



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

**“LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA CON GLUTAMATO  
MONOSÓDICO (GMS) INCREMENTA LA SUSCEPTIBILIDAD A  
LA OXITOCINA EN EL MÚSCULO LISO UTERINO DE LA RATA”**

P R E S E N T A

ARACELI CATALINA LOMELÍ SÁNCHEZ

No. DE CUENTA 8852669-4

DIRECTOR: Dr. Alfonso Efraín Campos Sepúlveda

ASESORA: M. en C. María Elena Martínez Enríquez



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Lomeli Catalina Araceli Sánchez  
FECHA: 13/ Noviembre / 2008  
FIRMA: [Firma]

FACULTAD DE CIENCIAS  
Secretaría General  
División de Estudios Profesionales

Votos Aprobatorios

ACT. MAURICIO AGUILAR GONZÁLEZ  
Jefe de la División de Estudios Profesionales  
Facultad de Ciencias  
Presente

Por este medio hacemos de su conocimiento que hemos revisado el trabajo escrito titulado:

**"La neurotoxicidad inducida con glutamato monosódico incrementa la susceptibilidad a la oxitocina en el músculo liso uterino de la rata".**

realizado por **Lomeli Sánchez Araceli Catalina** con número de cuenta **0-8852669-4** quien ha decidido titularse mediante la opción de **tesis** en la licenciatura en **Biología**. Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Propietario Dr. Manuel Miranda Anaya

Propietario M. en C. Víctor Antonio Mejía Roa

Propietario Dr. Alfonso Efraín Campos Sepúlveda  
Tutor

Suplente Biól. Adriana García Alarcón

Suplente M. en C. María Elena Martínez Enríquez

*[Firma]*  
*[Firma]*  
*[Firma]*  
*Adriana García Alarcón*  
*[Firma]*

Atentamente,

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU "

Ciudad Universitaria, D. F., a 30 de julio de 2008

EL COORDINADOR DEL COMITÉ ACADÉMICO DE LA LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

*[Firma]*  
DR. ZENÓN CANO SANTANA

FACULTAD DE CIENCIAS



UNIDAD DE ENSEÑANZA  
DE BIOLOGÍA

Señor sinodal: antes de firmar este documento, solicite al estudiante que le muestre la versión digital de su trabajo y verifique que la misma incluya todas las observaciones y correcciones que usted hizo sobre el mismo.

## AGRADECIMIENTOS

\*Le agradezco a mis padres por darme la vida, a mi mamá la señora **Luz Sánchez Flores** por su apoyo incondicional que me ha brindado siempre, su paciencia, su dedicación, sus desvelos y por el gran amor que me a dado; a mi padre el señor **Daniel Lomelí Ramírez** por su cariño, apoyo y por que nunca se olvido de mi aunque no estuviera conmigo.

\*A mis hermanos **Daniel Raúl** y **Sandra Paola Lomelí Sánchez** a los que les dedico principalmente mi tesis con mucho cariño y respeto; por el apoyo, el amor y la confianza que siempre me han tenido y por que son lo más importante en mi vida.

\*A mis primos Gpe., Leticia y Víctor Sánchez C., mis tíos Raúl Martínez F., Álvaro Sánchez F., Pablo Flores F., Angelina Lomelí R., Lucia Carvajal M., y a mis abuelos Porfiria Modesta Flores, Fabián Sánchez C., Florentino Lomelí V. y Santa Ramírez.

\*A mis amigos Víctor Antonio Mejía R., Rodrigo Mújica G., Martha Patricia Jiménez P., Matilde Torres A., por su amor, amistad, apoyo, confianza y por creer en mi.

\*A mis compañeros, amigos y jefes de trabajo en C.C.H-Naucahpán: El Dr. J. Eduardo Montalvo C., Dr. Ángel Jardón D., Enf. Cristina Estrada M., Dr. Víctor H. Ramírez S., Sofia Pérez A., Dr. Carlos Gómez C., Dr. Jorge A. Ortiz C., Psicol. Martha Treviño, Biol. Gpe. Mendiola R., Yolanda Saldivar L, Sabina Omaña, Gabriel Trejo P., por su amistad, apoyo, cariño y por brindarme las facilidades para la realización y término de mi tesis.

\*A Dirección General de Servicios Médicos de la UNAM, al Dr. Héctor Fernández Varela, Dr. Manuel Vertíz M., Lic. Enf. Ma. Alejandra Guzmán V. por el apoyo y las facilidades para concluir mi tesis.

\*A la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México en especial al laboratorio de Toxicología por el apoyo para la realización y conclusión de mi tesis al Dr. Efraín Campos Sepúlveda, M. en C. María Elena Martínez Enríquez, Biol. Luz Elena Pelaes, Dr. Luis Antonio Moreno, Dr. Manuel Luna.

\*Al Ing. Agustín Rodríguez Fuentes y al Lic. Carlos Espinosa Salgado por la confianza y apoyo que se me brindo.

# ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES.....</b>	<b>4</b>
<b>1. GLUTAMATO MONOSÓDICO.....</b>	<b>4</b>
<b>2. SÍNDROME DEL RESTAURANTE CHINO (SRC).....</b>	<b>5</b>
<b>3. ÁCIDO GLUTAMICO.....</b>	<b>7</b>
<b>4. MECANISMOS DE ACCIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>5. NEUROTOXICIDAD.....</b>	<b>10</b>
<b>6. RECEPTORES PERIFERICOS DEL GLUTAMATO.....</b>	<b>11</b>
<b>7. CICLO ESTRAL.....</b>	<b>12</b>
<b>8. FASES DEL CICLO ESTRAL.....</b>	<b>14</b>
<b>a. PROESTRO.....</b>	<b>14</b>
<b>b. ESTRO.....</b>	<b>14</b>
<b>c. METAESTRO.....</b>	<b>16</b>
<b>d. DIESTRO.....</b>	<b>16</b>
<b>9. OXITOCINA.....</b>	<b>18</b>
<b>a. BIOSINTESIS, TRANSPORTE INTERNEURAL Y           SECRECIÓN.....</b>	<b>18</b>
<b>b. FUNCIÓN Y APLICACIONES DE LA OXITOCINA.....</b>	<b>20</b>
<b>c. EFECTOS FARMACOLÓGICOS.....</b>	<b>23</b>
<b>d. MECANISMOS DE ACCIÓN.....</b>	<b>23</b>
<b>10. ÚTERO.....</b>	<b>26</b>
<b>III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>28</b>
<b>IV. HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</b>	<b>28</b>
<b>V. OBJETIVOS GENERALES.....</b>	<b>29</b>
<b>VI. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>29</b>

<b>VII. MATERIAL Y MÉTODO.....</b>	<b>30</b>
<b>1. INDUCCIÓN DE NEUROTOXICIDAD.....</b>	<b>30</b>
<b>2. ESTUDIOS <i>In vitro</i> SOBRE ÓRGANO AISLADO.....</b>	<b>30</b>
<b>a. ANIMALES.....</b>	<b>30</b>
<b>b. DETERMINACIÓN DE LA FASE DEL CICLO ESTRAL....</b>	<b>31</b>
<b>c. AISLAMIENTO Y MONTAJE DEL ÚTERO.....</b>	<b>32</b>
<b>VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>35</b>
<b>IX. RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>X. DISCUSIÓN.....</b>	<b>43</b>
<b>XI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>48</b>

# **TESIS**

## **“LA NEUROTOXICIDAD INDUCIDA CON GLUTAMATO MONOSÓDICO (GMS) INCREMENTA LA SUSCEPTIBILIDAD A LA OXITOCINA EN EL MÚSCULO LISO UTERINO DE LA RATA”**

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Toxicología, del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, UNAM. Bajo la dirección del **Dr. Alfonso Efraín Campos Sepúlveda** y el asesoramiento de la **M. en C. María Elena Martínez Enríquez**

# I. INTRODUCCIÓN

El **glutamato monosódico** se ha utilizado en la industria alimentaria como condimento potenciador del sabor<sup>1,2</sup>. El ácido glutámico es el principal y más abundante neurotransmisor excitatorio del Sistema Nervioso Central (SNC), particularmente de mamíferos y es adquirido a través de la dieta de nuestros alimentos o sintetizado en el interior de las células. En 1954, **Hayashy**<sup>3</sup> propuso la función excitatoria del glutamato a nivel del SNC; 25 años después, evidencias bioquímicas y electrofisiológicas demostraron que el glutamato es un neurotransmisor que afecta el flujo iónico y modifica el potencial de membrana<sup>4-6</sup>. Es un neurotransmisor que en dosis altas induce neurotoxicidad que se manifiesta como alteraciones neuroquímicas, endocrinas, metabólicas y conductuales<sup>5,7-9</sup>.

En 1968 **Ho-man** informó sobre los riesgos de presentar una serie de reacciones al consumir comida china, que genéricamente se le conoce como **Síndrome del Restaurante Chino (SRC)**; también identificado como **Síndrome del Glutamato Monosódico**<sup>1,10</sup>. Diversos trabajos han demostrado una relación entre el consumo de glutamato monosódico (GMS) y los síntomas que algunas personas presentaron<sup>1,2,10,11</sup>. En las últimas tres décadas, se ha investigado esta problemática, ya que la prevalencia del síndrome alcanza el 7% en la población americana<sup>1</sup>. Estos trabajos aunque tienden a fortalecer la idea de que el responsable de estos síntomas es el glutamato, una sustancia que, a dosis suficientes, se conoce que ocasiona diversas alteraciones, incluso cerebrales, en animales de experimentación, los resultados aún son poco claros; sin embargo, la preocupación por los efectos del glutamato y la relación que existe con el síndrome del restaurante chino, llegó a tener serias consecuencias económicas negativas, estos aspectos permitieron investigar la etiología del síndrome<sup>1,2,10,11</sup>.

Por otra parte, los estudios en roedores tratados neonatalmente con GMS

mostraron que destruye neuronas en el área preóptica de estructuras medio basal del hipotálamo<sup>12-16</sup>. El grado de la lesión está relacionado con la magnitud de la dosis administrada del GMS y con la edad de los animales, al momento de ser tratados<sup>17-20</sup>. Las manifestaciones de toxicidad por GMS están más relacionadas con el hipotálamo, lo que determina un daño más severo de las funciones del eje hipotálamo-adenohipófisis<sup>21-26</sup>. La neurotoxicidad, se dice, que es la consecuencia de la activación continua de los receptores glutamatérgicos, hechos que dan lugar a cambios neuroquímicos, endocrinos, metabólicos, y conductuales como consecuencia del exceso de actividad excitatoria que se traduce a una actividad excitotóxica provocada por la activación masiva de los receptores glutamatérgicos, lo cual ocasiona un aumento del calcio intracelular y así el daño neuronal<sup>5,7-9,12</sup>.

Las alteraciones neuroquímicas, endocrinas, metabólicas y conductuales que presentan los animales tratados con GMS están relacionadas con la disminución del aprendizaje, modificación de conducta de ingesta de alimento, modificación del patrón del sueño, alteración de algunos ciclos circadianos, el desarrollo de obesidad, desórdenes neuroendocrinos sexuales y destrucción de la retina, etc<sup>7-9,14,27-30-45</sup>.

Por otro lado, la oxitocina es sintetizada por el núcleo paraventricular del hipotálamo, almacenado y secretado por la neurohipófisis. En dosis relativamente bajas aumenta el tono, la amplitud y la duración de las contracciones, con interrupción transitoria del flujo sanguíneo placentario, borramiento y dilatación gradual del cuello uterino.

Los roedores son mamíferos poliestrales cuyos ciclos reproductivos están regulados por la liberación de las hormonas liberadoras hipotalámicas como respuesta a un estímulo hipotalámico; cuando se produce un daño en estas estructuras conlleva a las alteraciones neuroquímicas y endocrinas, lo que provoca diversas disfunciones

reproductivas, que pueden alterar de alguna manera el ciclo estral ya sea que se presente o no, al igual que la actividad uterina. Además podría mmodificar la sensibilidad a la respuesta a diferentes fármacos como la oxitocina <sup>46-48</sup>.

## II ANTECEDENTES

### 1. GLUTAMATO MONOSÓDICO

En japonés el **glutamato monosódico** o E-621 recibe el nombre de *aji-no-moto*, que significa “fundamento del sabor”; es la sal de sodio del ácido glutámico. Su sabor, es uno de los cinco básicos junto al dulce, al salado, al agrio y al amargo, se denomina en japonés *umami*. En un principio se extraía del alga *Laminaria japonica* mediante un proceso desarrollado en 1908 por el profesor de química de la Universidad Imperial de Tokio Kikunea Ikeda. El glutamato monosódico, posee interesantes propiedades como un potente reforzador del sabor de los alimentos a los que se adicionaba y añade un quinto sabor, en la cocina oriental (en concentraciones inferiores al 1%), que puede describirse como un sabor salado, con gusto a carne o caldo de carne. Por lo que su uso es frecuente en la industria alimentaria en sopas, salsas, carnes, mariscos, ciertas conservas, platos semipreparados y preparados, etcétera e, incluso, como un aditivo sazonador culinario en restaurantes y hogares<sup>1, 2, 11, 49, 50</sup>.

## 2. SÍNDROME DEL RESTAURANTE CHINO (SRC)

El Síndrome del Restaurante Chino, por definición es un grupo de signos y síntomas que se caracterizan por dolor de cabeza (migraña), trastornos visuales, enrojecimiento facial, sudoración, sensación de presión o inflamación facial, parestesia y laxitud en cara, sienes, nuca, cuello o brazos, entumecimiento o ardor alrededor de la boca y cuello, náusea, vómito, diarrea, debilidad, palpitaciones, dolor torácico, parálisis, erupciones cutáneas, fotosensibilidad, mayor sensibilidad a los ruidos y a los olores. Dicho síndrome se desarrolla sólo en algunas personas después de haber ingerido comida china que se sabe contiene grandes cantidades de GMS<sup>1, 2, 10, 11, 49, 50</sup>.

Se acepta que existen síntomas que corresponden al SRC, en donde ciertas personas, en proporción reducida, pueden presentar una mayor susceptibilidad al GMS y en ellas se puede presentar el SRC. Existe evidencia de que la ingesta de cantidades elevadas de champiñones y el jugo de tomate (260 mg por 100 g), queso parmesano (1200 mg por 100 g), o la de pizzas y espaguetis preparados (todos ellos con alto contenido de glutamato) raramente se han asociado a los síntomas del SRC<sup>1</sup>. La información disponible sobre la investigación clínica señala que: 1) sugieren que con altas dosis de glutamato los resultados obtenidos suelen estar enmascarados por otros síntomas subjetivos; 2) con dosis menores los resultados suelen ser contradictorios; 3) no se ha podido establecer una clara relación entre las dosis del glutamato y los síntomas objetivos y 4) las dosis usadas en los estudios clínicos son cientos de veces inferiores a las que, en animales de experimentación, son necesarias para inducir la toxicidad<sup>1, 2</sup>. Sin embargo, la preocupación por los efectos del glutamato y la relación que existe con el síndrome del restaurante chino, llegó a tener serias consecuencias económicas negativas, abriendo una nueva línea de investigación respecto a la etiología del síndrome<sup>1, 2, 10, 11</sup>.

Se propone que el fenómeno es equivalente a otras situaciones semejantes en susceptibilidad o al rechazo que algunas personas muestran hacia ciertos componentes alimenticios, incluyendo los distintos tipos de reacciones alérgicas. Recientemente se ha hecho un análisis de la situación actual, señalando que todos los organismos internacionales competentes coinciden en que el uso normal y controlado del glutamato no representa un riesgo para la salud. En este sentido se han expresado en diferentes ocasiones el Comité de Expertos en Aditivos Alimenticios de la OMS (Organización Mundial de la Salud), o el JECFA (un Comité conjunto OMS-FAO (Organización sobre la Alimentación y la Agricultura), el Comité Científico para la Alimentación de la Comunidad Europea, o la American Medical Association. Incluso la estricta agencia regulatoria FDA (Food and Drug Administration) americana tiene clasificado al glutamato como sustancia segura GRAS (Generally Recognized As Safe), en el mismo grupo que la sal, la pimienta o el azúcar, añadiendo que “no hay evidencia científica que establezca que el glutamato cause, en particular, severas reacciones adversas o que existan riesgos de presentar reacciones graves por el consumo de GMS a bajas concentraciones”<sup>1, 11, 49,50</sup>.

### 3. ÁCIDO GLUTÁMICO

El ácido glutámico es uno de los 20 aminoácidos constituyentes de las proteínas, es uno de los aminoácido naturales más abundantes presente especialmente en alimentos como: lácteos, carnes rojas, pescado y numerosas verduras. Posee importantes funciones bioquímicas en el metabolismo nitrogenado, la transferencia de energía, los mecanismos moleculares de transporte o la detoxicación de amoníaco y otros productos. Además, por sí mismo, es un potente neurotransmisor, responsable hasta del 75% de la transmisión excitatoria cerebral. Dentro de las funciones neuroendocrinas, participa en la regulación de la ingesta de alimento y la saciedad<sup>1, 2, 49-51</sup>. Posteriormente se demostró su participación en diversos procesos fisiológicos, como el aprendizaje, la memoria y el desarrollo de la plasticidad neuronal, además de ser el precursor del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA)<sup>4-6</sup>. Por otra parte, desde el punto de vista terapéutico el ácido glutámico por vía oral se ha utilizado en el tratamiento de la esquizofrenia crónica y para aumentar el coeficiente intelectual en los niños. Uso terapéutico benéfico que no ha sido demostrado científicamente<sup>52,53</sup>.

#### 4. MECANISMO DE ACCIÓN DEL GLUTAMATO

El efecto excitatorio del glutamato está mediado por múltiples tipos de receptores específicos que se han caracterizado desde el punto de vista molecular, neurofisiológico, neuroquímico y farmacológico<sup>52</sup>. Estos sitios de unión específicos del glutamato se han clasificado en receptores *ionotrópicos* y *metabotrópicos*. Dentro de los *ionotrópicos* que participan en la neurotransmisión sináptica abriendo canales catiónicos selectivos se encuentran los del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA) y los no-NMDA, a los que pertenecen el receptor a Kainato (KA), D,L-amino-3hidroxi-5-metil-4-isoxasol ácido propiónico (AMPA) y el L-AP4 (L-2-amino-4-fosfonobutirato). Los canales activados por el AMPA y el KA son permeables a los iones sodio y potasio; el canal activado por el NMDA es altamente permeable a los iones sodio, potasio y principalmente al calcio.<sup>51-56</sup> Los receptores *metabotrópicos*, están mediados principalmente por proteínas G y que, en consecuencia son generadores de respuesta sinápticas lentas. Asimismo. Intervienen en el fenómeno de exitotoxicidad. La activación de la fosfolipasa C da lugar a la formación de los segundos mensajeros diacilglicerol (DAG) y el 1,4,5-trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>), fenómeno que se traduce a una movilización de calcio intracelular. La activación del receptor metabotrópico por el glutamato, bloquea el retardo de la conductancia de Ca<sup>2+</sup> dependiente de K<sup>+</sup> e incrementa la excitabilidad de neuronas. Además, distintos receptores metabotrópicos pueden modular la liberación de calcio del retículo endoplasmático y sarcoplasmático a través de los IP<sub>3</sub>. Por otro lado, recientes evidencias sugieren que los receptores ionotrópicos también modulan la liberación de calcio intracelular desde el retículo endoplasmático y sarcoplasmático<sup>56-58</sup>.

Se han propuesto diversos modelos biológicos en los cuales participa de manera importante el glutamato, la “*potenciación a largo plazo*” (PLP) y la *depresión a largo*

*plazo* (DPL), estos estudios pusieron de manifiesto los mecanismos mediante los cuales se podrían codificar el aprendizaje, la memoria y el desarrollo de la plasticidad neuronal. Una característica en ambos modelos, es el aumento en las concentraciones de iones calcio citoplasmático para desencadenar una serie de respuestas (activación de fosfolipasa C, fosfolipasa A<sub>2</sub>, Kinasa C, síntesis del óxido nítrico, etc.)<sup>57, 60, 61</sup>.

## 5. NEUROTOXICIDAD

Diversas evidencias sugieren que la administración exógena, en la etapa neonatal, del glutamato monosódico (GMS) produce lesiones neuronales en varias estructuras, como la retina, núcleo arqueado del hipotálamo, área postrema y otras áreas circunventriculares<sup>9,32,36-39,41,62-65</sup>. Esta neurotóxicidad se ha observado en diferentes especies que incluyen al pollo, el ratón, la rata, el hámster, el cobayo y el mono<sup>37,66,67</sup>. Este tratamiento resulta tóxico y, en general hay una destrucción neuronal en áreas medio basal del hipotálamo en ambos sexos y sólo en las ratas macho en el núcleo supraquiasmático<sup>9</sup>. Esta neurotóxicidad es consecuencia del exceso de actividad excitatoria que se traduce a una actividad excitotóxica provocada por la activación masiva de receptores glutamatérgicos, lo que ocasiona un aumento de calcio intracelular y el daño neuronal<sup>7-9,38,39,41</sup>.

El daño producido por el GMS en el núcleo arqueado del hipotálamo ocurre principalmente en neuronas dopaminérgicas y colinérgicas, lo cual se manifiesta en el deterioro de los niveles de dopamina en la eminencia media de las ratas hembras y alteraciones de la presión arterial<sup>18,40</sup>.

Estudios en ratas tratadas con GMS indican que aumenta el apetito en un 40%, su inhibición farmacológica puede inducir pérdidas de peso. Estos hallazgos aportan valiosa información que puede contribuir a la comprensión de la obesidad patológica en el hombre<sup>2, 42,49,50,68</sup>.

La disfunción neuroendocrina en ratas tratadas neonatalmente con GMS está relacionada con la modificación del número de receptores a estrógeno, en la alteración de la secreción de gonadotropinas, en la secreción de prolactina (PRL) y el comportamiento sexual<sup>6</sup>. Carrillo en 1983, reporta que la concentración de la PRL aumenta en el suero de las ratas tratadas con GMS y la concentración de la hormona

luteinizante (LH) disminuye, sin embargo, la concentración de la hormona folículo estimulante (FSH) no se modifica; en el hipotálamo de las ratas tratadas con GMS, el contenido de receptores de estrógeno muestran una disminución<sup>69</sup>. Además de que muestran una severa disfunción reproductiva como: el retraso de la pubertad, ciclos vaginales irregulares, hipogonadismo y reducción del tamaño de la glándula pituitaria. También las ratas hembras tratadas con GMS muestran una reducción en la lordosis<sup>9,70,71</sup>. Se observa un cambio en el comportamiento sexual y los niveles de progesterona en la sangre disminuyen<sup>9</sup>.

Además, las alteraciones en la neurotransmisión glutamatérgica se han relacionado con diversas neuropatologías agudas y crónicas como: la enfermedad de Huntington, estados epilépticos, hipoxia/isquemia, hipoglucemia, enfermedad de Alzheimer, Parkinson y esclerosis múltiple<sup>5, 19,20,30,32-36,38-42,69,71,72</sup>.

Recientemente, la función de los receptores NMDA han recibido considerable atención, por lo que se han desarrollado antagonistas del receptor NMDA con un alto potencial terapéutico en el tratamiento de algunos desórdenes neurodegenerativos, de ansiedad y como neuroprotectores<sup>73-76</sup>.

## **6. RECEPTORES PERIFERICOS DEL GLUTAMATO**

La identificación y caracterización de los receptores para aminoácidos excitatorios en tejidos periféricos han sido poco estudiados. Se ha reportado la presencia de receptores para el glutamato que pueden modular distintas funciones en estructuras como la glándula adrenal, los ganglios simpáticos y parasimpáticos, así como en otros tejidos<sup>77-84</sup>.

## **7. CICLO ESTRAL EN MAMÍFEROS**

El ciclo estral en mamíferos representa el ciclo reproductor cuya duración es generalmente de 5 a 60 días dependiendo de la especie, y se presenta en las hembras sexualmente maduras de diversas especies de mamíferos, cuando no hay gestación. Cada ciclo consiste en un breve período (habitualmente uno o dos días) de estro o celo en cuyo momento y no en otro la hembra copula con el macho y la ovulación coincide con esta fase.

En la mayoría de los mamíferos se observan períodos de actividad sexual que alternan con otros de inactividad, los que están sincronizados en ambos sexos. De acuerdo a su comportamiento reproductivo, los mamíferos se clasifican en reproductores estacionales o continuos, se reproduzcan en una determinada época o durante todo el año. Los reproductores estacionales tienen un período de reposo o anestro durante el cual disminuye la actividad sexual. En los reproductores continuos los ciclos sexuales se repiten sin interrupción todo el año. Todos los animales limitan el acto de copulación a una determinada fase en que el animal se encuentra en condiciones fisiológicas y psicológicas adecuadas, de forma que la copulación está permitida, lo anterior generalmente se le identifica como el período de calor o de estro.

En la mayor parte de los vertebrados, con excepción de algunos primates, la receptividad sexual se restringe a períodos que se presentan rítmicamente los denominados ciclos estrales, que se refiere al tiempo transcurrido entre el comienzo de un estro y el comienzo del siguiente. Durante el celo o estro, la hembra está fisiológica y psicológicamente condicionada para recibir al macho, y se presentan cambios estructurales en los órganos sexuales accesorios de la hembra. Tales cambios son muy diferentes de los que se manifiestan durante el resto del ciclo; que hace propicia la

copulación. Los animales **monoestrales** o **monoéstricos** complementan un solo ciclo de estro anualmente y un largo período de anestro que separa las épocas de celo. Las formas **poliestrales** o **poliéstricas** completan dos o más ciclos anualmente si no se ven interrumpidos por el embarazo. La ovulación es el fenómeno dominante en el ciclo estral, y generalmente se presenta durante el estro. En la mayor parte de las especies mamíferas la ovulación se presenta espontáneamente y es precedida por un corto período de crecimiento folicular muy rápido.

La ovulación depende de la liberación de gonadotropinas desde la hipófisis anterior (adenohipófisis), y existe suficiente evidencia que señala que su liberación es dependiente de un mecanismo hipotalámico. En el conejo, la ardilla y el gato, el coito es relativamente breve; en otros mamíferos como los roedores son más largos y la cópula debe ser repetida con frecuencia para provocar la liberación de los óvulos del ovario. Se necesitan aproximadamente de 20 cópulas al día para inducir ovulación en el hámster<sup>47</sup>.

Las ratas de laboratorio, los ratones, y los cobayos, son especies poliéstricas que repiten su ciclo a través del año sin grandes variaciones, a menos que sean interrumpidas por el embarazo. En estas especies la ovulación es espontánea ya que no dependen del acoplamiento como en el caso de la coneja que ovula de manera refleja o inducida.

En la rata, el ciclo estral dura unos cuatro días y el crecimiento rápido y la cornificación del epitelio vaginal durante el comienzo y al final del estro dependen de los estrógenos.

El ciclo estral se encuentra dividido en cuatro etapas que son: **PROESTRO**, **ESTRO**, **METAESTRO** y **DIESTRO**.

En todas las especies estudiadas (vaca, yegua y rata) el pH de la vagina es muy

alcalino en el diestro y se hace más ácida en el estro (o durante el máximo crecimiento folicular). Tales cambios de pH se deben a los estrógenos. El pH vaginal de la rata es ácido pero cambia durante el ciclo y en determinadas condiciones experimentales.

## **8. FASES DEL CICLO ESTRAL**

### **a. PROESTRO**

Esta fase precede el próximo celo y se caracteriza por la liberación hipofisaria de la hormona folículo estimulante (FSH) que favorece el crecimiento y la maduración de los folículos. En la mayoría de los vertebrados la inducción de la liberación de la FSH produce que una docena o más de los folículos ováricos, se estimulen y comiencen su crecimiento, de esta manera el período se caracteriza por una elevada secreción de estrógenos.

El incremento de los niveles de estrógenos sensibiliza al sistema nervioso central, de tal manera que la hipófisis secreta a la hormona luteinizante (LH) que ejercerá su efecto durante el proceso de ovulación.

El ciclo estral o período reproductor acontece sincrónicamente en el ovario y en el útero (ciclo ovárico-uterino) y se expresa también a nivel de la estructura histológica de la pared vaginal. Por lo anterior, estudiando la citología exfoliativa de la vagina podemos diagnosticar en que etapa del ciclo estral se encuentran algunos mamíferos, en particular los roedores. En estos animales la citología vaginal en la etapa de proestro se caracteriza típicamente por la presencia exclusiva de células epiteliales nucleadas.

Dura aproximadamente 12 horas, en esta etapa el pH vaginal es de 5.4, la vagina se torna seca y se comienza a producir la cornificación de las células de las paredes de esta, los ovarios están en plena producción folicular. El diámetro de luz uterina es de 5 mm.

## **b. ESTRO**

Estro (del latín *oestrus*, picado por un tábano, loco, frenético). Este período se caracteriza por tres eventos muy importantes que son: celo o calor, cópula y la ovulación. Durante esta fase las hormonas predominantes son: la hormona folículo estimulante (FSH) actuando sinérgicamente con un marcado incremento de la hormona luteinizante (LH). A esta situación endocrina se le denomina pico LH o pico preovulatorio. En este se observa el máximo desarrollo folicular.

En relación a la conducta, la hembra presenta un cambio de comportamiento para atraer al macho. Así, en los roedores como son las ratas los cambios de conducta comprenden la vibración o temblor de orejas, la lordosis o arqueado del lomo como respuesta a la aproximación del macho.<sup>85</sup>

Los principales fenómenos fisiológicos del ciclo estral ocurren en los ovarios, se reflejan en los cambios que experimenta la vagina bajo la influencia de las hormonas ováricas: estradiol y progesterona.

Una vez realizada la cópula o apareamiento y ya en la última parte del estro o celo se presenta la ovulación, que implica rompimiento del folículo por acción sinérgica de la LH y la hormona luteotrófica ó prolactina (LTH).

Generalmente, 24 horas después de la ovulación y la consecuente cópula, desaparece la conducta típica de celo o de atracción hacia el macho.

En general, en esta etapa el útero sufre aumentos progresivos de tamaño debido a la acumulación de un líquido en su interior (líquido luminal). Gran parte de este líquido se pierde antes de la ovulación.

En la mucosa vaginal se presentan repetidas mitosis y a medida que se acumulan nuevas células, las capas superficiales se hacen escamosas y cornificadas. Estas últimas

células son exfoliadas hacia la luz vaginal, y su presencia en los frotis vaginales es indicadora del estro. Durante la parte final del estro existen masas de células cornificadas, con núcleo degenerado en la luz vaginal. Este ciclo dura de 9 a 15 horas, el pH vaginal es de 4.2 y aparece un flujo vaginal abundante y caseoso.

Otro fenómeno relacionado con el estro es la manifestación de un incremento de la actividad motora, éste, está causado por los estrógenos.

### **c. METAESTRO**

Esta etapa se presenta poco después de la ovulación y es intermedia entre el estro y el diestro. Por la acción de la hormona luteinizante (LH) y luteotrófica o prolactina (LTH) comienza la formación y crecimiento del cuerpo lúteo en el ovario. Consecuentemente esta etapa es típicamente progestacional; tal que existe un incremento agudo en la secreción de progesterona por el cuerpo lúteo, que se convierte así en una glándula endocrina temporal.

La duración funcional del cuerpo lúteo marca el tiempo de esta etapa. Los ovarios contienen varios cuerpos lúteos para aquellas especies poliovulatorias y un solo cuerpo lúteo en las especies monoovulatorias. La pared vaginal se caracteriza por la dominancia de linfocitos que aparecen en la luz vaginal mezclados con algunas células cornificadas.

### **d. DIESTRO**

Esta fase se caracteriza por la involución funcional o lisis de cuerpos lúteos por lo que se disminuye notablemente la progesterona circulante en la hembra y la duración de esta fase es de 57 horas, el pH vaginal es de 6.1, el diámetro de luz uterina es de 2.5 mm.

El mecanismo de involución o regresión del cuerpo lúteo no es bien conocido en todas las especies. En los roedores, la involución del cuerpo lúteo es un proceso rápido, ya que es una especie donde la fase progestacional no alcanza un nivel muy elevado.

En las especies domesticas tales como cabras, yeguas, vacas, roedores y la cerda se observa, que el mecanismo que involuciona al cuerpo lúteo y, por lo tanto produce decremento de progesterona, es producido por un fenómeno en el que intervienen factores luteolíticos específicos para su declinación denominados prostaglandinas (PGF $2\alpha$ ), éstas se sintetizan en el útero de la hembra y llegan al ovario por difusión directa a través de un sistema vascular. Cabe mencionar que en el caso en que la hembra presente embarazo, el resto del ciclo se interrumpe durante el período de gestación. El animal estará nuevamente en un ciclo reproductor cuando finalice el embarazo o hasta la terminación de la lactancia de las crías. En esta etapa los cuernos uterinos se observan pequeños y levemente contraídos<sup>44-48</sup>.

## **9. OXITOCINA**

El término oxitocina proviene de las raíces griegas “*oxys*” que significa rápido y “*tokos*” que quiere decir parto. A finales del siglo XIX no se contaba con ninguna substancia que pudiese intervenir fisiológicamente en el inicio del trabajo de parto; y fue en 1906 que Sir Henry Dale observó el efecto útero-tónico de la porción de la

hipófisis de la gata. Fue en manos de Blair Bell que se le dio aplicación clínica en el manejo de la hemorragia puerperal, en casos de parto diferido y por último como inductor del trabajo de parto. Fue hasta 1953<sup>86</sup> que se conoció que la oxitocina es un péptido corto que contiene 9 residuos de aminoácidos, con un puente disulfuro entre dos mitades de cistina en posición 1 y 6; fue por la síntesis de esta hormona que Du Vigneaud en 1955 recibió el premio Nobel y desde entonces en obstetricia se puede contar con oxitocina sintética altamente purificada. En la mayoría de los mamíferos, las hormonas secretadas por la hipófisis posterior (neurohipofisis) son la oxitocina y la vasopresina<sup>70,87-90</sup>.

La oxitocina se localiza a lo largo de las neuronas magnocelulares localizada en el núcleo supraóptico y paraventricular del hipotálamo<sup>91,92</sup>; estas células se proyectan hacia la glándula pituitaria posterior (lóbulo posterior) de la hipófisis donde la oxitocina es almacenada y secretada dentro del sistema circulatorio. Los receptores de oxitocina se han identificado en una variedad de tejido neural, incluyendo el hipotálamo ventromedial (VMH), la base de núcleo terminal estriado (BNST), la amígdala central, el núcleo olfatorio anterior, el septum lateral, el subiculum ventral y el núcleo motor dorsal del vago<sup>70,87-90</sup>.

#### **a. BIOSÍNTESIS, TRANSPORTE INTERNEURAL Y SECRECIÓN DE LA OXITOCINA**

Du Vigneaud, en 1953, demostró la biosíntesis y describió la caracterización de la oxitocina<sup>70</sup>. Las hormonas de la hipófisis posterior son sintetizadas en los cuerpos celulares de las neuronas magnocelulares de los núcleos supraópticos y paraventriculares, y son transportadas por los axones de estas neuronas hacia sus terminaciones en el lóbulo posterior, sitio donde son secretadas en respuesta a la

actividad eléctrica en las terminaciones.<sup>86</sup> Algunas de las neuronas producen oxitocina y otras vasopresina, y se encuentran células que contienen oxitocina y vasopresina en ambos núcleos.

La oxitocina y la vasopresina son hormonas neurales típicas, esto es, hormonas secretadas a la circulación por células nerviosas. El término neurosecreción se acuñó originalmente para describir la secreción de hormonas por neuronas, pero es algo confuso puesto que probablemente todas las neuronas secretan mensajeros químicos.

Como otras hormonas peptídicas, las hormonas del lóbulo posterior son sintetizadas como parte de moléculas precursoras más grandes. La vasopresina y la oxitocina tienen una neurofisisina característica asociada a ellas en los gránulos de las neuronas que la secretan, la neurofisisina I, en el caso de la oxitocina y la neurofisisina II en el caso de la vasopresina. Originalmente se pensó que las neurofisisinas eran polipéptidos de unión; actualmente se sabe que son parte de las moléculas precursoras. El precursor para la argininasopresina, la preprosofisisina, contiene una secuencia líder de 19 residuos de aminoácidos seguida de argininasopresina, vasopresina neurofisisina y un glucopéptido. La preprooxifisisina, precursor de la oxitocina, es una molécula similar pero más pequeña que no tiene glucopéptido.

Las moléculas precursoras son sintetizadas en los ribosomas de los cuerpos celulares de las neuronas. Sus secuencias líderes son removidas en el retículo endoplásmico, empaquetadas en los gránulos (llamados cuerpos de Herring) de secreción del aparato de Golgi y transportados a lo largo de los axones por flujo axoplásmico a las terminaciones en la hipófisis posterior. El desdoblamiento de las moléculas precursoras ocurre durante su transporte, los gránulos de almacenamiento en las terminaciones contienen vasopresina u oxitocina libres y la neurofisisina correspondiente. En el caso de la vasopresina, el glucopéptido también está presente.

Todos estos productos son secretados; pero las funciones de estos componentes, con excepción de las hormonas de la hipófisis posterior, se desconocen<sup>93,51</sup>.

## **b. FUNCION Y APLICACIONES DE LA OXITOCINA**

Tal ha sido el conocimiento que se tiene sobre la oxitocina, que hasta el momento es el único fármaco autorizado para inducir o conducir un trabajo de parto con feto vivo (vía intravenosa, vía oral, vía endocervical, vía vaginal)<sup>88,94-99</sup>.

La hormona oxitocina, según su propio nombre indica, tiene un poderoso efecto estimulante del útero grávido, en especial al final de la gestación. Por lo que se acepta que esta hormona se encuentra implicada en el desarrollo normal del parto<sup>44,45,70,93</sup>. En las ratas, la oxitocina es liberada en la lactancia y en el parto; también en la estimulación genital y en la eyección de leche. Las neuronas oxitocinérgicas muestran un modelo de descarga explosiva de 9 a 12 segundos antes de la eyección de leche y aparentemente representa la sincronía de una descarga de muchas neuronas; la oxitocina también está implicada en la lordosis<sup>70,94,95,96-99</sup>.

En los mamíferos, la oxitocina causa la contracción de las células mioepiteliales, células tipo músculo liso que recubren los conductos de las mamas. Esta acción expulsa la leche de los alvéolos de la mama lactante hacia los grandes ductos (senos) y de ahí al pezón (expulsión láctea). Muchas hormonas, actuando en conjunto son las encargadas del crecimiento de las mamas y de la secreción de leche hacia los conductos, pero la expulsión láctea en la mayoría de las especies requiere de la oxitocina.

La expulsión de leche normalmente se inicia por un reflejo neuroendocrino (también se usa la oxitocina sintética con aspiraciones en cada narina antes de amamantar). Los receptores que intervienen son los táctiles, que son abundantes en las mamas, especialmente alrededor del pezón. Los impulsos generados en estos receptores

son transmitidos desde las vías somáticas táctiles hasta los núcleos supraópticos y paraventriculares. Las descargas de las neuronas que contienen oxitocina causan secreción de oxitocina de la hipófisis posterior. El lactante que succiona la mama estimula los receptores táctiles, los núcleos son estimulados, se libera oxitocina y la leche es exprimida hacia los senos, lista para fluir a la boca del niño. En las mujeres lactantes, la estimulación genital y los estímulos emocionales también producen secreción de oxitocina, haciendo que algunas veces brote la leche de las mamas.

Dentro de otras acciones que tiene la oxitocina es que causa la contracción del músculo liso uterino. La sensibilidad de la musculatura del útero a la oxitocina se aumenta por los estrógenos y se inhibe por la progesterona. Al final del embarazo, el útero se vuelve muy sensible a la oxitocina, lo que coincide con un aumento notable en el número de receptores. La secreción de oxitocina aumenta durante el trabajo de parto. Después de la dilatación del cuello uterino, el descenso del feto por el conducto del parto inicia impulsos en los nervios aferentes, los cuales son transmitidos a los núcleos supraópticos y paraventriculares, causando la secreción de suficiente oxitocina para favorecer el trabajo de parto.

La infusión de oxitocina casi a término, origina contracciones uterinas que disminuyen el suministro de sangre fetal. La respuesta de la frecuencia cardíaca fetal a la prueba estandarizada de provocación de la oxitocina da información acerca de las reservas circulatorias placentarias. Una respuesta anormal sugiere retardo de crecimiento intrauterino y puede justificar un parto por cesárea.

La oxitocina también se usa con fines terapéuticos para inducir el trabajo de parto y aumentar el trabajo de parto disfuncional, por ejemplo: 1) Padecimientos que requieran parto vaginal temprano por problemas de hipertensión (problemas de Rh, diabetes materna o preclampsia, eclampsia o enfermedad renal cardiovascular),

eritroblastosis fetal, sangrado antiparto o ruptura prematura de membranas en donde la labor espontánea no resulta. 2) Inercia uterina y 3) Aborto incompleto. La oxitocina también puede ser usada para controlar la hemorragia uterina posparto. La alteración en la eyección de leche puede responder favorablemente a la oxitocina nasal<sup>89,101,104</sup>.

La oxitocina se utiliza en el posparto donde se usan infusiones para acortar la tercera etapa del parto; pero algunos clínicos advierten que los fármacos oxitócicos pueden inhibir la expulsión de la placenta y aumentar el riesgo de hemorragia e infección. Sin embargo, si algún oxitócico es usado para este fin se recomienda la oxitocina. La infusión de oxitocina es usada rutinariamente posparto o después de la cesárea para estimular contracciones inmediatas del útero y controlar sangrado uterino, aunque generalmente se prefiere usar para esto un alcaloide del ergot.

La oxitocina actúa en el tracto olfatorio y en la estimulación olfatoria de algunas especies, en las ratas olfatoreamente sólo está implicada en cambios anatómicos dentro del núcleo supraóptico y acompañado de la lactancia.

La oxitocina exógena produce todas las respuestas farmacológicas que usualmente produce la oxitocina endógena; ya que es una hormona sintética cuyas propiedades clínicas y farmacológicas son idénticas a las que presenta la oxitocina natural. La administración exógena de oxitocina produce contracciones del músculo liso uterino que no se pueden diferenciar de las del parto.

El útero es relativamente insensible a esta hormona en la primera parte del embarazo y van aumentando los niveles de oxitocina conforme avanza la gestación; siguiendo un curso paralelo a la sensibilidad del útero con la oxitocina<sup>100,105,106</sup>.

### **c. EFECTOS FARMACOLÓGICOS**

El efecto de la oxitocina se manifiesta rápidamente, apenas unos minutos

después de comenzar la infusión se verán sus efectos farmacológicos, aunque para alcanzar una respuesta estable se deberán esperar aproximadamente entre 30 y 60 minutos<sup>87,88,107,108</sup>. Por otra parte, la desaparición del efecto es sumamente rápida y en menos de 10 minutos se puede ver una desaparición total de los efectos clínicos del fármaco<sup>83, 98,108</sup>. La oxitocina tiene un moderado efecto antidiurético. Su absorción por vía nasal es rápida. Se inactiva en el hígado y se elimina en el riñón. La vida media es de 1 a 6 minutos<sup>90,109</sup>.

La concentración de oxitocina en la sangre aumenta durante las fases tardías del parto y se cree que tiene un papel muy importante en él. En dosis relativamente bajas aumenta el tono, la amplitud y la duración de las contracciones, con interrupción transitoria del flujo sanguíneo placentario y/o dilataciones graduales del cérvix. Las dosis más altas producen contracciones tetánicas que persisten por 5 a 10 minutos<sup>99-111</sup>.

#### **d. MECANISMOS DE ACCIÓN**

Un receptor para la oxitocina constituido de siete dominios transmembranales, acoplado a una proteína G, se ha logrado clonar a partir del miometrio humano, y un receptor similar o idéntico se encuentra también en el tejido mamario y en el ovario; éste desencadena el aumento en las concentraciones intracelulares de  $Ca^{2+}$ <sup>51</sup>.

Una vez que se administra la oxitocina, ésta se pone en contacto con receptores específicos de membrana. Se ha comprobado la existencia de estos receptores en tres sitios: miometrio, mamas y decidua. La oxitocina produce vasodilatación del músculo liso vascular, aumentando el flujo sanguíneo renal, coronario y cerebral. Al ponerse en contacto la oxitocina con el receptor se alteran considerablemente los niveles de calcio intracelulares disponibles y de esta forma se estimula la actividad del músculo liso a través de un sistema de segundo mensajero posiblemente involucrando la hidrólisis de

fosfoinositidos<sup>90,93-99,105,112,113</sup>

A nivel de los receptores que se han hallado en la decidua se supone que a través de la interacción de ellos con la oxitocina se podría regular la producción local de prostaglandinas que estimularían adicionalmente la actividad uterina<sup>114,115</sup>.

La respuesta del miometrio a la oxitocina es variable, a menores edades gestacionales se requieren mayores dosis de oxitocina para lograr una respuesta contráctil del miometrio, mientras que en mayores edades gestacionales se requieren menores dosis de oxitocina para lograr respuesta<sup>87,88</sup>. Esto se encuentra relacionado entre otras cosas con un aumento en el número de receptores para la oxitocina a medida que progresa la edad gestacional<sup>115</sup>. Se han planteado teorías acerca del parto pretérmino, el cual se vería favorecido en pacientes que cuentan antes del término con un elevado número de receptores para la oxitocina.

Se ha visto que en el miometrio, también se incrementa a medida que aumenta la edad gestacional<sup>115</sup>, esto seguramente aumente la sensibilidad del miometrio a la oxitocina. En realidad no sólo la oxitocina vería facilitada su acción por esta situación, sino que, esta respuesta se incrementaría ante el uso de cualquier uterotónico, por ejemplo, las prostaglandinas.

Los principales estímulos que provocan la liberación de la oxitocina hacia la corriente sanguínea son la succión del pezón, estimulación de genitales y distensión del cuello uterino, conociéndose a este estímulo como reflejo de Ferguson<sup>98</sup>.

La oxitocina estimula indirectamente la contracción del músculo liso uterino por aumento de la permeabilidad de sodio en las fibras. Una alta concentración de estrógenos disminuye el umbral de respuesta del útero hacia la oxitocina. La respuesta hacia la oxitocina aumenta con la duración del embarazo y es mayor en pacientes que están en labor de parto que las que no lo están; sólo en dosis muy altas producen

contracciones tempranas en el embarazo. Las contracciones producidas por la oxitocina son similares a las que ocurren en la labor de parto espontánea. Las diferencias entre el cuerpo y el cuello del útero se ponen de manifiesto en el momento del parto: el cuello que es firme en el estado no gestacional y durante todo el embarazo hasta cerca del momento en que sobrevendrá el parto, se ablanda y dilata a la vez que el cuerpo uterino se contrae y expulsa al feto. Al principio del trabajo de parto la concentración de oxitocina en el plasma materno no aumenta con respecto a los valores previos al parto (25 pg/ml); pero el aumento notorio de los receptores de oxitocina bien puede hacer que el útero responda a las concentraciones plasmáticas de oxitocina normales. Una vez iniciado el trabajo de parto, las contracciones uterinas dilatan el cuello, y esta dilatación a su vez inicia señales en los nervios aferentes que aumentan la secreción de oxitocina. Se eleva la oxitocina plasmática, y más oxitocina se encuentra disponible para actuar sobre el útero. De esta manera, se establece un circuito cerrado de retroalimentación positiva que facilita la expulsión de los productos de la concepción. La oxitocina aumenta las contracciones uterinas de dos formas: (1) Actúa directamente sobre las células del músculo liso uterino haciéndolas contraerse; (2) Estimula la formación de prostaglandinas en la decidua, y éstas aumentan las contracciones inducidas por la oxitocina. El trabajo de parto es prolongado por inhibidores de la síntesis de prostaglandinas y por la inhibición de la secreción de oxitocina<sup>51,90,93-99,105,112,113</sup>.

## **10. ÚTERO**

En disección, se observa un par de glándulas, un lóbulo vestibular justo debajo de la piel con respecto a una glándula prepucial parecida a la del macho; los ovarios se encuentran cerca del riñón a lo largo del borde lateral del músculo, embebido en grasa. En el animal adulto, el ovario presenta una masa de folículos en el oviducto que está

muy enrollado en el tubo; está abierto, adaptado hacia el ovario y distal al final dentro del útero. El útero (lat. *Uterus*, vientre o abdomen; gr. *Metra* o *hystera*) de los mamíferos roedores los conductos se fusionan muy caudalmente poco antes de conectar a la vagina, originándose un útero bicornado, (con la peculiaridad que poseen dos cuellos uterinos uno para cada cuerno comunicándose entre si por una sola vagina). Es el asiento del desarrollo del feto hasta que es expulsado durante el parto <sup>116,117</sup>.

Desde el punto de vista histológico, el útero está constituido por endometrio, miometrio, y perimetrio. El endometrio presenta un epitelio superficial cilíndrico simple que se invagina dando lugar a numerosas glándulas tubulares simples desarrolladas dentro del estroma endometrial. El estroma lo constituye un tejido conjuntivo laxo con células que presentan características mesenquimales (células irregularmente estrelladas con núcleos alargados u ovoides) y abundancia de fibras reticulares. No hay fibras elásticas, excepto en las paredes de las arteriolas. La estructura histológica del endometrio cambia con la etapa del ciclo menstrual presentando varias fases: proliferativa, secretora y menstrual. La fase proliferativa coincide con el periodo de crecimiento de los folículos y se produce un incremento de dos a tres veces el grosor que el endometrio presenta tras la menstruación. El epitelio es cilíndrico y las glándulas tubulares rectas aumentan en número y en longitud. Durante la fase secretora el endometrio sigue aumentando de tamaño a la vez que las glándulas se vuelven tortuosas (glándulas contorneadas). Por último, durante la fase menstrual, se desprenden aproximadamente las dos terceras partes del endometrio.

El miometrio está constituido por tejido muscular liso que se dispone formando dos capas que rodean al endometrio. En la capa interna las fibras se disponen de forma circular, mientras que en la capa externa las fibras se disponen preferentemente

longitudinales (paralelas) al eje mayor del útero y perpendicular a la anterior, si bien también se pueden encontrar haces de fibras dispuestos de forma oblicua o circular. El tejido conjuntivo situado entre los haces de fibras está formado por fibras de colágeno, fibroblastos, macrófagos, mastocitos, etc.

El músculo liso uterino, se encuentra innervado por fibras simpáticas y parasimpáticas, lo que permite un alto grado de actividad espontánea tanto eléctrica como contráctil, en respuesta a la acción colinérgica que permite un aumento del calcio intracelular, por lo cual la formación del complejo calcio-calmodulina y la generación de las siguientes etapas del proceso da como resultado la contracción muscular. Esta actividad espontánea del músculo liso le permite reaccionar a cambios locales del potencial de membrana, estimulación hormonal o impulsos nerviosos, por lo que hace que este órgano tenga una gran utilidad para el estudio y la caracterización farmacológica de nuevas moléculas que tengan un potencial terapéutico<sup>118-120</sup>.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Existe suficiente evidencia que señala que la neurotoxicidad inducida por la sal monosódica del aminoácido excitatorio (GMS) provoca alteraciones neuroquímicas y neuroendocrinas que se traduce en la modificación de la producción de las hormonas luteinizante, folículo estimulante y la de crecimiento; por lo tanto se ven afectadas las diferentes fases del ciclo estral, al igual que se modifica el número de receptores a estrógenos y posiblemente a la actividad contráctil uterina en respuesta a fármacos como la oxitocina.

## **IV. HIPÓTESIS DEL TRABAJO**

- La oxitocina, en condiciones normales, contrae el músculo liso uterino. En ratas tratadas neonatalmente con GMS se ha observado que existe un daño a nivel del hipotálamo, toxicidad que da lugar a cambios en la secreción de hormonas liberadoras de gonadotropinas, por lo anterior inferimos que habrá cambios en la respuesta contráctil inducida por la oxitocina en el músculo liso uterino de estos animales.
- Los diferentes estadios del ciclo estral dependen de la actividad estrogénica y progestacional; si los animales neurointoxicados tienen alteraciones endocrinas, habrá una modificación de las diferentes fases del ciclo estral.

## **V. OBJETIVOS GENERALES**

1. Determinar si el tratamiento neonatal con GMS en ratas modifica la reactividad del músculo liso a la oxitocina.
2. Determinar la influencia de la neurotoxicidad inducida con el GMS sobre el ciclo estral de la rata.

## **VI. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1.- Inducir la neurotoxicidad neonatal con el GMS en la rata.
- 2.- Realizar Curvas Dosis–Respuesta a la oxitocina en el útero aislado de ratas neurointoxicadas neonatalmente con el GMS y en ratas control.
- 3.- Identificar si hay cambios en la actividad contráctil uterina.
- 4.- Estudiar mediante microscopia óptica la frecuencia con la que se presentan las diferentes fases del ciclo estral tanto en las ratas neurointoxicadas con el GMS como las ratas control, durante 30 días.

## **VII. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **1. INDUCCIÓN DE LA NEUROTOXICIDAD**

Se aparearon ratas albinas de la cepa Wistar de 250-300 g (cuatro hembras por un macho). Una vez confirmado que estaban preñadas se colocaron en jaulas separadas y al momento del nacimiento las crías se dividieron en dos grupos: I, experimental y II, control, y se mantuvieron a temperatura constante (20-22°C) en un cuarto con ciclo de luz oscuridad controlado (12x12 horas), provistos de alimento y agua *ad libitum*.

Los estudios que se describen en el presente trabajo fueron realizados de acuerdo a los lineamientos éticos de la declaración de Helsinki, de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud y de acuerdo a las recomendaciones de la Norma Oficial Mexicana, (NOM-062-1999), que se refiere a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y usos de los animales de laboratorio<sup>121,122</sup>.

A las crías del grupo experimental se les administró por vía subcutánea 2 mg/g de peso de GMS (L-GLUTAMIC ACID, Monosodium SALT,  $C_5H_8NO_4Na$ , Mw 169.1,  $H_2O$  content 1 mol/mol, Laboratorio SIGMA) el 2° y 4° día posnatal y 4 mg/g de peso el 6°, 8° y 10° día postnatal<sup>30,33</sup>. Aproximadamente entre las cuatro y cinco semanas, los animales fueron destetados y sexados; y entre 4 a 5 meses de edad las ratas hembras fueron utilizadas para los estudios del seguimiento del ciclo estral y de susceptibilidad del músculo liso uterino aislado a la oxitocina.

### **2. ESTUDIOS *In vitro* SOBRE ORGANO AISLADO**

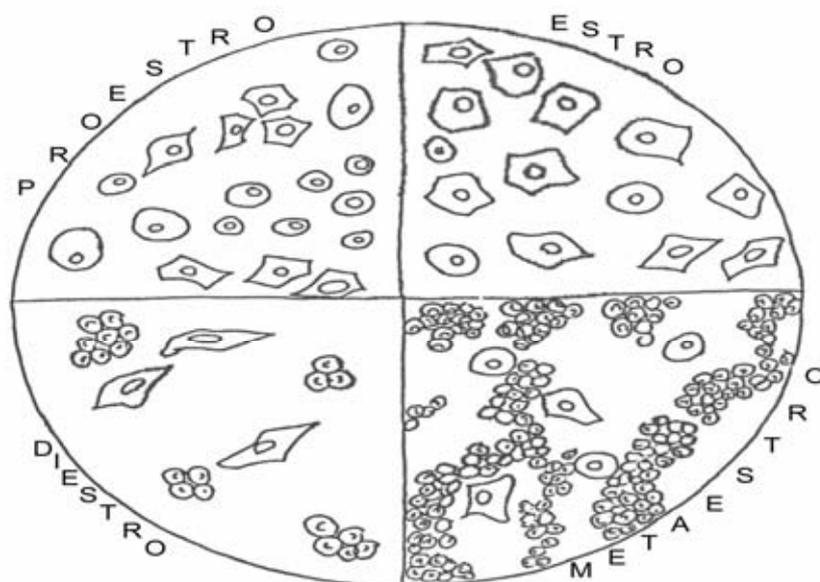
#### **a. ANIMALES**

Se utilizaron animales de la cepa Wistar, unos neurointoxicados con GMS (290-540 g) y otros control (200-320g) para la preparación de útero. Los animales se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales de temperatura (20-22 °C),

humedad e iluminación (ciclo luz oscuridad 12 x 12), provistos de alimento y agua *ad libitum*.

## b. DETERMINACIÓN DE LA FASE DEL CICLO ESTRAL

El frotis vaginal se realizó a ratas tratadas con glutamato monosódico (GMS) y a ratas control para determinar en qué estadio del ciclo estral se encontraban (estro, metaestro, diestro y proestro), de acuerdo al siguiente procedimiento: con una pipeta Pasteur de punta roma se cargó con solución salina fisiológica al 0.9%, se introdujo en la vagina y se tomó una muestra, que se colocó en un porta objetos, se observó al microscopio 40X (Swift-741580) para establecer la fase y determinar con base en las características morfológicas que presentan las células epiteliales dependiendo del ciclo estral (Fig. 1)<sup>123</sup>.



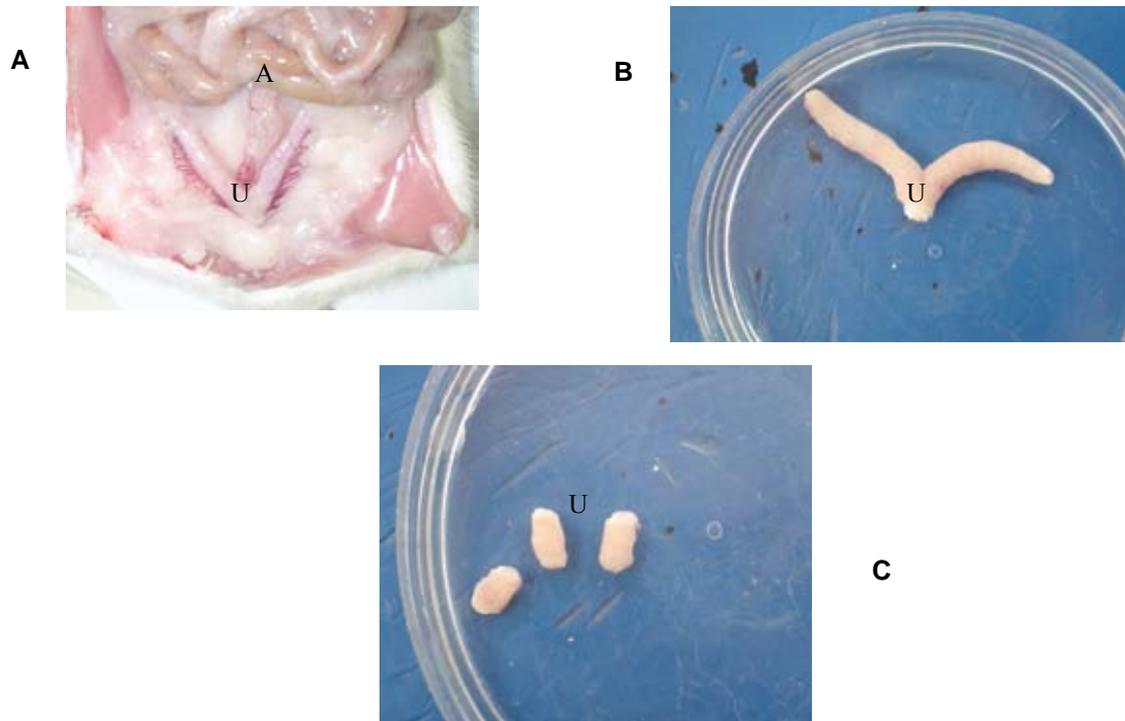
**Figura 1. Características citológicas de las diferentes fases del ciclo estral en la rata.**

Para los estudios de susceptibilidad a la oxitocina solo se utilizaron las ratas que se encontraban en estro, ya que una de las características de este estadio es que se inicia la ovulación, y presentan mayor actividad uterina debido al aumento de estrógenos.

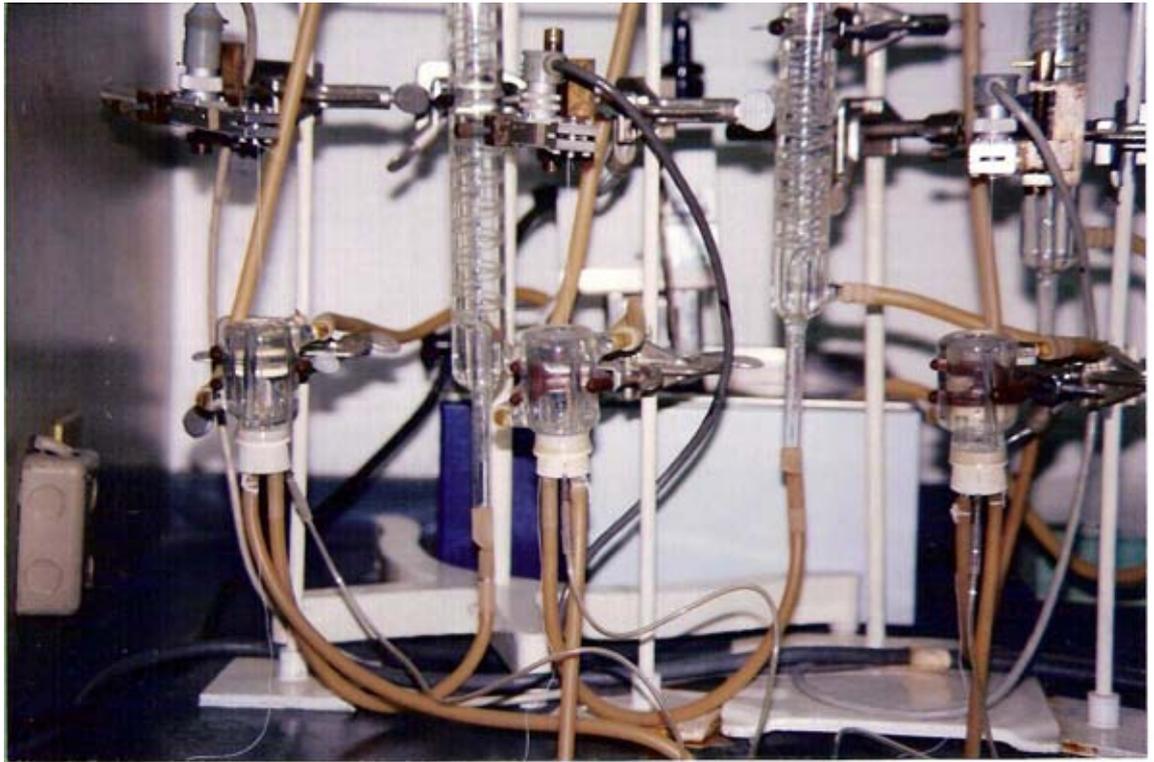
En otra serie de estudios, debido a que los animales presentan daño a nivel endocrino por el tratamiento neonatal, se realizó un seguimiento de muestras vaginales durante 30 días a un grupo de ratas control y a las ratas tratadas con GMS. Identificando la fase del ciclo estral de acuerdo a la característica presentada en la Fig. 1

### **c. AISLAMIENTO Y MONTAJE DEL ÚTERO**

Los animales que se encontraron en fase de estro fueron pesados y sacrificados por dislocación cervical. El útero se disecó y fue colocado en una caja Petri la cual contenía solución nutriente Ringer De Jalon con las siguientes concentraciones [mM] NaCl 153, KCl 5.6, Glucosa 2.7, NaHCO<sub>3</sub> 5.9, CaCl<sub>2</sub> 100. El útero se limpió de tejido adiposo y conectivo; se obtuvieron tres segmentos de 1 a 1.5 cm de longitud los cuales fueron colocados en cámaras para órgano aislado de 30 ml con solución nutriente, burbujeada con carbógeno (5% de CO<sub>2</sub> y 95% de O<sub>2</sub>), a una temperatura constante de 32 °C y un pH de 7.4<sup>122</sup> (Fig. 2). Cada segmento se sometió a una tensión inicial de 1 g y se perfundió con solución nutriente<sup>121,122</sup>. La actividad basal y la respuesta contráctil del músculo liso uterino a la oxitocina, se registró a través de un transductor FT03, conectado a un polígrafo Grass 79D (Fig. 3). Después de un período de 15 minutos de estabilización, bajo perfusión continua con solución Ringer De Jalon (10 ml/min.), se realizaron curvas dosis-respuesta (CDR) a diferentes concentraciones de oxitocina (Syntocinon-solución inyectable: Cada ampolleta contiene 5 UI de oxitocina sintética. Caja con 3 amp. de 1 ml. SANDOZ) a 0.5, 5, 50 y 500 µUI.



**Figura 2.** En la fotografía A se muestra una rata hembra disecada, tratada neonatalmente con el GMS, se observa en el abdomen (A) la ubicación anatómica del útero (U); en B se muestra el útero (U) ya libre de tejido adiposo, en solución de Jalon; en C se muestran los tres segmentos de útero (U) de aproximadamente 1 a 1.5 cm. de longitud.



**Figura 3. Presentación de la preparación del músculo liso uterino *in vitro*, perfundido con solución nutriente De Jalon, burbujeada con carbógeno, mantenido a una temperatura de 32°C y a un pH de 7.4.**

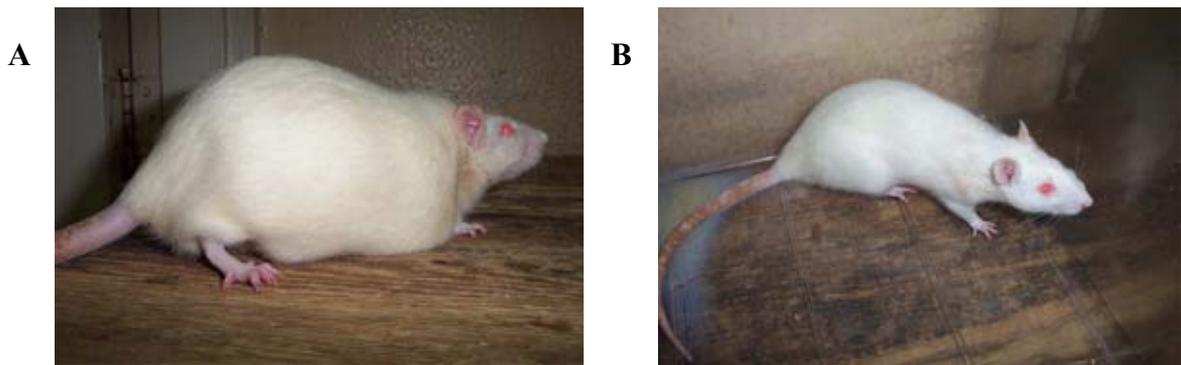
## VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los registros obtenidos de la actividad muscular bajo las diferentes condiciones experimentales, se midieron mediante un planímetro (Burell, Corp.) y se expresaron como el área bajo la curva (ABC) de la actividad motora del músculo liso uterino durante 15 minutos. Los resultados se sometieron a ANOVA, a la prueba de t-student y se consideró estadísticamente significativos los valores de  $p \leq 0.05$ .

Para el análisis comparativo de los resultados obtenidos de las fases del ciclo estral, se sometieron a la prueba de  $\text{Chi}^2$  y se consideró estadísticamente significativos los valores de  $p \leq 0.05$ . (Figura 6 y7)

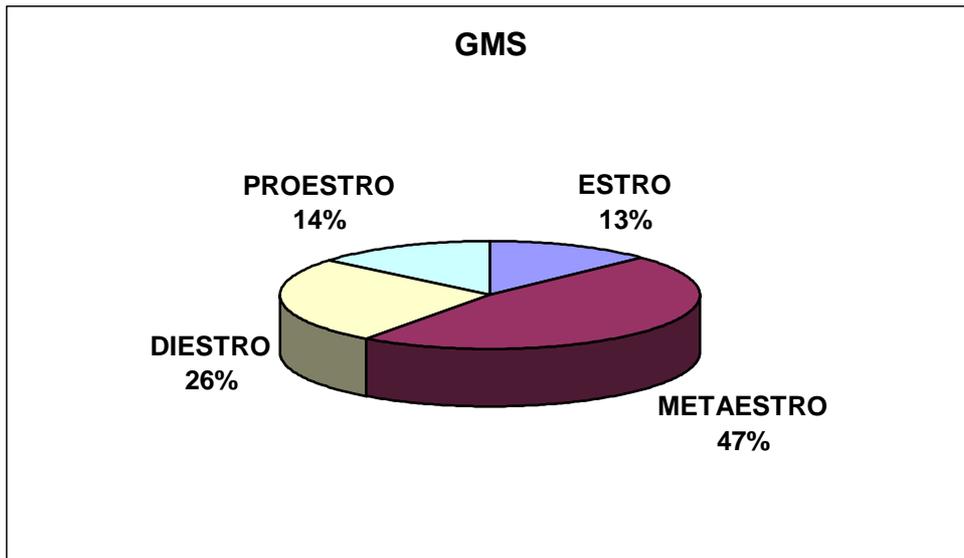
## IX. RESULTADOS

Como podemos observar en la Figura 4 A, las ratas que fueron neurointoxicadas neonatalmente con el GMS presentan una obesidad muy marcada a diferencia de las ratas control, (Figura 4 B), estos resultados confirman la disfunción metabólica reportada en la literatura.

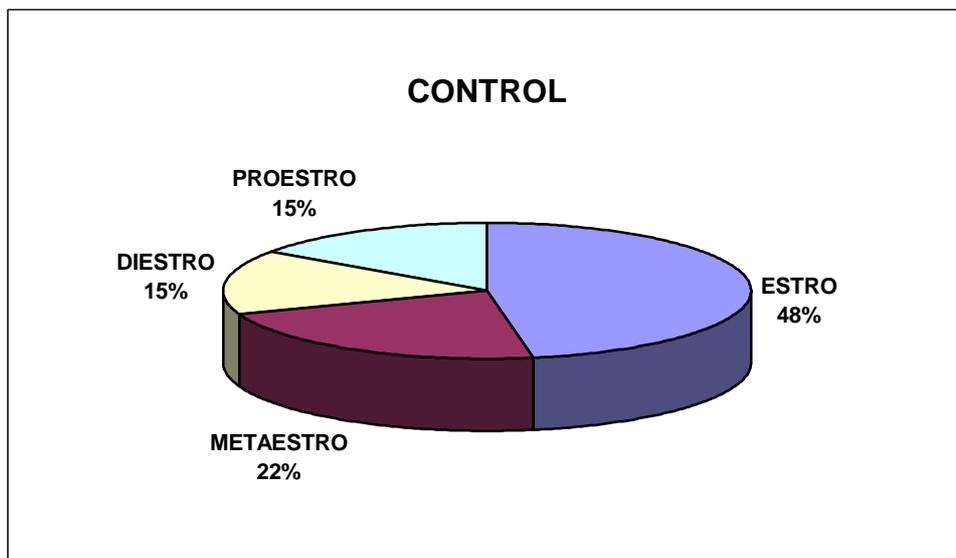


**Figura 4 A. Rata hembra neurointoxicada neonatalmente con GMS. B. Rata hembra control.**

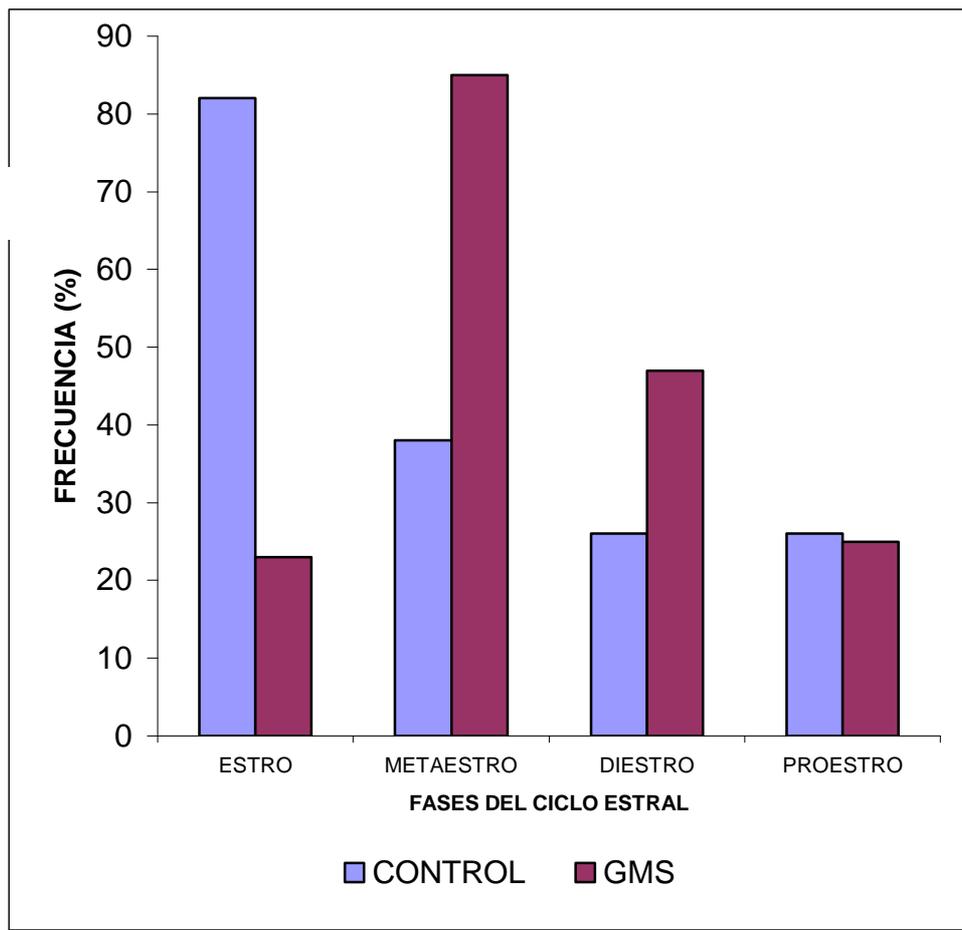
A



B

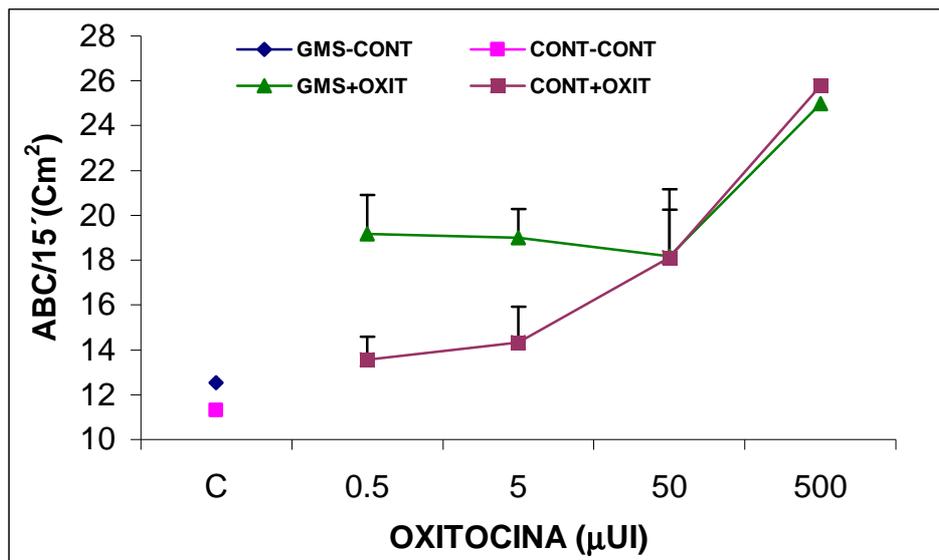


**Figura 5. Representación gráfica de la distribución porcentual de las diferentes fases del ciclo estral en las ratas (n=6), obtenidas del frotis vaginal en un período de 30 días. En la Figura A, se muestra la distribución porcentual obtenida en las ratas neurointoxicadas neonatalmente con el GMS y en la Figura B, a la distribución obtenidas en las ratas control (n=6).**



**Figura 6. Representación gráfica de la frecuencia de las diferentes etapas del ciclo estral de las ratas tratadas neonatalmente con GMS (n= 6) y en los controles (n= 6).**

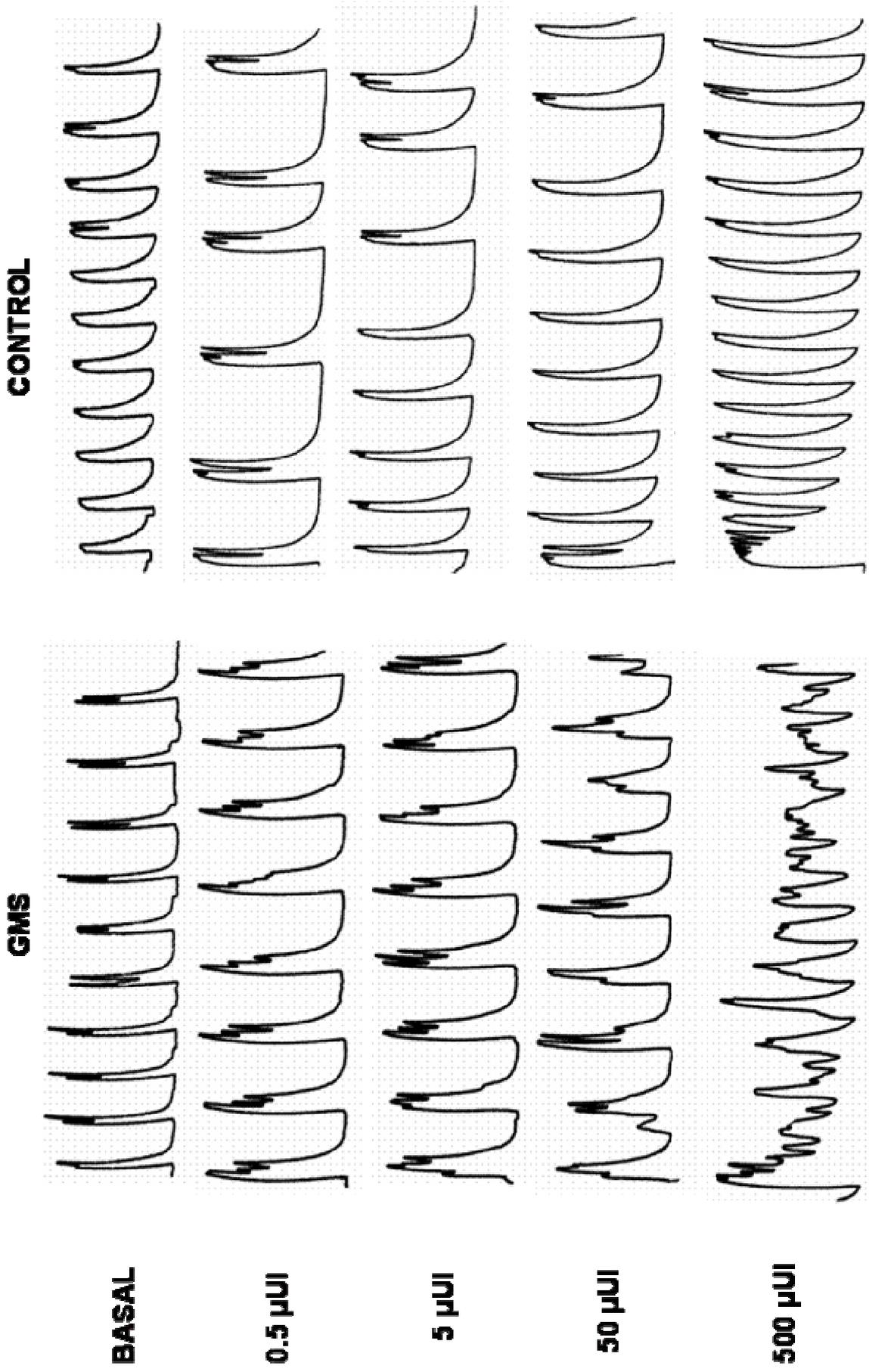
En la figura 5 se muestra la frecuencia con la que se presentaron los cuatro estadios del ciclo estral: estro, proestro, metaestro y diestro (obtenidos durante un período de 30 días) de las ratas tratadas neonatalmente con GMS y las ratas control. Se puede observar que las ratas neurointoxicadas con glutamato monosódico, presentan significativamente ( $p \leq 0,05$ ) con más frecuencia la fase de metaestro con un 47% en comparación con las ratas control que presentaron con mayor frecuencia la fase de estro (48%). En la figura 6 podemos observar un desplazamiento de las fases del ciclo estral hacia la derecha de las ratas GMS con respecto a las control.



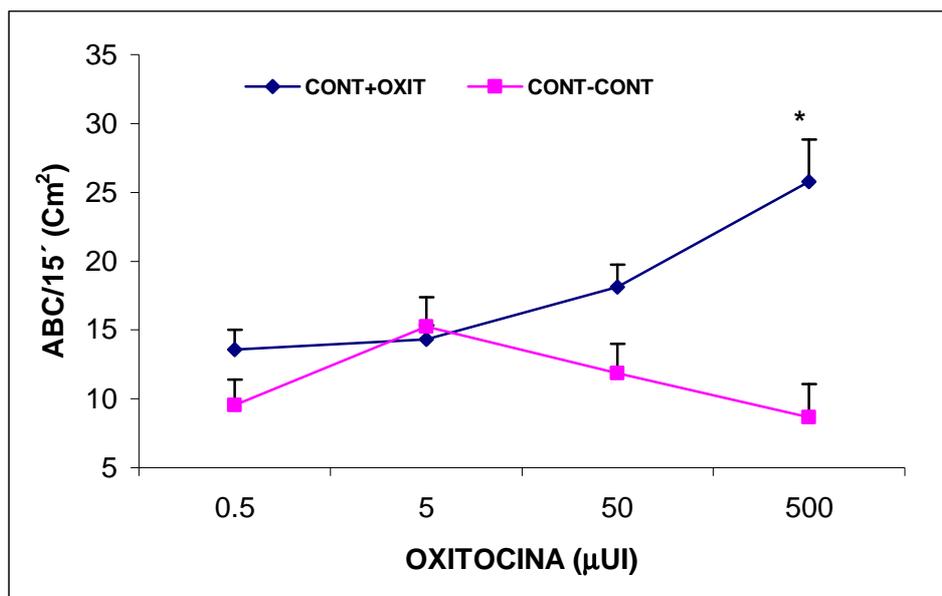
**Figura 7. Curva Dosis Respuesta a la oxitocina sobre el músculo liso uterino de animales neurointoxicados neonatalmente con glutamato monosódico y controles. Los resultados se expresan como el promedio del área bajo la curva (ABC)  $\pm$  Error estándar (ES) de la actividad uterina obtenido durante 15 min, posterior a la administración del fármaco.  $p \leq 0.05$ . La C corresponde a la actividad basal del músculo liso uterino.**

En la figura 7 se muestra la actividad uterina expresada como el promedio del ABC en un período de 15 minutos, del músculo liso uterino de las ratas GMS y control en presencia de oxitocina.

Se puede apreciar que la actividad uterina inducida por la oxitocina fue mayor en las ratas tratadas neonatalmente con el GMS en relación a la actividad uterina que mostraron las ratas control, fenómeno particularmente evidente con las dos primeras concentraciones de oxitocina. La actividad uterina basal de las ratas neurointoxicadas con GMS y en los control no mostró diferencias significativas. Este fenómeno se describe en el siguiente registro representativo de modelos in vitro en la figura 8.

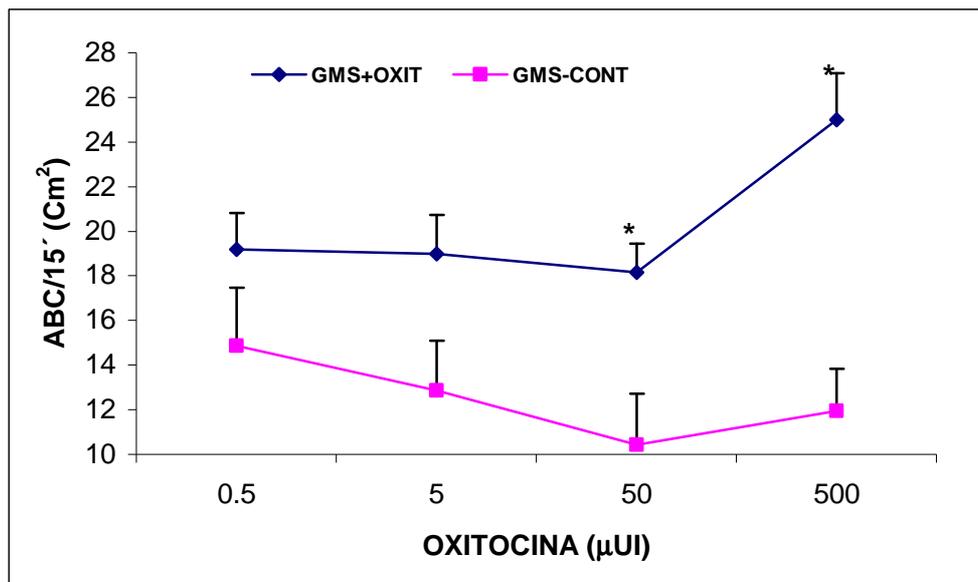


**FIGURA 8.** Registro poligráfico de la contracción del músculo liso uterino inducidas a diferentes concentraciones de oxitocina de las ratas neurointoxicadas neonatalmente con GMS y control.



**Figura 9. Curva Dosis Respuesta a la oxitocina sobre músculo liso uterino de animales controles y controles sin oxitocina. Los resultados se expresan como el promedio del ABC  $\pm$  ES la actividad uterina obtenido durante 15 min, posterior a la administración del fármaco.  $p \leq 0.05$**

En la figura 9 se observa que la actividad uterina no se modifica en los úteros obtenidos de las ratas control que no fueron incubados con oxitocina; sin embargo, cuando se administra la oxitocina se observa un aumento significativo de la actividad, dependiendo de la concentración del fármaco.



**Figura 10. Curva Dosis Respuesta a la oxitocina sobre la contracción del músculo liso uterino de animales neurointoxicados neonatalmente con GMS y la actividad motora del útero obtenido de las ratas GMS que no fueron incubadas con oxitocina. Los resultados se expresan como el promedio del ABC  $\pm$  ES de la actividad uterina obtenido durante 15 min. posterior a la administración del fármaco.  $p \leq 0.05$**

Figura 10. Se muestra la actividad uterina de las ratas neurointoxicadas neonatalmente con GMS que fueron incubadas con oxitocina y las que no contenían el fármaco. El músculo liso uterino de las ratas neurointoxicadas neonatalmente con GMS y que no fueron incubadas con oxitocina no muestran una actividad uterina ascendente en las tres primeras concentraciones; sin embargo, en la última concentración, la actividad uterina muestra un pequeño incremento; mientras que los úteros de las ratas incubadas con oxitocina no muestran ninguna modificación en las tres primeras concentraciones y solo en la última concentración la actividad uterina aumenta significativamente.

## X. DISCUSIÓN

Bajo las condiciones experimentales del presente estudio, la administración parenteral del GMS en el período neonatal de las ratas, indujo la neurotoxicidad que se han reportado como una serie de manifestaciones anatómicas macroscópicas, endocrinas, metabólicas y conductuales que presentaron los animales y que en su conjunto se les identifica como el síndrome del GMS<sup>3,4</sup>.

Estas alteraciones incluyen: acortamiento de la longitud del cuerpo, excesiva obesidad (Figura 4), acortamiento de la cola, lesión retiniana, disminución de la capacidad reproductiva y de la actividad motora, así como automutilación de la cola, con el esquema de dosis del GMS empleado en el presente estudio; se induce una destrucción del 80 al 90% de las neuronas del núcleo arqueado, de la eminencia media del hipotálamo y las áreas circunventriculares, ya reportado en la bibliografía<sup>30,37,58</sup>. Este hecho plenamente confirmado, se acepta, es el responsable de la serie de alteraciones neuroquímicas, endocrinas, metabólicas y conductuales que presentan los animales pre-tratados con el GMS, como ocurrió en el presente estudio.

La baja frecuencia del estadio de estro de las ratas neurointoxicadas neonatalmente con el GMS en relación al grupo control (Figura 5 y 6) indica, indirectamente, que la lesión ocurre a nivel del núcleo arqueado del hipotálamo, estructura que produce la hormona liberadora de gonadotropina y que en las células gonadotropas de la hipófisis estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), responsable del estro. Estos hallazgos permiten explicar la incapacidad de las hembras para poder ser fecundadas por los animales que no son neurointoxicados con el GMS (controles)<sup>44,45,106</sup>.

La ovulación depende de la liberación de gonadotropinas de la hipófisis anterior

y el aumento de la secreción de FSH, da como consecuencia la secreción de estrógenos; y el aumento de éstos a su vez sensibiliza el SNC de tal manera que la hipófisis secreta LH. Debido a lo anterior, el ciclo estral de las ratas neurointoxicadas neonatalmente con glutamato monosódico se modifica, ya que la mayoría de ellas se encuentran en estadio de metaestro con un 47% y la menor cantidad se encontró en estro con un 13% a diferencia de los controles, que se encontraban con más frecuencia en la fase de estro con un 48% y con menor frecuencia en las fases de diestro y proestro, ambas con un 15%. Esto puede deberse, como ya se mencionó, a que las hormonas sexuales se encuentran modificadas provocando cambios endocrinos en la etapa adulta del ciclo estral de las ratas, puesto que en los animales tratados neonatalmente con GMS se ha detectado una disminución de la producción de la hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) que son necesarias para que se presente la ovulación, aspecto que repercute en la capacidad reproductiva, ya sea en una disminución en la frecuencia o ausencia total de la etapa de estro<sup>44.45.106</sup>.

Por otro lado, el ciclo estral completo en ratas normales se puede suspender si se perturba el tipo de alternancia día-noche. Axelrod y col<sup>124</sup> han comprobado que las variaciones diurnas de secreción de estrógenos en la rata parecen estar reguladas por variaciones periódicas en la síntesis y liberación de la melatonina dependientes, por vía reflejo, del ciclo diurno de luz y oscuridad. El ciclo estral se deprime en la oscuridad continua, y el aumento de estro en respuesta a la luz se evita extirpando los ojos, suprimiendo los ganglios cervicales superiores, o mediante fármacos bloqueadores neuroadrenérgicos<sup>125</sup>, por el papel de reflejo retina-pineal para regular la producción de melatonina; al respecto, se sabe que la melatonina en ratas hembras disminuye el peso de los ovarios, retrasa la apertura vaginal y retrasa el ciclo estral y por lo tanto, la secreción de estrógeno. Debido a que las ratas neurointoxicadas neonatalmente con GMS sufren

de pérdida de la vista parcial o total, se puede inferir que son incapaces de distinguir entre el día y la noche, aspecto que también contribuye a las alteraciones de la producción de la hormona LH y FSH, lo que puede ocasionar probablemente que no se presente la fase de estro.

La oxitocina es una hormona que se sintetiza en el hipotálamo y estimula a receptores específicos existentes para oxitocina, que origina una respuesta espasmógena con dos componentes, uno fásico y otro tónico. El componente fásico se relaciona con la entrada de  $Ca^{++}$  en la célula vía canales, operados por voltaje en presencia de oxitocina; y el tónico, con la apertura de canales operados por receptores para oxitocina y/o un incremento de la cascada inositol trifosfato con la consiguiente salida de  $Ca^{++}$  de los depósitos intracelulares. En respuesta al aumento de  $Ca^{++}$  intracelular se presenta la contracción uterina aumentando el tono, la amplitud y duración.

Con respecto a los resultados obtenidos, se vio que la respuesta contráctil del músculo liso uterino a la oxitocina es dependiente de la dosis, ya que aumenta la contracción uterina en las ratas control; en contraste, para el músculo uterino obtenidos en las ratas tratadas neonatalmente con GMS, la respuesta contráctil del músculo liso uterino no es dependiente de la dosis; sin embargo, en dosis mayores de oxitocina se puede observar una ligera tendencia a aumentar la actividad uterina (Fig. 7 y 8). Esto posiblemente se presente porque los animales tratados con GMS presentan alteraciones hormonales tanto a nivel del SNC como a nivel periférico; a pesar de lo anterior, la respuesta uterina de los tejidos GMS no representan una alteración en la contracción uterina; esto puede deberse por la administración exógena de la oxitocina que de alguna manera estimularía el aumento de receptores que permitan la interacción con la hormona, y esto a su vez, estimula el aumento de la frecuencia y la duración de los

potenciales de acción durante la contracción uterina.<sup>124</sup> Lo anterior lo podemos explicar debido a que la administración de oxitocina inicia las contracciones en un útero quiescente llevándolo a un útero activo en el que la fuerza y frecuencia de las contracciones aumenta significativamente. Los estrógenos aumentan el efecto oxitócico reduciendo el potencial de membrana, por lo tanto disminuyendo el umbral de excitación<sup>126</sup>. Por lo tanto, aunque no exista el número adecuado de receptores para oxitocina en las ratas tratadas con GMS, los niveles de estrógenos se elevan y el potencial disminuye, existe una mayor tendencia a la apertura de los canales de  $\text{Ca}^{++}$  voltaje-dependientes que son estimulados por oxitocina y entonces el número de receptores a oxitocina también aumenta y su activación conlleva a una elevación del  $\text{Ca}^{++}$  citosólico movilizado a través de la hidrólisis de fosfatidilinositoles y a la apertura de canales de  $\text{Ca}^{++}$  <sup>127, 128</sup>.

## **XI. CONCLUSIONES**

1. Bajo las condiciones experimentales del presente estudio es posible reproducir la neurotoxicidad, reportada en la literatura,

2. El tratamiento neonatal con GMS da lugar a fenómenos de neurotoxicidad que se traduce a modificaciones del ciclo estral.

3. Los roedores tratados neonatalmente con el GMS, presentan alteraciones en la susceptibilidad del útero al efecto contráctil, inducido por la oxitocina.

4. El modelo de neurotoxicidad provocado por el GMS, abre una amplia perspectiva para el estudio de susceptibilidad a numerosos neurotransmisores, neuromoduladores, hormonas y fármacos, que se sabe interactúan con los sistemas afectados por el aminoácido excitatorio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. García MC. Area de nutrición y bromatología. Dep. Bioquímica, Bromatología, Toxicología y Medicina Legal. J Nutrition. 2000; 130 (4):1063-1066.
2. Who. Toxicological evaluation of certain additive nutritious (prepared by the 31<sup>st</sup> meeting of JECFA). Aditivos Alimentarios 1988; Series No. 22, Cambridge University Press.
3. Hayashy T. Effects of sodium glutamate on the nervous system. J Med 1954; 3:183-192.
4. Lodge D, Collingridge G. Pharmacology of excitatory amino acid. Science 1990; 25: 4938-4941.
5. Meister B, Ceccatelli S, Hökfelt T, Anden NEM, Theodorsson E. Neurotransmitters, neuropeptides and binding sites in the rat mediobasal hypothalamus: Effects of monosodium glutamate (MSG) lesions. Exp Brain Res 1989; 76 (2): 343-368.
6. Debeljuk L, Lasaga M. Tachykinins and the control of prolactin secretion. J Peptides 2006; 27 (11): 3007-19.
7. Greenamyre JT. The role of Glutamate in neurotransmission and in neurologic disease. Arch Neurol 1986; 43: 1058-1063.
8. Mody I, McDonald JF. NMDA receptor-dependent excitotoxicity: the role of intracellular Ca<sup>2+</sup> release. TIPS 1995; 16: 356-359.
9. Yuh-Man S, Hseng-Kuang H, Sheng-I L, Ming-Tsung P. Sex-specific impairment in sexual and ingestive behaviours of monosodium glutamate-treated rats. Physiol Behav 1991; 50: 873-880.
10. Pho K. Attending, internal medicine, Boston VA Medical Center, Boston, MA.

2004.

11. Report of the scientific committee for food on adverse reactions to food and food ingredients. Food Sciences and Techniques EC, 1997; 1-29.
12. Nemeroff CB, Lipton MA, Kizer JS. Models of neuroendocrine regulation: use of monosodium glutamate as an investigational tool. *Dev Neurosci* 1978; 7: 102-109.
13. Olney JW, Schainker B, Rhee V. Chemical lesioning of the hypothalamus as a means of studying neuroendocrine function. In: *Hormones, Behavior, and Psychopathology*, Sachar E S, Ed. Raven Press, New York 1976; 153-158.
14. Tanaka K, Shimada M, Nakao K, Kusunoki T. Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling period and subsequent development of obesity. *Expl Neurol* 1978; 62: 191-199.
15. Potts AM, Modrell RW, Kingsbury C. Permanent fractionation of the electroretinogram by sodium glutamate. *J Ophthalmol* 1960; 50: 900-905.
16. Rodríguez-Sierra JF, Blaustein JD, Blake CA, Clough RW, Elias KA. A decrease of cytosol estrogen receptors in the hypothalamus as a result of treatment of neonatal rats with glutamate. *Exp Brain Res* 1982; 48 (2): 272-278.
17. Bunyan J, Murrell EA, Shah PP. The induction of obesity in rodents by means of monosodium glutamate. *J Nutr* 1976; 35: 25-29.
18. Lemkey-Johnston N, Butler V, Reynolds WA. Glial changes in the progress of a chemical lesion. An electron microscopic study. *J Comp Neurol* 1976; 167: 481-502.
19. Urena-Guerrero ME, López-Pérez SJ, Beas-Zarate C. Neonatal monosodium glutamate treatment modifies glutamic acid decarboxylase activity during rat brain postnatal development. *Neurochemi Internat* 2003; 42 (4): 269-276.

20. Yang FC, Connor J, Patel A, Doat MM, Romero MT. Neural transplants. Effects on startle responses in neonatally MSG-treated rats. *Physiol Behav* 2000; 69 (3): 333-344.
21. Dada MO, Blake CA. Administration of monosodium glutamate to neonatal male rats: Alterations in the gonadotrophs and in gonadotrophin secretion. *Neuroendocrinol* 1984; 38: 490-497.
22. Inkster SE, Whiteheas SA. Increased responsiveness of the hypothalamic-pituitary axis to steroid feedback effects in ovariectomized rats treated neonatal with monosodium L-glutamate. *Experientia* 1987; 43 (6): 606-608.
23. Inoue H, Kohsaka S, Otani M, Toya S, Tsukada Y. The effect of arcuate nucleus transplantation on the development of the anterior pituitary in monosodium glutamate-treated rats. *Neurosci Res* 1986; 3 (6): 555-567.
24. Nemeroff CB, Lamartiniere CA, Mason GA, Squibb RE, Hong JS, Bondy SC. Marked reduction in gonadal steroid hormone levels in rats treated neonatally with monosodium L-Glutamate: further evidence for disruption of hypothalamic-pituitary-gonadal axis regulation. *Neuroendocrinol* 1981; 33 (5): 265-267.
25. Depaolo LV, Negro-Vilar A. Neonatal monosodium glutamate treatment alters the response of median eminence luteinizing hormone-releasing hormone nerve terminals to potassium and prostaglandin E. *Endocrinol* 1982; 110: 835-841.
26. Morley JE, Flood JF. The effect of neuropeptide Y on drinking in mice. *Brain Res* 1989; 494 (1): 129-137.
27. Baake JL, Lawrence N, Bennett J, Robinson S, Bowers CY. Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. *Neuroendocrinol* 1978; 26: 220-228.
28. Pizzi WJ, Barnhart JE, Fanslow DJ. Monosodium glutamate administration to the

- newborn reduces reproductive ability in female and male mice. *Science* 1977; 196: 452-454.
29. Redding TW, Schally AV, Arimura A, Wakabayashi I. Effects of monosodium glutamate on some endocrine functions. *Neuroendocrinol* 1971; 8: 245-255.
30. Olney JW. Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science* 1969; 164: 719-721.
31. Rodríguez-Sierra JF, Sridaran R, Blake CA. Monosodium glutamate disruption of behavioral and endocrine function in the female rat. *Neuroendocrinol* 1980; 31 (3): 228-235.
32. Nemeroff CB, Grant LD, Bissette G, Ervin G, Harrell LE, Prange AJ. Analysis of the disruption in hypothalamic-pituitary regulation in rats treated neonatally with monosodium-L-glutamate (MSG): Evidence for the involvement of tuberoinfundibular cholinergic and dopaminergic systems in neuroendocrine regulation. *Endocrinol* 1977; 101: 613-622.
33. Dawson R, Lorden JF. Behavioral and neurochemical effects of neonatal administration of monosodium L-glutamate in mice. *J Comp Physiol Psychol* 1981; 95: 71-84.
34. Jennes L, Stumpf WE, Bissette G, Nemeroff CB. Monosodium glutamate lesions in rat hypothalamus studied by immunohistochemistry for gonadotropin releasing hormone, neurotensin, tyrosine hydroxylase, and glutamic acid decarboxylase and autoradiography for (<sup>3</sup>H) estradiol. *Research* 1984; 308: 245-253.
35. Frieder B. Prenatal monosodium glutamate causes long-lasting cholinergic change in various brain regions. *J Neurochem* 1987; 48: 1359-1369.
36. Olney JW. Glutamate-induced neuronal necrosis in the infant mouse hypothalamus: electron microscopic study. *J Neuropath Exp Neurol* 1971; 30: 75-90.

37. Meister B. Monosodium glutamate (MSG) lesions. *Methods in Neurosciences*. 1991; 7: 70-88.
38. Johnston CA, Tesone M, Negro-Vilar A. Steroid-monoamine feedback interactions in discrete brain regions using as a model the monosodium glutamate (MSG)-lesioned rat. *Life Sci* 1984; 34 (13): 1287-1297.
39. Krieger DT, Liotta AS, Nichol森 G, Kizer JS. Brain ACTH and endorphin reduced in rats with monosodium glutamate-induced arcuate nuclear lesions. *Nature* 1979; 278: 562-563.
40. Lin JY, Pan JT. Single-unit activity of dorsomedial arcuate neurons and diurnal changes of tuberoinfundibular dopaminergic neuron activity in female rat with neonatal monosodium glutamate treatment. *Brain Res Bull* 1999; 48 (1): 103-108.
41. Schoelch C, Hubschle T, Schmidt I, Nusslein-Hildesheim B. MSG lesions decrease body mass of suckling-age rats by attenuating circadian decreases of energy expenditure. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283 (3): 604-611.
42. Tokuyama K, Himms-Hagen J. Brown adipose tissue thermogenesis, torpor, and obesity of glutamate treated mice. *Am Physiol Sci* 1986; 20: 407-415.
43. Wakabayashi I, Hatano H, Minami S, Tonegawa Y, Akira S, Sugihara H, Ling NC. Effects of neonatal administration of monosodium glutamate on plasma growth hormone (GH) response to GH-releasing factor in adult male and female rats. *Brain Res* 1986; 372 (2): 261-265.
44. De Genaro V, Redaelli M, Locatelli V, Cella SG, Fumagalli G, Wehrenberg WB, Muller EE. Ontogeny of growth hormone-releasing factor in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinol* 1986; 44 (1): 59-64.
45. Maiter D, Koenig JJ, Kaplan LM. Sexually dimorphic expression of the growth hormone-releasing hormone gene is not mediated by circulating gonadal hormones

- in the adult rat. *Endocrinol* 1991; 128 (4): 1709-1716.
46. William HF, Addison. *The rat in laboratory investigation*. The United States America 1942: 34
  47. Ruíz DM. *Fundamentos de Embriología y Fisiología de la Reproducción*. México. Omega 1988; 90-106.
  48. Allen E. The oestrus cycle in the mouse. *Am J Anat* 1922; 30 (3): 297-350.
  49. Geha RS. Multicenter, double-blind, placebo-controlled, multiple challenge evaluation of reported reactions to monosodium glutamate. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 106: 973-980.
  50. Fernstrom JD, Garatini S, (eds). *International Symposium on Glutamate (Proceedings of the symposium Oct, 1988 in Bergamo, Ital)*. 2000.
  51. Ganong WF. *Fisiología médica*. 18<sup>a</sup>. ed. México; Manual Moderno 2002; 115, 257-259, 263, 427, 485-486.
  52. Albert K, Hoch P, Waelsch H. Preliminary report on the effect of glutamic acid administration in mentally retarded subjects. *J Nerv Ment Dis* 1946; 104: 263-274.
  53. Ewalt Jr Bruce. New concepts of schizophrenia. *Texas Rep Biol Med* 1948; 6: 97-107.
  54. Lin W, Mckinney K, Liu L, Lakhiani S, Jennnes L. Distribution of vesicular glutamate transporter-2 messenger ribonucleic acid and protein in the septum-hypothalamus of the rat. *J Endocrinology* 2003; 144 (2): 662-70.
  55. Wisden W, Seeburg HP. Mammalian ionotropic glutamate receptors. *Neurobiol* 1993; 3: 291-298.
  56. Bliss TVP, Lomo TJ. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J*

- Physiol 1973; 232-233.
57. Schoepp DD, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors in brain function and pathology. TIPS 1993; 14 (1): 13-19.
  58. Simpson PB, Challiss JRA, Nahorski SR. Neuronal Ca<sup>2+</sup> stores activation and function. TIPS 1995; 18 (7): 299-306.
  59. Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory-long term potentiation in the hippocampus. Nature 1993; 361: 31-39.
  60. Ito M. Long-term depression in the cerebellum. Semin Neurosci 1990; 2: 381-390.
  61. Ito M. La plasticidad de las sinápsis. Mundo científico 1994; 150 (14): 846-853.
  62. Lucas DR, Newhouse JP. The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. Arch Ophtal 1957; 58: 193-201.
  63. Pickard GE, Turek FW, Lamperti AA, Silverman AJ. The effect of neonatally administered monosodium glutamate (MSG) on the development of retinofugal projections and the entrainment of circadian locomotor activity. Behav Neurol Biol 1982; 34: 433-444.
  64. Holzwart-McBride MA, Hurst EM, Knigge KM. Monosodium-glutamate induced of the arcuate nucleus. I. Endocrine deficiency and ultrastructure of median eminence. Anat Rec 1984; 186: 185-196.
  65. Olney JW, McGeer PL. Kainic acid as a tool in neurobiology. New York: Raven Press 1978; 239-264.
  66. Curtis DR, Johnston GAR. Amino acid transmitters in the mammalian central nervous system. Rev Physiol 1974; 69: 97-188.
  67. Lordge JF, Claude A. Behavioral and endocrinological effects of single injections of monosodium glutamate in the mouse. Neurobehav Toxicol Teratol 1986; 8: 509-514.
  68. Iwase M, Ichikama K, Tashiro K, Shinohara N, Ibayashi S, Yoshinari M, Fujishima

- M. Effects of monosodium glutamate-induced obesity in spontaneously hypertensive rats vs. Wistar Kyoto rats: serum leptin and blood flow to brown adipose tissue. *Hypert Res Clin Experim* 2000; 23 (5): 503-510.
69. Carrillo AJ, Steger RW, Chamness GC. Dopaminergic stimulation of pituitary but not hypothalamic estrogen receptors in ovariectomized rats. *Endocrinol* 1983; 112 (5): 1839-1846.
70. Carter Sue C. Oxytocin and sexual behavior. *Neurosc Biobehav Rev* 1992; 16: 131-144.
71. Sun YM, Hsu HK, Lue SI, Peng MT. Sex-specific impairment in sexual and ingestive behaviors of monosodium glutamate-treated rats. *Physiol Behav* 1991; 50 (5): 873-880.
72. Ralph DJ. Developmental and sex-specific effects of low dose neonatal monosodium glutamate administration on medio-basal hypothalamic chemistry. *Neuroendocrinol* 1986; 42: 156-166.
73. Trullas R, Skolnick P. Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant action. *Eur J Pharmacol* 1990; 189: 1-10.
74. Olney JW, Labruyere J, Wang G, Wozniak DF, Price MT, Sesma MA. NMDA antagonist neurotoxicity-mechanism and prevention. *Science* 1991; 254: 1515-1518.
75. Rogawski MA. Therapeutic potential of excitatory amino acid antagonists-channel blockers and 2,3-benzodiazepines. *TIPS* 1993; 14: 325-331.
76. Willetts J, Balster RL, Leander JD. The behavioral pharmacology of NMDA receptor antagonists. *TIPS* 1990; 11: 423-428.
77. Meeker RB, Greenwood RS, Hayward JN. Glutamate receptors in the rat hypothalamus and pituitary. *Endocrinology* 1994; 134(2): 621-629.
78. Schaffer NK, Michel HO, Bridges AF. Amino acid sequence in the region of the

- reactive serine residue of acetylcholinesterase. *Biochemistry* 1973; 12: 2946-2950.
79. Verdenhalven J, Hucho F. Inhibition and photoaffinity labeling of acetylcholinesterase by phencyclidin and triphenylmethylphosphonium in molecular basis of nerve activity. Changeux JP, Hucho F, Maelicke A, Neumann E. eds. Verlag walter de Gruyter. Berlin/New York 1985; 741-751.
80. Sándor L, Erdő. Excitatory amino acid receptors in the mammalian periphery. Elsevier Science Publishes 1991; 12: 426-429.
81. Fragg GE. L-glutamate excitatory amino acid receptors and brain functions. *Trends Neurosci* 1985; 8: 207-210.
82. Moroni F, Luzzi S, Franchi Micheli, Zilletti. The presence of N-methyl-D-aspartate-type receptors for glutamic acid in the guinea pig myenteric plexus. *Neurosci Lett* 1986; 68: 57-62.
83. Wroblewski JT, Danysz W. Modulation of glutamate receptors: Molecular mechanisms and functional implications. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1989; 29: 441-474.
84. Watkis JC, Krogsgaard-Larsen P, Honoré T. Structure activity relationships in the development of excitatory amino acid receptor agonists and competitive antagonists. *TIPS* 1990; 11: 25-33.
85. Vasudevan N, Kiahk T, Inoue S, Muramatsu M, Pfaff D. Isoform specificity for estrogen receptor and thyroid hormone receptor genes and their interactions on the NR2D gene promoter. *J Neuroendocrinology* 2002; 14 (10): 836-42.
86. Du Vigneaud V, Ressler C, Trippett S. The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for the structure of oxytocin. *J Biol Chem* 1953; 20: 949-951.
87. Caldeyro BR, Alvarez H, Poseiro JJ. La oxitocina en la inducción del parto II. *Congr*

- Uruguayo Ginecotec 1957; 1: 5.
88. Caldeyro BR, Heller H. Oxytocin. Ed. Pergamon Press New York 1961.
89. De Geest K, Thiery M, Piron PG. Plasma oxytocin in human pregnancy and parturition. *J Perinat Med* 1985; 13: 3-5.
90. Smith CM, Reynard AM. Farmacología. Panamericana. México 1992; 644-647.
91. Boudaba C, Tasker JG. Intranuclear coupling of hypothalamic magnocellular nuclei by glutamate synaptic circuits. *J Physiology* 2006; 291 (1): R102-11.
92. Hrabovszky E, Csapo AK, Kallo I, Wilhelm T, Turi GF, Liposits Z. Localisation and osmotic regulation of vesicular glutamate transporter-2 in magnocellular neurons of the rat hypothalamus. *J Neurochemistry* 2006; 48 (8): 753-61.
93. Guyton AE, Hall JE. Tratado de Fisiología médica. 10<sup>a</sup> ed Interamericana. McGraw-Hill. Madrid 2001: 1-1063.
94. Toaff ME, Hezroni J, Toaff R. Induction of labour by pharmacological and physiological doses of intravenous oxytocin. *J Obstet Gynecol* 1978; 85: 101-104.
95. Wein P. Efficacy of different starting doses of oxytocin for induction of labor. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 863-866.
96. Barber HR, Graber EA, Orlando A. Augmented labor. *Obstet Gynecol* 1972; 39: 933-937.
97. Foster TC, Jacobson JD, Valenzuela GJ. Oxytocin augmentation of labor: a comparison of 15 and 30 minute dose increment intervals. *Obstet. Gynecol* 1988; 71: 147-150.
98. Fuchs AR, Olsen P, Petersen K. Effect of distention of uterus and vagina on uterine mobility and oxytocin release in puerperal rabbits. *Acta Endocrinol* 1965; 50: 239-242.

99. Hauth JC, Hankins GD, Glistrap LC. Uterine contractions pressure with oxytocin induction/augmentation. *Obstet Gynecol* 1986; 68: 305-308.
100. Wyngaarden JB, Smith LIH. *Cecil Tratado de Medicina Interna*. 16<sup>a</sup> Ed. Interamericana. México 1985. 1245-1253.
101. Calka J. The role of nitric oxide in the hypothalamic control of LHRH and oxytocin release, sexual behavior and again of the LHRH and oxytocin neurons. *J Histochemical et Cytobiologica* 2006; 44 (1): 3-12.
102. Orłowska-Majdak M. Effect of excitatory amino acids of activity of vasopressinergic and oxytocinergic neurons. *J Endocrine* 2004; 38 (1): 23-8.
103. Pak CW, Curras- Collazo MC. Expression and plasticity of glutamate receptors in the supraoptic nucleus of the hypothalamus. *J Microscopy Research & Technique* 2002; 56 (2): 92-100.
104. Armstrong WE, Stern JE, Teruyama R. Plasticity in the electrophysiological properties of oxytocin neurons. *J Microscopy Research & Technique* 2002; 56 (2): 73-80.
105. Ross MG, Hayashi R. How can we use oxytocin more effectively?. *Contemporary Ob/Gyn* 1984; 24: 139-143.
106. Sukhanov SN, de Andrade IS, Dolnikoff MS, Ferreira AT. Neonatal monosodium glutamate treatment alters rat intestinal muscle reactivity to some agonists. *J Pharmacol* 1999; 386 (2-3): 247-252.
107. Seitchi J, Amico J, Robinson AG. Oxytocin augmentation of dysfunctional labor: IV Oxytocin pharmacokinetics. *J Obste Gynecol* 1984; 150: 225-229.
108. Crall HD, Mattison DR. Oxytocin pharmacodynamics: effect of long infusion on

- uterina activity. *Gynecol Onstet Invest* 1991; 31: 17-22.
109. Rodríguez CR. *Vademécum Académico de Medicamentos*. 4ªed McGraw-Hill, Interamericana. México 2005; 733-734.
110. Goodman & Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 11ªed McGraw-Hill. México 2006: 1-1996.
111. Tallarida RJ, and Jacob LS. *The dose-response relation in pharmacology*. Springer-Verlang, New York 1979; 3-15.
112. Carsten ME, Miller JD. A new look at uterina muscle contraction. *J Obstet Gynecol* 1987; 157: 1303-1306.
113. Katzung BG. *Farmacología básica y clínica*. 9ª ed. Manual Moderno. México 2005; 713-717.
114. Fuchs AR, Husslein P, Fuchs F. Oxytocin and the initiation of human parturition: II. Stimulation of prostaglandin production in human decidua by oxytocin. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 694-696.
115. Fuchs AR, Fuchs S; Husslein P. Oxytocin receptors in the human uterus during pregnancy and parturition. *Am J Obstet Gynecol* 1984; 150: 734.
116. Finn G. *Histología*. 3ª ed Buenos Aires; Panamericana. México 2000; 629-633.
117. Lesson T, Lesson R, Paparo A. *Texto Atlas de Histología*. Interamericana. México. 1990; 611-618.
118. Bolton TB. Mechanisms of action of trasmitters and other substances on smooth muscle. *Physiol Rev* 1979; 59:606-718.
119. Kamm KE, Stull JT. Regulation of smooth muscle contractile elements by second messengers. *Annu Rev Physiol* 1989; 51: 299-313.
120. Hai CM, Murphy RA.  $Ca^{2+}$  crossbridge phosphorylation, and contraction. *Annu Rev Physiol* 1989; 51: 285-298.

121. Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de agosto de 2001.
122. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, publicada en suplemento Rev Sanid Mex 1993; (47) 3-18.
123. Wang H, Erksson H, Sahlin L. Estrogen receptors alpha and beta in the female reproductive tract of the rat during the oestrous cycle. Biol Reprod 2000; 63(5): 1331.
124. Axelrod J, Wurtman RJ. The formation, metabolism and some actions of melatonin, a pineal gland substance. Endocrines and the Central Nervous System 1966; 34 (8): 200-211.
125. Perry WLM. Pharmacological experiments on isolated preparations. ESS Livingstone, Edinburg and London 1970: 1-95.
126. Thomas N, Tabb MD, Robert E, Garfield PhD: Molecular biology of uterine contractility. Clin Obstet Gynecol 1992; 35(3): 494-504.
127. Wray S. What are the physiologically relevant mechanism of modulating uterine force? J Physiol 2000; 523P: 49S.
128. Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. Physiol Rev 2001; 81(2): 629-68.