



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES
Y DE POSGRADO

ASIMETRÍA HIPOTALÁMICA EN LOS
MECANISMOS QUE REGULAN LA FUNCIÓN DEL
OVARIO. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN LA RATA
ADULTA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
P R E S E N T A :

MARIA ESTHER CRUZ BELTRAN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS



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.

INDICE

Contenido:	Página
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
INTRODUCCION.	1
EL CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA OVULACION.....	3
La señal ovárica	3
La señal hipotalámica	6
La señal hipofisaria	9
EL PAPEL DEL SISTEMA COLINERGICO EN LA REGULACION DE LAS FUNCIONES DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO	14
LA ASIMETRIA Y LATERIZACION DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	16
LOS ASPECTOS ASIMETRICOS DE LA FUNCION REPRODUCTORA	20
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
HIPOTESIS	28
OBJETIVOS	28
MATERIAL Y METODOS	29
RESULTADOS	38
DISCUSION DE LOS RESULTADOS	78
CONCLUSIONES	96
PERSPECTIVAS	97
BIBLIOGRAFIA	98

RESUMEN

En este trabajo se estudiaron los efectos del implante unilateral de atropina en las áreas preóptica-hipotalámica anterior (POA-AHA), realizado en los diferentes días del ciclo estral, sobre la ovulación esperada en el día del estro inmediato. El implante unilateral de atropina, en el día del diestro 1, bloqueó la ovulación. En el día del diestro 2, el implante del lado izquierdo bloqueó la ovulación de casi todos los animales, mientras que el del lado derecho no lo hizo (1/8 vs 8/11, $P < 0.05$). Los implantes unilaterales realizados en el día del proestro no modificó la ovulación de los animales. Cuando el implante se colocó en el lado derecho de POA-AHA, en el día del estro, ningún animal ovuló, pero todos lo hicieron cuando se colocó del lado izquierdo (0/15 vs 10/10, $P < 0.05$).

En ratas con bloqueo de la ovulación, inducida por el implante unilateral de atropina en POA-AHA, se analizaron las modificaciones en la población folicular y la respuesta ovulatoria al reemplazo de la hormona estimulante de la liberación de las gonadotropinas (GnRH), de las gonadotropinas o de los estrógenos. El bloqueo de los receptores muscarínicos de POA-AHA estimula el crecimiento y la atresia de los folículos preovulatorios del ovario ipsilateral, sin modificar los del ovario contralateral. La inyección de la GnRH (3.7 $\mu\text{g/Kg}$) en el día del proestro restableció 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 restableció la ovulación de los animales implantados (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 del lado izquierdo de POA-AHA, 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).

En ratas hemiovariectomizadas se analizaron los efectos del implante unilateral de atropina en POA-AHA, coclocado en el día del estro, sobre la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, así como su respuesta al reemplazo hormonal. El implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA bloqueó la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario, mientras que el implante de atropina colocado del lado derecho no tuvo efectos. La administración de GnRH a las 13:00 h del día del proestro esperado indujo la ovulación en 6/7 animales tratados y sólo

uno de diecinueve animales con implante de atropina del lado izquierdo de POA-AHA ovularon después de tratarlos con PMSG en el día del estro, con benzoato de estradiol o con hCG en el diestro 2.

Estos resultados nos permiten sugerir que el sistema colinérgico de POA-AHA participa en forma asimétrica en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación y, que ésta varía durante el ciclo estral. El bloqueo de los receptores muscarínicos de POA-AHA regulan de manera asimétrica la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH. Asimismo, 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. Dado que los resultados obtenidos en el animal intacto son diferentes a los del hemiovariectomizado, es posible concluir que los mecanismos neuroendócrinos vinculados al sistema colinérgico, que regulan la ovulación están relacionados con la información neural que proviene de los ovarios y que llegan a POA-AHA.

SUMMARY

The effects were analyzed, on ovulation at the next oestrous, of unilaterally implanting atropine in preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) of rats on each day of the oestrous cycle. Implantation on day 1 of dioestrus on either side of the POA-AHA blocked ovulation. Implantation on the left side of the POA-AHA on day 2 of dioestrus blocked ovulation in almost all animals, whereas implantation on the right side allowed the ovulation in 73% of the animals (1/8 vs 8/11, $P < 0.05$). Implantation at pro-oestrus on either side of the hypothalamus did not modify the rate of ovulation. When implantation was carried out on the day of oestrus on the right, none of the animals ovulated, but all ovulated when the implant was on the left side (0/15 vs 10/10, $P < 0.01$).

The modifications also were analyzed, on follicular population in cyclic adult rats with an unilateral implant of atropine in the POA-AHA, and its responses to gonadotropin releasing hormone (GnRH) (3.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$), pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) (8 i.u.), human chorionic gonadotropin (hCG) (20 i.u.), and estradiol benzoate (10 μg) replacement. Follicular development and atresia of the preovulatory follicles were stimulated in the ipsilateral ovary to the atropine implant in POA-AHA. Ovulation was induced in rats with unilateral implant of atropine treated with GnRH or hCG at 13.00 h on the expected pro-oestrus day after the implant (24/25, 16/16 vs 5/46, $P < 0.01$). When rats with atropine implant were treated with PMSG on the day of implantation or estradiol benzoate on D2, ovulation was restored in those with the implant in the left side of the hypothalamus, and was ineffective in those with the implant in the right side (11/13 vs 0/11, $P < 0.01$).

The effects were also analyzed, on ovulation at the next oestrus of unilateral implanted atropine in the left or right POA-AHA of hemiovariectomized rats on the day of oestrus, and its response to hormone replacement. The implantation of atropine in the left side of POA-AHA blocked ovulation and compensatory ovarian hypertrophy (COH), meanwhile, the implants in the right side had no effects. The administration of GnRH (3.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$) at 13.00 h of the expected day of pro-oestrus induced ovulation in 6/7 treated animals; 1/19 rats with implant of atropine in the left side of POA-AHA ovulated after they were treated with PMSG on oestrus, oestradiol benzoate or hCG on diestrus day 2.

The results suggest the existence of a cholinergic POA-AHA lateralization in the mechanisms regulating ovulation which depend on the day of the oestrous cycle. In the adult rat, the muscarinic mechanisms regulating preovulatory GnRH release, as well as the stimulatory effects of estrogen are asymmetric. Because the results observed in intact and hemiovariectomized animals subjected to the same treatments,

are different, it is concluded that the cholinergic neuroendocrine mechanisms regulating ovulation are related with the neural information arising from the ovaries, reaching the POA-AHA.

INTRODUCCION.

Las funciones del ovario están reguladas por señales neuroendócrinas que provienen del sistema nervioso central (que incluye áreas extrahipotalámicas e hipotalámicas), de la hipófisis y del propio ovario. Estas señales se suceden en forma secuencial y sincrónica (fenómeno en "cascada"), culminando en la ovulación. El hipotálamo regula en forma lateralizada la secreción de las gonadotropinas y cada gónada responde de manera asimétrica a las señales neuroendócrinas que provienen del sistema nervioso central y de la hipófisis (1, 14, 15, 16, 19, 20, 24, 25, 36, 41, 42, 43, 47, 59, 64, 65, 66, 67, 70, 71).

Uno de los sistemas de neurotransmisión que regula la secreción de las gonadotropinas y en consecuencia la ovulación, es el sistema colinérgico. Desde la década de los cuarentas, Everett y colaboradores (29) mostraron que este sistema estimula la secreción de las gonadotropinas durante la tarde del proestro. Posteriormente, Domínguez y colaboradores (27) observaron que esta regulación que ejerce el sistema colinérgico varía durante el ciclo estral.

Por otra parte sabemos que la concentración de la hormona hipotalámica que estimula la secreción de las gonadotropinas (GnRH) es diferente entre el lado derecho e izquierdo del hipotálamo medio basal (5, 47). Es posible que esta asimetría esté relacionada con diferencias anatómicas, morfológicas o bioquímicas, en la participación de los diversos sistemas de neurotransmisión que regulan la síntesis

y la liberación de la GnRH, entre cada lado del hipotálamo o de las áreas extrahipotalámicas que se relacionan funcionalmente con él.

Con el propósito de conocer si el sistema colinérgico del lado derecho o del lado izquierdo del área preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) participa en forma asimétrica en la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, se decidió analizar los efectos del bloqueo unilateral de la información neuroendócrina generada por el sistema colinérgico de POA-AHA, sobre la ovulación que se espera en el día del estro. Para bloquear al sistema colinérgico se utilizó la atropina, la que fue implantada en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, en los diferentes días del ciclo estral. Si el bloqueo unilateral del sistema colinérgico interrumpía en forma asimétrica la ovulación esperada en el día del estro, las cuestiones inmediatas a analizar serían:

¿La falta de ovulación era consecuencia de alteraciones en el crecimiento, la maduración y la atresia de los folículos ováricos? ¿Cuál de las señales neuroendócrinas, que generan cada uno de los compartimentos del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, había sido modificada?

Dado que se ha sugerido la existencia de una conexión neural entre el ovario y el hipotálamo (15, 27, 36, 41, 42, 45, 46, 47) y que la respuesta ovulatoria del animal hemiovariectomizado es diferente a la del que tiene ambas gónadas, aún cuando se traten experimentalmente en forma

semejante (15, 16, 24), también se decidió comparar las funciones del sistema colinérgico de POA-AHA sobre la regulación de la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario del animal entero y el hemiovariectomizado.

EL CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA OVULACION

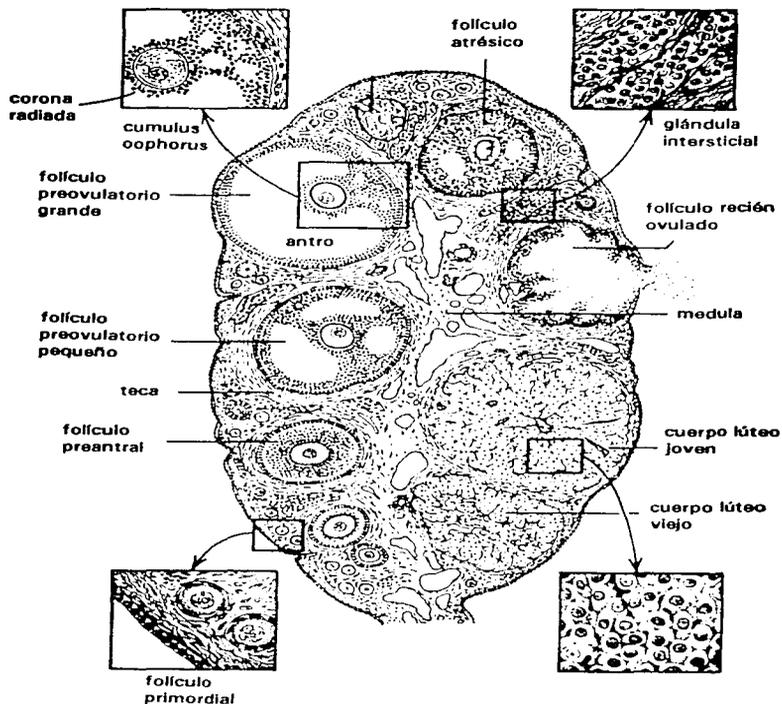
La señal ovárica

El ovario está formado por los folículos, que son la unidad anátomo-funcional de la gónada, a partir de los cuales se originan los tres compartimentos del órgano: el folicular, el luteal y el intersticial.

El folículo está formado por el ovocito I, una membrana basal que lo aísla, junto con las células de la granulosa, de los demás componentes del ovario y, por las células de la teca interna. La teca externa está formada por fibras colágenas, células del tejido conjuntivo, sustancia fundamental y fibras musculares lisas (26).

El crecimiento y la diferenciación del folículo finaliza con su ruptura y la expulsión del ovocito II o con la atresia [Esquema 1].

El folículo secreta 17β -estradiol y estrona, en proporciones que varían durante el ciclo estral. En la síntesis de los estrógenos participan dos tipos de células del folículo: 1) las células de la teca interna, que a partir de colesterol sintetizan andrógenos y, 2) las células de la granulosa, que aromatizan esos andrógenos a estrógenos (26,



Esquema 1. Los compartimentos del ovario. Corte transversal del ovario de la rata que muestra las diferentes etapas de desarrollo del folículo: folículo primordial; folículo preantral (que se caracteriza por aumento en el tamaño del ovocito y en el número de células de la granulosa); folículos antrales (formación de la cavidad antral y aumento aún mayor en el número de células de la granulosa). Estos últimos folículos se dividen en grandes y pequeños, según el tamaño de su cavidad antral. A su vez, los folículos antrales grandes se dividen en los preovulatorios pequeños (folículos que pueden ovular en el siguiente ciclo) y los preovulatorios grandes (que ovularán en ese ciclo (50, 80).

La síntesis de los estrógenos es regulada por varias hormonas, cada una de ellas estimula o inhibe pasos específicos de la biosíntesis (26, 28, 50).

La hormona estimulante del folículo (FSH), estimula la aromatización de los andrógenos a estrógenos en las células de la granulosa, por sus efectos sobre la actividad de la enzima aromatasa. La hormona luteinizante (LH) regula la síntesis de los estrógenos al estimular la producción de andrógenos en las células de la teca y la actividad de la aromatasa en las células de la granulosa. La prolactina, la GnRH, la oxitocina, el factor de crecimiento epidermal, la vasopresina y los corticoides suprarrenales inhiben la producción de estrógenos por sus efectos primordiales sobre la síntesis de andrógenos, mientras que la noradrenalina y la prostaglandina E_2 la estimulan (26, 50).

En las células de la granulosa de los folículos antrales grandes y preovulatorios pequeños, la FSH estimula la síntesis de progesterona, efecto que es reforzado por la prolactina y los andrógenos, e inhibido por la prostaglandina F_2 . En el folículo preovulatorio grande, la síntesis de progesterona es estimulada por la LH, la prolactina y la noradrenalina (26, 50).

Además de las hormonas esteroideas, el ovario sintetiza y secreta péptidos con actividad hormonal tales como la inhibina, el factor inhibidor del ovocito, el factor inhibidor de la unión de la FSH a sus receptores, la hormona inhibidora de la luteinización y la gonadocrinina (GnRH de

origen ovárico) (50).

Se ha mostrado que en el antro de los folículos antrales grandes la concentración de estrógenos es mucho más alta que en la sangre; y que ésta alcanza un máximo inmediatamente antes de la secreción preovulatoria de la LH. Estos estrógenos al pasar a la circulación provocan que su concentración aumente en la sangre, fenómeno que se conoce como secreción preovulatoria de estrógenos (50). Según Fink (31), la secreción preovulatoria de estrógenos es el primer evento del fenómeno en "cascada", que nosotros referiremos como señal ovárica.

La señal hipotalámica

La señal ovárica estimula la secreción de la GnRH (señal hipotalámica) e incrementa la sensibilidad de la hipófisis a esta hormona.

La GnRH es sintetizada por neuronas (GnRHérgicas) que se localizan en diferentes regiones del sistema nervioso central. Las neuronas GnRHérgicas no se encuentran como agregados neuronales, sino como redes extensas y difusas. La red más importante, por su participación directa en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (FSH y LH), está constituida por neuronas GnRHérgicas que forman un continuo desde la banda diagonal de Broca hasta el área septal (que incluye el núcleo septal triangular y medial), el núcleo de la estria terminal y las áreas diencefálicas (que abarca al núcleo periventricular, las áreas preóptica medial

y lateral, al área hipotalámica anterior y la zona retroquiasmática). También forman parte de este continuo, grupos de neuronas GnRHérgicas del hipotálamo lateral y del núcleo supraóptico. Las neuronas GnRHérgicas proyectan sus fibras hacia la eminencia media por la ruta septo-preóptica-infundibular y la del haz terminal septo-preóptico (80).

Las neuronas GnRHérgicas del área septal-preóptica proyectan fibras hacia el órgano vasculoso de la estría terminal; estas mismas neuronas también envían fibras hacia áreas extrahipotalámicas como la amígdala, el complejo mamilar, el área tegmental ventral, el cerebro medio, el rafe y la región periacueductal (80) [Esquema 2].

La síntesis y la liberación de la GnRH está modulada por las hormonas esteroides, por péptidos y neurotransmisores. La adrenalina, la noradrenalina y la acetilcolina estimulan la síntesis y la secreción de la GnRH, en tanto que la morfina y posiblemente la dopamina inhiben su liberación (13, 31).

La mayoría de las terminales noradrenérgicas que se localizan en el hipotálamo provienen de los cuerpos neuronales que están en el cerebro medio y posterior, mientras que las colinérgicas se sitúan en el núcleo cuneiforme de la formación reticulada mesencefálica, en la substancia negra y en el área tegmental ventral. Los somas dopaminérgicos se encuentran en el núcleo arcuato y ventromedial (sistema tuberoinfundibular: neuronas TIDA), en la zona incerta, en el cerebro medio y posterior (80).

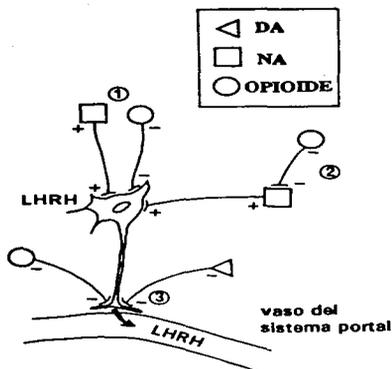
Las encefalinas y las endorfinas regulan la liberación de la GnRH; los cuerpos neuronales que sintetizan estos opioides se localizan en el núcleo arcuato. La serotonina, que proviene de las neuronas situadas en el cerebro medio, también regula la secreción preovulatoria de la GnRH (13, 31).

Otros péptidos y neurotransmisores que participan en la regulación de la secreción de la GnRH son, entre otros: el ácido gama amino butírico (GABA), la sustancia P, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), la colecistoquinina, la oxitocina, la galanina, el neuropéptido Y, la angiotensina II, la neurotensina, el glutamato, el aspartato y el neuropéptido K (13).

Se ha mostrado que la mayoría de las neuronas GnRHérgicas no tienen receptores nucleares a estrógenos (78); este hecho permite sugerir que los estrógenos no actúan directamente sobre las neuronas GnRHérgicas, sino que estimulan la secreción preovulatoria de la GnRH al actuar en otro tipo de neuronas que hacen sinápsis con la neurona GnRHérgica y afectan su actividad (80) [Esquema 3].

La señal hipofisaria

La GnRH estimula la secreción de la LH y en menor proporción la de la FSH. La secreción preovulatoria de los estrógenos es esencial para iniciar y mantener una respuesta mayor de la hipófisis a la GnRH, proceso en el que la progesterona actúa sinérgicamente (31).



Esquema 3. Posibles mecanismos de la acción de los estrógenos sobre la secreción preovulatoria de la GnRH. 1: Estimulación de las neuronas noradrenérgicas (NA) o inhibición de las neuronas sintetizadoras de opioides; 2: desinhibición de las neuronas NA por la inhibición de las neuronas opioides; 3: inhibición de las neuronas dopaminérgicas y opioides en la eminencia media (31).

La secreción preovulatoria de las dos gonadotropinas es el resultado de dos eventos que ocurren simultáneamente:

1) el aumento en la frecuencia y la amplitud de los pulsos de secreción de las neuronas GnRHérgicas, lo que provoca que aumente la concentración de la GnRH en la sangre del sistema portal y,

2) el aumento progresivo de la sensibilidad de los gonadotropos a dicha hormona (llamado efecto de imprimación de la GnRH) (31).

En la rata, la secreción preovulatoria de la FSH ocurre aproximadamente once horas después que el de la LH. Esta disociación entre las dos gonadotropinas puede ser el resultado de los siguientes factores:

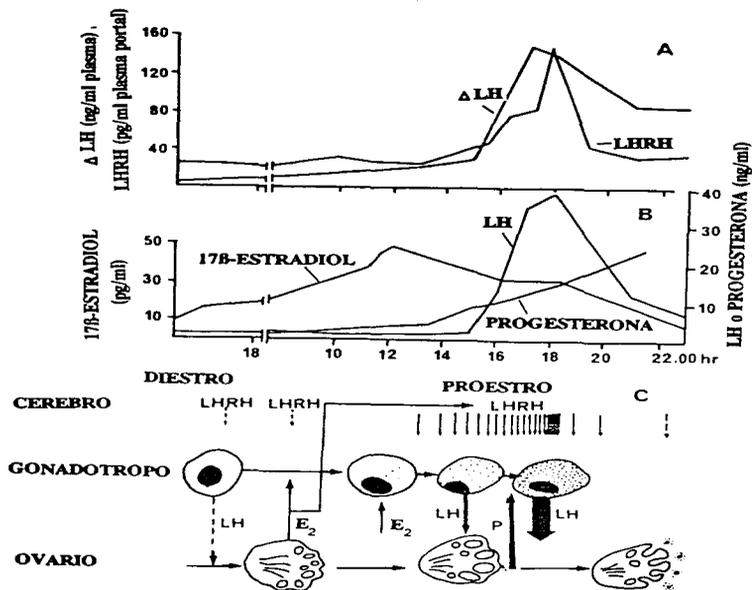
1) Que exista una hormona que estimule en forma específica, la secreción de la FSH.

2) Que los esteroides, la inhibina y otros factores alteren en forma diferencial la respuesta de los gonadotropos a la GnRH.

3) Que la secreción de la LH, pero no la de FSH, dependa de que la hipófisis este expuesta a la GnRH minuto a minuto, mientras que la secreción de la FSH sea iniciada por la GnRH y luego sea independiente de ella (31).

En el esquema 4 se muestra la "cascada" de eventos neuroendócrinos que ocurren en la rata, durante los días del diestro 2 y del proestro, que culminan con la ovulación. En la sección A se observan los cambios en la sensibilidad de la

hipófisis, representada por el incremento máximo promedio de la LH en sangre periférica después de la inyección intravenosa de 50 ng LHRH/100g (Δ LH) y por la concentración promedio de la GnRH en la sangre del sistema portal hipofisario. En la sección B, se representan las concentraciones plasmáticas promedio de 17 β -estradiol, LH y progesterona. En la sección C, se esquematiza que el incremento en la concentración de 17 β -estradiol en el plasma (señal ovárica), resultado del crecimiento y la diferenciación de los folículos con antro grande y preovulatorios, incrementa la respuesta de los gonadotropos de la hipófisis a la GnRH (representado por el mayor número de puntos en la célula) y aumenta la frecuencia de disparo de las neuronas GnRHérgicas. La respuesta de la hipófisis a la GnRH es facilitada por la progesterona secretada por los ovarios preovulatorios grandes, que responden a la LH que se libera durante la primera fase de la secreción preovulatoria de la LH y por el efecto de imprimación de la GnRH. El efecto de imprimación de la GnRH, la secreción preovulatoria de la GnRH y el aumento en la respuesta de los gonadotropos a la misma, alcanzan su máximo al mismo tiempo, lo que induce la secreción preovulatoria de la LH. Esta "cascada" de eventos finaliza con la ruptura del folículo preovulatorio, cuyo ovocito I reinicia la división meiótica por estímulo de la LH, transformándose en un ovocito II, el cual es expulsado a la trompa uterina (ovulación).



Esquema 4. Representación de la "cascada" de eventos neuroendócrinos del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, durante los días del diestro 2 y del proestro del ciclo estral de la rata (31).

EL PAPEL DEL SISTEMA COLINERGICO EN LA REGULACION DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO

Desde la década de los cuarentas, Everett y colaboradores (29) mostraron que el sistema colinérgico participa de manera estimulante, en la regulación de la secreción preovulatoria de la LH que ocurre en el día del proestro, al observar que la inyección subcutánea de 700 mg/kg de sulfato de atropina, bloquea la ovulación esperada en la mañana del día siguiente. Además, observaron que esta dosis de atropina es efectiva de las 14:00 a las 16:00 horas de este día del ciclo, intervalo que denominaron "período crítico".

Posteriormente, Domínguez y colaboradores (27) mostraron que el grado de participación del sistema colinérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas es diferente en cada día del ciclo estral, ya que la dosis de atropina necesaria para bloquear al 100% de los animales tratados, también depende del día del ciclo estral. Así, en el día del estro se requiere de 300 mg/kg; en el diestro 1 y diestro 2, de 100 mg/kg y en el proestro de 700 mg/kg. Además, mostraron que la participación del sistema colinérgico no sólo depende del día del ciclo, sino de la hora del día, ya que la administración de la dosis mínima efectiva (100 mg/kg) a diferentes horas de cada día del ciclo estral, interrumpe la ovulación de los animales en diferente proporción según la hora y el día del ciclo que se considere.

Se ha sugerido que la liberación de la GnRH ocurre por

la estimulación de los receptores muscarínicos, ya que en estudios in vitro se ha mostrado que la acetilcolina estimula la liberación de la FSH y de la LH cuando la hipófisis es coincubada con fragmentos de hipotálamo; efecto que es bloqueado por la atropina (32, 81).

Por el contrario, la liberación preovulatoria de la LH que ocurre en el día del proestro sería detenida por la estimulación de los receptores nicotínicos, ya que la administración de nicotina durante el "período crítico" del proestro, suspende la liberación de la LH pero no la de la FSH. Bajo estas mismas condiciones experimentales, la administración de GnRH estimula la liberación de la LH pero no la de la FSH (8).

Tanto en POA-AHA como en la adenohipófisis, la afinidad de los receptores muscarínicos varía durante el ciclo estral, siendo mayor en el día del proestro (3, 4, 62). La estimulación del sistema colinérgico, por la administración de fármacos colinomiméticos estimulan la división mitótica de los gonadotropos que sintetizan LH (77). Además se ha mostrado que la actividad de la acetilcolinesterasa del hipotálamo varía durante el ciclo estral (17).

Las funciones del sistema colinérgico, medidas por la actividad de la colino-acetil-transferasa (CAT), por el contenido o la liberación de la acetilcolina y por la densidad o la afinidad de sus receptores, está regulada por las hormonas esteroideas (56). La porción rostral del núcleo preóptico medial, el núcleo amigdaloides medial posterior y el

área tegmental ventral parecen estar involucradas en el sistema de neuronas colinérgicas que estimulan la secreción de la LH, ya que en la rata macho, la castración provoca aumento de la actividad de la CAT y de la concentración de acetilcolina en estas áreas del sistema nervioso central (63).

En el animal hemiovariectomizado, la información neuroendócrina generada por los receptores colinérgicos de la zona anterior del hipotálamo participa en la regulación del proceso de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, ya que el implante bilateral de sulfato de atropina inhibe este proceso (61).

LA ASIMETRIA Y LATERALIZACION DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.

Uno de los criterios morfológicos que se utilizan para clasificar a los animales es el tipo de simetría. Casi todos los animales son bilateralmente simétricos, es decir, sus cuerpos pueden dividirse por un plano en dos partes iguales (la derecha y la izquierda); de tal forma que ambas partes son imágenes especulares una de la otra. Sin embargo, en algunos de sus órganos internos puede haber asimetría, la cual puede estar vinculada con aspectos anatómicos, morfológicos, ultraestructurales, bioquímicos y funcionales.

Desde hace más de 120 años se describe la existencia de elementos asimétricos en el cerebro (9). Aún cuando la predominancia del uso de la mano derecha se había reconocido mucho tiempo antes, no se había considerado la posibilidad de

que la preferencia manual tuviese su origen en la organización del cerebro. No fue sino hasta después de la segunda guerra mundial que se mostró que en el hombre, el hemisferio cerebral izquierdo participa preferentemente en la expresión del habla y la habilidad manual (diestro, siniestro), mientras que el hemisferio derecho está relacionado con las manifestaciones emocionales, las aptitudes musicales y la atención. Esta asimetría funcional del cerebro en la regulación del habla se acompaña de asimetría en el tamaño, el peso y la superficie del área de Wernicke, que controla esta función (38).

Cada lado del cerebro humano está especializado en la expresión de algunos estados de ánimo. Así, uno de los hemisferios está más relacionado con las manifestaciones de alegría y júbilo, y el otro con las de depresión (37, 39). La evaluación de la respuesta típica al ácido lisérgico (LSD), en pacientes que fueron sometidos a una lobectomía temporal, desaparece después de extirpar el lóbulo temporal derecho y no el izquierdo (79).

Esta asimetría funcional va aparejada a diferencias en el tamaño de diversas estructuras cerebrales y, en algunos casos, estas diferencias dependen del sexo. Por ejemplo, en la rata, la corteza cerebral y el hipocampo del lado derecho son más grandes en los machos, en tanto que en las hembras ocurre lo contrario (22).

La asimetría no se restringe a los aspectos macroscópicos, sino que también incluye el tamaño de las

neuronas y la distribución de sus dendritas. Por ejemplo, en el hombre, las neuronas de la corteza auditiva primaria del lado izquierdo son más grandes que las del lado derecho; el número de sinapsis dendríticas del lado derecho de la corteza de asociación es mayor que en el izquierdo (2); la distribución de las fibras simpáticas y parasimpáticas que inervan uno y otro lado del corazón, el intestino y otros órganos de la cavidad abdominal es desigual (40).

Estas asimetrías funcionales y anatómicas pueden acompañarse o no, de diferencias en el contenido de neurotransmisores y de algunos aminoácidos esenciales.

En la rata se describen como simétricas las concentraciones de (60, 69, 71, 74, 86):

- a) noradrenalina en el hipotálamo medio basal y el locus ceruleus
- b) opioides, dopamina, serotonina, acetilcolina y receptores β -adrenérgicos en el hipocampo
- c) alanina, glicina, treonina, serina, GABA, aspartato y glutamato en la corteza cerebral, y como asimétricas:
- d) la cantidad de dopamina en la corteza cerebral y el núcleo acumbens
- e) la concentración de noradrenalina en el cuerpo estriado y en el tálamo
- f) la concentración de serotonina en el cuerpo estriado y el núcleo acumbens.

En el hombre se han observado asimetrías en las concentraciones de (49):

- a) noradrenalina en el tálamo
- b) GABA y descarboxilasa del ácido glutámico en el cerebro
- c) dopamina y la actividad de la CAT en globo pálido, en el cuerpo estriado y en el putamen.

Ciertas conductas también están relacionadas con asimetrías bioquímicas. Por ejemplo, la rata hembra corre preferencialmente hacia la derecha, mientras que el macho, lo hace hacia la izquierda. Este hecho puede estar vinculado a la concentración de dopamina en los cuerpos estriados, la que es un 15% mayor en el lado opuesto al que el animal corre (49).

En el pollo de 2 días de edad, la inhibición unilateral de la síntesis de proteínas con ciclohexamida, o de neurotransmisores con glutamato, en el hemisferio cerebral estriado, modifica el aprendizaje por discriminación visual o la conducta copulatoria según el lado en que se inyecte el fármaco (2). Estos resultados llevan a pensar que la respuesta asimétrica del animal a las drogas, es el resultado de la distribución asimétrica de receptores relacionados con dichos fármacos (40).

La asimetría fisiológica puede ocurrir aunque no existan disimilitudes anatómicas. Por ejemplo, el canto de las aves paserinas está controlado por el núcleo hiperestriado ventral del hemisferio izquierdo, el que es anatómicamente simétrico. Este hecho sugiere que el patrón de las conexiones neurales es asimétrico, de tal forma que cada lado podría controlar

diferente función. De hecho, cada lado de la siringe de estas aves controla en forma diferente la vocalización, ya que la sección del nervio hipogloso izquierdo altera el canto del ave, mientras que la sección del nervio derecho no tiene efectos significativos (2).

En la rata, la ligadura de la arteria cerebral media derecha, provoca hiperactividad de los animales, disminución de la concentración de noradrenalina en toda la corteza y el locus ceruleus, así como de dopamina en la sustancia negra; mientras que la ligadura de la misma arteria, pero del lado izquierdo, no tiene efectos (72).

Como podemos observar, la simetría bilateral externa, puede o no acompañarse de asimetrías funcionales, bioquímicas, ultraestructurales, conductuales o todas a la vez.

LOS ASPECTOS ASIMETRICOS DE LA FUNCION REPRODUCTORA.

Resultados experimentales de varios autores han mostrado que la regulación neuroendócrina que ejerce el hipotálamo, sobre la función de uno y otro ovario, es asimétrica (1, 12, 14, 15, 16, 36, 41, 42, 59, 64, 65, 66, 67). A la fecha, no se cuenta con datos que indiquen que esta asimetría funcional se acompañe de asimetrías anatómicas. Al respecto sólo sabemos que la cantidad de GnRH en el lado derecho del hipotálamo medio basal es significativamente mayor que en el izquierdo (5, 47).

No hay que dejar de considerar que esa asimetría funcional y bioquímica del hipotálamo, sea el resultado de diferencias bioquímicas y anatómicas de las diversas señales neuroendócrinas que regulan la secreción de la GnRH, como pueden ser las que provienen del propio ovario; ya que la extirpación de uno de los ovarios aumenta significativamente el contenido de GnRH en el hipotálamo del mismo lado que se extrajo el ovario (47). La hemiovariectomía del lado derecho aumenta la asimetría en el contenido de GnRH, mientras que la del lado izquierdo la disminuye (42, 47).

La región preóptica responde de manera asimétrica a las hormonas esteroides. El implante de estradiol en el lado derecho de POA o el núcleo ventromedial de ratas hembras prepúberes provoca masculinización cuando los animales llegan a la edad adulta (estas hembras prefieren sexualmente a otras hembras). En cambio, cuando el estradiol se implanta en el lado izquierdo, ocurre defeminización (los animales no tienen ciclos estrales (67)).

Asimismo, el lado derecho de AHA parece jugar un papel más importante en el proceso de hipertrofia compensadora del ovario que el lado izquierdo, ya que en la rata hemiovariectomizada, la deaferentación del lado derecho de esta área previene la hipertrofia compensadora del ovario remanente, en tanto que la deaferentación del lado izquierdo no la modifica (36); la lesión unilateral de esta misma área del hipotálamo con ácido kaínico, bloquea la hipertrofia compensadora sólo si la lesión y la hemiovariectomía se hacen

del mismo lado (64).

En la rata prepúber el proceso de hipertrofia compensadora del ovario parece estar controlado por el hipotálamo izquierdo, ya que su deaferentación bloquea la hipertrofia compensadora del ovario, en tanto que la deaferentación del hipotálamo derecho no modifica este proceso (66).

Cada lado de POA-AHA regula la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario ipsilateral, siendo esta regulación asimétrica respecto al ovario contralateral, mientras que el hipotálamo medio (que comprende a los núcleos arcuato y ventromedial) regula la ovulación de uno u otro ovario de manera estimulante, y de manera asimétrica la hipertrofia compensadora de cada ovario (15) [Cuadro 1].

En el animal intacto las regiones media y posterior del hipotálamo regulan en forma asimétrica el peso de los ovarios; ya que la lesión del lado derecho de estas áreas lo disminuye, mientras que el lado izquierdo lo aumenta (16).

Esta asimetría neuroendócrina descrita para la rata hembra, también existe en el macho. La extirpación del testículo derecho incrementa el contenido de GnRH en el núcleo arcuato y en la eminencia media del mismo lado, sin modificar la del izquierdo (59). El incremento en la concentración plasmática de la FSH, que se da después de extirpar uno de los testículos, depende de que se mantenga la conexión neural entre la gónada y el hipotálamo del mismo lado (65).

LESION	OVULACION		HIPERTROFIA COMPENSADORA	
	Ovario Derecho	Ovario Izquierdo	Ovario Derecho	Ovario Izquierdo
ANTERIOR DERECHO	↓	Normal	↓	↑
ANTERIOR IZQUIERDO	Normal	Cero	Normal	↑
MEDIO DERECHO	↓	↓	↓	↑
MEDIO IZQUIERDO	↓	↓	↓	Normal

CUADRO 1. RESUMEN DE LOS EFECTOS DE LA LESION UNILATERAL DEL HIPOTALAMO SOBRE LA OVULACION Y LA HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO in situ DERECHO E IZQUIERDO, EN EL ANIMAL HEMIOVARIETOMIZADO. Los efectos de la lesión unilateral están comparados con la respuesta del ovario del animal hemiovariectomizado. Las flechas hacia arriba indican aumento, las flechas hacia abajo, disminución y el cero, que no ocurrió la respuesta (15).

SECCION VAGAL	OVARIO DERECHO		OVARIO IZQUIERDO	
	Ovulacion	Hipertrofia	Ovulacion	Hipertrofia
IPSILATERAL	Normal	↓	↑	↑
CONTRALATERAL	↓	↓	Normal	↓

CUADRO 2. RESUMEN DE LOS EFECTOS DE LA SECCION DEL NERVIU VAGO SOBRE LA RESPUESTA FUNCIONAL (OVULACION E HIPERTROFIA COMPENSADORA) DEL OVARIO in situ DERECHO O IZQUIERDO, DEL ANIMAL HEMIOVARIETOMIZADO. Los efectos de la sección del nervio vago están comparados con la respuesta del ovario in situ del animal hemiovariectomizado. Las flechas hacia arriba indican aumento y hacia abajo, disminución de la respuesta (20).

La prolactina es otra gonadotropina cuya síntesis y liberación está regulada en forma asimétrica. Tanto en el ser humano (51) como en la rata (44), la mastectomía modifica la concentración de prolactina en la sangre, fenómeno que depende de la mama extirpada. Si se extrae la derecha, el animal tiene concentraciones muy elevadas de prolactina en la sangre (hiperprolactinemia); por el contrario, la ablación de la mama izquierda, provoca hipoprolactinemia (44). Del mismo modo, la sección del nervio vago izquierdo a la altura de las vértebras cervicales, incrementa la concentración basal de la hormona (43).

No sólo cada lado del hipotálamo regula en forma lateralizada la función de una y otra gónada, sino que la misma responde de manera asimétrica a los mecanismos neuroendócrinos que la regulan. Así, el número de ovocitos liberado por el ovario izquierdo de la rata adulta es mayor que el del derecho (25); cuando se extirpa el ovario derecho, el número de animales que ovulan es significativamente menor que cuando se extirpa la gónada izquierda (20); en la cerda, el número de receptores a la gonadotropina coriónica humana (hCG), la concentración de progesterona, la actividad de la B-N-acetil-D-glucosaminidasa y de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa son mayores en los cuerpos lúteos del ovario izquierdo que en los del derecho (70); la concentración de testosterona en la vena testicular aumenta al doble en el 58% de los animales hemicastrados del lado izquierdo, mientras que sólo ocurre en el 27% de los que fueron hemicastrados del

lado derecho (34).

La respuesta del ovario a la acción de las gonadotropinas también depende de la integridad del nervio vago derecho o izquierdo, ya que cuando se deja el ovario izquierdo in situ y se secciona el nervio vago del mismo lado, aumentan la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario. Por el contrario, si se secciona este mismo nervio, pero el ovario in situ es el derecho, disminuyen estos parámetros. La sección del nervio vago del lado derecho no modifica la ovulación compensadora del ovario in situ (20) y reduce el grado de hipertrofia compensadora (11) [Cuadro 2].

En el ovario de la rata inmadura, el número de fibras que contienen el péptido intestinal vasoactivo (VIP), péptido que estimula la liberación de los estrógenos, está regulada por POA-AHA, ya que la lesión del lado izquierdo, derecho o de ambos incrementa el contenido del VIP en el ovario izquierdo y no modifica las del derecho (1).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario intervienen señales neuroendócrinas (hormonales y nerviosas) generadas por los tres componentes del eje, así como por estructuras de zonas extrahipotalámicas.

Los efectos producidos por lesiones y deaferentaciones unilaterales del componente central del eje, la sección de las posibles vías nerviosas de comunicación bidireccional entre el sistema nervioso central y las gónadas, y la

extirpación de una de las gónadas, han permitido proponer que su participación en la regulación de las funciones del eje es lateralizada.

¿Cuáles son los hechos anatomo-funcionales que explican que el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, específicamente el hipotálamo y el ovario, funcionen en forma asimétrica?. Las posibles interpretaciones al respecto serían:

- 1) Diferencias anatómicas, funcionales o ambas entre las neuronas GnRHérgicas de uno y otro lado del hipotálamo; lo que explicaría la concentración asimétrica del péptido (5, 47).
- 2) Diferencias funcionales de los sistemas de neurotransmisión o de los péptidos de uno y otro lado del sistema nervioso central que regulan directa o indirectamente, la actividad de la neurona GnRHérgica.
- 3) Diferencias anatómicas, funcionales o ambas entre uno y otro ovario, reguladas a su vez, por disimilitudes en el tipo y calidad de información nerviosa aferente a la gónada.
- 4) Diferencias en la información neuroendócrina que intercambia el hipotálamo con cada gónada.

Uno de los sistemas de neurotransmisión que regula la secreción de las gonadotropinas y, en consecuencia la ovulación, es el sistema colinérgico. En general se la ha dado poca importancia al significado funcional de este sistema en los mecanismos de regulación, a pesar de que sabemos que la influencia estimulante que ejerce sobre la

secreción de las gonadotropinas varía durante el ciclo estral y de que su actividad puede ser modificada por los estrógenos (27, 56).

Con base en lo anterior, durante el presente trabajo se decidió analizar si la función asimétrica del eje hipotálamo-hipófisis-ovario está vinculada con diferencias funcionales en el sistema colinérgico de uno y otro lado del hipotálamo.

Para ello se estudiaron los efectos del bloqueo unilateral del sistema colinérgico de POA-AHA, sobre la ovulación, realizado en alguno de los días del ciclo estral. Con el propósito de saber si el bloqueo del sistema colinérgico de POA-AHA altera la señal hipotalámica, hipofisaria, ovárica o todas a la vez, se analizaron los efectos del reemplazo de cada una de estas señales neuroendócrinas sobre la ovulación.

Con la finalidad de saber si la regulación asimétrica del hipotálamo sobre el ovario no sólo implica aspectos hormonales sino también nerviosos, se analizaron los cambios en la población folicular de uno y otro ovario de los animales con bloqueo unilateral del sistema colinérgico, realizado en los distintos días del ciclo estral.

Finalmente, como una forma de estudiar la posible conexión neural entre la gónada y el hipotálamo, se evaluaron los efectos de la extirpación de uno de los ovarios sobre la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-ovario al bloqueo unilateral del sistema colinérgico, sobre la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario in situ.

HIPOTESIS

Si la función lateralizada del eje hipotálamo-hipófisis-ovario está vinculada a diferencias entre el lado derecho e izquierdo del sistema colinérgico de POA-AHA, entonces el bloqueo unilateral de este sistema interrumpirá la ovulación en forma asimétrica como resultado de modificaciones en la señal neuroendócrina generada por el hipotálamo, la hipófisis y el ovario, o en la sensibilidad de alguno de los componentes del eje a dichas señales neuroendócrinas.

Si la conexión nerviosa bidireccional entre el hipotálamo y el ovario es otro de los factores involucrados en la función lateralizada del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, entonces la extirpación de un ovario modificará los efectos del bloqueo unilateral del sistema colinérgico observado en el animal con ambas gónadas, así como la sensibilidad de alguno de los componentes del eje a dichas señales neuroendócrinas.

OBJETIVOS

1. Estudiar si los mecanismos neuroendócrinos colinérgicos de POA-AHA relacionados con la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario presentan lateralización.
2. Estudiar si la lateralización del sistema colinérgico de POA-AHA depende de información neuroendócrina proveniente de los ovarios.

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 (Purina) y al agua. Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Anestesal, 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 (54). 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.

BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DE POA-AHA EN RATAS INTACTAS.

Para estudiar si el sistema colinérgico del lado derecho o izquierdo de POA-AHA participa en forma lateralizada en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, se evaluaron

los efectos del implante unilateral de atropina, en cada uno de los días del ciclo estral.

Para ello, a las 13:00 horas del día del estro, del diestro 1, del diestro 2 ó del proestro, en la cánula directriz se introdujo otra cánula (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.

Dado que la atropina implantada estaba en forma cristalina, no fue posible administrar al grupo testigo un vehículo, por lo que se optó por implantar el colesterol, que aunque no tiene una estructura física semejante, ha sido utilizado por otros investigadores (84). El colesterol fue implantado a las 13:00 horas del día del estro.

EFFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA SOBRE LA DISTRIBUCION DE LA POBLACION FOLICULAR Y LA ATRESIA

Para analizar si la falta de ovulación en los animales con implante unilateral de atropina en los diferentes días del ciclo estral está vinculada con modificaciones en el crecimiento, la maduración o la atresia de los folículos, los ovarios de cinco animales sin tratamiento, autopsiados el día del estro vaginal o con implante unilateral de colesterol o de atropina, realizados en el día del estro, del diestro 1, del diestro 2 o del proestro, sacrificados en el día del

estro vaginal esperado, fueron fijados en solución de Bouin, deshidratados, incluidos en parafina, cortados a 10 μm en forma seriada y teñidos con hematoxilina-eosina.

En uno de cada diez cortes se midieron, con la ayuda de un ocular micrométrico, el diámetro mayor y su perpendicular, de todos los folículos que presentaron el núcleo y el nucléolo del ovocito. Los diámetros medidos fueron utilizados para calcular el diámetro promedio de cada folículo y clasificarlos en (52):

- 1) folículos de reserva: diámetro menor de 391 μm
- 2) folículos preovulatorios pequeños: diámetro entre 391 y 500 μm
- 3) folículos preovulatorios grandes: diámetro mayor de 500 μm

El número de folículos observados en cada categoría se expresaron como el porcentaje del total de los folículos medidos en ese ovario. Finalmente, para cada grupo experimental se calculó el promedio de los porcentajes obtenidos de la población folicular del ovario izquierdo y del derecho de los cinco animales.

Aquellos folículos que presentaron alteraciones morfológicas del ovocito, células foliculares en el antro folicular o ambas características fueron considerados como folículos atrésicos.

Para saber si el crecimiento, la maduración y la atresia de los folículos ya había sido afectada 24 horas antes de la ovulación por el implante unilateral de atropina en POA-

AHA, los ovarios de otros grupos de animales con implante de atropina en estro (lado derecho), diestro 1 (lado derecho e izquierdo) o diestro 2 (lado izquierdo), sacrificados en la mañana del día del proestro esperado, fueron procesados en igual forma para realizar el estudio de la población folicular.

ANALISIS DE LOS MECANISMOS QUE PARTICIPAN EN EL BLOQUEO DE LA OVULACION PRODUCIDO POR EL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA.

Una de las formas de analizar cuales son los mecanismos por los que el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, inducido por el implante de atropina, interrumpe la ovulación es responder a las siguientes preguntas:

¿La falta de ovulación es provocada por alteraciones en la señal hipotalámica, en la señal hipofisaria, en la señal ovárica, en la respuesta de las gónadas o del hipotálamo a las señales neuroendócrinas, o de todos los factores a la vez?

Para responder a esta pregunta, animales en los que el implante unilateral de atropina bloqueó la ovulación (estro: lado derecho, diestro 1: lado derecho o izquierdo, diestro 2: lado izquierdo), fueron asignados a uno de los siguientes experimentos:

Experimento 1. REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOTALAMICA:

A las 13:00 horas del día del proestro esperado del ciclo en estudio, los animales con implante unilateral de atropina fueron inyectados por vía subcutánea con 3.7 µg/kg de [Gly-OH]-LHRH sintética (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.).

Experimento 2. REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOFISARIA EN EL DIA DEL PROESTRO

A las 13:00 horas del día del proestro esperado del ciclo en estudio, los animales con implante unilateral de atropina fueron inyectados por vía subcutánea, con 20 u.i. de la gonadotropina coriónica humana (hCG) (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.).

Experimento 3. REEMPLAZO DE LA SEÑAL OVARICA

Para conocer cuales son los factores que condicionan la falta de las señales hipotalámica e hipofisaria, a las 14:00 horas del día del diestro 2, a cada rata con implante unilateral de atropina se le administró por vía subcutánea, 10 µg de benzoato de estradiol (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.).

Con el propósito de saber si la respuesta del ovario a la LH fue modificada por el implante unilateral de atropina y, por lo tanto haya faltado la señal ovárica que estimula la secreción preovulatoria de GnRH, se realizaron los siguientes experimentos:

Experimento 4. RESPUESTA DEL OVARIO A LA SEÑAL HIPOTALAMICA E HIPOFISARIA EN OTROS DIAS DEL CICLO ESTRAL

4.1: REEMPLAZO DE LA LH

A las 14:00 horas del día del diestro 2, los animales con implante unilateral de atropina fueron inyectados por vía subcutánea, con 20 u.i. de hCG.

4.2: REEMPLAZO DE LA FSH

Una hora después de colocado el implante unilateral de atropina, los animales fueron inyectados por la misma vía, con 8 u.i. de gonadotropina del suero de yegua preñada (PMSG) (Sigma Chem.Co., St.Louis, Ms., EE.UU.).

4.3: REEMPLAZO DE LA GnRH

Una hora después de colocado el implante de atropina, a cada animal se le administraron 3.7 µg/kg de [Gly-OH]-LHRH.

BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DE POA-AHA EN RATAS HEMIOVARIETOMIZADAS.

Con el propósito de estudiar si la conexión neural bidireccional entre el ovario y el hipotálamo, es otro de los factores que explican la función asimétrica del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, a animales que presentaron por lo menos dos ciclos consecutivos de 4 días de duración, se les implantó en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, la cánula directriz e inmediatamente después se extirpó el ovario ipsi o contralateral a la cánula. Para ello se efectuó

una incisión lateral sobre la piel, se exteriorizó el ovario, se ligó el pedículo y se extrajo la gónada.

Una vez finalizada la intervención quirúrgica, se separó la trompa uterina del ovario extirpado y se contó el número de ovocitos liberados; el ovario fue disecado y pesado en balanza de precisión.

Veinticuatro horas después de la cirugía se inició la toma de frotis vaginales. Una vez que los animales presentaron dos ciclos consecutivos de 4 días, a las 13:00 horas del día del estro, se implantó la atropina. Como grupo testigo se utilizaron animales hemiovariectomizados con implante unilateral de colesterol.

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN EL BLOQUEO DE LA OVULACION Y DEL DESARROLLO DE LA HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO DE LA RATA HEMIOVARIETOMIZADA, INDUCIDO POR EL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA.

Para conocer los mecanismos por los que el bloqueo unilateral del sistema colinérgico interrumpió la ovulación del ovario *in situ*, ratas hemiovariectomizadas con implante de atropina colocado en el día del estro, en el lado izquierdo de POA-AHA, fueron inyectadas con las mismas dosis de las hormonas inyectadas en los animales enteros con implante:

1. GnRH a las 13:00 horas del proestro esperado
2. Benzoato de estradiol a las 14:00 horas del diestro 2
3. hCG a las 14:00 horas del diestro 2
4. PMSG una hora después de colocado el implante

Procedimiento de autopsia

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación; a la autopsia se disecaron las trompas uterinas, donde se buscó la presencia de ovocitos, los que en su caso, fueron contados con la ayuda de un microscópio 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 100 gramos de peso corporal (mg/100g).

Para el caso de los animales hemiovariectomizados, los resultados del número de ovocitos liberados por el ovario in situ, se expresó como ovulación compensadora, calculada como:

$$\frac{\begin{array}{l} \# \text{ ovocitos del ovario} \\ \text{in situ} \end{array} - \begin{array}{l} \# \text{ ovocitos del ovario} \\ \text{extirpado} \end{array}}{\begin{array}{l} \# \text{ ovocitos del ovario} \\ \text{extirpado} \end{array}} \times 100$$

La hipertrofia compensadora del ovario se calculó como:

$$\frac{\begin{array}{l} \text{peso del ovario} \\ \text{in situ} \end{array} - \begin{array}{l} \text{peso del ovario} \\ \text{extirpado} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{peso del ovario} \\ \text{extirpado} \end{array}} \times 100$$

El cerebro de los animales se fijó en solución de formol al 10% y se cortó a 80 μm , 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 (56). Solamente se utilizaron los datos de los animales cuyo implante se localizó en el área de estudio.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del número de ovocitos liberados, del peso de los ovarios y del útero, del número y del diámetro promedio de los folículos sanos, de los atrésicos y del total, fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA), seguida de la prueba de Duncan. Los resultados de la tasa de animales ovulantes (número de ratas que ovulan/número de animales tratados \times 100), la tasa de cornificación vaginal (número de animales que presentaron cornificación vaginal en el día del sacrificio/número de animales tratados \times 100), la tasa de animales con útero distendido (número de ratas que tuvieron el útero distendido el día del sacrificio/número de ratas tratadas \times 100), la ovulación compensadora y la hipertrofia compensadora del ovario y la distribución de la población folicular 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

BLOQUEO DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DE POA-AHA EN EL ANIMAL INTACTO.

En los animales intactos sacrificados en el día del estro vaginal, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue mayor al del derecho. En los animales con implante unilateral de colesterol, no se observó esta diferencia. Sin embargo, el implante de colesterol del lado derecho provocó una tendencia a la disminución del número total de ovocitos liberados por ambos ovarios, la cual no fue estadísticamente significativa al aplicar la prueba de análisis de varianza (Tabla 1).

Tabla 1. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, el derecho o por ambos, en los animales intactos o con implante de colesterol del lado derecho o izquierdo de POA-AHA.

Grupo	n	Ovario		Ambos ovarios
		izquierdo	derecho	
Intactos	22	5.9 \pm 0.4	4.7 \pm 0.4 *	10.6 \pm 0.5
Colesterol Izquierdo	12	5.7 \pm 0.7	5.2 \pm 0.8	10.9 \pm 0.6
Colesterol Derecho	10	4.5 \pm 0.4	4.2 \pm 0.7	8.7 \pm 0.8

* $P < 0.05$ comparado con el ovario izquierdo (prueba "t" de Student).

No se observaron diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes, de cornificación vaginal, de animales con útero distendido, ni en el peso de los ovarios y del útero entre los animales con implante de colesterol del lado derecho o del lado izquierdo de POA-AHA. Cuando estos resultados se compararon con los del grupo de animales intactos, se observó aumento del peso de los ovarios en los animales con implante (Tabla 2).

Tabla 2. Media \pm e.e.m. del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de animales intactos o con implante de colesterol del lado derecho o izquierdo de POA-AHA.

Grupo	n	peso ovarios	peso útero
Intactos	22	25.5 \pm 0.9	170 \pm 6.7
Colesterol Izquierdo	17	29.9 \pm 1.6 *	198 \pm 10.2
Colesterol Derecho	12	30.4 \pm 1.3 *	192 \pm 11.4

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de animales intactos (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan)

Dado que no se presentaron diferencias significativas en los efectos del implante de colesterol del lado izquierdo o del lado derecho, los resultados se agruparon en un grupo testigo.

En los animales con implante unilateral de atropina, lado derecho o izquierdo, se redujo la tasa de animales ovulantes. La tasa de cornificación vaginal disminuyó en los animales con implante del lado derecho y se observó una tendencia al aumento, en la tasa de animales con útero distendido, la cual no es significativa. Por el contrario, en los animales con implante de atropina del lado izquierdo, no se modificó la tasa de cornificación vaginal, ni la de animales con útero distendido (Tabla 3). La proporción de animales que presentaron útero distendido fue mayor en los animales implantados en el día del diestro 2 que en el diestro 1 (13/19 vs 9/24, $P < 0.01$).

Tabla 3. Tasa de animales ovulantes, de animales con cornificación vaginal y de animales con útero distendido, después de implantar atropina en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA.

Grupo	T a s a ovulantes	d e a n i m a l e s cornificación vaginal	útero distendido
Testigo	22/29	27/29	7/29
Atropina Derecha	17/42 *	20/42 *	19/42
Atropina Izquierda	18/38 *	29/38	13/38

* $P < 0.05$ comparado con el grupo testigo (Prueba de Ji^2)

En los animales con implante de atropina que ovularon (17 con implante del lado derecho y 18 con implante del lado izquierdo), no se modificó el número de ovocitos liberados por los dos ovarios, ni el peso de los ovarios y del útero (Tabla 4).

Tabla 4. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de animales con implante de atropina del lado derecho o izquierdo de POA-AHA, que ovularon o no en el día del estro esperado.

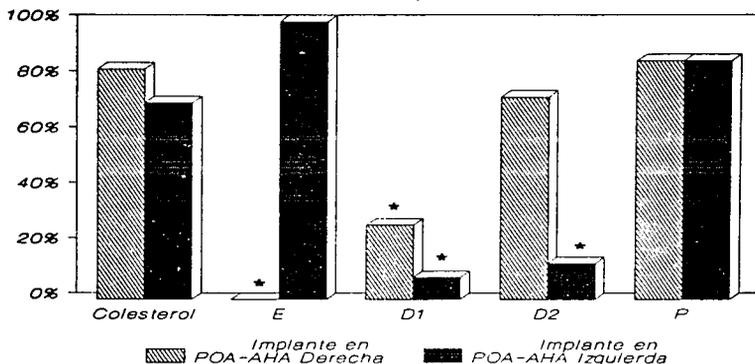
Grupo	n	ovocitos	peso ovarios	peso útero
ANIMALES QUE OVULARON				
Testigo	22	9.9 \pm 0.5	30.3 \pm 1.3	183 \pm 5.8
Atropina Izquierda	17	9.2 \pm 0.8	27.2 \pm 1.4	180 \pm 7.3
Atropina Derecha	18	9.9 \pm 0.7	28.4 \pm 1.7	197 \pm 8.2
ANIMALES QUE NO OVULARON				
Testigo	7		29.2 \pm 1.7	236 \pm 18.8 *
Atropina Izquierda	21		28.5 \pm 1.3	183 \pm 12.7 †
Atropina Derecha	24		28.4 \pm 1.4	189 \pm 8.3 †

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de animales testigo que ovularon; † $P < 0.05$ comparado con su testigo (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan)

En los animales que fueron implantados con colesterol y que no ovularon, el peso del útero fue significativamente mayor que el de los que ovularon. En cinco de los siete animales que no ovularon, el frotis vaginal en el día del estro esperado fue de proestro y el peso del útero fue semejante al que se observa en los animales sin tratamiento sacrificados al proestro vaginal (260 ± 9.2 vs 202 ± 30.1 mg/100 g). Los otros dos animales tuvieron el frotis característico del día del estro, el peso del útero fue semejante al de los animales intactos que ovularon en el día del estro.

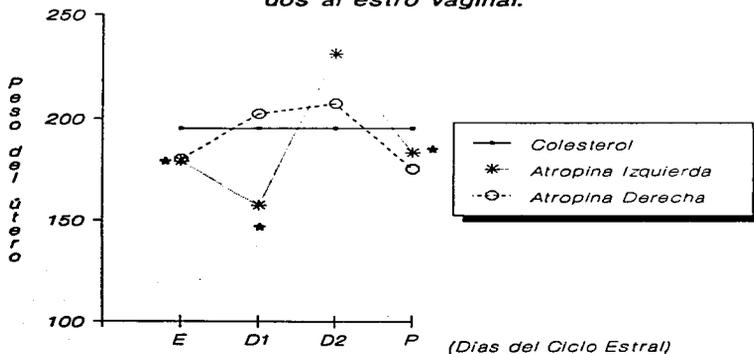
En la Figura 1 se muestra la tasa de animales ovulantes de los grupos con implante de atropina en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, colocado en los diferentes días del ciclo estral. En los animales tratados en el día del estro, ninguno de los animales ovuló cuando el implante estuvo colocado en el lado derecho. En cambio, todos los animales ovularon cuando el implante se colocó del lado izquierdo. La proporción de animales que ovularon disminuyó significativamente cuando se realizó el implante en el día del diestro 1, independientemente del lado afectado. Cuando el implante se realizó en el día del diestro 2, sólo ovuló uno de ocho animales con implante del lado izquierdo, mientras ocho de once lo hicieron cuando se colocó del lado derecho. Los implantes realizados en el día del proestro no afectaron la ovulación.

Fig 1. Tasa de animales ovulantes con implante unilateral de colesterol o de atropina en POA-AHA.



* $P < 0.05$ comparado con el implante de colesterol del mismo lado (Prueba de J_1^2)

Fig 2. Peso del útero (mg/100 g) de animales con implante de atropina en el lado izquierdo o derecho de POA-AHA, colocado en alguno de los días del ciclo estral y sacrificados al estro vaginal.



* $P < 0.05$ comparado con D2 (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan)

El número de ovocitos liberados y el peso de los ovarios y del útero de los animales con implante unilateral de atropina que ovularon, fue semejante al del grupo testigo (Tabla 5).

Tabla 5. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas testigo o con implante unilateral de atropina en POA-AHA, colocado en los diferentes días del ciclo estral, que ovularon en el día del estro esperado.

Grupo	n	ovocitos	ovarios	útero
Testigo	22	9.9 \pm 0.5	30.3 \pm 1.3	183 \pm 5.8
Atropina:				
ESTRO:				
Izquierdo	10	10.9 \pm 0.7	28.9 \pm 1.6	179 \pm 10.7
DIESTRO 1:				
Derecho	3	9.0 \pm 2.7	24.6 \pm 5.1	201 \pm 21.1
Izquierdo	1	1.0	23.8	155.6
DIESTRO 2:				
Derecho	8	9.2 \pm 1.1	29.1 \pm 1.5	213 \pm 10.1
Izquierdo	1	9.0	40.7	221.2
PROESTRO:				
Derecho	6	10.7 \pm 0.6	29.2 \pm 3.8	180 \pm 9.0
Izquierdo	6	6.7 \pm 1.6	23.2 \pm 2.3	173 \pm 11.8

(ANDEVA seguido de la prueba de Duncan)

En los animales con implante de atropina que no ovularon, no se modificó el peso de los ovarios. Sin embargo, el peso del útero disminuyó cuando el implante se colocó en el día del estro y del diestro 1 (Tabla 6 y Fig 2).

Tabla 6. Media \pm e.e.m. del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas testigo o con implante unilateral de atropina en POA-AHA, colocado en los diferentes días del ciclo estral, que no ovularon en el día del estro esperado.

Grupo	n	ovarios	útero
Testigo	7	29.2 \pm 1.7	236 \pm 18.8
Atropina:			
ESTRO:			
Derecho	15	29.4 \pm 2.5	180 \pm 13.8 *
DIESTRO 1:			
Derecho	8	27.0 \pm 1.6	203 \pm 17.9
Izquierdo	12	27.6 \pm 1.1	157 \pm 9.9 *
DIESTRO 2:			
Derecho	3	27.7 \pm 2.3	190 \pm 24.3
Izquierdo	7	30.1 \pm 3.3	232 \pm 22.1
PROESTRO:			
Derecho	1	16.8	156.6
Izquierdo	1	25.4	242.2

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

Los resultados de este primer experimento muestran que la falta de ovulación, resultado del bloqueo de los receptores muscarínicos, depende del lado de POA-AHA y del día del ciclo estral en el que se realizó el implante (estro: lado derecho, diestro 1: lado derecho o izquierdo, diestro 2: lado izquierdo). El implante colocado en el día del proestro no interrumpe la ovulación.

DISTRIBUCION DE LA POBLACION FOLICULAR EN LOS OVARIOS DE ANIMALES CON IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA

En comparación con el grupo de animales intactos, la proporción de folículos de reserva no se modificó de manera significativa en los animales con implante de colesterol o de atropina.

DISTRIBUCION DE LA POBLACION FOLICULAR EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS EN EL DIA DEL ESTRO ESPERADO:

En los animales intactos autopsiados en el día del estro vaginal, los siguientes parámetros no difieren entre uno y otro ovario: porcentaje de folículos preovulatorios pequeños (72% vs 52%) y grandes (28% vs 48%); número de folículos sanos (56 ± 24 vs 40 ± 8); atrésicos (14 ± 5 vs 15 ± 8); totales (70 ± 24 vs 55 ± 1), y diámetro folicular promedio (255 ± 15.2 vs 238 ± 11.4 μm).

En los animales con implante de colesterol, el diámetro promedio de los folículos en uno y otro ovario fue semejante (246 ± 9.3 vs 227 ± 7.3 μm). Sin embargo, el número total de

folículos aumentó (113 ± 9.4 vs 65 ± 11.5 , $P < 0.02$). Esta diferencia está dada por el incremento en el número de folículos sanos (103 ± 9.6 vs 48 ± 11.7 , $P < 0.02$), dado que no se modificó el de los atrésicos (13 ± 3.7 vs 14 ± 4).

El diámetro promedio de los folículos atrésicos de ambos ovarios aumentó en los animales con implante de colesterol del lado izquierdo de POA-AHA. En cambio, en los animales con implante en el lado derecho de POA-AHA solamente se modificó el diámetro de los folículos atrésicos del ovario derecho. El diámetro de los folículos sanos no fue alterado por los implantes unilaterales de colesterol (Tabla 7).

Tabla 7. Media \pm e.e.m. del diámetro promedio (μm) de los folículos sanos y atrésicos del ovario izquierdo y derecho de animales intactos o con implante de colesterol del lado derecho o izquierdo de POA-AHA, sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Ovario Izquierdo		Ovario Derecho	
	Sanos	Atrésicos	Sanos	Atrésicos
Intactos	204 ± 9.4	298 ± 22.2 *	231 ± 15.0	239 ± 19.2
Colesterol Izquierdo	225 ± 13.1	526 ± 12.4 *†«	200 ± 12.3	475 ± 38.0 *†
Colesterol Derecho	255 ± 27.3	350 ± 87.0 *	225 ± 14.2	445 ± 20.2 *†■

*: comparado con los folículos sanos; †: comparado con el grupo de animales intactos; ■: comparado con el ovario izquierdo; «: comparado con el grupo de colesterol derecho, $P < 0.02$ (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

Cuando se expresaron los datos como el porcentaje de folículos preovulatorios pequeños y grandes del total, se observó que en el ovario derecho de los animales con implante ipsilateral de colesterol en POA-AHA, aumentó la proporción de folículos preovulatorios pequeños (88% vs 52%, $P < 0.02$) y disminuyó la de los grandes (12% vs 48%, $P < 0.02$). Estos efectos no se observaron en el ovario izquierdo.

En el ovario ipsilateral al implante de atropina colocado en los días del estro, diestro 1 y diestro 2, disminuyó la población de folículos preovulatorios pequeños y aumentó la de los grandes, mientras que no se observaron modificaciones en los animales implantados en el proestro (Figs 3 a 6).

El número de folículos sanos, atrésicos y totales no fue modificado por el implante unilateral de atropina en alguno de los días del ciclo estral (Tabla 8).

En los animales con implante de atropina en el lado derecho de POA-AHA, realizado en el día del diestro 1 que no ovularon, la proporción de folículos preovulatorios pequeños fue significativamente menor que en los que ovularon, mientras que, la proporción de los folículos preovulatorios grandes mostró un patrón inverso en los dos ovarios (Fig 7).

El diámetro promedio de los folículos sanos fue semejante entre los dos grupos, mientras que el diámetro de los folículos atrésicos fue mayor en los animales que no ovularon (Tabla 9).

Tabla 8. Media \pm e.e.m. del número de folículos sanos, atrésicos y totales de los animales con implante de colesterol (testigo) o de atropina en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, colocado en alguno de los días del ciclo estral, sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Sanos	Atrésicos	Totales
Testigo:			
Derecho	100 \pm 14	7 \pm 3	110 \pm 15
Izquierdo	110 \pm 14	12 \pm 4	120 \pm 12
Atropina:			
ESTRO:			
Derecho	80 \pm 12	25 \pm 8	100 \pm 12
Izquierdo	120 \pm 22	17 \pm 11	140 \pm 18
DIESTRO 1:			
Derecho	100 \pm 11	11 \pm 3	110 \pm 10
Izquierdo	110 \pm 16	7 \pm 3	110 \pm 16
DIESTRO 2:			
Derecho	100 \pm 18	-----	100 \pm 18
Izquierdo	90 \pm 17	25 \pm 13	110 \pm 14
PROESTRO:			
Derecho	100 \pm 13	15 \pm 6	110 \pm 15
Izquierdo	70 \pm 11	4 \pm 3	74 \pm 1

(ANDEVA) .

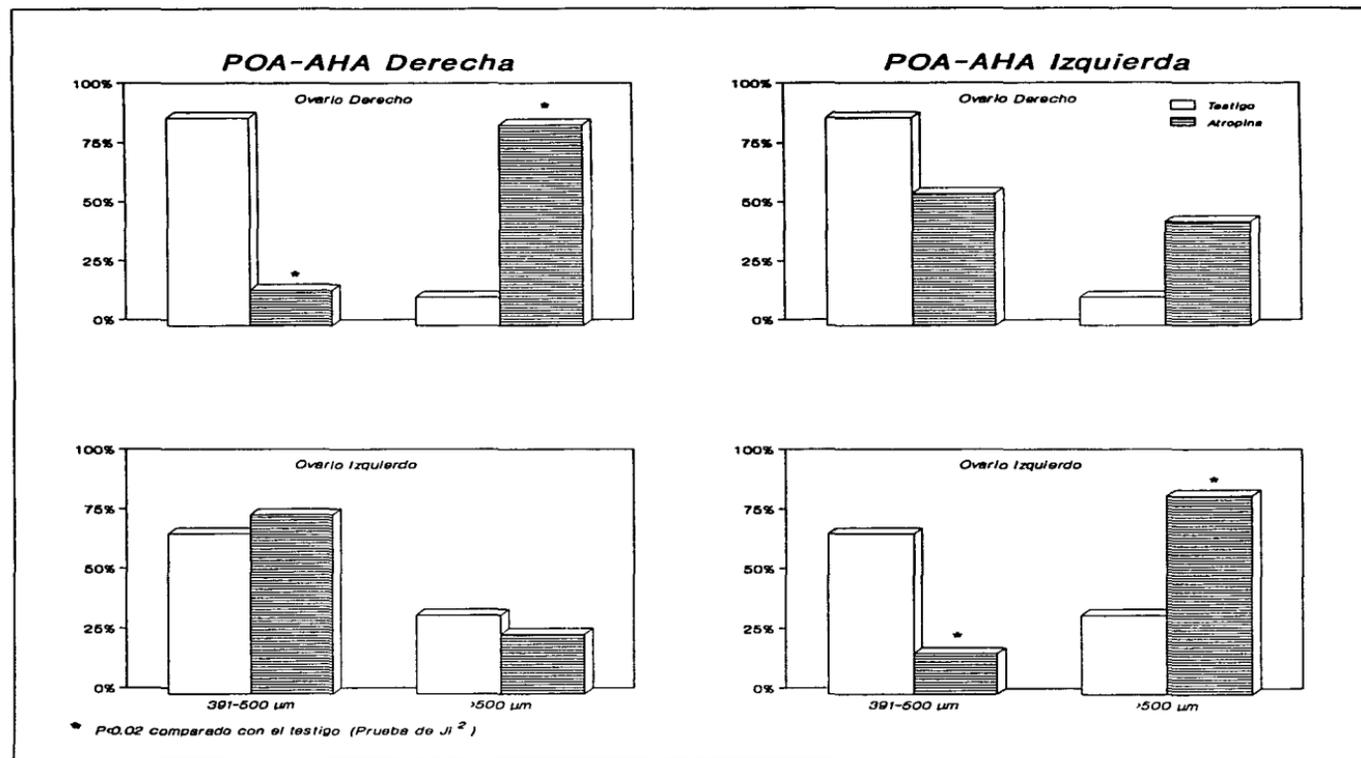


Fig 3. Distribución folicular en los ovarios de animales con implante de atropina en POA-AHA derecha ó izquierda, colocado en el día del estro, sacrificados al estro esperado.

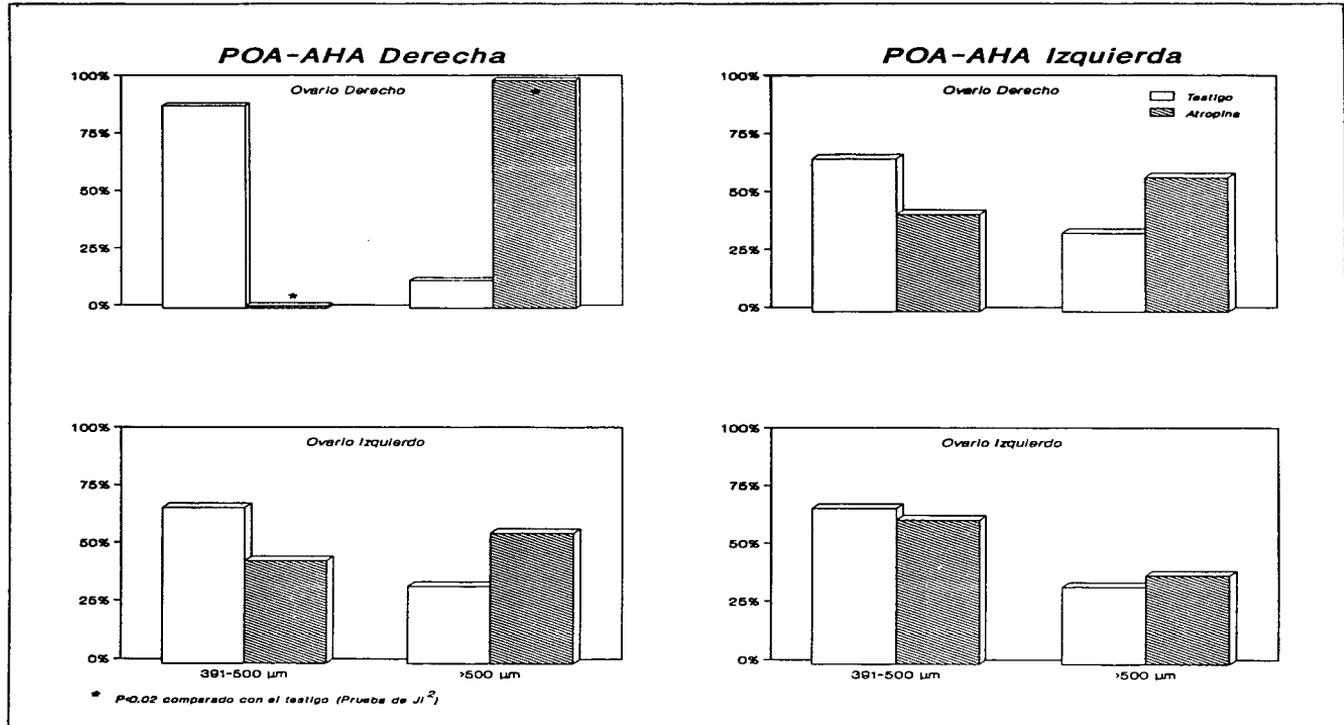


Fig 4. Distribución folicular en los ovarios de animales con implante de atropina en POA-AHA derecha ó izquierda, colocado en el día del diestro 1, sacrificados al estro esperado.

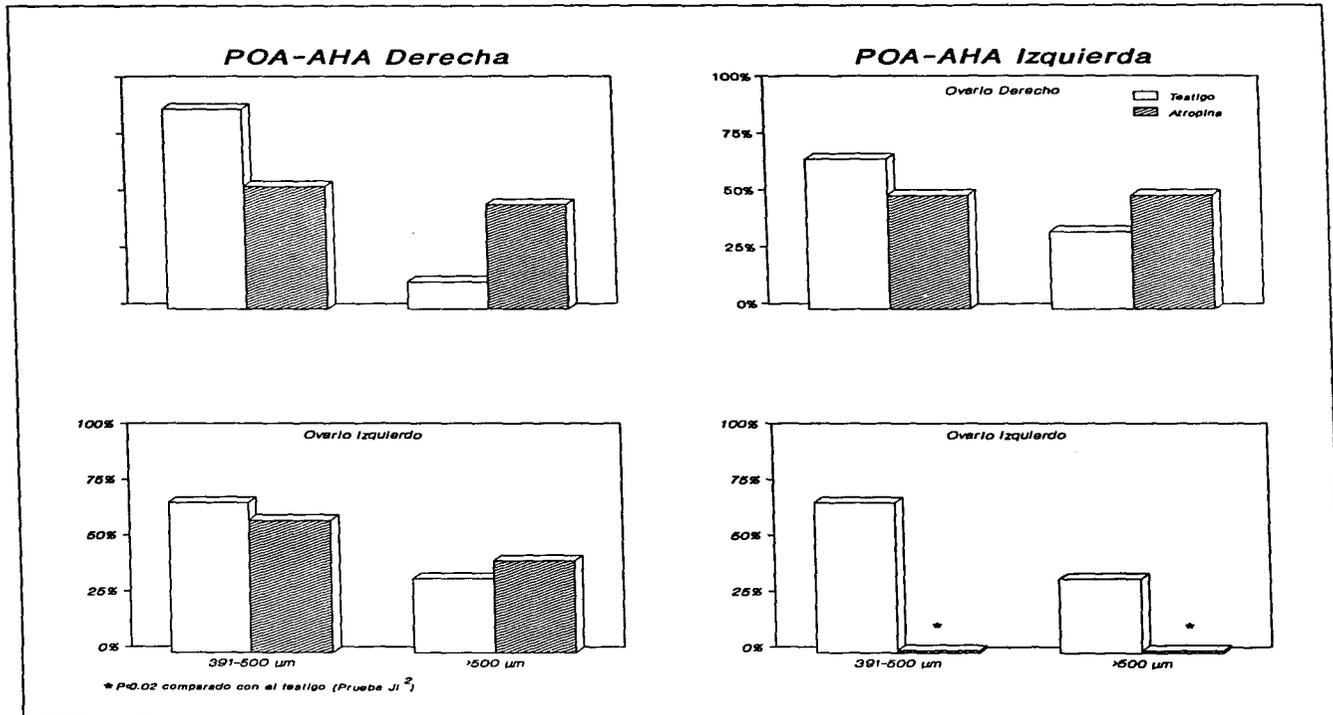


Fig 5. Distribución folicular en los ovarios de animales con implante de atropina en POA-AHA derecha ó izquierda, colocado en el día del diestro 2, sacrificados al estro esperado.

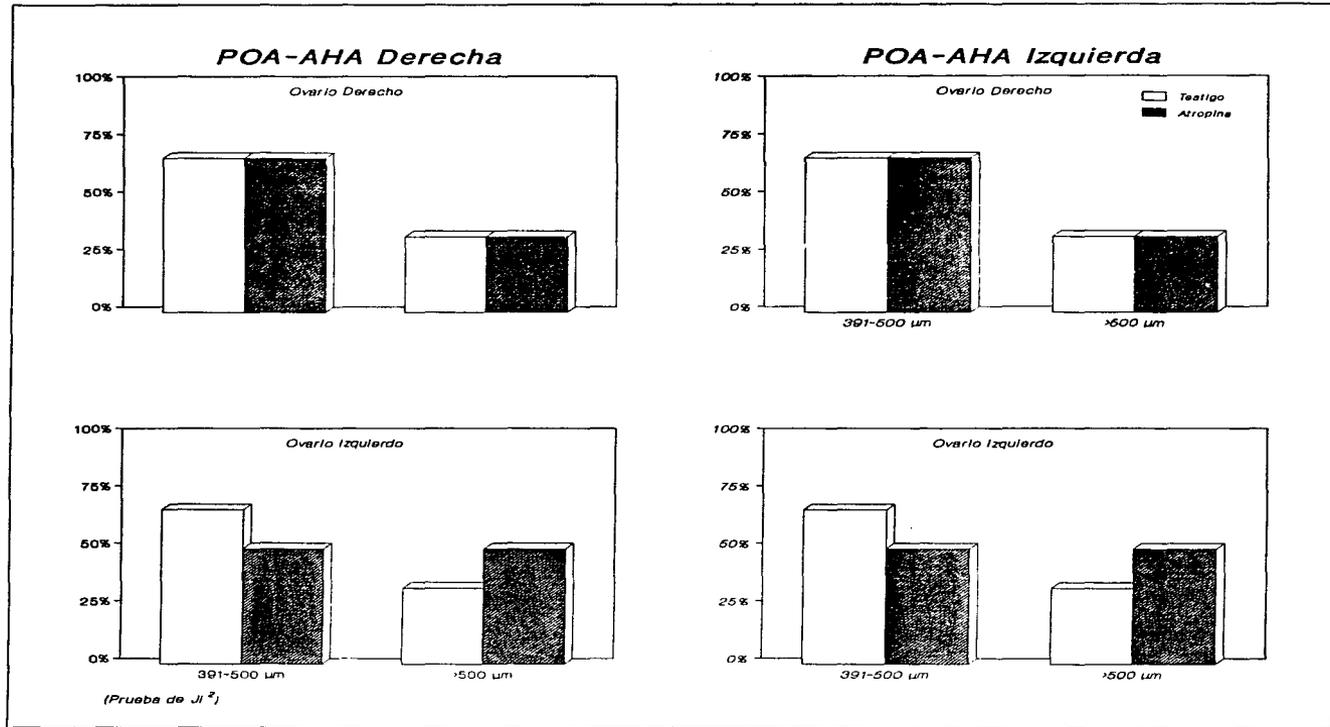
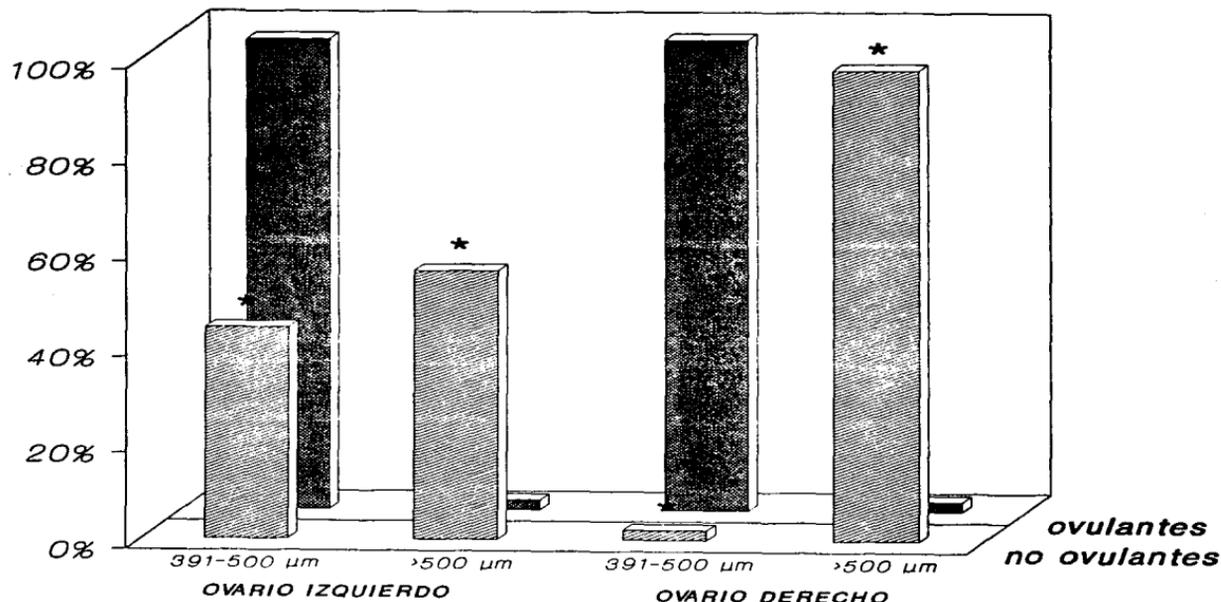


Fig 6. Distribución folicular en los ovarios de animales con implante de atropina en POA-AHA derecha ó izquierda, colocado en el día del proestro, sacrificados al estro esperado.

Fig 7. Distribución folicular en las ratas que ovularon o no, al implantar la atropina en POA-AHA derecha, en el día del diestro 1.



* $P < 0.05$ comparado con el grupo de ovulantes (Prueba de Ji^2)

Tabla 9. Media \pm e.e.m. del diámetro promedio (μm) de los folículos sanos y atrésicos del ovario izquierdo y derecho de animales que ovularon o no, al implantar la atropina en POA-AHA derecha, colocado en el día del diestro 1, sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Ovario Izquierdo		Ovario Derecho	
	Sanos	Atrésicos	Sanos	Atrésicos
Ovulantes	197 \pm 13.6	296 \pm 41.0	239 \pm 18.2	272 \pm 21.0
No Ovulantes	226 \pm 24.5	568 \pm 120.3	238 \pm 33.0	501 \pm 176.5

*: comparado con los folículos sanos; «: comparado con el grupo de animales ovulantes, $P < 0.02$ (ANDEVA seguido de la prueba de Duncan).

DISTRIBUCION DE LA POBLACION FOLICULAR EN LOS ANIMALES SACRIFICADOS EN EL DIA DEL PROESTRO ESPERADO:

En el animal intacto, la distribución de la población folicular fue semejante en ambos ovarios, pero el diámetro promedio de los folículos atrésicos del ovario izquierdo es significativamente mayor que el del derecho (789 ± 42.6 vs $491 \pm 107.4 \mu\text{m}$, $P < 0.02$).

Cuando se compara con los animales sin tratamiento sacrificados en la mañana del proestro, no se observaron diferencias significativas en la distribución de los folículos preovulatorios de los animales con implante de atropina en el día del estro (lado derecho de POA-AHA, Fig 8) o en el día del diestro 1 (lado izquierdo, Fig 9).

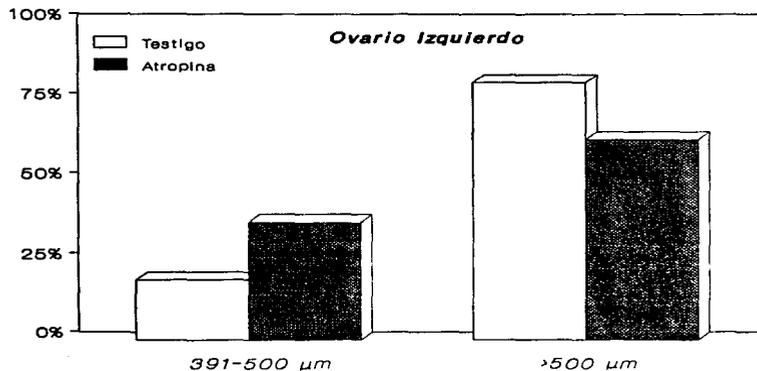
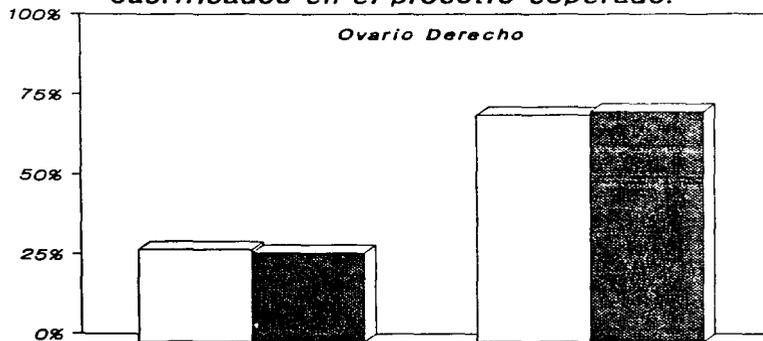
En el ovario izquierdo de los animales con implante de atropina en el lado derecho de POA-AHA, realizado en el día del diestro 1, disminuyó la proporción de folículos preovulatorios pequeños e incrementó la de los grandes (Fig 9). Este mismo efecto se observó en los dos ovarios, cuando el implante se colocó en el lado izquierdo de POA-AHA en el día del diestro 2 (Fig 10).

El diámetro promedio de los folículos sanos de los ovarios de los animales con implante unilateral de atropina fue semejante al de los animales sin tratamiento, sacrificados en la mañana del proestro.

En el ovario izquierdo de los animales implantados con atropina en estro y diestro 1, disminuyó el diámetro de los folículos atrésicos, el que aumentó en el ovario derecho. En los ovarios de los animales implantados en diestro 2, disminuyó el diámetro de los folículos atrésicos de los dos ovarios (Fig 11) y el número total de folículos medidos (6.2 ± 1 vs 14.5 ± 2 , $P < 0.02$), diferencia dada por reducción en los folículos sanos (4.8 ± 0.8 vs 13.3 ± 1.5 , $P < 0.02$), sin modificación de los atrésicos (1.4 ± 0.7 vs 1.3 ± 0.5).

El bloqueo del sistema colinérgico de POA-AHA en los días previos al proestro, inhibe el crecimiento de los folículos del ovario ipsilateral y no modifica los del contralateral.

Fig 8. Población folicular en los animales implantados con atropina en el lado derecho de POA-AHA, en el día del estro, sacrificados en el proestro esperado.



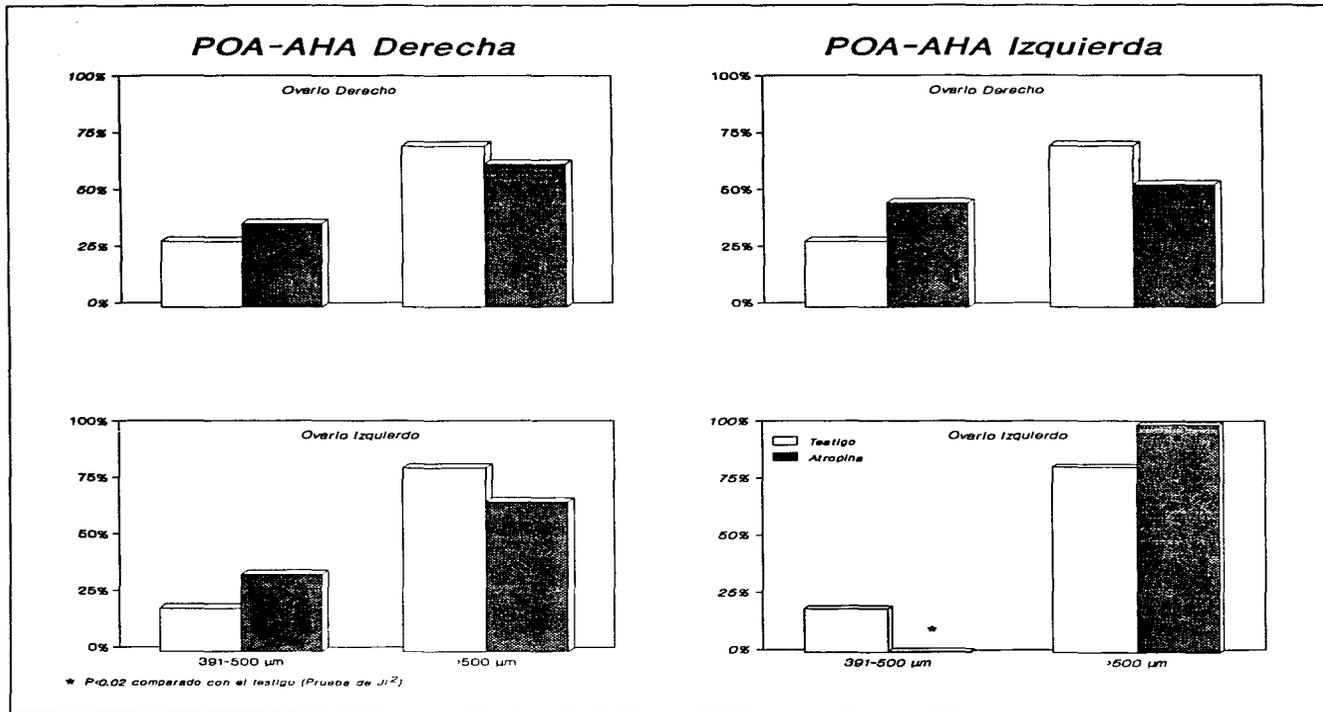
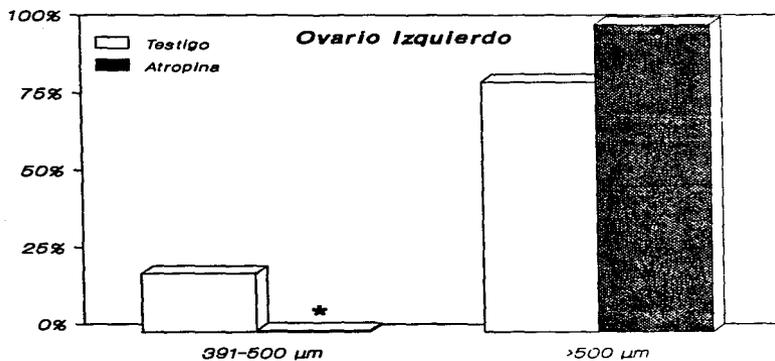
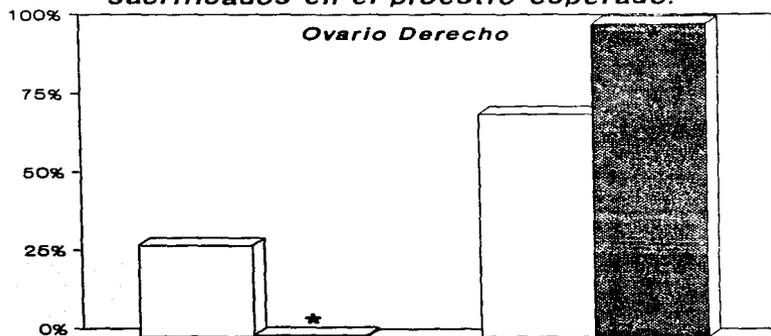


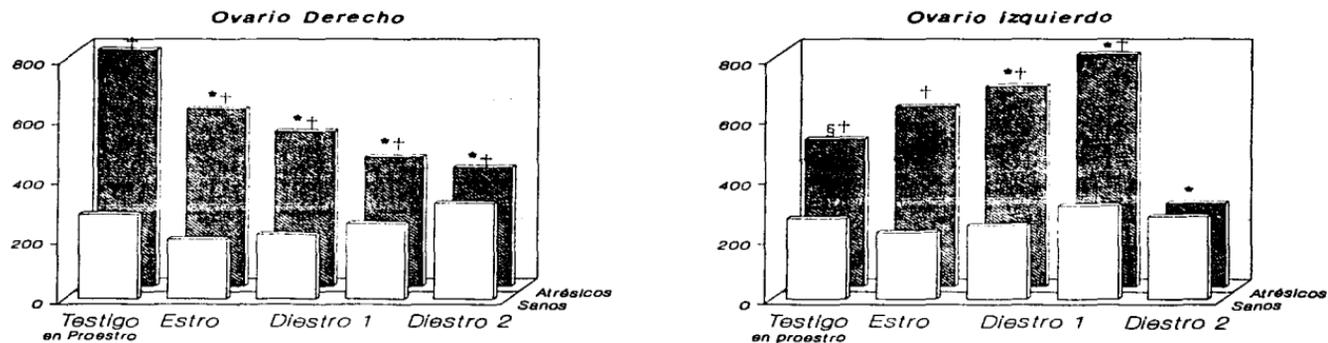
Fig 9. Población folicular en los ovarios de animales con implante de atropina en POA-AHA derecha ó izquierda, colocado en el día del diestro 1, sacrificados al proestro esperado.

Fig 10. Población folicular de animales con implante de atropina en el lado derecho de POA-AHA, en el diestro 2, sacrificados en el proestro esperado.



* $P < 0.02$ comparado con el grupo testigo (Prueba de J_i^2)

Fig 11. Diámetro promedio (μm) de los folículos sanos y atrésicos de los ovarios de animales con implante unilateral de atropina en POA-AHA (Estro: implante derecho, Diestro 1: implante izquierdo ó derecho, Diestro 2: implante izquierdo), sacrificados en el proestro esperado.

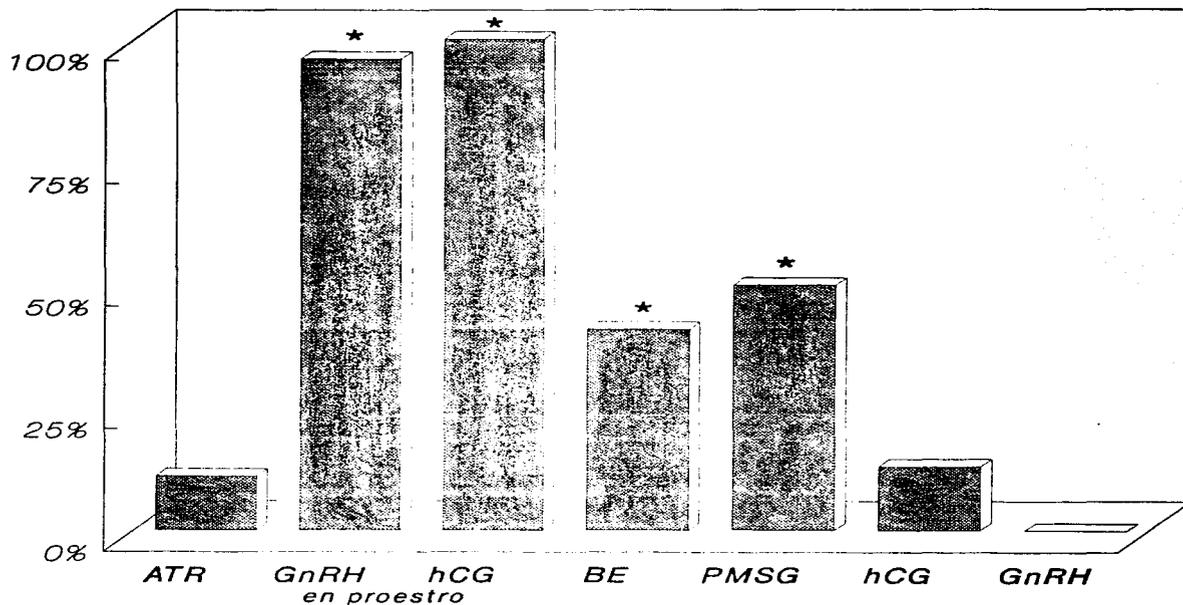


* $P < 0.02$ comparado con el testigo en proestro (ANDEVA seguida de la prueba de Duncan)

† $P < 0.02$ comparado con los folículos sanos

§ $P < 0.02$ comparado con el ovario derecho

Fig 12. Tasa de animales con implante unilateral de atropina que ovularon después del tratamiento hormonal.



* $P < 0.05$ comparado con el grupo ATR (Prueba de J_i^2)

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN EL BLOQUEO DE LA OVULACION POR EL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AEA.

Debido a que no se observaron diferencias significativas en los resultados obtenidos por el reemplazo hormonal en los animales con implante unilateral de atropina realizados en los días del estro, diestro 1 ó diestro 2, los resultados fueron agrupados según el tratamiento hormonal.

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOTALAMICA

En las ratas con implante unilateral de atropina, el reemplazo de la hormona hipotalámica a las 13:00 horas del día del proestro, indujo la ovulación en el 96% de los animales (Fig 12), lo que se acompañó del aumento de la tasa de cornificación vaginal (25/25 vs 19/46, $P < 0.05$) y disminución de la tasa 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 9).

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOFISARIA EN EL DIA DEL PROESTRO.

La administración de la hCG a las 13:00 horas del día del proestro indujo la ovulación en todos los animales con implante unilateral de atropina (Fig 12), aumentó la tasa de cornificación vaginal (16/16 vs 19/46, $P < 0.05$) y disminuyó la de animales con útero distendido (0/16 vs 21/46, $P < 0.05$). No

se observaron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados por animal ovulante, aún cuando aumentó el peso de los ovarios y disminuyó el del útero (Tabla 10).

Tabla 10. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas con implante unilateral de atropina (estro: derecho; diestro 1: izquierdo y derecho; diestro 2: izquierdo) tratadas con GnRH o hCG a las 13:00 horas del día del proestro esperado (GnRH-P, hCG-P), con benzoato de estradiol (BE) o con hCG a las 14:00 horas del diestro 2, o con PMSG o GnRH una hora después de colocar el implante.

Grupo	n	ovocitos	peso ovarios	peso útero
Testigo	29	9.9 \pm 0.5	30.1 \pm 1.0	195 \pm 7.5
Atropina	46	7.4 \pm 2.2	28.5 \pm 1.0	188 \pm 7.1
Atropina +GnRH-P	25	10.2 \pm 0.5	30.5 \pm 1.1	192 \pm 7.8
Atropina +hCG-P	16	9.3 \pm 1.0	40.5 \pm 1.6 *	139 \pm 4.9 *
Atropina + BE	17	12.1 \pm 1.0	39.1 \pm 1.0 *	236 \pm 6.3 *
Atropina + hCG	15	6, 5	38.3 \pm 2.1 *	154 \pm 7.5 *
Atropina + PMSG	16	11.3 \pm 0.7	35.9 \pm 1.0 *	171 \pm 12.6
Atropina + GnRH	16	0 *	36.6 \pm 1.9 *	145 \pm 7.4 *

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina (ANDEVA seguido de la Prueba de Duncan).

Dado que los animales inyectados con GnRH o con hCG ovularon, se puede afirmar que el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, realizado en los días previos de ese ciclo, bloqueó la señal ovulatoria de la secreción de la LH. Por lo tanto, el sistema colinérgico participa de manera estimulante y lateralizada en la regulación de la secreción de la GnRH durante los días previos al proestro.

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL OVARICA

La administración de benzoato de estradiol restauró la ovulación en el 41% de los animales con implante unilateral de atropina (Fig 12). Cuando se analizan los resultados en función del lado en que se realizó el implante se observó que siete de nueve animales con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA, ovularon y que ninguno lo hizo (0/8) cuando el implante fue colocado en el lado derecho (Fig 13).

La tasa de animales con útero distendido aumentó (11/17 vs 21/46, $P < 0.05$) y no se modificó la de cornificación vaginal (10/17 vs 19/46, $P < 0.05$). El número de ovocitos liberados por animal ovulante no se modificó y aumentó el peso de los ovarios y del útero (Tabla 10).

Dado que los animales inyectados con benzoato de estradiol ovularon, podemos decir que la falta de ovulación, que resulta de la ausencia de las señales hipotalámica e hipofisaria, es el resultado de la falta del estímulo

estrogénico. Además, que dicha señal ovárica es efectiva sólo cuando el lado derecho de POA-AHA no es alterado.

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOFISARIA E HIPOTALAMICA EN OTROS DIAS DEL CICLO ESTRAL

REEMPLAZO DE LA LH

En los animales con implante unilateral de atropina, la administración de la hCG a las 14:00 horas del diestro 2, no restableció la ovulación (Fig 12), disminuyó las tasas de cornificación vaginal (2/15 vs 19/46, $P < 0.05$) y de animales con útero distendido (1/15 vs 21/46, $P < 0.05$), mientras que el peso de los ovarios aumentó y el del útero disminuyó significativamente (Tabla 10).

Dado que los animales inyectados con hCG en la tarde del diestro 2 no ovularon, podemos suponer que la sensibilidad del ovario a esta señal hipofisaria en este día del ciclo, está afectada, lo que depende de un estímulo muscarínico.

REEMPLAZO DE LA FSH

La administración de PMSG una hora después de realizado el implante, restableció parcialmente la ovulación (Fig 12). Nuevamente, cuando se analizan los resultados en función del lado en que se realizó el implante se observó que los animales con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA, ovularon y que no lo hacen cuando el implante fue colocado en el lado derecho (Fig 14).

En los grupos de animales tratados con PMSG, aumentó la tasa de cornificación vaginal (11/16 vs 19/46, $P < 0.05$) y no se modificó la del útero distendido (6/16 vs 21/46). No se modificó el número de ovocitos liberados por animal ovulante, pero aumentó el peso de los ovarios (Tabla 10).

En los animales con implante de atropina del lado derecho de POA-AHA, tratados con PMSG, disminuyó el peso del útero y no se modificó cuando el implante estuvo del lado izquierdo (Tabla 11).

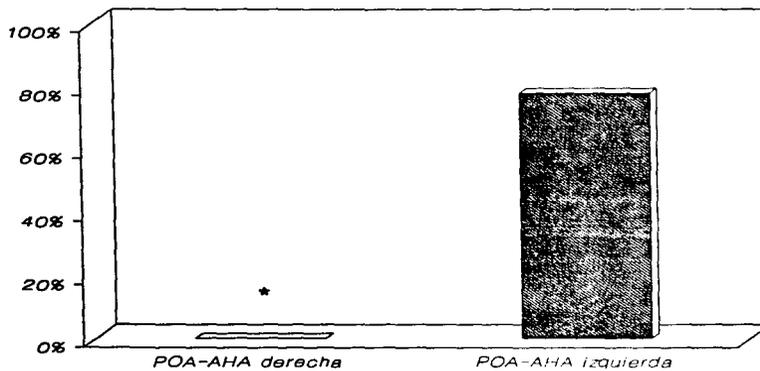
Tabla 11. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por animal ovulante y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas con implante de atropina del lado derecho o izquierdo de POA-AHA, colocado en el día del diestro 1, tratadas con PMSG a las 14:00 horas del diestro 1.

Grupo	ovocitos	peso ovarios	peso útero
Atropina	9.6 \pm 0.6	29.9 \pm 1.1	194 \pm 7.8
POA-AHA:			
Derecha	----	34.5 \pm 2.3 *	159 \pm 3.0 *
Izquierda	10.5 \pm 1.5	37.7 \pm 1.4 *	186 \pm 19.0

* $P < 0.05$ comparado con el grupo de atropina (ANDEVA seguido de la Prueba de Duncan).

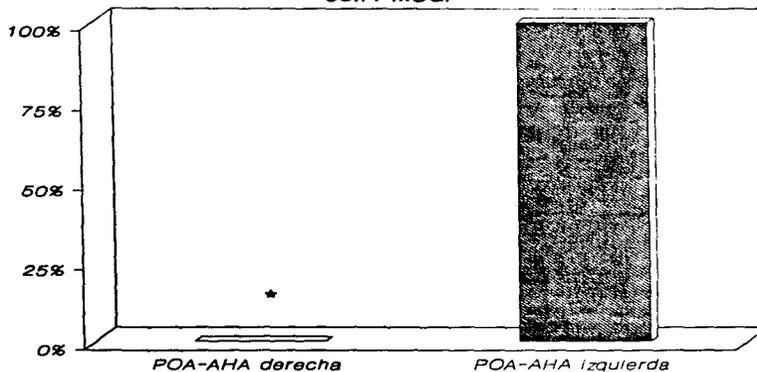
Dado que en los animales inyectados con PMSG se restauró parcialmente la ovulación, es posible suponer que hubo falta de esta señal hipofisaria, mediada por la FSH. Esta señal promovió el estímulo ovárico, el cual provocó la ovulación sólo cuando el lado derecho de POA-AHA se mantuvo íntegro.

Fig 13. Tasa de animales ovulantes con implante de atropina en POA-AHA derecha o izquierda, tratados con estrógenos.



* $P < 0.05$ comparado con el implante del lado izquierdo (Prueba de J_1^2)

Fig 14. Tasa de animales ovulantes con implante de atropina POA-AHA derecha o izquierda, colocado en diestro 1, tratados con PMSG.



* $P < 0.05$ comparado con el implante del lado izquierdo (Prueba de J_1^2)

REEMPLAZO DE LA GnRH

La administración de la GnRH una hora después del implante no restauró la ovulación en ninguno de los animales tratados (Fig 12), disminuyó las tasas de cornificación vaginal (1/16 vs 19/46, $P < 0.05$) y de animales con útero distendido (2/16 vs 21/46, $P < 0.05$). El peso de los ovarios aumentó y el del útero disminuyó (Tabla 10).

Estos resultados nos indican que el bloqueo de la ovulación no es provocado sólo por la suspensión momentánea de la señal hipotalámica.

EFFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA SOBRE LA OVULACION Y LA HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO DEL ANIMAL HEMIOVARIETOMIZADO.

La hemiovariectomía no modificó el ciclo estral ni la proporción de los animales que ovulan en el día del estro vaginal (18/20 vs 57/62). El implante unilateral de colesterol en POA-AHA, realizado en el día del estro, no modificó la tasa de animales ovulantes (12/13 vs 18/20), ni su ciclicidad vaginal (13/13 vs 20/20). Sin embargo, aumentó el número de ovocitos liberados y el peso del ovario remanente (Tabla 12), así como el peso del útero (196.64 ± 6.05 vs 160.7 ± 7.41 , $P < 0.05$).

Tabla 12 . Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso del ovario extirpado o del ovario in situ de ratas hemiovariectomizadas (Hovx) o con implante unilateral de colesterol en POA-AHA (Hovx + Co).

Grupo	Número de Ovocitos		Peso del ovario	
	Extirpado	<u>in situ</u>	Extirpado	<u>in situ</u>
Hovx	5.6 \pm 0.5	9.6 \pm 0.5	15.0 \pm 0.7	18.4 \pm 0.6
Hovx + Co	6.6 \pm 0.5	11.1 \pm 0.4*	17.8 \pm 0.8*	23.9 \pm 1.0*

* $P < 0.05$ comparado con el grupo Hovx (Prueba t de Student)

El implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA redujo el número de animales que ovularon en el día del estro esperado (2/12 vs 12/13, $P < 0.02$) y el peso del ovario remanente, sin modificar el del útero (175.87 \pm 8.11 vs 196.64 \pm 6.05). El implante del lado derecho no modificó la tasa de animales ovulantes (10/16 vs 12/13), ni el peso del ovario y del útero (175.85 \pm 7.82 vs 196.64 \pm 6.05), pero aumentó el número de ovocitos liberados (Tabla 13).

Cuando se expresan los resultados en función del porcentaje de hipertrofia compensadora que desarrolla el ovario in situ (tomando como referencia el peso del ovario extirpado), observamos que la ovulación compensadora (71% vs 68%) y la hipertrofia compensadora del ovario de los animales hemiovariectomizados que no fueron implantados (23% vs 34%) no fueron modificadas significativamente por el implante unilateral de colesterol. El implante de atropina del lado derecho de POA-AHA, aumentó la ovulación y no modificó la

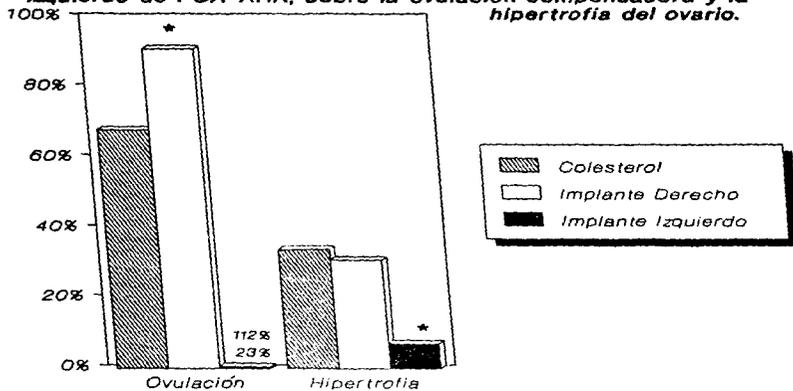
hipertrofia compensadora del ovario. En cambio, el implante del lado izquierdo disminuyó la hipertrofia compensadora del ovario y en los dos animales que ovularon, el grado de ovulación que tuvieron dependió del ovario in situ. Cuando el ovario remanente fue el izquierdo, la ovulación compensadora del animal fue del 112% y del 23%, cuando el ovario derecho estuvo in situ (Fig 15).

Tabla 13 . Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso del ovario extirpado o del ovario in situ de ratas hemiovariectomizadas con implante unilateral de colesterol (Hovx + Co) o de atropina (Hovx + ATR) en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA.

Grupo	Número de Ovocitos		Peso del Ovario	
	Extirpado	<u>in situ</u>	Extirpado	<u>in situ</u>
Hovx + Co	6.6 \pm 0.5	11.1 \pm 0.4	17.8 \pm 0.8	23.9 \pm 1.0 «
Hovx + ATR izquierdo	5.9 \pm 0.4	9, 11	17.6 \pm 1.3	19.0 \pm 1.1 **
Hovx + ATR derecho	6.8 \pm 0.6	13.0 \pm 0.6 *	16.5 \pm 0.6	21.6 \pm 1.0 **

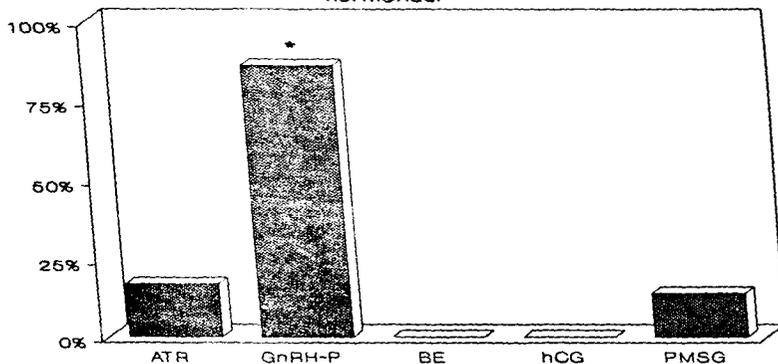
* P<0.01 comparado con el grupo Hovx + Co; « P<0.001 comparado con el ovario extirpado (ANDEVA seguido de la Prueba de Duncan).

Fig 15. Efectos del implante de atropina del lado derecho o izquierdo de POA-AHA, sobre la ovulación compensadora y la hipertrofia del ovario.



* $P < 0.05$ comparado con el grupo de colesterol (Prueba de Jl^2)

Fig 16. Tasa de animales ovulantes hemiovarietomizados con implante de atropina en POA-AHA izquierda, tratadas con hormonas.



* $P < 0.05$ comparado con el grupo ATR (Prueba de Jl^2)

Los resultados de este experimento permiten suponer que la falta de información neuroendócrina por la extirpación de uno de los ovarios, invierte los efectos del bloqueo unilateral del sistema colinérgico sobre la ovulación, respecto al animal con ambas gónadas.

ESTUDIO DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN EL BLOQUEO DE LA OVULACION Y DEL DESARROLLO DE LA HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO DE LA RATA HEMIOVARIETOMIZADA, INDUCIDO POR EL UNILATERAL DE ATROPINA EN POA-AHA.

La administración de la GnRH en el día del proestro esperado a los animales con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA, indujo la ovulación en casi todos los animales (Fig 16); aumentó el número de ovocitos liberados por el ovario remanente (Tabla 14), el que fue semejante al del animal hemiovariectomizado sin tratamiento (9.17 ± 0.75 vs 9.61 ± 0.52).

Los animales inyectados con PMSG en estro, o hCG o benzoato de estradiol en diestro 2, no ovularon (Fig 16). El peso del ovario aumentó en los animales tratados con GnRH, PMSG o hCG (Tabla 14).

En ninguno de los grupos de animales con implante de atropina, tratados con hormonas se modificó de manera significativa el peso del útero.

Tabla 14. Proporción de animales ovulantes (PAO) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso del ovario extirpado o del ovario *in situ* de ratas hemiovariectomizadas con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA, tratadas con GnRH, benzoato de estradiol (BE), hCG o PMSG.

Grupo	PAO	Número de Ovocitos Extirpado	<i>in situ</i>	Peso del Ovario Extirpado	<i>in situ</i>
Atropina	2/12	5.9 \pm 0.4	9, 11	17.6 \pm 1.3	19.0 \pm 1.1
GnRH	6/7*	5.1 \pm 0.4	9.1 \pm 0.8 [†]	15.1 \pm 0.8	22.4 \pm 1.6 [†]
BE	0/7	4.5 \pm 0.8	-----	19.2 \pm 1.7	23.7 \pm 1.6
hCG	0/5	5.6 \pm 0.8	-----	18.7 \pm 1.0	30.8 \pm 4.0* [†]
PMSG	1/7	4.5 \pm 0.4	14	15.6 \pm 1.0	25.4 \pm 1.4* [†]

* P<0.05 comparado con el grupo de atropina; † P<0.05 comparado con el ovario extirpado (ANDEVA seguido de la Prueba de Duncan).

En el animal hemiovariectomizado, el bloqueo de los receptores muscarínicos del lado izquierdo de POA-AHA, realizado en el día del estro, altera la sensibilidad del ovario a la señal hipofisaria y del hipotálamo a la señal ovárica.

En los Cuadros 3 al 6 se resumen los efectos del implante del lado derecho o izquierdo de POA-AHA realizado en el día del estro (Cuadro 3), diestro 1 (Cuadro 4), diestro 2 (Cuadro 5) o proestro (Cuadro 6), en los animales con ambas gónadas. En el Cuadro 7 se resumen los resultados observados en los animales hemiovariectomizados.

CUADRO 3.- RESUMEN DE LOS EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA, COLOCADO EN EL DIA DEL ESTRO, Y LA RESPUESTA DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO AL REEMPLAZO HORMONAL.

	I M P L A N T E D E R E C H O		I M P L A N T E I Z Q U I E R D O	
<u>EFECTOS GENERALES:</u>				
Animales ovulantes		Cero		Normal
Animales con cornificación vaginal		↓		Normal
Animales con útero distendido		↑		Normal
Número de ovocitos por animal que ovuló		Cero		Normal
Peso de los ovarios		Normal		Normal
Peso del útero		Normal		Normal
<u>EFECTOS DEL REEMPLAZO HORMONAL:</u>				
	OUVLACION	NUMERO DE OVOCITOS POR ANIMAL QUE OVULO		
GnRH en proestro	SI	Normal		
hCG en proestro	SI	Normal		
Benzoato de estradiol en diestro 2:	NO	Cero		
hCG en diestro 2	NO	Cero		
PHSG una hora después del implante:	NO	Cero		
GnRH una hora después del implante	NO	Cero		
<u>EFECTOS EN LA POBLACION FOLICULAR:</u>				
		O V A R I O :		O V A R I O :
		DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO IZQUIERDO
Folículos preovulatorios:				
pequeños		↓	Normal	Normal ↓
grandes		↑	Normal	Normal ↑

CUADRO 4.- RESUMEN DE LOS EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA, COLOCADO EN EL DIA DEL DIESTRO 1, Y LA RESPUESTA DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO AL REEMPLAZO HORMONAL.

	I M P L A N T E D E R E C H O		I M P L A N T E I Z Q U I E R D O	
<u>EFECTOS GENERALES:</u>				
Animales ovulantes		↓		↓
Animales con cornificación vaginal		↓		↓
Animales con útero distendido		↑		Normal
Número de ovocitos por animal que ovuló		Normal		↓
Peso de los ovarios		Normal		Normal
Peso del útero		Normal		↓
<u>EFECTOS DEL REEMPLAZO HORMONAL:</u>				
	<u>OVLACION</u>	<u>NUMERO DE OVOCITOS POR ANIMAL QUE OVULO</u>	<u>OVLACION</u>	<u>NUMERO DE OVOCITOS POR ANIMAL QUE OVULO</u>
GnRH en proestro	SI	Normal	SI	Normal
hCG en proestro	SI	Normal	SI	Normal
Benzoato de estradiol en diestro 2:				
Implante derecho:	NO	Cero	--	-----
Implante izquierdo:	--	-----	SI	Normal
hCG en diestro 2	NO	Cero	NO	Cero
PMSG una hora después del implante:				
derecho:	NO	Cero	--	-----
izquierdo:	--	-----	SI	Normal
GnRH una hora después del implante	NO	Cero	NO	Cero
<u>EFECTOS EN LA POBLACION FOLICULAR:</u>				
	<u>O V A R I O :</u>		<u>O V A R I O :</u>	
	<u>DERECHO</u>	<u>IZQUIERDO</u>	<u>DERECHO</u>	<u>IZQUIERDO</u>
Folículos preovulatorios:				
pequeños		↓	Normal	Normal
grandes		↑	Normal	Normal

CUADRO 5.- RESUMEN DE LOS EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA, COLOCADO EN EL DIA DEL DIESTRO 2, Y RESPUESTA DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO AL REEMPLAZO HORMONAL.

	IMPLANTE DERECHO	IMPLANTE IZQUIERDO
<u>EFFECTOS GENERALES:</u>		
Animales ovulantes	Normal	↓
Animales con cornificación vaginal	Normal	Normal
Animales con útero distendido	↑	↑
Número de ovocitos por animal que ovuló	Normal	Normal
Peso de los ovarios	Normal	Normal
Peso del útero	↑	Normal
<u>EFFECTOS DEL REEMPLAZO HORMONAL:</u>		
GnRH en proestro	SI	Normal
hCG en proestro	SI	Normal
Benzoato de estradiol en diestro 2:	SI	↑
hCG en diestro 2	NO	Cero
PMSG una hora después del implante:	SI	Normal
GnRH una hora después del implante	NO	Cero
<u>EFFECTOS EN LA POBLACION FOLICULAR:</u>		
	O V A R I O :	
	DERECHO	IZQUIERDO
Foliculos preovulatorios:		
pequeños	↓	Normal
grandes	↑	Normal
	Normal	Cero
	Normal	Cero

CUADRO 6.- RESUMEN DE LOS EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA, COLOCADO EN EL DIA DEL PROESTRO.

	IMPLANTE DERECHO		IMPLANTE IZQUIERDO	
<u>EFFECTOS GENERALES:</u>				
Animales ovulantes	Normal		Normal	
Animales con cornificación vaginal	Normal		Normal	
Animales con útero distendido	Normal		Normal	
Número de ovocitos por animal que ovuló	Normal		Normal	
Peso de los ovarios	Normal		Normal	
Peso del útero	Normal		Normal	
<u>EFFECTOS EN LA POBLACION FOLICULAR:</u>				
	OVARIO:		OVARIO:	
	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
Foliculos preovulatorios:				
pequeños	Normal	Normal	Normal	Normal
grandes	Normal	Normal	Normal	Normal

CUADRO 7.- RESUMEN DE LOS EFECTOS DEL IMPLANTE UNILATERAL DE ATROPINA, COLOCADO EN EL DIA DEL ESTRO, Y LA RESPUESTA DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO DEL ANIMAL HEMIOVARIECTOMIZADO AL REEMPLAZO HORMONAL.

	IMPLANTE DERECHO	IMPLANTE IZQUIERDO
<u>EFECTOS GENERALES:</u>		
Animales ovulantes	Normal	↓
Animales con cornificación vaginal	Normal	↓
Animales con útero distendido	Normal	↓
Número de ovocitos por animal que ovuló	↑	Normal
Peso de los ovarios	Normal	↓
Peso del útero	Normal	Normal
<u>EFECTOS DEL REEMPLAZO HORMONAL:</u>	<u>OVULACION</u>	<u>NUMERO DE OVOCITOS POR ANIMAL QUE OVULO</u>
GnRH en proestro	SI	Normal
Benzoato de estradiol en diestro 2:	NO	Cero
hCG en diestro 2:	NO	Cero
PMSG una hora después del implante:	↓	↑

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

Los resultados de este estudio muestran que la asimetría de las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario está vinculada a diferencias en la actividad del sistema colinérgico del lado derecho y del lado izquierdo de POA-AHA, la que varía durante el ciclo estral. Los receptores muscarínicos del lado derecho e izquierdo de la región POA-AHA regulan de manera asimétrica la secreción "tónico-fásica" de la GnRH y de la LH, ya que su bloqueo unilateral modificó de manera diferencial la respuesta del ovario a las gonadotropinas y la acción estimuladora de los estrógenos sobre el hipotálamo. El bloqueo de la ovulación por el implante unilateral de atropina al inicio del ciclo estral, es consecuencia de la modificación de la secreción tónica de la FSH y de la sensibilidad del ovario a la señal hipofisaria, lo que provoca alteración de la secreción de estrógenos por el ovario. Los mecanismos que regulan la acción estimulante de los estrógenos sobre la secreción preovulatoria de las gonadotropinas, presentan asimetría. Los resultados del análisis de la población folicular nos permiten sugerir que el sistema colinérgico de POA-AHA regula de manera inhibitoria la maduración y la atresia de los folículos del ovario ipsilateral y que dicha regulación podría ocurrir por medio de una conexión neural directa entre POA-AHA y el ovario.

POSIBLE INTERACCION DEL SISTEMA COLINERGICO CON LA NEURONA GnrHérgica DE POA-AHA

El bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, a las 13:00 horas del estro, diestro 1 o diestro 2, interrumpió la ovulación en proporciones semejantes a las observadas por Domínguez y colaboradores (27) al administrar la atropina por vía subcutánea, a la misma hora y en los mismos días que en este estudio. Este efecto inhibitor de la ovulación dependió tanto del día del ciclo, como del lado de POA-AHA afectado, ya que los efectos de la atropina colocada en el lado derecho de POA-AHA en el día del estro, desaparecieron en el día del diestro 2, mientras que los del lado izquierdo presentaron un comportamiento en espejo. Estos resultados nos permiten sugerir que durante el día del estro, el sistema colinérgico del lado derecho de esta zona comandaría los eventos neuroendócrinos que culminan con la ovulación. En el día del diestro 1, ambos lados de POA-AHA serían indispensables, mientras que en el día del diestro 2, el lado izquierdo de POA-AHA parece ser el más importante.

Esta asimetría funcional de POA-AHA puede ser consecuencia de diferencias anatómicas entre el lado derecho e izquierdo, ya que existen evidencias de que las neuronas GnrHérgicas quizá proyecten fibras colaterales hacia otras neuronas GnrHérgicas o sobre sí mismas, lo que permitiría que la GnrH liberada regularía de manera inhibitoria su propia liberación (82).

El bloqueo de la ovulación provocado por el implante de atropina podría ser parcialmente explicado con base en las diferencias observadas en la cantidad de GnRH en el hipotálamo medio basal derecho e izquierdo, aunque en esos estudios no se consideró el día del ciclo estral y, además, el área estudiada es diferente (5, 47).

La noradrenalina es el principal neurotransmisor que regula de manera estimulante la secreción de GnRH que ocurre durante la tarde del proestro (6, 13, 83). Si la noradrenalina es el principal modulador de la secreción de la GnRH, entonces podemos preguntarnos ¿Cómo es la interacción del sistema colinérgico con la neurona GnRHérgica en la región POA-AHA?.

Las fibras noradrenérgicas que se proyectan a POA parecen provenir exclusivamente de los cuerpos celulares A1 y A2, que se localizan en el bulbo y en el núcleo caudal del tracto solitario, respectivamente (21). Sin embargo, estudios ultraestructurales no han mostrado que exista una especialización sináptica entre la terminal noradrenérgica y la neurona GnRHérgica, aunque si la hay con neuronas que sintetizan GABA (83).

Los somas de las neuronas colinérgicas no se encontrarían dentro del hipotálamo, ya que la deaferentación del hipotálamo medio basal sólo provocó ligera disminución del contenido de la CAT dentro del área deaferentada (73). Por lo tanto, es posible que la CAT y la acetilcolina medidas dentro del hipotálamo por otros investigadores sea la que

esté presente en la terminal sináptica, ya que se ha mostrado que el hipotálamo contiene una mayor cantidad de receptores muscarínicos presinápticos que la misma corteza cerebral (56, 63). También se ha sugerido que la liberación de catecolaminas en el hipotálamo, estaría regulada por receptores muscarínicos presinápticos, tal y como se ha planteado para la dopamina en el cuerpo estriado (3, 4). Por lo tanto, es posible que la atropina actúe sobre los receptores muscarínicos presinápticos de las terminales catecolaminérgicas de POA-AHA y de ser así, este sistema de modulación quedaría establecido en el nivel de control de la actividad de las neuronas GnRHérgicas, del modelo propuesto por Crowley y Kalra (13), de tal forma que la acetilcolina estimularía la actividad de neuronas que tienen una relación directa con la neurona GnRHérgica.

POSIBLES ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA FUNCION DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO, AL BLOQUEAR UNILATERALMENTE EL SISTEMA COLINERGICO DE POA-AHA (Esquemas 5 y 6).

El bloqueo de la ovulación provocado por el implante unilateral de atropina en los días de estro (lado derecho de POA-AHA), diestro 1 (lado derecho e izquierdo) o diestro 2 (lado izquierdo), resulta de la alteración de la secreción "fásica" de la GnRH y de la LH que ocurre en el día del proestro, ya que la administración de GnRH ó de hCG, en la tarde del proestro esperado, reestableció la ovulación en casi todos los animales implantados (sección A: Esquemas 5 y

6).

El hecho de que la administración de benzoato de estradiol o de PMSG haya reestablecido la ovulación solamente en aquellos animales con implante de atropina del lado izquierdo, nos permite sugerir que la respuesta de cada lado de POA-AHA a la acción estimulante de los estrógenos (endógenos ó exógenos) es asimétrica (secciones B y D: Esquemas 5 y 6). El hecho de que en la rata no existan receptores nucleares a estrógenos en el soma de las neuronas GnRHérgicas (78), permite sugerir que los estrógenos no actuarían directamente sobre esas neuronas, sino que su papel "gatillador" que culmina con la secreción preovulatoria de la GnRH, sería sobre otro tipo de neuronas o "interneuronas" que cuentan con receptores a estrógenos y que afectan directamente la actividad de las neuronas GnRHérgicas (6, 7, 31, 75).

El contenido de GnRH, noradrenalina, dopamina e histamina en rebanadas del hipotálamo medio basal de ratas sacrificadas en el día del diestro 2, aumenta cuando son estimuladas con estrógenos, mientras que la disminución de la función colinérgica en el hipotálamo, inducida por la inyección de la toxina AF64A, estimula la liberación de noradrenalina y no modifica la síntesis y liberación de dopamina (53. 68).

Con base en estos resultados, es posible suponer que aún cuando existan estrógenos suficientes como para disparar la secreción preovulatoria de GnRH, la falta del estímulo colinérgico del lado derecho de POA-AHA en los días previos

al proestro, impide que se cierre el circuito de regulación estimulante de la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH (secciones B y D: Esquemas 5 y 6).

Es posible que la respuesta asimétrica a dicho estímulo se deba, en parte, a diferencias en la capacidad de enlace de los estrógenos en algunas regiones del sistema nervioso central, como se ha planteado en el caso del dimorfismo sexual, o que exista asimetría en la cantidad de receptores a estrógenos o, de neuronas y glía por unidad de área, como ocurre en la corteza de los animales prepúberes (10, 23), lo que daría como consecuencia modificaciones diferenciales en la densidad de espinas y en la longitud de las dendritas, entre el lado derecho e izquierdo de POA-AHA.

La densidad de espinas dendríticas en el núcleo ventromedial de la rata disminuye en el animal castrado y varía durante el ciclo estral, mientras que en el criceto, la longitud de las dendritas de este mismo núcleo hipotalámico, aumenta por acción de los estrógenos (35, 58).

Los resultados obtenidos por el reemplazo gonadotrópico con hCG, 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 capacidad del ovario para secretar estrógenos en respuesta a la administración de la hCG en la tarde del diestro 2, ya que los animales no ovularon y disminuyó el peso del útero (sección C: Esquemas 5 y 6). Las alteraciones de la secreción de estrógenos inducidas por los implantes unilaterales de

atropina, también pueden estar relacionadas con modificaciones en la secreción de VIP, ya que la lesión unilateral o bilateral de POA-AHA incrementa la cantidad de fibras que liberan el péptido en el ovario izquierdo, pero no en el derecho (1), lo que se traduciría en un control asimétrico de esta zona del sistema nervioso central sobre la secreción de estrógenos.

En los animales con bloqueo ovulatorio por la administración sistémica de atropina en el día del diestro 1, la inyección de hCG en la tarde del diestro 2, reestableció la ovulación (27), hecho que no se observó en los animales con implante de atropina 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 o de la alteración de una vía neural de información directa desde el hipotálamo (¿POA-AHA?) hasta el ovario, como ha sido postulado previamente (11, 46, 48, 64).

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, ya que sólo ovularon los animales que fueron inyectados con PMSG. Se ha mostrado que la adición de atropina al cultivo de células de la

adenohipófisis y fragmentos de hipotálamo, bloquea la liberación de la FSH al medio de cultivo (81). Diversos autores han sugerido la posibilidad de que la secreción de cada gonadotropina sea regulada por un péptido hipotalámico diferente (7, 18, 32, 81); la administración de anti-GnRH a ratas castradas, disminuye la concentración plasmática de la LH, pero no modifica ni la concentración, ni la frecuencia de los pulsos de secreción de la FSH, por lo que se sugiere que la GnRH controlaría la concentración basal de la FSH, pero no los pulsos; en cambio, tendría todo el control sobre la LH (82).

El hecho que la administración de PMSG en el día del diestro 1 a los animales con implante de atropina en el lado izquierdo de POA-AHA, reestableció la ovulación y no modificó el peso del útero, en tanto que aquellos con implante del lado derecho no ovularon y disminuyó el peso del útero, apoya la hipótesis de la existencia de una vía neural entre el hipotálamo y los ovarios, en la que participan los receptores muscarínicos de POA-AHA, ya que su bloqueo modifica en forma asimétrica la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas y la respuesta del hipotálamo a las hormonas ováricas.

Con base a los resultados obtenidos proponemos que algunos de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de estrógenos y progesterona presentan lateralización, ya que la tasa de cornificación vaginal disminuyó sólo en los grupos de animales con implante de atropina del lado derecho de POA-AHA, al tiempo que aumentó

la de útero distendido. La secreción de estrógenos que ocurre en la tarde del día del diestro 2, es suficiente para que se produzca la cornificación de la vagina que se observa en el día del estro (84).

La presencia de útero distendido en los animales implantados con atropina, dependió del lado de POA-AHA y del día del ciclo afectado. Ya que la pérdida de líquido de la luz del útero es inducida por la progesterona secretada por el ovario (30), nuestros resultados nos permiten sugerir que la liberación de la misma durante la tarde del diestro 2 dependería, en parte, de la actividad de los receptores colinérgicos de POA-AHA.

POSIBLE COMUNICACION NEURAL IPSILATERAL ENTRE POA-AHA Y EL OVARIO. PAPEL DEL SISTEMA COLINERGICO EN LA REGULACION DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

El aumento del peso de los ovarios en los animales que fueron implantados con colesterol, no sería el resultado de modificaciones en la secreción de las gonadotropinas, ya que en la mayoría de los animales la ovulación fue normal, presentaron cornificación vaginal, no tuvieron el útero distendido, y el peso del útero fue semejante al de los animales intactos. Tampoco parece deberse a la pequeña lesión que puedan causar los cristales de colesterol, ya que en los animales en los que se introdujo la cánula interna sin el colesterol, también aumentó el peso de los ovarios. Estos mismos resultados se han observado cuando se introduce un electrodo y no se pasa corriente (resultados no publicados),

por lo que es posible pensar que al introducir la cánula interna se hayan seccionado fibras nerviosas aferentes al ovario que modulan la respuesta de los compartimentos del ovario a las gonadotropinas. Esta posibilidad es apoyada por el hecho de que el número total de folículos medidos aumentó casi al doble en ambos ovarios. Otro hecho que explicaría el aumento de peso de los ovarios es el incremento en el diámetro promedio de los folículos atrésicos.

Nuestros resultados permiten afirmar que el sistema colinérgico de POA-AHA regula en forma inhibitoria, y de manera diferencial según el día del ciclo estral, el crecimiento y la maduración de los folículos del ovario ipsilateral, lo que apoya la idea de que exista una conexión neural aferente e ipsilateral desde POA-AHA al ovario. Además, que la información neuroendócrina que se genera por medio de los receptores muscarínicos de esta zona, también participa en la regulación del proceso de atresia de los folículos preovulatorios.

La respuesta de cada ovario a esta modulación es asimétrica y diferente en cada día del ciclo estral, ya que el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos en el día del estro o del diestro 1, estimuló la atresia en los folículos preovulatorios de ambos ovarios, tal como se vió en el estudio de la población folicular realizada en el día del proestro. Según Hirshfield y Midgley (52), estos folículos son los que hubiesen ovulado en ese ciclo. Dado que estos folículos secretan la cuota preovulatoria de estrógenos, es

posible suponer que ésta no se produjo, posiblemente como resultado de la disminución en la capacidad de aromatización de los andrógenos por los folículos atrésicos (28).

Durante estos dos días del ciclo estral, el sistema colinérgico sería uno de los elementos que modulan la síntesis de estrógenos y, por ende, la atresia. Esta interacción podría tener como intermediario al sistema VIP del ovario ya que se ha observado una relación moduladora entre ambos en el hipocampo y la corteza de la rata (57).

Dado que la síntesis de estrógenos por el ovario es un mecanismo de regulación compleja, es difícil pensar en un único factor que explique nuestros resultados. Así, la acetilcolina regula de manera inhibitoria la secreción de prolactina la que inhibe a la enzima aromatasa, en especial en los folículos mayores de 500 μ m de diámetro, lo que podría estimular la atresia folicular (26, 55, 77).

En los ovarios de los animales implantados en lado derecho de POA-AHA en el día del diestro 1 que ovularon, la población de folículos preovulatorios grandes desapareció y no se observaron signos de atresia en los folículos preovulatorios pequeños. La falta de ovulación en los animales implantados en el día del diestro 1 del lado derecho de POA-AHA, sería consecuencia de la disminución del número de folículos preovulatorios que se observó en la mañana del día del proestro esperado, ya que en los ovarios de estos animales los folículos de reserva fueron los que presentaron atresia.

Con base en los resultados obtenidos por el reemplazo hormonal en los animales con implante unilateral de atropina y del estudio de la población folicular, es posible sugerir que el sistema colinérgico de POA-AHA regula la respuesta del ovario, en particular la de los folículos, a las gonadotropinas por medio de una vía neural.

POSIBLES ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA FUNCION DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO DEL ANIMAL HEMIOVARIETOMIZADO, AL BLOQUEAR DE MANERA UNILATERAL EL SISTEMA COLINERGICO DE POA-AHA EN EL DIA DEL ESTRO (Esquema 7)

Los resultados del presente estudio apoyan nuestra hipótesis de que otro de los factores que participan en la función asimétrica del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, es la conexión bidireccional entre el ovario y el hipotálamo y, que los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación en el animal intacto son diferentes a los del hemiovariectomizado (24). En el animal intacto, la ovulación fue interrumpida cuando en el día del estro se bloquearon los receptores muscarínicos del lado derecho de POA-AHA, y ocurrió cuando se bloquearon los del lado izquierdo, mientras que en el animal hemiovariectomizado, los resultados fueron inversos.

Nuestros resultados no pueden ser explicados exclusivamente con base a las diferencias existentes en el contenido de GnRH en el hipotálamo medio basal, ni en sus respuestas a la hemigonadectomía. La extirpación de uno de

los ovarios provoca aumento del contenido de GnRH en el hipotálamo medio basal del mismo lado que se extirpa el ovario, por lo que la lateralización en el contenido del péptido se hace más marcada cuando se extirpa el ovario derecho y disminuye cuando se extrae el izquierdo (47).

Los resultados del presente estudio apoyan nuestro postulado previo de que la falta de la información neural proveniente de cada uno de los ovarios afecta de manera diferencial la capacidad de respuesta de cada lado del hipotálamo (15).

Dado que en el animal hemiovariectomizado, el implante unilateral de colesterol incrementó el número de ovocitos liberados y la hipertrofia compensadora del ovario, nos permite sugerir que la vía neural que procede de POA-AHA y que es aferente a los ovarios, modifica la sensibilidad de éstos a las gonadotropinas, lo que resulta en el aumento del número de folículos en crecimiento. En el animal hemicastrado se ha mostrado asimetría hipotalámica en los mecanismos que regulan la secreción de la FSH, el proceso de hipertrofia compensadora y la capacidad ovulatoria del ovario (15, 20, 36, 65, 66).

Tanto en el animal intacto como en el hemiovariectomizado, la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH dependen de la información neuroendócrina generada por el sistema colinérgico de POA-AHA, ya que el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos tienen efectos opuestos y los animales ovulan después de administrarles la

GnRH en el día del proestro (sección A: Esquema 7).

Tanto en animales normales como en aquellos con bloqueo neurológico (27, 84), los mecanismos de retrocontrol positivo que ejercen los estrógenos y que culminan con la ovulación, no son funcionales en los animales hemiovariectomizados con implante unilateral de atropina, ya que este hecho es opuesto al observado en los animales intactos (sección B: Esquema 7), en donde las ratas con implante de atropina del lado izquierdo de POA-AHA, no ovularon después de la administración de estrógenos. Nuestros resultados indican la existencia de asimetría en la sensibilidad de ambos lados POA-AHA para responder al efecto estimulante de los estrógenos, el cual depende de la información que proviene de los ovarios.

En el animal intacto, el bloqueo de los receptores muscarínicos de POA-AHA modificó la capacidad de los ovarios para secretar estrógenos en respuesta a la estimulación de la hCG, ya que disminuyó el peso del útero, lo que no ocurrió en el animal hemiovariectomizado, ya que en este modelo, la administración de hCG o PMSG no se modificó el peso del útero (secciones C y D: Esquema 7),. Por lo tanto es posible suponer que POA-AHA no parece responder al estímulo de la señal ovárica.

El bloqueo colinérgico inducido por el implante de atropina en la región izquierda de POA-AHA de los animales hemiovariectomizados afectó la secreción tónico-fásica de las gonadotropinas, ya que los animales no ovularon y el peso de

los ovarios, así como la hipertrofia compensadora de los mismos, disminuyeron significativamente.

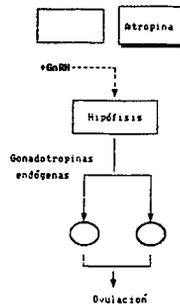
Por ello podemos suponer que la hipertrofia compensadora del ovario, que normalmente depende de la inervación del ovario (11, 15, 20, 34, 64), depende también de información neuroendócrina que se genera en el lado izquierdo de POA-AHA, ya que la reactividad del ovario in situ a las gonadotropinas exógenas no fue modificada (sección C y D: Esquema 7).

En suma, la conexión neural bidireccional entre los ovarios y el sistema nervioso central participaría en los mecanismos de regulación fina de las acciones de las gonadotropinas sobre el ovario y de las respuestas del hipotálamo a las hormonas ováricas (11, 15, 25, 27, 48, 64).

ESQUEMA 5.- POSIBLES ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA FUNCION DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OUARIO AL BLOQUEAR LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DEL LADO IZQUIERDO DE PDA-AHR.

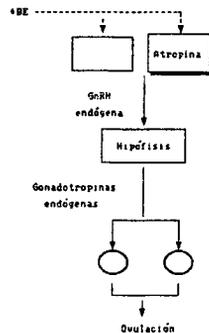
PROESTRO:

A

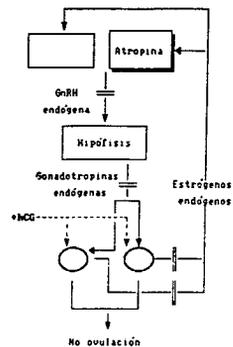


DIESTRO 2:

B

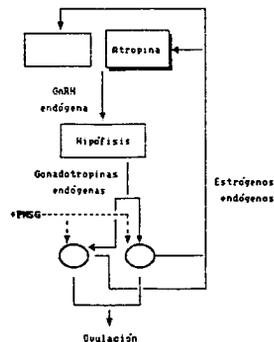


C

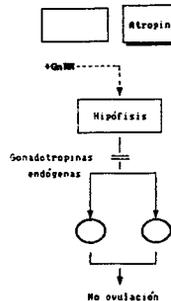


DIESTRO 1 o ESTRO:

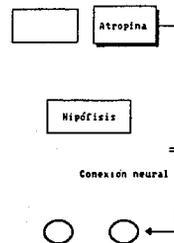
D



E

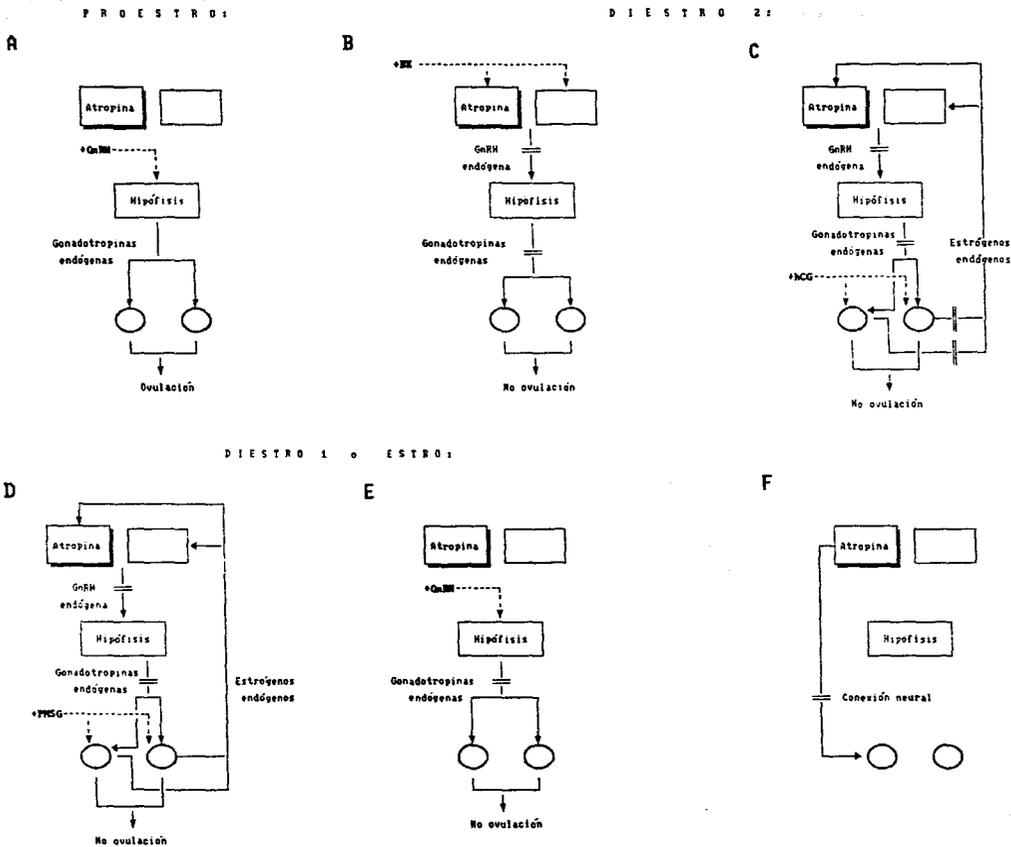


F



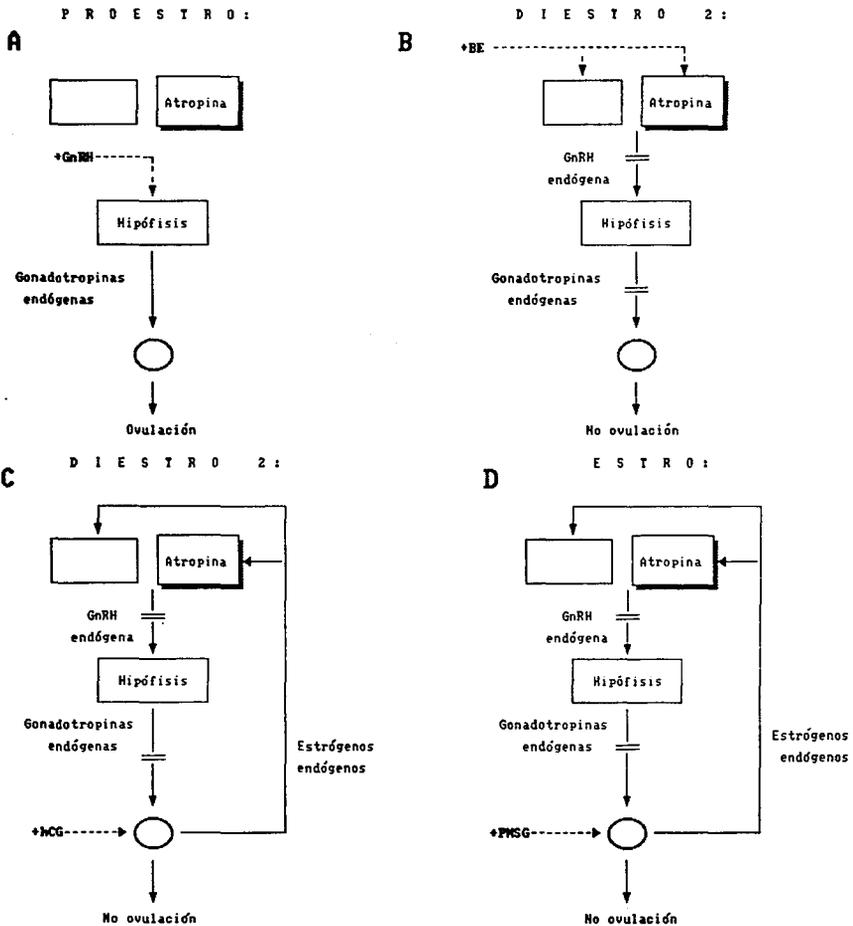
≡ Interrupción de la conexión neuroendocrina

Esquema 6. POSIBLES ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA FUNCIÓN DEL EJE HIPOTALAMO-HIPÓFISIS-OVARIO AL BLOQUEAR LOS RECEPTORES MUSCARÍNICOS DEL LADO DERECHO DE PDA-ANA.



≡ Interrupción de la conexión neuroendocrina

Esquema 7. POSIBLES ALTERACIONES EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA FUNCION DEL EJE HIPOTALAMO-HIPOFISIS-OVARIO DEL ANIMAL HEMIOVARIECTOMIZADO, DESPUES DE BLOQUEAR LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DEL LADO IZQUIERDO DE POA-AHA.



CONCLUSIONES

1. La lateralización de las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario está vinculada a diferencias en la actividad del sistema colinérgico del lado derecho y del lado izquierdo de POA-AHA, la que varía durante el ciclo estral.
2. Los receptores muscarínicos de la región POA-AHA, participan de manera asimétrica en la regulación de la secreción "tónico-fásica" de la GnRH y de la LH, ya que su bloqueo unilateral modificó de manera diferencial la respuesta del ovario a las gonadotropinas y la acción estimuladora de los estrógenos sobre el hipotálamo.
3. El bloqueo de la ovulación por el implante unilateral de atropina, es consecuencia de la alteración de la secreción tónica de la FSH y de los estrógenos.
4. Los mecanismos que regulan la acción estimulante de los estrógenos sobre la secreción preovulatoria de las gonadotropinas, presentan asimetría.
5. Existe una conexión neural directa e ipsilateral entre POA-AHA y el ovario.
6. El sistema colinérgico de POA-AHA regula de manera inhibitoria la maduración y la atresia de los folículos ováricos. Dicha influencia es ipsilateral al ovario y depende del día del ciclo estral.
7. Los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación en el animal hemiovariectomizado, presentan diferencias con los del animal entero.
8. La falta de información neuroendócrina provocada por la extirpación de un ovario, modifica la sensibilidad de ambos lados POA-AHA a los efectos estimulante de los estrógenos sobre la liberación preovulatoria de las gonadotropinas.
9. La hipertrofia compensadora del ovario depende en parte, de la información neural que surge del lado izquierdo de POA-AHA.
10. Para comprender los mecanismos que regulan la ovulación, es necesario considerar la participación asimétrica del sistema colinérgico de POA-AHA, el día del ciclo estral y la información neural que se origina en los ovarios.

PERSPECTIVAS

Para continuar con el estudio de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función asimétrica del eje hipotálamo-hipófisis-ovario así como su respuesta a la falta de una gónada, es necesario responder, entre otras, a las siguientes interrogantes:

¿La actividad asimétrica del sistema colinérgico del lado derecho e izquierdo de POA-AHA depende de diferencias en la cantidad, la disponibilidad o la capacidad de enlace de los receptores colinérgicos; en la actividad de la CAT o de la AChE; en el número de terminales colinérgicas, o de todas a la vez?

¿El sistema colinérgico de POA-AHA regula directamente la función de la neurona GnRHérgica, o actúa en neuronas intermedias relacionadas directamente con la neurona GnRHérgica?.

¿El contenido asimétrico de GnRH observado en el hipotálamo medio basal también se da en POA-AHA?. Si es así, ¿se debe a diferencias en el número de células GnRHérgicas entre un lado y otro de POA-AHA?

¿Cuáles son las causas por las que el lado derecho de POA-AHA no responda a la señal ovárica cuando los receptores muscarínicos de esa zona están bloqueados?

¿Existe lateralización en el mecanismo de retrocontrol estimulante de los estrógenos que culmina con la ovulación?

¿El nervio vago o el nervio ovárico superior son parte de la vía de conexión neural que existe entre el hipotálamo y el ovario?

¿Cuáles son los mecanismos neuroendócrinos que se modifican al extirpar uno de los ovarios y que provocan que POA-AHA no responda al estímulo estrogénico?

¿Los otros sistemas de neurotransmisión y péptidos que regulan la secreción de GnRH, también funcionan de manera asimétrica?

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADVIS, J.P., AHMED, C.E. y 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.- ARNOLD, A. P. y BOTTJER, S. W. (1985). Cerebral lateralization in birds. En: *Cerebral Lateralization in Nonhuman Species*. Editor Glick, S.D., Academic Press, Inc. Orlando, Florida, p.p. 11-39
- 3.- AVISSAR, S., EGOZI, Y. y SOKOLOVSKY, M. (1981). Studies on muscarinic receptors in mouse and rat hypothalamus: a comparison of sex and cyclical differences. *Neuroendocrinology* 32: 295-302
- 4.- AVISSAR, S., EGOZI, Y. y SOKOLOVSKY, M. (1981). Biochemical characterization and sex dimorphism of muscarinic receptors in rat adenohypophysis. *Neuroendocrinology* 32: 203-309
- 5.- BAKALKIN, G.Y., TSIBEZOV, V.V., SJUTKIN, E.A., VESELOVA, S.P., NOVIKOV, I.D. y KRIVOSHEEV, O.G. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res* 296: 361-364
- 6.- BARRACLOUGH, C.A. (1983). The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphol. Hung.* 31: 101-106
- 7.- BARRACLOUGH, C.A. y 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
- 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.- BROCA, P. (1861). Remarques sur le siege de la faculte du langage articule, survies d'une observation d'aphemie. *Bull. Soc. Anat.* 6: 396-407
- 10.- BROWN, T.J., HOCHBERG, R.B., ZIELINSKI, J.E y MacLUSKY, N.J. (1988). Regional sex differences in cell nuclear estrogen-binding capacity in the rat hypothalamus and preoptic area. *Endocrinology* 123: 1761-1770

- 11.- BURDEN, H. (1978). Ovarian Innervation. En: The Vertebrate Ovary. Comparative Biology. Editor R.E. Jones. Nueva York, Plenum Press, p.p. 615-638
- 12.- COOK, B. (1987). Endocrine asymmetry (Commentary). J. Endocrinol. 113:331-332
- 13.- CROWLEY, W.R. y KALRA, S.P. (1989). Regulation of preovulatory luteinizing hormone secretion by ovarian hormone-monoamine-neuro-peptide interactions in the rat. En: Neural Control of Reproductive Function. Editores J.M. Lakoski, J.R. Pérez-Polo y D.K. Rassin. Alan R. Liss, Inc., Nueva York, p.p. 79-93
- 14.- CRUZ, M.E., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. J. Endocrinol 123: 437-439
- 15.- CRUZ, M.E., MORAN, J.L., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1990). Differential effects of a unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rat. J. Endocrinol 124: 37-41
- 16.- CRUZ, M.E., MORAN, J.L., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1990). Differences in spontaneous ovulation in rats with unilateral lesion of the hypothalamus. Brain Res Bull 24: 739-742
- 17.- CRUZ, M.E., CHAVEZ, R., ROSAS, P., LUJAMBIO, V.M., MORAN, J.L. y DOMINGUEZ, R. (1990). Diurnal changes in hypothalamic acetylcholinesterase activity during the oestrus cycle of the rat. Med. Sci. Res. 18: 137-138
- 18.- CHAPPEL, S.C., ULLOA-AGUIRRE, A. y COUTIFARIS, C. (1983). Biosynthesis and secretion of follicle-stimulating hormone. Endocrine Rev. 4: 179-205
19. CHAVEZ. R., CARRIZOSA, L. y DOMINGUEZ, R. (1991). Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. Med. Sci. Res. 19:41-42
- 20.- CHAVEZ,R., CRUZ,M.E. y DOMINGUEZ,R. (1987). 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
- 21.- DAY, T.A., BLESSING, W. y WILLOUGHBY, J. O. (1980). Noradrenergic and dopaminergic projections to the medial preoptic area of the rat. A combined horseradish peroxidase/catecholamine fluorescence study. Brain Res 193: 543-548

- 22.- DIAMOND, M. C. (1985). Rat forebrain morphology: Right-Left; Male-Female; Young-Old; Enrich-Impoverished. En: Cerebral Lateralization in Nonhuman Species. Editor Glick, S.D., Academic Press, Inc. Orlando, Florida, p.p. 73-87
- 23.- DIAMOND, M.C. (1987). Sex differences in the rat forebrain. Brain Res Rev 12:235-240
- 24.- DOMINGUEZ, R. y CRUZ, M.E. (1989). Different effects of unilateral lesions of the hypothalamus on the spontaneous ovulation in intact and hemiovariectomized adult rat. XVI Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Zacatecas, Mex., p.p. 399-422
- 25.- DOMINGUEZ, R., CRUZ, M.E. y CHAVEZ, R. (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: Growth factors and the ovary. Editor A. Hirshfield. Plenum Press, Nueva York. Cap. 39: 321-325
- 26.- DOMINGUEZ, 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. Editor R. Domínguez. UNAM-PURRUA, México, p.p. 161-192
- 27.- DOMINGUEZ, 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
- 28.- ERICKSON, G.C. (1982). Follicular maturation and atresia. En: Serono Symposium No. 42 "The Gonadotropins; Basic Science and Clinical Aspects in Females". Editores C. Flamigi Y J. R. Givens. Academic Press, Londres, Nueva York, p.p. 177-182
- 29.- EVERETT, J.W., SAWYER, C.H. y MARKEE, J.E. (1949). A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cycle rat. Endocrinology 44: 234-250
- 30.- FEDER, H.H. (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: Neuroendocrinology of Reproduction, Physiology and Behavior. Editor N.T. Adler, Plenum Press, Nueva York, p.p. 279-348
- 31.- FINK, G. (1988). Gonadotropin secretion and its control. En: The Physiology of Reproduction. Capítulo 32, Ed. E. Knobil y J. Neill, et. al. Raven Press, Ltd. Nueva York, p.p. 1349-1377
- 32.- FIORINDO, R.P. y MARTINI, L. (1975). Evidence for a cholinergic component in the neuroendocrine control of luteinizing hormone (LH) secretion. Neuroendocrinology 18: 322-332

- 33.- FLORES, A., LEDESMA, L., ULLOA-AGUIRRE, A. y DOMINGUEZ. R. (1990). Acute changes in serum levels of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrous cycle of the rat. *Med Sci Res* 18: 819-821
- 34.- FRANKEL, A.I., CHAPMAN, J.C. y COOK, B. (1989). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. *J. Endocrinol* 122: 485-488
- 35.- FRANKFURT, M., GOULD, E., WOOLLEY, C.S. y McEWEN, B.S. (1990). Gonadal steroids modify dendritic spine density in ventromedial hypothalamic neurons: A Golgi study in the adult rat. *Neuroendocrinology* 51: 530-535
- 36.- FUKUDA, M., YAMANOUCHI, K., NAKANO, Y., FUKUDA, M. y ARAI, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neurosci.Let.* 51: 365-370
- 37.- GAINOTTI, G. (1972). Emotional behavior and hemispheric side of the lesion. *Cortex* 8: 41-55
- 38.- GALABURDA, A.; SHERMAN, G. y GESCHWIND, N. (1985). Cerebral Lateralization: Historical note on animal studies. En: *Cerebral Lateralization in Nonhuman Species*. Editor Glick, S.D., Academic Press, Inc. Orlando, Florida, p.p. 1-10
- 39.- GALIN, D. (1974). Implications for psychiatry of left and right cerebral specialization. *Arch. Gen. Psychiat.* 31: 572-583
- 40.- GESCHWIND, N. y GALABURDA, M. (1985). Cerebral Lateralization. Biological mechanisms. associations and pathology: I.- A hypothesis and a program for research. *Arch. Neurol.* 42: 428-459
- 41.- GERENDAI, I. (1980). Unilateral complete isolation of the medial basal hypothalamus interferes with the compensatory ovarian growth following unilateral ovariectomy. *Neuroendocr.Let.* 2: 39
- 42.- GERENDAI, I. (1986). Laterality in the Neuroendocrine Systems. En: *Duality and unity of the brain. Unified functioning and specialisation of the hemispheres*. Editor Ottoson, D., Proceedings of an International Symposium held at The Wenner Gren Center, Stockholm, p.p. 17-28
- 43.- GERENDAI, I., CLEMENTI, G., PRATO, A. y SCAPAGNINI, V. (1983). Unilateral vagotomy induces hyperprolactinaemia in male rats. *Neuroendocrinology Lett* 5: 41-45

44.- GERENDAI, I., DRAGO, F., CONTINELLA, G. y SCAPAGNINI, V. (1984). Effects of mastectomy and vagotomy on grooming behavior of the rat: Possible involvement of prolactin. *Physiol Behav* 33:1-4

45.- GERENDAI, I. y HALAZ, B. (1976). Hemigonadectomy-induced unilateral changes in the protein-synthesizing activity of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology* 21: 331-337

46.- GERENDAI, I. y HALASZ, B. (1981). Participation of a pure neuronal mechanism in the control of gonadal functions. *Andrologia* 13: 275-282

47.- GERENDAI, I., ROTSZTEJN, W., MARCHETTI, B. y SCAPAGNINI, V. (1979). LH-RH content changes in the medio-basal hypothalamus after unilateral ovariectomy. En: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects. Proceeding of Sorono Symposia, Vol 19*, editores A. Polleri y R. MacLeod. New York. Academic Press, p.p. 97-102

48.- GERENDAI, I. (1988). Innervation of the ovary and its functional significance. En: *The Brain and the Female Reproductive Function*. Editores A.R. Genazzani, U. Montemagno, C. Nappi y F. Petraglia. New Jersey. The Parthenon Publishing Group, p.p. 191-195

49.- GLICK, S.D., ROSS, D.A. y HOUGH, L.B. (1982). Lateral asymmetry of neurotransmitters in human brain. *Brain Res* 234: 53-63

50.- GORE-LANGTON, R.E. y ARMSTRONG, D.T. (1988). Follicular steroidogenesis and its control. En: *The Physiology of Reproduction*. Capítulo 10, Ed. E. Knobil y J. Neill, et. al. Raven Press, Ltd. Nueva York, p.p. 331-385

51.- HERMAN, V., KALK, W.J., de MOOR, N.G. y LEVIN, J. (1981). Serum prolactin after chest wall surgery: elevated levels after mastectomy. *J. Clin. Endocrinol Metab* 52: 148-151

52.- HIRSHFIELD, A.K. y MIDGLEY, A.R.Jr. (1978). Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol. Reprod* 19: 597-605

53.- HÖRTNAGL, H., POTTER, P.E. y HANIN, I. (1987). Effect of cholinergic deficit induced by ethylcholine aziridinium (AF64A) on noradrenergic and dopaminergic parameters in rat brain. *Brain Res* 421: 75-84

54.- KÖNIG, J.F.R. y KLIPPEL, R.A. (1963). *The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem*. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p. 162

- 55.- LIBERTUN, C. y 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
- 56.- LAPCHAK, P.A., ARAUJO, D.M., QUIRION, R. y BEAUDET, A. (1990). Chronic estradiol treatment alters central cholinergic function in the female rat: effect on choline acetyltransferase activity, acetylcholine content, and nicotine autoreceptor function. *Brain Res* 525: 249-255
- 57.- LAPCHAK, P.A., y BEAUDET, A. (1990). Cholinergic regulation of vasoactive intestinal peptide content and release in rat frontal cortex and hippocampus. *J. Neurochem* 55: 1340-1345
- 58.- MEISEL, R.L. y LUTTRELL, V.R. (1990). Estradiol increases the dendritic length of ventromedial hypothalamic neurons in female syrian hamsters. *Brain Res Bull* 25: 165-168
- 59.- MIZUNUMA, H., De PALATIS, L.R. y McCann, S.M. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37: 291-296
- 60.- MORA, F., PEINADO, J.M. y MYERS, R.D. (1984). Symmetrical distribution of amino acid and neurotransmitters in the right and left cerebral cortex of the rat. *Neurochem Res* 9: 1109-1115
- 61.- MONTI, J.M., SALA, M.A., OTEGUI, J.J., BENEDETTI, W.I. y GRINO, E. (1970). Inhibition of ovarian hypertrophy by implants of atropine in the hypothalamus. *Experientia* 15: 1263-1264
- 62.- MUKHERJEE, A., SNYDER, G. y McCANN, S.M. (1980). Characterization of muscarinic cholinergic receptors on intact rat anterior pituitary cells. *Life Sciences* 27: 475-477
- 63.- MUTH, E.A., CROWLEY, W.R. y 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
- 64.- NANCE, D.M., BHARGAVA, M, y MYATT, G.A. (1984). Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Res Bull* 13: 651-655
- 65.- NANCE, D.M. y MOGER, W.H. (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH followin hemi-castration. *Brain Res Bull* 8: 299-302

- 66.- NANCE, D.M., WHITE, J.P. y MOGER, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Res. Bull* 10: 353-355
- 67.- NORDEEN, E.J. y YAHR, P. (1982). Hemispheric asymmetries in the behavioral and hormonal effects of sexually differentiating mammalian brain. *Science* 218: 391-393
- 68.- OHTSUKA, S., NISHIZAKI, T., TASAKA, K., MIYAKE, A., TANIZAWA, O., YAMATODANI, A. y WADA, H. (1989). Estrogen stimulates gonadotropin-releasing hormone release from rat hypothalamus independently through catecholamine and histamine in vitro. *Acta Endocrinologica* 120: 644-648
- 69.- OKE, A.; LEWIS, R. y ADAMS, R. N. (1978). Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in rat thalamus. *Brain Research* 188: 269-272
- 70.- RAO, Ch. V. y EDGERTON, L.A. (1984). Dissimilarity of corpora lutea within some ovaries or those from right and left ovaries of the pigs during the oestrous cycle. *J. Reprod. Fert.* 70:61-66
- 71.- ROBINSON, T. E., BECKER, J. B., CAMP, D. M. y MANSOUR, A. (1985). Variations in the pattern of behavioral and brain asymmetries due to sex differences. En: *Cerebral Lateralization in Nonhuman Species*. Editor Glick, S.D., Academic Press, Inc. Orlando, Florida, p.p. 185-231
- 72.- ROBINSON, R.G. (1979). Differential behavioral and biochemical effects of right and left hemispheric cerebral infarction in the rat. *Science* 205: 707-710
- 73.- RODRIGUEZ-SIERRA, J.F. y MORLEY, B.J. (1985). Evidence that cell bodies in the arcuate nucleus of the hypothalamus are not cholinergic. *Neuroendocrinology* 41: 427-431
- 74.- ROSEN, G.D., FINKLESTEIN, S., STOLL, A.L., YUTZEY, D.A. y DENENBERG, V.H. (1984). Neurochemical asymmetries in the albino rat's cortex, striatum and nucleus accumbens. *Life Sciences* 34: 1143-1148
- 75.- ROSIE, R., THOMSON, E. y FINK, G. (1990). Oestrogen positive feedback stimulates the synthesis of LHRH mRNA in neurones of the rostral diencephalon of the rat. *J. Endocrinol* 124: 285-289
- 76.- ROSS, D.A., GLICK, S.D. y MEIBACH, R.C. (1981). Sexual dimorphic brain and behavioral asymmetries in the neonatal rat. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78: 1958-1961

- 77.- RUIZ de GALARRETA, C.M., FANJUL, L.F. y 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
- 78.- SHIVERS, B.D., HARLAN, R.E., MORELL, J.I. y PFAFF, D.W. (1983). Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LHRH-immunoreactive neurones. Nature 304: 345-347
- 79.- SERAFETINIDES, E. A. (1965). The significance of the temporal lobes and of hemispheric dominance in the production of LSD-25 symptomatology in man. Neuropsychologia 3: 69-79
- 80.- SILVERMAN, A. (1988). The Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neuronal Systems: Immunocytochemistry. En: The Physiology of Reproduction. Capitulo 29, Ed. E. Knobil y J. Neill, et. al. Raven Press, Ltd. Nueva York, p.p.
- 81.- SIMONOVIC, I., MOTTA, M. & MARTINI, L. (1974). Acetylcholine and the release of the follicle-stimulating hormone-releasing factor. Endocrinology 95: 1373-1379
- 82.- VALENCA, M.M., JOHNSTON, C.A., CHING, M. y NEGRO-VILAR, A. (1987). Evidence for a negative ultrashort loop feedback mechanism operating on the luteinizing hormone-releasing hormone neuronal system. Endocrinology 121: 2256-2259
- 83.- WEINER, R.I., FINDELL, P.R. y KORDON, C. (1988). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of LH and prolactin. En: The Physiology of Reproduction. Editores E. Knobil y J. Neill. Raven Press, Ltd. Nueva York, p.p. 1235-1281
- 84.- WEICK, R.F., SMITH, E.R., DOMINGUEZ, R., DHARIWAL, A.P.S. y DAVIDSON, J.M. (1971). Mechanism of stimulatory feedback effect of estradiol benzoate on the pituitary. Endocrinology 88: 293-301