



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
PROFESIONALES "ZARAGOZA"

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS
QUE EXPLICAN EL BLOQUEO DE LA OVULACION
INDUCIDO POR EL IMPLANTE UNILATERAL
DE ATROPINA EN EL AREA PREOPTICA-
HIPOTALAMICA ANTERIOR.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

JAVIER CASTRO LLAMAS

ZARAGOZA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1990.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

RESUMEN	
INTRODUCCION	1
HIPOTESIS	23
OBJETIVO GENERAL	23
OBJETIVOS PARTICULARES	23
MATERIALES Y METODOS	24
RESULTADOS	30
DISCUSION	45
CONCLUSIONES	48
BIBLIOGRAFIA	49

RESUMEN

En ratas con bloqueo de la ovulación, inducida por el implante unilateral de atropina en el área preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA), se estudió la respuesta ovulatoria al reemplazo de la hormona estimulante de la liberación de las gonadotropinas (GnRH), de las gonadotropinas o de los estrógenos. La inyección de la GnRH en el día del proestro reestableció la ovulación en 24 de los 25 animales tratados. La administración de benzoato de estradiol restauró la ovulación en siete de los nueve animales implantados del lado izquierdo, en tanto que ninguno ovuló cuando el implante se colocó del lado derecho (7/9 vs 0/8, $P < 0.01$). La administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en el día del diestro 2 no reestableció la ovulación de los animales con implante unilateral de atropina (2/15 vs 5/46, $P < 0.05$). La inyección de la gonadotropina del suero de la yegua preñada (PMSG) una hora después del implante, reestableció parcialmente la ovulación; en el día del diestro 1, la administración de la PMSG provocó la ovulación en todo los animales con implante de atropina en el lado izquierdo, mientras que ninguno ovuló cuando el implante estuvo en el lado derecho (4/4 vs 0/3, $P < 0.05$). La administración de la GnRH una hora después de colocado el implante no reestableció la ovulación de los animales (0/16). Estos resultados nos llevan a sugerir que en la rata adulta, los mecanismos de regulación de la hormona estimulante del folículo dependientes de los receptores muscarínicos de POA-AHA, así como de la acción estimulante de los estrógenos sobre la secreción ovulatoria de las gonadotropinas son asimétricos y varían durante el ciclo estral.

INTRODUCCION

Las dos funciones del ovario son la producción de las células germinales y la síntesis de hormonas, las que son reguladas por mecanismos neuroendócrinos en los que participan principalmente el hipotálamo que secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), la hipófisis que produce las gonadotropinas (la hormona estimulante del folículo [FSH], la hormona luteinizante [LH] y la prolactina (PRL), y el propio ovario (22).

El hipotálamo está delimitado rostro-caudalmente por el quiasma óptico y los cuerpos mamilares (57) y lateralmente por los surcos hipotalámicos laterales. Según la distribución de los núcleos del hipotálamo, se le divide en anterior, medio y posterior. El hipotálamo anterior contiene los siguientes núcleos: el paraventricular (NPav), el preóptico medial (NPopM), el preóptico lateral (NPopL), el supraóptico (NSop), el supraquiasmático (NSCh) y el anterior (NAn). En el hipotálamo medio se localizan los núcleos: dorsomedial (NDM), ventromedial (NVM), arcuato (NAr), tuberal (NT) y el periventricular (NPeV). En el hipotálamo posterior se encuentran: el mamilar medial (NMM), el mamilar lateral (NML), el mamilar intermedio o intercalado (NMI) y el posterior (NP).

El hipotálamo secreta diferentes péptidos, algunos de los cuales son liberados a la circulación y actúan sobre sus células blanco a distancia. Otros péptidos son liberados en el espacio sináptico, donde actúan como neurotransmisores. Algunas de las neurohormonas hipotálamicas reconocidas hasta el presente son: la GnRH, la hormona liberadora de tirotrópina, la hormona liberadora de la somatostatina, la vasopresina, la oxitocina, la hormona liberadora de la prolactina, la sustancia P, las encefalinas y la angiotensina II (49, 58). Los núcleos del hipotálamo sintetizan una o más de estas neurohormonas, las que pueden ser producidas en otras regiones del cuerpo (19, 58).

La GnRH ha sido localizada histoquímicamente en la región POA medial, el hipotálamo anterior, el NAR y la eminencia media; esta última estructura contiene la mayor concentración de la hormona (36, 51, 57). La concentración de GnRH dentro del NAR no es uniforme, dado que la parte central del núcleo (directamente por arriba de la eminencia media) contiene el 73% de toda la hormona del núcleo (57). También ha sido detectada en el organum vasculosum de la lámina terminal (43).

Con base en diferentes estudios experimentales, se ha sugerido que dentro del hipotálamo medio basal y,

probablemente en el POA septal, existe un generador de pulsos ultradianos de la GnRH en el que participan activa y sincrónicamente muchas de las células que la sintetizan (5) y que la comunicación entre estas células se realiza por medio de señales eléctricas entre los nexos, o químicamente por la acción de productos metabólicos (60).

Mediante el uso de técnicas inmunohistoquímicas o con inmunoperoxidasa, se ha localizado a la GnRH en las terminaciones axónicas que están en yuxtaposición con los capilares del sistema portal hipofisiario. Los cuerpos neuronales de estos axones se localizan en la región del NSCh y POA (aunque su contenido de hormona es muy bajo) (6, 57) y en el área hipotalámica anterior (AHA) y del NAR (43). Algunas de estas fibras se proyectan hacia la amígdala y el tallo cerebral.

En la regulación de la función reproductora de los vertebrados participan el POA, el NSCh, el NVM y el NAR (3, 9, 25). En los roedores, se considera que el POA y el NSCh son los centros que controlan la liberación cíclica de la GnRH, la cual estimula la liberación preovulatoria de las gonadotropinas en la tarde del proestro, mientras que el NVM y el NAR regulan la liberación tónica de la GnRH. El modelo de secreción es en forma de pulsos de pequeña amplitud, lo

que provoca la liberación de las gonadotropinas en cantidades suficientes para estimular el crecimiento y la maduración de los folículos, así como la secreción de estrógenos, andrógenos y progesterona (3, 4, 5). Sin embargo, con base a los estudios del origen de las fibras noradrenérgicas que llegan al hipotálamo anterior, Barraclough (4) ha sugerido que el centro regulador de la liberación cíclica de la GnRH, debe ser asignado al sitio donde se localizan los cuerpos neuronales noradrenérgicos, esto es, en el cerebro medio. Estas estructuras, localizadas por fuera del área hipofisiotrófica, que involucra a el NP_aV, el NVM y el NAR, modularían (de manera estimulante o inhibitoria) la actividad de las células que producen GnRH (32).

En la eminencia media, la GnRH es liberada desde las terminales nerviosas hacia los capilares del sistema porta-hipofisiario (Figura 1). En los gonadotropos de la adenohipófisis, la hormona se une a receptores membranales, donde estimula la actividad de la adenilato ciclasa, lo que provoca el aumento en la concentración citoplasmática del AMPc que actúa como segundo mensajero y altera las características de la membrana celular provocando, así la exocitosis y la secreción de la FSH y de la LH (44).

Diversos autores sugieren que la liberación de la FSH es

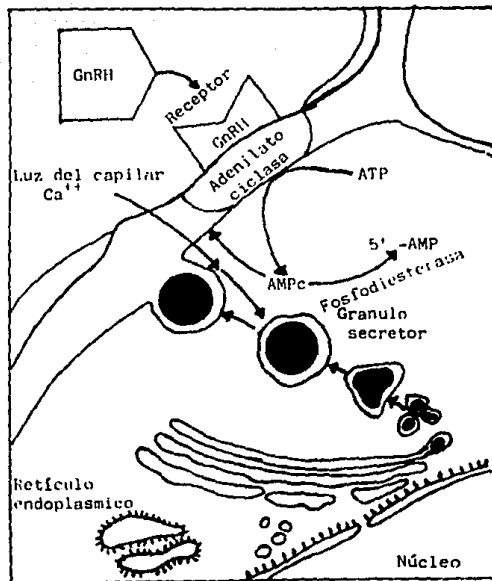
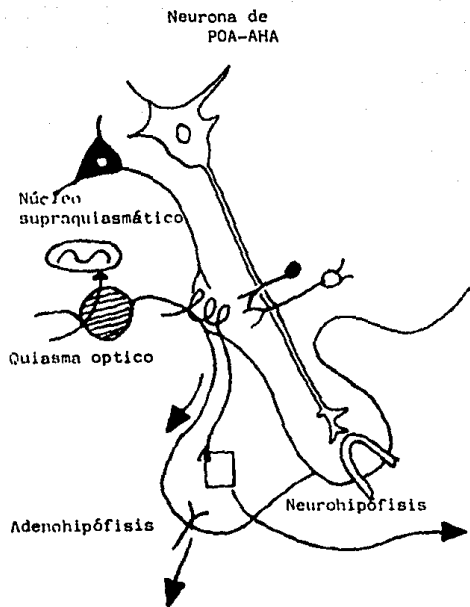


Figura 1.- Representación esquemática de una sinápsis entre la terminal de la neurona GnRH y el sistema porta-hipofisario (tomado de McCann y colaboradores (44)).

regulada por un factor hipotalámico diferente al que regula la secreción de la LH, llamado factor estimulante de la liberación de la FSH o FSHRH; dado que en la rata macho o hembra la lesión bilateral del NPav y del hipotálamo anterior dorsal provoca disminución de la concentración de la GnRH en la eminencia media sin que se modifique la Las neuronas que secretan el FSHRH se localizarían en AHA y sus axones se proyectarían hacia la porción caudal de la eminencia media (43).

La liberación de la GnRH está regulada por diferentes sistemas de neurotransmisores tales como la dopamina, la noradrenalina, la serotonina y la acetilcolina (3, 5, 60, 63).

Con base a los resultados obtenidos por diversos autores, el papel que juega la dopamina en la regulación de la secreción de las gonadotropinas es estimulante o inhibitorio, dependiendo del modelo experimental. Estudios in vitro en los que se incubaba el hipotálamo medio basal (incluyendo POA) junto con la hipófisis de ratas hembras, muestran que la dopamina es capaz de inhibir la secreción de la GnRH (65). También se ha mostrado que el implante de dopamina en la parte posterior de la eminencia media altera el ciclo estral de la rata (provoca estro vaginal permanente)

y disminuye el peso del ovario, el que histológicamente se caracteriza por la presencia de folículos en diferentes etapas de desarrollo y ausencia de cuerpos lúteos, resultados que sugieren que la dopamina inhibió la liberación fásica de la GnRH (66). Por el contrario, en otros experimentos se ha mostrado que la incubación de fragmentos de hipotálamo ventral estimula la liberación de la GnRH. Asimismo, en las ratas intactas u ovariectomizadas, tratadas previamente con estrógenos y progesterona, la microinyección de dopamina en el tercer ventrículo tiene el mismo efecto (43).

Los resultados obtenidos hasta el presente indican que la noradrenalina estimula la liberación de la GnRH. En ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos, la inyección intraventricular de noradrenalina o adrenalina estimula la liberación de la LH. Diferentes experimentos utilizando fármacos que bloquean los receptores catecolaminérgicos o que interfieren con su síntesis, apoyan la idea de que la noradrenalina ejerce un papel estimulador en la liberación de GnRH (5, 7, 43, 60, 63), mientras que la serotonina la inhibe (38, 42, 45).

Dado que la tasa de recambio de la noradrenalina en la eminencia media, el NPopM, el NSCh y el NAr aumenta y

permanece alta durante la liberación preovulatoria de las gonadotropinas, Barraclough (4) sugiere que la noradrenalina es la responsable de disparar la liberación de la GnRH desde la eminencia media.

El papel del sistema colinérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas ha sido mostrado en varios estudios (8, 17, 21, 24, 35, 47, 50, 61, 62, 64). El implante bilateral de sulfato de atropina en el hipotálamo anterior lateral de la rata hemicastrada inhibe el proceso de hipertrofia compensadora del ovario (HCO), según estos autores esto está relacionado con modificaciones en el tipo y cantidad de las gonadotropinas liberadas (47). En estudios in vitro se ha observado que la acetilcolina estimula la liberación de la LH (24), pero no la de la FSH (64), cuando la hipófisis es coincubada con fragmentos de hipotálamo, efecto que es bloqueado por la atropina (24, 64). Esto sugiere que la liberación de la GnRH es mediada por la estimulación de receptores muscarínicos en el hipotálamo. Por otro lado, la administración de nicotina durante el período crítico del proestro a ratas ovariectomizadas, bloquea la liberación de LH pero no la de FSH (8), resultados que indican que el bloqueo de la liberación de la LH ocurre por medio de receptores nicotínicos. En la rata macho, la

castración provoca aumento de la actividad de la enzima colino-acetiltransferasa y de la concentración de acetilcolina en la porción rostral del NPopM, del núcleo amigdalóide medial posterior y el área tegmental ventral, efecto que se acompaña del aumento de concentración plasmática de la LH, por lo que se sugiere que en la rata macho, las áreas antes mencionadas están involucradas con el sistema de neuronas colinérgicas que estimulan la secreción de las gonadotropinas. Por el contrario, la actividad colinérgica disminuye en la rata hembra ovariectomizada tratada con estrógenos y progesterona (50). Por otra parte, tanto en la rata macho como en la hembra adulta hemicastrada, la administración de agonistas colinérgicos provoca disminución de la concentración plasmática de LH y prolactina (61, 62).

En estudios in vivo se ha observado que algunos fármacos que estimulan los receptores colinérgicos, también estimulan la actividad mitótica de las células de la adenohipófisis que sintetizan LH y prolactina (Stevens et al., citado en 61).

La dosis de atropina (mg/kg peso) necesaria para bloquear la ovulación durante el ciclo estral aumenta desde el diestro 1 hasta el proestro y los efectos de la administración de una sola dosis del fármaco durante el ciclo

estral dependen de la hora y del día del ciclo estudiado. Asimismo, la capacidad de la atropina para bloquear la ovulación parece tener un ritmo circádico que dependería del ambiente hormonal del animal, de la cantidad de acetilcolina en el sistema nervioso central (SNC) o de ambos factores. Al parecer, durante el ciclo estral existe un ritmo circádico de la secreción de gonadotropinas que estaría en relación con el ritmo circádico del sistema colinérgico (18).

También se ha observado que la administración intraventricular de atropina bloquea la ovulación y disminuye las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas. La administración subcutánea de la misma dosis que fue inyectada en el tercer ventrículo, no tiene efectos. Los autores sugieren que existe una sinapsis colinérgica, que involucra a los receptores muscarínicos del hipotálamo, que regula la liberación de las gonadotropinas (40).

Las gonadotropinas son llevadas hasta el ovario en la sangre, unidas a la albúmina y a una globulina. En las células de la granulosa la FSH estimula al sistema de la adenilato ciclasa y de la aromatasa lo que provoca la síntesis de estrógenos, los que junto con la FSH, inducen la división mitótica de las células de la granulosa y la síntesis de los receptores a la LH. La LH regula la síntesis

de estrógenos por sus efectos sobre la producción de andrógenos en las células tecales y por la estimulación de la síntesis y la actividad de la aromatasa en las células de la granulosa previamente estimuladas por la FSH (20, 44) (Figura 2).

La interacción de los mecanismos neuroendócrinos que ocurren entre el hipotálamo, la hipófisis y el ovario regulan la actividad reproductiva periódica de los animales. En los roedores, esta secuencia de eventos hormonales y conductuales recibe el nombre de ciclo estral (22).

El ciclo estral de la rata dura 4 ó 5 días. Dos o tres de estos días corresponden al diestro, otro al proestro y el último al estro. La citología vaginal de los días de diestro se caracteriza por la presencia de leucocitos; en el proestro el frotis vaginal se caracteriza por la presencia casi exclusiva de células nucleadas y algunas células anucleadas conocidas como escamas, mientras que en el día del estro en el frotis vaginal se observan escamas. Las variaciones del epitelio vaginal reflejan las que ocurren en las concentraciones plasmáticas de los estrógenos y la progesterona (3, 22).

Durante los días de diestro, en el ovario se observan folículos en las diferentes etapas de desarrollo, algunos de

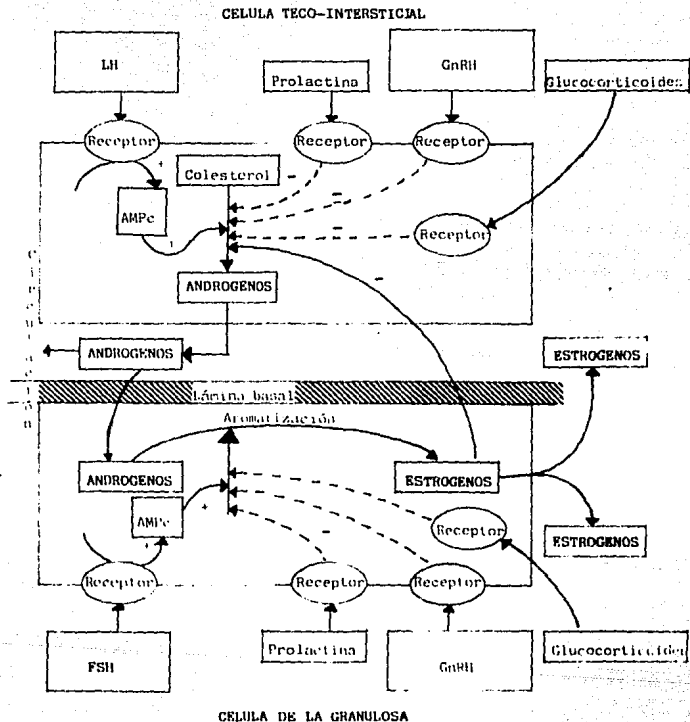
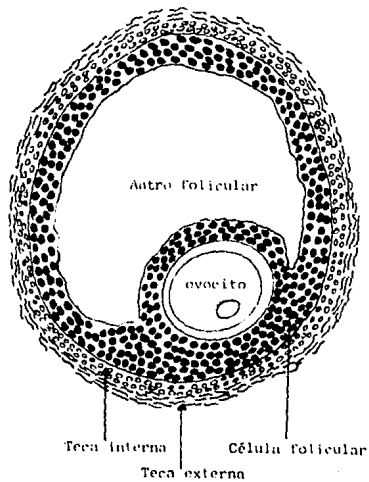


Figura 2.- Representación esquemática de un folículo preovulatorio y del sistema de 2 células-2 gonadotropinas propuesto por Frikson (70).

los cuales ovularán en el siguiente ciclo. Las concentraciones plasmáticas de estrógenos, progesterona, FSH y LH se encuentran dentro de las concentraciones basales. En la tarde del último día de diestro, la concentración sanguínea de los estrógenos aumenta hasta las primeras horas del día del proestro, cuando se produce un aumento brusco ["pico"] de la secreción de estrógenos, como consecuencia de la actividad secretora de los folículos que ovularán en ese ciclo. Durante la mayor parte del tiempo del ciclo estral (excepto en la tarde del proestro), los estrógenos regularían de manera inhibitoria la liberación "fásica" de la GnRH y, por lo tanto, la de las gonadotropinas (13, 26). Sin embargo, se ha mostrado que el implante intrahipofisiario de estradiol en la tarde del diestro 2, adelanta la ovulación en ratas con ciclos naturales o artificiales de 5 días, por lo que los estrógenos actuarían sobre la hipófisis aumentando la sensibilidad de los gonadotropos a la GnRH, y como consecuencia se adelantaría la secreción fásica de la LH y la ovulación (67).

En el día del proestro, en el ovario se observan folículos en diferentes etapas de desarrollo. El "pico" de estrógenos cae bruscamente, lo que estimula la secreción preovulatoria de las gonadotropinas en la tarde del proestro

(3, 22). Según Barraclough (3), en este día, los estrógenos ejercen su papel de retroalimentación positiva sobre la secreción de las gonadotropinas, al aumentar la actividad de las fibras noradrenérgicas, cuyos axones hacen sinapsis con las neuronas que sintetizan a la GnRH en el hipotálamo anterior y medio, por lo que la noradrenalina sería el "gatillo" neural que estimula la liberación de este decapeptido.

La concentración plasmática de progesterona comienza a aumentar inmediatamente después de que comienza a disminuir la secreción de estrógenos y alcanza su máximo en la noche del proestro, lo que coincide con el comportamiento de "estro" del animal.

La progesterona también estimula la secreción de las gonadotropinas, por sus efectos sobre el POA medial y en la llamada área hipofisiotrófica. En ausencia de estrógenos, la progesterona no estimula la secreción de las gonadotropinas. Por el contrario, se ha mostrado que la progesterona inhibe la liberación de la LH porque bloquea a los receptores a estrógenos de las células de la adenohipófisis, por lo que se ha sugerido que es necesario que ambas hormonas actúen sinérgicamente para que se produzca la liberación física de la LH (3, 23, 33).

La ovulación ocurre en la madrugada del día del estro y en el ovario se observan los cuerpos lúteos resultantes de los folículos que ovularon. En este día ocurre el segundo aumento en la concentración plasmática de la FSH, mientras que la de los estrógenos y la LH es semejante a la de los días de diestro (3, 22, 26).

La regulación neuroendócrina que ejerce el hipotálamo sobre la función del eje hipófisis-gónada presenta asimetría. Asimismo, el contenido de algunos neurotransmisores en estructuras pareadas a ambos lados del cerebro, es diferente entre ellas, tanto en el cerebro del humano como en el de la rata. La concentración de noradrenalina en el lado izquierdo del tálamo del cerebro del hombre, es mayor que en el lado derecho. En la sustancia negra, las concentraciones de noradrenalina, ácido gama-aminobutírico (GABA), dopamina y colinoacetiltransferasa son mayores en el lado izquierdo que en el derecho. En la rata macho la concentración de noradrenalina en el lado izquierdo de la región anterior del tálamo es mayor que en el lado derecho, mientras que en la región posterior esta relación se invierte (31, 55, 56).

También se ha mostrado que los lados derecho e izquierdo del hipotálamo participan de manera diferente en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de la FSH

y el proceso de HCO en la rata (12, 46, 48, 52, 53). Esta asimetría funcional se acompaña de diferencias bioquímicas entre ambos lados del hipotálamo, ya que en la mitad derecha del hipotálamo de la rata macho, la concentración de la GnRH es mayor que en la izquierda. Esta diferencia sólo se observó en los animales sacrificados entre las 08:00 y las 10:00 horas, ya que por la noche (20:00 a 22:00 horas) la concentración de la hormona en ambos lados del hipotálamo es semejante (2).

La ovariectomía unilateral y la desnervación catecolaminérgica por acción de la 6-hidroxidopamina, aumentan el contenido de la GnRH en el hipotálamo medio basal ipsilateral a la hemiovariectomía o a la desnervación. En cambio, la extirpación o la desnervación de ambos ovarios reduce el contenido de la GnRH del lado derecho del hipotálamo medio basal. Con base en estos resultados los autores sugieren que existe una asimetría dual constante en el hipotálamo de la rata y en otras áreas cerebrales (29).

En la rata hembra adulta hemicastrada se ha mostrado que la lesión por radiofrecuencia del lado derecho del hipotálamo anterior bloquea la HCO independientemente del ovario que se extirpe, en tanto que la lesión del lado izquierdo no la modifica. Estos resultados son interpretados como una prueba

de que ambos lados del hipotálamo regulan en forma asimétrica la secreción de las gonadotropinas (28).

En la rata hembra hemicastrada, los efectos de la lesión unilateral de POA-AHA sobre la HCO dependen del ovario in situ, ya que la lesión unilateral de POA-AHA aumenta la del ovario izquierdo y disminuye la del derecho, independientemente del lado de POA-AHA que se lesione. La lesión del lado derecho del POA-AHA disminuye la ovulación compensadora cuando el ovario derecho está in situ y no modifica la del ovario izquierdo. En cambio, la lesión del lado izquierdo de POA-AHA bloquea la ovulación cuando el ovario izquierdo está in situ, y no modifica la del derecho. Estos y otros resultados permiten sugerir que existe una conexión neural ipsilateral entre el hipotálamo y el ovario y que la ovulación compensadora es regulada en forma asimétrica por el lado derecho e izquierdo de estas áreas del sistema nervioso central (SNC) y que depende del ovario remanente (12).

En la rata prepúber, el proceso de HCO parece estar controlado por el hipotálamo izquierdo ya que la deaferentación de este lado del hipotálamo bloquea la HCO de la rata hemicastrada del lado contralateral a la deaferentación. En cambio, la lesión del lado derecho no

modifica este fenómeno (53).

En ratas prepúberes hipofisectomizadas, la lesión concentraciones del Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) (neuropéptido que modula la esteroidogénesis en la gónada), en el ovario izquierdo y no en el derecho. En cambio, las lesiones en el VMH o en AHA no provocan cambios. Estos resultados permiten sugerir que en la rata prepúber las concentraciones de VIP en el ovario están controladas neuralmente por un mecanismo que involucra la región POA-AHA y que este control es asimétrico (1).

La lesión del lado derecho del hipotálamo medio de la rata hembra, provoca el aumento significativo de la masa ovárica, mientras que la lesión del lado izquierdo no la modifica, por lo que la regulación del peso del ovario también parece presentar asimetría (48).

La existencia de una conexión neural ipsilateral entre el hipotálamo y las gónadas también parece existir en el macho. En la rata macho prepúber con hemiorquidectomía derecha, la deaferentación del lado derecho del hipotálamo impide el incremento de la concentración plasmática de la FSH que sigue a la hemicastración, mientras que esto no sucede en los animales con deaferentación del lado izquierdo (52). En la rata macho adulta, la lesión unilateral del área

hipotalámica anterior dorsal y hemicastración contralateral, impide la elevación de la concentración plasmática de FSH que sigue a la castración (46). Además, en la rata macho adulta hemicastrada la concentración plasmática de testosterona, cuantificada directamente de la vena testicular, depende del testículo remanente, ya que la concentración plasmática de testosterona se duplica en la vena del testículo remanente en el 58% de los machos hemicastrados del lado izquierdo, mientras que cuando el testículo in situ fue el izquierdo, sólo el 27% de los animales duplicaron la concentración de testosterona en la vena testicular, por lo que los autores sugieren que la regulación de la respuesta está basada principalmente en la información llevada de forma asimétrica desde el sistema nervioso central hacia los testículos (27).

En la rata hembra recién nacida, el implante de estrógenos modifica el comportamiento sexual y la ovulación en la edad adulta, según el lado de POA y del NVM en que se realice el implante. El implante en el hipotálamo izquierdo provoca desfeminización y masculinización del lado derecho. Los resultados de este experimento permiten suponer que durante la diferenciación sexual de ambos lados del hipotálamo, éstos difieren en su sensibilidad a los esteroides sexuales (54).

En la lagartija (Anolis corolinensis), se ha observado que el metabolismo de la noradrenalina, la dopamina y la serotonina del hipotálamo y sus metabolitos, están correlacionados con el crecimiento asimétrico del ovario. Las proporciones metabolito/neurotransmisor para estos tres sistemas fueron mayores en el lado del hipotálamo ipsilateral al ovario ovulante que en el no ovulante (14). Esta asimetría ovárica y cerebral simultánea, apoya la idea de una comunicación neural directa entre el ovario y el cerebro (10, 14, 16, 29).

Los resultados de varios estudios experimentales ponen de manifiesto la existencia de asimetría entre los ovarios. En la rata adulta el ovario izquierdo libera más ovocitos que el derecho (16). En el animal hemicastrado, el grado de HCO depende del ovario remanente. Cuando el ovario derecho está in situ la HCO es significativamente mayor que cuando se encuentra el ovario izquierdo (14).

En el animal hemiovariectomizado, la sección del nervio vago provoca aumento de la HCO, de la ovulación compensadora y de la tasa ovulatoria cuando el ovario izquierdo está in situ. En cambio, si el ovario derecho está presente, todos estos parámetros disminuye. La sección del nervio vago derecho provoca disminución de la HCO independientemente del

ovario remanente. Estos resultados permiten suponer que el nervio vago izquierdo tendría un efecto estimulatorio sobre el ovario derecho e inhibitorio sobre el ovario izquierdo (15).

Existen resultados experimentales que permiten sugerir que esta asimetría funcional del hipotálamo se debe a diferencias bioquímicas hipotalámicas. Así, el implante unilateral de atropina en POA-AHA bloquea la ovulación de manera diferente según el lado del implante y los efectos también dependen del día del ciclo en el que se coloca el implante. En el día del estro, el implante de atropina en el lado derecho del hipotálamo bloqueó la ovulación en todos los animales, pero no tuvo efecto cuando se realizó en el lado izquierdo. Cuando el implante se realizó en el día del diestro 1 no se observó esta asimetría. En cambio, el implante de atropina en el hipotálamo izquierdo, realizado en el día del diestro 2, bloqueó la ovulación y no tuvo efectos cuando se colocó del lado derecho (11).

Dado que el bloqueo de los receptores muscarínicos del sistema colinérgico, ya sea por la administración subcutánea de atropina o por su implante unilateral en POA-AHA, interrumpe la ovulación, y que dicho efecto depende de la hora, del día del ciclo y del lado del hipotálamo en el que

se lleve a cabo el bloqueo de esos receptores, se decidió analizar si las modificaciones de la ovulación, en respuesta al bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos del hipotálamo, es provocada por la alteración en la secreción preovulatoria de la GnRH, de la respuesta del ovario a las gonadotropinas o por ambas.

HIPOTESIS

El bloqueo de la ovulación provocado por el implante unilateral de atropina en POA-AHA en animales cíclicos, es consecuencia de la alteración de la secreción fásica de la hormona liberadora de las gonadotropinas, de la reactividad del ovario a las gonadotropinas o ambas.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la respuesta del ovario de ratas cíclicas con implante unilateral de atropina en POA-AHA, al reemplazo hormonal realizado en diferentes momentos del ciclo estral en estudio.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. En ratas con implante de atropina en el día del estro (lado derecho de POA-AHA), del diestro 1 (lados derecho o izquierdo) o del diestro 2 (lado izquierdo) estudiar los efectos de la administración de la GnRH en la tarde del día del proestro esperado del ciclo en estudio o una hora después de realizado el implante de atropina.
2. En ratas con implante de atropina en el día del estro (lado derecho de POA-AHA), del diestro 1 (lados derecho o izquierdo) o del diestro 2 (lado izquierdo) estudiar los efectos de la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) o del benzoato de estradiol a las 14.00 h del día del diestro 2 esperado del ciclo en estudio.
3. En ratas con implante de atropina en el día del estro (lado derecho de POA-AHA), del diestro 1 (lados derecho o izquierdo) o del diestro 2 (lado izquierdo) estudiar los efectos de la administración de la hormona del suero de la yegua preñada (PMSG) una hora después de realizado el implante de atropina.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembra adultas (190-230 g) de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luces encendidas de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al alimento y al agua. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Anestosal, Smith Kline Norden de México) (35 mg/kg p.c.) i.p., se colocaron en un aparato estereotáxico y a cada animal se le implantó una cánula directriz (aguja de acero inoxidable del No. 20), dirigida hacia el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, siguiendo las coordenadas del atlas del cerebro de la rata de König y Klippel (37). La cánula fue sujeta a la calota con cemento acrílico.

Veinticuatro horas después de colocada la cánula, en todos los animales se inició la toma de frotis vaginales y, una vez que presentaron dos ciclos consecutivos de cuatro días de duración, fueron asignados a alguno de los experimentos programados. Todos los animales fueron sacrificados en la mañana (09:00-10:00 h) del día del estro esperado del ciclo estudiado.

A las 13:00 horas del estro (lado derecho), diestro 1 (lado derecho o izquierdo) o diestro 2 (lado izquierdo) se introdujo en la cánula directriz otra (cánula interna: aguja

de acero inoxidable del No. 25), en cuya punta se colocó la atropina en cristales (Sigma Chemical Co., St. Louis, MS, EE.UU). La cantidad promedio de atropina implantada fue de $25 \pm 3 \mu\text{g}$. El fármaco fue expulsado hacia la región POA-AHA con la ayuda de un alambre de acero inoxidable más delgado que la cánula interna (Figura 3).

Como grupo testigo se utilizaron animales a los que se les implantó coleterol en lugar de atropina. Todos los animales fueron sacrificados en la mañana (08.00-10.00 h) del día del estro esperado del ciclo en estudio.

Animales con implante de atropina colocado en el día del estro (lado derecho), diestro 1 (lado derecho o izquierdo) o del diestro 2 (lado izquierdo) fueron asignados a uno de los siguientes experimentos:

Experimento 1. Efecto del reemplazo de la GnRH a las 13.00 h del día del proestro esperado

A las 13:00 horas del día del proestro esperado del ciclo en estudio, se administraron $3.7 \mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (s.c.) de [Gly-OH]-LHRH sintética (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.).

Experimento 2. Efecto del reemplazo de los estrógenos por la administración de benzoato de estradiol a las 14.00 h del día del diestro 2

A las 14:00 horas del día del diestro 2, a cada rata con

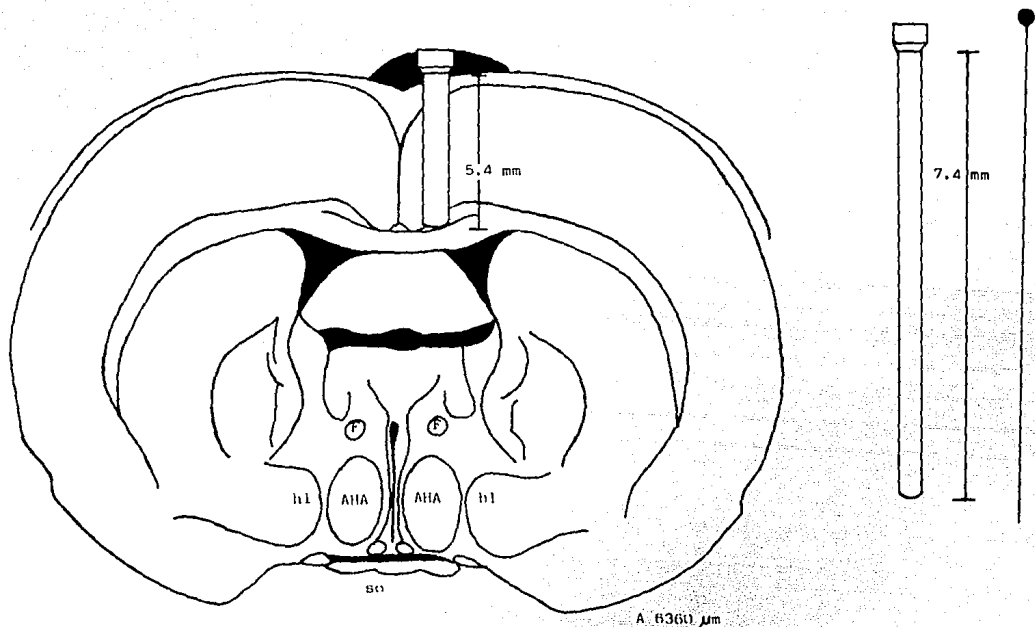


Figura 3.- Representación esquemática de la zona donde se colocó la cánula directriz, utilizando la coordenada antero-posterior (A 6360 μ m) para dirigir la cánula interna hacia POA-AHA. AHA: - área hipotalámica anterior; F: fornix; hl: núcleo hipotalámico lateral; so: núcleo supraóptico.

implante unilateral de atropina se le administraron 10 μ g s.c. de benzoato de estradiol (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU).

Experimento 3. Efecto del reemplazo de la LH por la administración de la gonadotropina coriónica humana (hCG) a las 14.00 h del día del diestro 2.

A las 14:00 horas del día del diestro 2, se le administró a cada rata 20 u.i. de hCG (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.) s.c.

Experimento 4. Reemplazo de la FSH por la administración de la gonadotropina del suero de la yegua preñada (PMSG), una hora después de realizado el implante

Una hora después de colocado el implante unilateral de atropina, a cada animal se le administraron 8 u.i. de PMSG (Sigma Chem.Co., St.Louis, Ms., EE.UU.), s.c.

Experimento 5. Reemplazo de la GnRH una hora después del implante de atropina.

Una hora después de colocado el implante de atropina, a cada animal se le administraron 3.7 μ g/kg p.c. (s.c.) de [Gly-OH]-LHRH.

Procedimiento de autopsia

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación, se diseccionaron las trompas uterinas, donde se buscó la presencia de ovocitos, los que en su caso, fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico, los ovarios y

el útero. Estos últimos fueron pesados en una balanza de precisión cuya sensibilidad es de 0.1 mg. Al disecar el útero se anotó la presencia o ausencia de líquido en la luz del mismo (útero distendido). El peso de los órganos se expresó en miligramos por cada 100 gramos de peso corporal (mg/100g).

El cerebro de los animales se fijó en solución de formol al 10 % y se cortó a 80 μ m de espesor en un crióstato. Los cortes fueron teñidos con violeta de cresilo a fin de localizar la zona del implante, la cual se realizó con la ayuda de un microscopio estereoscópico utilizando como referencias los esquemas del atlas de König y Klippel (37). Solamente se utilizaron los datos de los animales cuyo implante se localizó en el área de estudio (Figura 4).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del número de ovocitos liberados, del peso de los ovarios y del útero fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA), seguida de la prueba de Duncan. La tasa de animales ovulantes (número de ratas que ovulan/número de animales tratados), de cornificación vaginal (número de animales con esto vaginal/número de animales tratados) y la frecuencia relativa de animales con útero distendido (número de animales con presencia de líquido en la luz del

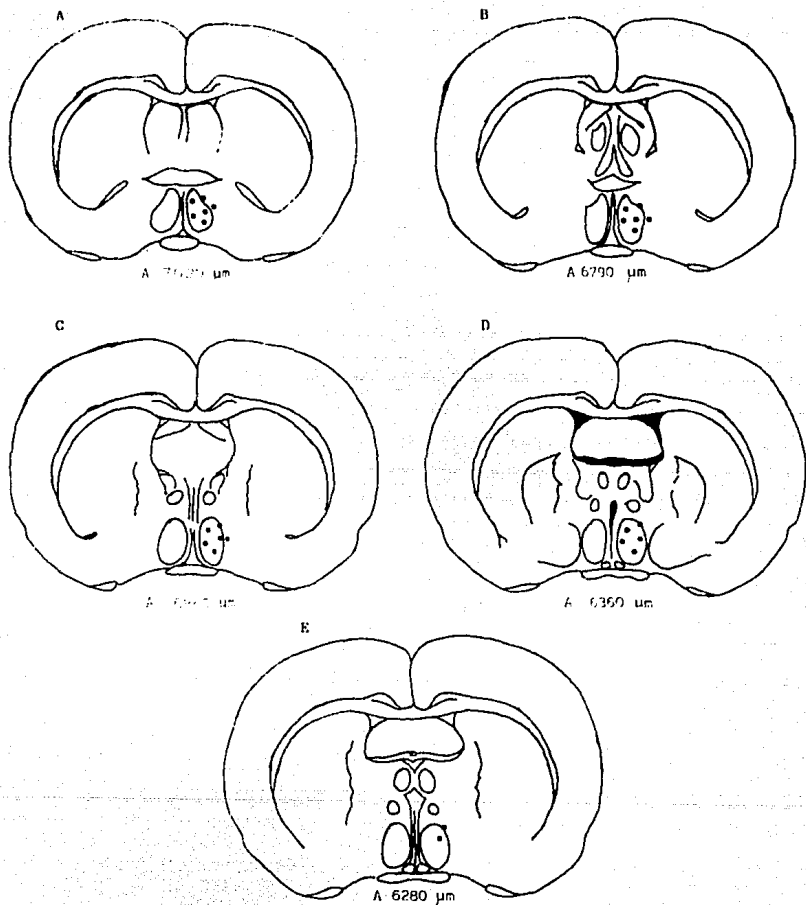


Figura 4. Representación esquemática de la localización de los implantes unilaterales de atropina en POA-AHA. Las secciones A, B, C corresponden al área de POA y las secciones D y E, a la de AHA.

útero/número de animales tratados) se analizaron por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o la de χ^2 . En todos los casos se aceptaron como válidas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al cinco por ciento.

RESULTADOS

Dado que no se observaron diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes, en la cornificación vaginal y en la frecuencia relativa de animales con útero distendido, entre los grupos con implante de colesterol del lado derecho o izquierdo en POA-AHA, los datos se agruparon como un solo grupo testigo.

Debido a que no se observaron diferencias significativas en los resultados obtenidos de los animales con implante unilateral de atropina en el estro, diestro 1 o diestro 2 y reemplazo hormonal, los resultados fueron agrupados en un único grupo por tratamiento. Solamente se hace referencia en los casos en que se observaron diferencias por día o lado del POA-AHA en que se colocó el implante.

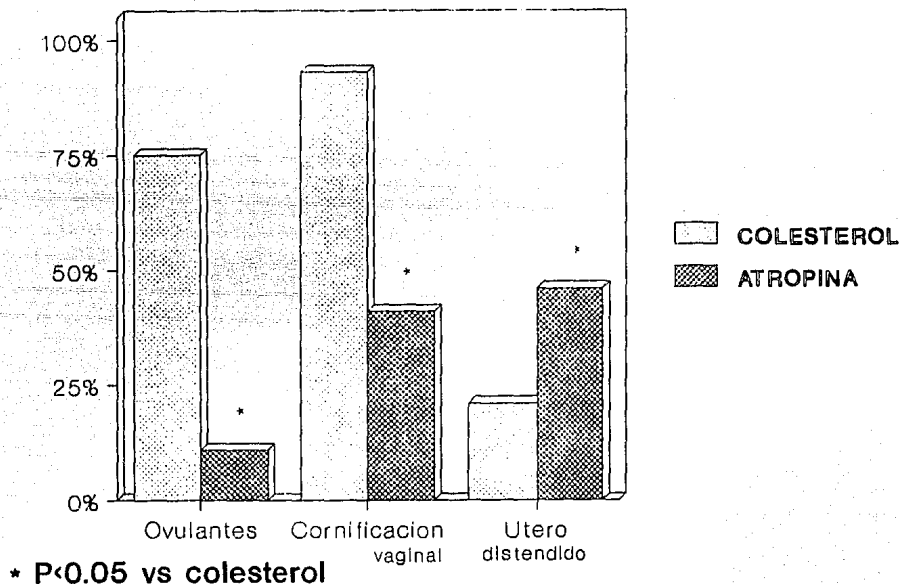
El implante unilateral de atropina realizado en estro (derecho), diestro 1 (derecho o izquierdo) o diestro 2

(izquierdo) disminuyó la tasa de animales ovulantes, la tasa de cornificación vaginal e incrementó la frecuencia relativa de animales con útero distendido (Figura 5), pero no modificó el número de ovocitos liberados por animal ovulante, el peso de los ovarios o del útero (Tabla 1).

Tabla 1. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE COLESTEROL O DE ATROPINA.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Colesterol	28	9.6 \pm 0.6	30.1 \pm 0.7	196.0 \pm 5.2
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1

Figura 5. EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA



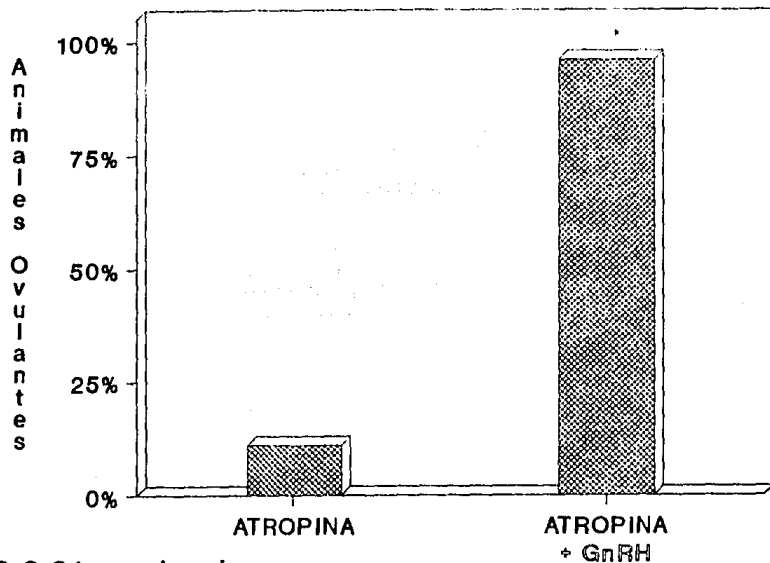
EXPERIMENTO 1. EFECTO DE LA ADMINISTRACION DE LA GnRH A LAS 13.00 H DEL DIA DEL PROESTRO ESPERADO.

El reemplazo de la hormona hipotalámica a las 13:00 horas del día del proestro, en ratas con implante unilateral de atropina, indujo la ovulación en el 96% de los animales (Figura 6), lo que se acompañó del aumento de la tasa de cornificación vaginal (25/25 vs 19/46, $P<0.05$) y disminución de la frecuencia relativa de animales con útero distendido (5/25 vs 21/46, $P<0.05$). El número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los ovarios y del útero fueron similares al grupo con implante de atropina sin tratamiento hormonal (Tabla 2).

Tabla 2. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA O CON REEMPLAZO DE LA GnRH A LAS 13:00 HORAS DEL DIA DEL PROESTRO ESPERADO.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1
Atropina + GnRH	25	10.2 \pm 0.5	30.5 \pm 1.1	192.3 \pm 7.8

Figura 6. RESPUESTA A LA ADMINISTRACION DE *GnRH* A LAS 13:00 horas DEL PROESTRO



* $P < 0.01$ vs atropina

EXPERIMENTO 2. EFECTO DEL REEMPLAZO DE LOS ESTROGENOS POR LA ADMINISTRACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL, SOBRE LA OVULACION EN RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA.

La administración de benzoato de estradiol restauró la ovulación en el 41% de los animales con implante unilateral de atropina (Figura 7), incrementó la frecuencia relativa de animales con útero distendido (11/17 vs 21/46, $P < 0.05$) y no modificó el número de animales con cornificación vaginal (10/17 vs 19/46, $P < 0.05$). Aquellos animales que no presentaron cornificación vaginal correspondieron a los implantados del lado derecho de POA-AHA.

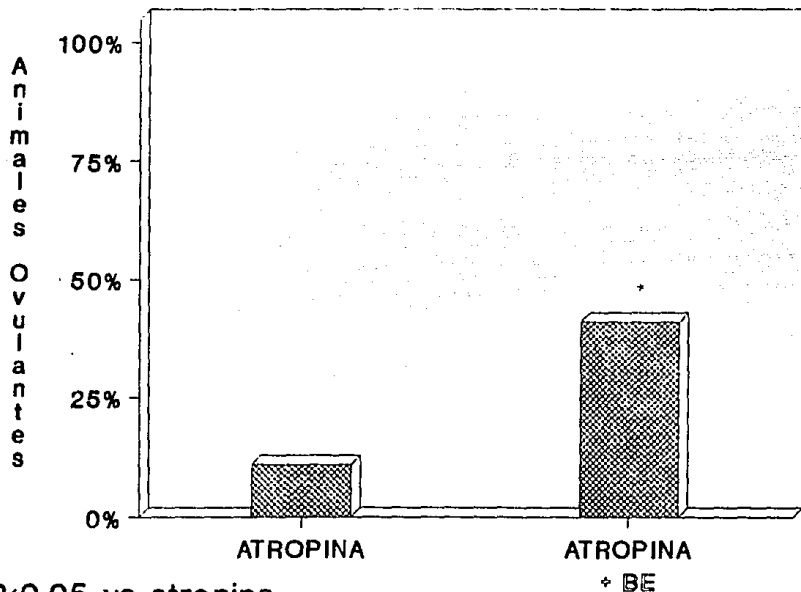
El número de ovocitos liberados por animal ovulante no se modificó, pero aumentó el peso de los ovarios y del útero (Tabla 3).

TABLA 3. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA O CON ADMINISTRACION DE BENZOATO DE ESTRADIOL (BE) A LAS 14:00 HORAS DEL DIA DEL DIESTRO 2.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1
Atropina + BE	17	12.1 \pm 1.0	39.1 \pm 1.0 *	235.9 \pm 6.3 *

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina.

Figura 7. RESPUESTA A LA ADMINISTRACION DE *BE* A LAS 14:00 horas DEL DIESTRO 2



* $P < 0.05$ vs atropina

La administración de benzoato de estadiol indujo la ovulación en el 71% de los animales con implante de atropina localizado en el lado izquierdo de POA-AHA y en ninguno de los animales con implante del lado derecho (Figura 8).

EXPERIMENTO 3. EFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA LH POR LA ADMINISTRACION DE LA hCG, SOBRE LA OVULACION DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA.

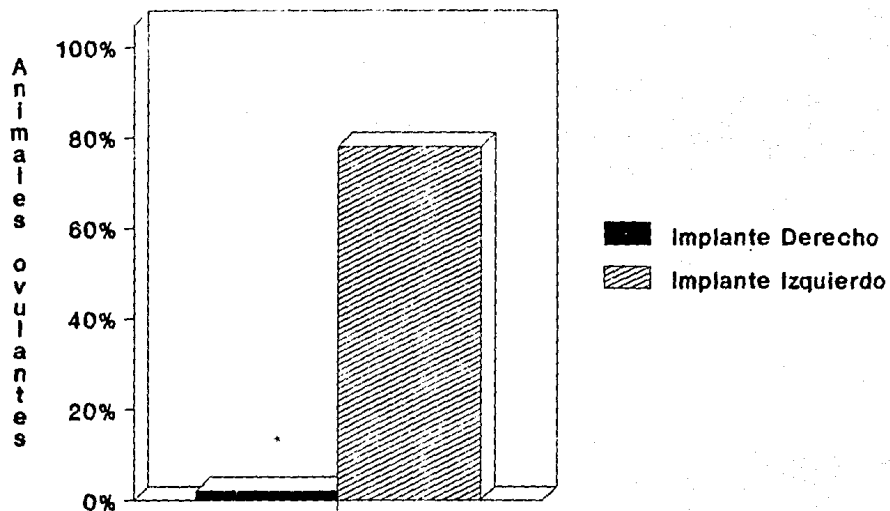
La administración de la hCG a las 14:00 horas del diestro 2, no reestableció la ovulación de los animales con implante unilateral de atropina (Figura 9), pero disminuyó la proporción de animales con cornificación vaginal (2/15 vs 19/46, $P < 0.05$) y la frecuencia relativa de animales con útero distendido (1/15 vs 21/46, $P < 0.05$). El peso de los ovarios aumentó y el del útero disminuyó significativamente (Tabla 4).

Tabla 4. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA O CON REEMPLAZO DE LA LH POR LA ADMINISTRACION DE LA hCG A LAS 14:00 HORAS DEL DIESTRO 2.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1
Atropina + hCG	15	6, 5	38.3 \pm 2.1 *	153.6 \pm 7.5 *

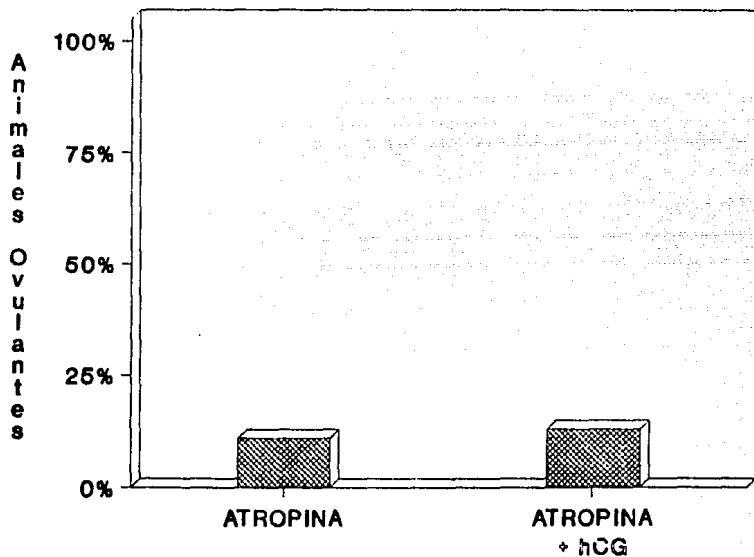
* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina.

Figura 8. RESPUESTA OVULATORIA ASIMETRICA A LOS ESTROGENOS.



* $P < 0.01$ vs implante izquierdo

Figura 9. RESPUESTA A LA ADMINISTRACION DE *hCG* A LAS 14:00 horas. DEL DIESTRO 2



EXPERIMENTO 4. EFECTO DEL REEMPLAZO DE LA FSH POR LA ADMINISTRACION DE LA PMSG, SOBRE LA OVULACION DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA.

La administración de PMSG una hora después del implante, reestableció parcialmente la ovulación (Figura 10), aumentó la tasa de cornificación vaginal (11/16 vs 19/46, $P < 0.05$) y no modificó la frecuencia relativa de animales con útero distendido (6/16 vs 21/46). El número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso del útero no se modificaron, pero aumentó el peso de los ovarios (Tabla 5).

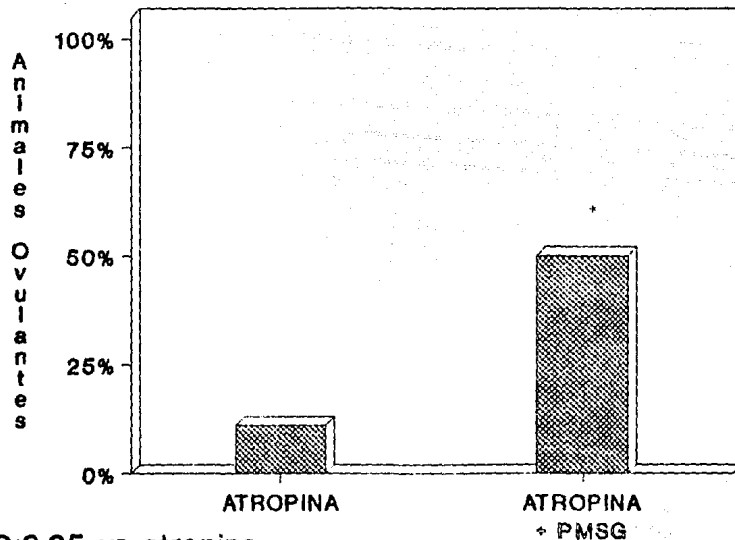
Tabla 5. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA O CON ADMINISTRACION DE PMSG, UNA HORA DESPUES DEL IMPLANTE.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1
Atropina + PMSG	16	11.3 \pm 0.7	35.9 \pm 1.0 *	171.4 \pm 12.6

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina.

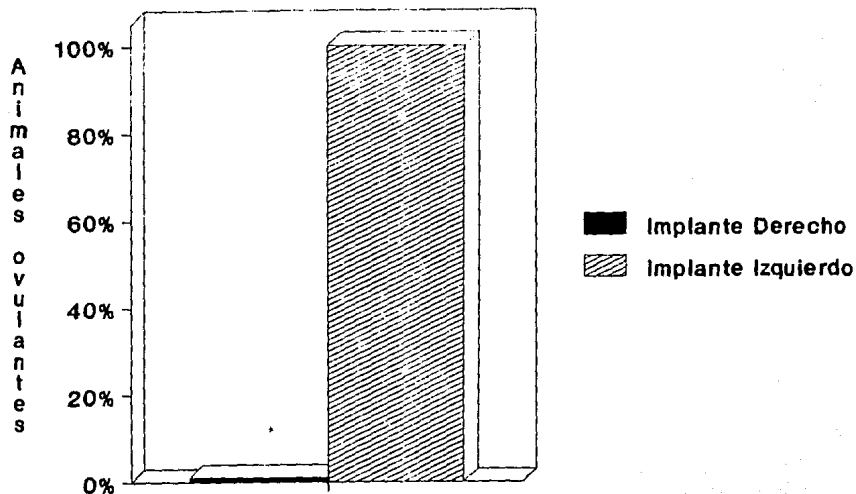
En el grupo de animales con implante unilateral de atropina, colocado en el día del diestro 1, la administración de PMSG restauró la ovulación en todos los animales con implante del lado izquierdo de POA-AHA, pero no lo hizo en aquellos con implante del lado derecho (Figura 11).

Figura 10. RESPUESTA A LA ADMINISTRACION DE *PMSG* UNA HORA DESPUES DEL IMPLANTE



• $P < 0.05$ vs atropina

Figura 11. RESPUESTA OVULATORIA ASIMETRICA A LA PMSG EN DIESTRO 1



* $P < 0.01$ vs implante izquierdo

EXPERIMENTO 5. EFECTO DEL REEMPLAZO DE LA GnRH, POR LA ADMINISTRACION DE LA GnRH UNA HORA DESPUES DEL IMPLANTE DE ATROPINA.

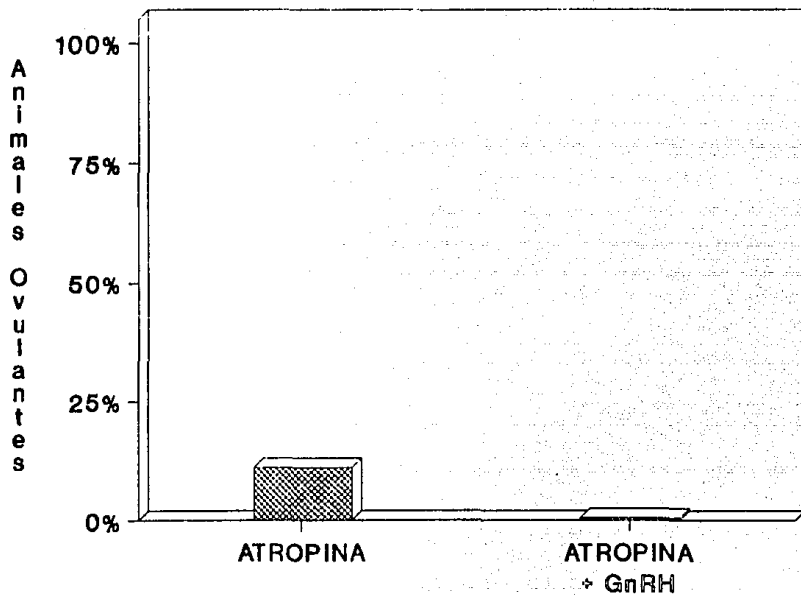
La administración de la GnRH una hora después del implante no restauró la ovulación en ninguno de los animales tratados (Figura 12), además de disminuir la proporción de animales con cornificación vaginal (1/16 vs 19/46, $P < 0.05$) y la frecuencia relativa de animales con útero distendido (2/16 vs 21/46, $P < 0.05$). El peso de los ovarios aumentó y el del útero disminuyó significativamente (Tabla 6).

Tabla 6. MEDIA \pm E.E.M. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR ANIMAL OVULANTE Y DEL PESO (mg/100 g) DE LOS OVARIOS Y DEL UTERO DE RATAS CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA O CON REEMPLAZO DE LA GnRH, UNA HORA DESPUES DEL IMPLANTE.

GRUPO	n	OVOCITOS	PESO OVARIOS	PESO UTERO
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	187.7 \pm 7.1
Atropina + LHRH	16	0 *	36.6 \pm 1.9 *	145.4 \pm 7.4 *

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina.

Figura 12. RESPUESTA A LA ADMINISTRACION DE *GnRH* UNA HORA DESPUES DEL IMPLANTE



DISCUSION

Los resultados obtenidos en este estudio apoyan la idea de que el sistema colinérgico de la región POA-AHA regula en forma asimétrica, la secreción de las gonadotropinas y la ovulación, la cual varía durante el ciclo estral.

El bloqueo de la ovulación provocado por el implante unilateral de atropina en los días de estro, diestro 1 o diestro 2, sería el resultado de la alteración de la liberación "fásica" de la GnRH que ocurre en el día del proestro, ya que su reemplazo reestableció la ovulación en casi todos los animales implantados.

El hecho de que la administración de benzoato de estradiol haya reestablecido la ovulación sólo en aquellos animales en los que el implante de atropina se localizó en el lado izquierdo, sugiere que para que los estrógenos ejerzan el papel estimulante que desencadena la liberación de la GnRH, y en consecuencia, la de las gonadotropinas y la ovulación, es necesario que los receptores colinérgicos del lado derecho de POA-AHA estén disponibles.

Los resultados obtenidos por el reemplazo gonadotrópico con hCG o con LHRH (esta última en el mismo día del implante) nos permiten sugerir que el bloqueo de los receptores muscarínicos de POA-AHA, no sólo afectan la liberación

"fásica" de la GnRH, sino también la reactividad del ovario a las gonadotropinas, ya que muy pocos animales ovularon cuando éstas fueron reemplazadas directa o indirectamente.

Los resultados obtenidos por el reemplazo gonadotrópico con PMSG o con hCG, permiten sugerir que existen diferencias en la regulación de la secreción de la FSH y de la LH mediada por los receptores muscarínicos de la región POA-AHA. Es decir, que el bloqueo de estos receptores alteraría la secreción de la FSH y no la de la LH. Diversos autores han sugerido la posibilidad de que la secreción de cada gonadotropina sea regulada por un péptido hipotalámico diferente (8, 13, 24, 64).

Con base a los resultados obtenidos no se puede descartar la idea de que el sistema colinérgico de POA-AHA regule la respuesta del ovario a las gonadotropinas por una vía neural, ya que en algunos grupos con reemplazo hormonal no ocurrió la ovulación.

Por ello sería probable que ambos fenómenos ocurran a la vez, ya que se ha mostrado que la secreción de estrógenos por el ovario depende de la información nerviosa que proviene de la región POA-AHA y que se transmite por la liberación del VIP (1).

En el día del diestro 1, la regulación de la secreción de la FSH parece presentar asimetría, ya que la administración de la PMSG reestableció la ovulación en los animales con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA y no lo hizo en aquellos con implante del lado derecho. Asimismo, es probable que el bloqueo del sistema colinérgico de esa región modifique directamente por una vía neural, la reactividad de los ovarios a las gonadotropinas. En los animales con bloqueo ovulatorio por la administración sistémica de atropina en el día del diestro 1, la inyección de hCG reestableció la ovulación (17), hecho que no se observó en los animales con implante de atropina en el diestro 1 tratados con hCG. Estas diferencias observadas en las respuestas ovulatorias al reemplazo de la LH, puede ser el reflejo de la mayor concentración local del fármaco que resulta del implante cerebral, en comparación con la administración subcutánea.

CONCLUSIONES

El bloqueo de los receptores muscarínicos de la región POA-AHA, modifica la secreción "fásica" de la GnRH, así como la respuesta del ovario a las gonadotropinas.

El bloqueo de la ovulación, por el implante unilateral de atropina, es consecuencia de la alteración de la secreción de la FSH y de la secreción de estrógenos.

Los mecanismos que regulan la secreción de la FSH, así como la acción de los estrógenos sobre la región POA-AHA presenta asimetría.

Para comprender los mecanismos centrales que regulan la función del ovario, es necesario considerar la participación asimétrica del sistema colinérgico de POA-AHA y el día del ciclo estral.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Advis, J.P., Ahmed, C.E., Ojeda, S.R. (1989). Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Res. Bull.* 22: 605-610.
- 2.- Bakalkin, G.Y., Tsibesob, V.V., Sjutkin, E.A., Veselova, S.P., Novilov, I.D., Krivosheev, O.G. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res.* 296: 361-364.
- 3.- Barraclough, C.A. (1973). Sex steroid regulation of reproductive neuroendocrine process. En: *Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology. Vol. II.* Ed. Greep, R.O., Aswood, E. Washington, D.C.: American Physiology Society. p. 29-52.
- 4.- Barraclough, C.A. (1983). The role of catecholamines in regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphol. Hung.* 31: 101-106.
- 5.- Barraclough, C.A., Wise, P.M. (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrine Rev.* 3: 91-119.
- 6.- Barry, J. (1979). Immunohistochemistry of luteinizing hormone releasing hormone producing neurones of the vertebrate. *Int. Rev. Cytol.* 60: 179-187.
- 7.- Benedetti, W.L., Sala, M.A., Otegui, J.T. (1976). Persistent estrus in rats after anterolateral hypothalamic microinjections of 6-hidroxydopamine. *Neuroendocrinology.* 21: 297-303.
- 8.- Blake, C.A. (1974). Parallelism and divergence in luteinizing hormone and follicle stimulating hormone release in nicotine treated rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 145: 716-720.
- 9.- Clemens, J.A., Smalstig, E.D., Sawyer, B.D. (1976). Studies on the role of the preoptic area in the control of reproductive function in the rat. *Endocrinology.* 99: 728-735.
- 10.- Cruz, M.E., Chávez, R., Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev. Invest. Clín. (México)* 38: 167-171.
- 11.- Cruz, M.E., Jaramillo, L.P., Domínguez, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *J. Endocrinol.* 123: 437-439.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 12.- Cruz, M.E., Morán, J.L., Jaramillo, L.P., Domínguez, R. (1989). Differential effects of unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rats. *J. Endocrinol.* 124: 37-41.
- 13.- Chappel, S.C., Ulloa-Aguirre, A., Coutifaris, C. (1983). Biosynthesis and secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocrine Rev.* 4: 179-205.
- 14.- Chávez, R., Cruz, M.E., Domínguez, R. (1978). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi- and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *J. Endocrinol.* 113: 397-401.
- 15.- Chávez, R., Cruz, M.E., Domínguez, R. (1987). Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats. *Rev. Invest. Clin. (México)* 39: 149-153.
- 16.- Domínguez, R., Cruz, M.E., Chávez, R. (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. In *Growth Factors and the Ovary*. Ed. A.N. Hirshfield. Serono Symposia USA Plenum Press, Nueva York, Londres. Cap. 39, pp.321-325.
- 17.- Domínguez, R., Chávez, R., Cruz, M.E. (1990). Regulación del crecimiento y el desarrollo folicular. En *Tópicos Selectos en Biología de la Reproducción*. UNAM-M.A. Porrúa editores. (en prensa).
- 18.- Domínguez, R., Riboni, L., Zipitria, D., Revilla, R. (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat? *J. Endocrinol.* 95: 175-180.
- 19.- Ellendorf, F., Parvizi, N. (1980). Role of extrahypothalamic centers in neuroendocrine integration. In: "The endocrine functions of the brain". Chapter 14. Ed. Motta M. Raven Press. New York. p. 297-315.
- 20.- Erickson, G.F. (1982). Follicular maturation and atresia. Serono Symposium No. 42. "The Gonadotropins: Basic Science and Clinical Aspects in Females". Edited by C. Fleming and J.R. Givens. Academic Press. London and New York. p. 177-185.
- 21.- Everet, J.W., Sawyer, C.H., Markee, J.E. (1949). A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat. *Endocrinology.* 44: 234-250.
- 22.- Feder, H.H. (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: *Neuroendocrinology of Reproduction*. N.T. Adler ed. Cap. 10. Plenum Press; N.Y.; p. 279-308.

- 23.- Fink, G. (1986). The endocrine control of ovulation. *Sci Prog Oxf.* 70: 403-423.
- 24.- Florindo, R.P., Martini, L. (1975). Evidence for a cholinergic component in the neuroendocrine control of luteinizing hormone (LH) secretion. *Neuroendocrinology.* 18: 322-332.
- 25.- Flerko, B. (1970). Control of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone secretion. En: *The Hypothalamus.* Ed: Martini, L., Motta, M. & Fraschini, F. Academic Press. New York. p. 351-363.
- 26.- Flores, A., Morales, L. (1985). Mecanismos que participan en el proceso de hipertrofia compensadora del ovario. *ENEP-Zaragoza UNAM (Tesis Profesional).*
- 27.- Frankel, A.I., Chapman, J.C., Cook, B. (1979). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. *J. Endocrinol.* 122: 485-488.
- 28.- Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Furuya, H., Arai, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating ovarian compensatory hypertrophy. *Neurosc.Let.* 51: 365-370.
- 29.- Gerendai, I., Rotsytein, W., Marchetti, B., Scapagnani, V. (1979). LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects. Proceeding of Sero Syposia. Vol. 19,* edited by A. Polleri & R. MacLeod. New York. Academic Press. p. 97-102.
- 30.- Gerendai, I. (1986). Duality and unity of the brain. Unified Functioning and specialisation of the hemispheres. *Proceedings of an International Symposium held at The Wenner-Gren Center, Stockholm. David Ottoson ed. Sweden.* p. 17-28.
- 31.- Glick, S.D., Ross, D.A., Hough, L.B. (1982). Lateral asymmetry of neurotransmitters in human brain. *Brain Res.* 234: 53-63.
- 32.- Halasz, B., Pupp, L., Uhlarik, S.L. (1982). Hypophysiotrophic area in the hypothalamus. *J. Endocrinol.* 25: 147-154.
- 33.- Harrison, R.J., Weir, B.J. (1977). Structure of mammalian ovary. En: *The Ovary.* Zuckerman, L., Weir, B.J. ed. New York. Cap. 4. p. 113-184.
- 34.- Jones, R.E., Desan, P.H., López, K.H., Austin, H.B. (1990). Asymmetry in diencephalic monoamine metabolism is related to side of ovulation in a reptile. *Brain Res.* 506: 187-191.

- 35.-Kawakami, M., Arita, J., Kimura, F., Hayashi, R. (1979). The stimulatory roles of catecholamines and acetylcholine in the regulation of gonadotropin release on ovariectomized estrogen-primed rats. *Endocrinol. Jap.* 26: 275.
- 36.- King, J.C. & Edythe, A.L.P. (1984). LHRH neurons and their projections in humans and other mammals: Species comparisons. *Peptide.* 5: 195-207.
- 37.- König, J.F.R. & Klippel, R.E. (1963). The rat brain. A stereotaxic atlas of lower parts of the brain stem. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
- 38.- Labhsetwar, A.P. (1971). Effect of serotonin on spontaneous ovulation in rats. *Nature.* 229: 203-204.
- 39.- Lamperti, A.A. (1985). FSH- and LH-releasing activity in the hypothalamus of female hamsters during proestrus and estrus: Effects of arcuate nucleus lesions. *Neuroendocrinology.* 41: 374-379.
- 40.- Libertum, C., McCann, S.M. (1973). Blockade of the release of gonadotropins and prolactin by subcutaneous or intraventricular injection of atropine in male and female rats. *Endocrinology.* 92: 1714-1724.
- 41.- Lumpkin, M.D., McCann, S.M. (1984). Effect of destruction of the dorsal anterior hypothalamus on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology.* 115: 2473-2480.
- 42.- Markó, M., Flukiger, E. (1976). Inhibition of ovulation in rats by antagonists to serotonin and by a new tricyclic compound. *Experientia* 32: 491-492.
- 43.-McCann, S.M., Ojeda, S.M., Vijayan, E., Moss, R.L. (1978). LH-releasing hormone (LHRH), its localization, mechanism of release and action in the anterior pituitary and CNS. En: *Clinical Psychoneuroendocrinology in Reproduction.* Ed. Carranza. L., Pancheri, P. & Zichella, L. Academic Press, New York, p. 57-69.
- 44.- McCann, S. (1981). CNS control of the pituitary: *Neuroendocrinology of Reproduction.* N.T. Adler ed. Cap. 13. Plenum Press; N.Y.; p. 427-449.
- 45.- Meyer, D.C. (1978). Hypothalamic and raphe serotonergic systems in ovulation control. *Endocrinology.* 103: 1067-1077.
- 46.- Mizunuma, H., DePalatis, L.R., McCann, M. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology.* 37: 291-296.

- 47.- Monti, J.M., Sala, M.A., Otegui, J.J., Benedetti, W.L., Griño, E. (1970). Inhibition of ovarian hypertrophy by implants of atropine in the hypothalamus. *Experientia*. 15: 1263-1264.
- 48.- Morán, P.J.L. (1988). Estudio de los efectos de la lesión hipotalámica unilateral sobre el ciclo estral y la ovulación del ovario ipsi y contralateral a la lesión. *ENEP Zaragoza-UNAM (Tesis Profesional)*.
- 49.- Muller, E.E., Nistico, G., Scapagnani, U. (1977). Neurotransmitters and anterior pituitary function. Academic Press. New York. pp. 1-322.
- 50.- Muth, E.A., Crowley, W.R., Jacobowitz, D.M. (1980). Effect of gonadal hormones on luteinizing hormone in plasma and on choline acetyltransferase activity and acetylcholine levels in discrete nuclei of the rat brain. *Neuroendocrinology*. 30: 329-336.
- 51.- Naik, D.V. (1976). Immunohistochemical localization of LH-RH during different phases of estrous cycle of rat, with reference to the preoptic and arcuate neurons, and the ependymal cells. *Cel.Tis.Res.* 173: 143-155.
- 52.- Nance, D.M., Moger, W.H. (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Res.* 8: 299-302.
- 53.- Nance, D.M., White, J.P., Moger, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Re.Bull.* 10: 353-355.
- 54.- Nordeen, E.J., Yahr, P. (1982). Hemispheric asymmetries in the behavioral and hormonal effects of sexually differentiating mammalian brain. *Science*. 218: 391-393.
- 55.- Oke, A., Keller, R., Mefford, I., Adams, R.N. (1978). Lateralization of norepinephrine in human thalamus. *Science*. 200: 1411-1413.
- 56.- Oke, A., Lewis, R., Adams, R.N. (1980). Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in rat thalamus. *Brain Res.* 188: 269-272.
- 57.- Palkovits, M., Arimura, A., Brownstein, M., Schally, A.V., Saavedra, J.M. (1974). Luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) content of the hypothalamus nuclei in rat. *Endocrinology* 95: 137-149.
- 58.- Palkovits, M. (1980). Functional anatomy of the "endocrine" brain. In: "The endocrine functions of the brain". Chapter 1. Ed. Motta M. Raven Press. New York. p. 1-16

- 59.- Pawlikowski, M., Stepien, H., Wolaniuk, A., Kunert-Radek, J. (1978). Influence of cholinergic receptor blockage and stimulation on the anterior pituitary mitotic activity. *Neuroendocrinology*. 26: 85-92.
- 60.- Ramirez, V.D., Feder, H.H., Sawyer, C.H. (1984). The role of brain catecholamines in the regulation of LH secretion: A critical inquiry. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*. Vol. 8. Cap.2, Eds. Martini, L. & Ganong, W.F. Raven Press, New York, pp. 27-71.
- 61.- Ruiz de Galarreta, C.M., Fanjul, L.F., Meites, J. (1981). Influence of cholinergic and anticholinergic drugs on plasma luteinizing hormone and prolactin levels in male and female rats. *P.S.E.B.M.* 168: 185-195.
- 62.- Ruiz de Galarreta, C.M., Fanjul, L.F., Hanson, E., Meites, J. (1981). Effects of cholinergic and anticholinergic drugs on restraint induced prolactin release. *IRCS Med Sci*. 9: 1152.
- 63.- Sawyer, C.H., Clifton, D.K. (1980). Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed Proc.* 39: 2889-2895.
- 64.- Simmonic, I., Motta, M., Martini, L. (1934). Acetylcholine and the release of the follicle-stimulating hormone releasing factor. *Endocrinology*. 95: 1373-1379.
- 65.- Tasaka, K., Miyake, A., Sakumoto, T., Aono, T. (1985). Dopamine decreases release of luteinizing hormone releasing hormone from superfused rat mediobasal hypothalamus. *J. Endocrinol. Invest.* 8: 373-376.
- 66.- Uemura, H., Kobayashi, H. (1971). Effects of dopamine implanted in the median eminence on the estrous cycle of the rat. *Endocrinol. Jap.* 18: 91-100.
- 67.- Weick, R.F., Smith, E.R., Dominguez, R., Dhariwal, A.P.S., Davidson, J.M. (1971). Mechanisms of stimulatory feedback effect of estradiol benzoate on the pituitary. *Endocrinology*. 88: 293-301.