

# EFEECTO DE LA ADRENALECTOMIA SOBRE LA MADURACION SEXUAL Y POSTERIOR FERTILIDAD EN LA RATA MACHO

Por L. Fernández Celadilla (1)  
M. Muñoz Rodríguez (1)  
M. Abad Gavín (1)

## INTRODUCCION

Las glándulas adrenales juegan un papel fundamental sobre la función reproductora, tanto en machos como en hembras. Esta interacción ha atraído el interés de varios investigadores, ya que muchos de los estímulos que mejoran la respuesta adrenal afectan adversamente a la reproducción. Así en animales domésticos, el transporte a largas distancias, el estrés social resultante de los sistemas intensivos de explotación, temperaturas altas, etc., pueden alterar la duración del ciclo estral e incluso producir anestro<sup>13, 15</sup>. De forma similar, en animales de laboratorio, una gran variedad de situaciones estresantes modifica el control endocrino de la reproducción<sup>5</sup>.

Puesto que el eje hipófisis-adrenal responde a estados de estrés agudo y crónico con un incremento en la secreción de ACTH y glucocorticoides, es posible una relación entre estas hormonas y una capacidad reproductiva disminuida<sup>6</sup>, habiéndose comprobado que la administración de ACTH y glucocorticoides parecen inhibir la liberación de LH en diversos animales domésticos y de laboratorio<sup>1, 10, 20</sup>.

Asimismo, tanto en animales adultos como prepuberales, las glándulas adrenales pueden sintetizar andrógenos, estrógenos y progesterona<sup>8, 12, 24</sup> mientras que, en la rata hembra, se ha demostrado que la adrenalectomía retarda la apertura vaginal y disminuye el número de ovulaciones, restableciéndose el fenómeno puberal tras la inyección de cortisona<sup>16, 17</sup>.

En la presente experiencia, y en una primera parte, se ha estudiado el efecto de la adrenalectomía, en machos prepuberales, sobre la evolución del Peso Corporal, Peso Testicular y niveles de testosterona como hormona específica del establecimiento de la pubertad.

En la 2.<sup>a</sup> parte, se ha querido comprobar en qué medida la adrenalectomía (realiza-

(1) Departamento de Patología Animal: Sanidad Animal Fac. de Vet.

da a los 30 días), afectaba a la futura fertilidad, así como las posibles modificaciones en el Peso Corporal, Peso Testicular y niveles de Testosterona en el estado adulto.

## MATERIAL Y METODOS

En la 1.<sup>a</sup> parte se han utilizado 48 machos Wistar de 30 días de edad, 24 de los cuales fueron adrenalectomizados (A) y otros 24 a los que se realizó dos incisiones en la región lumbar con palpación de las glándulas adrenales (Sham), y que sirvieron de Control para los primeros.

Se establecieron los siguientes grupos:

- Grupo I: Formado por 12 machos (6 A y 6 Sham), sacrificados a los 5 días post-intervención (35 días de vida).
- Grupo II: Constituido por 12 machos (6 A y 6 Sham) que fueron sacrificados a los 10 días después de realizada la intervención correspondiente (40 días de vida).
- Grupo III: 12 machos (6 A y 6 Sham) sacrificados 15 días post-intervención (45 de vida).
- Grupo IV: 12 machos (6 A y 6 Sham) sacrificados 20 días post-intervención (50 días de vida).

En el momento del sacrificio se extrajo sangre, cuyo suero fue separado por centrifugación y almacenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de las correspondientes determinaciones hormonales.

Se estudiaron los siguientes parámetros:

Peso corporal en el momento de la operación correspondiente y en el sacrificio, con porcentaje de incremento en el mismo; peso testicular sobre 100 gr. de peso corporal, y concentración de testosterona (ng/ml) que se llevó a cabo por RIA.

Posteriormente, y en la 2.<sup>a</sup> parte de la experiencia, 20 machos (10 adrenalectomizados y 10 Sham), cuando alcanzaron el estado adulto, se pusieron en contacto con hembras de fertilidad comprobada (1 macho 4 hembras), manteniéndose con ellas durante dos ciclos consecutivos. Los machos eran sacados de la jaula durante el día con objeto de evitar que se acostumbraran a las hembras.

Se realizaron diariamente frotis vaginales, considerándose el momento de aparición de espermatozoides en el porta como el primer día de cubrición, siendo a continuación retiradas estas hembras del contacto con el macho. Seguidamente se sacrificaron los machos, extrayendo sangre para la determinación de Testosterona, estudiando el peso corporal, peso testicular, y comprobando el índice de fertilidad media por macho, tanto en animales adrenalectomizados como en los Sham correspondientes.

## RESULTADOS (Tablas n.ºs 1 y 2)

En todos los grupos, el porcentaje de incremento del peso corporal fue significativamente inferior en los animales adrenalectomizados ( $p < 0,01$ ) que en sus controles correspondientes.

En el peso testicular se observó un aumento en todos los grupos (significativo,  $p < 0,01$ , en el Grupo IV), en los animales adrenalectomizados respecto a los grupos Sham.

La concentración de Testosterona fue semejante en el Grupo I (animales sacrificados 5 días post-intervención), disminuyendo significativamente ( $p < 0,01$ ) con respecto a sus controles, en los animales adrenalectomizados y sacrificados a los 10, 15 y 20 días post-intervención (Gráfica n.º 1).

En cuanto a la fertilidad en los animales adultos, ésta fue muy inferior en los animales adrenalectomizados, guardando una relación directa con los niveles de Testosterona encontrados y con el peso corporal, y una relación inversa con el peso testicular (Gráficas n.ºs 2 y 3).

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Bajo las presentes condiciones experimentales, la adrenalectomía en la rata macho (realizada a los 30 días de edad), produjo un porcentaje de incremento menor en el peso corporal, un aumento del peso testicular y una disminución en los niveles de testosterona a los 5, 10, 15, y 20 días post-intervención, que en sus controles correspondientes en los que simplemente se realizó una incisión en la región lumbar con palpación de las glándulas adrenales.

Han sido descritos numerosos efectos de la manipulación del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal sobre el proceso reproductivo en la rata: Así la implantación de cortisol cristalino en ratas inmaduras, impidió el adecuado desarrollo testicular de las vesículas seminales y de la próstata (21), mientras que la adrenalectomía produjo una disminución en la elevación de LH y FSH post-castración, con retardo de la apertura vaginal en la hembra prepupal y disminución en el número de ovulaciones (16, 17).

Por otra parte, Schwartz et al.,<sup>19</sup> comprobaron que el incremento en los niveles plasmáticos de LH en las primeras horas después de la castración, requiere, la intervención de la progesterona adrenal y de la corticosterona, habiendo demostrado Darrington et al.,<sup>4</sup> que en ratas inmaduras, los andrógenos producidos por las glándulas adrenales son precursores de los estrógenos necesarios para el establecimiento del mecanismo productor de la primera ovulación.

Los resultados presentados en este trabajo en cuanto a la disminución de los niveles de testosterona en machos prepupales, coinciden con los encontrados por Lescoat et al.,<sup>9</sup> realizando la adrenalectomía a los 25 días, y parecen demostrar un papel fundamental de las glándulas adrenales en la secreción de LH y consecuentemente en la síntesis de testosterona, responsable de la maduración sexual en el macho.

En cuanto a los efectos de la adrenalectomía, realizada a los 30 días de edad, sobre la posterior fertilidad en el macho, existen diversos estudios que demuestran efectos semejantes, sobre la inhibición de LH, a los producidos tras la administración de ACTH y glucocorticoides en diversas especies: Se ha comprobado que la ACTH inhibe la ola preovulatoria y subsiguiente ovulación en vaca, cerda y rata<sup>1, 10, 22, 23</sup>, ejerciendo su acción, en animales intactos, posiblemente a través de los glucocorticoides producidos, puesto que el tratamiento exógeno de ACTH produce, y así se ha observado que éstos inhiben la ovulación en vaca, cerda, rata y mujer, con disminución de la concentración de LH en el cerdo y en el toro<sup>1, 10, 22, 23</sup>.

Asimismo se ha demostrado que cuando en vacas se emplea un tratamiento a base de cortisol, corticoesteroide específico en esta especie, sus hipófisis no fueron receptivas al efecto estimulador del GnRH exógeno<sup>11</sup>, por lo que Moberg<sup>15</sup> concluye que la administración de ACTH o corticoides pueden alterar la secreción de gonadotropinas en animales domésticos y de laboratorio, especialmente durante los períodos críticos de reproducción, como la liberación preovulatoria de LH, ejerciendo su acción, posiblemente, a nivel hipotalámico impidiendo la liberación de GnRH.

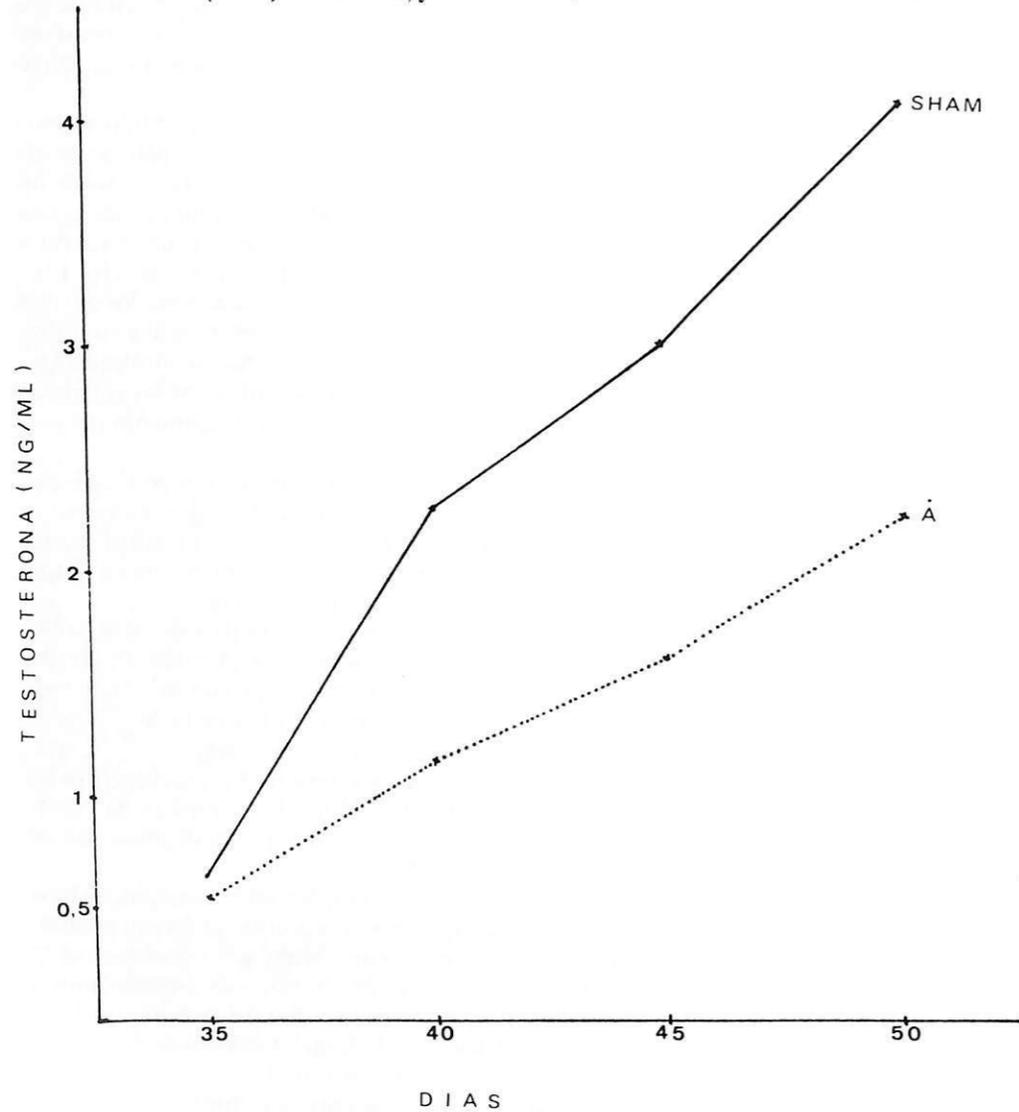
Por otro lado, es un hecho cierto<sup>3, 7</sup> que el estrés y la adrenalectomía estimulan la liberación conjunta de ACTH y endorfinas, inhibidoras estas últimas de la liberación de LH tanto en animales domésticos como de laboratorio.

Por tanto y como conclusión de este trabajo, podría afirmarse que la disminución

en los niveles de testosterona durante la pubertad y en el estado adulto, en machos adrenalectomizados con respecto a sus controles, y la tasa de fertilidad, también disminuida, parecen ser debidas a una cierta inhibición en la liberación de LH, bien a través de una mayor producción de endorfinas, liberadas conjuntamente con la ACTH, o a una acción directa de los altos niveles de hormona adrenocorticotropa producidos, sobre la liberación de gonadotropinas.

GRAFICA I

Concentración de testosterona (ng/ml) en machos adrenalectomizados (A) y sus correspondientes controles (Sham) a los 30 días, y sacrificados 5, 10, 15 y 20 días post-intervención

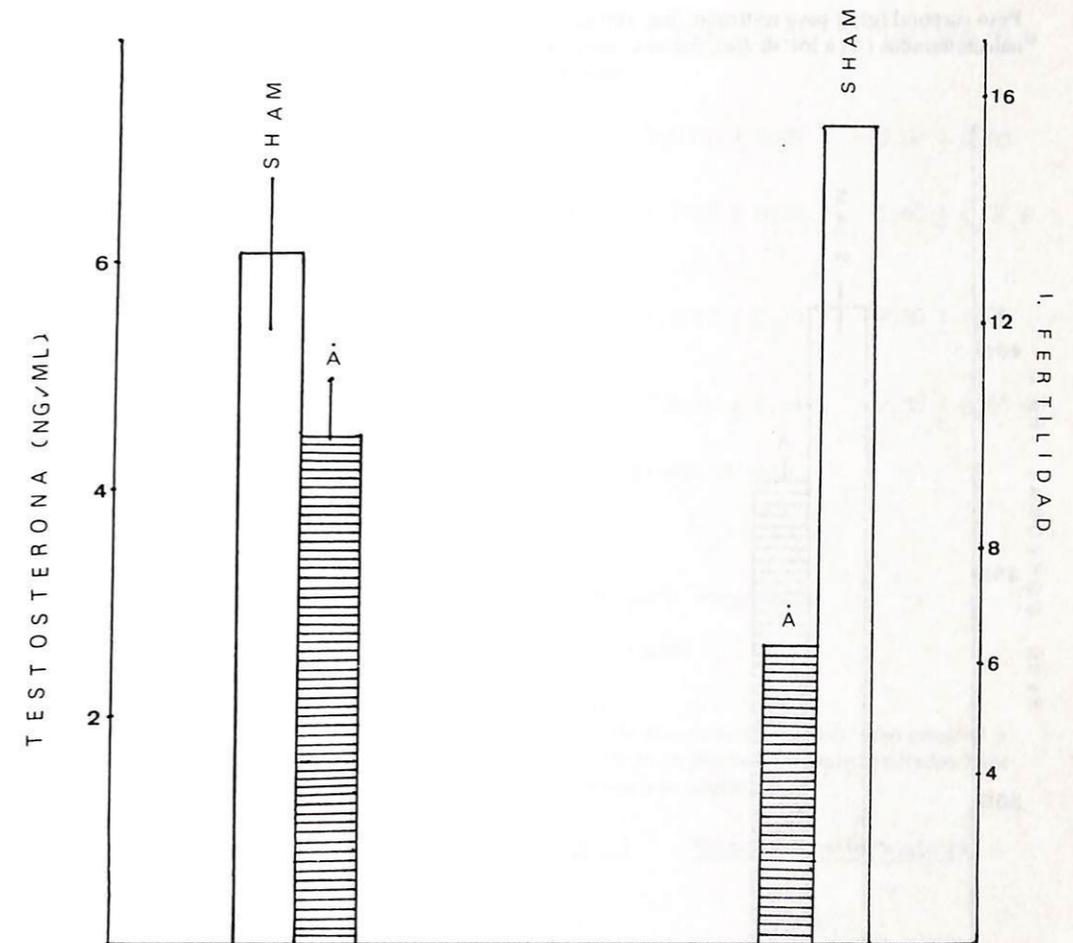


RESUMEN

Se estudia el efecto de la adrenalectomía, en machos a los 30 días de edad, sobre la evolución del peso corporal, peso testicular y niveles de testosterona los 5, 10, 15 y 20 días post-intervención, determinándose posteriormente su acción sobre la fertilidad en estado adulto. Se observó un incremento en el peso del testículo, y una disminución en el peso corporal, concentración de testosterona y fertilidad, con respecto a sus controles correspondientes.

GRAFICA II

Indice de fertilidad (n.º de nacidos/macho) y concentración de testosterona (ng/ml) en animales adrenalectomizados (A) a los 30 días de edad, y sacrificados en estado adulto



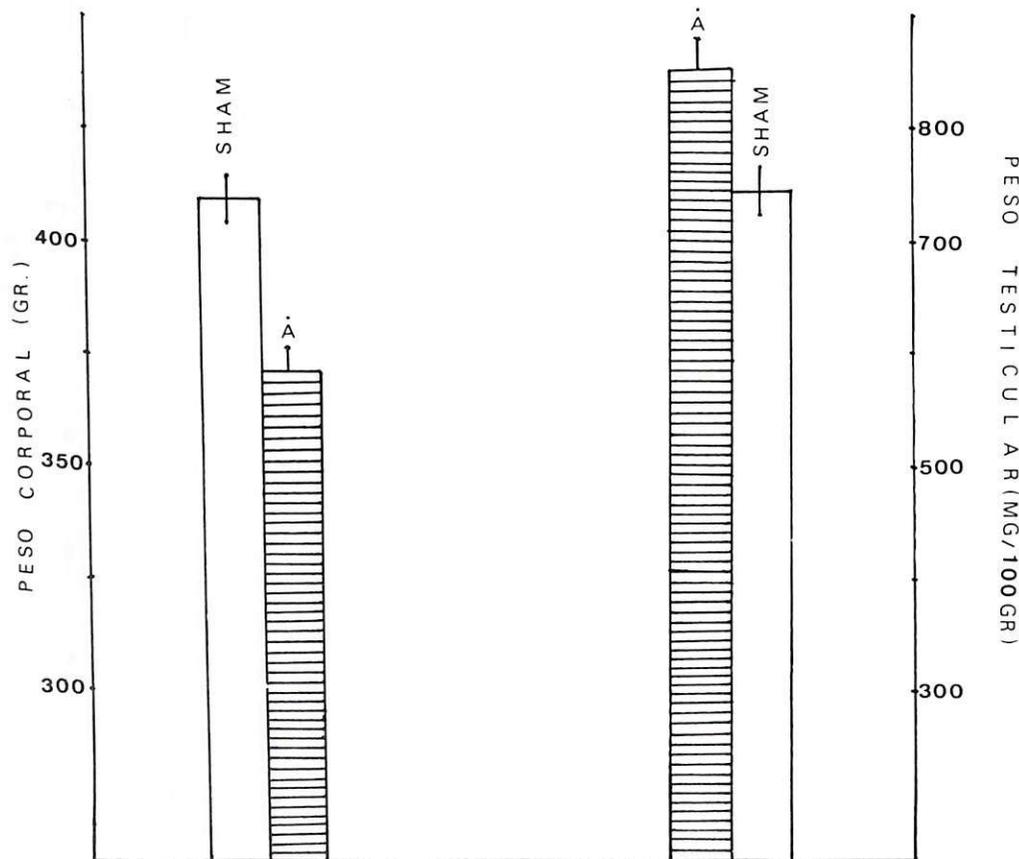
# THE EFFECT OF A DRENALECTOMY ON THE SEXUAL MATURITY AND SUBSEQUENTLY FERTILITY OF THE MALE RAT.

## SUMMARY

The effect of adrenalectomy on males, thirty days old was studied, on the evolution of the weight of its body and its testicles, and the levels of testosterone at 5, 10, 15 and 20 days after intervention, subsequently determining the fertility of adult males. A increase in the weight of the testicles and a decrease in body weight, a concentration of testosterone and fertility were observed, with regard to their corresponding controls.

### GRAFICA III

Peso corporal (gr) y peso testicular (mg/100 gr) en el momento del sacrificio, en machos adrenalectomizados (A) a los 30 días, con sus correspondientes controles (Sham), y sacrificados en estado adulto.



**TABLA I**  
Incremento de peso corporal (%), peso testicular (gr/100) y concentración de testosterona (ng/ml) en machos adrenalectomizados a los 30 días, y sacrificados 5, 10, 15 y 20 días post-intervención

	Peso Corporal(%)	P.testicular	Testosterona
Control	21,50 ± 4,96	1,1253 ± 0,37	0,71 ± 0,02
GRUPO I (35 días) $\bar{A}$	10,90 ± 4,92 Ⓢ	1,2870 ± 0,09	0,51 ± 0,01
Control	37,55 ± 3,57	1,0250 ± 0,12	2,30 ± 0,06
GRUPO II (40 días) $\bar{A}$	26,29 ± 3,92 Ⓢ	1,1500 ± 0,03	1,20 ± 0,05 Ⓢ
Control	44,80 ± 2,80	1,0750 ± 0,07	3,01 ± 0,03
GRUPO III (45 días) $\bar{A}$	36,82 ± 3,20 Ⓢ	1,1780 ± 0,12	1,60 ± 0,02 Ⓢ
Control	53,16 ± 2,43	1,1193 ± 0,13	4,20 ± 1,02
GRUPO IV (50 días) $\bar{A}$	42,49 ± 7,29 Ⓢ	1,2316 ± 0,34 Ⓢ	2,30 ± 0,80 Ⓢ

Ⓢ p < 0,01 respecto al Control correspondiente

$\bar{A}$ =(adrenalectomizados)

Peso testicular: gr/100 gr. de peso corporal

Concentración de Testosterona: ng/ml

**TABLA II**  
Indice de fertilidad (nacidos/macho), concentración de testosterona (ng/ml), peso corporal y peso testicular (mg/100 gr), en el momento del sacrificio en machos adrenalectomizados a los 30 días y sacrificados en estado adulto

	Grupo Control	Grupo Adrenalectomizado
Nº DE NACIDOS/MACHO	15,56	6,3
TESTOSTERONA(ng/ml)	6,17 ± 1,02	4,48 ± 0,70
PESO CORPORAL(gr.)	421,33 ± 12,3	368,33 ± 10,5
PESO TESTICULAR(mg/100 gr)	746,55 ± 9,20	825,06 ± 10,1

## BIBLIOGRAFIA

- 1) BARG, C., KRAELING, R., RAMPACEK, G., FONDA, E. y KISER, T. (1982). Inhibition of ovulation and LH secretion in the gilt after treatment with ACTH or hydrocortisone. *J. Reprod. Fert.* 64: 85-92.
- 2) CUTTLER, L., EGLI, C. A. y GRUMBACH, M. M. (1985). Hormone ontogeny in the ovine fetus. XVIII. The effect of an opioid antagonist on luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 116: 1.997-2.002.
- 3) DE SOUZA, E. P. y VAN BLOOM, C. R., (1985). Differential plasma b-endorphin, b-lipotropin, and adrenocorticotropin responses to stress in rats. *Endocrinology* 116: 1.577-86.
- 4) DORRINGTON, J. H., MOON, Y. S. y ARMSTRONG, D. T. (1975). Estradiol-17b biosynthesis in cultured granulosa cells from hypophysectomized immature rats; stimulation by follicle stimulating hormone. *Endocrinology* 114: 268-273.
- 5) DU RUISSEAU, P., TACHE, T., BRAZEAN, P. y COLLU, R. (1978). *Neuroendocrinology* 27: 257-271.
- 6) FONDA, E. S., RAMPACEK, G. y KRAELING, R. E. (1984). The effect of adrenocorticotropin or hydrocortisone on serum luteinizing hormone concentrations after adrenalectomy and/or ovariectomy in the prepuberal gilt. *Endocrinology* 114: 268-273.
- 7) FRAIOLI, F., MORETTI, C. y FORTUNIO, G. (1979). Physical exercise stimulates marked concomitant release of b-endorphin and adrenocorticotropin hormone (ACTH) in peripheral blood in man. *Experientia* 36: 987-992.
- 8) KNIEWALD, Z., ZANISI, M. y MARTINI, L. (1971). Studies on the biosynthesis of testosterone in the rat. *Acta Endocrinol* 68: 614-622.
- 9) LESCOAT, G., LESCOAT, D. y GARNIER, D. H. (1982). Influence of adrenalectomy on maturation of gonadotrophin function in the male rat. *J. Endocrinol* 95: 1-6.
- 10) LI, P. S. y WAGNER, W. C. (1983). *Biol. of Reprod.* 29: 11-24 (citado por MOBERG, G. P. in: Adrenal-pituitary interaction. Effects of reproduction. Proc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. & A. I. Vol. IV Urbana, 1984.
- 11) MATTERI, R. L. y MOBERG, G. P. (1982). Effect of cortisol or adrenocorticotrophin hormone on release of luteinizing hormone induced by lutetizing hormone releasing hormone in the dairy heifer. *J. Endocrinol* 92: 141-146.
- 12) MCFARLAND, L. A. y MANN, D. R. (1977). The inhibitory effects of ACTH and adrenalectomy on reproductive maturation in female rats. *Biol. of Reprod.* 16: 306-314.
- 13) MOBERG, G. P. (1976). Effects of environment and management stress on reproduction in the dairy cow. *J. Dairy Sci.* 59: 1.618-1.624.
- 14) MOBERG, G. P. y STOBEL, D. P. (1980). The effect of cortisol on ovulation in the dairy cow. *Procc. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. & A. I. Madrid* (Abstracts 103).
- 15) MOBERG, G. P. (1984). Adrenal-pituitary interaction: Effect of reproduction. *10th Int. Congr. Anim. Reprod. & A. I. Vol. IV. Urbana (USA).*
- 16) RAMALEY, J. A. (1976). The role of corticosterone rhythmicity in puberty. *Biol. of Reprod.* 14: 151-156.
- 17) RAMALEY, J. A. (1976). The role of adrenal rhythmicity in puberty: effects of intermittent steroid replacement. *Biol. of Reprod.* 15: 396-401.
- 18) RINGSTROM, S. J. y SCHWARTZ, N. B. (1984). Examination of prolactin and pituitary-adrenal axis components as intervening variables in the adrenalectomy-induced inhibition of gonadotropin response to castration. *Endocrinology* 114: 880-887.
- 19) SCHWARTZ, N. B. y JUSTO, S. N. (1977). Acute change in serum gonadotropins and steroids following orchidectomy in the rat: role of the adrenal gland. *Endocrinology* 110: 1.550-1.556.
- 20) SIRINATHSINGHII, D. J. and MARTINE, L. (1984). Effects of bromocriptine and naloxone on plasma levels of PRL, LH and FSH during suckling in the female rat: responses to gonadotrophin releasing hormone. *J. Endocrinol* 100: 175-182.
- 21) SMITH, E. R., JOHSON, J., WEICK, R. F., LEVINE, S. y DAVIDSON, J. M. (1971). Inhibition of the reproductive system in immature rats by intracerebral implantation of cortisol. *Neuroendocrinology* 8: 94-98.
- 22) STOBEL, D. P. y MOBERG, G. P. (1982). Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 65: 1.016-1.024.
- 23) SUTER, D. E. y SCHWARTZ, N. B. (1985). Effects of Glucocorticoid on responsiveness of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone to gonadotropin-releasing hormone by male rat pituitary cells in vitro. *Endocrinology* 117: 855-859.
- 24) WEISZ, J. y GUNSALUS, P. (1973). Estrogen levels in immature female rats: true or spurious ovarian or adrenal? *Endocrinology* 93: 1.057-1.065.

## CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS DE LAS CELULAS MESODERMICAS PRECARDIACAS, DE EMBRION DE POLLO, CULTIVADAS EN MONOCAPA

Por M. Arias (1)  
C. García (1)  
M. Fernández (1)  
J. M. Villar (1)

### INTRODUCCION

Es conocido el importante papel que la superficie celular juega en los procesos morfogenéticos<sup>25,7,13</sup>. Las distintas proyecciones de superficie relacionan a las células entre sí<sup>1,15</sup> así como con su sustrato<sup>8,13,17</sup>.

El microscopio electrónico de barrido proporciona una información rápida y detallada sobre la arquitectura superficial, siendo de particular interés cuando se trata de comprender los complejos movimientos celulares y los cambios de forma que ocurren en el transcurso del desarrollo de los tejidos<sup>19</sup>.

Son numerosos los trabajos sobre estudios morfológicos de células mesodérmicas embrionarias, tanto «in vitro» como «in vivo»<sup>2,6,7,21,22,3,14</sup>. Sin embargo, son muy escasos los estudios referentes a estadios precoces del desarrollo, particularmente en lo que se refiere al comportamiento y morfología de células mesodérmicas precardiacas, cultivadas «in vitro». Las técnicas de cultivos celulares tienen un gran interés, aplicadas al estudio de estos procesos, ya que es de esperar que las propiedades de las células «in vitro» estén en correspondencia con las propiedades de estas mismas células «in vivo».

El propósito de este trabajo es realizar un estudio mediante microscopía electrónica de barrido de las células mesodérmicas precardiacas en cultivo, con el fin de analizar su conducta adhesiva, de extensión y locomoción «in vitro».

### MATERIAL Y METODOS

Se realizan cultivos en monocapa de células mesodérmicas correspondientes a las áreas cardiogénicas de embrión de pollo de estadio 5<sup>10</sup>. Con este propósito, se recogen los fragmentos correspondientes<sup>26</sup> y se someten a la acción enzimática de la Colage-

(1) Dpto. de Biología Celular y Anatomía