

51261

2ej. 2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

“ZARAGOZA”

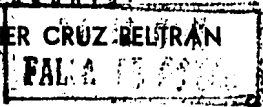
ESTUDIO DE LA LATERALIZACION DEL SISTEMA COLINERGICO EN LA REGULACION DEL EJE HIPOTALAMO - HIPOFISIS - OVARIO

TESIS

Que para obtener el Grado de: MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

MA. ESTHER CRUZ BELTRAN



México, D. F. 1988



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

Contenidos	Página
LISTA DE PUBLICACIONES	2
RESUMEN	3
INTRODUCCION	5
Anatomía del Hipotálamo	5
Origen y Distribución de las Fibras Colinérgicas y Catecolaminérgicas del Hipotálamo	7
Regulación de la Secreción de la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas (GnRH), de la Hormona Foliculo- Estimulante (FSH) y de la Hormona Luteinizante (LH).....	9
Regulación de la Función del Ovario	13
Mecanismos Neuroendócrinos Lateralizados	14
HIPOTESIS	16
OBJETIVOS	16
MATERIAL Y METODOS	17
RESULTADOS	22
DISCUSION	28
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFIA	34
TABLAS Y FIGURAS	41
APENDICE	59

LISTA DE PUBLICACIONES

Esta tesis se basa en los trabajos publicados y enviados a publicar, los cuales son referidos en el texto por su número romano correspondiente.

- I.- CRUZ, M. E., CHAVEZ, R., MARTINEZ, R. and DOMINGUEZ, R. (1987). Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat. *Medical Science Research* 15: 1531-1532
- II.- CRUZ M. E., CHAVEZ, R., ROSAS, P., LUJAMBIO, M., MORAN, J. L. & DOMINGUEZ, R. (1988). Differences in the circadian variations in the acetylcholinesterase activity in the right and left hypothalamus during the estrous cycle of the rat. *Brain Research* (enviado a publicar)
- III.- CRUZ, M. E., JARAMILLO, L. P. & DOMINGUEZ, R. (1988). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus in the cyclic rat. *Journal of Endocrinology* (enviado a publicar)
- IV.- CRUZ, M. E., MORAN, J. L., JARAMILLO, L. P. & DOMINGUEZ, R. Differences in spontaneous ovulation in rats with unilateral lesion of the hypothalamus. *Brain Research Bulletin* (enviado a publicar).
- V.- CRUZ, M. E., MORAN, J. L., JARAMILLO, L. P. & DOMINGUEZ, R. Differential effects of unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemispayed adult rat. *Journal of Endocrinology* (enviado a publicar)

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la posible existencia de lateralización en los mecanismos colinérgicos hipotalámicos que participan en la regulación de la función del ovario.

En la rata hembra, la actividad de la enzima acetilcolinesterasa del hipotálamo presenta variaciones circádicas a lo largo del ciclo estral. La actividad de la enzima (en nMol sustrato hidrolizado/min/mg proteína) en el lado derecho fue menor que en el izquierdo, aunque no alcanzó la significancia seleccionada (181 ± 4.7 vs 193 ± 4.8 , $P=0.06$). La actividad enzimática mostró sus máximos valores a las 21.00 horas y los mínimos a las 17.00 horas de todos los días del ciclo estral (222 ± 10.3 vs 117 ± 4.5 , $P<0.05$). En el día del estro, la AChE (en nMol sustrato hidrolizado/min/mg tejido) alcanzó los valores más elevados en el día del estro y los menores fueron observados en el día del proestro (12.9 ± 0.5 vs 10.3 ± 0.4 , $P<0.05$).

En la rata macho, la actividad enzimática del hipotálamo, el cerebelo, el cuerpo estriado y el bulbo depende de la integridad de los nervios vago. La sección del vago izquierdo indujo disminución de la actividad de la enzima en todas las estructuras, mientras que la sección del vago derecho la aumentó. Al parecer, el vago izquierdo tiene un papel estimulante sobre la actividad enzimática, mientras que el vago derecho sería inhibitorio.

El bloqueo del sistema colinérgico (implante de atropina a las 13.00 horas del día del estro) en el lado derecho del hipotálamo anterior bloqueó la ovulación en el 100 % de los casos, mientras que cuando se realizó en el lado izquierdo, todos los animales ovularon (8/8 vs 0/8, $P<0.01$). Cuando los mismos implantes se realizaron en el diestro I, el bloqueo de la ovulación fue semejante en los grupos con implante en el hipotálamo derecho o izquierdo (8/10 y 8/9). Estos resultados apoyan la idea que el sistema muscarínico hipotalámico que regula la función del ovario presenta lateralización, la cual depende del día del ciclo estral que se considera.

La lesión del lado derecho o izquierdo del hipotálamo anterior provocó disminución del número de ovocitos liberados por cada ovario, de la tasa de animales ovulantes y alteró el ciclo estral del animal. Por el contrario, la lesión del hipotálamo medio o posterior no modificó ninguno de los parámetros antes señalados. Sin embargo, en los animales con lesión unilateral del hipotálamo medio el ovario derecho fue capaz de compensar la disminución de ovocitos liberados por el ovario izquierdo. El peso de los ovarios aumentó sólo en el grupo con lesión del lado derecho del hipotálamo medio o posterior.

En el animal hemicastrado, la respuesta de cada ovario a la lesión unilateral del hipotálamo es diferente. La lesión de uno de los lados del hipotálamo anterior inhibe la hipertrofia ovulatoria compensadora del ovario ipsilateral a la lesión y no afecta al contralateral, mientras que la lesión unilateral del hipotálamo medio provocó disminución de la hipertrofia ovulatoria compensadora de ambos ovarios, pero sus efectos fueron más evidentes sobre el ovario derecho. Además, la hipertrofia compensadora del ovario derecho parece depender de la integridad de ambos lados del hipotálamo.

Los resultados del presente estudio sugieren que en la regulación de la función del ovario, la participación del sistema colinérgico presenta lateralización y varía a lo largo del ciclo estral. Así mismo, la "eficiencia funcional del ovario" (número de ovocitos liberados en función del peso) presenta elementos de lateralización, ya que en el animal hemicastrado la "eficiencia funcional" del ovario izquierdo es mayor que la del derecho.

INTRODUCCION

Es bien conocido que varias funciones del sistema nervioso central (BNC) de los mamíferos presentan asimetría, es decir que la función en el lado derecho es diferente del izquierdo (29). Por ejemplo, los movimientos del lado derecho del cuerpo son regulados por la corteza cerebral izquierda; parte de la información visual del ojo derecho y la sensación táctil originada en la parte derecha del cuerpo se proyectan sobre la corteza del lado izquierdo (44). En el ser humano desde la etapa fetal, el área de Wernicke (región que regula el habla) está más desarrollada en el hemisferio izquierdo que en el derecho, independientemente de la lateralización del sistema motor voluntario. Por otra parte, las funciones relacionadas con el "estado de ánimo" del humano también están lateralizadas, ya que la administración de amital sódico en la carótida izquierda produce depresión, mientras que si se realiza en la derecha produce euforia (44). En algunos casos, la asimetría funcional también depende del sexo del animal en estudio (14, 20, 49, 82).

Las diferencias funcionales de la corteza cerebral no parecen estar vinculadas con variaciones significativas en las concentraciones de aminoácidos y neurotransmisores (36, 54), ni con los sitios de unión específicos a serotonina o dopamina (37). En cambio, se ha descrito la existencia de diferencias significativas en la concentración del ácido gamma amino butírico (GABA) entre el lado derecho y el izquierdo de varias estructuras del cerebro humano (34). En la rata, se ha mostrado que la concentración de noradrenalina en el lado izquierdo de la región anterior del tálamo es mayor que en el derecho, mientras que en la región posterior esta relación es inversa (61).

En los últimos diez años, resultados experimentales de varios autores han mostrado que la regulación neuroendocrina que ejerce el hipotálamo sobre la función del eje hipófisis-gónada presenta asimetría (4, 16, 19, 28, 30, 31, 32, 33, 52, 59, 60). Al parecer, ésta no sería solamente a nivel central, sino que existen datos que sugieren que las gónadas, en particular el ovario, también presenta lateralización en sus mecanismos de regulación (16, 19). Es de hacer notar que esta lateralización generalmente se pone de manifiesto luego de realizar lesiones, estimulaciones o extirpaciones de alguna estructura.

ANATOMIA DEL HIPOTALAMO

El hipotálamo está delimitado rostro-caudalmente por el quiasma óptico y los cuerpos mamilares (65) y lateralmente por los surcos hipotalámicos laterales. Tomando como referencia al III Ventrículo, el hipotálamo se puede dividir en tres grandes

regiones: la periventricular, la medial y la lateral. La región periventricular constituye la parte del hipotálamo que rodea al III Ventrículo. La región lateral contiene vías multisinápticas ascendentes y descendentes, como el haz medial del cerebro anterior, el cual corre a través del hipotálamo lateral y se proyecta rostralmente a varias regiones del cerebro anterior. Muchos de los axones de las neuronas aminérgicas localizadas en el tallo cerebral se dirigen a través de este haz hacia regiones neocorticales. La región medial del hipotálamo está separada de la región lateral por las columnas descendentes del fórnix. Esta región contiene la mayoría de las agrupaciones neuronales del hipotálamo denominadas núcleos.

Según la distribución de los núcleos del hipotálamo, éste se puede dividir en: anterior, medio y posterior. El hipotálamo anterior contiene los siguientes núcleos: el paraventricular (NP_{AV}), el preóptico medial (NP_{PM}), el preóptico lateral (NP_{PL}), el supraóptico (NS_{OP}), el supraquiasmático (NS_{CH}) y el anterior (NA_n). En el hipotálamo medio se localizan los núcleos: dorso-medial (ND_M), ventromedial (NV_M), arcuato (NA_r), tuberal (NT) y el periventricular (NP_{AV}). En el hipotálamo posterior se encuentran: el mamilar medial (NM_M), el mamilar lateral (NM_L), el mamilar intermedio o intercalado (NM_I) y el posterior (NP) (Figura 1).

La mayoría de las fibras de conexión del hipotálamo son bidireccionales, excepto el haz hipotálamo-hipofisario, el cual contiene los axones de las neuronas del NP_{AV} y del NS_{OP}, que inervan la hipófisis posterior. Además, el hipotálamo recibe una vía aferente directamente desde la retina, que finaliza principalmente en el NS_{CH}.

Las proyecciones aferentes y eferentes del área caudal del hipotálamo viajan en el haz medial del cerebro anterior, en el haz mamilotegmental y en el fascículo longitudinal dorsal. Las estructuras más dorsales del cerebro están interconectadas con el hipotálamo por medio del haz mamilotalámico, el fórnix y la estria terminal.

El hipotálamo secreta diferentes péptidos, algunos de los cuales son liberados a la circulación local o actúan sobre sus células blanco a distancia. Otros péptidos son liberados en el espacio sináptico, donde actúan como neurotransmisores.

La mayoría de las neuronas peptidérgicas del hipotálamo proyectan axones al sistema límbico y a otras estructuras relacionadas con el sistema nervioso autónomo (44, 84).

ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN DE LAS FIBRAS COLINÉRGICAS Y CATECOLAMINÉRGICAS DEL HIPOTÁLAMO.

Existe poca información sobre las vías colinérgicas que llegan al hipotálamo vinculadas con la regulación de la secreción de las gonadotropinas. En el cerebro anterior de la rata, se ha descrito la existencia de dos vías colinérgicas: la vía tegmental dorsal y la ventral. La primera, formada por fibras que contienen tanto colinesterasa inespecífica (ChE) como acetilcolinesterasa (AChE), se origina en el núcleo cuneiforme de la formación reticulada mesencefálica y se proyecta hacia el tectum, el área pretectal, los cuerpos geniculados, el tálamo y el sistema límbico. Las fibras de la vía tegmental ventral, que sólo contienen AChE, se originan en la sustancia negra y el área tegmental ventral del cerebro medio, atraviesan el hipotálamo y el subtálamo hasta llegar al tallo cerebral. Desde aquí, muchas neuronas que contienen AChE se proyectan a todas las regiones de la corteza cerebral y del bulbo olfatorio (56).

En el núcleo supramamilar del hipotálamo se ha observado una densa agrupación de células que contienen AChE (38), mientras que en el hipotálamo posterior y lateral existen células aisladas de este tipo, excepto en la parte rostral de este último (56).

Otra área hipotalámica rica en células que contienen AChE es el área preóptica (POA), las que envían axones hacia la amígdala a través de la estria terminal. En el hipotálamo dorsal también existen células AChE positivas, que se proyectan hacia el globus pallidus y el núcleo talámico reticular. Los NSCh, NPv y NAr tienen pocas fibras AChE, mientras que algunas de las células de los núcleos mamilares, del NSOp y el NPv tienen moderada cantidad de la enzima, pero sus axones carecen de ella (38, 56). La desferentación del hipotálamo medio basal (MBH) modifica ligeramente la actividad ChE en el NAr y NVH, sin modificar la de la eminencia media. Estos resultados sugieren la existencia de una vía colinérgica tuberoinfundibular semejante a la dopaminérgica, la que podría ser responsable de las modificaciones neuroendocrinas provocadas por agentes acetilcolinómiméticos (estimulantes o inhibitorios) (56).

En la rata macho adulta, la corteza, el cerebro medio, el puente, el bulbo, la amígdala y el núcleo caudado presentan un patrón circádico en su contenido de AChE (63). La concentración máxima se observa durante la fase de luz, específicamente 2 horas antes de iniciarse la fase oscura (18:00 h) del ciclo luz/oscuridad. En tanto que en el hipotálamo, el cerebelo y la adenohipófisis aunque también muestran este patrón circádico, no existe diferencia significativa entre la concentración máxima y mínima de la enzima.

Sin embargo, cuando la actividad de la enzima se expresa en función del contenido de proteína, se observan variaciones circádicas en el hipotálamo, las que dependen de la presencia de ambas glándas (51).

Al igual que en el sistema nervioso periférico, en el hipotálamo existen regiones en las que se sobrelapan áreas histoquímicamente positivas a AChE y a catecolaminas. Así, el NSop y el NAR contienen células AChE y dopaminérgicas (A12), lo cual podría indicar la existencia de sitios colinoreceptivos semejantes a los observados en los ganglios simpáticos periféricos (38, 71). Esta hipótesis estaría apoyada por el hecho de que en el hipotálamo la afinidad de enlace por los receptores colinérgicos es muy alta (77). Los efectos de los agentes colinérgicos sobre la liberación de ciertas hormonas quizá sea a través de receptores colinérgicos que se localizan en las neuronas que sintetizan otro neurotransmisor.

La mayoría de las fibras noradrenérgicas que llegan al mesencéfalo y al diencefalo lo hacen por la vía tegmental ventral, la cual está constituida por axones de los cuerpos neuronales que se localizan en el bulbo (células A1), en la oliva inferior dorsal accesoria (células A2), en el puente (células A5) y en el locus ceruleus (células A7). Los axones de esta vía ascienden hacia la formación reticular media, cursan ventralmente a lo largo del lemnisco medio y continúan rostralmente en el haz medial del cerebro anterior (7). Esta vía hace sinapsis en el NSop, el NPop, el NAR, la capa interna de la eminencia media y el área retroquiasmática. Se ha sugerido que todas las fibras noradrenérgicas que penetran a la capa interna de la eminencia media ascienden por el tallo cerebral y muy pocas llegan a su capa externa (81).

En la rata, la deafferentación completa o anterolateral del MBH provoca disminución a la tercera parte de la concentración de noradrenalina del NAR y la eminencia media. Por el contrario, la deafferentación rostro-caudal no modifica el contenido del neurotransmisor en las mismas estructuras. En base a estos resultados, se sugiere que las fibras noradrenérgicas del MBH penetran lateralmente desde el haz medial del cerebro anterior (67).

Las vías dopaminérgicas del hipotálamo y el POA provienen de los sistemas Incertohipotalámico y Tuberoinfundibular. En la rata, el sistema Incertohipotalámico se localiza en dos áreas: una caudal que comprende al tálamo, la zona incerta medial y la parte anterior, dorsal y posterior del hipotálamo, y otra rostral que se distribuye en el NPeV, el NSCh, el NPopM y en la comisura anterior. Los cuerpos celulares del sistema Tuberoinfundibular se localizan en el NAR y parte del NPeV (38). Sus axones se proyectan a la eminencia media, al tallo, la pars nervosa y la pars intermedia de la adenohipofisis (69).

Dado que la concentración de dopamina en el MBH no se modifica después de su deafferentación completa, se ha propuesto que la dopamina del hipotálamo proviene del grupo de células A12 (38, 67).

Las fibras serotoninérgicas ascienden desde el núcleo dorsal del rafe hacia el hipotálamo y áreas rostrales del sistema límbico y viajan dentro o en posición ventral al haz medial del cerebro anterior (68). Se ha sugerido que el contenido de serotonina en el hipotálamo proviene de neuronas que se localizan dentro del mismo hipotálamo, ya que la deafferentación total del hipotálamo disminuye en un 60% la concentración del neurotransmisor (7).

Los NSop, NPav, NSCh, NAR y la capa interna de la eminencia media tienen gran concentración de noradrenalina (64, 70). La mayor concentración de dopamina se localiza en el NAR y la eminencia media (66), mientras que la serotonina se encuentra en NAR, NSCh, NPM, el haz posterior del cerebro anterior y el núcleo perforical. La menor concentración de serotonina se localiza en la eminencia media (74).

REGULACION DE LA SECRECION DE LA HORMONA LIBERADORA DE LAS GONADOTROPINAS (GnRH), DE LA HORMONA FOLICULO ESTIMULANTE (FSH) Y DE LA HORMONA LUTEINIZANTE (LH).

La GnRH es el péptido hipotalámico que regula la secreción de la LH y en parte la de FSH. Histoquímicamente se le ha localizado en la región preóptica medial (POAM) y a lo largo del hipotálamo anterior (HA), el NAR y la eminencia media. Esta última estructura es la que contiene la mayor concentración de la hormona, seguida por el NAR (58, 65). La concentración de GnRH dentro del NAR no es uniforme, dado que la parte central del núcleo (directamente por arriba de la eminencia media) contiene el 73% de toda la hormona del propio núcleo (65).

La GnRH también ha sido detectada en el organum vasculosum de la lámina terminal (48). Se ha planteado que dentro del MBH y, probablemente en el POA septal existe un generador de pulsos ultradianos de GnRH en el que participan activa y sincrónicamente muchas células que la sintetizan (7). Ramírez y col. (70) sugieren que la comunicación entre estas células se realiza a través de señales eléctricas entre los nexos, o químicamente por la acción de productos metabólicos.

Mediante el uso de técnicas inmunohistoquímicas o con inmunoperoxidasa, se ha localizado a la GnRH en las terminaciones axónicas que están en yuxtaposición con los capilares del sistema portal hipofisario. Los cuerpos neuronales de estos axones se localizan en la región del NSCh y del NPop (aunque su contenido

de hormona es muy bajo) (8, 65) y en la región del hipotálamo anterior y del NAR (48). Algunas de estas fibras se proyectan hacia la amígdala y el tallo cerebral.

Diversos autores sugieren que la liberación de la FSH involucra a otro factor hipotalámico (factor liberador de la FSH o FBHRF). Esta posibilidad surge de varios resultados que no pueden ser explicados con base a una hormona hipotalámica común en la regulación de ambas gonadotropinas. Así, en la rata macho o hembra la lesión bilateral del NPAV y del hipotálamo anterior dorsal provoca disminución de la concentración plasmática de la FSH, sin modificar la concentración de la hormona liberadora de la LH (LHRH) en la eminencia media (10, 26, 45, 47, 48, 78). Estudios *in vitro* han mostrado que la adición de agonistas colinérgicos y LHRH, a cultivos de células de adenohipofisis y fragmentos de hipotálamo, estimula la liberación de la LH pero no la de FSH (10, 26, 78). Al parecer, la región que controla la liberación de la FSH se encuentra ligeramente caudal a la que controla la liberación de la LH. McCann y col (48) sugieren que las neuronas que secretan el FBHRF se localizan en el área hipotalámica anterior cuyos axones se proyectan hacia la porción caudal de la eminencia media.

La liberación de la GnRH está bajo control catecolaminérgico y colinérgico (5, 7, 70, 76). Con base a los resultados obtenidos por diversos autores, el papel que juega la dopamina en la regulación de la secreción de las gonadotropinas es contradictorio. Estudios *in vitro* en los que se incubaba el MBH (incluyendo POA) junto con la hipofisis de ratas hembras, muestran que la dopamina es capaz de inhibir la secreción de GnRH (79). Por el contrario, otros autores han mostrado que la incubación de fragmentos de hipotálamo ventral con dopamina estimula la liberación de la hormona. Así mismo, en las ratas intactas u ovariectomizadas tratadas previamente con estrógenos y progesterona, la microinyección de dopamina en el III Ventrículo, tienen el mismo efecto (48).

Sin embargo, se ha mostrado que el implante de dopamina en la parte posterior de la eminencia media provoca alteración del ciclo estral de la rata (estro permanente) y disminución del peso del ovario, el que histológicamente se caracteriza por la presencia de folículos en diferentes etapas de desarrollo con ausencia de cuerpos lúteos, resultados que sugieren que la dopamina inhibió la liberación de GnRH desde la eminencia media (80).

En ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos la inyección intraventricular de noradrenalina o adrenalina estimulan la liberación de LH. Diferentes experimentos utilizando fármacos que bloquean los receptores catecolaminérgicos o que interfieren con su síntesis, apoyan la idea de que la noradrenalina ejerce un papel estimulador en la liberación de GnRH (7, 9, 70, 76), mientras que la serotonina la inhibe (48, 76).

El papel del sistema colinérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas ha sido mostrado en varios estudios (10, 21, 25, 26, 42, 48, 53, 57, 72, 78). El implante bilateral de sulfato de atropina en el hipotálamo anterior lateral de la rata hemicastrada inhibe el proceso de hipertrofia compensadora del ovario (COH) (53). En estudios *in vivo* se ha observado que la acetilcolina estimula la liberación de la FBH y de la LH, sólo cuando la hipófisis es coincubada con fragmentos de hipotálamo, efecto que es bloqueado por la atropina (26, 78). Esto sugiere que la liberación de GnRH es mediada por la estimulación de receptores muscarínicos a nivel hipotalámico. Por el contrario, la administración de nicotina durante el período crítico del proestro o en ratas ovariectomizadas, bloquea la liberación de LH pero no la de FBH. Bajo estas mismas condiciones experimentales, la administración de LHRH estimula la liberación de LH pero no la de FBH (10), resultados que sugieren que al menos el bloqueo de la liberación de LH ocurre a través de receptores nicotínicos. En la rata macho, la castración provoca aumento de la actividad de la enzima colino-acetiltransferasa y de la concentración de acetilcolina en la parte rostral del NPopM, del núcleo amigdalóide medial posterior y el área tegmental ventral. Efecto que ocurre junto con el aumento de LH, por lo que se sugiere que en la rata macho, las áreas antes mencionadas están involucradas en el sistema de neuronas colinérgicas que estimulan la secreción de gonadotropinas. Por el contrario, en la rata hembra ovariectomizada tratada con estrógenos y progesterona, la actividad colinérgica disminuye (57).

Por otra parte, tanto en la rata macho como en la hembra adulta hemicastrada, la administración de agonistas colinérgicos provoca disminución de la concentración plasmática de LH y prolactina (72, 73).

En estudios *in vivo* se ha observado que algunos fármacos que estimulan los receptores colinérgicos, también estimulan la actividad mitótica de las células de la hipófisis que sintetizan LH (citado en 72).

Dominquez y col (23) mostraron que la dosis de atropina (mg/Kg peso) necesaria para bloquear la ovulación durante el ciclo estral aumenta desde el diestro i hasta el proestro y que los efectos de la administración de una sola dosis del fármaco a lo largo del ciclo estral dependen de la hora y del día del ciclo estudiado. Así mismo, la capacidad de la atropina para bloquear la ovulación parece tener un ritmo circádico que dependería del ambiente hormonal del animal, de la cantidad de acetilcolina en el SNC o de ambos factores. Estos autores sugieren que a lo largo del ciclo estral existe un ritmo circádico de la secreción de gonadotropinas que estaría en relación con el ritmo circádico del sistema colinérgico.

Según diversos autores, en el hipotálamo existen dos "centros" reguladores de la liberación de gonadotropinas. El "centro tónico", localizado en el NAR y NVM, o Área hipofisiotrófica. Cuya función es regular la descarga tónica basal de gonadotropinas en cantidades suficientes que estimulen el desarrollo de los folículos ováricos y la secreción de estrógenos. Y el "centro cíclico" en el que participan el PDA y el NSCh, responsable de la liberación preovulatoria de gonadotropinas (5, 27). Posteriormente, Barraclough (6) sugirió que el "centro cíclico" de liberación debía ser reasignado al sitio donde se localizan los cuerpos neuronales noradrenérgicos, esto es, en el cerebro medio. Estas estructuras, localizadas por fuera del Área hipofisiotrófica, modularían (estimulando o inhibiendo) la actividad de las células que producen GnRH.

Dado que la tasa de recambio de la noradrenalina en la eminencia media, el NPopM, el NSCh y el NAR aumenta y permanece alta durante la liberación preovulatoria de las gonadotropinas, Barraclough (6) sugiere que la noradrenalina es la responsable de disparar la liberación de la GnRH desde la eminencia media.

En la rata, los niveles plasmáticos de ambas gonadotropinas varían a lo largo del ciclo estral. Durante los dos primeros días posteriores a la ovulación (diestro 1 y diestro 2), la concentración de ambas gonadotropinas permanece relativamente baja. En este periodo la concentración plasmática de estrógenos aumenta progresivamente como resultado del crecimiento folicular. En la tarde del tercer día (proestro), la concentración de la FSH y de la LH aumenta drásticamente, alcanzando su máximo entre las 15:00 y 19:00 horas, dependiendo de la copa en estudio. La concentración máxima de estrógenos que se alcanza en la mañana del proestro y su brusca caída, estimulan la liberación de la GnRH. Kalra y McCann (41) sugieren que este control estimulante que ejercen los estrógenos quizá ocurre en la amígdala medial, en el PDA o ambas, ya que los implantes de estrógenos en estos dos sitios pueden incrementar la liberación de la LH.

Se ha sugerido que los estrógenos no sólo regulan la síntesis de la GnRH durante el día del proestro, sino que también son esenciales para aumentar la liberación de noradrenalina durante la tarde de este día (48). Es decir, que la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas es regulada por los esteroides sintetizados por los ovarios, los cuales actúan tanto en el hipotálamo como en la hipófisis, donde sensibilizan las células a la acción del factor hipotalámico (Figura 2).

Según Chappel y col (15), durante la mayor parte del ciclo estral (excepto en la tarde del proestro), los estrógenos inhiben la liberación de la FSH y LH, actuando sobre el centro hipotalámico que regula la secreción "tónica" de la GnRH y en consecuencia de las gonadotropinas.

En la hipófisis y el hipotálamo de la rata, también existen receptores muscarínicos (1, 55, 75). En la hipófisis estos pueden ser de tipo alfa o beta. Estos últimos varían en número a lo largo del ciclo estral (2, 6). La eliminación del control que ejercen los estrógenos sobre la adenohipófisis y el hipotálamo (por castración), afecta el comportamiento de sus receptores muscarínicos, es decir, aumenta el número de sitios de enlace en el MBH y el PDA. Estos resultados apoyan la idea de que el sistema colinérgico también participa en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (24).

REGULACION DE LA FUNCION DEL OVARIO

El folículo ovárico es la unidad anatómica y funcional del ovario. Está constituido por el ovocito I, una o varias capas de células de la granulosa (o células foliculares), una membrana basal que las rodea y aísla, y finalmente una o varias capas de células de la teca (21).

La FSH estimula la síntesis de estrógenos por las células de la granulosa, al activar a la enzima aromatasa. Ambas hormonas (la FSH y los estrógenos) actúan sinérgicamente estimulando la división mitótica de las células foliculares y la síntesis de los receptores a LH. La LH también regula la síntesis de estrógenos, debido a sus efectos sobre la producción de andrógenos por las células de la teca, y porque también estimula la síntesis y la actividad de la enzima aromatasa de las células foliculares. La FSH y la LH estimulan la síntesis y la liberación de plasminógeno, que degrada la colágena del tejido, haciendo menos rígida la pared del folículo ovárico, contribuyendo así a la ovulación (21).

El folículo ovárico recibe inervación de tipo catecolaminérgico y colinérgico. Esta inervación llega sólo hasta la teca, es decir, no atraviesa la membrana basal y como consecuencia, las células de la granulosa y el ovocito I carecen de ella. Estas fibras se originan del nervio ovárico superior, del nervio vago, del plexo ovárico y otros.

Bahr y Ben-Jonathan (3) mostraron que en la rata prepúber y adulta, la concentración de noradrenalina en el folículo disminuye al aumentar los niveles circulantes de FSH. Por otra parte, el número de receptores β -adrenérgicos en las células foliculares varía a lo largo del ciclo estral (39) al igual que el número de gránulos citoplasmáticos y la intensidad de la fluorescencia de las células cromóargentafines del ovario (83). Wrutniak-Zolnowska (83) sugiere que la secreción de estas células actuaría directamente sobre estructuras ováricas como el folículo, en sus diferentes etapas de desarrollo y sobre el cuerpo lúteo.

Dominguez y col. (21) señalan que: "en el ovario existen cuatro fuentes de catecolaminas que pueden actuar sobre el folículo: las catecolaminas circulantes de origen en la médula suprarrenal (adrenalina); las catecolaminas liberadas por las terminales nerviosas adrenérgicas (noradrenalina), las catecolaminas sintetizadas por las células de la granulosa (noradrenalina) y las células cromoadrenérgicas. Estas últimas podrían actuar como amplificadores de una señal nerviosa y liberar catecolaminas en la vecindad del folículo". Dada la escasa inervación colinérgica que recibe el ovario, es posible que los efectos de esta sean "amplificados" por el sistema de células cromoadrenérgicas.

En cuanto al papel que juega la dopamina en el ovario, se ha mostrado que el tratamiento local en uno de los ovarios con 6-hidroxidopamina (6-OHDA) provoca aumento del peso del ovario contralateral. En el animal hemicastrado, esta misma maniobra experimental bloquea la COH, mientras que la administración local de dopamina no modifica este fenómeno (32). Dado que la 6-OHDA provoca la degeneración específica de las terminales noradrenérgicas y afecta importante pero transitoriamente las dopaminérgicas, Berendal y col (32) plantean que la inervación noradrenérgica del ovario participa en la regulación del proceso de COH, y que existe una señal aferente desde el ovario afectado (extirpado o desnervado) que estimula este proceso en el ovario contralateral.

En la rata adulta, la desnervación catecolaminérgica central y periférica (utilizando reserpina) previa a la administración de FSH, aumenta el número de ovocitos liberados después de inyectar una sola dosis de LH. En cambio, cuando se "desnerva" al animal antes de administrar la LH, el número de ovocitos liberados no se modifica (16). Estos resultados apoyan la idea de que las catecolaminas juegan un papel importante en la regulación de los mecanismos neuroendocrinos que ocurren tanto a nivel central como en el ovario.

Además de la inervación catecolaminérgica, el ovario recibe fibras colinérgicas a través del nervio vago. En la rata hebra prepúber o adulta, ya sea preñada, hemicastrada o intacta, se ha mostrado que el nervio vago participa en la regulación de la respuesta de la gónada a las gonadotropinas (12, 16, 17, 19, 46, 62). Además, la respuesta del ovario a la desnervación "colinérgica" provocada por la sección unilateral de los nervios vago, muestra la existencia de lateralización funcional tanto a nivel del ovario como de la información que transcurre en cada nervio vago (16, 19).

MECANISMOS NEUROENDOCRINOS LATERALIZADOS.

En los últimos diez años, los resultados de varios estudios utilizando diferentes modelos experimentales han mostrado la

existencia de lateralización del hipotálamo en la regulación de la COH y de la liberación de la FSH o de la LH en el animal hemicastrado.

En la rata adulta, el contenido de LHRH en el lado derecho del MBH es significativamente mayor que en el lado izquierdo (4, 33). En el caso de los machos, la diferencia de concentración de la hormona se observa entre las 08:00 y 10:00 horas, y no entre las 20:00 y 22:00 (4). La extirpación de la gónada derecha o izquierda aumenta la incorporación de leucina marcada en el NAR contralateral al ovario extirpado (31). La deaferentación unilateral del MBH bloquea el proceso de COH, sólo cuando la deaferentación y la hemicastración se realizan en el mismo lado (30).

En la rata hembra adulta hemicastrada, Fukuda y col. (28) han mostrado que la deaferentación del hipotálamo anterior derecho bloquea la COH, independientemente del ovario que se extirpe, en tanto que la deaferentación del hipotálamo izquierdo no la modifica. Por el contrario, en la rata prepúber este proceso parece estar controlado por el hipotálamo izquierdo, ya que la deaferentación de este lado del hipotálamo bloquea la COH de la rata hemicastrada del lado contralateral a la deaferentación, mientras que la aislación del hipotálamo derecho no modifica este parámetro en el animal hemicastrado de uno u otro ovario (60).

En la rata macho prepúber, la deaferentación del hipotálamo derecho y la extirpación del testículo izquierdo provoca aumento de la concentración plasmática de FSH respecto al grupo de animales hemicastrados con operación falsa en el hipotálamo derecho. Cuando se extirpa el testículo derecho, los niveles de FSH no se modifican. Por el contrario, la deaferentación del hipotálamo izquierdo no modifica los niveles plasmáticos de la hormona en ninguno de los dos tipos de animales hemicastrados (52, 59). En este mismo modelo experimental, Mizunuma y col. (52) mostraron que la orquidectomía del lado derecho aumenta la concentración de la LHRH en la eminencia media y el NAR del mismo lado, sin alterar la del lado opuesto. Estas observaciones se acompañaron del aumento de la concentración plasmática de FSH, pero no de LH.

Por otra parte, la participación del nervio vago en la regulación de la respuesta del ovario a las gonadotropinas también parece ser lateralizada. En la rata cíclica adulta, la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas es diferente cuando se secciona el nervio vago izquierdo (NVI) ó el derecho (NVD) (19). Del mismo modo, en la rata adulta hemicastrada la proporción de animales que ovulan en el día del estro, respecto a los tratados (tasa ovulatoria) depende del ovario remanente. En el animal hemicastrado del ovario derecho, la tasa ovulatoria es menor que en el animal hemicastrado del ovario izquierdo. Así mismo, en la rata adulta hemicastrada con el ovario izquierdo intacto, la sección del NVI aumenta el número de ovocitos liberados, la COH y la tasa ovulatoria, mientras que en los animales con el

ovario derecho in situ la sección del NVI disminuye todos los parámetros antes señalados. La sección del NVD no modifica la respuesta del ovario derecho o izquierdo a las gonadotropinas (16).

Estos resultados sugieren que en el animal hemicastrado, el ovario derecho es más capaz de mantener la ovulación que el ovario izquierdo. Así mismo, que la información que corre por el NVD es diferente a la del NVI y que la respuesta de cada ovario a la sección del NVI es lateralizada.

Como se ha señalado, en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario intervienen diferentes mecanismos neuroendócrinos en los que participan los sistemas colinérgico y catecolaminérgico. Por otra parte, hasta el presente todos los estudios realizados sobre la existencia de lateralización en los mecanismos de regulación neuroendocrina no han tomado en consideración la posible existencia de diferencias en la participación de los diversos sistemas de neurotransmisores. En el presente proyecto se decidió estudiar si la participación del hipotálamo anterior, medio o posterior y del sistema colinérgico del hipotálamo anterior en la regulación de la función del ovario, presenta lateralización.

HIPOTESIS.

La participación del sistema colinérgico en los mecanismos neuroendócrinos que regulan las funciones del ovario presentan lateralización central y periférica tanto en el animal entero como en el hemicastrado.

OBJETIVOS.

Estudiar los efectos de la lesión en el hipotálamo derecho o izquierdo sobre la función del ovario.

Estudiar los efectos del bloqueo del sistema colinérgico en el hipotálamo derecho o izquierdo, sobre la función del ovario.

Comparar los efectos de la lesión del hipotálamo anterior derecho o izquierdo en el animal entero o hemicastrado del ovario derecho o izquierdo.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron ratas hembras (190-230 g) adultas de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luces de 05:00 a 19:00 horas), y con libre acceso al alimento y al agua. Los animales fueron mantenidos en grupos de seis por caja y se les realizó el estudio del ciclo estral por la toma diaria de frotis vaginales. Sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de 4 días de duración. Todas aquellas hembras que fueron sometidas a alguna de las intervenciones quirúrgicas, se les reanudó la toma de frotis vaginales 24 horas después de la cirugía.

Entre las 08:00 y 11:00 horas del día del estro o del diestro 1, las hembras fueron anestesiadas con pentobarbital sódico (30 mg/Kg peso i.p.) y colocadas en el estereotáxico con la barra incisora 5 mm por debajo de las barras auditivas. Para colocar el electrodo de lesión o la cánula directriz en alguna de las áreas hipotálamicas, se seleccionaron las coordenadas según el Atlas de Koning y Klippel (43). Las coordenadas antero-posterior seleccionadas para las tres áreas hipotálamicas fueron las siguientes: anterior, 6360 μ m; medio, 4380 μ m y posterior, 2790 μ m.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación entre las 09:00 y 10:30 horas. Se recogió la sangre del tronco y se dejó coagular durante una hora a temperatura ambiente; se centrifugó a -4°C y 1000 g/15 min y se colectó el suero, que fue almacenado a -20°C para posteriores determinaciones.

Se diseccionaron las trompas uterinas y se contó el número de ovocitos liberados por cada ovario, los cuales fueron disecados y pesados, al igual que el útero. El peso de los ovarios y del útero se expresaron en mg/100 g peso.

El cerebro de los animales con lesión hipotálamica se fijó en solución de formol al 10 % y después de 15 días, se cortó a 80 μ m, en un criostato. Los cortes fueron teñidos con la técnica de violeta de cresilo para localizar el área de la lesión o del implante.

Los diagramas de la localización de las lesiones o de los implantes, así como la nomenclatura utilizada, fueron tomados directamente del atlas de Koning y Klippel (43). La coordenada antero-posterior correspondiente al esquema aparece en la zona inferior derecha de cada diagrama. Aquellos animales cuya lesión alcanzó el lado opuesto, no se tomaron en consideración en este estudio.

Los animales destinados al estudio de la actividad de la AChE fueron autopsiados en las mismas condiciones, excepto que

una vez extraído el cerebro se disecaron rápidamente las diferentes estructuras del SNC, siguiendo el método de Glowinsky e Iversen (35) y fueron mantenidas en hielo mientras se pesaron y se continuó con la siguiente metodología: Cada estructura fue homogeneizada por sonicación en amortiguador de fosfatos 0.07 M, pH 8.0. La actividad AChE se determinó por el método de Maletta y Timiras (50), utilizando acetiltiocolina como sustrato. También se determinó la concentración de proteína (11) y de ADN (13). Los resultados de la concentración de proteína se expresaron en g/mg tejido, mientras que los de la actividad AChE en nMol de sustrato hidrolizado/min/mg tejido, nMol de sustrato hidrolizado/min/mg proteína o nMol de sustrato hidrolizado/min/ng de ADN.

En un experimento se analizaron los efectos agudos de la sección uni o bilateral de los nervios vago sobre la actividad de la acetilcolinesterasa del hipotálamo de ratas machos adultos. Para tal fin, machos adultos de 250-300 g fueron mantenidos bajo las mismas condiciones de luz/obscuridad y alimentación que las hembras.

Experimento 1.

Diferencias en los cambios agudos de la actividad acetilcolinesterasa de varias estructuras del cerebro por la sección bilateral o unilateral de los nervios vago en la rata macho adulta. (1)

Grupos de 7 animales fueron distribuidos al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales: controles (animales sin tratamiento); operación falsa (animales anestesiados con éter a los que se les laparotomizó, se exteriorizó y manipuló el estómago sin tocar los nervios vago); vagotomía bilateral (animales laparotomizados en los que se seccionaron ambos nervios vago a nivel subdiafragmático); vagotomía unilateral (sección del nervio vago del lado derecho o del izquierdo).

Todos los animales fueron sacrificados 72 horas después de haber sido sometidos a alguna de las manipulaciones quirúrgicas. A la autopsia se disecaron y pesaron el hipotálamo, el cerebro, los cuerpos estriados y el bulbo. En las estructuras del SNC se cuantificó la actividad AChE, la concentración de proteína y ADN.

Experimento 2.

Diferencias en las variaciones circádicas de la actividad acetilcolinesterasa en el hipotálamo derecho e izquierdo durante el ciclo estral de la rata. (II)

Ratas cíclicas en estró, diestro 1, diestro 2 o proestro fueron sacrificadas a las 09:00, 13:00, 17:00 o 21:00 horas. A la autopsia se diseccionó el hipotálamo y se le dividió en su mitad derecha e izquierda realizando un corte sagital a través del III Ventrículo. En ambos lados se cuantificó la actividad AChE y la proteína.

Experimento 3.

Respuesta ovulatoria asimétrica inducida por el implante unilateral de atropina en el hipotálamo anterior de la rata cíclica (III)

A ratas en los diferentes días del ciclo estral se les implantó en el lado derecho o izquierdo del hipotálamo anterior una aguja de acero inoxidable No. 20 cuya longitud promedio fue de 4 mm (cánula directriz), con el propósito de asegurar que ésta quedase colocada a nivel de la corteza cerebral, sin llegar al área de estudio.

Una vez que los animales presentaron 2 ciclos consecutivos de 4 días, a las 13:00 horas del estró o del diestro 1, se les implantó la cánula interna (aguja 25) en cuya punta se colocó atropina en cristales, la cual fue expulsada en el hipotálamo con la ayuda de un alambre de acero inoxidable ligeramente más delgado que la cánula interna. Todos los animales se autopsiaron en el siguiente estró esperado.

Como grupo control se utilizaron animales a los que sólo se les implantó la cánula directriz y fueron autopsiados al día del estró vaginal.

Experimento 4. (IV)

Diferencias en la ovulación espontánea de ratas con lesión unilateral del hipotálamo

Ratas en diestro I fueron sometidas a la lesión unilateral (lado derecho o izquierdo) del hipotálamo anterior, medio o posterior por radiofrecuencia. La temperatura y tiempo seleccionados para cada área hipotalámica fueron los siguientes: anterior, 70 °C/30 seg; medio y posterior, 70 °C/5 seg.

Los animales fueron autopsiados en el día del estro vaginal después que presentaron 2 ciclos consecutivos de igual duración. En aquellos casos en los que el animal no cumplió con esta condición, fueron autopsiados al primer estro vaginal luego de 25 días de operados.

Como grupo control se utilizaron animales cíclicos sin tratamiento, autopsiados en el día del estro vaginal. El grupo de operación falsa correspondió a ratas en diestro I sometidas a las mismas manipulaciones experimentales que los grupos tratados, excepto que el electrodo de lesión se colocó a nivel de la corteza cerebral, con la misma intensidad de calor y tiempo.

Experimento 5. (V)

Diferentes efectos de la lesión unilateral sobre la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario en la rata adulta hemicastrada.

Animales en el día del estro fueron lesionados unilateralmente en el hipotálamo anterior o medio, siguiendo la misma metodología que en el experimento anterior, excepto que inmediatamente después de efectuar la lesión, el animal fue hemicastrado del ovario ipsi o contralateral a la lesión. Para ello se efectuó una incisión lateral (del lado derecho o izquierdo), se exteriorizó el ovario, se ligó el pedículo y se extrajo la gónada.

Una vez finalizada la cirugía, se separó la trompa uterina del ovario extirpado para contar el número de ovocitos liberados, el ovario fue disecado y pesado en balanza de precisión.

Como grupo control se utilizaron animales hemicastrados del ovario derecho o izquierdo en el día del estro. Estos y los animales lesionados fueron sacrificados en el día del estro vaginal después que presentaron por lo menos dos ciclos consecuti-

tivos de igual duración. Al igual que en el experimento anterior, los animales que no ciclaron fueron sacrificados al primer estro vaginal luego de 25 días de la operación.

El resultado del número de ovocitos liberados por el ovario derecho o izquierdo fué expresado como Hipertrófia Ovulatoria Compensadora (HOvulC), calculada con la siguiente fórmula:

$$\text{HOvulC} = \frac{(\text{número de ovocitos liberados por el ovario in situ} - \text{número de ovocitos liberados por el ovario extirpado})}{(\text{número de ovocitos liberados por el ovario extirpado})} \times 100$$

Mientras que el peso del ovario se expresó como Hipertrófia Compensadora del Ovario (COH), calculada de la siguiente manera:

$$\text{COH} = \frac{(\text{peso del ovario in situ} - \text{peso del ovario extirpado})}{(\text{peso del ovario extirpado})} \times 100$$

Análisis Estadístico.

Los resultados obtenidos de la actividad AChE, del número de ovocitos liberados, del peso de los ovarios y del útero fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Múltiple (AMDEVA) seguida de la prueba de Duncan, Tukey o "t" de Student. La tasa ovulatoria fue analizada por la prueba de Probabilidad Exacta de Fisher, y la HOvulC y COH por la prueba de chi cuadrada.

En todos los casos se consideraron como estadísticamente significativas aquellas en las que la probabilidad fue igual o menor al 5 %.

RESULTADOS

Efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio vago sobre la actividad acetilcolinesterasa (AChE) en diferentes estructuras del cerebro de la rata macho adulta. (1)

La Tabla 1 muestra los resultados de la concentración de proteína y de ADN en las diferentes estructuras estudiadas. La operación falsa disminuyó la concentración de proteína en todas las estructuras, excepto en el cuerpo estriado, mientras que la sección bilateral del vago bloqueó el efecto provocado por el estrés quirúrgico.

La sección del NVI aumentó la concentración de proteína en el hipotálamo y el cuerpo estriado, en tanto que la sección del NVD la disminuyó en todas las estructuras (Tabla 1).

Por el contrario, la concentración de ADN en el hipotálamo y el bulbo aumentó en los animales sometidos a la operación falsa y a la sección del NVD, en tanto que no fue modificada por la sección bilateral o izquierda del nervio (Tabla 1).

Como puede observarse en la Tabla 2, la actividad enzimática expresada en función del peso del tejido no fue modificada por la sección uni o bilateral del nervio vago. En cambio, cuando se le expresa en función de la cantidad de proteína, el cuerpo estriado presentó la mayor actividad y el cerebelo la menor.

La operación falsa aumentó la actividad enzimática en el cerebelo y el bulbo, mientras que ésta disminuyó en todas las estructuras estudiadas por efectos de la sección bilateral o izquierda. Por el contrario, en los animales con sección del NVD la actividad enzimática se encontró elevada (Tabla 2).

Cuando la actividad AChE se expresó en función de la cantidad de ADN, el cerebelo mostró la mayor actividad y el cuerpo estriado la menor. Además, la sección del NVI disminuyó la actividad de la enzima en el cerebelo, mientras que la sección bilateral o unilateral (derecha o izquierda) la aumentaron en el cuerpo estriado (Tabla 2).

Variación circádica de la actividad AChE en el hipotálamo derecho e izquierdo durante el ciclo estral de la rata adulta. (II)

La actividad AChE, expresada en función de la concentración de proteína, fue mayor en el hipotálamo izquierdo que en el derecho, aunque esta diferencia no alcanzó la significación estadística seleccionada (193 ± 4.8 vs 181 ± 4.7 , $P=0.06$).

La concentración de proteína y la actividad de la enzima del hipotálamo varían a lo largo del día y del ciclo estral de la rata (Tabla 3). La mayor actividad enzimática (en nMol/min/mg tejido) se observó en el estro y el diestro 1, y la menor en el proestro. Estas diferencias no se observaron cuando la enzima se expresó en función de la cantidad de proteína, debido a que su concentración varía durante el ciclo estral en el mismo sentido que la enzima.

Cuando la actividad de la AChE se analizó en varias horas del día, la mayor actividad de la enzima se observó a las 21:00 y la menor a las 17:00 horas (Tabla 3). La concentración de proteína disminuyó a las 17:00 horas y permaneció alta en las otras horas estudiadas (Tabla 3).

La Figura 3 muestra las variaciones de la actividad AChE a lo largo del ciclo estral, expresada en función del peso o de la concentración de proteína en el hipotálamo. En el diestro 1 las variaciones de la actividad enzimática fueron menos evidentes que en los otros días del ciclo. En el estro y el diestro 2, la actividad de la enzima aumentó de las 09:00 a las 21:00 horas, mientras que en el proestro, disminuyó significativamente a las 17:00 horas, seguido por un aumento a las 21:00 horas.

La actividad enzimática en el hipotálamo derecho e izquierdo en cada día del ciclo estral y a las diferentes horas del día se presentan en la Tabla 4, mientras que las variaciones en las diferentes horas de cada día del ciclo estral en las Figuras 4 y 5.

Tanto en el hipotálamo del lado derecho como el izquierdo, la actividad de la enzima (en nMol/min/mg tejido) fue mayor en el estro y menor en el proestro. A lo largo del día, la menor actividad se observó 2 horas antes de iniciarse la fase oscura del ciclo (17:00 horas) y la mayor 2 horas después de la misma (21:00 horas).

Cuando la actividad de la enzima se expresó en función de la concentración de proteína, en el hipotálamo del lado derecho la menor actividad se observó a las 17:00 horas, mientras que en el lado izquierdo esto ocurrió a las 09:00 horas. En ambos lados la mayor actividad se observó a las 21:00 y a esta hora la actividad de AChE en el lado izquierdo fue mayor que en el derecho (Tabla 4).

Diferencias en la actividad enzimática (expresada en función del peso del hipotálamo) entre el lado derecho e izquierdo del hipotálamo fueron observadas también a las 13.00 del día 2 (Figura 4). Estas diferencias no se observaron cuando la actividad de la enzima se expresó en función del contenido de proteína (Figura 5).

Efecto de los implantes unilaterales de atropina en el hipotálamo anterior sobre la respuesta ovulatoria de la rata adulta. (III)

La Figura 6 muestra la localización esquemática de los implantes unilaterales de atropina en el hipotálamo anterior. Como se puede observar, la mayoría de los implantes (tanto del lado derecho como del lado izquierdo) se localizaron en el ANA.

TASA OVULATORIA

El implante de atropina en el día 1 provocó disminución de la tasa ovulatoria independientemente del lado del hipotálamo en el que se colocó. En estos animales, la presencia de estro vaginal fue más frecuente en los que la atropina se implantó al lado izquierdo del HA (Tabla 5).

En el estro, el implante de atropina del lado derecho del hipotálamo bloqueó la tasa ovulatoria, mientras que no la modificó cuando el implante fue en el lado izquierdo. La presencia de estro vaginal fue menor en los animales implantados del lado derecho que del lado izquierdo del HA (Tabla 5).

NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS

En el día 1, el implante de atropina del lado izquierdo del HA bloqueó la ovulación en 9 de los 10 animales tratados, mientras que en el grupo con implante al lado derecho del HA sólo dos animales ovularon. En estos animales, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue menor que en el grupo control, mientras que el ovario derecho liberó más ovocitos que el grupo control y el ovario izquierdo del mismo grupo. Cuando la atropina se implantó en el día del estro, sus efectos dependieron del lado del hipotálamo estudiado. El implante de atropina en el lado derecho del HA bloqueó la ovulación en todos los animales, mientras que el implante del lado izquierdo no modificó la ovulación (Tabla 5).

PESO DE LOS OVARIOS Y EL UTERO

El peso de los ovarios no fue modificado por los implantes de atropina, independientemente que los animales ovularan o no (Tabla 5). Tampoco se observaron modificaciones en el peso del útero.

Efectos de la lesión unilateral del hipotálamo anterior (HA), medio (HM) o posterior (HP) sobre la respuesta ovulatoria de la rata adulta. (IV)

Como se observa en la Figura 7, la lesión derecha o izquierda a nivel del HA abarcó el núcleo hipotalámico anterior, parte del NSCh y el hipotálamo lateral. En sentido antero-posterior, la lesión abarcó desde la coordenada 7470 $\mu\text{m A}$ hasta 6280 $\mu\text{m A}$ (Figura 7) y afectó el POAM, el AHA y el NSCh. En ningún caso la lesión afectó al NP_{AV}.

La Figura 8 muestra los núcleos afectados en las lesiones unilaterales del HM y la extensión de la lesión en un corte sagital, la cual abarcó generalmente de 4890 $\mu\text{m A}$ a 3750 $\mu\text{m A}$.

La representación esquemática de la extensión y los núcleos dañados en los animales con lesión unilateral del HP se muestran en la Figura 9. Esta lesión se extendió desde la coordenada 3290 $\mu\text{m A}$ hasta 2528 $\mu\text{m A}$. Como se puede observar la lesión dañó los cuerpos mamilares, así como dos de las vías de comunicación del hipotálamo con el tálamo (FMT y FMTB).

Dado que la operación falsa no modificó ninguno de los parámetros estudiados respecto al grupo testigo, sus resultados fueron reunidos como el grupo control.

CICLO ESTRAL

La lesión del lado derecho o izquierdo del HA provocó que menos animales recuperaran su ciclo estral (5/26 vs 22/24, $P < 0.05$), mientras que la lesión del lado derecho o izquierdo del HM (14/20) o del HP (12/12) no modificaron este parámetro.

TASA OVULATORIA

Sólo la mitad de los animales con lesión del HA ovularon, a pesar que fueron autopsiados en el día del estro vaginal y que la mayoría presentaron dos ciclos consecutivos de igual duración (HA derecho: 6/10, HA: izquierdo 8/16 vs 24/24, $P < 0.05$). La lesión unilateral del HM o HP no modificó la tasa ovulatoria respecto al grupo testigo.

NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS

En la Tabla 6 se muestra el número de ovocitos liberados por el ovario derecho, el izquierdo o ambos en los animales con lesión unilateral del hipotálamo. La lesión del HA provocó disminución del número de ovocitos liberados por ambos ovarios. Por el contrario, la lesión del HM indujo aumento del número de ovocitos que liberó el ovario derecho, sin que se modificaran los del ovario izquierdo. La lesión del HP no modificó el número de ovocitos liberados por los ovarios.

PESO DE LOS OVARIOS.

Las modificaciones al peso de los ovarios se presentan en la Tabla 7. La lesión del HA no modificó el peso de los ovarios. En cambio, la lesión del lado derecho del HM y del HP provocó aumento del peso de ambos ovarios. Este efecto fue significativo sólo en una de las gónadas y dependió del área hipotalámica lesionada. Cuando la lesión se hizo en el HM, sólo el ovario contralateral a la lesión (izquierdo) aumentó de peso, mientras que la lesión en el HP indujo aumento en el peso del ovario ipsilateral (derecho). La lesión del lado izquierdo del HM o HP no modificó el peso de los ovarios.

PESO DEL UTERO

El peso del útero no presentó variaciones respecto al testigo, en ninguno de los grupos con lesiones del hipotálamo.

Efectos de la lesión unilateral del hipotálamo anterior o medio sobre la respuesta ovulatoria de la rata hemicastrada. (V)

Al igual que en los animales enteros, la lesión del HA comprendió la región hipotalámica anterior y lateral, así como parte del NSCH (Figura 7). La lesión del HM abarcó el fornix, el NDM, el NVM, el NAR, y en algunos casos el hipotálamo lateral (Figura 8). La extensión antero-posterior de la lesión fue semejante a los animales enteros (Figuras 7 y 8).

CICLO ESTRAL

La extirpación del ovario derecho o el izquierdo no interrumpió el ciclo estral de los animales. En los animales con lesión del HA, la recuperación del ciclo estral fue significativamente menor en aquellos animales en los que ovario *in situ* fue

el contralateral a la lesión (ovarios: derecho 4/9; izquierdo 5/9 vs 10/10, $P < 0.05$). La ciclicidad no fue modificada en aquellos animales en los que el ovario remanente fue el ipsilateral respecto a la lesión (ovarios: derecho 7/9; izquierdo 5/7 vs 10/10). La lesión del HM no alteró el ciclo estral del animal hemicastrado.

TASA OVULATORIA

La lesión del lado izquierdo del HA disminuyó la tasa ovulatoria del animal hemicastrado (5/16 vs 18/20, $P < 0.05$), resultado que dependió del ovario remanente. Cuando el ovario in situ fue el ipsilateral a la lesión, ninguno de los animales ovuló (0/7 vs 9/10, $P < 0.05$); en cambio, cuando el ovario remanente fue el contralateral, el 56% de los animales tratados ovularon (5/9 vs 9/10). Tanto la lesión del lado derecho del HA como la lesión del HM no modificaron la tasa ovulatoria (HA derecho 14/18; HM derecho 12/15; HM izquierdo 12/13 vs 18/20).

HIPERTROFIA OVULATORIA COMPENSADORA (HOvulC).

En el momento de la hemicastración no se observaron diferencias en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho e izquierdo (5.4 ± 0.2 vs 5.6 ± 0.2). El grado de HOvulC que desarrolló cada ovario fue semejante (Figura 10).

La lesión del lado derecho del HA provocó disminución de la HOvulC en el animal cuyo ovario in situ fue el ipsilateral (derecho) y no modificó la del ovario contralateral (izquierdo). El efecto de la lesión del lado izquierdo del HA también dependió del ovario remanente. Cuando el ovario in situ fue el ipsilateral a la lesión (izquierdo), ningún animal ovuló el día del estro vaginal, mientras que cuando el ovario in situ fue el contralateral (derecho), la HOvulC fue semejante al grupo testigo. La lesión del lado derecho o izquierdo del HM disminuyó la HOvulC de ambos ovarios (Figura 10 y Tabla 8).

HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO (COH).

En el momento de la hemicastración, el peso del ovario derecho extirpado fue mayor que el del izquierdo (16.3 ± 0.4 vs 14.9 ± 0.4 , $P < 0.05$). En el momento de la autopsia, la COH del ovario derecho fue significativamente mayor que la del izquierdo (Figura 10). La lesión del lado derecho del HA y del HM aumentaron la COH del ovario contralateral y disminuyeron la del ipsilateral (Figura 10).

La HOvulC y la COH no siempre fueron afectadas en el mismo sentido por la lesión unilateral del HA o del HM, además la respuesta observada dependió del ovario in situ (Tabla 8).

PESO DEL UTERO

El peso del útero en los animales hemicastrados no fue modificado por la lesión unilateral del HA o del HM.

DISCUSION

Los resultados del presente estudio apoyan la hipótesis de la existencia de lateralización central y periférica, en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del ovario. Nuestros resultados indican que la acción estimulante del sistema colinérgico del hipotálamo sobre la liberación de las gonadotropinas depende del día del ciclo estudiado y del lado del hipotálamo que se considere.

Los resultados de la lesión unilateral del HA en el animal entero (disminución del número de ovocitos liberados y alteración del ciclo estral) son semejantes a los observados en animales con deafferentación bilateral del POA y el AHA (40, 42). Esto nos permite sugerir que ambos lados del hipotálamo son capaces de mantener la ovulación (aunque con disminución del número de ovocitos liberados) pero no el ciclo estral.

La lesión bilateral completa o parcial del POAM provoca diestro prolongado (pseudopreñez) pero no bloquea la ovulación (18). Sin embargo, si la lesión abarca el AHA el animal presenta estro vaginal persistente y no ovula (5, 18). En nuestro caso, la mayoría de los animales mostraron periodos alternados de diestro y estro persistente, seguidos por ciclos irregulares. Los pocos animales que recuperaron el ciclo estral, presentaron un periodo de diestro prolongado antes de recuperarlo. Estos resultados pueden ser explicados por el hecho que la lesión unilateral abarcó tanto el POA como el AHA.

En el animal entero, la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, al lesionar uno de los lados del HM, fue compensada por el ovario derecho. En ambos casos, la lesión del HM derecho o izquierdo, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo disminuyó. Resultados obtenidos con otros modelos experimentales muestran que la capacidad de respuesta ovulatoria por el ovario izquierdo frente a modificaciones de su inervación es menor que la del derecho (22). En el animal hemicastrado, la capacidad ovulatoria del ovario derecho es mayor que la del izquierdo y depende de la integridad de los nervios vago (16). Con base en lo anterior, es posible pensar que la respuesta asimétrica de los ovarios a la lesión unilateral del HM, está relacionada con alguna alteración en la información nerviosa que llega al ovario, la cual también presentaría lateralización.

La lesión del HA provocó disminución en el número de ovocitos liberados sin que se modificara el peso de los ovarios, mientras que en los animales con lesión del HM o del HP, el número de ovocitos liberados fue normal, pese al aumento del peso de los ovarios. Lo anterior sugiere que la regulación de ambos procesos (ovulación y mantenimiento del peso del órgano) presenta diferencias, las cuales no parecen depender de la secreción de las gonadotropinas. Esta suposición es apoyada por el hecho que la lesión bilateral del HA provoca ovario poliquístico y estró vaginal persistente, mientras que la del HM provoca diestro continuo y disminución del peso de la gónada (5). Con base a lo anterior, la información neural que proviene del HM o del HP estaría relacionada con la regulación del crecimiento y la diferenciación de los diferentes compartimentos del ovario (folicular, luteal e intersticial), más que con el proceso ovulatorio.

Los resultados obtenidos en el animal hemicastrado sugieren que existe una conexión neural ipsilateral entre el HA y el ovario, dado que la lesión de un lado del HA modificó la HDvulC del ovario ipsilateral y no la del contralateral. Estos resultados nos permite sugerir que la HDvulC es regulada en forma asimétrica por el lado derecho o izquierdo del HA y que depende del ovario *in situ* (lateralización central y periférica).

Los resultados obtenidos sobre la modificación de la COH provocada por la lesión unilateral del HA son parcialmente semejantes a los reportados por otros autores (28). En el presente estudio, la disminución de la COH ocurrió solamente en el ovario ipsilateral a la lesión del HA derecho y no se alteró cuando la lesión se realizó en el HA izquierdo. En cambio, el ovario izquierdo siempre mostró aumento de la COH independientemente del lado y del área hipotalámica lesionada. Las diferencias observadas en estos resultados quizá dependan del día del ciclo estral en que se realizó la lesión, la extensión de la misma, el tiempo transcurrido entre la lesión y la autopsia y el día del ciclo en que se sacrificó al animal.

Previamente hemos mostrado que la tasa ovulatoria del animal hemicastrado es menor cuando el ovario *in situ* es el izquierdo (16). Sin embargo, nuestros resultados muestran que la "eficiencia funcional" (número de ovocitos liberados en función del peso del órgano) del ovario izquierdo es mayor que la del derecho, ya que los animales cuyo ovario *in situ* fue el izquierdo desarrollaron una HDvulC semejante a la del ovario derecho, sin que se acompañara de COH. Esta capacidad funcional del ovario izquierdo depende de la integridad del lado ipsilateral del HA, ya que los animales con lesión del HA izquierdo no fueron capaces de ovular a pesar del aumento en su COH. Por el contrario, el ovario derecho parece ser menos dependiente de la información que proviene del HA ipsilateral, ya que la ovulación se presentó en todos los casos a pesar de la disminución de la COH.

La CDH del ovario derecho parece depender de la integridad de ambos lados del HM, ya que la lesión unilateral de esta región del hipotálamo disminuyó su grado de CDH. La "eficiencia funcional" del ovario izquierdo también depende de la integridad de ambos lados del HM, ya que la lesión de alguno de sus lados indujo aumento de la CDH y disminución de la HOvulC.

Nuestros resultados confirman lo observado previamente de que la respuesta ovulatoria del animal hemicastrado es diferente a la del entero, por lo que debe considerarse que el animal hemicastrado es una entidad neuroendócrina diferente al animal entero y no sólo un animal sin un ovario.

En el hipotálamo de la rata hembra, la actividad AChE presentó un patrón circádico diferente al observado en la rata macho (51), ya que en la hembra, la mayor actividad AChE se observó 2 horas después de iniciada la fase oscura del ciclo luz/oscuridad, mientras que en el macho esta ocurrió durante la fase de luz (51, 63).

Además de la actividad de la AChE, la concentración de la proteína también mostró variaciones a lo largo del ciclo estral. Este hecho explica por que la actividad AChE del hipotálamo en función de la concentración de proteína no mostró variaciones a lo largo del ciclo estral, aunque si las mostrara en función del peso del mismo.

Si se considera a la actividad AChE como un índice indirecto del contenido de la acetilcolina en la estructura estudiada (50), nuestros resultados dan una base a las diferencias en la capacidad de la atropina para bloquear la ovulación a lo largo del ciclo estral, ya que la actividad AChE del hipotálamo a las 21:00 horas fue significativamente mayor que a las 13:00 y la capacidad bloqueadora de la atropina fue inversa (23). El hecho de que esta relación no se halla observado a las 09:00 ó 17:00 horas podría estar relacionado con la participación de otros sistemas de neurotransmisores del SNC que regulan la ovulación (6, 7, 25, 70, 76).

Nuestros resultados muestran claramente que los efectos agudos que produce el estrés quirúrgico sobre la actividad AChE de diferentes estructuras del SNC de la rata macho, dependen de la integridad del nervio vago. Se ha mostrado que el estrés producido por la anestesia con éter disminuye la actividad AChE en el hipotálamo de la rata macho, pero no la modifica en el cerebelo (51). El aumento en la actividad AChE observado en el grupo con operación falsa, podría estar vinculado con la manipulación del estómago al que fue sometido este grupo de animales.

Los efectos de la sección del NVD y del NVI sobre la actividad AChE presentaron una respuesta lateralizada. Mientras que el NVD jugaría un papel inhibitor de la actividad AChE en el hipo-

tálamo, el cerebelo, el cuerpo estriado y el bulbo, el NVI ejercería un papel estimulante, excepto sobre el cerebelo.

En el hipotálamo de la rata hembra, la actividad AChE mostró diferencias entre el lado derecho y el izquierdo, además de las ya señaladas en función del ciclo estral. Estas diferencias fueron significativas a las 21:00 horas (sin considerar el día del ciclo estral) y a las 13:00 horas del diestro 2. La significación funcional de esta asimetría es cuestionable. Sin embargo, los resultados obtenidos con los implantes de atropina en el HA donde los efectos sobre la ovulación dependieron del día del ciclo estral y del lado del hipotálamo implantado, sugieren que la participación del sistema colinérgico del hipotálamo sobre la regulación de la función del ovario presenta lateralización.

Así mismo, nuestros resultados apoyan la idea de que el sistema colinérgico del hipotálamo tiene un papel estimulante sobre la liberación de las gonadotropinas (10, 21, 23, 25, 26, 42, 48, 53, 56, 57, 72, 78), la cual depende del día del ciclo estral y quizás también del lado del hipotálamo estudiado.

Según diversos autores, la liberación de la LHRH es inducida por la estimulación de receptores muscarínicos en las células que sintetizan a dicho polipéptido, mientras que en la adenohipófisis existen receptores nicotínicos cuya estimulación bloquea la liberación de la LH (24, 27, 55, 57, 74, 78). Con base a nuestros resultados, sería posible suponer que al menos durante el estro, la "disponibilidad" o el número de receptores colinérgicos en uno y otro lado del hipotálamo es diferente. Esta idea estaría apoyada por el hecho que en la hipófisis y el hipotálamo de la rata, el número de receptores muscarínicos varía a lo largo del ciclo estral y que la castración provoca aumento del número de sitios de enlace en el MBH, la POA y la adenohipófisis (1, 2, 6, 24, 55, 75). Así mismo, se ha mostrado que la administración de estrógenos y progesterona a la rata adulta disminuyen la actividad colinérgica en el NPeV y la aumenta en el NBop (57). Para corroborar o denegar esta suposición será necesario realizar otro tipo de estudios.

En síntesis, los resultados de este estudio señalan que para estudiar los mecanismos neuroendócrinos que participan en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, es necesario considerar el lado del hipotálamo, la hora y el día del ciclo, así como el ovario derecho o izquierdo del animal en cuestión.

CONCLUSIONES

Los mecanismos neuroendócrinos centrales y periféricos que regulan la función del ovario presentan cierto grado de lateralización.

En el animal entero, ambos lados del HA son capaces de mantener la ovulación pero no el ciclo estral. La información que proviene de ambos lados del HM regula de manera diferente la ovulación del ovario derecho e izquierdo, sin modificar el ciclo estral.

La falta de información que proviene de uno de los lados del HA disminuye la HOvulC del ovario ipsilateral y no modifica al ovario contralateral, lo que sugiere que la conexión neural entre el hipotálamo anterior y el ovario es ipsilateral.

La lesión unilateral de alguna área del hipotálamo siempre estimula la COH del ovario izquierdo e inhibe la del ovario derecho. La COH del ovario derecho depende de la integridad de ambos lados del hipotálamo medio.

En el animal hemicastrado, la HOvulC y la COH no son eventos paralelos, por lo que la "eficiencia funcional" de cada ovario es diferente y en el ovario izquierdo, ésta depende de la integridad del lado ipsilateral del hipotálamo anterior.

Los efectos de la lesión unilateral del hipotálamo anterior, medio o posterior son diferentes entre el animal entero y el hemicastrado, por lo que es necesario considerar que un animal hemicastrado no sólo es un animal sin un ovario.

El sistema colinérgico del hipotálamo participa de manera asimétrica en la regulación de la función del ovario. Esta participación es diferente a lo largo del ciclo estral.

La actividad AChE del hipotálamo de la rata hembra muestra un ritmo circádico, donde la mayor actividad enzimática ocurre durante la fase oscura del ciclo de luz/oscuridad en el que se mantienen a los animales.

La actividad AChE del hipotálamo es diferente durante el ciclo estral. La mayor actividad enzimática se presenta en el día del estro y la menor en el proestro.

La actividad AChE del lado derecho e izquierdo del hipotálamo presenta diferencias que dependen de la hora y del día del ciclo estral estudiados.

En la rata macho adulta, las modificaciones inducidas por la sección vagal en la actividad AChE del hipotálamo, el cerebelo, los cuerpos estriados y el bulbo dependen del nervio vago seccionado. Al parecer, la información que transcurre por el vago derecho estimula la actividad enzimática en las cuatro estructuras, mientras que la del vago izquierdo la inhibe.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- AVISSAR, B., EGOZI, Y. & SOKOLOUSKY, M. (1981). Studies on muscarinic receptors in mouse and rat hypothalamus: a comparison of sex and cyclical differences. *Neuroendocrinology* 32: 295
- 2.- AVISSAR, B., EGOZI, Y. & SOKOLOUSKY, M. (1981). Biochemical characterization and sex dimorphism of muscarinic receptors in rat adenohypophysis. *Neuroendocrinology* 32: 303
- 3.- BAHR, J.M. & BEN-JONATHAN, N. (1981). Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Endocrinology* 108: 1815
- 4.- BAKALKIN, G.Y., TBIBEZOV, V.V., SJUTKIN, E.A., VEVELOVA, S.P., NOVILOV, I.D. & KRIVOBHEEV, O.G. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res.* 296: 361
- 5.- BARRACLOUGH, C.A. (1973). Sex steroid regulation in reproductive neuroendocrine processes. En: *Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology. Vol. II. Ed. Greep R. O. & Astwood, E. Washington D. C.: American Physiology Society. p. 29*
- 6.- BARRACLOUGH, C.A. (1983). The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphologica Hungarica* 31: 101
- 7.- BARRACLOUGH, C.A. & WISE, P.M. (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrine Rev.* 3: 91
- 8.- BARRY, J. (1979). Immunohistochemistry of luteinizing hormone releasing hormone producing neurones of the vertebrate. *Int. Rev. Cytol.* 60: 179
- 9.- BENEDETTI, W.L., BALA, M.A. & OTEGUI, J.T. (1976). Persistent estrus in rats after anterolateral hypothalamic microinjections of 6-hydroxyopamine. *Neuroendocrinology* 21: 297
- 10.- BLAKE, C.A. (1974). Parallelism and divergence in luteinizing hormone and follicle stimulating hormone release in nicotine-treated rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 145: 716
- 11.- BRADFORD, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248
- 12.- BURDEN, H.W. & LAWRENCE, I.E. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23: 368
- 13.- BURTON, K. (1956). A study of the conditions and mechanisms of the dophenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Bioch.* 62: 315

- 14.- CAMP, D.M., ROBINSON, T.E. & BECKER, J.B. (1984). Sex differences in the effects of early experience on the development of behavioral and brain asymmetries in rats. *Physiology & Behavior* 33: 433
- 15.- CHAPPEL, B.C., ULLOA-AGUIRRE, A. & COUTIFARIS, C. (1983). Biosynthesis and secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocrine Rev.* 4: 179
- 16.- CHAVEZ, R., CRUZ, M.E. & DOMINGUEZ, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi- and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *J. Endocr.* 113: 397
- 17.- CHAVEZ, R., CRUZ, M.E. & DOMINGUEZ, R. (1987). Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats. *Rev. Invest. Clin.* 39: 149
- 18.- CLEMENS, J.A., SMALBTIG, E.B. & SAWYER, B.D. (1976). Studies on the role of the preoptic area in the control of reproductive function in the rat. *Endocrinology* 99: 728
- 19.- CRUZ, M.E., CHAVEZ, R. & DOMINGUEZ, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev. Invest. Clin.* 38: 167
- 20.- DIAMOND, M.C., DOWLING, G.A. & JHONSON, R.E. (1981). Morphologic cerebral asymmetry in male and female rats. *Exp. Neurol.* 71: 261
- 21.- DOMINGUEZ, R., CHAVEZ, R. y CRUZ, M.E. Regulación del crecimiento y el desarrollo folicular. (en prensa)
- 22.- DOMINGUEZ, R., CRUZ, M.E. & CHAVEZ, R. (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. *Barroco Symposia, U.S.A.*
- 23.- DOMINGUEZ, R., RIBONI, L., ZIPITRIA, D. & REVILLA, R. (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat?. *J. Endocr.* 95: 175
- 24.- EGOZY, Y., AVISSAR, S. & SOKOLOUSKY, M. (1982). Muscarinic mechanisms and sex hormone secretion in rat adenohypophysis and preoptic area. *Neuroendocrinology* 35: 93
- 25.- EVERETT, J.W., SAWYER, C.H. & MARKEE, J.E. (1949). A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cycle rat. *Endocrinology* 44: 234
- 26.- FIORINDO, R.P. & MARTINI, L. (1975). Evidence for a cholinergic component in the neuroendocrine control of luteinizing hormone (LH) secretion. *Neuroendocrinology* 18: 322

- 27.- FLERKO, B. (1970). Control of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone secretion. *En: The Hypothalamus*. Ed: Martini, L.; Motta, M. & Fraschini, F. Academic Press, New York, p. 351
- 28.- FUKUDA, M., YAMANDUCHI, K., NAKANO, Y., FUKUYA, H. & ARAI, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic functions: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Let.* 51: 365
- 29.- GALABURDA, A.M., LEMAY, M., KEMPER, T.L. & GESCHWIND, N. (1978). Right-left asymmetries in the brain. *Science* 199: 852
- 30.- GERANDAI, I. (1980). Unilateral complete isolation of the medial basal hypothalamus interferes with the compensatory ovarian growth following unilateral ovariectomy. *Neuroendocrin. Let.* 2: 39
- 31.- GERANDAI, I. & HALASZ, B. (1976). Hemigonadectomy-induced unilateral changes in the protein-synthesizing activity of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology* 21: 331
- 32.- GERANDAI, I. & HALASZ, B. (1978). Neural participation in ovarian control. *T.I.N.S.* 1: 87
- 33.- GERANDAI, I., ROTSYTEIN, M., MARCHETTI, B. & SCAPAGNINI, V. (1979). LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Proceeding of Borzno Symposia, Vol 19, edited by A. Polleri & R. MacLeod. New York. Academic Press, p.97
- 34.- GLICK, S.D., ROSS, D.A. & HOUGH, L.B. (1982). Lateral asymmetry of neurotransmitters in human brain. *Brain Res.* 234: 53
- 35.- GLOWINSKY, J. & IVERSEN, L.L. (1966). Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of [³H] norepinephrine, [³H]dopamine and [³H]dopa in various regions of the brain. *J. Neurochem.* 13: 655
- 36.- HANSEN, S., PERRY, T.C. & WADA, J.A. (1972). Amino acid analysis of speech areas in human brain, absence of left-right asymmetry. *Brain Res.* 45: 318
- 37.- HUNG, C.R., HONG, J.S. & BONDY, B. C. (1982). Lack of asymmetrical distribution of receptor binding sites and of neurally active peptides within rat brain. *Neuroscience* 7: 2295
- 38.- JACOBOWITZ, D.M. & PALKOVITS, M. (1974). Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase-containing neurons in the brain. I. Forebrain (Telencephalon, Diencephalon). *J. Comp. Neur.* 157: 13

- 39.- JORDAN,A.W. (1981). Changes in ovarian beta-adrenergic receptors during the estrous cycle of the rat. *Biol. Reprod.* 24:245
- 40.- KALRA,S.P. (1974). Role of estrogen in the restoration of LH release following stimulation of partially deafferentated hypothalamus in rat. *Brain Res.* 68: 297
- 41.- KALRA, S. P. & McCANN, B. M. (1975).The stimulatory effect on gonadotropin release of implants of estradiol or progesterone in certain sites in the central nervous system. *Neuroendocrinology* 19: 289
- 42.- KAWAKAMI,M., ARITA,J., KIMURA,F. & HAYASHI,R. (1979). The stimulatory roles of catecholamines and acetylcholine in the regulation of gonadotropin release on ovariectomized estrogen-primed rats. *Endocrinol. Jap.* 26: 275
- 43.- KONING,J.F.R. & KLIPPEL,R.A. (1963). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p. 162
- 44.- KUPFERMANN, I. (1985). Hypothalamus, limbic system and cerebral cortex: Homeostasis and arousal. *En: Principles of neural science*. Sec. VIII, Cap. 46. Ed. Kandel, E. R. & Schwartz, J. H. Second Edition. Elsevier. New York. p. 609
- 45.- LAMPERTI,A.A. (1985). FBH-and LH-releasing activity in the hypothalamus of female hamsters during proestrus and estrus: Effects of arcuate nucleus lesions. *Neuroendocrinology* 41: 374
- 46.- LAWRENCE,I.E., BURDEN,H.W. & LOUIS,T.M. (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. *J. Reprod. Fert.* 53: 131
- 47.- LIMPKIN,M.D. & McCANN,B.M. (1984). Effect of destruction of the dorsal anterior hypothalamus on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 115: 2473
- 48.- McCANN,B.M., DJEDA,B.M., VIJAYAN,E. & MOBS,R.L. (1978). LH-releasing hormone (LHRH), its localization, mechanism of release and action in the anterior pituitary and CNS. *En: Clinical Psychoneuroendocrinology in Reproduction*. Ed. Carrenza, L., Pancheri, P & Zichella, L. Academic Press, New York, pp. 57
- 49.- McGLONE,J. (1980). Sex differences in human brain asymmetry: a critical survey. *Behav. Brain Sci.* 3: 215
- 50.- MALETTA,B.J. & TIMIRAS,P.S. (1966). Acetyl and butyrylcholinesterase activity of selected brain areas in developing rats after neonatal X-irradiation. *J. Neurochem.* 13: 75

- 51.- MARTINEZ,R., ZIPITRIA,D. & DOMINGUEZ,R. (1988) Changes in the circadian acetylcholinesterase activity in hypothalamus and cerebellum induced by castration or hemicastration in the adult male rat. *J. Interdiscipl. Cycle Res.* (enviado a publicacion).
- 52.- MIZUNUMA,H., De PALATIS,L.R. & McCann,M. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentrations: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37: 291.
- 53.- MONTI,J.M., BALA,M.A., DIEGUI,J.J., BENEDETTI,W.L. & BRINDO,E. (1970). Inhibition of ovarian hypertrophy by implants of atropine in the hypothalamus. *Experientia* 15: 1263
- 54.- MORA,F., PEINADO,J.M. & MYERS,R.D. (1984). Symmetrical distribution of amino acid neurotransmitters in the right and left cerebral cortex of the rat. *Neurochem.Res.* 9: 1109
- 55.- MUKHERJEE,A., SNYDER,G. & McCann,B.M. (1980). Characterization of muscarinic cholinergic receptors on intact rat anterior pituitary cells. *Life Sci.* 27: 475
- 56.- MULLER,E.E., NISTICO,G. & SCAPAGNINI,U. (1977). Neurotransmitters and anterior pituitary function. Academic Press, New York, pp. 435
- 57.- MUTH,E.A., CROWLEY,W.R. & JACOBOWITZ,D.M. (1980). Effect of gonadal hormones on luteinizing hormone in plasma and on choline acetyltransferase activity and acetylcholine levels in discrete nuclei of the rat brain. *Neuroendocrinology* 30: 329
- 58.- NAIK,D.V. (1976). Immunohistochemical localization of LH-RH during different phases of estrous cycle of rat, with reference to the preoptic and arcuate neurons, and the ependymal cells. *Cell. Tiss. Res.* 173: 143
- 59.- NANCE,D.M. & MOGER,W.H. (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Res.* 8: 299
- 60.- NANCE,D.M., WHITE,J.P. & MOGER,W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Res. Bull* 10: 353
- 61.- OKE,A., LEWIS,R. & ADAMS,R.M. (1980). Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in rat thalamus. *Brain Res.* 188 269
- 62.- DJEDA,J.R., SMITH-WHITE,S., AGUADO,L.I., ADVIS,J.P. & ANDERSEN,J.M. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36: 261

- 63.- OMABAYO, J.O., OKONMAH, A.D., BOLIMAN, K.F.A. & WALKER, C.A. (1980). Circadian variation in the acetylcholinesterase activity of specific rat brain areas. *J. Interdiscipl. Cycle Res.* 11: 251
- 64.- PALKOVITS, M. (1973). Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat. *Brain Res.* 59: 449
- 65.- PALKOVITS, M., ARIMURA, A., BROWNSTEIN, M., SCHALLY, A.V. & SAAVEDRA, J.M. (1974). Luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) content of the hypothalamus nuclei in rat. *Endocrinology* 95: 554
- 66.- PALKOVITS, M., BROWNSTEIN, M., SAAVEDRA, J.M. & AXELROD, J. (1974). Norepinephrine and dopamine content of hypothalamic nuclei of the rat. *Brain Res.* 77: 137
- 67.- PALKOVITS, M., FEKETE, M., MAKARA, G.B. & HERMAN, J.P. (1977). Total and partial hypothalamic deafferentations for topographical identification of catecholaminergic innervation of certain preoptic and hypothalamic nuclei. *Brain Res.* 127: 127
- 68.- PALKOVITS, M., SAAVEDRA, J.M., JACOBOWITZ, D.M., KIZER, J.S., ZABORSZKY, L. & BROWNSTEIN, J.M. (1977). Serotonergic innervation of the forebrain: Effects of lesions on serotonin and tryptophan hydroxylase levels. *Brain Res.* 130: 121
- 69.- PORTER, J.C., NANSEL, D.D., GUELSKY, G.A., FOREMAN, M.M., PILOTTE, N. G., PARKER, C. R. Jr., BURROWS, G. H., BATES, G. W. & MADDEN, J.D. (1980). Neuroendocrine control of gonadotropin secretion. *Fed. Proc.* 39 2896
- 70.- RAMIREZ, V.D., FEDER, H.M. & BAWYER, C.H. (1984). The role of brain catecholamines in the regulation of LH secretion: A critical inquiry. In: *Frontiers in Neuroendocrinology*, Vol. 8, Chapter 2, edited by Martini, L. & Ganong, W. F. Raven Press, New York, pp. 27
- 71.- RODRIGUEZ-SIERRA, J.F. & PALKOVITS, M. (1985). Evidence that cell bodies in the arcuate nucleus of the hypothalamus are not cholinergic. *Neuroendocrinology* 4: 427
- 72.- RUIZ de BALARRETA, C.M., FANJUL, L.F. & MEITES, J. (1981). Influence of cholinergic and anticholinergic drugs on plasma luteinizing hormone and prolactin levels in male and female rats. *P.S.E.B.M.* 168: 185
- 73.- RUIZ de BALARRETA, C.M., FANJUL, L.F., HANSON, E. & MEITES, J. (1981). Effects of cholinergic and anti-cholinergic drugs on restraint-induced prolactin release. *IRCS Med. Sci.* 9: 1152
- 74.- SAAVEDRA, J.M., PALKOVITS, M., BROWNSTEIN, M. J. & AXELROD, J. (1974). Serotonin distribution in the nuclei of the rat hypothalamus and preoptic region. *Brain Res.* 77: 157

- 75.- SCHAEFEER, J.M. & HSVEH, A.J.W. (1980). Acetylcholine receptors in the rat anterior pituitary gland. *Endocrinology* 106: 1377
- 76.- SAWYER, C.H. & CLIFFTON, D.K. (1980). Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed. Proc.* 39: 2889
- 77.- SCHWARTZ, R.D., MCGREE, R. & KELAR, K. (1982). Nicotinic cholinergic receptors labeled by [³H]-acetylcholine in rat brain. *Molec. Pharmacol.* 22: 56
- 78.- SIMONOVIC, I., MOTTA, M. & MARTINI, L. (1974). Acetylcholine and the release of the follicle-stimulating hormone-releasing factor. *Endocrinology* 95: 1373
- 79.- TABAKA, K., MIYAKE, A., SAKUMOTO, T. & AONO, T. (1985). Dopamine decreases release of luteinizing hormone releasing hormone from superfused rat mediobasal hypothalamus. *J. Endocrinol. Invest.* 8: 373
- 80.- UEMURA, H. & KOBAYASHI, H. (1971). Effects of dopamine implanted in the median eminence on the estrous cycle of the rat. *Endocrinol. Jap.* 18: 91
- 81.- UNGERSTEDT, W. (1971). Stereotaxic mapping of monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 1
- 82.- WALKER, S.F. (1980). Lateralization of functions in the vertebrate brain: a review. *Br. J. Physiol.* 71: 329
- 83.- WRUTNIAK-ZOLNOWSKA, T. (1980). Changes of the secretory activity of ovarian chromaffin cells during the sex cycle of female white rats. *Endokrinologie* 76: 279
- 84.- YAMASHITA, H., KANNAN, H., INENAGA, K. & KOIZUMI, K. (1983). Electrophysiological and immunocytochemical studies of neurons in the supraoptic and paraventricular nuclei of the hypothalamus. *Blood. Res.* 4: 217

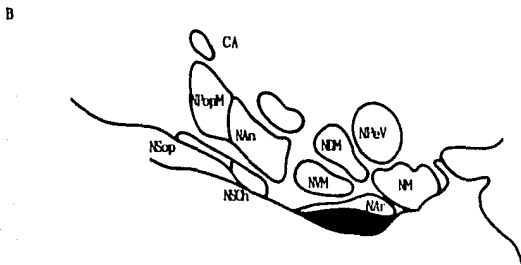
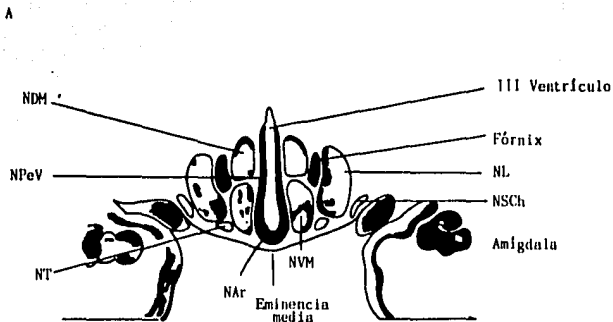


Figura 1.- VISTA HORIZONTAL (PANEL A) Y SAGITAL (PANEL B) QUE MUESTRA LA ANATOMIA Y DISTRIBUCION DE LOS NUCLEOS DEL HIPOTALAMO. (tomado de Kupfermann, 1985 y Koning y Klippel, 1963).

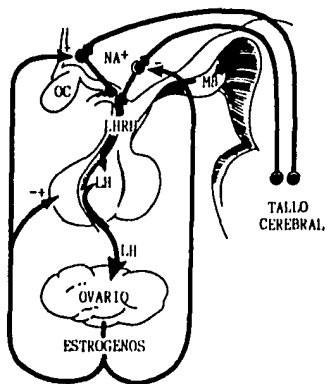
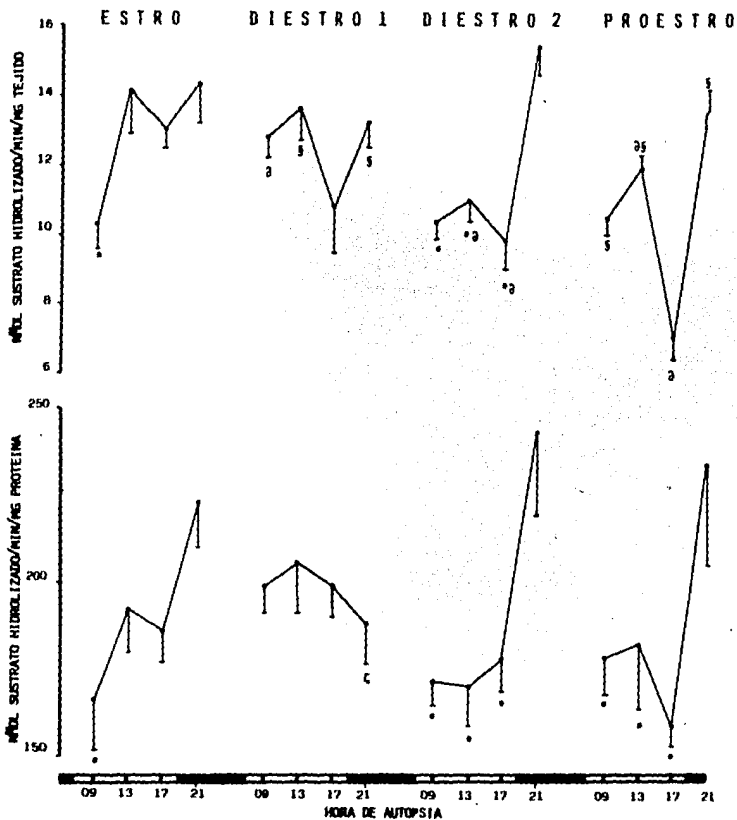


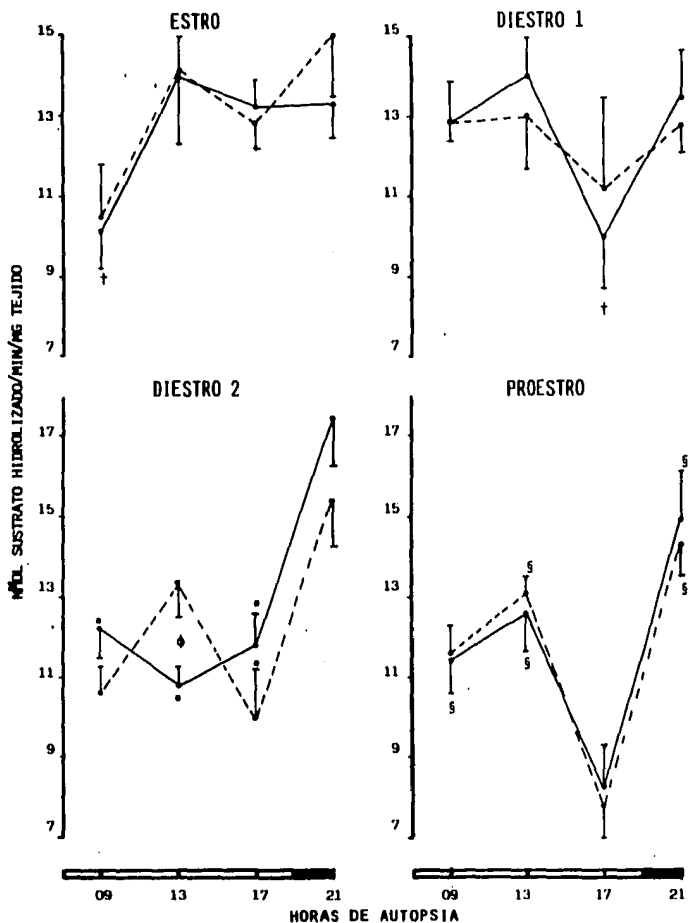
Figura 2.- DIAGRAMA DE LOS SITIOS DE ACCION ESTIMULANTE (+) E INHIBITÓ-
RIO (-) DE LOS ESTROGENOS SOBRE LA LIBERACION DE LH Y DE LAS SINAPSIS
NORADRENERGICAS (NA) QUE PARTICIPAN EN ESTE MECANISMO. OP, quiasma óptico;
MB, cuerpos mamilares (Tomado de McCunn y col, 1978).

FIGURA 3.- MEDIA \pm E.E.M. DE LA ACTIVIDAD ACETILCOLINESTERASA EN EL HIPOTALAMO DE LA RATA EN LOS DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL..



a P < 0.05 vs 21 horas del mismo día; b P < 0.05 vs estró a la misma hora; c P < 0.05 vs 17 horas del mismo día; s P < 0.05 vs diestro 2 a la misma hora

FIGURA 4.- MEDIA \pm E.E.M. DE LA ACTIVIDAD ACETILCOLINESTERASA EN EL HIPOTALAMO DERECHO (----) E IZQUIERDO (—) DE LA RATA EN LOS DIFERENTES DÍAS DEL CICLO ESTRAL.



† P < 0.05 vs 13 horas del mismo día; * P < 0.05 vs 21 horas del mismo día; ‡ P < 0.05 vs 17 horas del mismo día; § P < 0.05 vs hipotálamo izquierdo.

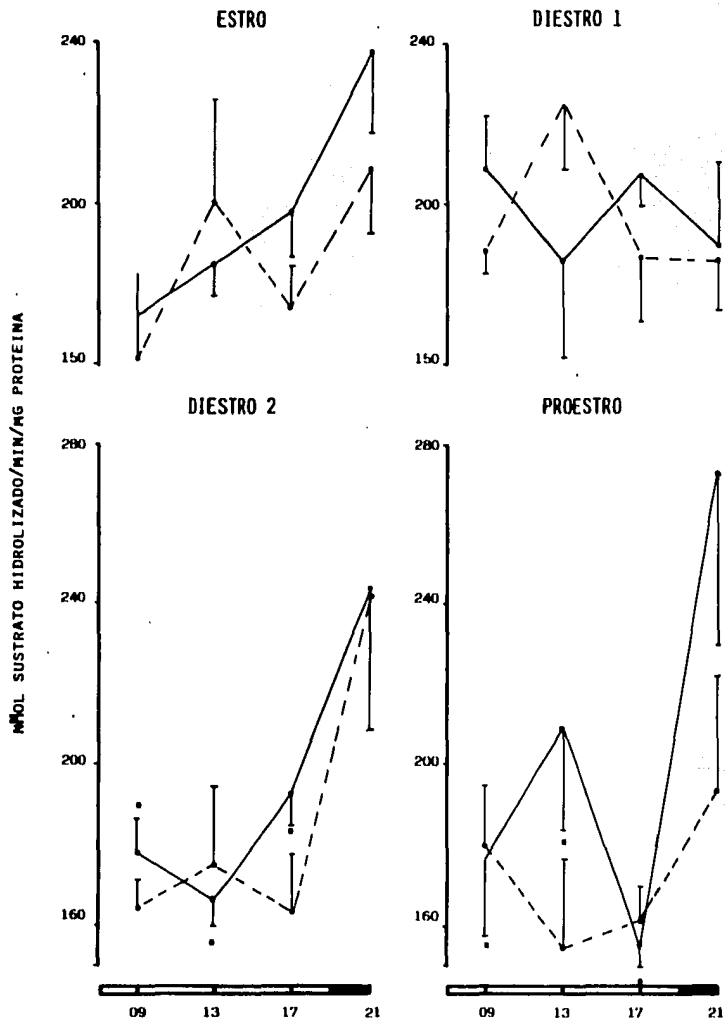
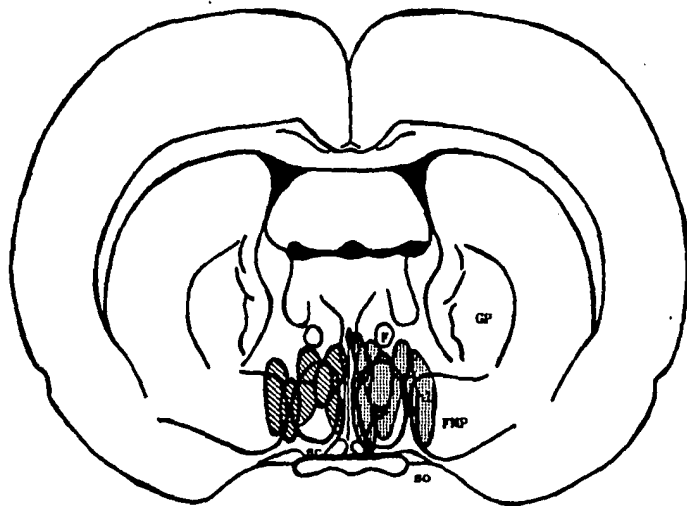


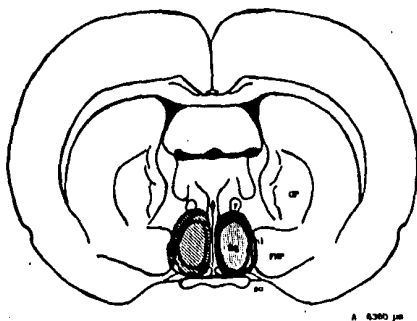
FIGURA 5.- MEDIA \pm E.E.M. DE LA ACTIVIDAD ACETILCOLINESTERASA EN EL HIPOTALAMO DERECHO (---) E IZQUIERDO (—) DE LA RATA EN LOS DIFERENTES DIAS DEL CICLO ESTRAL. * $P < 0.05$ vs 21 h del mismo día



A 6360 μ m

Figura 6.- Representación esquemática de la localización de ocho implantes de atropina en el lado derecho o izquierdo del hipotálamo anterior. El área sombreada muestra la zona del implante. ha, núcleo hipotalámico anterior; sc, núcleo supraquiasmático; so, núcleo supraóptico; hl, núcleo hipotalámico lateral; FMP, fascículo medial prosencefálico; F, fórnix; GP, globo pálido

A



B

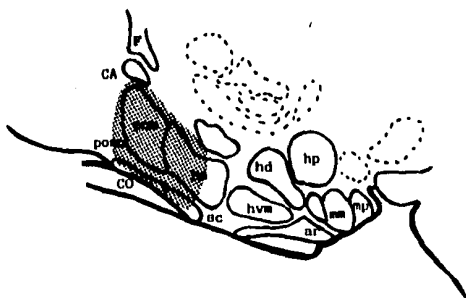
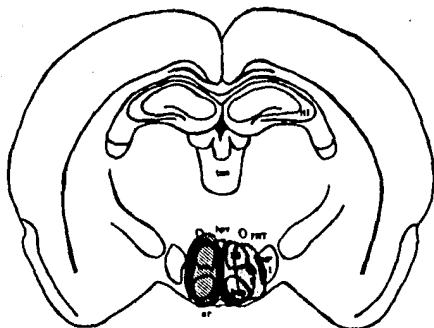


Figura 7.- Representación esquemática de la zona (panel A) y la extensión (panel B) de la lesión del lado derecho o izquierdo del hipotálamo anterior. El área sombreada muestra la zona lesionada. ha, núcleo hipotalámico anterior; sc, núcleo supraquiasmático; so, núcleo supraóptico; hl, núcleo hipotalámico lateral; FMP, fascículo medial prosencefálico; F, fórnix; GP, GLOBO PÁLIDO: CA, comisura anterior; CO, quiasma óptico; hd, núcleo dorsomedial; hp, núcleo posterior; hvm, núcleo ventromedial; ar, núcleo arcuato; mm, núcleo mamilar medial; mp, núcleo mamilar posterior.

A



A 43023m

B

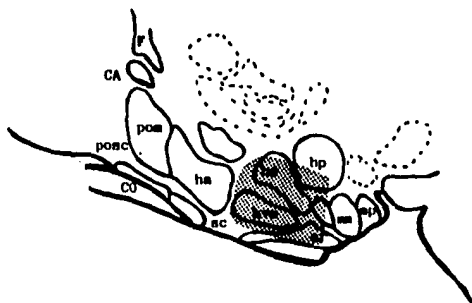
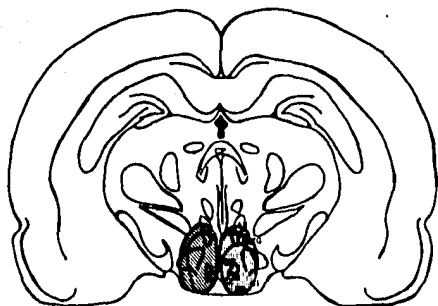


Figura 8.- Representación esquemática de la zona (panel A) y la extensión (panel B) de la lesión del lado derecho o izquierdo del hipotálamo medio. El área sombreada muestra la zona lesionada. ar, núcleo arcuato; hpv, núcleo ventromedial; hd, núcleo dorsomedial; hl, núcleo hipotalámico lateral; F, fórnix; FMT, fascículo mamilotalámico; FMP, fascículo medial prosencefálico; tmm, núcleo talámico medial; HI, hipocampo; CA, comisura anterior; pom, núcleo preóptico medial; posc, núcleo preóptico supraquiasmático; CO, quiasma óptico; mm, núcleo mamilar medial; mp, núcleo mamilar posterior.

A

A 2700 μ m

B

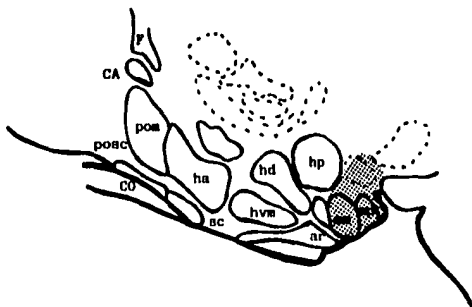


Figura 9.- Representación esquemática de la zona (panel A) y de la extensión de la lesión del lado derecho o izquierdo del hipotálamo posterior. El área sombreada muestra la zona lesionada. mm, núcleo mamilar medial; ml, núcleo mamilar lateral; FMT, fascículo mamilotalámico; FMTG, fascículo mamilotegmental; CP, comisura posterior; FR, fascículo reflexo; F, fórnix; CA, comisura anterior; pom, núcleo preóptico supraquiasmático; CO, quíasma óptico; sc, núcleo supraquiasmático; ha, núcleo hipotalámico anterior; ar, núcleo arcuato; hvp, núcleo ventromedial; hd, núcleo dorsomedial; hvm, núcleo ventromedial.

Figura 10.- HIPERTROFIA OVULATORIA E HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO *in situ* (DERECHO O IZQUIERDO) DE RATAS HEMICASTRADAS CON LESION UNILATERAL DEL HIPOTALAMO ANTERIOR O MEDIO.

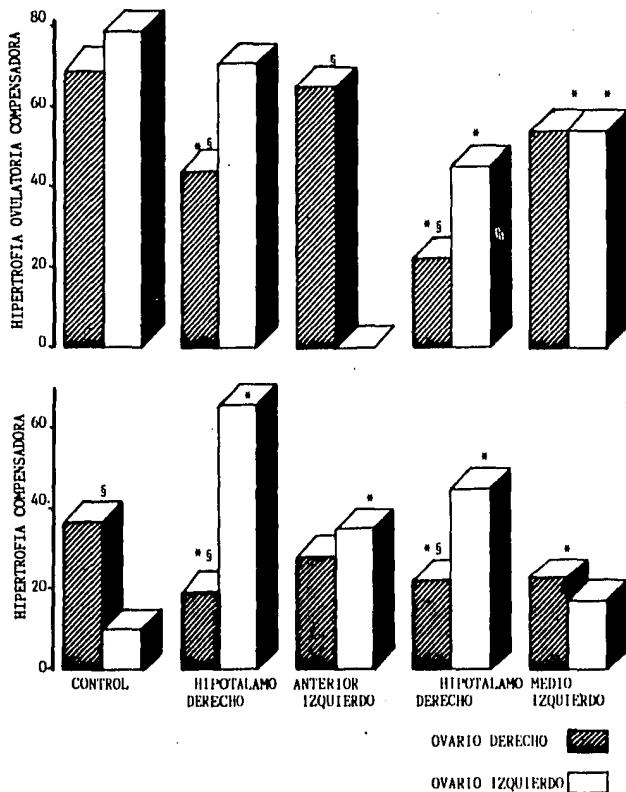


Tabla 1.- MEDIA Y ERROR ESTANDAR DE LA CONCENTRACION DE PROTEINA Y ADN EN EL HIPOTALAMO, EL CEREBELO, EL CUERPO ESTRIADO Y EL BULBO DE LAS RATAS MACHO CONTROL, CON OPERACION FALSA, CON SECCION BILATERAL (SBNV), CON SECCION IZQUIERDA (SINV) O CON SECCION DERECHA (SDNV) DEL NERVI VAGO.

GRUPO	µg proteína/mg tejido			
	HIPOTALAMO	CEREBELO	CUERPO ESTRIADO	BULBO
CONTROL	263.4 ± 44.3	177.2 ± 36.9	82.1 ± 22.9	127.5 ± 24.7
OPERACION FALSA	119.2 ± 2.5ξ	96.9 ± 4.7	91.0 ± 4.5	74.9 ± 1.9
SBNV	263.7 ± 18.7§	184.5 ± 8.5§	190.4 ± 17.5ξ§	163.1 ± 4.8§
SINV	147.5 ± 4.9§φ	105.1 ± 3.7φ	112.8 ± 4.3§φ	84.3 ± 3.4φ
SDNV	81.7 ± 2.7ξ§φ~	47.3 ± 1.9ξ§φ~	64.2 ± 3.5 §φ~	44.0 ± 1.6§φ~
	ng ADN/µg proteína			
GRUPO	HIPOTALAMO	CEREBELO	CUERPO ESTRIADO	BULBO
CONTROL	19.8 ± 3.5	91.7 ± 13.0	28.0 ± 3.6	19.5 ± 3.1
OPERACION FALSA	36.5 ± 3.4ξ	157.1 ± 4.7ξ	34.1 ± 6.2	40.9 ± 1.4ξ
SBNV	20.8 ± 2.8	75.0 ± 2.5	25.4 ± 2.4	20.5 ± 1.1
SINV	30.0 ± 5.7	88.8 ± 4.0	31.5 ± 5.5	29.8 ± 3.7
SDNV	69.1 ± 7.0ξ§φ~	355.8 ± 41.6ξ§φ~	64.4 ± 4.6ξ§φ~	78.6 ± 4.7ξ§

ξ vs control; § vs operación falsa; φ vs SBNV; ~ vs SINV, P<0.05

Tabla 2.- MEDIA Y ERROR ESTANDAR DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE; nMol sustrato hidrolizado/min) EN EL HIPOTALAMO, EL CEREBELO, EL CUERPO ESTRIADO Y EL BULBO DE LAS RATAS MACHO CONTROL, CON OPERACION FALSA, CON SECCION BILATERAL (SBNV), CON SECCION IZQUIERDA (SINV) O CON SECCION DERECHA (SDNV) DEL NERVI VAGO, EXPRESADA EN FUNCION DE LA CANTIDAD DE TEJIDO, DE PROTEINA O DE ADN.

		AChE/mg tejido			
GRUPO	HIPOTALAMO	CEREBELO	CUERPO ESTRIADO	BULBO	
CONTROL	44.8 ± 2.2	12.9 ± 1.0	58.9 ± 6.6	19.9 ± 0.9	
OPERACION FALSA	42.1 ± 4.2	12.3 ± 1.1	121.4 ± 13.5 ^ξ	23.8 ± 1.5	
SBNV	47.6 ± 2.4	13.4 ± 0.6	129.6 ± 11.3 ^ξ	29.4 ± 1.5 ^{ξ§}	
SINV	40.9 ± 1.7 ^φ	11.7 ± 0.9	104.6 ± 7.6 ^ξ	23.5 ± 1.4 ^φ	
SDNV	41.8 ± 1.6	11.9 ± 0.8	110.5 ± 5.9 ^ξ	22.8 ± 1.4 ^φ	

		AChE/mg proteina			
GRUPO	HIPOTALAMO	CEREBELO	CUERPO ESTRIADO	BULBO	
CONTROL	251 ± 76	80 ± 4	1605 ± 271	176 ± 27	
OPERACION FALSA	344 ± 28	129 ± 5 ^ξ	1303 ± 63	313 ± 14 ^ξ	
SBNV	187 ± 16 [§]	74 ± 1 [§]	702 ± 79 [§]	180 ± 7 [§]	
SINV	278 ± 8 [§]	108 ± 7 ^{ξφ}	931 ± 33 ^φ	277 ± 8 ^{§φ}	
SDNV	495 ± 19 ^{§φ}	259 ± 18 ^{§φν}	1723 ± 35 ^{§φν}	535 ± 20 ^{§φν}	

		AChE/μg ADN			
GRUPO	HIPOTALAMO	CEREBELO	CUERPO ESTRIADO	BULBO	
CONTROL	5.9 ± 0.6	64.1 ± 7.4	2.7 ± 1.0	8.4 ± 1.7	
OPERACION FALSA	6.4 ± 1.0	64.9 ± 5.2	2.2 ± 0.7	10.9 ± 1.2	
SBNV	8.1 ± 1.0	56.6 ± 6.6	5.9 ± 0.3 ^{ξ§}	11.8 ± 1.2	
SINV	7.6 ± 1.8	37.8 ± 4.4 ^{ξ§φ}	5.9 ± 1.2 ^{ξ§}	8.8 ± 1.4	
SDNV	7.8 ± 1.3	73.6 ± 6.2 ^ν	6.7 ± 1.1 ^{ξ§}	10.7 ± 1.8	

ξ vs control; § vs operación falsa; φ vs SBNV; ν vs SINV, P<0.05

Tabla 3.- MEDIA Y ERROR ESTANDAR DE LA CONCENTRACION DE PROTEINA ($\mu\text{g}/\text{mg}$ tejido) Y DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE: nMol sustrato hidrolizado/ min) EN EL HIPO TALAMO DE LAS RATAS HEMBRAS SACRIFICADAS A DIFERENTES HORAS DEL DIA Y A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL.

	HORA DEL DIA		
	PROTEINA	AChE/ mg tejido	AChE/ mg protefina
09:00	$63.6 \pm 1.9^{\vee}$	$10.8 \pm 0.3^{\S\vee\tau}$	$177 \pm 5^{\tau}$
13:00	$67.9 \pm 0.3^{\vee}$	$12.2 \pm 0.3^{\vee\tau}$	$184 \pm 7^{\tau}$
17:00	53.3 ± 2.3	9.4 ± 0.5	$177 \pm 5^{\tau}$
21:00	$65.2 \pm 1.3^{\vee}$	$14.1 \pm 0.4^{\vee}$	222 ± 10
	DIA DEL CICLO ESTRAL		
	PROTEINA	AChE/ mg tejido	AChE/ mg protefina
ESTRO	$66.0 \pm 1.8^*$	$12.9 \pm 0.5^{*\xi}$	191 ± 7
DIESTRO 1	$64.3 \pm 2.1^*$	$12.6 \pm 0.5^*$	198 ± 5
DIESTRO 2	$63.5 \pm 1.8^*$	11.1 ± 0.4	182 ± 6
PROESTRO	56.4 ± 2.2	10.3 ± 0.4	182 ± 8

- \S $P < 0.05$ vs 13:00 horas
 \vee $P < 0.05$ vs 17:00 horas
 τ $P < 0.05$ vs 21:00 horas
 ξ $P < 0.05$ vs diestro 2
 $*$ $P < 0.05$ vs proestro

Tabla 4.- MEDIA Y ERROR ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD DE LA ENZIMA ACETILCOLINESTERASA (AChE; nMol sustrato hidrolizado/min) DEL LADO DERECHO O IZQUIERDO DEL HIPOTALAMO DE LAS RATAS SACRIFICADAS A DIFERENTES HORAS DEL DIA Y A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL, EXPRESADA EN FUNCION DE LA CANTIDAD DE TEJIDO O DE PROTEINA.

HORA DEL DIA:	AChE / mg tejido		AChE / mg proteína	
	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO
09:00	10.6 ± 0.4 [†]	11.0 ± 0.4 [†]	172 ± 7	182 ± 7 [†]
13:00	12.5 ± 0.4	11.8 ± 0.6 [†]	184 ± 12	183 ± 8
17:00	9.0 ± 0.7 [†]	9.8 ± 0.6 [†]	168 ± 7 [†]	185 ± 6
21:00	14.0 ± 0.6	14.3 ± 0.5	207 ± 13 [‡]	236 ± 16
DIA DEL CICLO ESTRAL:				
ESTRO	13.2 ± 0.8	12.7 ± 0.6 [*]	186 ± 10	198 ± 9
DIESTRO 1	12.5 ± 0.7	12.7 ± 0.7 [*]	197 ± 7	198 ± 8
DIESTRO 2	10.8 ± 0.6 [‡]	11.4 ± 0.5	177 ± 9	187 ± 7
PROESTRO	10.4 ± 0.5 [‡]	10.2 ± 0.6	171 ± 8	193 ± 13

[†] P<0.05 vs 21:00 horas
[‡] P<0.05 vs lado izquierdo
^{*} P<0.05 vs proestro
[‡] P<0.05 vs estro

Tabla 5.- TASA OVULATORIA (NUMERO DE ANIMALES OVULANTES/TOTAL DE ANIMALES TRATADOS), TASA DE CORNIFICACION VAGINAL (NUMERO DE ANIMALES CON CORNIFICACION VAGINAL/TOTAL DE ANIMALES TRATADOS) Y MEDIA \pm ERROR ESTANDAR DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS Y DEL PESO DE LOS OVARIOS DE RATAS CON IMPLANTE DE ATROPINA EN EL LADO DERECHO O IZQUIERDO DEL HIPOTALAMO ANTERIOR, A LAS 13:00 HORAS DEL ESTRO O DEL DIESTRO 1.

GRUPO	T A S A OVULATORIA	T A S A CORNIFICACION VAGINAL	OVOCITOS LIBERADOS		PESO DEL OVARIO	
			IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO
CONTROL	10/13	13/13	5.5 \pm 0.8	3.6 \pm 0.7	14.0 \pm 0.4	13.7 \pm 0.7
ESTRO:						
<u>DERECHO</u>	0/8*	3/8*	0	0	13.0 \pm 1.1	11.3 \pm 0.7
<u>IZQUIERDO</u>	8/8	8/8	5.4 \pm 0.7	5.8 \pm 0.5	13.4 \pm 1.0	13.7 \pm 0.8
DIESTRO 1:						
<u>DERECHO</u>	2/10*	1/10*	4, 3	9, 7	13.4 \pm 0.8	12.1 \pm 0.3
<u>IZQUIERDO</u>	1/ 9*	5/ 9*‡	0	1	13.8 \pm 1.4	13.4 \pm 0.5

* P<0.05 vs control

‡ P<0.05 vs lado derecho en diestro 1

Tabla 6.- MEDIA Y ERROR ESTANDAR DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS POR EL OVARIO DERECHO, IZQUIERDO O AMBOS EN RATAS CON LESION UNILATERAL EN EL HIPOTALAMO ANTERIOR, MEDIO O POSTERIOR, SACRIFICADAS EN EL DIA DEL ESTRO VAGINAL DESPUES DE DOS CICLOS DE 4 DIAS.

GRUPO	n	OVARIO DERECHO	OVARIO IZQUIERDO	AMBOS OVARIOS
CONTROL	24	4,6 ± 0.5	5.7 ± 0.5	10.3 ± 0.8
HIPOTALAMO ANTERIOR				
DERECHO	10	1.9 ± 0.8*	3,6 ± 1.1	5.5 ± 1.7*
IZQUIERDO	16	1.7 ± 0.7*	2.9 ± 0.8*	4.6 ± 1.4*
HIPOTALAMO MEDIO				
DERECHO	10	6.3 ± 0.8*§	4.0 ± 0.7	10.0 ± 0.9
IZQUIERDO	10	6.7 ± 0.9*§	4.1 ± 0.8	10.8 ± 0.7
HIPOTALAMO POSTERIOR				
DERECHO	6	5.2 ± 0.7	3.7 ± 0.8	8.8 ± 0.9
IZQUIERDO	6	3.6 ± 1.0	4.2 ± 0.9	7.2 ± 1.6

* P<0.05 vs control

§ P<0.05 vs ovario izquierdo

Tabla 7.--MEDIA Y ERROR ESTANDAR DEL PESO (mg/100 g) DEL OVARIO DERECHO, IZQUIERDO O AMBOS, EN RATAS CON LESION UNILATERAL EN EL HIPOTALAMO ANTERIOR, MEDIO O POSTERIOR, SACRIFICADAS EN EL DIA DEL ESTRO VAGINAL DESPUES DE DOS CICLOS DE 4 DIAS.

GRUPO	n	OVARIO DERECHO	OVARIO IZQUIERDO	AMBOS OVARIOS
CONTROL	24	12.2 ± 0.6	12.4 ± 0.5	24.6 ± 0.9
HIPOTALAMO ANTERIOR				
DERECHO	10	12.4 ± 0.8	13.1 ± 1.3	26.1 ± 1.7
IZQUIERDO	16	11.0 ± 1.0	12.1 ± 0.9	23.2 ± 1.7
HIPOTALAMO MEDIO				
DERECHO	10	14.9 ± 1.1	15.2 ± 0.9	30.1 ± 1.5*
IZQUIERDO	10	12.7 ± 0.3	13.3 ± 0.6	25.7 ± 0.5
HIPOTALAMO POSTERIOR				
DERECHO	6	15.8 ± 1.0*	14.3 ± 1.8	30.1 ± 2.5*
IZQUIERDO	6	13.4 ± 1.1	12.9 ± 0.7	26.2 ± 1.5

* P<0.05 vs control

Tabla 8.- HIPERTROFIA OVULATORIA COMPENSADORA (HOvulC) E HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO (COH) in situ (DERECHO O IZQUIERDO) DE LA RATA HEMICASTRADA CON LESION UNILATERAL EN EL HIPOTALAMO ANTERIOR O MEDIO.

GRUPO	n	OVARIO DERECHO		OVARIO IZQUIERDO	
		HOvulC	C O H	HOvulC	C O H
CONTROL	20	69	37 [§]	79	10
HIPOTALAMO ANTERIOR					
DERECHO	18	44* [§]	19* [§]	71	66*
IZQUIERDO	16	65 [§]	28	0*	35*
HIPOTALAMO MEDIO					
DERECHO	15	22* [§]	22* [§]	46*	45*
IZQUIERDO	13	54*	23*	54*	17

* P<0.05 vs control

§ P<0.05 vs ovario izquierdo

APENDICE

(Trabajos publicados o enviados a publicar, referidos por su número romano)

Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat.

Ms. Esther Cruz, Rebeca Chávez, Ricardo Martínez and Roberto Domínguez.

Laboratory of Biology of Reproduction.

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza

Universidad Nacional Autónoma de México.

AP 9-020, CP 15000, México DF, México.

According to several authors, acetylcholinesterase (AChE) activity in brain structures is a good index of the steady-state function of the cholinergic system [1]. In a previous study we showed the existence of a circadian rhythm in AChE activity in the hypothalamus and cerebellum, when results were expressed as a function of protein concentration: the rhythm depended on the presence of the gonads [Martinez et al., submitted]. In the female rat, it has been shown that vagi nerves play a role in the regulation of ovarian function [2, 3], and there is some evidence of differences in the information carried by the left and right vagus nerve to and from the ovary [3].

Since the cholinergic system plays a role in the regulation of the gonadal system (the vagus nerve probably providing one of the pathways involved in the modulation of gonadal function,) and since the gonads are important in the maintenance of AChE activity in several brain areas, it was decided to study the acute effects of unilateral or bilateral section of the vagi nerves on the AChE activity of the hypothalamus, striatum and cerebellum in the adult male rat. Since part of the vagus nerve nucleus lies in the medulla, the enzyme activity was also studied in this structure.

Material and methods: Adult male rats (240-280 g b.wt) of the C II 2-V strain, from our own laboratory, maintained under controlled lighting conditions (lights on from 05.00 to 19.00) with free access to food and tap water, were used. Groups of seven animals per group were selected at random, and allocated to one of the following experimental conditions: controls (untreated); sham operated i.e., the animals were submitted to laparotomy under ether anaesthesia, the stomach was exposed and

manipulated, the wound sutured with cotton thread, the animals were kept anaesthetized during 5 minutes after they were sutured and returned to their cage (three animals per cage); they were sacrificed 72 h afterwards; bilaterally vagotomized, i.e., the animals were submitted to bilateral subdiaphragmatic vagotomy following the method previously used [3] and were sacrificed 72 h later; unilaterally vagotomized, the animals were laparotomized, the left or right vagus nerve was sectioned below the diaphragm, and the rats were sacrificed after 72 h.

The animals were killed by decapitation between 09.00 and 10.00. The brain was quickly extracted and put on a chilled watch glass kept on ice. The hypothalamus, striatum, medulla, and cerebellum, were quickly dissected, weighed on a precision balance, homogenized by sonication in cold phosphate buffer 0.07M, pH 8.0. AChE activity was determined by using acetylthiocholine for substrate; protein and DNA content were also measured [1]. Results were calculated as nmol of substrate hydrolyzed/min/mg wet tissue, nmol of substrate hydrolyzed/min/mg protein, and nmol of substrate hydrolyzed/min/ug DNA. The adrenals were dissected and weighed. Data were analyzed by one way analysis of variance and Student's t test.

Results and discussion: The weight of adrenal glands increased significantly in all groups subjected to surgery. Unilateral or bilateral vagotomy did not modify the results. The weight increase was larger in the left than in the right adrenal gland in all groups (Table 1). The lateralization in the adrenal response seems to be very similar to changes previously observed in the ovary of hemispayed animals, but it seems not to depend on the integrity of the vagus nerves as was the case with the

ovary [3]. However, in chronic and subchronic experiments, it has been observed that section of vagus nerves modifies the adrenal function, expressed as an increase in the mitotic index in the adrenal cortex [4]; interestingly, greater changes were observed in the left adrenal gland than in the right one.

The effects of different manipulations on protein concentration and on the DNA/protein ratio are presented on Table 2. Surgical stress induced a diminution in protein concentration in all the structures studied, except the striatum. These effects were abolished by bilateral vagotomy in the cerebellum, hypothalamus and medulla, whereas in the striatum protein concentration in bilateral vagotomized animals was elevated in comparison with both control and sham operated group. Unilateral section of the left vagus nerve did not modify the results observed in the sham operated group, while section of the right vagus nerve induced greater diminution in protein concentration than did the sham operation.

The AChE activity in the brain structures examined is presented in Table 3. When enzyme activity was calculated as a function of protein content, the striatum presented the highest activity and cerebellum the lowest, while the results were reversed when enzyme activity was expressed as a function of DNA content (Table 3).

The most striking results were the effects of bilateral or unilateral (right vagus nerve sectioned) on the protein content of the cerebellum, hypothalamus and medulla, where bilateral vagotomy abolished the stress effects, and section of the right vagus nerve increased them (Table 2).

The results presented here show clearly that the acute changes induced by stress on protein and AChE activity depend on the integrity of the vagus nerve, and that the effects of unilateral section of the left or right vagus nerve are different from each other.

The AChE activity in all brain structures studied changed in those animals subjected to surgical stress. In a previous experiment, ether anaesthesia stress induced a decrease in hypothalamic AChE activity and did not modify the cerebellum enzyme activity [Martinez *et al.*, submitted]. In present study, it is possible that stomach manipulation (mechanical vagal stimulation?) induced the increase in enzyme activity observed in this experiment. Changes in protein concentration and enzyme activity might not be explained simply by the increase in cortisol or epinephrine plasma levels induced by surgical stress, since the effects of right or left vagus nerve section were different.

Our results obtained in regard to AChE activity show lateralization of the effects of unilateral vagotomy on enzyme activity. Except in the striatum, right vagotomy induced a significant increase in enzyme activity in all structures. If enzyme activity reflects cholinergic system function as has been proposed [1], the information carried by the right vagus nerve would be inhibitory to all structures except the striatum, whereas the left vagus has stimulatory or inhibitory influences depending on the structure considered.

1. Bennett, E.L. and Rosenzweig, M.R. (1981). In *Methods in Neurobiology*, (Lahav, R., ed.), pp. 101-140, Plenum Press, New York
2. Burden, H.W. (1978). In *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology*, (Jones, R.E., ed.), pp. 615-638. Plenum Press, New York
3. Chavez, R., Cruz, M.E. and Dominguez, R. (1987). *J. Endocrinol.* **113**: 397-401
4. Lyson, K. and Stepien, H. (1980) *Endocrinol. Expt. 19*: 269-272

Table 1. Weight (mg/100 g b.wt) of left, right or both adrenal glands in control male adult rats, sham operated or with unilateral or bilateral section of vagi nerves, autopsied 72 h after surgery (means \pm sem; n=7)

Group	Left adrenal	Right adrenal	Both adrenals
Control	5.5 \pm 0.5	6.1 \pm 0.6	11.6 \pm 0.3
Sham operated	8.1 \pm 0.8	7.4 \pm 0.5	15.6 \pm 1.2*
Left vagotomy	8.2 \pm 0.5*	6.8 \pm 0.6	15.1 \pm 0.4*
Right vagotomy	7.4 \pm 0.6*	6.4 \pm 0.5	13.8 \pm 1.0*
Bilateral vagotomy	10.4 \pm 2.2	8.8 \pm 1.0*	19.1 \pm 3.1*

*In comparison with the control value, p < 0.05

Table 2. Amount of Protein (ug/mg wet wt tissue) and the relationship ngDNA/ug protein in cerebellum, hypothalamus, striatum and medulla in control (C), sham operated (S), or with bilateral (B) or unilateral (left, L; right R) section of the vagi nerves (means \pm sem; $p = 7$).

Group	cerebellum	hypothalamus	striatum	medulla
Protein				
C	177.2 \pm 36.9	263.4 \pm 44.3 ^a	82.1 \pm 22.9	127.5 \pm 24.7
B	96.9 \pm 4.7 ^b	119.2 \pm 2.5 ^b	91.0 \pm 4.5 ^{ab}	74.9 \pm 1.9 ^b
B	184.5 \pm 8.5 ^c	263.7 \pm 18.7 ^{bc}	190.4 \pm 17.5 ^{bc}	163.1 \pm 4.8 ^c
L	105.1 \pm 3.7 ^{abcd}	147.5 \pm 4.9 ^{abcd}	112.8 \pm 4.3 ^{bcd}	84.4 \pm 3.4 ^{bcd}
R	47.3 \pm 1.9	81.7 \pm 2.7	64.2 \pm 3.5	44.0 \pm 1.6
DNA/protein				
C	91.79 \pm 13.01 ^a	19.82 \pm 3.55 ^a	28.01 \pm 3.67	19.57 \pm 3.18 ^a
B	157.12 \pm 4.78	36.50 \pm 3.40	34.12 \pm 6.28	40.99 \pm 1.42
B	75.07 \pm 2.53	20.85 \pm 2.82	25.46 \pm 2.41	20.55 \pm 1.17
L	88.83 \pm 4.07 ^{abcd}	30.06 \pm 5.73 ^{abcd}	31.50 \pm 5.58 ^{abd}	29.85 \pm 3.71 ^{ab}
R	355.84 \pm 41.69	69.16 \pm 7.01	64.49 \pm 4.63	78.64 \pm 4.71

In comparison with the a: control, b: sham operated, c: bilateral vagotomized, and d: left vagal sectioned values, $p < 0.05$

Table 3. Acetylcholinesterase activity in the hypothalamus, cerebellum, striatum and medulla in control (C) adult male rats, sham operated (B) and with bilateral (B) or unilateral (left (L) or right (R)) section of vagi nerves 72 h, post surgery (means \pm sem; $n=7$)

	hypothalamus	corebellum	striatum	medulla
Group				
nmol/min/mg wet tissue				
C	44.82 \pm 2.2	12.96 \pm 1.0	58.98 \pm 6.6	19.93 \pm 0.9
B	42.16 \pm 4.2	12.39 \pm 1.1	121.40 \pm 13.5 ^a	23.85 \pm 1.5
B	47.64 \pm 2.4	13.46 \pm 0.6	129.66 \pm 11.3 ^a	29.43 \pm 1.5 ^{ab}
L	40.94 \pm 1.7 ^c	11.77 \pm 0.9	104.62 \pm 7.6 ^a	23.52 \pm 1.4 ^c
R	41.83 \pm 1.6	11.97 \pm 0.8	110.50 \pm 5.9 ^a	22.82 \pm 1.4 ^c
nmol/min/mg protein				
C	251 \pm 76	80 \pm 4	1605 \pm 271	176 \pm 27
B	344 \pm 28 ^b	129 \pm 5 ^a	1303 \pm 63	313 \pm 14 ^a
B	187 \pm 16 ^b	74 \pm 1 ^b	702 \pm 79 ^b	180 \pm 7 ^b
L	278 \pm 8 ^b	108 \pm 7 ^{ac}	931 \pm 33 ^{bc}	277 \pm 8 ^{bc}
R	495 \pm 19 ^{bc}	259 \pm 18 ^{bcd}	1723 \pm 35 ^{bcd}	535 \pm 20 ^{bcd}
nmol/min/mg DNA				
C	5.93 \pm 0.69	64.15 \pm 7.4	2.78 \pm 1.0	8.47 \pm 1.74
B	6.44 \pm 1.0	64.93 \pm 5.28	2.28 \pm 0.78	10.96 \pm 1.29
B	8.13 \pm 1.08	56.66 \pm 6.65	5.99 \pm 0.39	11.85 \pm 1.22
L	7.60 \pm 1.89	37.88 \pm 4.42	5.98 \pm 1.28	8.81 \pm 1.47
R	7.82 \pm 1.34	73.67 \pm 6.23	6.73 \pm 1.14	10.79 \pm 1.83

In comparison with the a: control, b: sham operated, c: bilateral vagotomized, and d: left vagal sectioned values, $p < 0.05$

Differences in the circadian variations in the acetylcholinesterase activity in the right and left hypothalamus during the estrous cycle of the rat.

M. Esther Cruz, Rebeca Chávez, Patricia Rosas, Victor M. Lujambio
J. Luis Morán and Roberto Domínguez

Laboratory of Biology of Reproduction. Escuela Nacional de
Estudios Profesionales Zaragoza. U.N.A.M.

A.P. 9-020, C.P. 15000. México D.F., México.

Supported by CONACYT, grant PCBACNA 50972 and Programa
Universitario de Investigación Clínica

SUMMARY

The variations in acetylcholinesterase (AChE) activity in the right and left hypothalamus along the estrous cycle at various hours of the day were studied. Circadian changes in the enzymatic activity were observed both in left and right hypothalamus. The highest activity was observed at 21.00 h. When expressed in function of protein concentration the AChE activity was higher in the left hypothalamus than in the right one. Along the estrous cycle, estrus day presented the highest enzymatic activity and proestrus the lower. The differences in AChE activity along the estrous cycle and the circadian changes observed, can be the explanation for differences observed in the ability of atropine to block ovulation.

INTRODUCTION

Results by several authors have shown that controlling hypothalamic mechanisms related to compensatory ovarian regulation, and gonadotropin releasing hormone (GnRH) concentration presents differences between the right and left hypothalamus [1,7,9,12,13]. Differences in the noradrenaline concentration between the left and right brain have also been described [15].

It was previously shown that the blockade of ovulation induced by a single injection of atropine presents differences along the estrous cycle [5] and that in the male hypothalamus circadian changes in acetylcholinesterase (AChE) activity depends on the presence of both gonads [11]. Furthermore, it has been shown that the enzymatic activity in the male hypothalamus was modified in an inverse way by the section of left and right vagus nerve [4].

Since the hypothalamic cholinergic system plays a role in the regulation of gonadotropin secretion [6] and its participation varies along the estrous cycle [5] it was decided to study the AChE activity in different hours along the estrous cycle. The possible differences between the enzymatic activity in both right and left hypothalamus were also analyzed.

MATERIALS AND METHODS

Adult (190-225 g) virgin rats of the C II Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00) with free access to food and tap water. Estrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with three consecutive 4-day cycles were used.

Groups of animals in estrus, diestrus 1 or 2 or proestrus were killed by decapitation at 09.00, 13.00, 17.00 or 21.00

hours. The brain was quickly extracted and put on a chilled watch glass kept on ice. The hypothalamus was dissected following Iversend and Glowinsky [8] parameters and left and right halves separated by a cut along the third ventricle. Both halves were weighed on a precision balance, homogenized by sonication in cold phosphate buffer 0.07M, pH 8.0. AChE activity was determined by using acetylthiocholine for substrate [10]; protein content was also measured [2]. Results were calculated as nmol of substrate hydrolyzed/min/mg wet tissue and nmol of substrate hydrolyzed/min/mg protein.

Statistical analyses were performed with the aid of a BYSTAT program by Business Microcomputed Solutions (Austin, Texas) on a Printaforn 5210 computer. Differences in enzymatic activity between left and right hypothalamus was estimated by Student's t test. Differences in AChE activity between day of the cycle, hour of the day and side of the hypothalamus were compared by two ways multivariate analysis of variance [MANOVA]. Differences between individual means were assessed using multiple comparison test of Duncan and Tukey.

RESULTS

The analysis of enzymatic activity showed significant differences related both, the day of the cycle and the hour of the day, as well as the side of the hypothalamus depending the way it was calculated. When the activity was calculated as function of the weight of hypothalamus: by day of the cycle $df=3$, $F=7.383$, $p<0.000$; by hour of the day $df=3$, $F=21.925$, $p<0.000$; by side $df=1$, $F=0.223$, $p=0.637$, N.S.; by day/hour/side $df=9$, $F=1.041$, $p=0.408$ N.S.; and as function of protein concentration: by day of the cycle $df=3$, $F=0.629$, $p=0.597$ N.S.; by hour of the day $df=3$, $F=8.655$, $p<0.000$; by side $df=1$, $F=4.203$, $p<0.042$; by day/hour/side $df=9$, $F=1.150$, $p=0.329$ N.S.

Protein concentration also presented variations depending both, on the day and hours: by day of the cycle $df=3$, $F=4.529$, $p<0.004$; by hour of the day $df=3$, $F=11.392$, $p<0.000$; by side $df=1$, $F=1.717$, $p=0.192$.

The enzymatic activity and protein concentration by day of the cycle and hour of the day are presented in table 1. The highest enzymatic activity (expressed as nmol/min/mg wet tissue) was observed on estrus and diestrus 1 and the lowest on proestrus. Such differences were not observed when results were expressed as a function of protein concentration, because the hypothalamic protein content varies along the estrous cycle. The highest enzymatic activity was observed at 21.00 h and the lowest at 17.00 h, independently the way the activity was calculated.

Figure 1 represents the variations in AChE activity at the hours studied along the estrous cycle, both as a function of hypothalamic weight and protein concentration. Diestrus 1 was the

day of the estrous cycle when the enzymatic activity showed less variations. On estrus and diestrus 2 an increase in AChE activity from 09.00 to 21.00 was observed, meanwhile on proestrus a significant diminution at 17.00 followed by an increase at 21.00 was presented.

The AChE activity was higher in the left hypothalamus than in the right one (193 ± 4.8 vs 181 ± 4.7 , $df=200$, $t=1.845$, $P=0.06$).

The enzymatic activity in the right and left halves of the hypothalamus along the estrous cycle and at various hours studied, is presented in table 2 and its changes by hour of the day and day of the cycle in figures 2 and 3. The lowest enzymatic activity in both, the right and left halves of the hypothalamus, expressed as a function of tissue weight, was observed at proestrus and at 17.00 h. When the AChE activity was expressed as a protein function, at 21.00 h the right hypothalamus presented lower enzymatic activity than the left one (table 2). Significant differences between the left and right halves along the estrous cycle, as a function of the hypothalamic weight, were also observed at 13.00 h on diestrus 2 (figure 2). Such significant differences were not observed when the activity was calculated as a protein concentration function (figure 3).

DISCUSSION

Present results agree with previous observations showing the existence of circadian variations in the hypothalamic AChE activity [11] and add further support to those authors who stress the need for expressing results both as a function of protein content and of organ weight [11, 14].

In the hypothalamus of the female rat, circadian variations in enzymatic activity were observed besides the way used to express AChE activity. Differences in the enzymatic activity along the estrous cycle were observed only when results were expressed as a function of the weight of the hypothalamus, since the protein concentration also showed changes along the estrous cycle.

According with present results, there would be significant sex differences in the AChE activity in the hypothalamus. In the female, the highest AChE activity was observed two hours after the beginning of the dark phase of the lighting cycle and the lowest two hours before the ending of the light phase. Meanwhile, in the adult male rat, both the highest and lowest enzymatic activity were observed during the photic phase of the cycle [11].

When atropine was used as a cholinergic blocking drug, the highest ovulation blockade was observed at 13.00 h and the lowest

at 21.00 h [5]. These results seem to match with AChE activity in the hypothalamus since at 21.00 h the enzymatic activity was significant higher than at 13.00 and according with Maletta and Timiras [10] AChE activity is an indirect index of the acetylcholine content of the brain tissue. The fact that this relationship was not observed at 09.00 and 17.00 could be related to the other neurotransmitter systems which participate in the central regulation of the ovulation [6].

Results by several authors indicate the existence of lateralization in both, central and peripheral mechanisms related to gonadal function regulation [1, 3, 7, 9, 12, 13]. In present study a difference in the AChE activity between left and right hypothalamus was observed. Such difference was significant at 21.00 (expressed as function of protein concentration). The functional significance of this asymmetry is unknown at present. However, atropine implants have different effects on ovulation when it was done in the right and left anterior hypothalamus (unpublished results)

REFERENCES

- 1 Bakalkin, G.Y., Tsibezov, V.V., Sjutkin, E.A., Veselova, S.P., Novilov, I.D. and Krivosheev, O.G. Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res.* 296 (1984): 361-364.
- 2 Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem.* 72 (1976): 248-254.
- 3 Chávez, R., Cruz, M.E. and Dominguez, R. Differences in the ovulation rate of the right or left ovary hemispayed rat. Role of the ipsi and contralateral vagus nerve to the *in situ* ovary. *J.Endocrin.* 113 (1987): 397-401.
- 4 Cruz, M.E., Chávez, R., Martínez, R. and Dominguez, R. Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat. *Med.Sci.Res.* 15 (1987): 1531-1532.
- 5 Dominguez, R., Riboni, L., Zipitria, D. and Revilla, R. Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *J.Endocrin.* 95 (1982): 175-180.
- 6 Everett, J.W. Neuroendocrine aspects of mammalian reproduction. *Ann.Rev.Physiol.* 31 (1967): 383-416.
- 7 Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Fukuda, M. and Arai, Y. Hypothalamic lateralization in regulating gonadotropic functions: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Let.* 51 (1984): 365-370.

- 8 Glowinsky, J. and Iversen, L.L. Regional studies of catecholamines in the rat brain. I: The disposition of [³H] norepinephrine, [³H] dopamine and [³H] dopa in various regions of the brain. *J. Neurochem.* 13 (1966): 655-669.
- 9 Gerandai, I., Rotsytein, W., Marchetti, B. and Scapegnini, V. LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Proceeding of Serozo Symp., A. Polleri and R. MacLeod, vol. 19, (1979): 97. New York. Academic Press.
- 10 Maletta, G.J. and Timiras, P.B. Acetyl and butyrylcholinesterase activity of selected brain areas in developing rats after neonatal X-irradiation. *J. Neurochem.* 13 (1966): 75-84.
- 11 Martinez, R., Zipitria, D. and Dominguez, R. Changes in the circadian acetylcholinesterase activity in hypothalamus and cerebellum induced by castration or hemicastration in the adult male rat. *J. Interdisc. Cycle Res.* submitted to publication
- 12 Nance, D.M. and Moger, W.H. Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Bull. Res.* 8 (1982): 299-302.
- 13 Nance, D.M., White, J.P. and Moger, W.H. Neural regulation of the ovary: evidence for hypothalamic asymmetry endocrine control. *Brain Bull. Res.* 10 (1983): 353-355.
- 14 Nordberg, A. and Wahlström, G. Diurnal fluctuations in striatal choline acetyltransferase activity and strain differences in brain protein content of the rat. *Acta Physiol. Scand.* 108 (1980): 385-388.
- 15 Oke, A., Lewis, R. and Adams, R.M. Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in the rat thalamus. *Brain Res.* 188 (1980): 269-272.

Table 1. Mean \pm s.e.m. of protein concentration [μ g/mg wet tissue] and acetylcholinesterase [AChE] activity in the female hypothalamus at various hours of the day, along the estrous cycle expressed as a function of the weight of hypothalamus [nMol hidrolized sustrate/min/mg wet tissue] and the concentration of hypothalamic protein [nMol hidrolized sustrate/min/mg protein].

BY DAY OF THE ESTROUS CYCLE			
Day of cycle	Protein	AChE/mg wet tissue	AChE/mg protein
Estrus	66.0 \pm 1.8 [§]	12.9 \pm 0.5 ^{§§}	191 \pm 6.7
-Diestrus 1	64.3 \pm 2.1 [§]	12.6 \pm 0.5 [§]	198 \pm 5.4
Diestrus 2	63.5 \pm 1.8 [§]	11.1 \pm 0.4	182 \pm 5.9
Proestrus	56.4 \pm 2.2	10.3 \pm 0.4	182 \pm 7.7
BY HOUR OF THE DAY			
Hour of the day	Protein	AChE/mg wet tissue	AChE/mg protein
09.00	63.6 \pm 1.9 [!]	10.8 \pm 0.3 ^{!§&}	177 \pm 4.9 [§]
13.00	67.9 \pm 1.8 [!]	12.2 \pm 0.3 ^{!§}	184 \pm 7.1 [§]
17.00	53.3 \pm 2.3	9.4 \pm 0.5	177 \pm 4.5 [§]
21.00	65.2 \pm 1.3 [!]	14.1 \pm 0.4 [!]	222 \pm 10.3

§ P < 0.05 vs proestrus (Duncan's test after MANOVA)

§ P < 0.05 vs diestrus 2 (Duncan's test after MANOVA)

! P < 0.05 vs 17.00 h (Duncan's test after MANOVA)

§ P < 0.05 vs 21.00 h (Duncan's test after MANOVA)

& P < 0.05 vs 13.00 h (Duncan's test after MANOVA)

Table 2. Mean \pm s.e.m. of acetylcholinesterase [AChE] activity in the right and left female hypothalamus at various hours of the day, along the estrous cycle expressed as a function of the weight of hypothalamus [nMol hidrolized sustrate/min/mg wet tissue] and the concentration of hypothalamic protein [nMol hidrolized sustrate/min/mg protein].

BY DAY OF THE CYCLE

Day of cycle	AChE/mg wet tissue		AChE/mg protein	
	Right	Left	Right	Left
- Estrus	13.2 \pm 0.8	12.7 \pm 0.6 [§]	186 \pm 9.9	198 \pm 9.0
Diestrus 1	12.5 \pm 0.7	12.7 \pm 0.7 [§]	197 \pm 7.2	198 \pm 8.3
Diestrus 2	10.8 \pm 0.6 [§]	11.4 \pm 0.5	177 \pm 9.4	187 \pm 7.0
Proestrus	10.4 \pm 0.5 [§]	10.2 \pm 0.6	171 \pm 8.3	193 \pm 12.7

BY HOUR OF THE DAY

Hour	Right	Left	Right	Left
09.00	10.6 \pm 0.4 [!]	11.0 \pm 0.4 [!]	172 \pm 6.6	182 \pm 7.3 [!]
13.00	12.5 \pm 0.4	11.8 \pm 0.6 [!]	184 \pm 11.6	183 \pm 8.2
17.00	9.0 \pm 0.7 [!]	9.8 \pm 0.6 [!]	168 \pm 6.7 [!]	185 \pm 5.7
21.00	14.0 \pm 0.6	14.3 \pm 0.5	207 \pm 12.5 [§]	236 \pm 16.1

§ P<0.05 vs proestro (Duncan's test after MANOVA)

¶ P<0.05 vs astro (Duncan's test after MANOVA)

! P<0.05 vs 21.00 h (Duncan's test after MANOVA)

§ P<0.05 vs left hypothalamus (Duncan's test after MANOVA)

Figure 1. Variations of acetylcholinesterase activity of the female hypothalamus at various hours of the day, along the oestrus cycle, expressed as a function of the weight of the hypothalamus and the concentration of hypothalamic protein.

- * $P < 0.05$ vs 21 hour at same day
- Δ $P < 0.05$ vs 17 hour at same day
- 0 $P < 0.05$ vs estrous day at the same hour
- Ω $P < 0.05$ vs diestrus 2 at the same hour

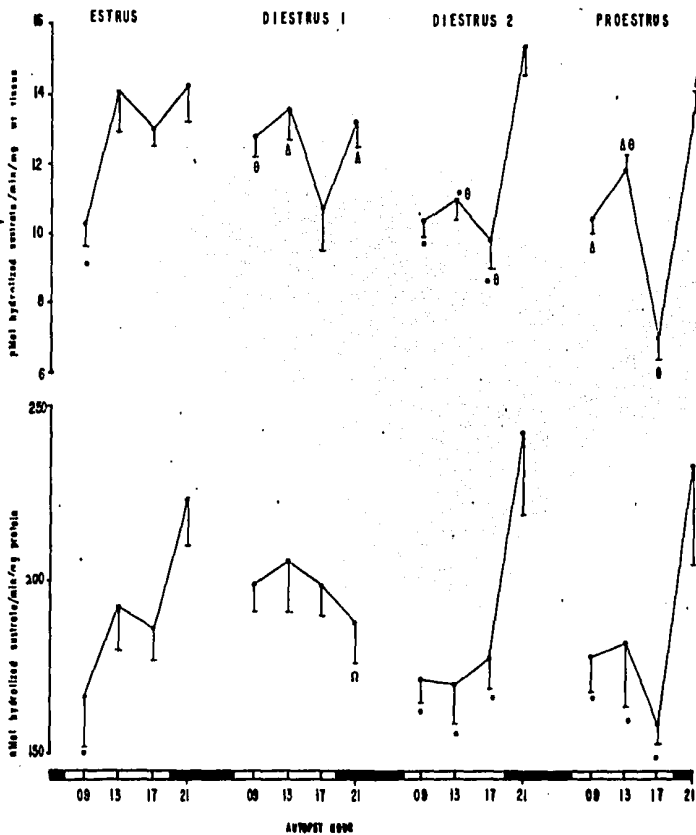
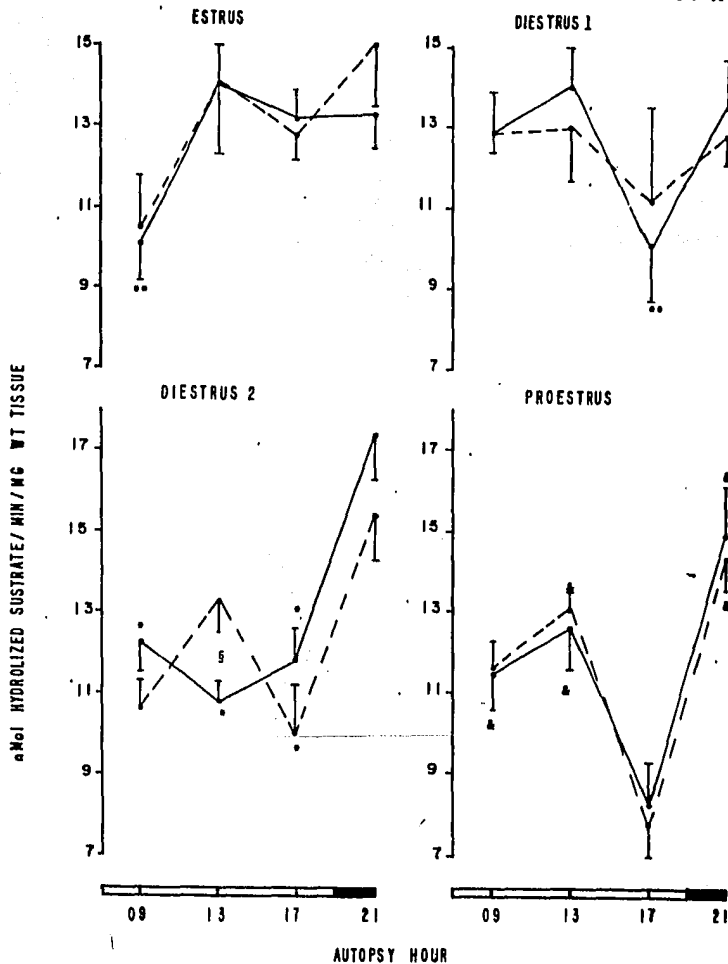


Figure 2. Changes of the acetylcholinesterase activity (nMol hydrolyzed substrate/min/mg wt tissue) of both right (----) and left(—) hypothalamus along the estrous cycle.

- ** $P < 0.05$ vs 13 hour at the same day
- * $P < 0.05$ vs 21 hour at the same day
- § $P < 0.05$ vs left hypothalamus at the same day
- & $P < 0.05$ vs 17 hour at the same day

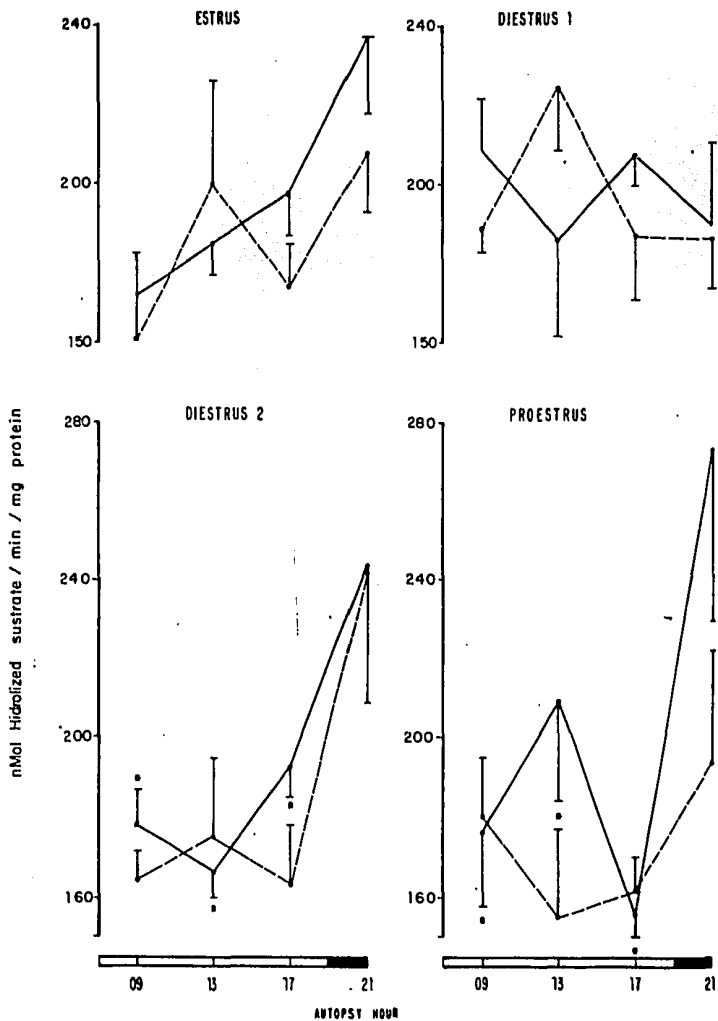
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



R

Figure 3. Changes of the acetylcholinesterase activity (nMol hydrolyzed substrate/min/mg protein) in both right (----) and left (—) hypothalamus along the estrous cycle.

* $P < 0.05$ vs 21 hour at the same day



Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus in the cyclic rat.

M.E.Cruz, L.P.Jaramillo and R.Dominguez

Laboratory of Biology of Reproduction

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza UNAM

AP 9-020 CP 15000, México DF México

Supported by CONACYT, grant PCSACNA 50972 and Programa Universitario de Investigación Clínica.

We have previously shown that the response of the hypothalamic cholinergic system to unilateral section of the vagus nerve presents asymmetry (Cruz, Chávez, Martínez & Domínguez, 1987). On the other hand, the acetylcholinesterase activity in the hypothalamus varies along the oestrous cycle, during the day and some differences between the left and right side were also observed (Domínguez, Cruz, Chávez, et al. 1988).

The participation of the cholinergic system in the regulation of gonadotrophin secretion and ovulation is well documented (Everett, 1964), and differences in the ability of atropine along the oestrous cycle to block ovulation have been previously shown (Domínguez, Riboni, Zipitria & Revilla, 1982). We have also shown that the right and left ovaries have different ability to maintain normal ovulation in hemispayed rats, which depends on the integrity of the vagus nerve (Chávez, Cruz & Domínguez, 1987). In the hemispayed rat, lateralization in the hypothalamic mechanisms participating in the regulation of gonadotropin secretion and compensatory ovarian hypertrophy has been also described (Nance, White & Moger, 1983; Fukuda, Yamamouchi, Nakano et al. 1984).

Based on these antecedents, it was postulated that the hypothalamic cholinergic system which participates in the regulation of the ovarian function presents some lateralization which varies on the day of the cycle. To analyze this hypothesis, it was decided to study the effects of unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus on ovulation.

MATERIALS AND METHODS

Adult (190-225 g) virgin rats of the C II Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water. Oestrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with 4-day cycles were used.

Atropine implants. In rats on each day of the oestrous cycle a 20-gauge outer cannula was implanted stereotaxically under ether anaesthesia and vaginal smears were taken until regular 4-day cycles were established. After two consecutive 4-day cycles the inner cannula (25 gauge) bearing atropine at its tip was inserted at 13.00 h on oestrus or diestrus 1 and the pellet ejected. All animals were autopsied on the morning of the expected day of oestrus after they were implanted. As control, a group of animals with the inner cannula reaching the anterior hypothalamic region was used.

The animals were killed by decapitation, the oviducts dissected and ova counted using a dissecting microscope. The ovaries were dissected and weighed in a precision balance. The brain was dissected, fixed in 10% formaline, cut serially at 80 μ m and stained with cresyl violet. The localization of implants

was done with the aid of Koning and Klippel (1963) stereotaxic atlas.

Data were analyzed by multifactorial analysis of variance, Student's t test and Fisher's exact probability test.

RESULTS AND DISCUSSION

All the atropine implants were localized in the anterior hypothalamic region (figure 1). Table 1 presents the results obtained. The implant of atropine in dioestrus 1 blocked ovulation besides the side of hypothalamus. No differences were observed in the weight of the ovaries. The incidence of vaginal oestrus, however, was higher in those rats with atropine in the left side of the hypothalamus than those in the right one.

When the atropine implants were done at oestrus on the right side of the hypothalamus, none of the animals ovulated and vaginal cornification was also deleted. On the other hand, 100% of the animals with atropine implant in the left side of hypothalamus ovulated a full quota of ova, and all of them had vaginal cornification. No differences in the weight of the ovaries were observed. Those animals where the ovulation was blocked altered their oestrous cycle (increase in the number of dioestrous days), meanwhile cyclicity was not modified in those ovulating animals.

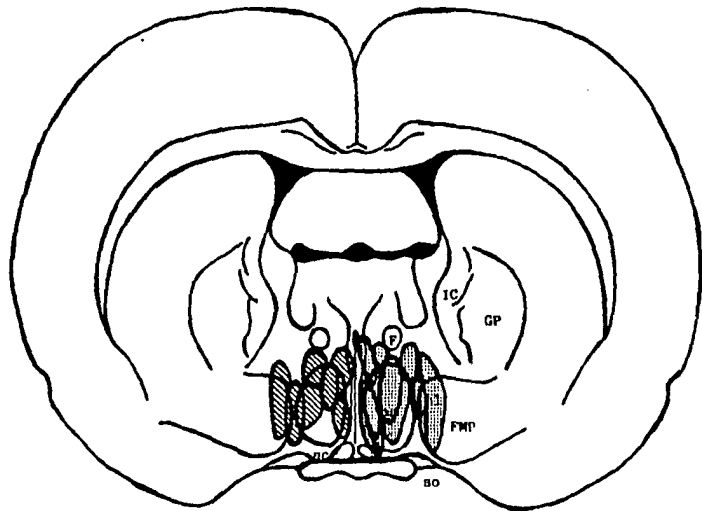
Results presented herein suggest the existence of a cholinergic hypothalamic lateralization in the mechanisms regulating ovarian function, which is different at oestrus and dioestrus 1. By the use of unilateral electrolytic lesions, an hypothalamic lateralization in the mechanisms regulating ovulation and ovarian weight, both in intact (Cruz, Morán, Jaramillo & Domínguez 1988) and hemispayed animals (Nance et al. 1983; Fukuda et al. 1984) has been described.

Present results are consistent with previous reports when atropine was given systemically at 13.00 h. In these experiments, the amount of the drug necessary to block ovulation was three times greater in oestrus than in dioestrus 1, and at 13.00 h the minimum dose used was effective at dioestrus 1 and ineffective at oestrus (Dominguez et al. 1982).

Taken together, all the evidences presented here and by other authors suggest that in the regulation of ovarian function exists differences in the participation of both sides of the hypothalamus. Also, the right and left ovary presents differences in their reactivity, perhaps due to their innervation.

Bibliography

- Chávez, R., Cruz, M.E. & Domínguez, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113, 397-401.
- Cruz, M.E., Chávez, R., Martínez, R. & Domínguez, R. (1987). Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat. *Medical Science Research* 15, 1531-1532.
- Cruz, M.E., Morán, J.L., Jaramillo, L.P. & Domínguez, R. (1988). Effects of unilateral lesion in the anterior hypothalamus (AH) on spontaneous ovulation in both normal or hemispayed (HS) rats. *Biology of Reproduction* in press.
- Domínguez, R., Cruz, M.E., Chávez, R., Rosas, P., Lujambio, V. & Morán, J.L. (1988). Variaciones circádicas de la actividad acetilcolinesterasa (AChE) en el hipotálamo derecho (HD) o izquierdo (HI) durante el ciclo estral. *Revista Española de Biología de la Reproducción* in press.
- Domínguez, R., Ribón, L., Zipitria, D. & Revilla, R. (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *Journal of Endocrinology* 95, 175-180.
- Everett, J.W. (1964). Central neural control of reproductive functions of the adenohypophysis. *Physiological Reviews* 44, 373-431.
- Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Furuya, H. & Arai, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropin function: unilateral hypothalamic lesions and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51, 365-370.
- Koning, J.F.R. & Klippel, R.A. (1963). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Nance, D.M., White, J.P. & Moger, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10, 353-355.



A 6360 μm

Figure 1. Diagrammatic representative of 8 atropine implants in right or left anterior hypothalamus in a representative frontal section. The black area indicates the implant area. ha, anterior hypothalamic nucleus; sc, suprachiasmatic nucleus; so, supraoptic nucleus; hl, lateral hypothalamic nucleus; FMP, fasciculus medialis prosencephali; F, fornix; GP, globus pallidus; IC, internal capsule.

Table 1. Ovulation rate (number of ovulating rats/number of treated ones), vaginal cornification rate (number of rats with vaginal cornification at autopsy/number of rats treated) and mean \pm s.e.m. of the number of ova shed and weight of the ovaries of rats with atropine implant on the anterior hypothalamus on oestrus or dioestrus 1, autopsied on the next expected day of oestrus.

GROUP	OVULATION	VAGINAL CORNIFICATION	OVA SHED		OVARIAN WEIGHT	
	RATE	RATE	LEFT	RIGHT	LEFT	RIGHT
Control	10/13	13/13	5.5 \pm 0.8	3.6 \pm 0.7	14.0 \pm 0.4	13.7 \pm 0.7
Dioestrus day right side	2/10 [‡]	1/10 [‡]	3.5 \pm 0.5 [‡]	8.0 \pm 1.0 ^{‡*}	13.4 \pm 0.8	12.1 \pm 0.5
Dioestrus day left side	1/9 [‡]	5/9 ^{‡**}	0	0	13.8 \pm 1.4	13.4 \pm 0.5
Oestrus day right side	0/8 [‡]	3/8 [‡]	0	0	13.0 \pm 1.1	11.3 \pm 0.7
Oestrus day left side	8/8	8/8	5.4 \pm 0.7	5.8 \pm 0.5	13.4 \pm 1.0	13.7 \pm 0.8

‡, P < 0.05 vs control group

*, P < 0.05 vs left ovary

** , P < 0.05 vs dioestrus day right side

**DIFFERENCES IN SPONTANEOUS OVULATION IN RATS WITH UNILATERAL
LESION OF THE HYPOTHALAMUS**

**María Esther Cruz, José L. Morán, Lydia P. Jaramillo and
Roberto Domínguez**

Laboratory of Biology of Reproduction

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza UNAM

AP 9-020, CP 15000, México D.F. México

**Supported by CONACYT, grant PCBACNA 50972 and Programa
Universitario de Investigación Clínica.**

There are several reports indicating the existence of differences in the gonadotropin releasing hormone (GnRH) concentration between the right and left side of the hypothalamus [1, 9], as well as in the concentration of noradrenaline between the right and left halves of the brain [14].

We have previously shown that hypothalamic acetylcholinesterase activity presents circadian variations along the estrous cycle [6]. In the male, unilateral section of the vagus nerve affects enzymatic activity in a different way in the left and right side of the hypothalamus [4].

Also, the existence of central and peripheral lateralization in the mechanisms regulating gonadal function in the hemicastrated animal have been proposed by different authors [3, 8, 12, 13]. Based on these evidences, it was decided to analyze if there is a direct link between either side of the hypothalamus and ovulation by the right and left ovary. As a working hypothesis, it was postulated that the left and right side of the anterior, medium and posterior hypothalamus play different roles in the regulation of the ovulatory process. To test the hypothesis, unilateral lesions in the anterior, medium and posterior were made and the spontaneous ovulation by the right and left ovary was recorded.

MATERIAL AND METHODS

Adult (190-225 g) virgin rats of the C II Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water. Estrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with 4-day cycles were used.

On diestrus 1, groups of animals were divided at random in the following experimental groups:

CONTROL GROUP. Ten animals were left untouched and killed on the next expected day of estrus.

SHAM OPERATED GROUP. Fourteen animals were anaesthetized with sodium pentobarbital (Anestesal, Smith Kline Norden de México, México) (30 mg/kg), placed in a stereotaxic apparatus, the skin opened, the skull drilled, the electrode introduced but no current was passed.

Rats with unilateral lesion of the hypothalamus. The animals were anaesthetized, placed in the stereotaxic apparatus and a radiofrequency lesion the right or left side of the anterior, medium or posterior hypothalamus was done.

Vaginal smears were taken 24 h after the animals were lesioned and they were autopsied in the day of estrus, after two consecutive estrous cycles of the same duration; the interval between hypothalamic lesion and autopsy was 12-42 days.

The animals were killed by decapitation, the oviducts dissected and ova counted using a dissecting microscope. The ovaries were dissected and weighed in a precision balance. The brain was dissected, fixed in 10% formaline, cut serially at 80 μ m and stained with cresyl violet. The localization of lesions was done with the aid of a stereotaxic atlas [11].

Data were analyzed by multifactorial analysis of variance [MANOVA] followed by Student's t test; by Fisher's exact probability test or chi squared test.

RESULTS

The estrous cycle was not modified by sham operation. Thirty one out of 58 animals with unilateral lesion of the hypothalamus recovered their previous estrous cycle length after the lesion. Twenty nine animals shifted their cycle from 4- to 5-day.

Ovulation rate (number of ovulating/number of treated rats) was similar in sham operated group compared with control group (14/14 and 10/10). Since there were no differences in the number of ova shed and the weight of the ovaries between sham and control animals, they were added together as a single control group.

Figures 1, 2 and 3 show the localization of right and left lesions in the anterior, medium and posterior hypothalamus.

The ovulation rate diminished in rats with lesion in the anterior hypothalamus (14/26 vs 24/24, $p < 0.05$), meanwhile it was not modified when the lesion was performed in the medium or posterior hypothalamus (20/20 and 11/12). No differences in the ovulation rate in those animals with anterior hypothalamic lesion in the right or left side was observed (6/10 and 8/16).

The lesion in the anterior hypothalamus induced a diminution in the number of ova shed independently the side of the lesion (tables 1 and 2). When the number of ova shed was compared between ovulating animals, the left ovary released more ova than the right one (6.0 ± 1.0 vs 3.2 ± 1.1 $p < 0.05$). No differences in the weight of the ovaries were observed (tables 1 and 2).

The number of ova shed by rats with lesion in the medium or posterior hypothalamus was similar to control group (tables 1 and 2). In those with left or right lesion in the medium hypothalamus, however, the right ovary released more ova than the left one (table 1). Such difference was not observed in the group of animals with posterior hypothalamic lesion, besides the left ovary of those animals with lesion in the right side of the posterior hypothalamus released less ova than the control group (tables 1 and 2). The number of ova shed by the left ovary diminished in all the groups of animals with unilateral lesion of

the hypothalamus (table 1), meanwhile the number of ova shed by the right ovary depended on the level of the hypothalamic lesion (table 1).

The weight of the ovaries increased in both, rats with medium or posterior lesion (table 1). That increase in the ovarian weight was produced by the lesion of the right side of the hypothalamus (table 2). The lesion in the left side of the hypothalamus did not modified that parameter. No differences in the weight of the uterus were observed.

DISCUSSION

It is well known that the bilateral lesion of the anterior hypothalamus produces persistent vaginal cornification, polyestrous ovary and absence of spontaneous ovulation [2]. Present results indicate that both sides of the anterior hypothalamus participate in the regulation of ovulation, since besides the ovulation rate and number of ova shed diminished in those animals with unilateral lesion, a persistent estrous syndrome was not observed. Then, each side of the hypothalamus seems to be able to compensate partially the absence of the other.

The existence of peripheral lateralization in the mechanisms regulating ovulation was previously suggested [3] and differences in the ovulatory ability by the right and left ovary as well as its dependence ovarian innervation, were previously shown [5]. Present results indicate that when an unilateral lesion on each side of the hypothalamus was performed, the ovulatory ability of the left ovary always diminished; meanwhile the right ovary was able to compensate the diminution in the number of ova shed by the left one only when the medium hypothalamus was lesioned.

The weight of the ovaries seems to be regulated in a different way than the ovulation process. While the lesion of anterior hypothalamus decreased ovulation, the weight of the ovaries was not affected. On the other hand, ovulation was not affected by medium or posterior hypothalamic lesions, but the weight of the ovaries was increased in both groups of animals. Since ovulation was not modified in these animals, it is possible to think that gonadotropin secretion was not severely affected. Then, it would be possible to suggest that neural information arising from the medium and posterior hypothalamus modulates the growth and differentiation of the follicular ovarian compartment. The possibility that neural information arising from the anterior hypothalamus modulates the ovulatory process, cannot be advanced since changes in gonadotropin secretion cannot be discarded as an explanation for present results. However, there are evidences indicating that it is possible to affect ovulation without drastic modifications in the follicle stimulating and luteinizing hormone (LH) serum levels during diestrus 1 and 2 [7] and that the amounts of LH released on the afternoon of proestrus is much more than the minimum quantity of the hormone required to induce ovulation [10].

Bibliography

1. Bakalkin, G.Y., Tsibezov, V.V., Sjutkin, E.A., Veselova, S.P., Novilov, I.D. and Krivosheev, O.G. Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res.* 296: 361-364, 1984
2. Barraclough, C.A. Sex steroid regulation of reproductive neuroendocrine processes. In: *Handbook of Physiology, Section Z: Endocrinology*, vol. II edited by R.O. Greep and E.B. Astwood. Washington D.C.: American Physiological Society, 1973 pp. 29-56.
3. Chávez, R., Cruz, M.E. and Domínguez, R. Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J. Endocrinol.* 113: 397-401, 1987.
4. Cruz, M.E., Chávez, R., Martínez, R. and Domínguez, R. Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat. *Med. Sci. Res.* 15: 1531-1532, 1987
5. Domínguez, R., Cruz, M.E. and Chávez, R. Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. *Berono Symposia*. 1988 send to publish.
6. Domínguez, R., Cruz, M.E., Chávez, R., Rosas, P., Lujambio, V. and Morán, J.L. Variaciones circádicas de la actividad acetilcolinesterasa (ACHE) en el hipotálamo derecho (HD) o izquierdo (HI) durante el ciclo estral. *Revista Iberoamericana de Biología de la Reproducción* in press.
7. Domínguez, R., Gaitán, C.M., Méndez, B.A. and Ulloa-Aguirre, A. Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotropin levels in the rat. *J. Endocrinol.* 113:37-44, 1987
8. Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Furuya, H. and Arai, Y. Hypothalamic laterality in regulating gonadotropin functions: unilateral hypothalamic lesions and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51: 365-370, 1984.
9. Gerandai, I., Rotsytein, W., Marchetti, B. and Scapagnini, V. LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects. Proceedings of Second Symposium*, vol. 19, edited by A. Polleri and R. MacLeod. New York. Academic Press, 1979, pp. 97-102.

10. Gosden, R.G., Everett, J.W. and Tyrey, L. Luteinizing hormone requirements for ovulation in the pentobarbital-treated proestrus rat. *Endocrinology* 99: 1046-1053, 1976
11. Koning, J.F.R. and Klippel, R.A. The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore. The Williams and Wilkins Co. 1963.
12. Nance, D.M. and Moger, W.H. Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Bull. Res.* 8: 299-302, 1982.
13. Nance, D.M., White, J.P. and Moger, W.H. Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Res. Bull.* 10: 353-355, 1983.
14. Dke, A., Lewis, R. and Adams, R.M. Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in the rat thalamus. *Brain Res.* 188: 269-272, 1980.

Table 1. Mean \pm s.e.m. of the number of ova shed released and weight of the right and left ovary by rats with unilateral lesion of the anterior, medium or posterior hypothalamus, autopsied on the estrous day after two consecutive estrous cycles of the same length.

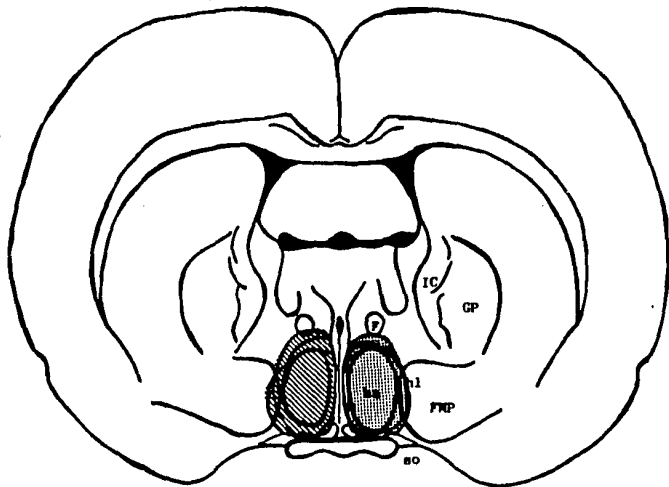
Group	NUMBER OF OVA SHED		
	right ovary	left ovary	both ovaries
control	4.6 \pm 0.5	5.7 \pm 0.5	10.3 \pm 0.8
anterior hypothalamus	1.8 \pm 0.5*	3.2 \pm 0.7*	5.0 \pm 1.1*
medium hypothalamus	6.4 \pm 0.6*	4.2 \pm 0.6*	10.6 \pm 0.8
posterior hypothalamus	4.1 \pm 0.7	3.9 \pm 0.6*	8.0 \pm 1.2
WEIGHT OF THE OVARIES			
control	12.2 \pm 0.6	12.4 \pm 0.5	24.6 \pm 0.9
anterior hypothalamus	11.6 \pm 0.7	12.5 \pm 0.8	24.3 \pm 1.3
medium hypothalamus	13.8 \pm 0.6	14.2 \pm 0.5*	27.9 \pm 0.9*
posterior hypothalamus	14.6 \pm 0.8*	13.6 \pm 0.9	28.2 \pm 1.5*

* $p < 0.05$ vs control (t test after MANOVA)

$p < 0.05$ vs right ovary (t test after MANOVA)

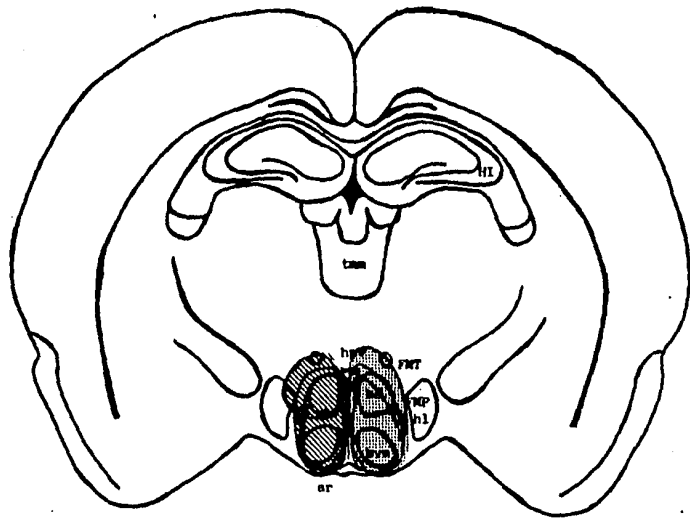
Table 2. Mean \pm s.e.m. of the number of ova shed released and weight of the right and left ovary by rats with right or left lesion of the anterior, medium or posterior hypothalamus, autopsied on the estrous day after two consecutive estrous cycles of the same length.

Group	NUMBER OF OVA SHED		
	right ovary	left ovary	both ovaries
control	4.6 \pm 0.5	5.7 \pm 0.5	10.3 \pm 0.8
right anterior hypothalamus	1.9 \pm 0.8§	3.6 \pm 1.1	5.5 \pm 1.7§
left anterior hypothalamus	1.7 \pm 0.7§	2.9 \pm 0.8§	4.6 \pm 1.4§
right medium hypothalamus	6.3 \pm 0.8	4.0 \pm 0.7§	10.0 \pm 0.9
left medium hypothalamus	6.7 \pm 0.9§	4.1 \pm 0.8§	10.8 \pm 0.7
right posterior hypothalamus	5.2 \pm 0.7	3.7 \pm 0.8§	8.8 \pm 0.9
left posterior hypothalamus	3.6 \pm 1.0	4.2 \pm 0.9	7.2 \pm 1.6
WEIGHT OF THE OVARIES			
control	12.2 \pm 0.6	12.4 \pm 0.5	24.6 \pm 0.9
right anterior hypothalamus	12.4 \pm 0.8	13.1 \pm 1.3	26.1 \pm 1.7
left anterior hypothalamus	11.0 \pm 1.0	12.1 \pm 0.9	23.2 \pm 1.7
right medium hypothalamus	14.9 \pm 1.1	15.2 \pm 0.9§	30.1 \pm 1.5§
left medium hypothalamus	12.7 \pm 0.3	13.3 \pm 0.6	25.7 \pm 0.5
right posterior hypothalamus	15.8 \pm 1.0§	14.3 \pm 1.8	30.1 \pm 2.5§
left posterior hypothalamus	13.4 \pm 1.1	12.9 \pm 0.7	26.2 \pm 1.5
§ p < 0.05 vs control; # p < 0.05 vs right ovary (t test after MANOVA)			



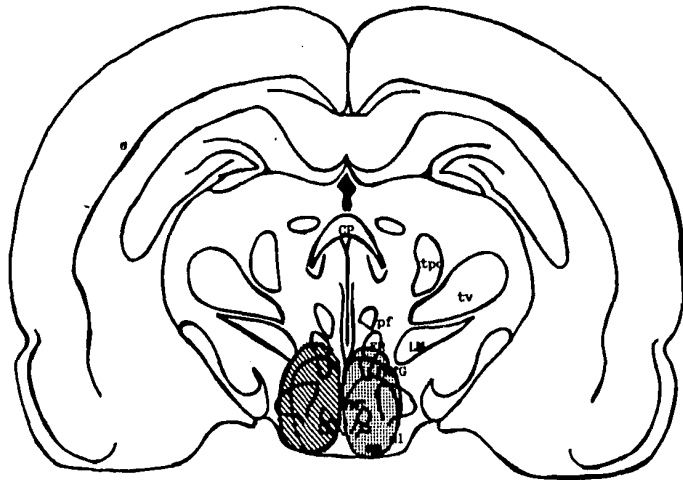
A 6360 μ m

Figure 1. Diagrammatic representation of the right or left side anterior hypothalamic lesions in a representative frontal section. The black area indicates the lesioned area. ha, anterior hypothalamic nucleus; sc, suprachiasmatic nucleus; so, supraoptic nucleus; hl, lateral hypothalamic nucleus; FMP, fasciculus medialis prosencephali; F, fornix; GP, globus pallidus; IC, internal capsule.



A 4380 μ m

Figure 2. Diagrammatic representation of the extent of the right or left side medium hypothalamic lesions in a representative frontal section. The black area indicates the lesioned area. ar, arcuatus nucleus; hpv, periventricular nucleus; hvm, ventromedial nucleus, hd, dorsomedial nucleus; F, fornix; FMT, fasciculus mamillothalamicus; FMP, fasciculus medialis prosencephali; hl, lateral hypothalamic nucleus; tmm, thalamic medial nucleus; HI, hippocampus.



A 2790 μ m

Figure 3. Diagrammatic representation of the extent of the right or left side posterior hypothalamic lesion in a representative frontal section. The black area indicates the lesioned area. mm, mamillar medial nucleus; ml, mamillar lateral nucleus; FMT, fasciculus mamillothalamicus; FMTG, fasciculus mamillogigantalis; CP, posterior commissure; pf, parafascicularis nucleus; FR, fasciculus retroflexus; tv, thalamic ventral nucleus; tpo, thalamic posterior nucleus; LM, lemniscus medialis.

Differential effects of unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemispayed adult rats

Maria Esther Cruz, José L. Morán, Lydia P. Jaramillo and Roberto Domínguez

Laboratory of Biology of Reproduction

Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza

AP 9-020, CP 15000, México DF, México

Supported by CONACYT, grant PCSACNA 50972 and Programa Universitario de Investigación Clínica.

According to various authors exists the possibility to modify compensatory ovarian hypertrophy by unilateral deafferentation or lesion of the hypothalamus in hemispayed rats [Nance, White & Moger, 1983; Fukuda, Yamanouchi, Nakano et al 1984]. Also, evidences showing the possible existence of peripheral lateralization in the mechanisms regulating ovulation in both, the intact and hemispayed rat have been presented [Cruz, Chávez & Domínguez, 1986; Chávez, Cruz & Domínguez, 1987].

There are several reports indicating the existence of differences in the gonadotropin releasing hormone (GnRH) concentration between the right and left side of the hypothalamus [Balkalkin, Tisbezov, Sjutkin et al. 1984; Gerandai, Rotaystein, Marchetti & Scapanim, 1979], and in the concentration of noradrenaline between the right and left halves of the brain [Oke, Lewis & Adams, 1980].

It was previously shown that hypothalamic acetylcholinesterase activity presents circadian variations along the estrous cycle and variations between the left and right side of the hypothalamus were also observed [Domínguez, Cruz, Chávez et al. 1988]. In the male, unilateral section of the vagus nerve affects enzymatic activity in a different way in the left and right side of the hypothalamus [Cruz, Chávez, Martínez & Domínguez, 1987]. It was also showed that the hypothalamic enzymatic activity is depressed by both hemicastration and bilateral orchidectomy [Martínez, Zipitria & Domínguez, 1988].

Based on these evidences, it was decided to analyze if in the hemispayed rat the ovulatory ability of the left and right ovary depends on the integrity of the ipsi or contralateral side of the anterior and medium hypothalamus. Previously it has been observed that it depends on the ipsi or contralateral vagus nerve [Chávez et al. 1987].

MATERIALS AND METHODS

Adult (190-225 g) virgin rats of the C 11 Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water. Oestrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with 4-day cycles were used.

On oestrus, groups of animals were divided at random in the following experimental groups:

CONTROL GROUP. Rats were anaesthetized with sodium pentobarbital, laparotomized and the left or right ovary was extirpated and weighed with a precision balance. The oviducts were dissected and the ova counted using a dissecting microscope.

Rats with unilateral lesion of the hypothalamus. The animals were anaesthetized, placed in the stereotaxic apparatus and a radiofrequency lesion in the right or left side of the anterior or medium hypothalamus was performed. After the animals were lesioned, a laparotomy was performed and the ipsi or contralateral ovary to the lesioned hypothalamus was performed. The ovary was weighed and the ova counted in the oviduct.

Vaginal smears were taken 24 h after the animals were lesioned and they were autopsied in the day of oestrus, after two consecutive oestrous cycles of the same duration; the interval between hypothalamic lesion or hemispaying and autopsy was 8-40 days

All animals were killed by decapitation. Oviducts were dissected, ova counted using a dissecting microscope and the compensatory ovulation hypertrophy [COvulH] was calculated:

$COvulH = \frac{\text{number of shed by the ovary in situ} - \text{number of ova shed by the ovary extirpated}}{\text{number of ova shed by the ovary extirpated}} \times 100$. The remaining ovary was removed, weighed compensatory ovarian hypertrophy [COH] was calculated as previously [Dominguez & Riboni, 1971; Chavez et al. 1987]. All weights are expressed as mg/100 g body weight. The uterus was dissected and weighed.

The brain was dissected, fixed in 10% formaline, cut serially at 80 μ m and stained with cresyl violet. The localization of lesions was done with the aid of a stereotaxic atlas [Koning & Klippel, 1963].

Data were analyzed by multifactorial analysis of variance (MANOVA), Student's t test, Fisher's exact probability test or chi squared test.

RESULTS

The oestrous cycle was not modified by hemispaying; 43 out of 63 animals with unilateral hypothalamic lesion recovered their previous oestrous cycle. Those animals which did not recover their oestrous cycle (ten with lesion on each side of the hypothalamus) were autopsied in the first vaginal oestrus after 30 days postsurgery.

Ovulation rate (number of ovulating/number of treated rats) diminished in those animals with anterior hypothalamic lesion (19 out of 34 vs 18 out of 20, $p < 0.05$, chi square test). The lesion in the anterior left hypothalamus induced a smaller ovulation rate than the anterior right lesion (5 out of 16 vs 14 out of 18, $p < 0.05$, chi square test). In those animals with anterior left hypothalamic lesion, when the remaining ovary was the ipsilateral to the lesion none of them ovulated (0/7), meanwhile 5 out of 7

in which the remaining ovary was the contralateral to the lesion (right ovary) ovulated. Ovulation rate was not modified by the lesion of either side in the medium hypothalamus (24 out of 28 animals ovulated vs 18 out of 20, NS).

Table 1 shows the results of the number of ova shed and the percentage of COvulH in the different groups. The weight of the ovaries and the percentage of COH are presented on table 2.

No differences in the COvulH between the right and left hemispyayed rats were observed (table 1). COH, however, was higher in those animals with right ovary in situ (table 2).

The lesion of the right anterior hypothalamus did not modified by COvulH of the contralateral ovary but diminished it in the ipsilateral ovary. On the other hand, lesion of the left anterior hypothalamus blocked ovulation of the ipsilateral ovary and did not modified ovulation by the contralateral ovary. When the lesion was performed on the medium hypothalamus, COvulH was diminished in both ipsi and contralateral ovary to the lesion (table 1).

The lesion in the right side of the anterior and medium hypothalamus induced an increase in the COH by the left ovary and a decrease of the same parameter by the right ovary. In those animals with lesion in the anterior left hypothalamus, the COH of the ipsilateral ovary to the lesion was increased, meanwhile it was not modified in the contralateral ovary. When the lesion was performed in the left medium hypothalamus, COH by the ipsilateral ovary to the lesion was not modified, but it was diminished in the contralateral ovary (table 2). No differences in the weight of the uterus were observed.

DISCUSSION

Results presented herein agree with previous statements that a hemispyayed animal is not only an animal without one ovary [Chávez et al.1987]. The "ovulatory efficiency" by the left ovary seems to be higher than the right one, since compensatory ovulatory hypertrophy by the left ovary was achieved without an important increase in his compensatory ovarian hypertrophy.

Results obtained in presente study on COH are partially similar to those observed previously by Fukuda et al.(1984), since we observed a decrease in COH of the ipsilateral ovary in those animals with lesion in the right side of the hypothalamus and no changes in the COH of the right ovary when the lesion was performed in the left anterior hypothalamus. In our study the left ovary always showed an increase in the COH, besides the side of the anterior hypothalamic lesion. That differences between present results and those by Fukuda et al may be related to the day of the oestrous cycle when the lesion was performed, the localization of the lesion, the day of the cycle when the animals were autopsied and the period between surgery and autopsy.

According to present results, the information arising from each side of the anterior hypothalamus is very important for the ovulatory performance of the ipsilateral ovary to the lesion. The "ovulatory efficiency" by the left ovary depends on the ipsilateral anterior hypothalamus, since those animals with a lesion in the left anterior hypothalamus they were unable to ovulate besides an increase in their COH. On the other hand, when the right anterior hypothalamus was lesioned and the left ovary was *in situ*, it maintained its ovulation by an increase in its weight. It seems that the right ovary is less dependent on the information arising from the ipsilateral anterior hypothalamus, since ovulation was maintained besides a decrease in its COH.

Differences in the ovulatory ability in hemispayed rats, between the right and left ovary were previously shown by us, when the animals were hemispayed on each day of the oestrous cycle (Chávez et al. 1987). Such differences were not present in this study; that differences may be related to the day of the cycle when the animals were hemispayed. In present study all the animals were hemispayed on oestrous, and we have previously shown that the ability of the regulatory systems varies along the cycle (Dominguez et al. 1987; 1988).

Compensatory ovulation hypertrophy by both ovaries seems to depend on the integrity of both sides of the medium hypothalamus, meanwhile, right ovarian COH depends on the integrity of both sides of the hypothalamus and the left ovary increased its weight besides the lack of each side of the medium hypothalamus.

Taken together, present results suggest that differences in the ovulatory ability by right and left ovaries might reflect differences in the information arising from each side of the hypothalamus. Also, that a compensatory increase in the weight of the ovary following hemispaying is not necessary followed by an increase in their ovulatory ability.

Bibliography

- Bakalkin, G.Y., Tsibezov, V.V., Sjutkin, E.A., Veselova, S.P., Novilov, I.D. and Krivosheev, O.G. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Research* 296, 361-364.
- Chávez, R., Cruz, M.E. & Domínguez, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113, 397-401.
- Cruz, M.E., Chávez, R., Martínez, R. & Domínguez, R. (1987). Differences in the acute changes in acetylcholinesterase activity in several brain structures induced by bilateral or unilateral section of the vagi nerves in the adult male rat. *Medical Science Research* 15, 1531-1532.
- Domínguez, R., Cruz, M.E., Chávez, R., Rosas, P., Lujambio, V. & Morán, J.L. (1988). Variaciones circádicas de la actividad acetilcolinesterasa (AChE) en el hipotálamo derecho (HD) o izquierdo (HI) durante el ciclo estral. *Revista Española de Biología de la Reproducción* in press.
- Domínguez, R., Gaitán, C.M., Mández, S.A. & Ulloa-Aguirre, A. (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113, 37-44.
- Fukuda, M., Yamanouchi, K., Nakano, Y., Furuya, H. & Arai, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropin functions: unilateral hypothalamic lesions and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51, 365-370.
- Gerandai, I., Rotsytein, W., Marchetti, B. & Scapegnini, V. (1979). LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Proceeding of Seroeno Symp., A. Polleri and R. MacLeod. vol. 19, 97-102. New York. Academic Press.
- Koning, J.F.R. & Klippel, R.A. (1963). *The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem.* The Williams and Wilkins Co. Baltimore.
- Martínez, R., Zipitria, D. and Domínguez, R. Changes in the circadian acetylcholinesterase activity in hypothalamus and cerebellum induced by castration or hemicastration in the adult male rat. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research*. submitted to be published

- Nance, D.M. and Moger, W.H. (1982) Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Research Bulletin Research*, 8, 299-302.
- Nance, D.M., White, J.P. & Moger, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10, 353-355
- Oke, A., Lewis, R. and Adams, R.M. (1980). Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in the rat thalamus. *Brain Research*, 188, 269-272

Table 1. Mean \pm s.e.m. of the number of ova shed and percentage of compensatory ovulation hypertrophy [COvulH] by the right and left ovary in right or left hemispayed [HS] rats with or without lesion in the right and left anterior or medium hypothalamus. In brackets number of ova shed by the extirpated ovary.

group	number of ova shed		COvulH	
	right	left	right	left
right HS	[5.7 \pm 0.5]	10.2 \pm 0.5	-	79
left HS	9.3 \pm 0.8	[5.5 \pm 0.7]	69	-
lesion in right Anterior Hypothalamus				
right HS	[5.2 \pm 0.5]	8.9 \pm 0.7	-	71
left HS	7.8 \pm 1.2	[5.4 \pm 0.8]	44 [§]	-
lesion in left Anterior Hypothalamus				
right HS	[5.9 \pm 0.3]	0	-	0
left HS	10.4 \pm 1.4	[6.3 \pm 0.5]	65 [§]	-
lesion in right Medium Hypothalamus				
right HS	[6.1 \pm 0.8]	8.9 \pm 0.9	-	46 [§]
left HS	6.0 \pm 1.7	[4.9 \pm 0.5]	22 [§]	-
lesion in left Medium Hypothalamus				
right HS	[5.7 \pm 0.9]	8.8 \pm 0.7	-	54 [§]
left HS	8.3 \pm 1.2	[5.4 \pm 0.9]	54 [§]	-

§ p < 0.05 vs control group in same side (chi square test)

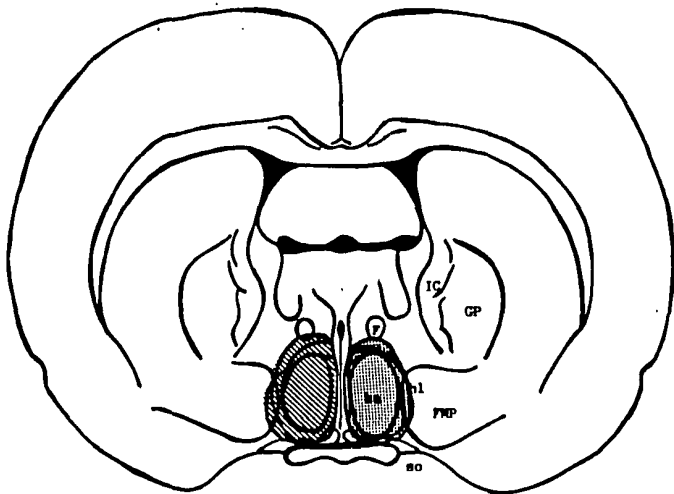
¶ p < 0.05 vs left ovary in the same group (chi square test)

Table 2. Mean \pm s.e.m. of the weight of ovary [mg/100 g body weight] and percentage of compensatory ovarian hypertrophy [COH] by the right and left ovary in right or left hemispayed (HS) rats with or without lesion in the right and left anterior or medium hypothalamus. In brackets weight of the extirpated ovary.

group	weight of the ovary		right	COH	left
	right	left			
right HS	[16.1 \pm 1.0]	17.1 \pm 1.0	-		10
left HS	19.1 \pm 0.6	[13.9 \pm 0.9]	37 [#]		-
lesion in right Anterior Hypothalamus					
right HS	[15.1 \pm 0.6]	25.0 \pm 2.5	-		66 [‡]
left HS	18.0 \pm 2.1	[15.1 \pm 0.9]	19 ^{##}		-
lesion in left Anterior Hypothalamus					
right HS	[13.6 \pm 1.3]	18.4 \pm 1.1	-		35 [‡]
left HS	23.1 \pm 1.2	[18.0 \pm 0.7]	28		-
lesion in right Medium Hypothalamus					
right HS	[14.9 \pm 1.2	21.6 \pm 0.9	-		45 [‡]
left HS	18.0 \pm 0.6	[14.7 \pm 1.2]	22 ^{##}		-
lesion in left Medium Hypothalamus					
right HS	[17.1 \pm 0.7]	20.0 \pm 0.7	-		17
left HS	22.9 \pm 3.5	[18.6 \pm 1.0]	23 [‡]		-

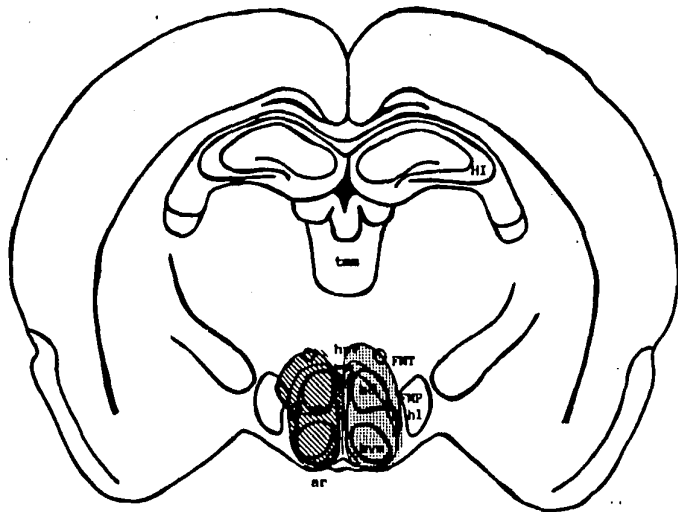
[‡] p < 0.05 vs control group in same side (chi square test)

[#] p < 0.05 vs left ovary in the same group (chi square test)



A 6360 μm

Figure 1. Diagrammatic representation of the right or left side anterior hypothalamic lesions in a representative frontal section. The black area indicates the lesioned area. ha, anterior hypothalamic nucleus; sc, suprachiasmatic nucleus; so, supraoptic nucleus; hl, lateral hypothalamic nucleus; FMP, fasciculus medialis prosencephali; F, fornix; GP, globus pallidus; IC, internal capsule.



A 4380 μ m

Figure 2. Diagrammatic representation of the extent of the right or left side medium hypothalamic lesions in a representative frontal section. The black area indicates the lesioned area. ar, arcuatus nucleus; hvp, periventricular nucleus; hvm, ventromedial nucleus, hd, dorsomedial nucleus; F, fornix; FMT, fasciculus mamillothalamicus; FMP, fasciculus medialis prosencephali; hl, lateral hypothalamic nucleus; tmm, thalamic medial nucleus; HI, hippocampus.