



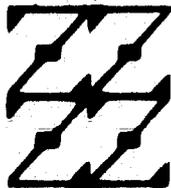
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

ESTUDIO DEL EFECTO MODULADOR DEL SISTEMA  
SEROTONINÉRGICO EN LA OVULACIÓN  
INDUCIDA POR GONADOTROPINAS  
EN LA RATA PREPÚBER

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G O  
P R E S E N T A:  
JUANA MONROY MORENO

DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR



LO HUMANO  
DE NUESTRA REFLEXIÓN MÉXICO, D.F.

1996

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
\*ZARAGOZA\***

**ESTUDIO DEL EFECTO MODULADOR DEL SISTEMA  
SEROTONINÉRGICO LA OVULACIÓN  
INDUCIDA POR GONADOTROPINAS  
EN LA RATA PREPÚBER**

**Tesis que para obtener el título de Biólogo presenta: Juana Monroy  
Moreno**

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

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

**Durante el desarrollo de la tesis se contó con el apoyo financiado por  
CONACyT, proyecto IN-1719; DGAPA, proyecto IN-210893 y PUIS  
U.N.A.M.**

A mis padres

**María y Raymundo** por su apoyo,  
confianza, respeto y su amor.

A mis hermanos

**Teresa, Laura, Patricia, Irma, Lorena, Elisa, Jesús,  
José Luis, Carmen, Silvia y Raymundo** por su apoyo  
Incondicional, estímulo y nunca olviden que los quiero.

A los niños

**Oscar, Alejandro, José Luis, Jenifer,  
María del Carmen, Diana y Michel** por  
por regalarme una sonrisa y formar parte  
de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. María Elena Ayala Escobar y al Dr. Roberto Domínguez Casalá por su valiosa ayuda brindada en la elaboración de esta tesis.

A los miembros del jurado:

Dra. María Elena Ayala Escobar  
Dra. Patricia Rosas Saucedo  
M. en IBSH. Leticia Morales Ledesma  
M. C. Raúl Zavala Chavero  
M. en BRA. María Judith Villavicencio Macías

Por sus valiosas sugerencias e interés mostrado para la realización de este trabajo.

A los Investigadores de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción **Alejandro, Ana, Angélica, Esther, Evangelina, José Luis, Lorena H, Paola, Rebeca, Rubén y Ubaldo** por sus amistad y contribución para la realización de este trabajo.

A la Técnico **María Luisa Ilioscas Vera** por su ayuda en la realización de este trabajo.

Al personal Técnico del Bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado brindado a los animales para la realización de este trabajo.

**A mis amigos**

**Esperanza, Arturo y Jesús** por su amistad a pesar de la distancia.

**Lorena** por la amistad que nos une y los momentos que compartimos.

**Cesar** por la amistad que nos une.

**Carolina** por su amistad y su apoyo.

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	i
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	3
Pubertad .....	4
Participación del sistema serotoninérgico en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario .....	11
Distribución de la inervación serotoninérgica en el sistema nervioso central .....	11
Participación del sistema serotoninérgico en la secreción de las gonadotropinas .....	14
Distribución de la serotonina a nivel periférico .....	17
Participación del sistema serotoninérgico en la función del ovario .....	18
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	22
HIPÓTESIS .....	23
OBJETIVO GENERAL .....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
RESULTADOS .....	28
Parámetros que caracterizan el inicio de la pubertad en la rata .....	28
Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil o en la juvenil .....	28
Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil o en la juvenil en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico .....	32

Animal recién nacido .....	32
Animal de diez días .....	35
Animal de veinticuatro días .....	38
<b>Estudio de la reactividad del ovario a la administración secuencial de PMSG y hCG en la etapa infantil en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico a partir del nacimiento .....</b>	<b>42</b>
<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>46</b>
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>54</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>55</b>

## RESUMEN

Se ha mostrado que el sistema serotoninérgico participa en los mecanismos neuroendócrinos que modulan la ovulación, al parecer por medio de la regulación de la secreción de las gonadotropinas o modulando la esteroidogénesis en el ovario, por ello en el presente trabajo se decidió analizar la participación de este sistema en la reactividad del ovario a las gonadotropinas exógenas, por medio del bloqueo inducido por la administración de 10 ó 15 mg/kg p.c. de p-cloroanfetamina (pCA) al nacimiento, al día diez o al 24 más 8 u.i. de gonadotropina de suero de yegüa preñada (PMSG) en la etapa infantil (21 días) o juvenil (27 días).

En los animales estimulados con PMSG en la etapa infantil la apertura vaginal se presentó a las 96 h posteriores al tratamiento y únicamente el 15% de los animales ovuló. En cambio, en el grupo tratado durante la etapa juvenil la canalización vaginal se produjo a las 72 h y el 100% de los animales ovuló. En los dos grupos en el momento de la apertura vaginal el frotis presentó las características del estro, y el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue mayor en relación al grupo testigo absoluto con ovulación espontánea (21 días:  $22.0 \pm 2.9$  vs.  $7.4 \pm 0.6$ ; 27 días:  $28.1 \pm 2.6$  vs.  $7.4 \pm 0.6$ ,  $p < 0.05$ ).

La edad de la apertura vaginal y del primer estro no se modificó por el tratamiento previo con vehículo o pCA en las diferentes edades estudiadas.

En los animales que fueron tratados con solución salina o las diferentes dosis de pCA desde el nacimiento y sometidos al estímulo con PMSG en la etapa infantil, ninguno de los animales ovuló (0/20 vs. 0/13, 0/16, NS). En cambio, en los animales tratados con vehículo más PMSG al día 27 todos los animales ovularon al primer estro, este evento no se modificó por el bloqueo previo del sistema serotoninérgico (19/19 vs. 11/11, 27/28, NS). El número de ovocitos liberados fue mayor en los animales que recibieron 15 mg/kg del fármaco en relación a los tratados con vehículo o con 10 mg/kg de pCA ( $38.6 \pm 2.2$  vs.  $26.7 \pm 1.1$ ,  $25.9 \pm 5.2$ ,  $p < 0.05$  respectivamente).

El reemplazo hormonal con 10 u.i. de gonadotropina coriónica humana en los animales tratados al nacimiento con vehículo o con 15 mg/kg de pCA más PMSG indujo la ovulación en todos los animales (vehículo: 15/18 vs. 0/20; pCA: 14/17 vs. 0/16,  $p < 0.05$  respectivamente) y el número de ovocitos liberados fue igual en ambos grupos ( $30.8 \pm 3.3$  vs.  $23.9 \pm 3.8$ , NS).

Cuando se inició el bloqueo del sistema serotoninérgico a partir del día diez de edad más PMSG al día 21, el 62% de los animales ovularon al primer estro, mientras que en los animales con bloqueo del sistema se observó la tendencia a la disminución de la proporción de animales que ovularon (pCA 10 mg/kg: 23% vs. 62%; pCA 15 mg/kg: 28% vs. 62% NS) y el número de ovocitos

liberados fue similar al grupo con vehículo más la hormona ( $7.1 \pm 1.2$  vs.  $6.8 \pm 1.3$ ;  $5.5 \pm 1.0$  vs.  $6.8 \pm 1.2$  NS). En los animales tratados con pCA más PMSG en la etapa juvenil no se modificó este parámetro ( $25.8 \pm 3.0$  vs.  $30.2 \pm 2.0$ ;  $39.3 \pm 3.0$  vs.  $30.2 \pm 2.0$  NS).

En los animales tratados con la pCA en el día veinticuatro independientemente de la dosis administrada, el número de ovocitos liberados por animal ovulante disminuyó con respecto al grupo con vehículo más la hormona (pCA 10 mg/kg:  $17.5 \pm 3.1$  vs.  $29.6 \pm 2.5$ ; pCA 15 mg/kg:  $17.8 \pm 2.1$  vs.  $29.6 \pm 2.5$ ,  $p < 0.05$ ).

Los resultados de este trabajo nos permiten sugerir que el sistema serotoninérgico modula de manera inhibitoria en la etapa neonatal o estimuladora en la etapa juvenil la ovulación inducida por las gonadotropinas modificando la secreción de la LH y la reactividad del ovario a las mismas. Además el papel modulador de este sistema depende del medio hormonal en que se encuentre el animal.

## **INTRODUCCIÓN**

La pubertad ha sido definida como la etapa biológica del individuo entre la inmadurez y la madurez sexual, en la que se llevan a cabo una serie de cambios neuroendócrinos y fenotípicos que marcan el inicio de la actividad reproductora. Dichos cambios ocurren durante el desarrollo posnatal del animal (1, 25, 65). El inicio de esta fase está determinado genéticamente para cada especie, pero la alimentación, los estímulos sociales y algunas condiciones ambientales como el fotoperíodo y la temperatura pueden modificar su inicio (1, 25).

En el humano la pubertad se inicia entre los 12 y 13 años de edad. En esta etapa junto con la maduración del sistema reproductor que es regulado por las hormonas sexuales, destaca la manifestación de los caracteres sexuales secundarios (25). La pubertad en la mujer se asocia a la aparición del vello púbico, desarrollo de las mamas y la primera menstruación; en el hombre con el crecimiento del vello púbico y facial, cambios en el tono de voz y en la conformación del cuerpo (25, 65).

En la hembra de los roedores la pubertad se define como el día en que se canaliza la vagina y se presenta la primera ovulación que es precedida por el pico preovulatorio de las gonadotropinas. En la rata la apertura vaginal ocurre entre los 35 y 45 días de edad y en el ratón entre los 30 y 35 días de vida. Este evento ocurre por acción de los estrógenos secretados por el ovario y en ese momento la citología vaginal muestra las características de proestro o estro (6, 46, 47, 50).

## **PUBERTAD**

El inicio de la función reproductora en la rata está determinada por un conjunto de factores interrelacionados, muchos de los cuales se originan en los primeros días de vida del animal y culminan con la pubertad (1, 25, 65).

Las etapas del desarrollo previas a la pubertad en la rata hembra han sido definidas principalmente con base en la maduración del ovario (Critchlow y Bar-Sela, 1967 cit. en 47). Ojeda y col. (47) han clasificado el desarrollo posnatal de la rata tomando en cuenta parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y lo han dividido en cuatro etapas: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal.

**Etapas Neonatal.**- Abarca desde el nacimiento hasta el día siete posnatal. Esta fase se caracteriza por la inmadurez de los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Durante los primeros cuatro días del desarrollo del animal, el ovario es insensible a la hormona estimulante del folículo (FSH) y a la hormona luteinizante (LH), es decir que el crecimiento folicular se inicia en forma independiente de dichas hormonas, debido a que en el ovario aun no se han desarrollado los receptores a las mismas (6, 49).

En esta fase las concentraciones plasmática de FSH, que eran bajas antes del nacimiento, empiezan a aumentar y la LH sérica se mantiene baja (16). A partir del día 4 se incrementa el número de los receptores a la FSH en las células de la granulosa del ovario y en el quinto día dicha hormona estimula la síntesis de la enzima aromataza y como consecuencia la producción de estrógenos a partir de su precursor la testosterona (6, 47). Al parecer la secreción de gonadotropinas y en particular de la FSH, es esencial para la

formación de sus propios receptores en la gónada, como sucede en el animal adulto (17, 50).

El mecanismo de regulación negativo que ejercen los estrógenos en el eje hipotálamo-hipófisis sobre la secreción de las gonadotropinas no es funcional debido a que en el plasma existen altas concentraciones de la alfa-fetoproteína, que se unen fuertemente a los estrógenos propiciando que estos se tornen biológicamente inactivos, lo que impide que actúen en el sistema nervioso central (SNC) y la hipófisis y se cierre el circuito de retroalimentación Inhibitorio (6, 46, 47).

**Etapas Infantiles.**- Transcurre del día ocho al veintiuno de edad. Se ha mostrado que durante esta fase del desarrollo en el eje hipotálamo-hipófisis ocurren una serie de cambios neuroendócrinos que influyen directamente sobre el momento de inicio de la pubertad (46, 47, 48).

Durante esta etapa la concentración de FSH en plasma aumenta y alcanza su valor más alto del día doce al quince de vida, para después descender alrededor del día veinte y permanece baja hasta que se presenta el primer pico preovulatorio de las gonadotropinas (evento que antecede la primera ovulación). Mientras que, la LH se secreta en forma de picos esporádicos y la concentración de esta hormona se mantiene baja durante la mayor parte del desarrollo prepuberal del animal e incrementa en forma gradual durante los días que preceden la apertura vaginal y la primera ovulación (16, 50).

Las altas concentraciones de la FSH plasmática son fundamentales para la incorporación y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad (48, 50). En esta etapa el modelo de secreción de las gonadotropinas es diferente, de tal forma que la producción de FSH sigue un patrón de tipo tónico,

en cambio, la LH se libera de manera pulsátil (50). Esta forma de secreción hormonal que se presenta durante la fase Infantil, es considerada como el reflejo de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis y se ha mostrado que los estrógenos juegan un papel importante en la modulación de este evento (49, 50). A partir del día quince de vida empieza a disminuir la FSH en plasma y desaparecen los "picos" de secreción de la LH (1, 6, 47).

Además de los cambios en las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas, en los ovarios de la rata de dieciséis días de edad ya existen receptores a la FSH y se inicia la formación de los sitios de unión a la LH, los cuales siguen aumentando después del día veinte (49, 50, 57).

Durante esta fase la alfa-fetoproteína en plasma disminuye, lo que propicia que la concentración de estrógenos libres en la circulación aumente a partir del día dieciséis (6). Dichos eventos son fundamentales porque marcan el inicio del control de regulación negativa que ejercen los estrógenos sobre la secreción de las gonadotropinas, lo que explica la disminución de la FSH en plasma después del día doce de vida posnatal (6, 50).

**Etapas Juvenil o Prepuberal.-** Inicia en el día veintidos y termina alrededor del día 30-32. Esta fase se caracteriza porque las concentraciones de la FSH en plasma junto con las de la alfa-fetoproteína continúan disminuyendo y las de la LH son bajas al inicio, mientras que los estrógenos libres en plasma aumentan (6).

Cuando se inicia la fase juvenil el aumento en la concentración de los estrógenos libres en plasma es capaz de inducir la liberación de la LH en magnitud similar a la detectada en la tarde del día del proestro del animal adulto. Así se ha mostrado, que la administración de estrógenos alrededor del día

veintidos provoca el incremento en la secreción de la LH. Estos hechos apoyan la idea de que en esta fase el eje hipotálamo-hipófisis-ovario ya es funcional (49).

En los ovarios se presentan ondas de crecimiento y atresia folicular. Según algunos autores, en esta etapa los folículos no alcanzan el estado preovulatorio (46, 48), mientras que otros describen su presencia desde el día 18 del desarrollo prepuberal (45). Así mismo, se observa que el aumento de los receptores a la LH en el ovario, que junto con el patrón de secreción pulsátil de dicha hormona se traduce en una mayor producción de estrógenos (6, 48, 49).

Además de las gonadotropinas existen otras hormonas que actúan en el ovario, como son la prolactina (PRL) y la hormona del crecimiento (GH), cuyas concentraciones son bajas al inicio de esta fase pero aumentan gradualmente. Ambas hormonas juegan un papel importante en el inicio de la pubertad de la rata hembra, debido a que se ha mostrado que actúan sobre el ovario donde estimulan el desarrollo folicular y la formación de los receptores a la LH en las células de la granulosa y aumentan la producción de hormonas esteroideas, en respuesta al estímulo de las gonadotropinas (6, 25, 49, 50). Las altas concentraciones de estrógenos presentes en plasma facilitan la síntesis de la LH, que al actuar en el folículo estimula la formación de sus propios receptores (57). A su vez los estrógenos inducen el crecimiento del útero y la acumulación de líquido en dicho órgano (49).

**Etapa Peripuberal.**- Su duración es variable y se asocia a la primera ovulación. Esta etapa se caracteriza por la maduración final del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. A pesar de que el inicio de la pubertad está determinada por un conjunto de eventos interrelacionados entre sí y algunos de los cuales se originan durante la fase neonatal e infantil, la manifestación de dichos procesos

neuroendócrinos se vuelven evidentes después de la cuarta semana de vida (6, 49).

Los cambios diurnos en el patrón de secreción de la LH, que se empiezan a manifestar entre los 28 y 29 días de vida del animal (fase juvenil) se hacen evidentes durante la etapa peripuberal. Dichos eventos son el resultado de la activación del sistema productor de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) (6, 49). Además alrededor del día 40 del desarrollo posnatal del animal, aumenta la liberación basal de la LH, lo que estimula la secreción de estrógenos por el ovario (6). Otro cambio que se presenta es la secreción episódica de la LH que se denomina miniapuntamientos y que depende de la acción de las hormonas ováricas (72). Aunado a lo antes mencionado, las concentraciones plasmáticas de la PRL y la GH se incrementan significativamente respecto a las observadas durante la fase juvenil, así como la respuesta del ovario al estímulo gonadotrópico (6, 49, 50).

En los últimos días de esta etapa el eje hipotálamo-hipófisis se torna más sensible a los estrógenos gonadales. El número de receptores a la FSH y LH es máximo, lo que se traduce en una mayor secreción de progesterona y  $17\beta$ -estradiol siendo este último responsable de la canalización vaginal (66). Cuando la concentración de los estrógenos es similar a la que se presenta en la tarde del proestro del animal adulto, se produce el incremento de la liberación de la GnRH y como consecuencia la secreción preovulatoria de las gonadotropinas, las que al actuar en el ovario, inducen la aceleración del crecimiento y maduración folicular que culmina con la primera ovulación (fig. 1) (1, 6, 25, 46, 47, 48, 65).

Se ha mostrado que el desarrollo de los eventos, que conducen al inicio de la pubertad (evaluada por la canalización vaginal y la primera ovulación) están regulados hormonalmente por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. Sin

embargo, estudios de diversos autores permiten sugerir que la inervación participa en la regulación de estos eventos, cuya función es la de modular la respuesta de las células del folículo a las gonadotropinas por intermedio de la liberación de diversos neurotransmisores y enviando información al SNC para modular la síntesis de la GnRH y como consecuencia de las gonadotropinas (17, 46, 48, 49).

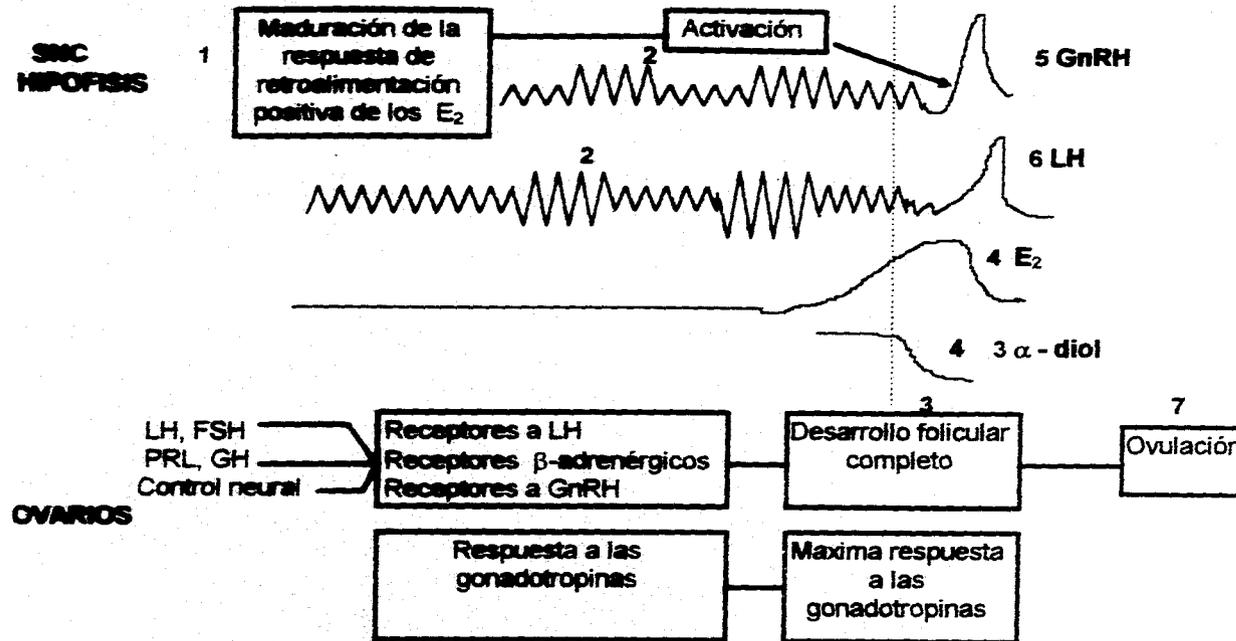


Figura 1. Secuencia de eventos que dan lugar a la primera secreción preovulatoria de las gonadotropinas en la rata hembra. Los números indican la secuencia en la cual se producen estos eventos. La línea discontinua representa las 12:00 h del primer proestro. GnRH, hormona liberadora de gonadotropinas; LH, hormona luteinizante; FSH, hormona estimulante del folículo; PRL, prolactina; GH, somatotropina; E<sub>2</sub>, estrógenos, 3α-diol (46).

## **PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA REGULACIÓN DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-OVARIO**

Las funciones del ovario (secreción de hormonas y producción de óvulos) están reguladas por señales neuroendócrinas que provienen del SNC (especialmente el hipotálamo), de la hipófisis y del propio ovario. Los cambios estructurales y las funciones de la gónada dependen de la FSH, de la LH y la PRL secretadas por la adenohipófisis, y por los estrógenos, andrógenos, progesterona e inhibina sintetizadas por el ovario (49).

La secreción de las gonadotropinas está modulada por el hipotálamo. La regulación que ejerce esta estructura sobre la síntesis y secreción de la FSH y la LH por la hipófisis se realiza por intermedio de la GnRH sintetizada por neuronas localizadas en el hipotálamo anterior y medio y la eminencia media (20). Existen evidencias experimentales que señalan que en la regulación de la secreción de la GnRH participan los diferentes sistemas de neurotransmisores como el catecolaminérgico, colinérgico y serotoninérgico entre otros, de origen intra y extrahipotálámicos (22, 35, 37).

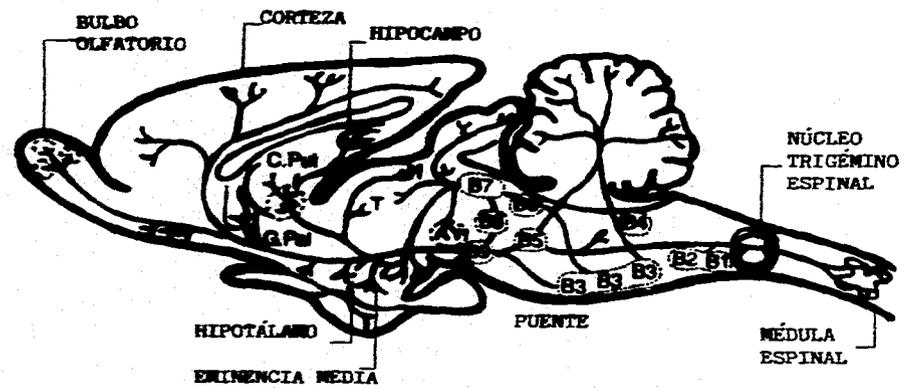
## **DISTRIBUCIÓN DE LA INERVACIÓN SEROTONINÉRGICA EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

La inervación monoaminérgica del SNC ha sido estudiada mediante técnicas de histofluorescencia, inmunocitoquímica y autoradiografía, lo que ha permitido mostrar que en el hipotálamo se localizan fibras nerviosas que contienen dopamina (DA), noradrenalina (NA) y serotonina (5-HT) (15, 35).

Los cuerpos neuronales de las terminales nerviosas que contienen serotonina se localizan en el núcleo del rafé que consiste de un grupo de nueve paquetes celulares enumerados alfanuméricamente del uno al nueve (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9) localizados en la parte anterior del mesencéfalo (Fig. 2) (15, 23, 35, 67). Las fibras serotoninérgicas que inervan diferentes estructuras del SNC ascienden desde el núcleo del rafé hasta el hipotálamo, la corteza cerebral, el hipocampo, la amígdala, áreas rostrales del sistema límbico y la eminencia media. En el hipotálamo, las fibras serotoninérgicas están distribuidas en diversas regiones hipotalámicas, como los núcleos supraquiasmático, arcuato y dorsal medial, el cuerpo mamilar, las áreas periventricular preóptica y en la eminencia media (23, 35, 67). En esta última estructura las terminales axónicas de las fibras serotoninérgicas están en yuxtaposición con las que producen la GnRH (28, 33).

En algunas especies se ha mostrado que en el lóbulo central e intermedio de la hipófisis existen terminales nerviosas serotoninérgicas en mayor proporción que en el adenohipófisis (54, 67).

Por estudios de autoradiografía se han identificado cuatro tipos de receptores a serotonina en el SNC en los mamíferos el 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub> y 5-HT<sub>4</sub>. Así mismo, cada uno tiene varios subtipos que son designados por el número seguido de una letra. Los dos primeros tipos de receptores están presentes desde el nacimiento y su número varía en las diferentes regiones del SNC y durante el desarrollo posnatal del animal (23, 55). Al parecer, cada uno de estos subtipos de receptores están vinculados a la regulación de diversas funciones en las cuales participa la serotonina.



**Figura 2. Localización de los paquetes celulares productores de la serotonina. Corte sagital del cerebro de la rata en el que se muestra la localización de los somas de las neuronas productoras de serotonina (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9) y la inervación de las diferentes estructuras del sistema nervioso central. C.Put, núcleo núcleo caudado-putamen; G.Pal, globus pallidus; T, tálamo y H. habénula (23).**

## **PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA SECRECIÓN DE LAS GONADOTROPINAS**

Se ha mostrado que la serotonina participa en los mecanismos que regulan la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas. Sin embargo, hasta el momento existen reportes contradictorios sobre la función de este sistema de neurotransmisión en tales procesos. Así mientras algunos postulan que la serotonina estimula la secreción de las gonadotropinas (8, 9, 10, 14, 40, 80) otros señalan que la inhibe (26, 35, 36, 37, 51, 52, 77, 78). Además, se ha mostrado que la participación de esta amina en tales eventos es diferente en el animal prepúber y en el adulto (2, 42).

Los estudios encaminados a dilucidar la participación del sistema serotoninérgico central en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y la ovulación han utilizado el modelo del animal adulto o prepúber con desnervación farmacológica o quirúrgica.

En la literatura existe información que señala que en la rata adulta la concentración de serotonina en la eminencia media varía durante el ciclo estral, en la tarde del proestro esta amina disminuye y los otros días del ciclo no se modifica, la disminución del neurotransmisor coincide con el momento en que se produce la secreción preovulatoria de la LH. Estas evidencias permitieron a los autores sugerir que la serotonina modula de manera inhibitoria en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de la LH y la ovulación (53).

Así en el animal prepúber tratado con serotonina o con 5-hidroxitriptofano (precursor inmediato de la síntesis de serotonina) poco antes del

"período crítico" de la liberación endógena de las gonadotropinas, retrasa la edad de la apertura vaginal y bloquea la ovulación inducida por la administración de la gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG, por sus siglas en inglés) (51, 52). En los animales prepúberes estimulados con PMSG y la gonadotropina coriónica humana (hCG, por sus siglas en inglés), el aumento en la concentración de serotonina en el SNC provocada por la administración de inhibidores de la monoaminooxidasa (MAO, por sus siglas en inglés) bloquea la superovulación (34, 36). Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que la serotonina inhibe la secreción de la LH y la ovulación.

Se ha mostrado que en la eminencia media la actividad de la neurona serotoninérgica cambia durante el ciclo estral y que existe una correlación con la liberación de la LH durante el proestro. La actividad de la neurona es mayor cuando se inicia el pico preovulatorio de la LH. Estos resultados permitieron pensar que la serotonina estimula la secreción de la LH (32, 74). Las evidencias anatómicas que señalan la relación espacial que existe entre los somas de las neuronas productoras de la GnRH y la terminal serotoninérgica en el área preóptica en el hipotálamo o entre la terminal de la neurona GnRHérgica y la productora de la amina en la eminencia media, apoyan esta idea (28).

En otra serie de experimentos se ha mostrado que en la rata prepúber sometida al tratamiento hormonal PMSG, la respuesta ovulatoria se incrementa por la administración sistémica de serotonina (78, 79). Un efecto semejante se ha observado cuando la serotonina se administra directamente en el tercer ventrículo antes del período crítico de la liberación de la LH. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que este neurotransmisor estimula la liberación endógena de la LH.

La mayoría de los estudios han mostrado que la serotonina modula la secreción de la LH y al parecer no participa en la regulación de la secreción de la FSH. Sin embargo, se ha mostrado que en la rata prepúber la administración de p-clorofenilalanina (bloqueador de la síntesis de serotonina) inhibe la secreción endógena de la FSH. Estos resultados llevaron a afirmar a los autores que este neurotransmisor ejerce un efecto estimulador sobre la secreción de las gonadotropinas (10).

En el animal prepúber la microinyección de 5,7-dihidroxitriptamina (neurotóxico para las fibras serotoninérgicas) o la lesión electrolítica del núcleo del rafe dorsal bloquea la ovulación espontánea o inducida por la administración de PMSG. Con base en estos resultados los autores sugieren que el sistema serotoninérgico estimula la secreción de la GnRH, la LH y la ovulación (4, 41).

En la literatura existe información que señala que el sistema serotoninérgico participa de manera diferencial en la secreción de las gonadotropinas a lo largo del desarrollo del animal prepúber. Se ha mostrado que entre el día 16 y 20 de edad, este neurotransmisor estimula la secreción de la LH, mientras que alrededor del 20 y 26 este efecto desaparece y a los 30 días ejerce un efecto de tipo inhibitorio similar al reportado por algunos autores en el animal adulto (2, 42). Este cambio en la participación de este sistema a lo largo de la vida del animal, ha sido reportado para otros sistemas de neurotransmisión, como el noradrenérgico (21).

## **DISTRIBUCIÓN DE LA SEROTONINA A NIVEL PERIFÉRICO**

Se ha mostrado que la serotonina a nivel cerebral actúa como un neurotransmisor, sin embargo, es importante señalar que también se encuentra presente en la glándula pineal, las células cromafines de la glándula suprarrenal, la mucosa intestinal, las plaquetas, los mastocitos, el páncreas, el pulmón, los ovarios, los testículos, el timo, la tiroides y el tracto urogenital (5, 12, 13, 71).

Los estudios anatómicos e histoquímicos han aportado datos que revelan que al testículo le llega inervación noradrenérgica y colinérgica vía el nervio espermático, así mismo se ha detectado la presencia de serotonina en la gónada y en particular en las células de Leydig. Sin embargo, hasta el momento no se han identificado fibras serotoninérgicas que inervan a los diferentes compartimentos del órgano (73). Uno de los estudios encaminados a dilucidar la fuente de serotonina en la gónada del macho, muestra que en la rata adulta cuando se secciona el nervio espermático disminuye la concentración de serotonina en la cápsula testicular y en el fluido intersticial, lo que llevo a sugerir que la fuente del neurotransmisor pueden ser fibras serotoninérgicas que viajan por el nervio espermático, de la recapturada de la sangre, de los mastocitos, o de la síntesis intratesticular (12).

Con el uso de técnicas histoquímicas se ha mostrado que el ovario se encuentra inervado por el sistema noradrenérgico y el colinérgico. Esta inervación llega al estroma ovárico, a las células del tejido muscular liso que rodea la teca externa de los folículos, a la glándula intersticial y a lo largo de los vasos sanguíneos (14). Así mismo, se ha identificado más de un tipo de receptor a serotonina en diversos tejidos periféricos. Sin embargo, hasta el momento no se ha detectado la presencia de fibras serotoninérgicas en el folículo (31).

Algunos autores consideran que el origen de la serotonina ovárica son los mastocitos, las plaquetas o la síntesis de-novo (29, 38, 70). La distribución de los mastocitos en el ovario varía en las diferentes especies de mamíferos. En la rata estas células están presentes en el hilio y en la médula del ovario (29) y en la coneja y la vaca se localizan en la teca de los folículos preovulatorios (5). En la mujer se ha detectado que en el antro de los folículos preovulatorios el líquido folicular contiene noradrenalina, dopamina, serotonina y que la concentración de estas dos últimas no se modifica en los folículos preovulatorios sanos y atrésicos, en tanto que la cantidad de noradrenalina en este tipo de folículo es mayor (7).

## **PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA SEROTONINÉRGICO EN LA FUNCIÓN DEL OVARIO**

En la literatura existe información que permite sugerir que la serotonina participa en la regulación de las funciones del ovario, particularmente en el proceso de ovulación. Clausell y Soliman (13) encontraron que durante el diestro y el proestro la concentración de serotonina en el ovario es baja y en el día del estro es mayor. Si se correlacionan los cambios antes descritos con el número de mastocitos en el ovario, se observa que el número de estas células es bajo durante el proestro y en el estro se incrementa, lo que coincide con la mayor concentración de serotonina en el ovario. En los otros días del ciclo no se observan cambios significativos (29).

Diversas investigaciones sugieren que la serotonina, al igual que la histamina y las catecolaminas, juegan un papel fundamental en el control del flujo sanguíneo del ovario, en la actividad contráctil de la capa muscular que rodea al folículo preovulatorio, en el proceso inflamatorio que precede a la ruptura del

folículo facilitando la ovulación y el proceso de esteroidogénesis (5, 31, 38, 64, 68, 69, 70).

La vasodilatación del folículo preovulatorio y el aumento de la permeabilidad en el ovario son probablemente algunos de los mecanismos vinculados con el proceso de la ovulación. Se ha demostrado que dependiendo de la especie y del tejido examinado la serotonina posee un efecto vasoconstrictor o vasodilatador (73). Schmidt y col., (64) mostraron que al perfundir el ovario de ratas inmaduras con serotonina se presenta la reacción inflamatoria que precede la ruptura del folículo. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que este neurotransmisor al igual que la LH y la histamina aumenta el flujo sanguíneo del ovario y como consecuencia contribuye de manera directa al mecanismo de ovulación.

Se ha mostrado que la contracción de las células musculares que rodean al folículo preovulatorio es un factor determinante para que se lleve a cabo la ovulación (31, 39, 64, 68). En estudios *in vitro* en los que se utilizan folículos preovulatorios de hámster y que son estimulados con serotonina y LH se ha observado que presentan contracción de la pared muscular y aumenta la presión intrafolicular (68). Por otra parte, la administración de ketanserina, bloqueador de los receptores a serotonina de tipo 2, induce la relajación de la pared del folículo del ovario de la vaca en forma significativa (31). Por lo que dichos estudios llevaron a los autores a pensar que es la serotonina y no la histamina, la que induce la contracción del músculo liso del folículo preovulatorio.

La administración *in vitro* de serotonina a los ovarios de ratas prepúberes previamente estimulados con PMSG, incrementa el porcentaje de ovulación. En cambio, cuando al medio de cultivo se les adiciona ketanserina o metilsérgida (bloqueador de los receptores del tipo 1 y 2) disminuye este

parámetro (64). Esta misma respuesta se observa cuando se administra la metilsergide por vía sistémica al animal adulto (40). Tales evidencias llevaron a los autores a sugerir que la serotonina facilita el proceso de ovulación.

Además de la idea de que la serotonina participa en los mecanismos que conducen a la ovulación en diferentes especies, se ha propuesto que este neurotransmisor modula la producción de hormonas esteroides por el ovario. Así, en estudios *in vitro* con células del cuerpo lúteo de la cobaya y la vaca se ha mostrado que al activar los receptores del tipo 1 de la serotonina, se incrementa la producción de progesterona (5). En cambio, en el folículo preovulatorio del hámster la administración de metilsergide disminuye la producción de estradiol, mientras que si se bloquean los receptores tipo 2 no se observaron cambios (70). Evidencias que sugiere que la serotonina estimula la esteroidogénesis en el ovario vía sus receptores del tipo 1.

A diferencia de lo que ocurre en la cobaya, la vaca y el hámster, cuando se administra por vía oral la ketanserina a ratas hembras adultas o cuando este fármaco se adiciona a folículos preovulatorios mantenidos *in vitro*, disminuye la concentración plasmática de estradiol o en el medio de cultivo, lo que permitió pensar que la serotonina estimula la esteroidogénesis, vía los receptores del tipo 2 (69). Estos resultados y otras evidencias experimentales en conjunto, permiten a los autores sugerir que la serotonina regula la esteroidogénesis en el ovario vía sus diferentes receptores, pero que la participación de estos va a depender de la especie en estudio.

Experimentos recientes muestran que la deservación serotoninérgica inducida por la administración de p-cloroanfetamina (pCA), inhibidor del sistema serotoninérgico, no modifica la tasa de animales ovulantes pero el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementa cuando el fármaco se

administra desde el nacimiento, y a partir de los 10, 24 ó 30 días de edad. En tanto que, cuando la desnervación se inicia a los 5, 15 y 21 días de edad el número de ovocitos liberados por animal ovulante es normal. Estos resultados llevan a sugerir que en el animal prepúber, el sistema serotoninérgico puede estar modulando la secreción de las gonadotropinas y la reactividad del ovario a las mismas y que la participación de este sistema varía durante el desarrollo posnatal del animal (3).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las evidencias experimentales antes citadas muestran que en el sistema nervioso central, la serotonina actúa como un neurotransmisor que regula la secreción de las gonadotropinas por sus efectos sobre la secreción de la GnRH. No se conoce con certeza la participación de este neurotransmisor a nivel del ovario, por lo que no se puede descartar que sea uno de los factores que modulen el inicio de la función de la gónada prepúber y su reactividad a las gonadotropinas.

Dado lo anterior en el presente trabajo se estudió la participación del sistema serotoninérgico en la reactividad del ovario a las gonadotropinas exógenas en ratas prepúberes con bloqueo del sistema serotoninérgico inducido por la administración de p-cloroanfetamina (pCA) a diferentes edades del desarrollo posnatal.

## **HIPÓTESIS**

El sistema serotoninérgico participa de manera estimulante o inhibitoria en los mecanismos neuroendócrinos que modulan la ovulación en el animal prepúber, por lo que el bloqueo de éste sistema realizado a diferentes edades del desarrollo prepuberal del animal, modifica la reactividad del ovario a las gonadotropinas y dicha respuesta depende de la edad en que se realice el bloqueo del sistema serotoninérgico.

## **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico sobre la reactividad del ovario evaluada por la primera ovulación, en el animal estimulado con gonadotropinas.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Analizar la respuesta ovulatoria del animal prepúber al estímulo con gonadotropinas exógenas.

Analizar si la respuesta ovulatoria del animal prepúber a las gonadotropinas exógenas se modifica por el bloqueo del sistema serotoninérgico.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas, de diez, de veinticuatro, de 25 y 30 días de edad de la cepa CII-ZV, las cuales fueron mantenidas en condiciones controladas de iluminación: con 14 h de luz y 10 h de obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h). Los animales fueron distribuidos en camadas de 7 crías por madre con libre acceso a ella hasta el destete (21 días) y posteriormente al agua y al alimento. Cada grupo experimental fue conformado por un número mínimo de diez animales.

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

### **Procedimiento a la autopsia**

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación el día del primer estro vaginal entre las 09:00 y 10:00 h. A la autopsia se disecaron y pesaron en balanza de precisión los ovarios y el útero. Las trompas uterinas se revisaron y se contó el número de ovocitos liberados cuando estuvieron presentes con la ayuda del microscopio estereoscópico. El peso de los órganos se expresó en miligramos (peso absoluto).

### **Análisis histológico**

Los ovarios se fijaron en solución de Bouin, se deshidrataron con soluciones de alcohol y se incluyeron en parafina. Se realizaron cortes seriados de 10  $\mu$ m que fueron teñidos con hematoxilina-eosina, para la identificación de

foliculos preovulatorios ( > 500 µm de diámetro) con luteinización y ovocito atrapado (27).

#### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos sobre el peso corporal y de los órganos (ovario y útero), fueron analizados por la prueba de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. La edad de la apertura vaginal, la edad del primer estro y el número de ovocitos liberados por la prueba de Kruskal-Wallis. La tasa de animales ovulantes (TAO) y de útero distendido (UD) fueron evaluadas por la prueba de Ji-Cuadrada. Se consideraron únicamente aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue igual o menor al 5%.

$$\text{TAO} = \frac{\text{número de animales ovulantes}}{\text{número total de animales tratados}} \times 100$$

$$\text{UD} = \frac{\text{número de animales con útero distendido}}{\text{número total de animales tratados}} \times 100$$

Para el cálculo del porcentaje de UD se consideró a los animales ovulantes y no ovulantes en general.

#### 1.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil y juvenil

Se ha reportado que la respuesta ovulatoria del animal prepúber a la administración de PMSG depende de la edad del animal en la cual se realice el estímulo hormonal. Por lo que, este experimento fue diseñado para analizar la

respuesta ovulatoria del animal estimulado con PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días).

Para ello a grupos de hembras de 21 ó 27 días de edad se les administró una dosis de 8 u.i. de PMSG (Sigma Chemical Co., EE.UU.) por vía subcutánea (s.c.). Los animales fueron revisados diariamente hasta que se presentó la apertura vaginal, se inició la toma de frotis vaginales y en el día del primer estro vaginal los animales fueron sacrificados.

## 2.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil o en la juvenil en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico

Para analizar si en el animal prepúber la serotonina modifica la reactividad del ovario a las gonadotropinas exógenas y si su participación varía a lo largo del desarrollo posnatal del animal, se decidió evaluar los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico, efectuado a diferentes edades de la pubertad sobre la ovulación inducida por la administración de gonadotropinas.

Grupos de hembras recién nacidas, de diez o de veinticuatro días de edad fueron tratadas con 10 ó 15 mg/kg de peso corporal de p-cloroanfetamina (pCA) (Sigma Chemical Co., EE.UU.), por vía intraperitoneal (i.p.) cada 10 días hasta la presencia del primer estro vaginal, más 8 u.i. de PMSG al día 21 ó 27 y se sacrificaron en el día del primer estro vaginal. Como grupo de comparación se utilizaron animales de las mismas edades tratados con solución salina (vehículo) y sometidos al mismo estímulo hormonal.

**3.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración secuencial de PMSG y hCG en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico**

En los grupos de animales tratados con vehículo ó con pCA desde el nacimiento más PMSG al día veintiuno, en los que se bloqueo la ovulación al primer estro vaginal, se decidió analizar si esta respuesta era una consecuencia de la falta de secreción del "pico preovulatorio" de la LH.

Para ello a grupos de hembras recién nacidas se les trató con vehículo o 15 mg/kg de peso corporal de pCA como se describió anteriormente y recibieron 8 u.i. de PMSG en el día 21, 48 h después se les inyectó 10 u.i. de hCG (Sigma Chemical Co., EE.UU.) por vía s.c., y se sacrificaron en el día del primer estro vaginal.

## RESULTADOS

### Parámetros que caracterizan el inicio de la pubertad en la rata

En los animales testigo absoluto sacrificados en el día del primer estro la canalización vaginal se presentó alrededor del día 37 de edad, en ese momento, el frotis vaginal presentó las características de estro. En este grupo, únicamente el 64% de los animales ovuló y el número de ovocitos liberados fue de  $7.0 \pm 0.06$  y sólo una baja proporción del grupo (14%) presentó útero distendido (con líquido).

En la tabla 1 se muestra el peso corporal, de los ovarios y del útero de los animales sacrificados al primer estro, a los 30 ó 25 días de edad. El peso corporal y del útero se incrementó con la edad del animal, sin embargo el peso de los ovarios no se modificó en ninguna de las edades estudiadas.

Tabla 1. Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de animales testigo absoluto sacrificados a los 25 ó 30 días de edad o al primer estro vaginal (PEV).

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
PEV	14	$89.2 \pm 1.8$	$33.6 \pm 2.2$	$149.2 \pm 9.4$
30 días	16	$80.3 \pm 1.2$ b	$29.2 \pm 4.1$	$60.9 \pm 4.1$ a
25 días	16	$59.8 \pm 1.9$ a	$27.9 \pm 1.2$	$48.6 \pm 2.5$ a,b

a,  $p < 0.05$  vs. grupo PEV (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).

b,  $p < 0.05$  vs. grupo de 25 días (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).

Para el análisis de los efectos producidos por la administración de la PMSG se decidió utilizar tres grupos testigo. Los resultados de la ovulación y del útero distendido se compararon con el grupo de animales sacrificados al primer estro vaginal y el peso de los órganos se confrontaron con los testigos de la edad correspondiente.

**1.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil o en la juvenil**

**Edad de apertura vaginal y del primer estro**

En los animales prepúberes la administración de PMSG provocó el adelanto de la edad de apertura vaginal y del primer estro independientemente de la edad a la cual se inició el tratamiento, en relación con el grupo testigo absoluto con apertura vaginal espontánea. En los animales que fueron tratados con la PMSG en la etapa infantil (21 días) la canalización vaginal se produjo alrededor de las 96 h (25 días de edad), en cambio cuando los animales fueron estimulados en la etapa juvenil (27 días) este evento se presentó a las 72 h (30 días de edad). En todos los animales en el momento de la apertura vaginal, el frotis presentó las características de estro.

**Respuesta ovulatoria**

En los animales sometidos al estímulo hormonal con PMSG al día 21 únicamente el 16% de ellos ovuló, mientras que cuando la administración de la hormona se realizó al día 27 la proporción de animales que ovuló fue mayor (64%) y similar al grupo testigo absoluto (66%). Sin embargo, el número de

ovocitos liberados por los animales de ambos grupos fue similar pero mayor que en los animales con ovulación espontánea (tabla 2).

**Tabla 2. Tasa de animales ovulantes y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante de ratas testigo absoluto (TA) o tratadas con 8 u.l. de PMSG durante la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

GRUPO	n	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
TA	14	9/14	7.4 $\pm$ 0.6
PMSG (27 días)	16	14/16	28.1 $\pm$ 2.6 b
PMSG (21 días)	31	5/31 a	22.0 $\pm$ 2.9 b

a,  $p < 0.05$  vs. grupo TA (Ji-cuadrada).

b,  $p < 0.05$  vs. grupo TA (Prueba de Kruskal-Wallis).

#### **Peso Corporal y de los órganos**

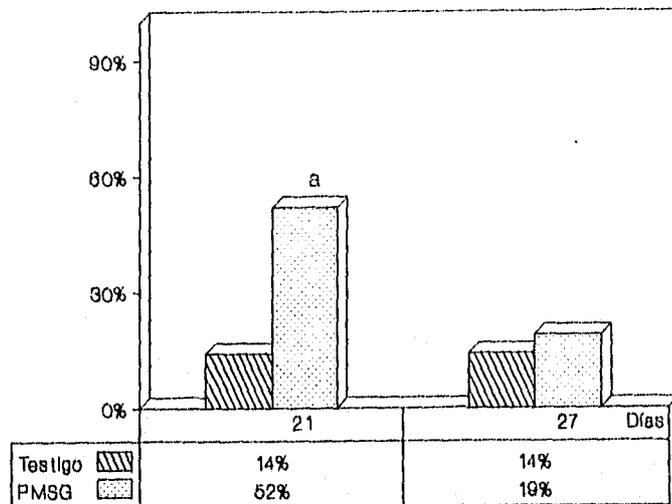
El peso corporal de los animales que se sometieron al tratamiento con PMSG al día 21 ó 27 no se modificó en relación con su respectivo grupo testigo (animales de 25 ó 30 días), sin embargo el peso de los ovarios y del útero se incrementó significativamente por la administración con PMSG en ambas edades (tabla 3).

**Tabla 3. Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de ratas testigo o tratadas con 8 u.i. de PMSG durante la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
Testigo 25 días	16	59.8 $\pm$ 1.2	27.9 $\pm$ 1.2	48.6 $\pm$ 2.5
PMSG 21	31	57.2 $\pm$ 1.5	52.3 $\pm$ 3.0 a	132.0 $\pm$ 4.6 a
Testigo 30 días	16	80.3 $\pm$ 1.2	28.9 $\pm$ 3.8	60.9 $\pm$ 2.8
PMSG 27	16	73.8 $\pm$ 3.0	57.6 $\pm$ 3.5 a	123.1 $\pm$ 7.2 a

a,  $p < 0.05$  vs. grupo testigo (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).

La incidencia de útero distendido fue mayor en los animales que se sometieron al tratamiento hormonal con PMSG en el día 21 en relación al testigo absoluto con apertura vaginal espontánea, mientras que en el grupo tratado al día 27 no presentaron cambios en este parámetro (fig. 3). El útero distendido se presentó en aquellos animales que no ovularon, sin embargo si se llegaron a presentar ocasionalmente animales que ovularon y tuvieron esta característica.



a,  $p < 0.05$  vs. grupo testigo absoluto (JI-cuadrada).

**Figura 3. Porcentaje de útero distendido en ratas testigo o tratadas con 8 u.i. de PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

**2.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración de PMSG en la etapa infantil o en la juvenil en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico**

**2.1.- Animal recién nacido**

**Edad de apertura vaginal y del primer estro**

El bloqueo del sistema serotoninérgico inducido por la administración de 10 ó 15 mg/kg de pCA a partir del nacimiento (etapa neonatal) y sometidas al estímulo hormonal con PMSG al día 21 o al 27, no modificó la edad de la apertura vaginal, ni la del primer estro con respecto a su grupo con vehículo más

la hormona ( $24.6 \pm 0.1$  vs  $24.6 \pm 0.1$ ;  $30 \pm 0.0$  vs  $30 \pm 0.0$ , días NS respectivamente) y en todos los animales en este momento, el frotis vaginal presento las características de estro.

#### Respuesta ovulatoria

En el grupo de animales tratados con vehículo o con pCA a partir de la etapa neonatal, ninguno de los animales ovuló al estro vaginal en respuesta al estímulo hormonal al día 21 (tabla 4). En cambio, todos los animales tratados con vehículo más PMSG al día 27 ovularon al primer estro vaginal, este evento no se modificó por el bloqueo del sistema serotoninérgico. El número de ovocitos liberados fue mayor en los animales que se trataron con 15 mg/kg del fármaco en relación a los tratados con vehículo o con 10 mg/kg de pCA (tabla 4).

**Tabla 4. Tasa de animales ovulantes y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento más 8 u.l. de PMSG en la etapa Infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

GRUPO	n	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
<b>PMSG 21</b>			
Vh	20	0/20	0.0
pCA 10 mg	13	0/13	0.0
pCA 15 mg	16	0/16	0.0
<b>PMSG 27</b>			
Vh	19	19/19	$26.7 \pm 1.1$
pCA 10 mg	11	11/11	$25.9 \pm 5.2$
pCA 15 mg	28	27/28	$38.6 \pm 2.2$ a,b

a,  $p < 0.05$  vs. respectivo grupo Vh (Prueba de Kruskal-Wallis).

b,  $p < 0.05$  vs. grupo pCA 10 mg más PMSG al día 27 (Prueba de Kruskal-Wallis).

Peso corporal y de los órganos

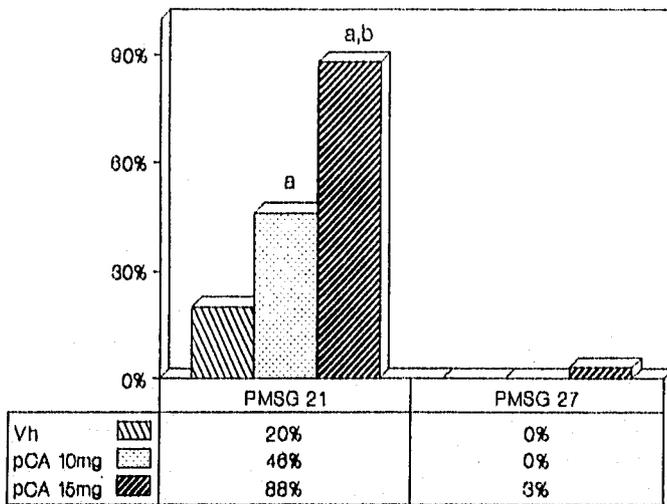
En los animales tratados con pCA desde la etapa neonatal más PMSG al día 21, el peso corporal disminuyó de manera significativa en el día del primer estro vaginal independientemente de la dosis del fármaco administrada en relación al grupo con vehículo, y el incremento en peso de la gónada no se modificó por el bloqueo del sistema, en cambio, el peso del útero únicamente se incrementó cuando se administró previamente 10 mg/kg del fármaco (tabla 5). La proporción de útero distendido fue mayor en los animales tratados con las diferentes dosis del fármaco (fig. 4). Estos parámetros no se modificaron en los animales tratados con la pCA y sometidos al estímulo hormonal en el día 27 (tabla 5 y fig. 4).

**Tabla 5. Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento más 8 u.i. de PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
<b>PMSG 21</b>				
Vh	20	49.9 $\pm$ 1.6	52.7 $\pm$ 2.2	124.7 $\pm$ 4.4
pCA 10 mg	13	43.7 $\pm$ 1.3 a	54.9 $\pm$ 6.4	149.7 $\pm$ 5.6 a
pCA 15 mg	16	39.3 $\pm$ 2.0 a	56.9 $\pm$ 3.6	130.5 $\pm$ 5.4 b
<b>PMSG 27</b>				
Vh	19	68.3 $\pm$ 2.7	54.0 $\pm$ 2.1	111.4 $\pm$ 3.2
pCA 10 mg	11	75.4 $\pm$ 1.7	48.4 $\pm$ 4.2	121.4 $\pm$ 4.9
pCA 15 mg	28	64.4 $\pm$ 1.3	59.3 $\pm$ 2.4	116.3 $\pm$ 3.0

a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh (ANDEVA seguida por la prueba TUKEY).

b,  $p < 0.05$  vs. grupo con pCA 10 mg más PMSG al día 21 (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).



a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh (Ji-cuadrada)  
 b,  $p < 0.05$  vs. grupo con pCA 10 mg (Ji-cuadrada)

**Figura 4. Porcentaje de útero diestrado de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento más 8 u.l. de PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

## 2.2.- Animal de diez días

### Edad de apertura vaginal y del primer estro

En los animales tratados con pCA a partir del día diez (etapa infantil) más PMSG al día 21 ó 27, no se modificó la edad de la apertura vaginal en relación al grupo de animales tratados únicamente con el vehículo más la hormona ( $24.6 \pm 0.1$  vs  $24.6 \pm 0.1$ ;  $30 \pm 0.0$  vs  $30 \pm 0.0$  días NS respectivamente) y en todos los animales en este momento el frotis vaginal presentó características de estro.

## Respuesta ovulatoria

El grupo de animales tratados con vehículo desde el día 10 de edad más PMSG al día 21, el 62% de los animales ovularon al primer estro vaginal, mientras que, en los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico disminuyó la proporción de animales que ovularon, sin embargo no llegó a ser estadísticamente significativo y el número de ovocitos liberados fue similar al grupo con vehículo más la hormona (tabla 6). En los animales tratados con alguna de las dosis de pCA más PMSG al día 27 no se modificó la tasa de animales ovulantes, sin embargo el número de ovocitos liberados por animal ovulante se incrementó cuando el bloqueo del sistema se efectuó con 15 mg/kg del fármaco en relación al grupo que recibió 10 mg/kg de pCA (tabla 6).

**Tabla 6. Tasa de animales ovulantes y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día diez de edad más 8 u.i. de PMSG en la etapa Infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

GRUPO	n	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
<b>PMSG 21</b>			
Vh	16	10/16	6.8 $\pm$ 1.3
pCA 10 mg	13	3/13	7.1 $\pm$ 1.2
pCA 15 mg	14	4/14	5.5 $\pm$ 1.0
<b>PMSG 27</b>			
Vh	13	13/13	30.2 $\pm$ 2.0
pCA 10 mg	17	16/17	25.8 $\pm$ 3.0
pCA 15 mg	17	17/17	39.3 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>,  $p < 0.05$  vs. grupo con pCA 10 mg (Prueba de Kruskal-Wallis).

### Peso de los órganos

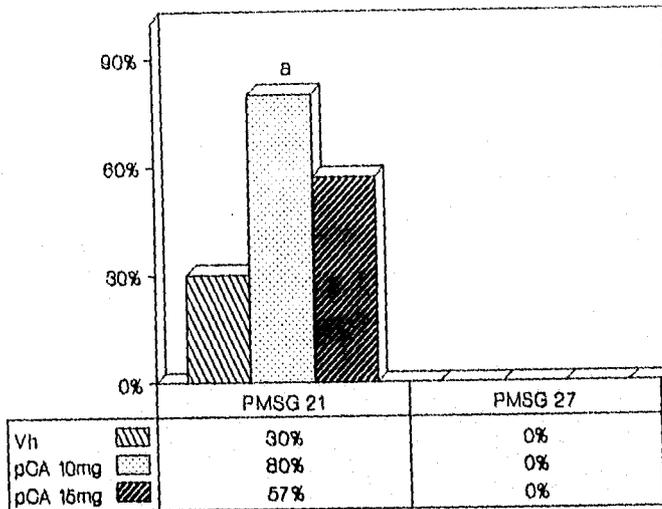
El peso corporal, el de los ovarios y del útero no se modificó en los grupos de animales tratados con pCA desde el día diez de edad más PMSG en la etapa infantil en relación a su respectivo grupo con vehículo más la hormona (tabla 7). Sin embargo, la proporción de útero distendido fue mayor, cuando se administró 15 mg/kg de pCA previo al estímulo hormonal con PMSG al día 21 (fig. 5). En los animales estimulados con la hormona en la etapa juvenil que previamente fueron tratados con 10 ó 15 mg/kg del fármaco, el peso corporal y el de los ovarios no se modificó. El peso del útero únicamente se incrementó cuando se administró 10 mg/kg del fármaco más la hormona (tabla 7).

**Tabla 7. Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día diez de edad más 6 u.i. de PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
<b>PMSG 21</b>				
Vh	16	48.4 $\pm$ 1.3	45.1 $\pm$ 4.9	105.4 $\pm$ 3.8
pCA 10 mg	13	47.5 $\pm$ 0.8	41.5 $\pm$ 3.9	110.3 $\pm$ 4.6
pCA 15 mg	14	50.4 $\pm$ 1.0	39.7 $\pm$ 4.6	117.6 $\pm$ 11.0
<b>PMSG 27</b>				
Vh	13	68.2 $\pm$ 2.2	53.1 $\pm$ 3.2	102.4 $\pm$ 5.1
pCA 10 mg	17	65.1 $\pm$ 2.0	56.2 $\pm$ 5.1	124.5 $\pm$ 4.8 a
pCA 15 mg	17	62.3 $\pm$ 1.8	63.3 $\pm$ 3.9	100.4 $\pm$ 2.2 b

a, p<0.05 vs. grupo con Vh (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).

b, p<0.05 vs. grupo con pCA 10 mg (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).



a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh (Ji-cuadrada)

**Figura 5. Porcentaje de útero distendido de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día diez de edad más 8 u.l. de PMSG en la etapa infantil (21 días) o en la juvenil (27 días) y sacrificadas al primer estro vaginal.**

### 2.3.- Animal de veinticuatro días

#### Edad de apertura vaginal y del primer estro

En los grupos de animales tratados con pCA a partir del día veinticuatro de edad (etapa juvenil) y sometidos al estímulo hormonal con PMSG al día 27 no se modificó la edad de la apertura vaginal (30 días) y en todos los animales el frotis vaginal presentó en este momento las características de estro.

## Respuesta ovulatoria

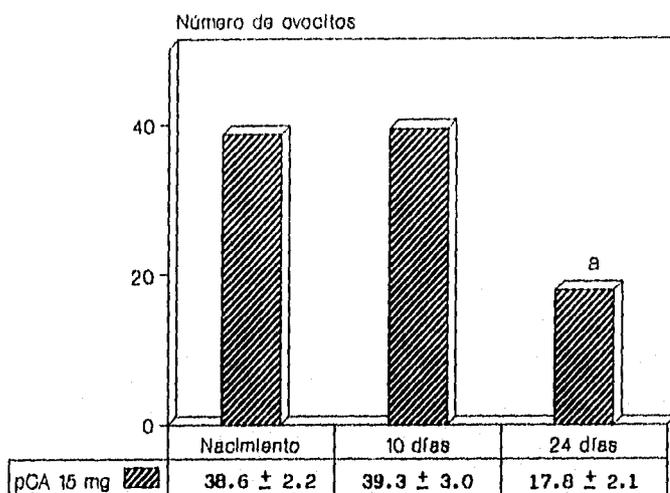
La proporción de animales que ovularon al primer estro vaginal no se modificó por el bloqueo previo del sistema serotoninérgico. Sin embargo, el número de ovocitos liberados disminuyó de manera significativa con la administración de pCA independientemente de la dosis administrada (tabla 8). En los ovarios de estos animales no se observaron folículos preovulatorios con luteinización y ovocito atrapado cuando se realizó el análisis histológico.

El análisis de los efectos de la desnervación serotoninérgica producida por la administración de 15 mg/kg de pCA iniciada desde la etapa neonatal, infantil o juvenil se muestra en la figura 6. El número de ovocitos liberados por animal ovulante disminuyó de manera significativa en el grupo tratado pCA a partir de la etapa juvenil (veinticuatro días) más PMSG al día 27, en relación al grupo en el cual el bloqueo del sistema serotoninérgico se efectuó a partir de la etapa neonatal (recién nacidos) o en la infantil (diez días) más el tratamiento hormonal.

**Tabla 8. Tasa de animales ovulantes y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día veinticuatro de edad más 8 u.i. de PMSG en la etapa juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

GRUPO	n	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
PMSG 27			
Vh			
pCA 10 mg	19	17/19	29.6 $\pm$ 2.5
pCA 15 mg	10	10/10	17.5 $\pm$ 3.1 a
	22	18/22	17.6 $\pm$ 2.1 a

a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh (Prueba de Kruskal-Wallis).



a,  $p < 0.05$  vs. grupo con pCA al nacimiento ó al día 10 (Prueba de Kruskal-Wallis).

**Figura 6.** Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante de ratas tratadas con 15 mg/kg de p-cloroanfetamina (pCA) a diferentes edades del desarrollo prepuberal más 8 u.i. de PMSG en el día 27 y sacrificadas al primer estro vaginal.

#### Peso corporal y de los órganos

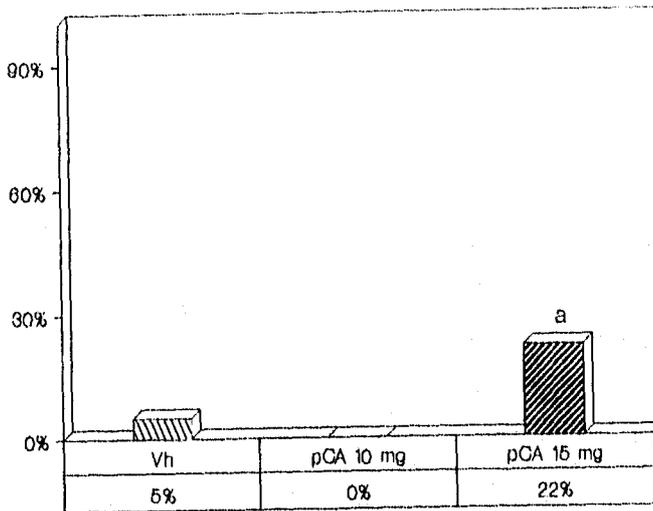
El peso corporal disminuyó por la administración de pCA a partir de la etapa juvenil más PMSG al día 27 independientemente de la dosis administrada. El peso de los ovarios y el del útero no se modificó por la administración del fármaco independientemente de la dosis (tabla 9).

**Tabla 9. Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (g), de los ovarios y del útero (mg) de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día veinticuatro de edad más 8 u.i. de PMSG en la etapa juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
<b>PMSG 27</b>				
Vh	19	76.3 $\pm$ 1.3	53.1 $\pm$ 2.8	116.2 $\pm$ 3.7
pCA 10 mg	10	66.2 $\pm$ 1.5 a	62.8 $\pm$ 2.4	120.6 $\pm$ 3.7
pCA 15 mg	22	63.6 $\pm$ 2.1 a	58.5 $\pm$ 4.1	113.5 $\pm$ 4.3

a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh (ANDEVA seguida por la prueba de TUKEY).

El porcentaje de útero distendido únicamente se incrementó en el grupo con bloqueo del sistema serotoninérgico inducido por la administración de 15 mg/kg del fármaco (fig. 7). El útero distendido se presentó en aquellos animales que no ovularon, sin embargo si se llegaron a presentar ocasionalmente animales que ovularon y tuvieron esta característica.



a,  $p < 0.05$  vs. grupo con Vh o con pCA 10 mg (Prueba de Ji-cuadrada).

**Figura 7. Porcentaje de útero distendido de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con diferentes dosis de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del día veinticuatro de edad más 8 u.i. de PMSG en la etapa juvenil (27 días) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

**3.- Estudio de la reactividad del ovario a la administración secuencial de PMSG y hCG en la etapa infantil en ratas con bloqueo del sistema serotoninérgico a partir del nacimiento**

Debido a que el peso corporal y el de los ovarios disminuyó en los animales tratados con vehículo más PMSG-hCG en la etapa infantil (21 días) en relación al grupo de animales que únicamente fueron sometidos al tratamiento secuencial con PMSG-hCG ( $54.9 \pm 2.2$  vs  $65.9 \pm 3.4$  g ;  $78.4 \pm 7.4$  vs  $136.9 \pm 9.1$  mg  $p < 0.05$  respectivamente), los efectos del bloqueo del sistema serotoninérgico se compararon con el grupo tratado con vehículo más las hormonas.

#### Edad de apertura vaginal y del primer estro

La administración secuencial de PMSG-hCG al día 21 en el grupo de animales tratados con vehículo o con pCA desde el nacimiento (etapa neonatal), no modificó la edad de la apertura vaginal, ni la edad del primer estro.

#### Respuesta ovulatoria

En los animales testigo tratados con PMSG-hCG al día 21 de edad, ninguno de los animales ovuló al estro vaginal, sin embargo cuando se realizó el análisis histológico de los ovarios, se observaron cuerpos luteos recién formados lo que indica el adelanto de la ovulación.

La frecuencia de animales que ovularon al estro vaginal y el número de ovocitos liberados se incrementó de manera significativa en el grupo tratado con vehículo más el estímulo secuencial de PMSG-hCG al día 21, en comparación al grupo estimulado únicamente con PMSG. Este mismo comportamiento se observó en los animales con bloqueo previo del sistema serotoninérgico. La respuesta ovulatoria no se modificó en los animales que recibieron pCA más PMSG-hCG en relación a los tratados con vehículo sometidos al mismo estímulo hormonal (tabla 10).

#### Peso corporal y de los órganos

El peso de los ovarios y del útero no se modificaron en los animales tratados previamente con pCA y sometido al estímulo secuencial de PMSG-hCG con respecto al grupo con vehículo con el mismo tratamiento hormonal. En cambio, el peso corporal disminuyó de manera significativa en el grupo que recibió el fármaco (tabla 11). En los animales tratado con vehículo más PMSG-

hCG ninguno de los animales presento útero distendido, este evento no se modificó por el bloqueo previo del sistema con el mismo tratamiento hormonal (fig. 8).

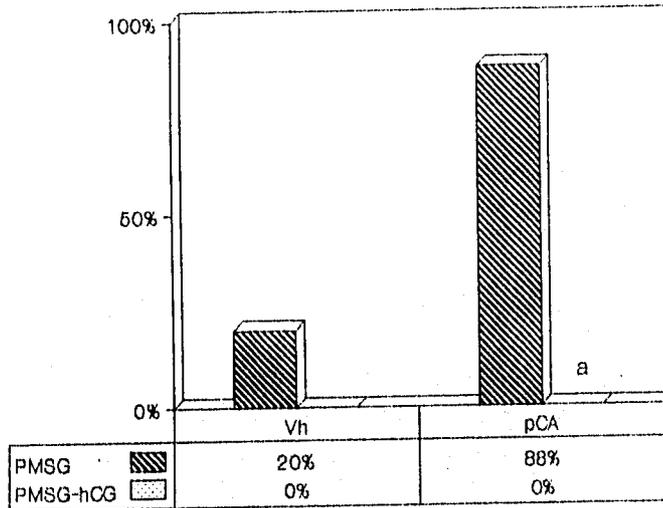
**Tabla 10. Tasa de animales ovulantes y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con 15 mg/kg de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento más 8 u.i. de PMSG en el día 21 o PMSG más hCG y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.**

GRUPO	n	TASA DE ANIMALES OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS
<b>Vh</b>			
PMSG	20	0/20	0.0
PMSG-hCG	18	15/18	30.8 $\pm$ 3.3
<b>pCA</b>			
PMSG	16	0/16	0.0
PMSG-hCG	17	14/17	23.9 $\pm$ 3.8

**Tabla 11. Peso corporal (g), de los ovarios y de útero (mg) de ratas tratadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con 15 mg/kg de p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento más 8 u.i. de PMSG en el día 21 o PMSG más hCG y sacrificadas al primer estro vaginal.**

GRUPO	n	PESO CORPORAL	OVARIOS	ÚTERO
<b>Vh</b>				
PMSG	20	49.9 $\pm$ 1.6	52.7 $\pm$ 2.2	124.7 $\pm$ 4.4
PMSG-hCG	18	54.9 $\pm$ 2.2	78.4 $\pm$ 7.4 a	87.4 $\pm$ 3.6 a
<b>pCA</b>				
PMSG	16	39.3 $\pm$ 2.0	56.9 $\pm$ 3.6	130.5 $\pm$ 5.4
PMSG-hCG	17	47.7 $\pm$ 0.9 a	73.9 $\pm$ 7.2	85.6 $\pm$ 3.2 a

a,  $p < 0.05$  vs. respectivo grupo con PMSG (Prueba de "t" de Student).



a,  $p < 0.05$  vs. grupo con pCA más PMSG (Prueba de Ji-cuadrada).

**Figura 8. Porcentaje de útero distendido de ratas tratadas con vehículo (Vh) o con 15 mg/kg p-cloroanfetamina (pCA) a partir del nacimiento, más PMSG en el día 21 o con PMSG más hCG y sacrificadas al primer estro vaginal.**

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio permiten sugerir que en el animal prepúber, el sistema serotoninérgico modula de manera inhibitoria en la etapa neonatal y estimulante en la etapa juvenil la secreción de las gonadotropinas y la reactividad del folículo ovárico a dichas hormonas y que la participación de este sistema varía a lo largo del desarrollo del animal prepúber. El incremento en número de ovocitos liberados por animal ovulante en los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico desde el nacimiento o al día diez y estimuladas con PMSG en la fase juvenil, y el efecto inverso observado en los animales tratados con la pCA a partir del día veinticuatro apoyan esta idea.

Nuestros resultados muestran que cuando se administra la PMSG al final del período infantil (21 días), se adelanta la edad de la apertura vaginal y la del primer estro. Sin embargo, la respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) fue muy baja y la proporción de animales que presentaron útero distendido mostró una relación inversa al número de animales ovulantes. Estos eventos indicarían que en los animales tratados con PMSG se estimuló la secreción de estrógenos que fue suficiente para inducir la canalización vaginal y la presencia de células cornificadas en el epitelio de este órgano, la cual se presentó a las 96 horas posteriores a la administración de la hormona, pero no se activaron los mecanismos de retroalimentación estimulante que induce la secreción de la GnRH y las gonadotropinas que culminan con la ovulación. El hecho, de que la administración de PMSG y hCG a animales testigo indujo la ovulación apoyan esta idea.

La falta de respuesta ovulatoria del animal de 21 días al estímulo con PMSG confirman lo descrito por otros autores (46, 49, 58, 76), quienes señalan

que en la rata hembra a esta edad los mecanismos neuroendócrinos que regulan la liberación de la LH ya están desarrollados, pero su manifestación espontánea se produce a una edad más avanzada (35 a 40 días), lo que depende de la cepa de animales, de factores genéticos y ambientales (46).

La apertura vaginal en los animales estimulados con PMSG al día 21 se acompaña de las características de estro, lo que permite pensar que el estímulo con PMSG indujo la secreción de los estrógenos los cuales propician la ruptura del epitelio que cubre la vagina y estimula el crecimiento de las células del mismo que toman la apariencia cornificada, las cuales posteriormente pierden su núcleo tal y como ya se ha reportado (43, 50).

En el animal prepúber tratado con estrógenos se ha mostrado que aumenta la permeabilidad del útero y la síntesis de proteínas entre las 14 y 23 horas después de su administración (66), por lo que el incremento en el peso del útero y la acumulación del líquido en el lumen de este órgano (útero distendido) observado en los animales estimulados con PMSG, puede ser un reflejo de la acción de los estrógenos.

El adelanto en la edad de la apertura vaginal, del primer estro y el incremento en la respuesta ovulatoria en los animales estimulados con PMSG a los 27 días de edad, permite sugerir que a esta edad el eje hipotálamo-hipófisis es capaz de responder a los esteroides gonadales para que se lleve a cabo la cascada de eventos que dan lugar a la primera ovulación. Estos resultados confirman lo ya descrito por otros autores (58, 76), que señalan que en el animal prepúber la respuesta ovulatoria inducida por la administración de PMSG esta en función de la edad del animal a la que se somete al estímulo hormonal.

El hecho de que el peso de los ovarios de los animales tratados con PMSG en la etapa infantil ó juvenil se haya incrementado nos lleva a pensar que tal aumento sea la consecuencia de la estimulación del crecimiento folicular. Esta idea es apoyada por los resultados observados por diferentes autores, quienes señalan que en los animales prepúberes la administración de PMSG induce superovulación e incrementa el peso de la gónada, porque al actuar la hormona en el ovario un mayor número de folículos se incorporan al "pool" de crecimiento (24). Además, se ha descrito que en los ovarios de estos animales de esta edad aumenta el número de folículos en crecimiento (75).

El bloqueo del sistema serotoninérgico iniciado al nacimiento, a los diez o veinticuatro días, no modificó la edad de la apertura vaginal ni la del primer estro, mientras que la proporción de animales con útero distendido se incrementó de manera significativa. Estos resultados permiten sugerir que la serotonina inhibe la secreción de estrógenos por el ovario del animal prepúber. Diversas evidencias experimentales señalan que en el animal adulto la serotonina estimula la producción de estrógenos y de la progesterona (5, 69, 70, 71). Estas diferencias en los resultados, posiblemente se deban a que el sistema serotoninérgico participa de manera diferente en la esteroidogénesis en el animal prepúber y en el adulto.

La falta de ovulación en los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico desde el nacimiento o aparente disminución en la respuesta ovulatoria en los animales tratados desde el día diez de edad con las diferentes dosis del fármaco y sometidos al estímulo hormonal con PMSG al día 21 permite pensar que esta respuesta se debe a la inmadurez en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del eje hipotálamo-hipófisis, lo que se reflejó en la deficiencia de la secreción de la LH y no por la falta de serotonina. Esta idea es apoyada por los resultados que muestran que la administración

secuencial de PMSG-hCG restaura la ovulación durante esta etapa en los animales testigo y tratados con pCA. Por lo que es poco factible pensar, que la disminución de la serotonina inducida por la administración de pCA sea la responsable de la falta de ovulación durante la etapa infantil.

La disminución del peso del útero de los animales tratados con vehículo o con bloqueo del sistema serotoninérgico y sometidos al estímulo hormonal con PMSG-hCG nos permite pensar que se debe a la alta concentración de progesterona en el plasma, debido a la acción de la LH en los cuerpos lúteos recién formados. Se ha mostrado que en el útero de la rata que llega a ser distendido por la acumulación de fluido luminal inducido por los estrógenos durante el proestro, la progesterona propicia la pérdida del mismo por la relajación del cerviz (66). Aunado a esto se ha reportado que la progesterona disminuye el número de receptores a los estrógenos y se incrementa los de la progesterona en el útero (63). En conjunto todas estas evidencias apoyan la idea de que el peso del útero en estos animales disminuye por la acción de la progesterona.

En el grupo tratado con vehículo al día diez más PMSG en la etapa infantil, el 60% de los animales ovuló al estro vaginal, lo cual es diferente a lo observado en el grupo testigo absoluto estimulado con la hormona en la misma etapa. Hasta el momento no se tiene una explicación al respecto, sin embargo es posible que se deba al incremento en la reactividad del ovario a la PMSG, por las altas concentraciones de corticoides producidas por el estrés (provocado por la inyección) previo al tratamiento hormonal. Estudios realizados por Ramaley (56) señalan que las hormonas sintetizadas por la corteza suprarrenal (corticosterona y progesterona) son esenciales para que el ovario del animal prepúber (menor de 26 días) responda con ovulación al estímulo con PMSG. En cambio, el bloqueo del sistema serotoninérgico previo a la administración de la hormona no provocó

el mismo efecto, es posible que la falta de serotonina disminuyera la producción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, por sus siglas en inglés) y como consecuencia la secreción de los corticoides independientemente de que los animales estuvieron sometidos a la misma situación de estrés, ya que se ha mostrado que este neurotransmisor estimula la producción de la ACTH y de los corticoides (44).

El incremento en el número de ovocitos liberados en los animales con bloqueo previo del sistema serotoninérgico al nacimiento o al día diez de edad más PMSG al día 27, sugiere que la inervación serotoninérgica puede estar modulando de manera inhibitoria la secreción de la LH, la reactividad de los ovarios a la misma o actuando en ambos niveles. Una interpretación semejante sobre la participación de la serotonina ha sido previamente postulada utilizando modelos de estudio diferentes (37, 51, 52, 77, 78, 79).

Diversas evidencias experimentales señalan que la pCA es un fármaco que atraviesa la barrera hematoencefálica e inhibe la actividad de la enzima triptofano hidroxilasa (enzima limitante en la síntesis de serotonina) y como consecuencia disminuye la síntesis de este neurotransmisor (59, 60, 61, 62). Además, cuando se administra una dosis de 10 mg/kg de p.c. a ratas machos adultos la concentración de la amina en el SNC disminuye a un 38% del valor reportado para el control y no se observan cambios en la concentración de noradrenalina y dopamina (60, 62). Estos hechos nos permiten sugerir que la administración de 10 mg/kg de pCA al animal prepúber disminuyó la concentración de serotonina y este efecto fue más evidente cuando se administró 15 mg/kg de p.c. del fármaco. Tal efecto dosis dependiente se ha observado para la pCA y otros inhibidores de la síntesis de serotonina como es el caso de la p-clorofenilalanina (60).

Aunado a los cambios en la concentración de serotonina inducidas por la administración de pCA, se sabe que las fibras serotoninérgicas y el soma de la neurona GnRHérgica hacen sinapsis en el área hipotalámica anterior y que estas fibras y las que liberan la GnRH interactúan a nivel de la eminencia media regulando la secreción de la GnRH, de la LH y por ende la ovulación (28, 33). Por lo antes mencionado, es posible que el aumento en el número de ovocitos liberados observados en los animales que recibieron 15 mg/kg de p.c. de pCA desde el nacimiento y al día diez de edad más PMSG al día 27 sea una consecuencia de la disminución de la concentración de serotonina, mientras que la dosis de 10 mg/kg no fue suficiente para producir este efecto. Estos hechos nos permiten sugerir que la inervación serotoninérgica al nacimiento y al día diez modula de manera inhibitoria la secreción de la LH. Lo antes mencionado es apoyado por lo reportado en la literatura, que muestran, que la administración de serotonina al animal prepúber inhibe la secreción de LH y la ovulación (78). Sin embargo, no se puede descartar que este hecho este vinculado a modificaciones en la reactividad del ovario a la LH por la falta de este neurotransmisor.

El incremento en la respuesta ovulatoria observada en los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico no se puede explicar por un aumento en la secreción de la LH, debido a que ha mostrado que la adenohipófisis secreta tres veces más cantidad de la LH que la requerida por el ovario para que se lleve a cabo la ovulación (19). Por lo que el aumento en el número de ovocitos liberados, puede ser el reflejo del incremento en la respuesta del ovario a las gonadotropinas por la falta de serotonina, lo que permitió que un mayor número de folículos alcanzaran la etapa preovulatoria y ovularan al primer estro vaginal, como ya se ha planteado por otros autores (51, 52, 77, 78, 79, 80).

Los resultados obtenidos por Os'teen (51, 52) mostraron que cuando se administra serotonina a ratas prepúberes más PMSG, disminuyó la respuesta

ovulatoria y la luteinización del folículo, en cambio se restauró la ovulación cuando se administra en forma secuencial PMSG-hCG, por lo que este efecto estaría indicando que la serotonina inhibió la liberación de la LH, sin embargo es posible que estos resultados reflejen la acción de la amina en el propio ovario.

A diferencia de lo que ocurre con el bloqueo del sistema serotoninérgico desde el nacimiento y al día diez de edad, la administración de pCA al día veinticuatro, disminuyó la respuesta ovulatoria; resultados semejantes han sido obtenidos por otros autores (3, 51, 52). Esto permite sugerir que las diferencias en la respuesta ovulatoria entre los animales con bloqueo del sistema inducido al nacimiento y al día veinticuatro más PMSG al día 27, se debe a que la serotonina pueda estar participando en la ovulación de manera diferente a lo largo del desarrollo posnatal. Otra explicación a las diferencias observadas en la ovulación en estos animales, es que en las dos primeras edades se efectuó el bloqueo del sistema en forma crónica y en la última en forma aguda. Dicha respuesta se ha obtenido para otros sistemas de neurotransmisores como el noradrenérgico (18).

En los ovarios de los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico en el día 24 no se observaron folículos preovulatorios grandes ni folículos luteinizados con ovocito atrapado. Por lo que es posible sugerir que algunos de los factores que participaron en la disminución en el número de ovocitos liberados por animal ovulante se debe a modificaciones en la reactividad del ovario a la LH. Se ha mostrado que la superovulación en los animales estimulados con PMSG durante la fase juvenil, es consecuencia de que un mayor número de folículos pequeños sean incorporados al "pool" de crecimiento o la disminución del índice de atresia (24). Por lo que es posible que la falta de serotonina en el ovario inducida por la administración de pCA en el día veinticuatro modificó este evento, debido a la disminución en la reactividad del ovario a la PMSG. Otra posible explicación a la disminución del número de ovocitos observada en los animales

de esta edad es un reflejo de la disminución de la concentración de serotonina y como consecuencia de la LH, lo cual nos llevaría a pensar que a esta edad el sistema serotoninérgico central actúa estimulando la secreción de dicha hormona y como consecuencia la primera ovulación.

En conjunto todos estos resultados llevan a pensar que las diferencias observadas en la respuesta ovulatoria en los animales con bloqueo del sistema serotoninérgico, se deben posiblemente a modificaciones en la secreción de las gonadotropinas y en particular de la LH. Esta idea es apoyada por las evidencias que muestran que la pCA disminuye la actividad de la enzima 5-triptofanhidroxilasa en el SNC (enzima limitante en la síntesis de la serotonina), mientras que a nivel periférico no la modifica (72). Sin embargo, no se puede descartar su posible acción a nivel del propio ovario. Además que esta participación cambia según la etapa de desarrollo del animal prepúber.

La disminución del peso corporal inducida por el bloqueo del sistema serotoninérgico a partir del día veinticuatro de edad independientemente de la dosis administrada, podría estar relacionada con la disminución de la secreción de GH. Algunos autores consideran que el sistema serotoninérgico estimula la secreción de dicha hormona, al actuar a nivel del hipotálamo induciendo la liberación de la somatostatina (15, 30, 39). En los animales con bloqueo del sistema a partir del nacimiento y a los 10 días no se modificó el peso corporal pero hasta el momento no podemos adelantar una explicación a este evento.

Los resultados de este estudio apoyan la idea de que el sistema serotoninérgico participa en los mecanismos neuroendócrinos que regula la ovulación de manera diferencial durante el desarrollo del animal prepúber.

## **CONCLUSIONES**

En el animal prepúber la respuesta ovulatoria (Tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados) inducida por el estímulo hormonal con PMSG varía con la edad del animal.

El bloqueo del sistema serotoninérgico modifica la secreción de los estrógenos por el ovario.

El sistema serotoninérgico modula los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la primera ovulación de manera inhibitoria en el animal recién nacido o de diez días y estimulatoria en el de veinticuatro días.

La inervación serotoninérgica modula de manera estimulante o inhibitoria la secreción de las gonadotropinas y en particular la LH o la reactividad del ovario a la misma en la etapa juvenil.

## BIBLIOGRAFÍA

1. ADAMS, L. A. y STEINER, R. A. (1988). Puberty. *Rev. Reprod. Biol.* 10; 1-52.
2. ARIAS, P. B., SZWARCFARB, D. C., CARBONE, S. R., SVERDLINK, R. y MOGUILSEVSKY, J. A. (1990). *In vivo* and *in vitro* studies on the effect of the serotonergic system on luteinizing hormone and luteinizing hormone-releasing hormone secretion in prepubertal and peripubertal female rats. *Brain Res.* 532; 57-67.
3. AYALA, M. E., ROSAS, P. y DOMÍNGUEZ, R. (1993). Effects of serotonergic blockade provoked at different ages on spontaneous and induced puberty in the female rat. *Med. Sci. Res.* 21; 509-511.
4. AYALA, M. E., ROSAS, P. y DOMÍNGUEZ, R. (1994). Different effects of unilateral and bilateral lesions of the dorsal raphe nucleus on puberty and first ovulation. *Brain Res. Bull.* 34; 27-30.
5. BATTISTA, P. J. y CONDON, W. A. (1986). Serotonin-induced stimulation of progesterone production by cow luteal cells *in vitro*. *J. Reprod. Fert.*, 76; 231-238.
6. BECU, V. D. y LACAU, M. M. I. (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.*, 40; 141-159.
7. BÓDIS, J., HARTMANN, G., TÖRÖK, A., BORGNÁR, Z., TINNEBERG, H.-R., CLEDON, P. y HANF, V. (1993). Relationship between the monoamine and gonadotropin content in follicular fluid of preovulatory graafian follicles after superovulation treatment. *Exp. Clin. Endocrinol.* 101; 178-182.
8. BROWN, P. S. (1966). The effect of reserpine, 5-hydroxytryptamine and other drugs on induced ovulation in immature mice. *J. Endocrinol.* 35; 161-168.
9. BROWN, P. S. (1967). The effect of 5-hydroxytryptamine and two of its antagonists on ovulation in the mouse. *J. Endocrinol.* 37; 327-333.
10. BROWN, P. S. (1987). Pituitary follicle-stimulating hormone immature female rats treated with drugs that inhibit the synthesis or antagonise the actions of catecholamines and 5-hydroxytryptamine. *Neuroendocrinology*, 7; 183-192.

11. **BURDEN, H. W.** (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries En: "Catecholamines as Hormone Regulations" eds. Nira Ben-Jonathan, Janice M. Bahr y Richard I Weiner. Raven Press New York. 262-277.
12. **CAMPOS, M. B., VITALE, M. L., CALANDRA, R. S. y CHIOCCHIO, S. R.** (1990). Serotonergic innervation of the rat testis. *J. Reprod. Fert.*, 88; 475-479.
13. **CLAUSELL, D. E. y SOLIMAN, F. A.** (1978). Ovarian serotonin content in relation to ovulation. *Experientia*, 34; 410-411.
14. **COEN, O. M. y McKINNON, P. C.** (1979). Serotonin involvement in the control of phasic luteinizing hormone release in the rat: Evidence for a critical period. *Endocrinology*, 82; 105-114.
15. **CROWLEY, W. R. y ENLAND, F. P.** (1981). Neurotransmitter systems anatomy and pharmacology En: "Neuroendocrinology of Reproduction Physiology and Behavior" ed. N. T. Adler D. Plenum Press New York.
16. **DOHLER, K. D. y WUTTKE, W.** (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, 94; 1003-1008.
17. **DOMÍNGUEZ, R., CHAVEZ, R. y CRUZ, M. E.** (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico, En: "Tópicos selectos de Biología de la Reproducción" ed. R. Domínguez. UNAM-PORRUA, México. 161-192.
18. **DOMÍNGUEZ, R. y ZIPITRIA, D.** (1980). Longterm effects of guanethidine administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS. Med. Sci.* 8; 352.
19. **EVERETT, J. W.** (1988). Pituitary and hypothalamus: Perspectives and overview. En: "The Physiology of Reproduction" eds. Knobil, E. & Neill, J. Reven Press. Ince. New York. 1143-1160.
20. **FINK, G.** (1988). Gonadotphin secretion and its control. En: "The Physiology of Reproduction" eds. Knobil, E. & Neill, J. Reven Press. Ince. New York. 1349-1378.
21. **FLORES, A., AYALA, M. E. y DOMÍNGUEZ, R.** (1990). Does noreadrenergic peripherel innervation have a different role in the regulation ovulation in the pubertal and the adult rat?. *Med. Sci. Res.*, 18; 817-818.

22. **FRANSCHINI, F.** (1970). Role of indoleamines in the control of the secretion of pituitary gonadotropins. En: "Neurochemical Aspects of Hypothalamic Function". Academic Press, Inc. New York and London, 141-159.
23. **FRAZER, A y HENSLER, J. G.** (1994). Serotonin. En: "Basic Neurochemistry". eds. George, J. Siegel, Bernad. W. Agronoff, R. Wayne Alvers, Perry B. Molinogf. Raven Press. New York. 283-319.
24. **GREENWALD, G. S. y SHYAMAL, K. R.** (1994). Follicular Development and Its Control. En: "The Physiology of Reproduction". Second edition. eds. E. Konobil y J.D. Neill. Raven Press. New York. USA., 629-724.
25. **GOLDMAN, B. D.** (1981). Puberty. En: "Neuroendocrinology of Reproduction", Adler, N. Y. Plenum Press. N. Y. y London, 229-239.
26. **HÉRY, M., LAPLANTE, E. y KORDON, C.** (1976). Participation of serotonin the phasic release of LH. I. Evidence from pharmacological experiments. *Endocrinology*, 99; 496-503.
27. **HIRSHFIELD, A. N. y MIGDLEY, A. R.** (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol. Reprod.* 19; 597-605.
28. **JENNES, L., BECKMAN, W. C., STUMPF, W. E. y GRZANNA, R.** (1982). Anatomical relationships of serotonergic and noradrenergic projections with the the GnRH systems in septum and hypothalamus. *Exp. Brain Res.* 46; 331-338.
29. **JONES, R. E., DUVALL, D. y GUILLETTER, L. J. Jr.** (1980). Rat ovarian mast cells: distribution and cyclic changes. *Anat. Rec.* 197; 489-493.
30. **KACSÓH, B., TÓTH, B. E. y BROSVENOR, C. E.** (1993). Neuroendocrine control of immunoreactive growth hormone and bioactive prolactin secretion in neonatal rats: ontogeny and interactions between the serotonergic, cholinergic and alpha<sub>2</sub>-adrenergic systems. *Neuroendocrinology*, 57; 195-203.
31. **KANNISTO, P., OWMAN, CH., SCHMIDT, G. y SJOBERG, N-O.** (1987). Characterization of presynaptic 5-HT receptors on adrenergic nerves supplying the bovine ovarian follicle. *Br. J. Pharmac.* 92; 487-497.
32. **KERDELHUÉ, B., BOJDA, F., LESIEUR, P., PASQUALINI, C., EL ABED, A., LENOIR, V., DUILLET, P., CHIUEH, C.M. y PALKOVITS, M.** (1989). Medial eminence dopamine and serotonin neural activity. *Neuroendocrinology*, 4; 176-180.

33. KISS, J. y HALASZ, B. (1985). Demonstration of serotonergic axons terminating on luteinizing hormone releasing neurons in the preoptic area of the rat using a combination of immunocytochemistry and high resolution autoradiography. *Neuroscience*, 14; 69-78.
34. KORDON, C. (1968). Effects of selective experimental changes in regional hypothalamic monoamine levels on superovulation in the immature rat. *Neuroendocrinology*, 4; 129-138.
35. KORDON, C., ENJALBERT, A., HÉRY, M., JOSEPH-BRAVO, P. I., ROTSZTEIN, W. y REBERG, M. (1980). Role of neurotransmitter in the control of adenohipofyseal secretion. En: "Handbook of the Hypothalamus" eds. P. J. Morge, J. Panksepp y M. D. Ckker; 253-286.
36. KORDON, C., JAVOY, F., VASSETE, T. y GLOWNSKI, J. (1968). Blockde of superovulation in the immature rat by increased brain serotonin. *Eur. J. Pharmacol.* 4; 169-174.
37. KORDON, C. y GLOWNSKI, Y. (1972). Role of hypothalamic monoaminergic neurons in the gonadotropin release-regulating mechanisms. *Neuropharmacology*, 11; 153-162.
38. KRISHNA, A. y TERRANOVA, P. F. (1985). Alterations in mast cell degranulation and ovarian histamine in the proestrous hamster. *Biol. Reprod.* 32; 1211-1217.
39. LINDSTROM, P. y OHLSSON, L. (1987). Effects of 5-hydroxytryptamine, dopamine and aromatic L-amino acids on growth hormone (GH) releasing-factor stimulated GH release in spontaneous ovulation in rats. *Nature*, 287-295.
40. MARKO, M. y FLUCKIGER, E. (1976). Inhibition of ovulation in rats by antagonists to serotonin and by a new tricyclic compound. *Experientia*, 32; 491-492.
41. MOGULEBSKY, J. A., FAIGON, M. R., SCACCHI, P. y SZWARCFARB, B. (1985). Effect of the serotonergic system on luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats. *Neuroendocrinology*, 40; 135-138.
42. MEYER, D. C. (1978). Hypothalamic and raphe serotonergic systems in ovulation control. *Endocrinology*, 103; 1067-1074.
43. MONTES, G. S. y LUQUE, E. H. (1988). Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. *Acta Anat.* 133; 192-199.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

44. MONTILLA, P., SALCEDO, M., MUÑOZ, M. C. y MONTILLA, M. C. (1991). Serotonina cerebral y sistema hipotálamo-hipófisis-adrenal de la rata en el envejecimiento. *Revista Española de Fisiología*, 47; 187-192.
45. MORALES, L., AYALA, M. E., FLORES, A. y DOMÍNGUEZ, R. (1988). Variaciones en el crecimiento y la diferenciación folicular inducida por la administración de propionato de testosterona (Pt) al nacimiento. XXXI. C.N.C.F. C-92.
46. OJEDA, S. R., AGUDO, L. I. y WHITE, S. S. (1983). Neuroendocrine mechanisms controlling the onset of female puberty: The rats as a model. *Neuroendocrinology*, 37; 306-313.
47. OJEDA, S. R., URBANSKI, H. F. y AHMED, C. E. (1986). The onset of female puberty: Studies in the rat. *Recent. Prog. Horm. Res.* 4; 385-440.
48. OJEDA, S. R. y URBANSKI, H. F. (1988). Puberty in the rat En: "The Physiology of Reproduction" eds. E. Knöbil, J. Neil. New York, 1699-1737.
49. OJEDA, S.R., SMITH-WHITE, S., ADVIS, J.P., ANDREWS, W.W. y AGUADO, L.J. (1990). First preovulatory gonadotropin surge in the rodent En: "Control of the onset of puberty" edits. M.M. Grumbach, P.C. Sizonenko, M.L. Rubert. Williams & Wilkins. U.S.A., 156-162.
50. OJEDA, S. R., HENRYK, F. y URBANSKI, H. F. (1994). Puberty in the Rat. En: "The Physiology of Reproduction" Second edition. edits. E. Konobil y J.D. Neill. Raven Press. New York. USA., 363-409.
51. O'STEEN, W. K. (1964). Serotonin supressin of luteinization in gonadotrophin-treated, immature rat. *Endocrinology*, 74; 885-888.
52. O'STEEN, W. K. (1965). Supression of ovarian activity in immature rats by serotonin. *Endocrinology*, 77; 937-939.
53. PARISI, M. N., VITALE, M. L., CHIOCCHIO, S. R. y TRAMEZZANI, J. H. (1983). Serotonin levels en rat median eminence change during the estrous cycle. *Acta Physiol. Latinoam.* 133; 89-91.
54. PAYETTE, R. F., GERSHON, M. D. y NUNEZ, E. A. (1985). Serotonergic elements of the mammalian pituitary. *Endocrinology*, 116; 1933-1942.
55. PRANZASTELLI, M. R. (1992). Serotonin receptor ontogeny: effects of agonists in 1-day-old rats. *Pharmacol. Biocheml. Behav.* 43; 1273-1277.

56. RAMALEY, J. (1974). Minireview: Adrenal-Gonadal interactions at puberty. *Life Sci.* 14; 1623-1633.
57. RICHARDS, J. S., IRELAND, J. J., RAO, M. C., BERNATH, G. A., MIDGLEY, A. R. y REICHART, L. E. (1976). Ovarian follicular development in the rat: Hormone receptor regulation by estradiol, follicle stimulation hormone and luteinizing hormone. *Endocrinology*, 99; 1562-1570.
58. ROSAS, P., ARGÜELLO, M. S. y DOMÍNGUEZ, R. (1989). Effects of noradrenergic peripheral deservation on spontaneous or induced puberty in normal and hypothyroid hairless female mice. *Med. Sci. Res.*, 17; 285-286.
59. SANDERSH-BUSH, E. y SULSER, E. (1970). p-Chloroamphetamine: *in vivo* investigations on the mechanism of action of the selective depletion of cerebral serotonin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 175; 419-175.
60. SANDERS-BUSH, E., BUSHING, J.A. y SULSER, F. (1972). Long-term effects of p-Chloroamphetamine on tryptophan hydroxylase activity and on the levels of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindole acetic acid in brain. *Eur. J. Pharmacol.* 20; 385-388.
61. SANDERS-BUSH, E., BUSHING, J. A. y SULSER, F. (1972). p-Chloroamphetamine-inhibition of cerebral tryptophan hydroxylase. *Biochem. Pharmacol.* 21; 1501-1510.
62. SANDERS-BUSH, E., BUSHING, J. A. y SULSER, F. (1975). Long-term effects of p-Chloroamphetamine and related drugs on central serotoninergic mechanisms. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 192; 33-41.
63. SATOKO, A., IYO, M., OHKAWA, R., KAMBEGAWA, A., OKINAGA S. y KIYOSHI, A. (1989). Steroid hormone receptors in the uterus and ovary of immature rats treated with gonadotropins. *Endocrinol. Japon.* 36; 219-228.
64. SCHMIDT, G., KANNISTO, P., OWMAN, O. y SJOBERG, N-O. (1988). Is serotonin involved in the ovulatory process of the rat ovary perfused *in vitro*?. *Acta Physiol. Scand.*, 132; 251-256.
65. BIZONENKO, P. C. y AUBERT, M. L. (1986). Neuroendocrine changes characteristic of sexual maturation. *J. Neural Transm.*, 21; 159-181.
66. STEINETS, B. G. (1978). Secretion and function of ovarian estrogens. En: "Handbook of Physiology" eds, R. O. Greep and E. Astwood. American Physiological Society, Washinton. 439-466.

67. TAKEUCHI, Y. (1988). Distribution of serotonin neurons in the mammalian brain. En: Neuronal serotonin, eds. N.N. Osborne. M. Hamon, New York, 25-26.
68. TALBOT, P. y SCHROEDER, P. C. (1982). 5-Hydroxytryptamine causes contraction of smooth muscle cells in preovulatory hamster follicles. J. Exp. Zool. 224; 427-436.
69. TANAKA, E., BABA, N., TOSHIDA., K. y SUZUKI, K. (1993). Serotonin stimulates steroidogenesis in rat preovulatory follicles: involvement of 5-HT<sub>2</sub> receptor. Life Sci. 53; 563-570.
70. TERRANOVA, P. F., UILENBROEK, J., SAVILLE, L., HORST, D. y NAKAMURA, Y. (1990). Serotonin enhances oestradiol production by hamster preovulatory follicles *in vitro*: effects of experimentally induced atresia. J. Endocrinology, 125; 433-438.
71. TINAJERO, J. C., FABBRI, A., CIOCCA, D. R. y DUFAU, M. L. (1993). Secretion from rat leydig cells. Endocrinology, 133; 3026-3029.
72. URBANSKI, H. F. y OJEDA, S. R. (1981). Development of afternoon ninsurgen of luteinizing hormone secreteon in prepubertal female rts is ovary independent. Endocrinology, 118; 1187-1193.
73. VAN NUETEN, C., JANSSEN, J. M. y VANHOUTTE, P. M. (1985). Serotonin and vascular smooth muscle. En: "Serotonin and the cardiovascular system", eds. P.M. Vanhoutte. Reven Press. New York, 95-103.
74. VITALE, M. L. y CHIOCCHIO, S. R. (1993). Serotonin, a neurotransmitter involved in the regulation of luteinizing hormone release. Endocrine Rev. 14; 480-493.
75. VILLAVICENCIO, J. y DOMÍNGUEZ, R. (1993). Differences in follicular growth and atresia induced by gonadotrophin stimulation in pre-pubertal rats are age-dependente. Med. Sci. Res., 21; 361-362.
76. VILLAVICENCIO, J., FLORES, A. y DOMÍNGUEZ, R. (1993). Age dependence of the ovulatory response to gonadotropins in pubertal rats. Med. Sci. Res., 21; 69-71.
77. WILSON, C. A. y MCDONALD, P. G. (1974). Inhibitory effect of serotonin on ovulation in adult rats. J. Endocrinology, 60; 253-260.

78. WILSON, C. A., HORTH, C. E., McNEILLY, A. y McDONALD, P. G. (1975). Effect of serotonin and progesterone on induced ovulation in immature rats. *J. Endocrinology*, 64; 337-347.
79. WILSON, C. A., ADREWS, M., HADLEY, J. C., LEMON, M. y YEO, M. T. (1977). The role of hypothalamic serotonin (5-HT) before ovulation in immature rats treated with PMS. *Psychoneuroendocrinology*, 2; 267-274.
80. WILSON, C. A., MCNEILLY, A. S. y YEO, M. T. (1986). Mechanisms by which 5-HT stimulates ovulation in the immature rat treated with pregnant mare serum gonadotrophin. *Acta Endocrinol.* 111; 235-240.