hembras de 18, 21, 24 o 28 días de edad, provocó adelanto de la edad de la apertura vaginal, la que se presentó a las 72 horas del tratamiento, excepto en aquellos inyectados a los 18 días, en los que la apertura vaginal se produjo a las 96 horas (Tabla 3).

Como se observa en la tabla 3, en los animales tratados con PMSG la tasa de ovulantes aumenta conforme el animal alcanza la madurez; sin embargo, en los animales tratados a los 24 días aumentó el número de ovocitos liberados por animal ovulante respecto a los tratados a los 28 días. El tratamiento a los animales de 18 días no indujo la ovulación a pesar de que presentaron estro vaginal.

TABLA 3: MEDIA±s.e. de la EDAD DE LA APERTURA VAGINAL (AV) Y LA EDAD DEL PRIMER ESTRO VAGINAL (PEV) y DEL NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE, y TASA DE OVULACION (NÚMERO DE ANIMALES OVULANTES/NÚMERO DE RATAS TRATADAS) DE ANIMALES TRATADOS CON 0 U.I. DE PMSG EN DIFERENTES DÍAS DE EDAD DE LA RATA HEMBRA PREPÚBER Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PEV, COMPARADOS CON EL GRUPO TESTIGO (T)

Edad de tratamiento (días)	A.V. (días)	P.E.V. (días)	Tasa de ovulantes	Número de ovocitos
18	21.9 ± 0.1*	22.0 ± 0.0*	0/12	--
21	24.0 ± 0.0*	24.0 ± 0.0*	2/9	19, 10
24	27.0 ± 0.0*	27.3 ± 0.2*	6/12	12.0±1.0
28	31.0 ± 0.0*	31.0 ± 0.0*	9/10	6.8±0.4*
T	36.7 ± 0.3	36.9 ± 0.3	10/11	7.5±0.5*

* p<0.01 comparado con el T

* p<0.01 comparado con el animal de 24 día

El tratamiento con PMSB provocó aumento en el peso de los ovarios y el útero independientemente de la edad en que fueron tratados. El peso corporal fue mayor que el grupo testigo en los animales tratados a los 18 días, mientras que el de la hipófisis aumentó en los tratados a los 21 o 24 días y el de las adrenales en los tratados a los 28 días (tabla 4).

TABLA 4: MEDIA ± e.e. del PESO CORPORAL, DE LOS OVARIOS, ÚTERO, ADRENAL e HIPOFISIS DE ANIMALES TRATADOS CON 8 U.I. DE PMSB EN DIFERENTES DIAS DE EDAD DE LA RATA HEMBRA PREPUBER Y SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PEV, COMPARADOS CON EL GRUPO TESTIGO (T)

Edad de tratamiento (días)	N	Peso corporal (g)	Ovarios (mg)	Útero (mg)	Adrenal (mg)	Hipofisis (mg)
18 testigo	20	41±0.9	20.0±0.7	39±2.0	18.9±0.8	5.5±0.2
tratado	12	46±1.2*	29.6±1.6*	130±3.4*	19.6±0.7	5.9±0.4
21 testigo	22	53±1.1	22.0±0.6	37±1.5	24.1±1.0	5.5±0.3
tratado	9	55±1.4	38.4±4.3*	134±11*	23.7±1.3	6.7±0.6*
24 testigo	17	66±0.8	21.8±1.0	51±2.7	22.6±1.0	5.3±0.3
tratado	12	62±1.8	49.8±3.8*	122±6.7*	25.0±1.5	6.7±0.7*
28 testigo	20	73±1.5	21.3±0.6	55±3.2	24.6±0.9	6.6±0.3
tratado	10	76±2.5	41.0±2.1*	118±3.1	40.1±2.0*	7.5±0.5

* p<0.01 comparado con su testigo

Estudio de los efectos de la deservación noradrenérgica periférica sobre la pubertad inducida por la administración de PMSB y la respuesta ovulatoria en la rata hembra prepúber.

En los animales de 18 días con deservación noradrenérgica periférica el tratamiento con PMSB indujo la ovulación en 4/9 animales, lo que no ocurrió en ninguno de los animales enteros tratados con la hormona (4/9 vs 0/12, p<0.05). Los animales ovulantes liberaron 3.5±0.6 ovocitos. En los animales deservados también se observó retraso en la edad de la apertura vaginal y del primer estro vaginal respecto al grupo tratado solamente con PMSB a la misma edad (24.7±0.3 vs 21.9±0.1, p<0.001; 24.7±0.3 vs 22.0±0.0, p<0.001, respectivamente). Estas modificaciones se acompañaron de menor aumento del peso de los ovarios, del útero y la hipófisis (Tabla 5).

Tabla 5: MEDIANE.e.s. del PESO CORPORAL, DE LOS OVARIOS, UTERO, ADRENAL e HIPOFISIS DE ANIMALES TRATADOS CON 8 U.I. DE PHSS A LOS 10 DIAS DE EDAD, DESNERVADOS O NO CON GUANETIDINA DESDE EL NACIMIENTO, SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PRIMER ESTRO VAGINAL, COMPARADOS CON UN GRUPO TESTIGO SIN TRATAMIENTO SACRIFICADO A LOS 23 DIAS DE EDAD.

Grupo	N	Peso corporal (g)	Ovarios (mg)	Utero (mg)	Adrenal (mg)	Hipófisis (mg)
Testigo	19	49±2.7	21.0±0.8	38±1.9	23.2±1.2	5.7±0.2
PHSS	12	46±1.2	29.6±1.6*	130±5.4*	19.6±0.7*	5.9±0.4
BTD+PHSS	9	43±1.2	14.8±1.5**	78±5.8**	20.4±0.9	4.9±0.3**

* p<0.05 comparado con el testigo; ** p<0.05 comparado con el tratamiento con PHSS

Estudio de los efectos de la desnervación noradrenérgica periférica sobre la acción masculinizante de los andrógenos invertidos a la rata recién nacida, sobre la edad de apertura vaginal y primer estro, y la ovulación

En los animales androgenizados al nacimiento la desnervación noradrenérgica periférica provocó que 7/7 animales presentaran apertura vaginal y que 3/7 ovularan, mientras que los animales androgenizados no presentaron apertura vaginal a los 62 días (7/7 vs 0/10, p<0.01) y ninguno de ellos ovuló (3/7 vs 0/10, p<0.05). El número de ovocitos liberados por animal ovulante fue semejante al grupo testigo (6.7±1.7 vs 7.9±0.5, n.s.). El peso corporal, de los ovarios, el útero, las adrenales y la hipófisis fue menor en los animales desnervados que en los testigos y los androgenizados (Tabla 6).

Tabla 6: MEDIANE.e.s. del PESO CORPORAL, DE LOS OVARIOS, UTERO, ADRENAL e HIPOFISIS DE ANIMALES TRATADOS 75 µg DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA (PT), DESNERVADOS (BTD) O NO DESDE EL NACIMIENTO POR LA ADMINISTRACION DE GUANETIDINA.

Grupo	N	Peso corporal (g)	Ovarios (mg)	Utero (mg)	Adrenal (mg)	Hipófisis (mg)
Testigo	21	119±2.5	35.9±1.4	174±7.0	32.2±1.5	8.5±0.4
PT	10	146±3.0*	33.4±2.7	263±9.9*	41.8±2.2*	12.4±0.7*
BTD+PT	7	104±3.5**	28.3±2.6*	144±15**	26.8±2.2**	6.5±0.4**

* p<0.05 comparado con el grupo testigo

** p<0.05 comparado con el grupo tratado con PT

DISCUSION

Los resultados obtenidos en el presente estudio apoyan afirmaciones previas de nuestro laboratorio (13) y de otros (1, 2, 11), sobre la importancia de la participación de la inervación noradrenérgica en los mecanismos que regulan la función del ovario y la ovulación.

En el presente estudio la desnervación noradrenérgica periférica provocó retraso de la edad de apertura vaginal y del primer estro hecho que podría significar una menor secreción de estrógenos, aunque el peso del útero fue normal. En animales prepúberes ovariectomizados, la administración de guanetidina disminuye la respuesta del útero a los estrógenos (5), mientras que en animales estrogénizados al nacimiento, la desnervación noradrenérgica central y periférica impide el adelanto de la edad de apertura vaginal y primer estro (28). Estas diferencias podrían ser explicadas por los distintos modelos experimentales utilizados, aunque no puede descartarse que la disminución del peso corporal de los animales tratados con guanetidina, sea uno de los factores preponderantes para explicar estos resultados.

En la rata adulta, la desnervación noradrenérgica periférica inducida por la administración de guanetidina provoca disminución de la capacidad ovulatoria espontánea que se traduce por el menor número de ovocitos liberados, tanto en el animal entero como en el hemiovariectomizado (3, 14). Dado que en el animal prepúber el mismo tratamiento provocó efectos contrarios, es posible argumentar que el papel de la inervación noradrenérgica del ovario es de tipo estimulante en el animal adulto (3, 14) e inhibitoria en el prepúber. Esta interpretación es apoyada por los resultados obtenidos al administrar gonadotropinas a los animales de 18 días desnervados y los obtenidos en el ratón prepúber (27).

Al parecer, el papel de la inervación noradrenérgica en la regulación de la reactividad del ovario a las gonadotropinas afecta de manera diferente a los compartimientos del mismo, ya que en todos los casos el peso de los ovarios de los animales desnervados es menor que el de los animales enteros. Estas diferencias podrían ser atribuidas a la menor proporción de folículos grandes presentes en los animales desnervados (Flores y Domínguez, datos no publicados).

Según Vidal y Aguilar (28) el sistema noradrenérgico no tiene ningún papel en el desarrollo del síndrome de androgenización, mientras que para otros (7, 8, 26) las alteraciones inducidas por la administración de testosterona al nacimiento sobre este sistema serían las responsables de las modificaciones en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas. En nuestro caso, la desnervación noradrenérgica periférica posibilitó que todos los animales abrieran vagina y que 43% de ellos ovulara. Estos hechos nos permite sugerir que posiblemente los andrógenos inyectados al nacimiento no sólo afectan al sistema catecolaminérgico central provocando aumento inicial de las concentraciones de norepinefrina (26), sino que también lo hagan sobre la inervación ovárica. Esta hipótesis necesita de mayores datos para ser afirmada o rechazada.

Durante el desarrollo de este proyecto se contó con el apoyo económico de CONACYT, convenio P219CCDL880206 y del Programa Universitario de Investigación en Salud. UNAM

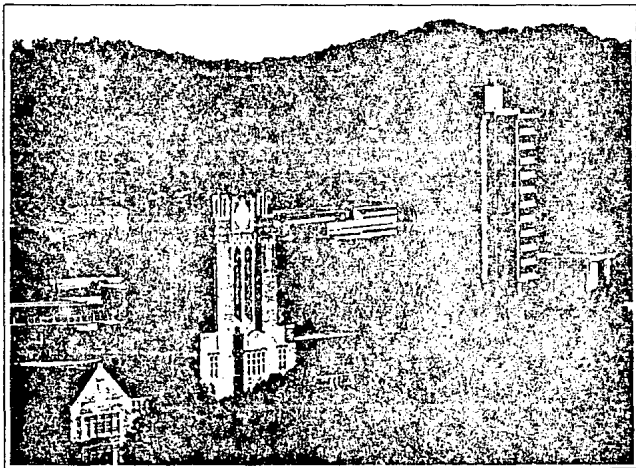
BIBLIOGRAFIA

- 1.- Aguado, L.I., Ojeda, B.R. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114, 1944-1946.
- 2.- Aguado, L.I., Ojeda, S.R. (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology* 114: 1845-1853.
- 3.- Ayala, M.E., Dominguez, R. (1988). Ovulatory response to the sequential administration of follicle stimulating hormone and human chorionic gonadotropin by autografted ovary in unilaterally ovariectomized adult rat with peripheral denervation induced by guanethidine treatment. *Rev. Invest. Clin.* 40: 149-155.
- 4.- Bahr, J.M., Ben-Jonathan, N. (1981) Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Neuroendocrinology* 108, 1815-1820.
- 5.- Barnea, A., Gorski, J. (1970). Guanethidine effects on the metabolic response of the rat uterus to estrogen. *Endocrinology* 86: 909-911.
- 6.- Barraclough, C.A. (1961). Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. *Endocrinology* 34: 62-67.
- 7.- Barraclough, C.A., Ludkingland, K.J., Wise, P.M. (1984). Role of hypothalamic noradrenergic system in sexual differentiation of the brain. *En: Sexual Differentiation: Basic and Clinical Aspects.* M.Serio, M.Motta, M.Zanise, I., Martini Dirs. Raven Press New York, 99-106.
- 8.- Barraclough, C.A., Wise, P.M. (1982) The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrinology* 3: 91-119.
- 9.- Ben-Jonathan, N., Arbogast, L.A., Rhoades, T.A., Bahr, J.M. (1984). Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and the novo synthesis. *Endocrinology* 115: 1426-1431.
- 10.- Ben-Jonathan, N., Braw, R.H., Laufer, N.R., Bahr, J., Tsafiri, A. (1982) Norepinephrine in graffian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110, 457-461.
- 11.- Burden, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. *En: Catecholamines as hormone regulators.* Ed. N.Ben-Jonathan, J.M. Bahr and R.I. Weiner. Raven Press, New York, 261-278.
- 12.- Coppola, J.A. (1968). The apparent involvement of the sympathetic nervous system in the gonadotrophin secretion of female rats. *J.Reprod.Fert. suppl.* 4, 35-45.
- 13.- Dominguez, R., Cruz, M.E., Chavez, R. (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. *En: Growth Factors and the Ovary.* A.M.Hirshfield. Dir. Plenum Press, New York. Cap. 39, pp. 321-325.
- 14.- Dominguez, R., Zipitria, D. (1980) Longterm effects of guanethidine administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS Medical Science* 8: 352.
- 15.- Feder, H.H. (1981). Hormonal actions on the sexual differentiation of the genitalia and the gonadotropin-regulating systems. *En: Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior.* N.T.Adler dir. Plenum Press, New York and London, Cap. 3: 89-126.
- 16.- Goldan, B.D. (1981). Puberty. *En: Neuroendocrinology of Reproduction.* Adler N.T., Plenum Press, New York and London, Cap. 8: 229-239.

- 17.- Ladosky, W., Schneider, H.F., Braxillian, J. (1981). *Med. Biol. Res.* 14: 409-413.
- 18.- McGeer, P.L., Eccles, J.C. Sir, McGeer, E.B. (1987). Catecholamine neurons. En: *Molecular Neurobiology of the Mammalian Brain*. P.L. McGeer, Sir J.C. Eccles, E.B. McGeer. Dirs. 2a. edición. Plenum Press, New York and London. Cap. 9, pp. 265-317.
- 19.- Müller, E.E., Nistico, G., Scapagnini, U. (1977). Proved and putative neurotransmitters in the central nervous system. En: *Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function*. Academic Press, New York, San Francisco, London. Cap. 17, pp. 13-141.
- 20.- Nickerson, M., Collier, R. (1978). Fármacos que inhiben los nervios adrenérgicos y los órganos que estos inervan. En: *Bases farmacológicas de la terapéutica*. Goodman y Gilman, 5a. ed. Interamericana, México, pp. 447-473.
- 21.- Ojeda, S.R., Aguado, I. I., Smith (White), S. (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rat as a model. *Neuroendocrinology* 37: 306-313.
- 22.- Ojeda, S.R., Urbanski, H.F., Ahmed, C.E. (1986). The onset of female puberty: Studies in the rat. *Rec. Progr. Hormone Res.* 42: 385-440.
- 23.- Pfeiffer, C.A. (1936). Sexual differences of the hypophyses and their determination by the gonads. *Am. J. Anat.* 58: 195-225.
- 24.- Rawaley, J.A. (1979). Development of gonadotropin regulation in the prepubertal mammal. *Biol. Reprod.* 20: 1-31.
- 25.- Ramirez, V.D. (1973). Endocrinology of Puberty. En: *Handbook of Physiology*. American Physiological Society. Vol. I, Cap. 1, pp. 1-28.
- 26.- Reznikov, A.S., Nosenko, N.D. (1983) It is possible that noradrenaline is the biogenic amine responsible for androgen-dependent sexual brain differentiation. *Exp. Clin. Endocrinol.* 81: 91-93.
- 27.- Rosas, P., Argüello, M.S., Domínguez, R. (1989). Effects of noradrenergic peripheral denervation on spontaneous or induced puberty in normal and hypothyroid hairless female mice. *Med. Sci. Res.* 17: 285-286.
- 28.- Vidal, M.J., Aguilar, F. (1985). On steroid noradrenergic system interaction during the hypothalamic differentiation period in the female rat. *Exp. Clin. Endocrinol.* 86: 165-170.

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Supplement Number 1 / Biology of Reproduction / Volume 42



SSR

JULY 15-18, 1990
23rd ANNUAL MEETING
THE UNIVERSITY OF TENNESSEE, KNOXVILLE

THE EFFECTS OF NORADRENERGIC PERIPHERAL DENERVATION ON GONADOTROPIN INDUCED OVULATION IN PREPUBERTAL RATS AND ANOVULATORY SYNDROME INDUCED BY TESTOSTERONE PROPIONATE (PT) ADMINISTRATION AT BIRTH

Domínguez, R.* and Flores, A.* Lab. Biology of Reproduction, ENP-Zaragoza, AP 9-000, CP 15000, México, D.F.

It is known that peripheral noradrenergic innervation (PNAI) modulates ovulation (Rev. Inv. Clin. 40: 140; 1980). To analyse the participation of PNAI in the subervol ovulation, the effects of noradrenergic denervation induced by guanethidine (GTD) (20 mg/kg) administration, were studied in two different models. Newborn female rats were injected with GTD or vehicle, from birth to autopsy. One group of animals received a single dose of 75 ug of PT on day 1. In another experiment, 18 day old rats were injected with 8 lu of PMSG. All the animals were autopsied at the first vaginal estrus day. Results obtained are summarized in the table.

Group	Age of autopsy	Ovulation rate	Ovs shed	ovaries (mg)	uterus (mg)	pituitary (mg)
Control	23	0/19	0	21.0 ± 0.8	38 ± 1.9	5.7 ± 0.2
PMSG	22	0/12	0	29.6 ± 1.6*	130 ± 5.4*	5.9 ± 0.4
GTD-PMSG	25	4/ 9#	3.5 ± 0.6	14.8 ± 0.5##	78 ± 5.8#	4.7 ± 0.4
Control	39	20/21	7.9 ± 0.5	35.9 ± 1.4	174 ± 7.0	8.5 ± 0.4
PT	62	0/10	0	33.4 ± 2.7	263 ± 10.0*	12.4 ± 0.7*
GTD-PT	52	3/ 7#	6.7 ± 1.7	28.3 ± 2.6*	145 ± 15.0#	6.5 ± 0.4#

* p < 0.05 vs control; # p < 0.05 vs treated group

Present results suggests that ovarian noradrenergic innervation plays a inhibitory role of ovarian reactivity to gonadotropins and/or at the positive feedback mechanisms (supported by CONACYT P23037181005-0335 and FUES).

197 THE EFFECTS OF SEROTONINERGIC AND DOPAMINERGIC ANTAGONISTS ON PULSATILE LH SECRETION IN THREE DIFFERENT STATES OF ANESTRUS. C. C. Kao and G. L. Jackson Department of Veterinary Biosciences, University of Illinois, Urbana, IL. 61801.

It has been proposed that seasonal anestrus in the ewe is due to activation of inhibitory neurons. In ovary-intact ewes, the dopaminergic system appears to inhibit the LH pulse generator, whereas in ovariectomized ewes the serotonergic system plays a more significant role. Our objectives were to determine if different neural systems mediate anestrus induced by photorepression and photorefractoriness. Three groups of ovary-intact anestrus ewes were tested. (1) Photosuppressed (LDPs), anestrus induced by exposure to 16L:8D photoperiod (n=9). (2) Photorefractory (SDPR), anestrus induced by prolonged exposure to 10L:14D (n=10). (3) Natural anestrus (ANES), ewes kept outdoors (n=11). LH pulse frequency was determined in blood samples taken at 12 min intervals for 8 hr after diluent injection then 8 hr after injection (i.v.) of cyproheptadine (3 mg/Kg) or pimozide (0.25 mg/Kg). Cyproheptadine did not change LH pulse frequency in any group. Pimozide did not affect LH pulse frequency in LDPs and ANES ewes, however, it decreased pulse frequency in SDPR ewes (p<0.001). The results (1) are not consistent with the concept of increased dopaminergic activity during ANES or LDPs, (2) suggest that different neural mechanisms mediate LDPs and SDPR, and (3) suggest that dopaminergic activity actually may support LH secretion during SDPR. (Supported by USDA grant AG 88-37240-3968)

198 AN ANALYSIS OF THE MECHANISMS OF OVULATION BLOCKADE INDUCED BY UNILATERAL ATRAPINE IMPLANT IN THE HYPOTHALAMIC-ANTERIOR HYPOTHALMIC AREA (HVA-AVA). Cruz, H.E.*, Castro, J.* and Domínguez, R.* Lab. Biology of Reproduction, ENP Zaragoza, UNAM, México.

In the adult rat, there are differences in the serotonic cholinergic hypothalamic mechanisms regulating ovulation (J. Endocrinol. 123:437, 1990). To analyse if such differences are related to modifications in the gonadotropin releasing hormone (GnRH) and/or gonadotropin secretion, the responsiveness of the pituitary and the ovary to exogenous GnRH, HCG, HCG or estradiol benzoate (EB) in rats with unilateral atropine implant in the HVA-AVA was tested. groups of rats receiving unilateral atropine implant were treated as follows: 1) GnRH (3.7 ug/Kg) at 13:00 h on proestrus; 2) HCG (8 u.i.) + HCG (5 u.i.) at 17:00 h on diestrus 1; 3) HCG (20 u.i.) at 13:00 h on diestrus 2; 4) EB (10 ug) at 13:00 h on diestrus 2. A control group was implanted with cholesterol. All the animals were killed on the morning of the expected estrus day. Results are shown in the table:

GROUP	OVULATION RATE	IDENTIFICATION RATE	PHOTOLYSED DISPERSED UTERUS	OVA SHED (M, U, S, F, M.)
Control	21/29	25/29	7/29	9.6 ± 0.6
Atropine (ATR)	34/79*	54/79*	33/79	9.0 ± 0.1
ATR + GnRH	23/24†	24/24*	5/24	10.1 ± 0.5
ATR + PMSG-HCG	6/20*	13/20	12/20*	7.8 ± 2.2
ATR + HCG	2/15*†	1/15*†	2/15†	6.5
ATR + EB	5/13*	7/13*	7/13	11.4 ± 1.3

* P<0.05 compared to control group; † P<0.05 compared to atropine group

Present results suggest that the inhibition of the serotonic receptors on the HVA-AVA affects the GnRH secretion on the proestrus day, the responsiveness of the ovary to gonadotropins and the estrogen positive feedback on gonadotropin secretion. (Supported by CONACYT and FUES).



revista cubana de
INVESTIGACIONES
BIOMEDICAS

Número Especial
XVII CONGRESO DE LA ASOCIACION LATINOAMERICANA
DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS



ecimed

EDITORIAL CUBANAS MEDICAS

AÑO
1991



revista cubana de
**INVESTIGACIONES
BIOMEDICAS**

VOLUMEN 10 - Número Extraordinario

Julio, 1991

CIRCULACION: 1000 EJEMPLARES

CIUDAD DE LA HABANA, CUBA

PRECIO POR EJEMPLAR: \$6,00

Acogida a la franquicia postal como correspondencia de segunda clase
en la Administración de Correos de La Habana

CONTENIDO

CURSOS PRECONGRESO/9

PROGRAMA CIENTIFICO/10

RESUMENES/29

FISIOLOGIA DIGESTIVA (DIG-1 a DIG-26)/31

FISIOLOGIA CARDIOVASCULAR (CARD-1 a CARD-42)/39

FISIOLOGIA RESPIRATORIA (RESP-1 a RESP-37)/51

FISIOLOGIA RENAL (RENAL-1 a RENAL-20)/61

NEUROFISIOLOGIA EXPERIMENTAL (EXP-1 a EXP-38)/67

NEUROFISIOLOGIA CLINICA (CLIN-1 a CLIN-59)/79

estradiol indujo la ovulación en 6/6 animales con lesión de POA o AHA derecha, y no tuvo efectos cuando la lesión fue del lado izquierdo (0/4). Estos resultados nos permiten sugerir que POA y AHA participan en forma diferente en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación durante el ciclo estral; además, que en el día del estro POA modula de manera asimétrica el proceso ovulatorio. El bloqueo de la ovulación sería el resultado de la alteración en la secreción preovulatoria de GnRH y estrógenos.

ENDO-R-21

DIFERENTES RESPUESTAS DE LA OVULACION EN LA PUBERTAD, INDUCIDAS POR LA ADMINISTRACION DE ANDROGENOS O ESTROGENOS EN LOS PRIMEROS CINCO DIAS DE VIDA

A. Flores; R. Domínguez
ENEP Zaragoza, México

Los efectos de la inyección de andrógenos al nacimiento, sobre la ovulación del animal adulto, son atribuidos a su aromatización y transformación en estrógenos. En el presente estudio se muestran los efectos del tratamiento con vehículo [testigos]; 75 µg de andrógenos [propionato de testosterona (PT) o testosterona (T)] o con 10 µg de estrógenos [benzoato de estradiol (BE) o estradiol (E)] en el día del nacimiento o al 5º día. Los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal [EPEV]. Los resultados obtenidos fueron:

	EPEV	TAD	Ovocitos	Ovarios	Utero
testigos	38,5 ± 0,6	27/30	8,3 ± 0,4	37,6 ± 1,3	172 ± 5,7
PT 0	60,0 ± 0,0*	0/10*	0,0*	33,4 ± 2,7	263 ± 9,9*
BE 0	27,9 ± 1,8	0/10*	0,0*	15,3 ± 1,6*	36 ± 1*
PT 5	37,8 ± 0,3	3/6*	8,7 ± 1,9	31,0 ± 3,4	175 ± 10,2
BE 5	38,1 ± 0,6	1/10*	3	20,9 ± 1,5*	82 ± 14,2*
T 0	39,8 ± 1,0	13/13	8,9 ± 0,9	34,8 ± 2,3	164 ± 7,7
E 0	38,8 ± 1,0	3/12*	9,0 ± 1,0	26,3 ± 1,6*	134 ± 14,6*
T 5	39,8 ± 1,4	9/10	9,2 ± 1,1	38,7 ± 3,1	171 ± 8,8
E 5	32,5 ± 1,3*	0/11*	0*	19,9 ± 1,4*	65 ± 6,9*

* p < 0,05 vs testigos

Nuestros resultados indican que en la primera ovulación, el peso de los ovarios y del útero son modificados de manera muy diferente por la androgenización y la estrogenización neonatal.

ENDO-R-22

DIFERENTE RESPUESTA OVULATORIA A LA FMSG EN RATAS CON BLOQUEO DE LOS SISTEMAS COLINERGICO (COL) O CATECOLAMINERGICO (CA) REALIZADO DURANTE EL PERIODO INFANTIL

R. Sapiró; M.P. Cassina; M. D'Alibora; R. Domínguez

Facultad de Medicina-Uruguay; ENEP Zaragoza, UNAM, México

Para analizar la participación de los sistemas COL y CA en la regulación de la pubertad, durante el período infantil se analizaron los efectos de la administración de atropina (ATR), 50 mg/kg en los días 10-11 de vida y de reserpina (RSP) en el día 20, sobre la edad de apertura vaginal, la primera ovulación, el número de ovocitos y los ovarios. En otro experimento, animales tratados con ATR, RSP o testigos, fueron inyectados con 8 µl de PMSG en el día 20 ó 25 y autopsiados en el primer estro. En la tabla se muestran los resultados obtenidos.

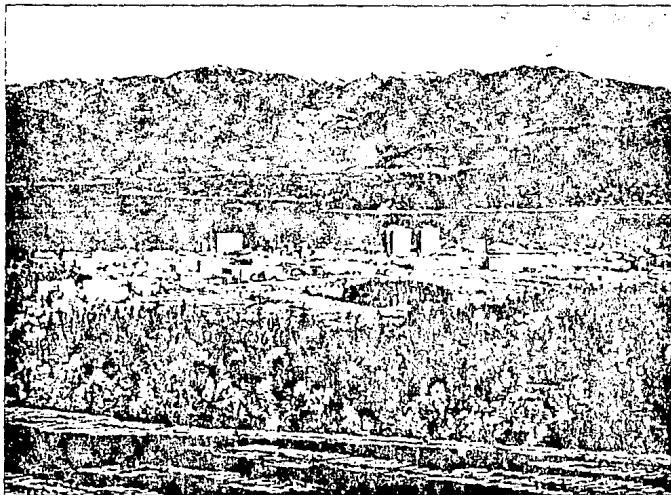
Grupo	EAV	Ovulación	Ovocitos	Peso de ovarios
Testigo	37,8 ± 0,8	19/26	7,0 ± 0,5	39,8 ± 1,3
ATR	33,8 ± 0,5*	14/15	9,2 ± 0,6*	45,1 ± 2,5
RSP	37,6 ± 0,9	14/14	9,1 ± 0,8*	47,3 ± 2,7*
Testigo 20+				
PMSG	24,1 ± 0,1	0/7	0	37,0 ± 1,9
ATR+PMSG	25,1 ± 0,1	4/9*	4,3 ± 1,1*	26,2 ± 3,0*
Testigo 25+				
PMSG	27,3 ± 0,1	5/14	8,0 ± 2,7	65,7 ± 7,1
RSP+PMSG	28,1 ± 0,2	0/7*	0	81,2 ± 5,6*

* p < 0,05 vs su testigo apropiado

A partir de los resultados obtenidos se puede sugerir que durante el período infantil el sistema COL modula de manera inhibitoria los mecanismos que regulan la primera ovulación, mientras que el sistema CA modula de manera diferencial el proceso ovulatorio y la respuesta del ovario a las gonadotropinas.

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Supplement Number 1 / Biology of Reproduction / Volume 44



SSR

JULY 29-31, 1991 • 24th ANNUAL MEETING
UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA
VANCOUVER

461 THE OULATORY RESPONSE OF PREPUBERTAL RATS TO GONADOTROPIN DEPENDENT ANIMAL IGE. Villavicencio, J. and Flores A. L. S. Biology of Reproduction Research Unit, DFFP-AMERICA, UNAM, Mexico.

The onset of ovulation ability of prepubertal ovary to exogenous gonadotropins is controversial. To analyze the influence of age in gonadotropin-induced-ovulation in prepubertal rats, in presence of the effects of different doses of GnRH, progesterone, and GnRH on ovulation were analyzed. The ability of progesterone to block induced ovulation, and its response to hormone replacement, were also investigated.

Nineteen-30 days old female rats of the C57BL/6J strain were injected with 8 μ g of PMSG, rats of 21, 24, or 30 days were treated with 3, 6 or 9 μ g of hMG. In another experiment, 25 and 27 days old animals received hCG. GnRH a preovulatory 40 μ g after PMSG.

The ovulation rate in animals treated with 8 μ g of PMSG increased with age (41.4/100; 41.0/100; 40.0/100; 44.2/100; 25.6/100; 23.1/100; 14.5/100) and ovulation rate increased. Lower doses of PMSG (3 or 6 μ g) induced ovulation only in rats of 27 (10/25; 10/30) or 30 days (19/15; 6/6). In 300 rats, the number of ova shed increases as a function of the dose administered (5.9, 7.1, 20.1, 24.4 rats ovulated when treated with 3, 6, 9, 18, 36, 72 μ g GnRH 48 h after (4/6 ovulated, 6.0/1.2 ova shed). Progesteronal (100 mg/kg) blocked ovulation induced in 2/8 treated with 3 μ g hMG. This blockade was eliminated by treatment with GnRH, but not with hCG (5.0/1.6 vs 1/6, p < 0.05). The order of ova shed was lower in hMG treated animals (5.8/0.4 vs 9.0/1.0, p < 0.01). hCG was able to induce ovulation in 17/21 rats treated with 6 μ g of PMSG and a progesteronal (4/2) but the number of ova shed was lower than in PMSG treated one (11.3/2.5 vs 15.2/2.3, p < 0.02).

In adults, ova shed increased with age. The threshold response of the ovary to gonadotropin increases with age. Since the ovulation ability of rats treated with PMSG progesteronal and hormone replacement is lower than in non-maturate PMSG treated rats, it is possible that the maturity of the ovary to gonadotropins was modified by progesteronal.

463 FETAL LIVER OPIATE PLACENTAL LACTICIN RECEPTOR CONCENTRATIONS FROM DAY 40 TO 135 OF GESTATION. S. L. Fletter, S. H. Pappas and V. G. Varner. Department of Animal Sciences, University of Missouri, Columbia, MO.

Opiate placental lactogen (OPL) is synthesized and secreted by the fetal chorionic binucleate cells, and has been implicated in playing a role in the regulation of fetal development. Our objective was to evaluate the ontogeny of OPL receptors in fetal liver from days 40 to 135 of gestation. Fetuses were obtained by hysterectomy on days 60 (n=4), 90 (n=4), 105 (n=3), 120 (n=4) and 135 (n=4) of gestation. Fetal liver microsomal membranes were reconstituted in assay buffer (25 mM HEPES pH 7.6, 10 mM MgCl₂, 1 mM PMSF, 0.1 M NaCl, 0.1 M KCl) at a concentration of 10 μ g/ml. The stability of the OPL-OPL complex (K_{d}) was determined to be 1/6 by adding constant radiolabeled ligand (100 pM) to increasing mass of membrane protein. Microsomal membranes were prepared within day of gestation and assayed as described by Scatchard analysis, and the resulting data were used to generate Scatchard plots. Saturation analysis was performed by adding increasing mass of OPL to constant membrane mass (2.0 mg/membrane) in the presence or absence of a 100-fold excess unlabeled OPL (10 nM total volume). The Scatchard plots were constructed, and the resulting data were used to determine K_{d} (25). The OPL receptor exhibited a dissociation constant (K_{d}) of 122 nM (92 nM) and concentrations of 16.0, 8.9, 4.6, 12.3 and 7.2 fmol/mg membrane protein for days 60, 90, 105, 120 and 135, respectively. Receptor concentrations expressed as a per cent of DNA basis were 14.4, 14.3, 21.0, 33.2 and 37.5 fmol/mg for day 60, 90, 105, 120 and 135, respectively. Serum collected from these fetuses contained OPL concentrations of 111.3, 4.29, 0.24, 1.21, 1.92, 2.13, 1.94 and 2.93 ng/ml on days 60, 90, 105, 120 and 135, respectively. Saturation analysis was also performed on a microsomal membrane pool generated from days 70, 105 and 120 fetal livers with ovine growth hormone (oGH) and ovine prolactin (oPL). No specific binding was observed for either oGH or oPL, indicating that oPL was not binding to either the oGH or oPL receptor. These data indicate that fetal liver contains specific OPL receptors which appear to increase in number on a per cell basis with increasing fetal age. This research was supported by USDA-CARS grant 85-17240-1904 to R. V. Anthony.

462 GLUCOCORTICOID SUPPRESSION OF PROSTANOID PRODUCTION FROM HUMAN TERM PLACENTAS IN VITRO. Theresa M. Siler-Khodt, Inn Soo Kang* and Mi Kyoung Koong* Department of Obstetrics and Gynecology, University of Texas Health Science Center at San Antonio, Texas 78284-7816.

The human placenta is a large source of prostanoids throughout pregnancy and during parturition. Previous studies of human placental tissue *in vitro* have shown that prostanoid release increases many-fold over the first 24 hours in culture. These findings have been interpreted as evidence that basal placental prostanoid release *in vivo* is suppressed by an inhibitor, from which it is released when placed *in vitro*.

We have utilized a perfusion system to study prostanoid releases from human term placental tissues. Explants of three different placentas were perfused with medium 199 at a rate of 1 ml/hour for twelve hours and the medium collected hourly. Four replicate chambers ($n=3$) were performed for each of the three different placentas studied. Four other chambers for each placenta were perfused with medium containing dexamethasone (10 nM). Additional replicate sets were used to study the effect of GnRH (10 nM) in the presence or absence of dexamethasone. Prostaglandin (PGI₂), prostaglandin (PGF₂), and 13,14 dihydro-15-keto-PGF₂ (13,14-PGF₂), thromboxane B₂ (TxB₂) and 6-keto-prostaglandin F_{1 α} (6-keto-PGF_{1 α}) were measured by specific radiolimmunoassays in the samples collected at the 3, 4, 5, 6, 8, 10, 12 and 24 hours of perfusion. The presence of dexamethasone in the perfusing medium resulted in a total inhibition of the normally observed increase of PGE₂, PGF and PGF₂ in culture from placental tissue. Addition of GnRH in the presence of dexamethasone, further inhibited the release of PGF. Both TxB₂ and 6-keto-PGF_{1 α} releases were also decreased together with dexamethasone. However, in no instance were any of these prostanoid releases inhibited to less than detectable levels in their respective assays.

These data demonstrated that chronic administration of glucocorticoids can inhibit the placental prostanoids *in vitro*. The previous proposed inhibition of placental prostanoids *in vivo* may be related by glucocorticoid production during pregnancy. [These studies were supported by NIH Grants HD17028 and HD18202].

464 ACUTE TREATMENT WITH PHORBOL ESTER ENHANCES CYTOTROPHOBLAST HCG PRODUCTION. Susan L. Silavin, Department of OB/GYN, University of Oklahoma Health Sciences Center, Oklahoma City, OK.

It was previously reported that chronic treatment of cultured human trophoblasts with an activator of protein kinase C, phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) resulted in inhibition of cAMP-mediated HCG production (Silavin, S.L., Biol. Reprod. 40 (suppl 1):132, 1989). It is probable that chronic PMA treatment resulted in down-regulation and depletion of protein kinase C in trophoblasts. This study was designed to determine the effects of acute PMA treatment on basal and cAMP-mediated HCG production in trophoblasts. Human cytotrophoblasts were isolated and cultured in DMEM containing 21 cell serum (DMEM-CS) according to the method of Klaman et al (Endocrinology, 118:1569, 1986). After 24h in culture, cells (1.2x10⁶/well, in triplicate) were treated for 1, 2, 4, or 6h with PMA (1, 10 or 100ng/ml) or appropriate vehicle as control. Cultures were then washed 3 times with DMEM, after which cells were incubated for an additional 24h in DMEM-CS in the absence or presence of forskolin (100 μ M). Acute pretreatment with PMA resulted in a significant (p<0.05) dose- and time-dependent increase in trophoblast hcg production (e.g., 6.42-6.6 mIU/ug protein for forskolin-treated cells vs 11.91-9.9 mIU/ug protein for forskolin-treated cells pretreated with 10ng/ml PMA for 1h). PMA (10ng/ml) for 6h had no effect on hcg production in the absence or presence of MIX (0.1mM). As cytotrophoblasts formed cyclic protein kinase C results in enhanced basal and cAMP-mediated HCG production independent of the cAMP second messenger system. As differentiation to syncytiotrophoblasts occurs, this response appears to be diminished or lost.

*La vida
no es un problema que haya que resolver
ni una pregunta
que haya que responder.
La vida es un misterio
que hay que contemplar
admirar
y saborear.*

Anthony de Mello