



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS

PROFESIONAL Y DE POSGRADO

CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

**"ESTUDIO DE LA PARTICIPACION DEL SISTEMA
DOPAMINERGICO DE LAS AREAS PREOPTICAS E
HIPOTALAMICA ANTERIOR EN LA REGULACION DE
LA FUNCION DEL OVARIO DE LA RATA ADULTA"**

T E S I S

Que para obtener el Grado de:
DOCTOR EN CIENCIAS

F I S I O L O G I C A S

P r e s e n t a :

JOSE LUIS MORAN PERALES

DIRECTOR DE TESIS: DR. ROBERTO DOMINGUEZ CASALA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

México, D. F. 1996.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

03086
7
217

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS
PROFESIONAL Y DE POSGRADO

CENTRO DE NEUROBIOLOGÍA

ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO DE LAS
ÁREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR EN LA REGULACIÓN DE LA
FUNCIÓN DEL OVARIO DE LA RATA ADULTA

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

QUE PRESENTA:

JOSÉ LUIS MORÁN PERALES

Director de Tesis: Dr. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ

México, D.F.

Mayo 1996

Universidad Nacional Autónoma de México

**Colegio de Ciencias y Humanidades
Unidad Académica de los Ciclos Profesional y de Posgrado**

Centro de Neurobiología

**ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO DE LAS
ÁREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR EN LA REGULACIÓN DE LA
FUNCIÓN DEL OVARIO DE LA RATA ADULTA**

Autor: JOSÉ LUIS MORÁN PERALES

Director: Dr. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ

Esta tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Neuroendocrinología de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, U.N.A.M.

Durante la realización de este trabajo se contó con el apoyo financiero del CONACyT (proyecto IN1719), de la Dirección General de Asuntos para el Personal Académico de la UNAM (DGAPA: proyectos ESP200191 e IN210893), del Programa Universitario de Investigación en Salud de la UNAM (PUIS), del Programa de Apoyo a las Divisiones de Estudios de Posgrado de la UNAM (PADEP: proyectos DCCH9249, 030373, 030377 y 030302).

Dedicatoria.

**A mis padres: Rogelio y Marina,
con todo mi cariño
y sincero agradecimiento**

**A mi hija: Brenda
con todo mi amor**

**A la memoria de Marcelo[†],
inolvidable amigo**

Agradecimientos.

A los miembros del jurado:

Dr. Raúl Aguilar Roblero
Dr. León Cintra McGlone
Dra. Rebeca Chávez Génaro
Dra. María Esther Cruz Beltrán
Dr. Gonzálo Martínez de la Escalera
Dr. Raúl Salas Alvarado

por sus atinadas críticas e invaluables sugerencias que hicieron posible la mejor presentación de este trabajo .

Muy especialmente:

al Dr. Roberto Domínguez Casalá
por brindarme parte de su valioso tiempo a la dirección de esta tesis .

A todos mis compañeros del L-323,
quienes con su amistad y apoyo hicieron posible la realización de este proyecto .

ÍNDICE.

RESUMEN	i
SUMMARY	iii
INTRODUCCIÓN	1
PAPEL DE LAS ÁREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL OVARIO	5
Estructura del hipotálamo	5
Inervación dopaminérgica de POA-AHA	5
Farmacología del haloperidol	7
Estudios Experimentales	11
EL HIPOTÁLAMO Y LA GnRH	13
Estructura Molecular, síntesis y mecanismos de acción de la GnRH	13
Localización de la neuronas GrRH-érgicas	14
Regulación de la secreción de la GnRH	15
REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE GONADOTROPINAS	16
La secreción de la FSH y la LH	17
La secreción de la prolactina	19
EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS ESTRÓGENOS Y LA PROGESTERONA SOBRE LA VAGINA Y EL ÚTERO	21
LATERALIZACIÓN DE LOS MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS QUE PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA	24
Asimetría y lateralización en el hipotálamo	26
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	29
HIPÓTESIS DE TRABAJO	30
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS PARTICULARES	30
MATERIALES y MÉTODOS	31

ÍNDICE (continua).

Colocación de la cánula permanente (directriz)	31
Evaluación del ciclo estral por medio del estudio de los cambios del epitelio vaginal por el estudio del frotis vaginal	32
Procedimiento de autopsia	32
Análisis estadístico	33
EXPERIMENTO No.1	35
RESULTADOS	36
Efectos de la cánula permanente	36
Efectos del implante unilateral de colesterol o haloperidol sobre las tasas de ovulación, cornificación, diestro, proestro vaginal y de útero distendido	37
EXPERIMENTO No.2	44
1. Reemplazo hormonal de la señal GnRH-érgica	44
RESULTADOS	45
2. Reemplazo hormonal de la señal ovárica	48
RESULTADOS	48
EXPERIMENTO No.3	52
RESULTADOS	53
Implante unilateral de fármaco diluido realizado en el día del estro	53
Efectos del implante unilateral de la mezcla 1:1 de haloperidol + colesterol sobre las tasas de cornificación, diestro, proestro vaginal y de útero distendido	56
DISCUSIÓN GENERAL	59
CONCLUSIONES	62
PERSPECTIVAS	63
BIBLIOGRAFÍA	64
TRABAJOS y PUBLICACIONES	79

RESUMEN.

La participación del sistema dopaminérgico en el control neuroendócrino de la secreción de gonadotropinas y de la ovulación es controversial. Algunos estudios farmacológicos han mostrado que la dopamina regula de manera inhibitoria la secreción de gonadotropinas, mientras que otros han permitido afirmar que su participación es de tipo estimulante. Por otra parte, se ha observado que la participación del sistema colinérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) en la regulación de la ovulación es lateralizada y varía durante el ciclo estral de la rata.

Con el propósito de analizar si la información dopaminérgica que llega a POA-AHA se comporta de la forma descrita para el sistema colinérgico, en el presente trabajo se estudiaron los efectos del implante unilateral de $10.0 \pm 3.0 \mu\text{g}$ de cristales de haloperidol (fármaco antagonista de los receptores dopaminérgicos DA-1 y DA-2) en lado derecho o izquierdo de POA-AHA realizado a las 13:00 h en los diferentes días del ciclo estral, sobre la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y la ovulación espontánea, evaluados por el análisis de indicadores biológicos (las tasas de ovulación (TAO), de cornificación (TCV), de diestro (TDV) o de proestro vaginal (TPV) y de útero distendido (TUD)) de ratas adultas con ciclos estrales regulares de cuatro días de duración (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro). Como grupo testigo se utilizaron animales a los que se les implantaron $8.0 \pm 2.0 \mu\text{g}$ de cristales de colesterol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA en los diferentes días del ciclo estral.

Los implantes unilaterales de haloperidol, realizados en los días del estro y del diestro-1 bloquearon la ovulación de los animales respecto a sus grupos con colesterol (1/41 vs 26/50, $p < 0.05$); el implante izquierdo en el día del estro, y el derecho en el día del diestro-1, indujeron una disminución en la TCV y en la TUD con aumento de la TDV. En el día del diestro-2, el implante unilateral con haloperidol no modificó la TAO comparada con la del grupo con colesterol (Haloperidol: 8/19 vs Colesterol: 10/17), sin embargo, los implantes del lado izquierdo disminuyeron la TAO respecto a los implantes colocados en el lado derecho (Implantes del Lado Derecho: 10/14 vs Implantes del Lado Izquierdo: 8/22, $p < 0.05$); los implantes en el lado izquierdo disminuyeron la TCV con el aumento de la TDV. Los implantes unilaterales realizados en el día del proestro no modificaron la ovulación espontánea de los animales (Haloperidol: 15/15 vs Colesterol: 20/20). No se observaron modificaciones en el número de ovocitos liberados por animal ovulante en ninguno de los casos.

Para analizar los mecanismos neuroendócrinos afectados por la interrupción de la información dopaminérgica que llega a POA-AHA y que resultaron el bloqueo de la ovulación, otros grupos de animales con el implante unilateral de haloperidol,

se inyectaron con $3.7 \mu\text{g}/\text{k}$ de peso corporal con GnRH sintética a las 13:00 h del proestro esperado ó con $10 \mu\text{g}$ de benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro-2. La GnRH restableció el 100% de la ovulación en los animales con implantes unilaterales con colesterol realizados en estro y diestro-1. En los grupos con implante unilateral de haloperidol en diestro-1, la GnRH restableció la ovulación, pero en los animales con implante unilateral de haloperidol realizado en el día del estro la ovulación se restableció parcialmente (70%). La administración de BE restableció la ovulación en los grupos con colesterol y haloperidol implantados en el día del diestro-1. La inyección con BE restableció la ovulación en los animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo de POA-AHA realizado en el día del estro, en tanto que en los animales con implante en el lado derecho la ovulación no se restablece (Implante del Lado Derecho: 0/8 vs Implante del Lado Izquierdo: 5/6, $p < 0.05$). El número de ovocitos liberados por animal ovulante disminuyó en los grupos con implante de haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA realizado en los días del estro o del diestro-1 que recibieron el reemplazo hormonal con estrógenos (Haloperidol+BE: 7.5 ± 1.4 vs Colesterol+BE: 11.5 ± 0.6 , $p < 0.05$).

Para evaluar si la dosis de haloperidol empleada inicialmente pudo enmascarar algún efecto asimétrico sobre la respuesta ovulatoria de los animales, se evaluaron los efectos de la colocación de un implante unilateral con $10.0 \pm 4.0 \mu\text{g}$ de haloperidol diluido en colesterol (mezcla de cristales 1:1). El implante del fármaco diluido realizado a las 13:00 h del día del estro en el lado derecho de POA-AHA bloqueó la ovulación en todos los animales, en tanto que el realizado en el lado izquierdo no afecta la respuesta ovulatoria de los animales (Implante del Lado Derecho: 0/8 vs Implante del Lado Izquierdo: 5/8). La administración de GnRH a las 13:00 h del proestro esperado en el grupo con implante del lado derecho restableció parcialmente la ovulación (5/6) con la liberación de una cuota normal de ovocitos, mientras que el reemplazo hormonal con BE sigue resultando inefectivo en el restablecimiento de la respuesta ovulatoria (0/4).

Estos resultados nos permiten sugerir que la participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación varía durante el ciclo estral y es de tipo estimulante. El bloqueo de los receptores dopaminérgicos en POA-AHA inhibió la secreción preovulatoria de la GnRH, lo que puede ser reflejo de la alteración de la secreción de estrógenos indispensables para cerrar el circuito y con ello el estímulo de la secreción de la GnRH. El sistema dopaminérgico del lado derecho de POA-AHA en el día del estro es indispensable para que se produzca el efecto *feedback* estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2. En el día del estro, el sistema dopaminérgico del lado derecho de POA-AHA es más sensible al bloqueo inducido por haloperidol que el izquierdo.

SUMMARY.

The role of dopaminergic system on the neuroendocrine control of gonadotrophins secretion and ovulation are controversial. Several pharmacological studies has shown that dopamine regulates in inhibitory fashion the gonadotrophins secretion, also others supported that participation is stimulatory. Another hand, it was observed that role of cholinergic system of the preoptic-anterior hypothalamic areas (POA-AHA) on ovulatory regulation is stimulating and varies during the estral cycle of the rat.

To analyzer if the POA-AHA dopaminergic input is similar that the cholinergic system, in this study were analyzed the effects of a single unilateral implant of 10.0 ± 3.0 μg of haloperidol crystals (antagonist pharmacological agent of dopaminergic recetors DA-1 and DA-2) on the right or left side of POA-AHA, performed at 13:00 h in the different days of estral cycle, evaluated on the function of hypothalamus-hypofisis-ovaries axis and the spontaneous ovulation, supported by observations on the several biological parameters (ovulation (OR), vaginal cornification (VCR), vaginal diestrus (VDR), vaginal proestrus (VPR), and uterus distentated (UDR) rates) of adult rats with fourth-days regular estral cycles (estrus, diestrus-1, diestrus-2 and proestrus). Animals that received a single implant of 8.0 ± 2.0 μg cholesterol crystals on the right or left side of POA-AHA, on each day of estral cycle, as control group were utilized.

The unilateral implants performed on estrus and diestrus-1 days blocks the spontaneous ovulation in comparison with the cholesterol groups (1/41 vs 26/50, $p < 0.05$); the left implant performed on estrus day and right implant performed on diestrus-1 day induced VCR and UDR lower and VDR increased. On the diestrus-2 day, unilateral implants of haloperidol not modified OR in comparison with the cholesterol groups (Haloperidol: 8/19 vs Cholesterol: 10/17), however the left implants diminished OR in comparison with the right implants (Right Side Implants: 10/14 vs Left Side Implants: 8/22, $p < 0.05$); left implants diminished VCR and increased VDR. None implants performed on proestrus day modified the ovulatory response nor the others biological parameters evaluated (Haloperidol: 15/15 vs Cholesterol: 20/20). The number of ova shed of those ovulating animals were normal and were not modified by none treatment.

To analyzer the neuroendocrine mechanisms affected by interruption of POA-AHA dopaminergic input and that results in ovulation blocked, other animal groups with a unilateral implant of haloperidol were injected with 3.7 $\mu\text{g}/\text{k}$ body weight of synthetic GnRH at 13:00 h of expected proestrus day or with 10 μg of estradiol benzoate (EB) at 13:00 h of diestrus-2 day. The GnRH reestablished the ovulatory response in 100% of rats with a unilateral implant of cholesterol performed on estrus or diestrus-1 days. In those animals with a unilateral implant of haloperidol at

diestrus-1, the GnRH injection reestablished the ovulation but in the rats with implant performed on estrus ovulatory response was done partially (70%). The EB administration reestablished the ovulation in animals with unilateral implants of cholesterol or haloperidol performed on diestrus-1 day. The EB injection reestablished ovulation with unilateral implant of haloperidol on left side of POA-AHA performed on estrus day, also in animals with implant on the right side the ovulatory response was not produced (Right Side Implant: 0/8 vs Left Side Implant: 5/6), $p < 0.05$). The number of ova shed per ovulating animal was lower in groups with unilateral implant of haloperidol on the right or left side of POA-AHA performed on estrus or diestrus-1 days that received estrogen hormonal replacement (Haloperidol+EB: 7.5 ± 1.4 vs Cholesterol+BE: 11.5 ± 0.6 , $p < 0.05$).

To analyze if a lower dose of haloperidol does not hide the asymmetric ovulatory response in animals treated on estrus day, the effects of an unilateral implant with 10.0 ± 4.0 μg of a haloperidol + cholesterol crystals mixture 1:1 was evaluated. The diluted unilateral implant performed at 13:00 h of the estrus day on the right side of POA-AHA blocks the ovulation, also the left implant was not affected ovulatory response (Right Side Implant: 0/8 vs Left Side Implant: 5/8). The GnRH hormonal replacement at 13:00 h of expected proestrus day reestablished partially the ovulatory response (5/6) and number of ova shed was normal, also the EB hormonal replacement still was ineffective to reestablish ovulation (0/4).

This results suggest that the participation of dopaminergic system of POA-AHA on neuroendocrine mechanisms that finished ovulation varies during the estral cycle and is stimulatory at onset of the cycle. The pharmacological block of the dopaminergic receptors of POA-AHA inhibits preovulatory secretion of GnRH, that would it reflects alteration of estrogen secretion necessary for close circuit and its action done GnRH secretion. On estrus day, the dopaminergic system of right side of POA-AHA is necessary to produce estrogen positive *feedback* at the afternoon of diestrus-2 day. On estrus day, the dopaminergic system of the right side of POA-AHA is very sensitive to pharmacological block induced by haloperidol that left side.

INTRODUCCIÓN

El ovario es el órgano sexual primario de las hembras y sus funciones son la liberación de gametos capaces de ser fecundados y la secreción de hormonas. Sus funciones son reguladas por señales neuroendócrinas que provienen del sistema nervioso central (SNC), la hipófisis, el propio ovario, las adrenales, el timo y la tiroides, entre otros, y suceden en forma secuencial y sincrónica (Feder, 1981; Freeman, 1988; Hotchkiss y Knobil, 1994). La liberación de gametos capaces de ser fecundados se denomina *ovulación* y es uno de los dos puntos culminantes del crecimiento y la diferenciación folicular, siendo la *atresia folicular* el otro. La atresia folicular es el proceso más común en el que culmina la vida de un folículo (Erickson, 1982). El ovario, por intermedio de sus tres compartimentos *folicular, luteal e intersticial*, secreta hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona, andrógenos), péptidos (inhibina, relaxina), hormona semejante a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH-like), noradrenalina y otras, las cuales participan en la regulación de las funciones del propio ovario, en los mecanismos de regulación de las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, de los órganos sexuales (oviductos, útero, vagina, glándula mamaria, piel), el comportamiento sexual, además de regular el metabolismo general del individuo (Gore-Langton y Armstrong, 1994; Hotchkiss y Knobil, 1994).

El *eje hipotálamo-hipófisis-ovario* se comunica entre sí por señales hormonales y neuroendócrinas. El hipotálamo regula de manera estimulante la secreción de las gonadotropinas adenohipofisarias por medio del decapeptido GnRH; la hipófisis regula las funciones del ovario por medio de hormonas: la hormona estimulante del folículo (FSH), la hormona luteinizante (LH) y la prolactina. La FSH regula de manera estimulante el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos y la secreción de estrógenos. La LH estimula la síntesis de estrógenos por el folículo maduro, de progesterona por el folículo en las diferentes etapas del crecimiento folicular y por el cuerpo lúteo y los mecanismos bioquímicos intrafoliculares que culminan con la ruptura de la pared del folículo maduro y la liberación del ovocito,

mientras que la prolactina actúa de manera sinérgica con la LH en la regulación estimulante de la secreción de progesterona y de estrógenos (Fink, 1988).

El folículo ovárico está compuesto por el gameto femenino u *ovocito*, las células de la granulosa, la membrana basal y las células teca-intersticiales o teca interna. La LH regula de manera estimulante el primer paso en la síntesis de progesterona por parte de las células teca-intersticiales. Estas células secretan andrógenos (androstenediona y testosterona principalmente), las que pasan al interior del folículo, donde son aromatizadas a estrógenos, principalmente 17β -estradiol, por efectos de la enzima aromatasa. En el folículo en crecimiento, la FSH estimula la actividad de la aromatasa, mientras que en el folículo maduro y preovulatorio, la LH es la hormona que regula de manera estimulante esta enzima. Para que se produzca la ovulación se requiere del aumento brusco en la concentración plasmática de estradiol seguido de su descenso brusco ("pico" preovulatorio de estradiol), el que a su vez estimula la liberación brusca de LH por parte de la hipófisis ("pico" preovulatorio de LH) lo que culmina con la ovulación. Los andrógenos que siguen siendo producidos por las células teca-intersticiales y que no son aromatizados, estimulan la atresia folicular (Domínguez y col., 1989; Erickson, 1982; Greenwald y Roy, 1994; ; Richards, 1978; Richards, 1980).

La GnRH es sintetizada por neuronas hipotalámicas especializadas (neuronas GnRH-érgicas) que se localizan predominantemente en las regiones preóptica, hipotalámica anterior e hipotálamo medio. Es liberada hacia los vasos del plexo primario del sistema porta hipotalámico-hipofisiario y transportada por la sangre hacia la adenohipófisis (Pierce, 1988). La síntesis y liberación de la GnRH es modulada de manera estimulante e inhibitoria por neuronas cuyos somas se localizan en diferentes regiones del SNC, por las hormonas esteroideas producidas por el ovario y por las propias gonadotropinas (sistema de asa corta) (Fink, 1988, Greenwald y Roy, 1994, Hotchkiss y Knobil, 1994).

Existen evidencias experimentales que muestran que los siguientes sistemas de neurotransmisores modulan la secreción de la GnRH (Kordon y col, 1994):

- aminoácidos del tipo de los ácidos γ -aminobutírico (GABA), glutámico y aspártico;

- indolaminas (serotonina, melatonina);
- catecolaminas: (noradrenalina, adrenalina, dopamina);
- acetilcolina;
- péptidos: opioides, encefalinas, sustancia P, péptido intestinal vasoactivo (VIP), angiotensina II, neuropéptido Y, entre otros.

La participación de algunos sistemas de neurotransmisores en la regulación de la secreción de la GnRH, varía durante el ciclo estral (Cruz y col., 1989; Domínguez y col., 1985; Domínguez y col., 1987).

Existen resultados experimentales que llevan a suponer que la regulación neuroendócrina que ejerce el hipotálamo sobre la función del eje hipófisis-gónada presenta lateralización y asimetría (Advis y col., 1989; Bakalkin y col., 1984; Cruz y col., 1988; Gerendai y Halasz, 1976; Gerendai y col., 1979; Mizunuma y col., 1983; Nance y Moger, 1982; Nance y col., 1983). El término *lateralización* se refiere al lado del cuerpo en el que se origina el estímulo requerido para un proceso de comunicación, mientras que *asimetría* define las diferencias en la respuesta funcional de los órganos pares.

Así, la concentración de la GnRH en el hipotálamo medial basal es diferente entre el lado derecho e izquierdo (Bakalkin y col., 1984; Gerendai y col., 1979). Es posible que esta asimetría en el contenido de la GnRH esté relacionada con las diferencias morfológicas, anatómicas y bioquímicas que se presentan entre el lado derecho e izquierdo del cerebro (Galaburda y col., 1978; Gerendai y Halasz, 1976; Hung y col., 1982; Oke y col., 1980; Walker, 1980). También se ha mostrado que el sistema colinérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) participa de manera lateralizada en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación espontánea de la rata y los mecanismos neuroendócrinos que regulan el *feedback* estimulante de los estrógenos que culminan con la ovulación (Cruz y col., 1989, 1992).

Existe controversia sobre la participación del *sistema dopaminérgico* en la regulación de la secreción de la FSH y la LH que culminan con la ovulación. Con base en los efectos de diferentes fármacos que estimulan o inhiben de manera más

o menos específica a la sinapsis dopaminérgica, algunos autores afirman que el sistema dopaminérgico hipotalámico regula de manera inhibitoria la secreción de las gonadotropinas (Choudhury y col., 1974; Ramírez y col., 1984; Tasaka y col., 1985; Weiner y Ganong, 1978), mientras que otros afirman que su participación es de tipo estimulante (Clemens y col. 1976; MacKenzie y col, 1988; MacKenzie y col., 1989; Schneider y McCann, 1970; Vijayan y McCann, 1978). Estas diferencias en la interpretación del papel del sistema dopaminérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas podrían ser explicadas en función de los modelos experimentales utilizados, ya que existen evidencias de que las funciones del sistema dopaminérgico varían durante el ciclo estral (Dominguez y col, 1985; 1987).

Con base en los antecedentes mencionados, es de interés analizar si todos los sistemas de neurotransmisión que regulan las funciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario (síntesis y liberación de la GnRH, de las gonadotropinas, de las hormonas ováricas y la ovulación) presentan lateralización y asimetría.

El propósito del presente estudio fue tratar de responder a las siguientes preguntas:

- la participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en los mecanismos que regulan la secreción gonadotrópica que culmina con la ovulación, ¿varía durante el ciclo estral de la rata?
- la participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en estos mecanismos ¿presenta lateralidad funcional como la descrita en el sistema colinérgico de la rata adulta?
- la participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en la regulación de la secreción de estrógenos por parte del ovario, estimada por algunos de sus indicadores biológicos, ¿varía durante el ciclo estral y presenta lateralización?

PAPEL DE LAS ÁREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL OVARIO

Estructura del hipotálamo.

En la rata, el hipotálamo ocupa la mitad ventral del diencefalo en ambos lados del tercer ventriculo y contiene gran cantidad de circuitos que contribuyen al mantenimiento de la homeostasis corporal (Kupferman, 1985). Se extiende lateralmente desde las paredes del tercer ventriculo hasta los surcos hipotalámicos laterales. Está delimitado rostro-caudalmente por el quiasma óptico (límite anterior) y por los cuerpos mamilares (límite posterior) (Bleier y Byne, 1985; Simerly, 1995).

Tomando como referencia el tercer ventriculo, se describen tres regiones: la periventricular, la lateral y la medial. La región periventricular constituye aquella que rodea el tercer ventriculo. La lateral se extiende desde las columnas descendentes del fórnix hasta el fascículo medial prosencefálico y la medial se localiza en medio de las otras dos regiones y contiene la mayoría de las agrupaciones neuronales denominadas núcleos (Swanson, 1987).

Con base en la distribución de sus núcleos, el hipotálamo se divide en tres áreas: anterior, media y posterior. El hipotálamo anterior contiene los núcleos preópticos (medial y lateral), supraquiasmático, paraventricular, supraóptico y anterior. El hipotálamo medio está formado por los núcleos dorsomedial, ventromedial, arcuato, tuberal y periventricular. El hipotálamo posterior contiene los núcleos mamilares (premamilar, lateral, medial, supramamilar e intercalado) y al posterior (Bleier y Byne, 1985; Simerly, 1995) [Esquema 1].

Inervación dopaminérgica de POA-AHA.

Según Dawson y col. (1986), si bien en el SNC se han descrito más de nueve sistemas dopaminérgicos, los más prominentes por su papel en la regulación de diferentes funciones corporales son:

1) el sistema mesocortical, cuyos somas neuronales se localizan en el tegmento ventral y la sustancia nigra; su función se encuentra asociada al control y la iniciación del movimiento voluntario.

2) el sistema tuberoinfundibular, cuyos somas se localizan principalmente en los núcleos arcuato y periventricular del hipotálamo; su función se relaciona fundamentalmente con el control de la secreción de la prolactina.

3) el sistema incerto-hipotalámico, con sus somas localizados en el hipotálamo posterior, la zona incerta y el núcleo periventricular; entre sus funciones se ha destacado su participación en la regulación de la secreción de la GnRH [Esquema 2].

Según los estudios inmunohistoquímicos y de histofluorescencia, las neuronas dopaminérgicas que inervan al hipotálamo tienen sus somas concentrados en cuatro regiones (Björklund y Nobin, 1973; Björklund y col., 1975):

1) **A11:** somas localizados en el hipotálamo posterior y el tálamo ventral; son la fuente principal de inervación dopaminérgica espinal.

2) **A12:** somas localizados en el núcleo arcuato (TIDA) y en el núcleo periventricular (THDA); proyectan sus axones a la línea externa de la eminencia media y al lóbulo intermedio de la hipófisis.

3) **A13:** somas localizados en la zona incerta medial; proyectan al hipotálamo anterior, al núcleo dorsomedial del hipotálamo y al núcleo posterior.

4) **A14:** somas localizados en la porción rostral del núcleo periventricular; proyectan a los núcleos preóptico, periventricular, supraquiasmático y septal lateral.

Los somas dopaminérgicos A11, A13 y A14 se denominan genéricamente como sistema incertohipotalámico (Björklund y Nobin, 1973). Los somas dopaminérgicos A13 y A14 proyectan a áreas del hipotálamo que contienen somas GnRH-érgicos, por lo que sus funciones podrían estar involucradas con el control de la secreción de la FSH y de la LH (Day y col., 1980; Sanghera y col., 1991).

Farmacología del haloperidol.

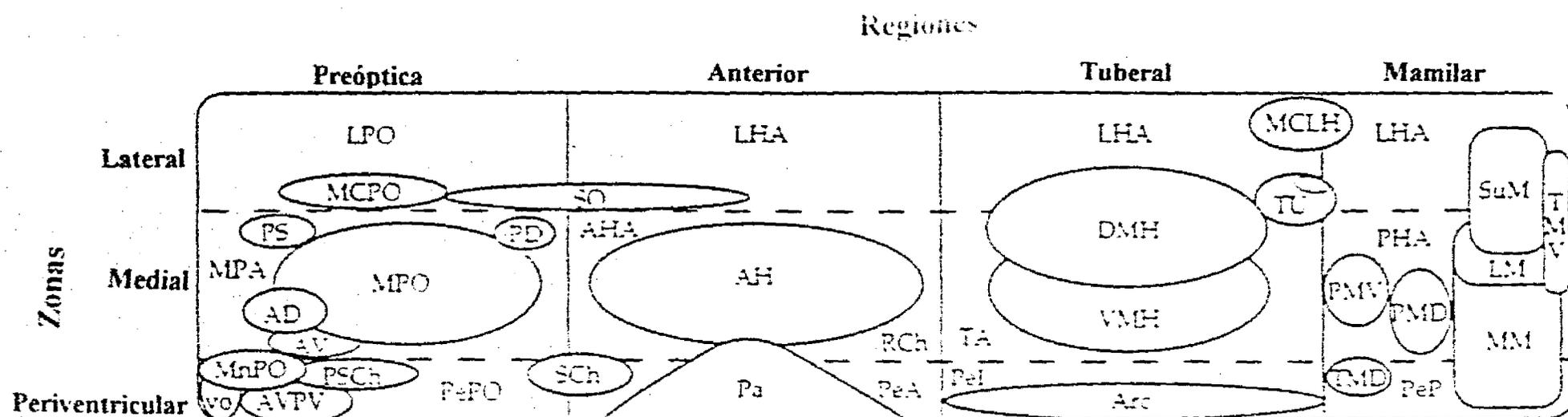
La dopamina es una catecolamina endógena cuyo papel como neurotransmisor periférico y central ha sido ampliamente descrito. Con base en los criterios bioquímicos y farmacológicos, se han descrito inicialmente dos subtipos de receptores dopaminérgicos típicos (Weiner y Molinoff, 1994):

- 1) receptores dopaminérgicos tipo 1 (DA₁), acoplados a la activación o estímulo de la adenilato ciclasa, y
- 2) receptores dopaminérgicos tipo 2 (DA₂), acoplados de manera inhibitoria a la actividad de la adenilato ciclasa o bien que no están necesariamente acoplados a la función de la adenilato ciclasa.

Cabe mencionar que a la fecha se han identificado receptores múltiples tipo DA_{1-like} (que incluyen a los subtipos DA₁ y DA₅) y DA_{2-like} (que incluyen a los subtipos DA₂, DA₃ y DA₄).

Existe una gran diversidad de fármacos agonistas y antagonistas dopaminérgicos, que pueden actuar de manera más o menos selectiva sobre un tipo o subtipo de receptor en particular. El haloperidol es un fármaco perteneciente al grupo de las butirofenonas ampliamente utilizado como agente neuroleptico en el tratamiento de algunas enfermedades mentales.

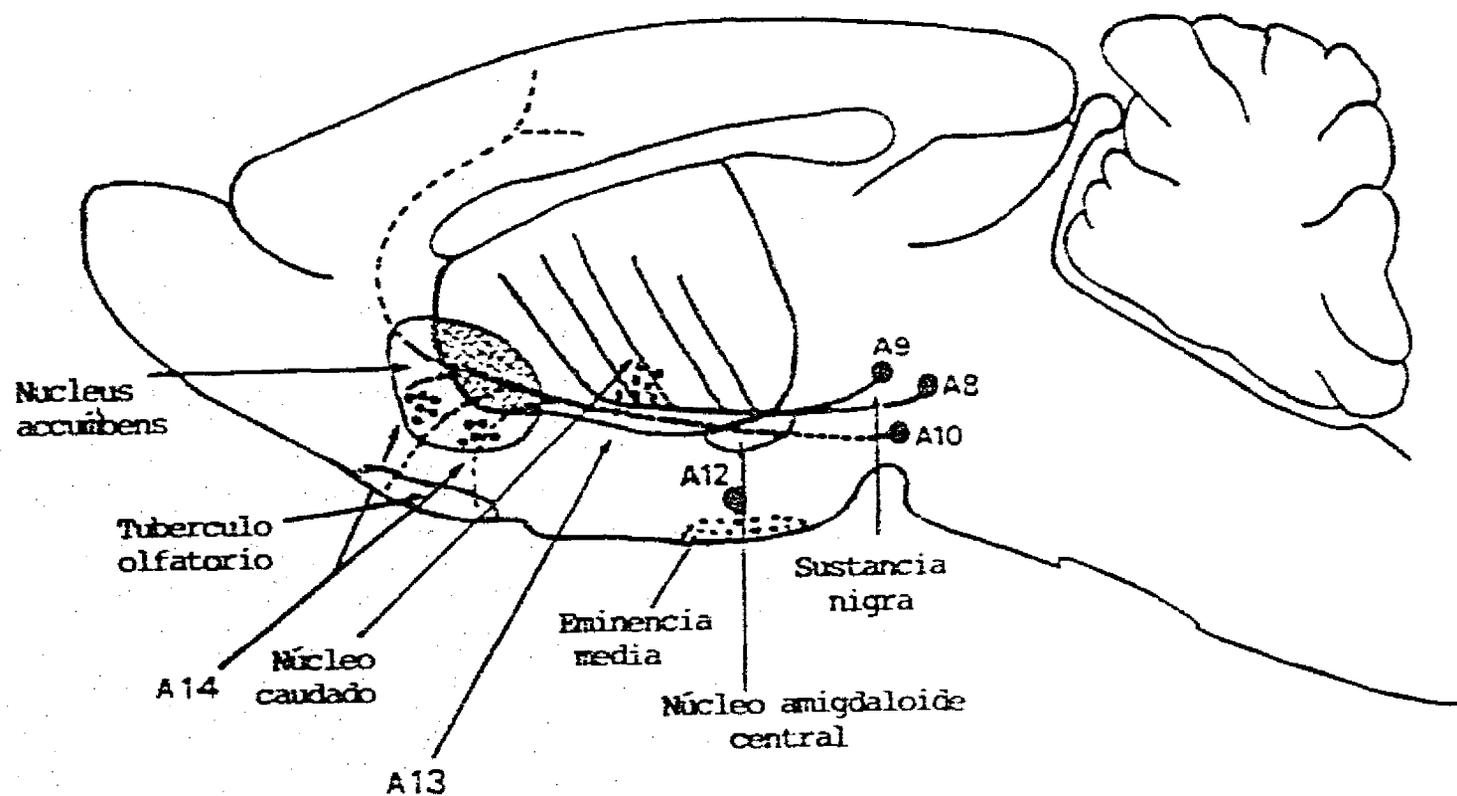
Con base en diferentes estudios farmacológicos, se ha mostrado que el haloperidol interactúa tanto con los receptores de los subtipos DA₁ (con una potencia relativa en el orden de las μM) como con los del subtipo DA₂ (con una potencia relativa en el orden de las nM) [Cuadro 1].



Áreas y Núcleos

<u>Zona Periventricular</u>	<u>Zona Periventricular</u>	<u>Zona Periventricular</u>	<u>Zona Periventricular</u>
N. Preóptico Periventricular (PePO)	N. Periventricular Anterior (PeA)	N. Periventricular Intermedio (Pel)	N. Periventricular Posterior (PeP)
Org. Vasculoso de la Lámina Terminal (vo)	N. Supraquiasmático (SCh)	N. Arcuato (Arc)	N. Tuberomamilar Dorsal (TMD)
N. Preóptico Mediano	N. Paraventricular (Pa)		
N. Anteroventral Periventricular (AVPV)			
N. Preóptico Supraquiasmático (PSCh)			
<u>Zona Medial</u>	<u>Zona Medial</u>	<u>Zona Medial</u>	<u>Zona Medial</u>
A. Preóptica Medial (MPA)	A. Hipotalámica Anterior (AHA)	A. Tuberal (TA)	A. Hipotalámica Posterior (PHA)
N. Preóptico Medial (MPO)	N. Hipotalámico Anterior (AH)	N. Ventromedial (VMH)	N. Premamilar Dorsal (PMD)
N. Preóptico Anterodorsal (AD)	A. Retroquiasmática (RCh)	N. Dorsomedial (DMH)	N. Premamilar Ventral (PMV)
N. Preóptico Anteroventral (AV)			Complejo Mamilar
N. Parastrial (PS)			N. Mamilar Medial (MM)
N. Preóptico Posterodorsal (PD)			N. Mamilar Lateral (LM)
			N. Supramamilar (SuM)
<u>Zona Lateral</u>	<u>Zona Lateral</u>	<u>Zona Lateral</u>	<u>Zona Lateral</u>
A. Preóptica Lateral	A. Hipotalámica Lateral (LHA)	A. Hipotalámica Lateral (LHA)	A. Hipotalámica Lateral (LHA)
N. Preóptico Magnocelular (MCPO)	N. Supraóptico (SO)	N. Tuberal (TU)	N. Magnocelular de la LHA (MCLH)
			N. Tuberomamilar Ventral (TMV)

ESQUEMA 1. Organización morfológica del hipotálamo. se muestran de forma simplificada las diferentes zonas, áreas, regiones y núcleos del hipotálamo de la rata (Tomado de Simerly, 1995; En: "The Rat Nervous System". Second Edition. G. Paxinos).



ESQUEMA 2. Diagrama de un corte sagital del cerebro de la rata que muestra los principales grupos de somas dopaminérgicas (A8, A9, A10, A11, A12, A13, A14, A15, A16) (Tomado de Muller y col., 1977).

Cuadro 1. Características distintivas de los tipos de receptores dopaminérgicos.

Familia de Receptores del Subtipo Dopamina 1 (DA₁):

Incluye a los receptores DA₁ y DA₅
Asociados a la estimulación de la Adenilato Ciclasa
Los alcaloides ergot (p.ej. bromocriptina) son antagonistas
SKF-38393 es un antagonista específico
Los neurolepticos como las butirofenonas son usualmente antagonistas
Ausente en la pituitaria, pero presente en la tiroides
Presente en el cuerpo estriado en neuronas intrínsecas sensibles al ácido kainico
Estudiado con [³H]SCH-23390 o [¹²⁵I]SCH-23982

Familia de Receptores del Subtipo Dopamina 2 (DA₂):

Incluye a los receptores DA₂, DA₃ y DA₄
Asociados a la inhibición de la Adenilato Ciclasa
El segundo mensajero para los receptores DA₃ y DA₄ permanece desconocido
Los alcaloides ergot son agonistas
La N-propilnorapomorfina y las aminotetralinas son agonistas selectivos
Los neurolepticos como las butirofenonas son potentes antagonistas
Presente en la pituitaria
Presente en el cuerpo estriado en axones y terminales de las neuronas corticoestriadas
Estudiado con [³H]Spiroperidol o [¹²⁵I]Iodobenzamida

Estudios experimentales.

El hipotálamo regula las funciones del eje hipófisis-ovario por medio de la síntesis y la liberación de neurotransmisores y de neurohormonas de naturaleza peptídica. Los neurotransmisores son liberados al espacio sináptico, mientras que las neurohormonas pueden ser liberadas localmente (mediadores químicos locales) o a la circulación sanguínea y ser transportadas hasta sus células blanco (Muller y col., 1977 a, c; Palkovits, 1980).

En el hipotálamo anterior se sintetizan y transportan diferentes neurohormonas hacia la eminencia media (Muller y col., 1977b; Palkovits, 1980). Sin embargo, para los fines del presente estudio sólo se enfocará la atención a los núcleos del hipotálamo anterior estrechamente relacionados con la síntesis, el transporte y la liberación de la GnRH.

Numerosas evidencias experimentales han puesto de manifiesto la importancia que tienen las áreas preóptica e hipotalámica anterior en la regulación de la función reproductiva de los mamíferos (Barraclough, 1973; Barraclough, 1983; Barraclough y Wise, 1982; Clemens y col., 1976; Everett y col., 1949; Flerko, 1970; Kalra, 1974; McCann y col., 1978).

En la rata, la destrucción electrolítica de las áreas preóptica, hipotalámica anterior y supraquiasmática resulta en el la falta de ovulación, desarrollo de ovario poliquístico, sin cuerpos lúteos y estro vaginal persistente, hechos que llevaron a sugerir que los centros neurales que regulan el desarrollo folicular y la ovulación se encuentran en el hipotálamo anterior (Everett, 1939; Hillarp, 1949).

En ratas hembras con bloqueo de la ovulación por el tratamiento con pentobarbital en el día del proestro, la estimulación eléctrica del hipotálamo anterior y medio ó de la región preóptica y supraquiasmática del hipotálamo anterior, resultó en la liberación preovulatoria de gonadotropinas por la adenohipófisis, así como la ovulación, efecto que no se observó en los animales con sección de la vía preóptico-tuberal (Critchlow, 1958; Everett y Radford, 1961; Tajasen y Everett, 1967). Estos resultados llevaron a sugerir que los mecanismos neurales que regulan la liberación

de la LH, indispensable para que se produzca la ovulación, posiblemente se localizaban en el área preóptica.

En el animal hemicastrado, las lesiones bilaterales del área hipotalámica anterior o la deaferentación frontal entre el área hipofisiotrópica y el área hipotalámica anterior bloquearon la hipertrofia compensadora del ovario (D'Angelo y Kravats, 1960; Flerko y Bardos, 1959; Halasz y Gorski, 1967). Estas evidencias llevaron a pensar que las estructuras neurales responsables del incremento de la concentración plasmática de la FSH, que ocurriría después de la hemicastración, estaban fuera del área hipofisiotrópica y probablemente se localizaban en el área hipotalámica anterior.

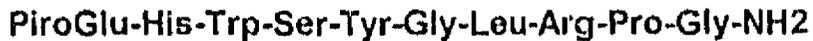
En la rata hembra castrada, la deaferentación entre el área preóptica, el núcleo arcuato y la eminencia media, resultó en la disminución en la concentración plasmática de la FSH y de la LH, mientras que en el animal entero dicha deaferentación no bloqueó la ovulación en el día del estro vaginal, aún cuando se presentaran períodos prolongados de diestro. Estos hechos se acompañaron de la disminución de contenido de GnRH en el núcleo arcuato y en la eminencia media y aumento en el área preóptica (Kalra, 1974). Estos resultados llevaron a sugerir que el área preóptica está estrechamente relacionada con la liberación tónica y cíclica de las gonadotropinas por la adenohipófisis y que la integridad de las vías nerviosas que llegan al hipotálamo por la parte anterior, son esenciales para la normalidad de los ciclos estrales.

Estos resultados fueron corroborados en animales con lesiones bilaterales en el área preóptica (Clemens y col., 1976). En este estudio, los ovarios tenían cuerpos lúteos recién formados, signos de ovulación reciente. Cuando la lesión abarcó el área hipotalámica anterior, se presentó un cuadro de estro vaginal persistente, con bloqueo de la ovulación y los ovarios fueron poliquísticos. Con base en estos resultados se sugirió que las conexiones nerviosas ubicadas en el hipotálamo anterior son necesarias para que el animal presente ciclos vaginales normales y ovule.

EL HIPOTÁLAMO Y LA GnRH

Estructura molecular, síntesis y mecanismos de acción de la GnRH.

La GnRH es un decapeptido cuya estructura primaria es:



Por medio de técnicas de ingeniería genética se ha logrado aislar el ADN complementario (ADNc) y al ARN mensajero (ARNm) que codifica la biosíntesis de la GnRH. Dicho ADNc codifica la formación de un péptido precursor de la GnRH de aproximadamente 10,000 daltones (Adelman y col., 1986). El precursor proteico de la GnRH es procesado y recortado en el retículo endoplásmico y finalmente madura en el órgano de Golgi, donde se produce la ciclización enzimática de la glutamina N-terminal y la amidación de la glicina C-terminal (Bradbury y Smyth, 1985; Busby y col., 1987).

La GnRH es almacenada en las terminales nerviosas que convergen en la eminencia media y bajo la acción de determinados estímulos, la hormona es liberada hacia los capilares sanguíneos del plexo primario del sistema porta hipotalámico-hipofisiario (Barry y col., 1985; Flerko, 1970; Muller y col. 1977 b,c; Sawyer y Clifton, 1980; Shivers y col., 1983). Su liberación, por exocitosis, se da como respuesta a potenciales de acción que culminan con la entrada de calcio extracelular a través de los canales de Ca^{++} dependientes de voltaje (Fink, 1988).

Una vez que la GnRH se libera al sistema porta hipotalámico-hipofisiario, la neurohormona se une a receptores membranales específicos en los gonadotropos, estimula al sistema de la enzima adenilato ciclasa, hecho que se ve acompañado del estímulo de la síntesis y secreción de la FSH y de la LH (Conn, 1994; Feder, 1981; Fink y col., 1983; Flerko, 1970; Muller y col., 1977). La primera evidencia que muestra el papel del adenosin 3'-5'-monofosfato cíclico (AMPc) como mediador de la acción de las diferentes hormonas hipotalámicas sobre la adenohipófisis proviene de las observaciones del uso de derivados del AMPc como la teofilina, un inhibidor de la fosfodiesterasa de los nucleótidos cíclicos, capaz de estimular la liberación de las

seis principales hormonas adenohipofisarias (somatotropina, FSH, LH, prolactina, adrenocorticotropina y tirotropina) (Labrie y col., 1979). La adición de GnRH sintético en cultivos de adenohipofisis de rata resulta en la acumulación de AMPc y la estimulación de la liberación de FSH y LH, en función directa del tiempo de incubación y la concentración de la hormona en el cultivo (Borgeat y col., 1972). La GnRH ejerce su acción al activar a la adenilato ciclasa y no por inhibición de la fosfodiesterasa de los nucleótidos cíclicos, ya que el aumento de la concentración de AMPc se observa en presencia o ausencia de teofilina (Borgeat, 1974).

Localización de las neuronas GnRH-érgicas.

Mediante el empleo de técnicas de inmunohistoquímica e histofluorescencia se han identificado neuronas GnRH-érgicas en los núcleos preóptico medial, anterior y arcuato, el septum y la estria terminal (Bleier y Byne, 1984, Fink y col., 1983, Palkovits y Brownstein, 1985, Pelletier y col., 1974). La GnRH se encuentra en mayor concentración en el hipotálamo y en la cresta supraóptica (órgano vasculoso de la lámina terminal) que en otras regiones del SNC (Barry y col., 1985, Brownstein, 1980, McCann y col., 1978).

Las neuronas GnRH-érgicas no se encuentran como agregados neuronales, sino como redes extensas y difusas. La red más importante de estas neuronas está constituida por células que forman un continuo desde la banda diagonal de Broca hasta el área septal, el núcleo de la estria terminal y las siguientes áreas diencefálicas: el núcleo periventricular, las áreas preóptica medial y lateral, el área hipotalámica anterior y la zona retroquiasmática. También forman parte de este continuo, grupos de neuronas GnRH-érgicas del hipotálamo lateral y del núcleo supraóptico. Las neuronas GnRH-érgicas proyectan sus fibras hacia la eminencia media por la vía septo-preóptica-infundibular y la del haz terminal septo-preóptico. Las neuronas GnRH-érgicas del área septal-preóptica proyectan fibras hacia el órgano vasculoso de la lámina terminal; estas mismas neuronas también envían fibras hacia áreas extrahipotalámicas como la amígdala, el área tegmental ventral, el cerebro medio, el núcleo de rafe y la región periacueductal (Silverman, 1988).

Regulación de la secreción de la GnRH.

En la rata hembra, el patrón de secreción de la GnRH varía durante el ciclo estral, al igual que la población de sus receptores (Miyake, 1988).

La síntesis y liberación de la GnRH son moduladas por la acción de:

- 1) las hormonas esteroideas y
- 2) diferentes neurotransmisores (aminoácidos, aminas biogénicas, acetilcolina y neuropéptidos) (Fink, 1979; Kordon y col., 1994).

1. Regulación de la secreción de la GnRH mediada por esteroideas

Las neuronas GnRH-érgicas no poseen receptores a estrógenos ni a progesterona (Shivers y col., 1983, Silverman, 1988). Este hecho lleva a sugerir que las hormonas esteroideas no actúan directamente sobre las células GnRH-érgicas, sino que estimulan su secreción al actuar en otro tipo de neuronas que hacen sinapsis con la neurona GnRH-érgica y afectan su actividad (Silverman, 1988). Sin embargo, se postula que el aumento en la concentración plasmática de los estrógenos es esencial para iniciar y mantener una capacidad de respuesta mayor por parte de la adenohipófisis a la GnRH, proceso en el cual la progesterona actúa sinérgicamente (Fink, 1988; Conn, 1994).

2. Regulación de la secreción de la GnRH mediada por neurotransmisores

Utilizando diferentes modelos experimentales, se ha mostrado que la acetilcolina, la serotonina y la noradrenalina participan de manera estimulante en la regulación de la secreción de la GnRH, que las encefalinas y el GABA inhiben su secreción, mientras que la dopamina puede estimularla o inhibirla, según la edad o el momento del ciclo en que se lleve a cabo el estudio (Sawyer y Clifton, 1980; Kordon y col., 1994). Los cuerpos de las neuronas que sintetizan estos neurotransmisores se encuentran tanto en el hipotálamo como en otras regiones del SNC y su actividad depende de la interacción con otras neuronas (Crowley y Zelman, 1981; Fink y col., 1983; Fink, 1988; Muller y col., 1977b; Porter y col., 1980; Ramírez y col., 1984; Shivers y col., 1983; Stumpf, 1980).

La mayoría de las terminales noradrenérgicas que se localizan en el hipotálamo provienen de los somas que están localizados en el cerebro medio y posterior, mientras que los somas colinérgicos se sitúan en el núcleo cuneiforme, la formación reticular mesencefálica, sustancia nigra, amígdala y el área tegmental ventral. Los somas dopaminérgicos se encuentran en los núcleos arcuato, periventricular y ventromedial (sistema TIDA), la zona incerta, el hipotálamo posterior y el núcleo periventricular (sistema incerto-hipotalámico) (Silverman, 1988).

Las encefalinas y las endorfinas también regulan la liberación de la GnRH; los cuerpos neuronales que sintetizan estos opioides se localizan en el núcleo arcuato. La serotonina que participa en la regulación de la GnRH es sintetizada por neuronas que se sitúan en el cerebro medio (núcleos de rafe) (Crowley y Kalra, 1989; Fink, 1988). Otros péptidos y neurotransmisores que participan en la regulación de la secreción de la GnRH son el GABA, la sustancia P, el VIP, la colecistoquinina, la oxitocina, la galanina, el neuropéptido Y, la angiotensina II, la neurotensina, el glutamato, el aspartato y el neuropéptido K (Crowley y Kalra, 1989).

REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE LAS GONADOTROPINAS

Las gonadotropinas son glucoproteínas secretadas por la adenohipófisis que estimulan el funcionamiento de las gónadas. Con base en los estudios clásicos de la endocrinología reproductiva, se reconocen dos diferentes hormonas gonadotrópicas: la FSH y la LH; estos dos péptidos comparten semejanzas estructurales y ambos son secretados por células adenohipofisarias especializadas denominadas gonadotropos, los que están distribuidos heterogéneamente en la adenohipófisis (Silverman, 1988; Tougard y Tixier-Vidal, 1988). La prolactina es otra hormona adenohipofisaria secretada por los lactotropos y es considerada también una gonadotropina (Kordon y col., 1994; Tougard y Tixier-Vidal, 1988). Las gonadotropinas ejercen sus efectos de manera directa sobre diferentes compartimentos del ovario y de los testículos, donde estimulan su desarrollo y su diferenciación (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

La secreción de la FSH y la LH.

La FSH y la LH, cuyos pesos moleculares fluctúan entre los 28,000 y 29,000 daltones, son glucoproteínas que constan de dos cadenas diferentes: la subunidad α de 96 residuos y la subunidad β de 144 residuos aminoácidos; ambas subunidades se hayan unidas por enlaces no covalentes. Las subunidades α y β son sintetizadas a partir de precursores que presentan modificaciones postraduccionales, que incluyen el agregado de oligosacáridos (glicosilación), la que ocurre en ambas subunidades. Se ha postulado que cada etapa del proceso de maduración representa un lugar potencial para el control fisiológico de la formación de la hormona y su secreción (Pierce, 1988). Ambas hormonas viajan en la sangre hasta el ovario, donde estimulan el crecimiento y la diferenciación del folículo ovárico y promueven la síntesis de hormonas esteroides (Richards, 1978, Richards, 1980).

La secreción de la FSH y la LH está regulada por mecanismos de retrocontrol que involucran la participación del hipotálamo y las gónadas. Tanto en la hembra como en el macho, la secreción basal de las gonadotropinas se mantiene durante la mayor parte de su vida reproductiva. Sin embargo, en la hembra esta secreción basal es interrumpida por una liberación masiva de gonadotropinas que ocurre de manera periódica y precisa en forma de una intrincada cascada *feedback* estimulante, que es iniciada y promovida por los esteroides ováricos. Tanto en la hembra como en el macho, la secreción de gonadotropinas ocurre de manera pulsátil (Fink, 1988).

La secreción preovulatoria de la FSH y la LH es el resultado de dos eventos simultáneos:

- 1) el aumento en la frecuencia y la amplitud de los pulsos de secreción de las neuronas GnRH-érgicas, lo que produce un aumento en la concentración plasmática de la GnRH en el sistema porta hipotalámico-hipofisiario y,
- 2) el aumento progresivo de la sensibilidad de los gonadotropos a dicha hormona (efecto *priming*) (Fink, 1988).

La cascada de eventos que culmina en la liberación preovulatoria de la LH es iniciada por el "pico" de estradiol (Fink, 1979). El aumento de la concentración

plasmática de estradiol permiten la expresión de una señal neural para la liberación de la LH: la secreción preovulatoria de la GnRH, así como del incremento progresivo en la respuesta de los gonadotropos a la GnRH. La liberación de la LH presenta un "pico" (máxima liberación de la hormona) cuando se incrementa la concentración de la GnRH en el sistema porta hipotalámico-hipofisiario (Fink, 1988).

La progesterona tiene efectos duales en la regulación de la secreción de las gonadotropinas. En la rata, cuando la concentración plasmática de progesterona permanecen bajas (al inicio del ciclo), el estradiol promueve el efecto *priming* arriba mencionado y el incremento en la concentración plasmática de LH, lo que resulta en la estimulación de la secreción de estrógenos, lo que aumenta la capacidad de respuesta de la adenohipófisis a la GnRH. También aumenta la secreción de progesterona, la que aumenta la descarga de las células GnRH-érgicas. Todos estos eventos culminan en la descarga preovulatoria de la LH. El efecto *priming* que ejercen los estrógenos prepara a la adenohipófisis a la liberación masiva de la GnRH, de tal manera que el "pico" de liberación coincida con la máxima capacidad de respuesta por parte de la adenohipófisis (Fink, 1979, 1988).

Los estrógenos y la progesterona ejercen sus mayores efectos sobre los gonadotropos expuestos previamente a la acción de la GnRH. La secreción de la LH, no así la de FSH, depende de la exposición continua de los gonadotropos a la GnRH (Fink, 1988). En esta acción, la progesterona parece jugar un papel importante en la inhibición de la secreción de GnRH, al actuar sinérgicamente con los estrógenos (Goodman, 1978; Hauger y col, 1977).

Al igual que la LH, la FSH es liberada en respuesta al estímulo de la GnRH y presenta una liberación máxima cuando se incrementa la concentración plasmática de la GnRH en el sistema porta hipotalámico-hipofisiario. En la rata, la tasa de liberación de la FSH se mantiene relativamente elevada aún después de la caída de la secreción preovulatoria de la LH (Fink, 1988).

En los mecanismos de regulación de la secreción de la LH y de la FSH, Shuling y Koiter (1985) sugieren la existencia de un componente autónomo (no estimulado) y un componente GnRH-dependiente. En proporción a la secreción máxima

estimulada por la GnRH, la secreción autónoma de la FSH es relativamente mayor que la de LH (Sheridan y col., 1979).

En la rata, el "pico" máximo de la secreción de la FSH ocurre aproximadamente 11 horas después que el de la LH. Se ha sugerido que este desfase entre ambos "picos" pueda ser el resultado alguno(s) de los siguientes factores (Fink, 1988):

1. que exista una hormona que estimule en forma específica la secreción de la FSH;
2. que las hormonas esteroideas, la inhibina u otros factores regulen de manera diferencial la respuesta de los gonadotropos a la GnRH;
3. que la secreción de la LH dependa de que la adenohipófisis esté continuamente expuesta a la GnRH, mientras que la de la FSH sea desencadenada por la GnRH pero que luego sea independiente de ella.

La secreción de la prolactina.

En la rata, los lactotropos están distribuidos a lo largo de la porción lateroventral del lóbulo anterior y muy cerca de la pars intermedia; su forma y tamaño es heterogéneo (Tougaard y Tixier-Vidal, 1988). La prolactina es un péptido que ejerce una variedad de funciones en los vertebrados, las cuales en los mamíferos parecen haberse enfocado preponderantemente hacia la regulación de la producción de leche (De Greef y Van der Schoot, 1985). En algunas especies, la prolactina inicia y mantiene la actividad del cuerpo lúteo (Rotchild, 1981). Los efectos de la prolactina en el comportamiento, la osmorregulación y la liberación de otras gonadotropinas es controversial (McNeilly, 1980; Weber y col., 1983). Se ha descrito que la prolactina regula de manera inhibitoria la producción de estradiol por los folículos antrales y preovulatorios (Uilenbroek, 1982) pero estimula la maduración sexual (Advis y col., 1981).

Por intermedio de la dopamina secretada por la neuronas del sistema TIDA, el hipotálamo ejerce un control predominantemente inhibitorio sobre la secreción de la prolactina (De Greef y Neill, 1979; Everett, 1956; Gibbs y Neill, 1978; Gibbs y col., 1979; Martínez de la Escalera y col. 1992; Neill, 1988). Al igual que para la FSH y la

LH, la secreción de prolactina se produce de manera pulsátil, la que depende del modo de secreción de la dopamina (Denef y col., 1984; Plotsky y col., 1982). En los lactotopos se ha detectado receptores a la dopamina estereo-específicos de alta afinidad (Foord y col., 1983; Goldsmith y col., 1979), cuya densidad varía durante el ciclo estral (Pasqualini y col., 1984). Una vez unida a su receptor en el lactotopo, la dopamina es internalizada a la célula pudiendo interactuar incluso con los gránulos secretores de la prolactina (Nansel y col., 1979; Rosenzweig y Kanwar, 1982).

La liberación de prolactina puede ser inhibida por el GABA (Apud y col., 1981; Grossman y col., 1981). El GABA es sintetizado en diversas regiones del cerebro, y es transportado y liberado al sistema porta hipotalámico-hipofisiario (Mulchahel y Neil, 1982); la estimulación eléctrica del hipotálamo basal medio o el tratamiento farmacológico con inhibidores competitivos de la transaminasa del GABA, causan un incremento del neurotransmisor en la sangre del tallo hipofisiario, que no se observa en el plasma de la periferia, que se acompaña del descenso de la concentración plasmática de prolactina (Gudelsky y col., 1983; Mitchell y col., 1983).

La somatostatina, péptido producido en el hipotálamo y que se ha encontrado que en el tallo hipofisiario de la rata, puede inhibir la liberación de prolactina; su liberación es estimulada por la bombesina y es posible que ésta sea regulada por los sistemas catecolaminérgico y colinérgico (Abe y col., 1981; Chihara y col., 1979).

Por sus efectos directos sobre el lactotopo, la hormona liberadora de la tirotrópina (TRH) induce la liberación de prolactina; su concentración en la sangre del tallo hipofisiario es elevada respecto a la detectada en la periferia (Ching y Utiger, 1983; De Greef y Visier, 1981; Sheward y col., 1983). La concentración de dopamina en la sangre del tallo hipofisiario disminuye cuando aumenta la de TRH, eventos que ocurren durante el "pico" de secreción de prolactina mediado por estrógenos (De Greef y col., 1985).

Existen otros péptidos hipotalámicos que se han detectado en la circulación del tallo hipofisiario y que estimulan la liberación de la prolactina, como son el VIP, la oxitocina, bombesina, sustancia P, neurotensina, colecistoquinina, angiotensina II, β -endorfina y otros opioides (Arita y Porter, 1984; Enjalbert y col., 1979; Lamberts y

col., 1984; Malarkey y col., 1981; Rivier y col., 1977; Rivier y col., 1977; Schramme y Deneff, 1984; Westendorf y Schobrunn, 1982; Wisner y col., 1984).

En la rata, el estradiol estimula la liberación de prolactina al actuar directamente sobre la adenohipófisis (West y Dannies, 1980) e indirectamente sobre neuronas en el cerebro. Los estrógenos activan al sistema serotoninérgico que proyecta del rafe hacia el área preóptica y al núcleo amigdaloso cortical (Johnson y Crowley, 1983), así como al sistema noradrenérgico del hipotálamo medio (Tobias y col., 1983) y con estas acciones alteran la liberación de dopamina al sistema porta hipotalámico-hipofisiario (Gudelsky y col., 1981).

La progesterona puede inhibir la liberación de prolactina al reducir la acción estimulante de los estrógenos en la adenohipófisis (Caligaris y col., 1974; Guiguère y col., 1982). Por otro lado, la progesterona puede bloquear también la actividad del sistema noradrenérgico del hipotálamo y con ello estimular al sistema TIDA (Rance y col., 1981).

La secreción basal de prolactina en la rata adulta y prepúber ocurre de manera pulsátil (Kimura y col., 1983; Wiersma, 1981). En la rata macho, la concentración plasmática de prolactina es más alta durante la fase oscura que durante la fase de luz (Mattheij y Swarts, 1977). En la rata hembra la concentración plasmática de la prolactina siempre es mayor durante la tarde que en otras horas del día (Wiersma, 1981).

Durante el ciclo estral de la rata, la concentración plasmática de la prolactina es baja respecto a la que se registra durante la tarde y noche del proestro, lo que se correlaciona con los perfiles de secreción de los estrógenos por parte de los folículos preovulatorios durante dicho periodo (Wiersma, 1981).

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS ESTRÓGENOS Y LA PROGESTERONA SOBRE LA VAGINA Y EL ÚTERO.

El epitelio vaginal y el útero son los órganos blanco más sensibles a la acción de las hormonas estroides. Los cambios del epitelio vaginal son un fiel reflejo de la modificación de las concentraciones plasmáticas de los estrógenos y de la

progesterona que ocurren durante el ciclo estral de la rata (Montes y Luque, 1988). Por otra parte, las diferentes capas del epitelio uterino expresan distintas poblaciones de receptores a estrógenos y a progesterona durante las etapas del ciclo estral de estos animales (Otha y col., 1993).

Los cambios citológicos que ocurren periódicamente sobre el epitelio vaginal y el aspecto del útero de la rata constituyen herramientas muy útiles para la interpretación de los cambios hormonales que se suceden durante el ciclo estral. Estos indicadores biológicos reflejan de manera general los siguientes procesos endócrinos (Freeman, 1988):

_ **Diestro-1.** En este día del ciclo, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH, prolactina y estrógenos es baja, respecto a otros días del ciclo; la concentración plasmática de progesterona aumenta gradualmente durante las primeras horas del diestro-2 (esta concentración presenta un máximo en la fase oscura). El epitelio vaginal está formado por apenas 2-3 capas de células unidas a una membrana basal; el frotis vaginal revela la presencia de algunas células epiteliales nucleadas, leucocitos polimorfonucleares y mucus. El peso del útero es bajo, reflejo de una irrigación y nutrimento relativamente escaso, lo que indica ausencia de líquido de extravasación hacia la luz del órgano.

_ **Diestro-2.** Durante la tarde de este día, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH y prolactina se mantienen bajas, la concentración plasmática de progesterona cae a sus niveles basales, pero la de estrógenos comienza a incrementarse. Las células del epitelio vaginal comienzan a proliferar y madurar; el frotis vaginal presenta una gran cantidad de leucocitos polimorfonucleados con escasa cantidad de células epiteliales y de células de descamación. La acción creciente de los estrógenos sobre el útero resulta en un aumento en la irrigación sanguínea, las capas del epitelio uterino se nutren y proliferan.

_ **Proestro.** Las concentraciones plasmáticas de estrógenos continúan en aumento gradual hasta alcanzar su máxima concentración, seguido de su caída brusca en la tarde de este día ("pico" preovulatorio de estrógenos). Por su parte, durante la mañana del proestro, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH, prolactina y

progesterona que ocurren durante el ciclo estral de la rata (Montes y Luque, 1988). Por otra parte, las diferentes capas del epitelio uterino expresan distintas poblaciones de receptores a estrógenos y a progesterona durante las etapas del ciclo estral de estos animales (Otha y col., 1993).

Los cambios citológicos que ocurren periódicamente sobre el epitelio vaginal y el aspecto del útero de la rata constituyen herramientas muy útiles para la interpretación de los cambios hormonales que se suceden durante el ciclo estral. Estos indicadores biológicos reflejan de manera general los siguientes procesos endócrinos (Freeman, 1988):

_ ***Diestro-1.*** En este día del ciclo, la concentración plasmática de FSH, LH, prolactina y estrógenos es baja, respecto a otros días del ciclo; la concentración plasmática de progesterona aumenta gradualmente durante las primeras horas del diestro-2 (esta concentración presenta un máximo en la fase oscura). El epitelio vaginal está formado por apenas 2-3 capas de células unidas a una membrana basal; el frotis vaginal revela la presencia de algunas células epiteliales nucleadas, leucocitos polimorfonucleares y mucus. El peso del útero es bajo, reflejo de una irrigación y nutrimento relativamente escaso, lo que indica ausencia de líquido de extravasación hacia la luz del órgano.

_ ***Diestro-2.*** Durante la tarde de este día, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH y prolactina se mantienen bajas, la concentración plasmática de progesterona cae a sus niveles basales, pero la de estrógenos comienza a incrementarse. Las células del epitelio vaginal comienzan a proliferar y madurar; el frotis vaginal presenta una gran cantidad de leucocitos polimorfonucleados con escasa cantidad de células epiteliales y de células de descamación. La acción creciente de los estrógenos sobre el útero resulta en un aumento en la irrigación sanguínea, las capas del epitelio uterino se nutren y proliferan.

_ ***Proestro.*** Las concentraciones plasmáticas de estrógenos continúan en aumento gradual hasta alcanzar su máxima concentración, seguido de su caída brusca en la tarde de este día ("pico" preovulatorio de estrógenos). Por su parte, durante la mañana del proestro, las concentraciones plasmáticas de FSH, LH, prolactina y

progesterona se mantienen bajas. Cuando se produce la caída brusca de los estrógenos, las concentraciones plasmáticas de prolactina y progesterona se incrementan rápidamente hasta alcanzar un máximo ("picos" preovulatorios de prolactina y progesterona) seguidas de un rápido decremento que alcanza un mínimo en las primeras horas del día del estro. De igual forma, la FSH y la LH son liberadas súbitamente al producirse la caída brusca de los estrógenos ("picos" preovulatorios de FSH y LH). En respuesta al aumento de la concentración plasmática de estrógenos y progesterona, las células del epitelio vaginal alcanzan su máximo desarrollo y el frotis revela la presencia de células epiteliales bien definidas y de aspecto sano, con muy escaso porcentaje de células de exfoliación. Por otra parte, la consecuente caída de las concentraciones plasmáticas de estrógenos y el aumento de las concentraciones de progesterona se refleja en el máximo desarrollo del útero, donde las células del endometrio producen la máxima extravasación y acumulación de líquido en la luz del órgano, preparándolo así para el eventual implante del huevo.

_ **Estro.** Las concentraciones plasmáticas de estrógenos, progesterona, LH y Prolactina disminuyen al máximo (niveles hormonales basales) pero no la de FSH, que alcanza un segundo "pico" en la mañana de este día. Las capas del epitelio vaginal entran en regresión, produciéndose una descamación generalizada que en el frotis se hace evidente por la presencia de gran cantidad de células anucleadas y cornificadas. Durante las primeras horas de este día se produce la ovulación; si ocurre la fertilización de los ovocitos, la concentración plasmática de progesterona se mantiene relativamente alta asegurando así el implante de los huevos y su subsiguiente desarrollo. De no ocurrir la fertilización, la caída de la concentración plasmática de progesterona ocasiona una rápida regresión de las capas epiteliales del endometrio uterino, el líquido de extravasación acumulado en la luz del útero es liberado y la serie de eventos endócrinos se reinicia.

LATERALIZACIÓN DE LOS MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS QUE PARTICIPAN EN LA REGULACIÓN DE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA

A finales del siglo pasado, Paul de Broca describió la existencia de componentes funcionales asimétricos y de predominancia de alguno de los lados del cerebro humano (Broca, 1861). Aún cuando se reconocía la predominancia de individuos diestros ("derechos") respecto a los siniestros ("zurdos"), desde tiempo atrás no se había imaginado la posibilidad de que la preferencia manual tuviese su origen en la organización funcional del cerebro. Fue hasta después de la segunda guerra mundial que se mostró que en el hombre el hemisferio cerebral izquierdo participa preferentemente en la regulación del habla y la habilidad manual (diestra o siniestra), mientras que el hemisferio derecho está preferentemente relacionado con las manifestaciones emocionales, las aptitudes musicales y la atención (Galaburda y col., 1985).

La lateralidad funcional del cerebro humano en la regulación del habla, descrita inicialmente por Broca, se acompaña de asimetría en el tamaño, el peso y la superficie del área de Wernicke, que controla esta función (Galaburda y col., 1985).

En el hombre, cada hemisferio cerebral está especializado en la expresión de algunos estados de ánimo. El lado derecho está más relacionado con las manifestaciones de júbilo y el otro con las de depresión (Gainoti, 1972; Galin, 1974). Serafetinides (1965) describió que en pacientes que fueron sometidos a una lobectomía temporal, la respuesta típica al ácido lisérgico desaparece cuando se extirpa el lóbulo temporal derecho y se mantiene cuando el izquierdo es el extirpado.

La asimetría funcional del cerebro descrita por diferentes investigadores podría estar correlacionada con diferencias en el tamaño de diversas estructuras cerebrales, diferencias anatómicas que podrían depender incluso del sexo del individuo (Arnold y Bottjer, 1985; Diamond, 1985). Por ejemplo, en la rata macho la corteza cerebral y el hipocampo del lado derecho son más grandes que en la hembra (Diamond, 1987).

La asimetría no se restringe a los aspectos macroscópicos, sino que también incluye, por ejemplo, el tamaño de las neuronas y la distribución de las dendritas. En

el hombre, las neuronas de la corteza auditiva primaria del lado izquierdo son más grandes que las del lado derecho (Arnold y Bottjer, 1985); el número de sinapsis dendríticas del lado derecho de la corteza de asociación es mayor que en el lado izquierdo (Arnold y Bottjer, 1985); la distribución de las fibras simpáticas y parasimpáticas que inervan uno y otro lado del corazón, el intestino y otros órganos de la cavidad abdominal es desigual (Geschwind y Galaburda, 1985).

Existen pruebas documentales que muestran la existencia de otras asimetrías anatómicas y funcionales. Por ejemplo, el tamaño de algunas zonas de la corteza cerebral, el hipocampo, el cuerpo estriado y la amígdala es diferente en el lado derecho e izquierdo, hecho que varía con el sexo del individuo (Diamond, 1985).

Se han descrito diferencias significativas en la concentración del GABA y de la enzima descarboxilasa del ácido glutámico entre el lado derecho y el izquierdo del cerebro humano (Glick y Shapiro, 1985). También se ha mostrado que en el lado izquierdo de la región anterior del cerebro de la rata, la concentración de noradrenalina es mayor que en la derecha, mientras que en la región posterior esta relación es inversa (Oke y col., 1980). La concentración de dopamina en los cuerpos estriados difiere en un 15%, siendo el lado que contiene más dopamina el opuesto al que el animal rota (Glick y col., 1982).

La destrucción unilateral de la amígdala de la rata adulta indujo resultados diferenciales en función del día del ciclo estral en el que se realiza la lesión. La lesión de la amígdala derecha realizada en el día 1 disminuyó significativamente la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo sin modificar los liberados por el derecho, comparada con las lesiones realizadas en el lado izquierdo y a las intervenciones en los otros días del ciclo. Estos resultados han permitido sugerir que la amígdala participa en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación y que dicha participación es lateralizada y varía durante el ciclo estral de la rata (Sánchez y Domínguez, 1995).

Asimetría y lateralización en el hipotálamo.

A partir de los resultados obtenidos con la utilización de diferentes modelos experimentales, se ha propuesto la existencia de lateralización funcional del hipotálamo, en la regulación de la función de las gónadas y en las propias gónadas (Bakalkin y col., 1984; Domínguez y col. 1989; Chávez y col., 1987; Fukuda y col., 1984; Gerendai y Halasz, 1976; Gerendai y col., 1979; Hung y col., 1982; Mizunuma y col., 1983; Nance y Moger, 1982; Nance y col., 1983).

En el hipotálamo medial y la eminencia media de ratas machos y hembras, la concentración de GnRH es mayor en el lado derecho de la unidad preóptica-eminencia media-arcuato que en el lado izquierdo. En el caso de los machos, esta asimetría varía con las horas del día, ya que es mayor en el lado derecho en los animales estudiados entre las 08 00 y 10 00h, y existe una tendencia a la inversa en los sacrificados entre las 20 00 y 22 00h (Bakalkin y col., 1984; Gerendai y col., 1979). En la rata macho a la que se extirpó el testículo derecho, la concentración de la GnRH en la misma zona, aumentó en el lado ipsilateral (Mizunuma y col., 1983).

En la rata macho prepúber con hemiorquidectomía izquierda, la deaferentación del lado derecho del hipotálamo no modifica la concentración plasmática de FSH, respecto al grupo de animales hemicastrados con operación falsa en el cerebro, mientras que disminuye cuando se extirpa el testículo ipsilateral a la deaferentación (derecho). Por otra parte, la deaferentación del hipotálamo izquierdo no modifica la concentración plasmática de la hormona, ya sea en el animal hemicastrado del testículo derecho o del izquierdo (Nance y Moger, 1982).

La lesión en el área hipotálmica anterior derecha de ratas hembra adultas bloquea el proceso de hipertrofia compensadora del ovario, independientemente de la gónada extirpada, mientras que la lesión en el lado izquierdo no modifica este proceso, por lo que se sugiere la existencia de asimetría en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las gonadotropinas y la función de los ovarios (Fukuda y col., 1984).

En la rata adulta hemiovariectomizada en el día del estro vaginal, la información que proviene de cada lado del hipotálamo anterior participa en la regulación de la

ovulación del ovario ipsilateral. La capacidad ovulatoria del ovario izquierdo parece ser mayor que la del derecho, ya que la ovulación compensadora del ovario izquierdo, que ocurre después de extirpar el ovario derecho, se presenta sin un incremento sustancial en el peso de la gónada. Con base en estos resultados, se sugirió que las diferencias en la capacidad ovulatoria de cada ovario refleja diferencias en la información que proviene de cada lado del hipotálamo y que la hipertrofia compensadora del ovario, no necesariamente se acompaña de un incremento en la capacidad ovulatoria del ovario remanente (Cruz y col., 1990). El sistema colinérgico del hipotálamo anterior regula en forma asimétrica los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación y su participación es diferente en cada uno de los días del ciclo estral (Cruz y col., 1989).

Esta asimetría funcional no se presenta sólo en el sistema nervioso central sino también en la gónada. Se ha mostrado que en la rata adulta cíclica intacta, el ovario izquierdo ovula un mayor número de ovocitos que el derecho, pero cualquier modificación quirúrgica o farmacológica de la inervación aferente al ovario, disminuye significativamente la respuesta ovulatoria del ovario izquierdo, hecho que sugiere una respuesta disímil de los ovarios a las gonadotropinas (Cruz y col., 1986; Domínguez y col., 1989). En la rata adulta hemicastrada, el número de animales que ovulan en el día del estro vaginal depende del ovario remanente. La tasa de animales ovulantes es significativamente menor cuando se extirpa el ovario derecho (Chávez y col., 1987).

La lesión del lado izquierdo del área preóptica e hipotalámica anterior, de ratas jóvenes hipofisectomizadas, incrementa el contenido del VIP en el ovario ipsilateral. Tanto la lesión bilateral como la del lado derecho, también incrementan el contenido del péptido, pero exclusivamente en el ovario izquierdo, lo que indica que existe una marcada lateralidad en el control que ejerce el hipotálamo sobre la concentración del VIP en el ovario (Advis y col., 1989).

Los efectos de la lesión unilateral del área preóptica o del área hipotalámica anterior sobre la ovulación, son diferentes y dependen del día del ciclo estral en que se realizan. Las lesiones unilaterales realizadas en los días del estro y diestro-1 que

bloquean la ovulación, inhiben la liberación de GnRH en el día del proestro. En el lado izquierdo de la región hipotalámica anterior se encuentran neuronas que son fundamentales para que se produzca el *"feedback estimulante"* de los estrógenos que precede a la ovulación (Morán y col., 1994).

En los cuerpos lúteos del ovario izquierdo del cerdo, el número de receptores a la hCG (gonadotropina corionica humana), así como la actividad de la β -N-acetil-D-glucosaminidasa y de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, son mayores que en los del derecho (Rao y Edgerton, 1984).

Las evidencias antes mencionadas permiten sugerir la existencia de lateralización y asimetría en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Dado que las áreas preóptica y anterior del hipotálamo regulan la secreción fásica de la GnRH y, en consecuencia, la de las gonadotropinas; que existen numerosas evidencias experimentales de que el hipotálamo funciona en forma lateralizada, hecho que dependería de la modulación que ejercen los diferentes sistemas de neurotransmisión del propio hipotálamo, es posible suponer que la información dopaminérgica que llega a POA-AHA modula en forma lateralizada la actividad de estas áreas y que esta regulación varía durante el ciclo estral.

La mayoría de los estudios realizados sobre la participación de estas áreas del sistema nervioso central en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y de la función de los ovarios, se han realizado por medio de la deafferentación o la lesión bilateral de las áreas preóptica o hipotalámica anterior o de regiones discretas de los mismos, sin analizar el efecto del bloqueo puntual y específico de la información neuroquímica durante el ciclo estral, o en el lado derecho o izquierdo, que llega a dichas áreas sobre estas funciones.

Aún cuando se ha identificado la presencia de inervación dopaminérgica en POA-AHA, la que hace sinapsis con las neuronas GnRH-érgicas (Björklund y Nobin, 1973; Björklund y col., 1975; Sanhera y col, 1991, 1992), no es del todo clara su participación en los mecanismos que regulan las funciones del ovario por sus efectos moduladores de la secreción de la GnRH y las gonadotropinas, por lo que en el presente trabajo se analizó la participación del sistema dopaminérgico del lado derecho o del lado izquierdo de POA-AHA en los diferentes días del ciclo estral, sobre la ovulación espontánea de la rata y la secreción hormonal del ovario medida por algunos de sus indicadores biológicos.

El análisis de la participación del sistema dopaminérgico se estudió por medio de los efectos del bloqueo de los receptores dopaminérgicos por el implante unilateral de cristales de haloperidol, fármaco que bloquea los receptores DA₁ y DA₂, en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA en los diferentes días del ciclo estral.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en la regulación de las funciones del ovario es lateralizada y varía durante el ciclo estral, por lo que el bloqueo unilateral de los receptores dopaminérgicos de esta área provocará efectos diferentes en las funciones del ovario como reflejo de la modificación de la secreción de las gonadotropinas, los que dependerán del día del ciclo estral en que se realice la intervención.

OBJETIVO GENERAL

Estudiar en la rata adulta, los efectos del bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico de POA-AHA, realizado en los diferentes días del ciclo estral, sobre la ovulación espontánea y la secreción de estrógenos, medida por indicadores biológicos.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Analizar los efectos del bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico producido por el implante unilateral de haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA realizado en los diferentes días del ciclo estral sobre la ovulación espontánea de ratas adultas con ciclos estrales de cuatro días.
- 2) Analizar los efectos de dichos implantes unilaterales sobre el ciclo vaginal y el peso del útero.
- 3) Analizar los mecanismos neuroendócrinos que explican los efectos del implante unilateral con haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, sobre la ovulación espontánea.
- 4) Analizar la sensibilidad del sistema dopaminérgico de POA-AHA, por efectos del implante unilateral de diferentes cantidades de haloperidol sobre la ovulación espontánea de ratas adultas con ciclos estrales de cuatro días.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa CIIZ-V, de 90 a 120 días de edad (con pesos corporales promedio de 250 g), mantenidas en condiciones controladas de iluminación, 14 horas de luz y 10 de oscuridad (luces de las 05:00 - 19:00 horas) y temperatura, las que tuvieron libre acceso al agua y al alimento durante todo el estudio.

Colocación de la cánula permanente (directriz).

Entre las 08:00 y 12:00 h los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.; Anestosal, Smith Kline Norden de México, México) y montados en un aparato estereotáxico. Se les abrió el cuero cabelludo con bisturí; las capas musculares del cráneo fueron removidas mediante raspado con pinzas de punta fina; la herida se frotó con un algodón impregnado en solución de peróxido de hidrógeno al 1%. El cálculo de las coordenadas estereotáxicas se realizó con base en el atlas de König y Klippel (1963) (AnteroPosterior=+0.65 mm; Lateral= \pm 0.08 mm, respecto a λ) y se les trepanó el lado derecho o izquierdo del cráneo con una broca odontológica [Esquema 3].

Una vez realizada la trepanación, se expusieron las meninges, se cortó la duramadre en cruz y se introdujo la cánula directriz (tubo de acero inoxidable del No.20, de 4 mm de longitud) en dirección a la línea intermedia que separa al área preóptica del área hipotalámica anterior. La cánula, una vez introducida, llegó a la altura del cuerpo calloso y se fijó al cráneo del animal con acrílico polimerizable (Proalon, Dientes Acrílicos Mexicanos, México) y permaneció ahí hasta su sacrificio [Esquema 3].

A todos los animales se les administraron 8,000 unidades de penicilina i.m. durante los tres días siguientes a la colocación de la cánula permanente.

Evaluación del ciclo estral por medio del estudio de los cambios del epitelio vaginal por el estudio del frotis vaginal.

A la mañana siguiente de la intervención se inició la toma de frotis vaginales. Una vez que los animales presentaron tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración [estro, diestro-1, diestro-2 y proestro], fueron asignados al azar a uno de los diferentes grupos experimentales. A todos los animales se les continuó realizando la toma de los frotis vaginales y fueron sacrificados en la mañana (09:00-10:00 horas) del día del estro esperado del ciclo en estudio.

Con base en los resultados del frotis vaginal desde el momento del implante hasta el día del sacrificio se calcularon las Tasas de Cornificación Vaginal (TCV) como un índice de la secreción de estrógenos (Sanchez y Domínguez, 1995), de Diestro Vaginal (TDV) (índice de poca secreción de estrógenos) y de Proestro Vaginal (TPV) (índice de mediana secreción de estrógenos)

$$TCV = \frac{\text{Número de Animales que Presentaron Estro Vaginal}}{\text{Número de Animales Tratados en el Grupo}} \times 100$$

$$TDV = \frac{\text{Número de Animales que Presentaron Diestro Vaginal}}{\text{Número de Animales Tratados en el Grupo}} \times 100$$

$$TPV = \frac{\text{Número de Animales que Presentaron Proestro Vaginal}}{\text{Número de Animales Tratados en el Grupo}} \times 100$$

Procedimiento de autopsia.

Los animales fueron sacrificados por decapitación. A la autopsia se disecaron los oviductos donde se buscó la presencia de ovocitos, los que en su caso fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Con base en los resultados obtenidos se calculó la Tasa de Animales Ovulantes (porcentaje de animales que ovularon al sacrificio) como:

$$\frac{\text{Número de Animales que Ovularon al Estro Esperado}}{\text{Número de Animales Tratados en el Grupo}} \times 100$$

Los ovarios y el útero se disecaron y pesaron en una balanza analítica (con precisión de 0.1 miligramo). Se anotó la presencia o ausencia de líquido en la luz del útero (índice de la secreción de estrógenos y progesterona) (Dominguez y col., 1989) y con base en este resultado se calculó la Tasa de Animales con Útero Distendido como:

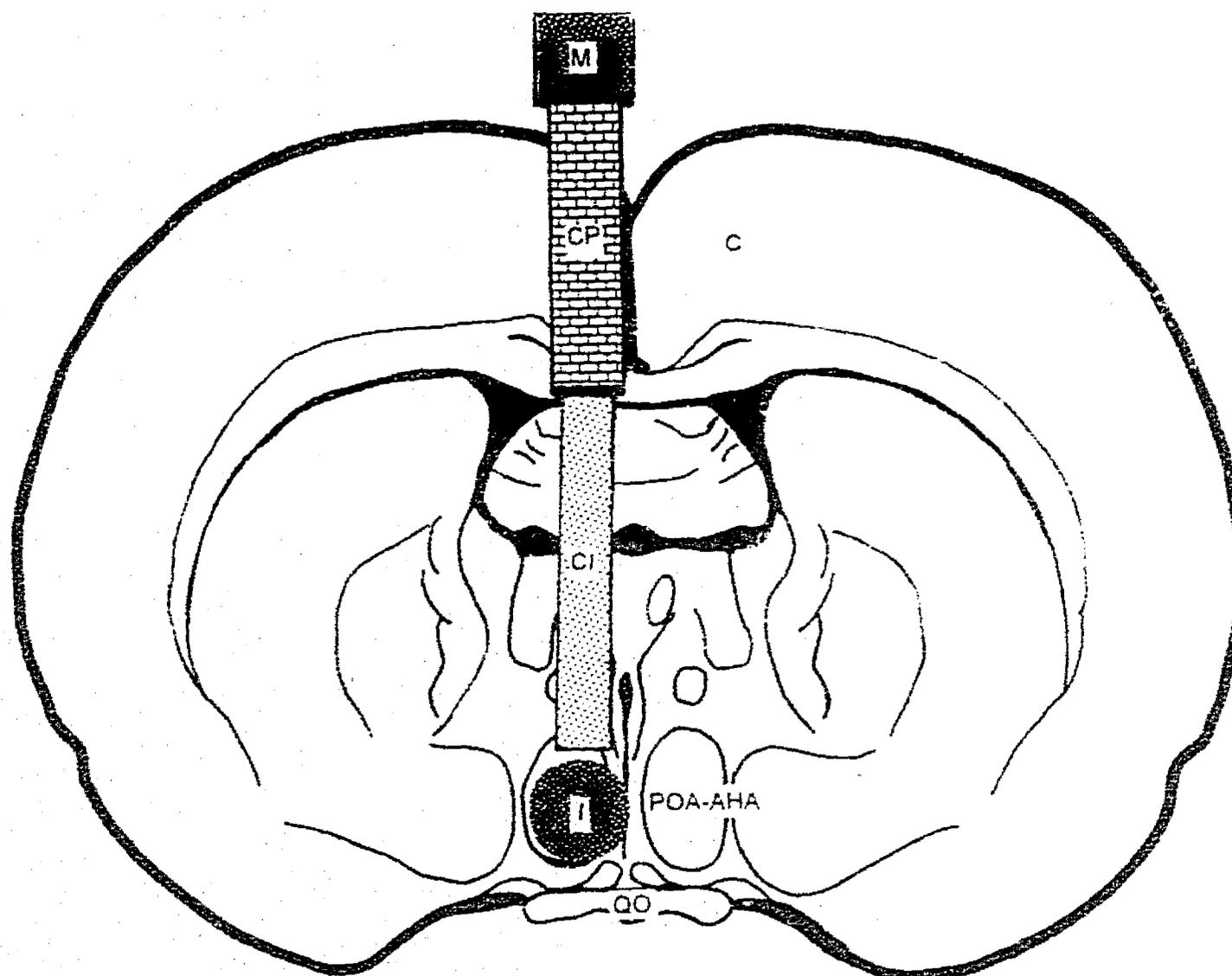
$$\frac{\text{Número de Animales que Presentaron Útero Distendido}}{\text{Número de Animales Tratados en el Grupo}} \times 100$$

El peso de los órganos se expresó en miligramos por 100 gramos de peso corporal (mg/100g).

Para localizar el sitio del implante, los cerebros de los animales se fijaron en solución de formol al 10% durante 48 horas y luego se cortaron en un crióstato, de manera seriada en el plano frontal a 100 µm de grosor. Los cortes fueron montados en solución al 2% de gelatina en alcohol al 80% y teñidos con violeta de cresilo al 1% (Luna, 1975).

Análisis estadístico.

Los datos del número de ovocitos liberados fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguido por la prueba de U de Mann-Whitney; los del peso de los ovarios y del útero fueron analizados por análisis de varianza múltiple, seguido de la prueba de Tukey. Las tasas de Animales Ovulantes, Cornificación Vaginal, Diestro Vaginal, Proestro Vaginal y de Útero Distendido fueron analizadas por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o la prueba de χ^2 . En todos los casos, se aceptaron como significativos aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor del 5 %.



A 6360 H^m

ESQUEMA 3 . Corte sagital del cerebro de la rata adulta donde se muestra la colocación de la cánula permanente de acero inoxidable que permanece encajada sobre la corteza cerebral hasta el nivel del cuerpo calloso. También se muestra el sitio de los implantes falsos, con colesterol o con haloperidol en POA-AHA. CP: cánula permanente; CI: cánula interna; M: mandril; I: implante; C: corteza cerebral; QO: quiasma óptico; POA-AHA: áreas preóptica e hipotalámica anterior (Modificado del Atlas Estereotáxico de König y Klippel, 1963).

EXPERIMENTO No.1

ESTUDIO DE LOS EFECTOS DEL BLOQUEO UNILATERAL DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS DE POA-AHA, PROVOCADOS POR EL IMPLANTE DE HALOPERIDOL, DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA ADULTA.

Objetivos.- *Analizar los efectos del bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico producido por el implante unilateral de haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA realizado en los diferentes días del ciclo estral sobre la ovulación espontánea de ratas adultas con ciclos estrales de cuatro días.*

Analizar los efectos de los mismos implantes sobre el ciclo vaginal y el peso del útero.

Con el fin de analizar si el sistema dopaminérgico del lado derecho o izquierdo de POA-AHA regula en forma lateralizada los mecanismos que resultan en la ovulación, se evaluaron los efectos del bloqueo unilateral de los receptores a dopamina por el implante de haloperidol (antagonista de los receptores DA₁ y DA₂), en los diferentes días del ciclo estral.

Para ello, a las 13:00 h del día del estro, diestro-1, diestro-2 ó proestro, a los animales se les introdujo dentro de la cánula permanente (directriz) una cánula interna (aguja de acero inoxidable del No. 25, de 8.0 mm de longitud), en cuya punta se colocaron 10.0±0.3 µg de haloperidol en cristales (Sigma Chemical Co. St. Louis MO, USA) o 8.0±0.2 µg de colesterol (Sigma) en cristales. El fármaco fue expulsado dentro del lado derecho o izquierdo de la región POA-AHA con la ayuda de un alambre de acero inoxidable más delgado que la cánula interna [Esquema 3].

Todos los animales fueron sacrificados en la mañana (09:00-10:00h) del día del estro esperado del ciclo en estudio.

Como testigo se utilizaron animales con cánula permanente del lado derecho o del lado izquierdo del cerebro, a los que únicamente se les tomaron frotis vaginales los que fueron sacrificados en el día del estro vaginal esperado, luego de tres ciclos consecutivos de cuatro días. Otro grupo testigo estuvo formado por animales intactos con ciclos regulares de cuatro días, los que fueron sacrificados en el día del estro vaginal esperado, luego de tres ciclos consecutivos de igual duración.

RESULTADOS

Efectos de la cánula permanente.

La colocación de la cánula permanente en el lado derecho o izquierdo de la corteza cerebral en dirección a POA-AHA, no afectó la duración del ciclo estral de los animales ya que 150 de los 155 animales con cánula permanente del lado derecho y 156 de los 160 del lado izquierdo, presentaron ciclos estrales regulares de cuatro días de duración.

Sólo 5 de los 316 implantes unilaterales se localizaron fuera de POA-AHA (Implantes Derechos: 2 de 150; Implantes Izquierdos: 3 de 156).

En comparación con el grupo testigo de animales sin tratamiento, la presencia de la cánula permanente sobre la corteza cerebral a la altura del cuerpo calloso no modificó la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados por animal ovulante (Tabla 1).

Tabla 1. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e. de ovocitos liberados por animal ovulante, sacrificados en el día del estro vaginal esperado después de colocarles una cánula permanente de acero inoxidable en el lado derecho o izquierdo del cerebro a la altura del cuerpo calloso y dirigida a las áreas preóptica e hipotalámica anterior.

Grupo	Tasa de animales ovulantes	Número de ovocitos liberados
Testigo absoluto	30/30	10.4 \pm 0.5
Cánula derecha	6/6	12.0 \pm 0.6
Cánula izquierda	6/6	12.0 \pm 0.4

Efectos del implante unilateral de colesterol o haloperidol sobre las tasas de ovulación, cornificación, diestro y proestro vaginal y de útero distendido.

1. Implante de colesterol

1.1 Efectos sobre el ciclo estral

El implante unilateral con colesterol en POA-AHA realizado en el día del estro disminuyó la tasa de cornificación vaginal al día del sacrificio, acompañado de un aumento en la tasa de animales que presentaron un frotis típico de diestro. Los animales que recibieron el implante de colesterol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA en los otros días del ciclo estral no presentaron diferencias en la presencia de estro vaginal al momento del sacrificio. En cambio, la presencia de útero distendido se incrementó en los grupos con colesterol implantados en diestro-1 y diestro-2 (Tabla 2).

Tabla 2. Tasa de animales que en el día del estro esperado presentan cornificación vaginal, frotis típico de diestro o de proestro y útero distendido después del implante unilateral de colesterol a las 13:00 h del estro, diestro-1, diestro-2 o del proestro, en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA).

Grupo	Tasa de Animales con:			
	Cornificación Vaginal	Diestro Vaginal	Proestro Vaginal	Útero Distendido
Testigo	12/12	0/12	0/12	0/12
con Colesterol en:				
Estro	20/30 *	10/30 *	0/30	8/30
Diestro-1	16/20	4/20	0/20	9/20 *
Diestro-2	17/17	0/17	0/17	8/17 *
Proestro	20/20	0/20	0/20	0/20

* $p < 0.05$ comparado con el Testigo (prueba de χ^2)

La disminución de la tasa de animales con estro vaginal sin modificaciones en la tasa de animales con útero distendido, observada en el grupo de ratas con implante de colesterol realizado en el día del estro, nos permiten suponer que la lesión o el estímulo mecánico producida por los cristales, afectó de manera inhibitoria la secreción de estrógenos. En cambio, la misma lesión o estímulo realizado en los días del diestro-1 o diestro-2, no afectaron la secreción de estrógenos, pero sí la de progesterona, ya que la proporción de animales con útero distendido aumentó significativamente. La presencia de la cánula a nivel de la corteza cerebral, no afectó la secreción de estrógenos y progesterona, ya que a la autopsia todos los animales presentaron estro vaginal y ausencia de útero distendido.

1.2 Efectos sobre la ovulación

La tasa de animales ovulantes en las ratas con implante falso o con implante de colesterol en el día del estro, disminuyó en forma significativa en comparación con el grupo testigo absoluto, independientemente del lado en que se introdujo la cánula o se colocó el implante de colesterol (Tabla 3).

Tabla 3. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado una vez realizado el implante en el lado derecho o izquierdo sin fármaco (falso) o con colesterol al nivel de POA-AHA a las 13:00 h en el día del estro vaginal precedido por dos ciclos consecutivos de cuatro días.

Grupo	Cánula Permanente Lado Derecho	Cánula Permanente Lado Izquierdo
Testigo	6/6	6/6
Implante Falso	5/10 *	6/10 *
Implante con Colesterol	8/15 *	6/15 *

* $p < 0.05$ comparado con el grupo testigo (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher)

Los implantes unilaterales con colesterol en POA-AHA realizados en los días del estro, diestro-1 y diestro-2 redujeron significativamente la tasa ovulatoria, lo que no ocurrió cuando dichos implantes se realizaron en el día del proestro. En ninguno de

estos casos, el colesterol afectó el número de ovocitos liberados por los animales ovulantes, ni los pesos de los ovarios y del útero (Tabla 4).

La modificación en la tasa ovulatoria observada en los animales con implante unilateral de colesterol, pueden ser consecuencia de la alteración en la secreción de estrógenos, puesta de manifiesto por las modificaciones en la frecuencia de estró vaginal observada. Sin embargo, dado que sólo ovuló el 68% de los animales que presentaron estró vaginal, se puede suponer que los cristales de colesterol estimularon o destruyeron una vía neural que lleva información desde el hipotálamo hasta el ovario. La existencia de esta vía ha sido propuesta por varios autores (Burden, 1979; Dominguez y Riboni, 1971; Mizunuma y col. 1983; Nance y col., 1983) aunque validez de esta propuesta hasta el momento no ha sido probada.

Tabla 4. Tasa de animales que ovularon en el día del estró esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados por animal ovulante, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero del grupo testigo (animales con cánula permanente que fueron sacrificados en el día del estró esperado luego de tres ciclos consecutivos de cuatro días) y de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de colesterol en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior en los diferentes días del ciclo estral.

Grupo	Tasa Ovulatoria	Ovocitos Liberados	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Testigo	12/12	12.0 \pm 0.3	28.3 \pm 0.9	183 \pm 7
Colesterol en:				
Estro	14/30 *	12.0 \pm 0.5	29.3 \pm 0.8	204 \pm 6
Diestro-1	12/20 *	11.0 \pm 1.0	29.2 \pm 0.7	203 \pm 9
Diestro-2	10/17 *	12.0 \pm 0.4	30.0 \pm 1.1	212 \pm 9
Proestro	20/20	11.7 \pm 0.5	27.5 \pm 1.0	190 \pm 6

* $p < 0.05$ comparado con el Testigo (Prueba de χ^2)

2. Implantes de haloperidol

2.1 Efectos sobre el ciclo estral

Los implantes unilaterales con haloperidol en cada uno de los días del ciclo estral produjeron resultados diferentes según el día del ciclo en el que se realizó el bloqueo del sistema dopaminérgico de POA-AHA.

En los animales implantados con haloperidol en el lado izquierdo de POA-AHA en el día del estro, el porcentaje de animales que presentaron un frotis característico de estro vaginal fue menor al del grupo de colesterol. No se observaron cambios en la frecuencia del útero distendido en estos animales (Tabla 5).

En el día del diestro-1, el implante con haloperidol en el lado derecho de POA-AHA, indujo un decremento significativo en el porcentaje de animales que presentaron estro vaginal al sacrificio, lo que no ocurrió en los animales con implante en el lado izquierdo. En este grupo de animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo se observó un incremento significativo en el porcentaje de animales con útero distendido (Tabla 5).

Cuando el implante de haloperidol se realizó en el lado izquierdo de POA-AHA en el día del diestro-2, el porcentaje de animales que en el sacrificio presentaron frotis característico de estro disminuyó significativamente. No se observaron cambios en la frecuencia de útero distendido (Tabla 5).

Los implantes unilaterales de haloperidol en el día del proestro no resultaron en modificaciones de ninguno de estos parámetros (Tabla 5).

La disminución de la tasa de animales con estro vaginal sin modificación en la tasa de animales con útero distendido, observada en el grupo de ratas con implante de colesterol realizado en el día del estro, nos permiten suponer que la lesión o el estímulo mecánico producida por los cristales, afectó de manera inhibitoria la secreción de estrógenos. En cambio, la misma lesión o estímulo realizado en los días del diestro-1 o diestro-2, no afectaron la secreción de estrógenos, pero si la de progesterona, ya que la proporción de animales con útero distendido aumentó significativamente.

Tabla 5: Tasa de animales que en el día del estro esperado presentan cornificación vaginal, frotis típico de diestro y útero distendido después del implante unilateral de haloperidol (HLP) o colesterol (COL) a las 13:00 h del estro, diestro-1, diestro-2 o del proestro en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior.

Grupo / Lado	Tasa de Animales con:			
	Cornificación Vaginal	Diestro Vaginal	Proestro Vaginal	Útero Distendido
Estro:				
COL-Derecho	10/15	5/15	0/15	2/15
HLP-Derecho	5/11	5/11	1/11	4/11
COL-Izquierdo	10/15	3/15	2/15	6/15
HLP-Izquierdo	2/10 **	7/10 **	1/10	1/10
Diestro-1:				
COL-Derecho	8/10	2/10	0/10	6/10
HLP-Derecho	1/7 **	3/7	3/7	1/7 ♦
COL-Izquierdo	8/10	1/10	1/10	3/10
HLP-Izquierdo	4/7	2/7	1/7	7/7 **
Diestro-2:				
COL-Derecho	7/7	0/7	0/7	5/7
HLP-Derecho	6/7	1/7	0/7	1/7
COL-Izquierdo	10/10	0/10	0/10	3/10
HLP-Izquierdo	6/12 **	6/12 **	0/12	2/12
Proestro:				
COL-Derecho	10/10	0/10	0/10	0/10
HLP-Derecho	7/7	0/10	0/10	0/7
COL-Izquierdo	10/10	0/10	0/10	0/10
HLP-Izquierdo	8/8	0/10	0/10	1/8

** $p < 0.05$ comparado con el Grupo con Colesterol (prueba de χ^2); ♦ $p < 0.05$ comparado con el implante del Lado Izquierdo (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher)

2.2. Efectos sobre la ovulación.

Dado que el implante unilateral con colesterol afectó la respuesta ovulatoria de los animales, los resultados de los implantes unilaterales con haloperidol en los diferentes días del ciclo estral sobre la ovulación, el número de ovocitos liberados y los pesos de los ovarios y del útero fueron comparados con sus respectivos grupos con implante de colesterol.

Los efectos del implante unilateral con haloperidol en POA-AHA sobre la ovulación dependieron del día del ciclo en que se realizaron. El implante unilateral con haloperidol realizado en los días del estro y del diestro-1 bloqueó significativamente la ovulación de los animales al día del estro esperado, mientras que los mismos implantes realizados en los días del diestro-2 y del proestro no afectaron la respuesta ovulatoria de los animales. No se observaron diferencias entre los implantes con haloperidol entre el lado derecho e izquierdo de POA-AHA (Tabla 6).

En comparación con los animales implantados con colesterol, el peso del útero disminuyó significativamente cuando el haloperidol fue implantado en el lado izquierdo de POA-AHA en el estro y se incrementó cuando el mismo implante fue realizado en el día del diestro-1 (Tabla 6).

La disminución significativa de la tasa ovulatoria observada en los animales con implante unilateral de haloperidol realizado en los días del estro y diestro-1, nos permiten sugerir la posible alteración en la secreción de estrógenos, ya que la frecuencia de cornificación vaginal fue significativamente menor y los frotis observados mostraron apariencia de diestro.

Tabla 6. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de haloperidol o de colesterol, a las 13:00 h del estro, diestro-1, diestro-2 o proestro, en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA). Todos los animales fueron sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Estro:					
Colesterol	Derecho	8/15	11.9 \pm 0.6	29.7 \pm 1.3	192 \pm 7
Haloperidol	Derecho	1/11 *	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Colesterol	Izquierdo	6/15	12.0 \pm 1.0	29.6 \pm 0.9	217 \pm 9
Haloperidol	Izquierdo	0/10 *	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11 **
Diestro-1:					
Colesterol	Derecho	6/10	10.7 \pm 1.9	27.7 \pm 0.5	214 \pm 22
Haloperidol	Derecho	0/7 *	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Colesterol	Izquierdo	6/10	11.3 \pm 0.3	28.7 \pm 1.7	180 \pm 11
Haloperidol	Izquierdo	0/7 *	0	24.6 \pm 1.6	224 \pm 17**.@
Diestro-2:					
Colesterol	Derecho	6/7	13.0 \pm 0.5	30.1 \pm 1.1	210 \pm 31
Haloperidol	Derecho	4/7	13.0 \pm 0.0	27.5 \pm 1.3	179 \pm 7
Colesterol	Izquierdo	4/10	12.5 \pm 0.5	29.6 \pm 3.2	191 \pm 9
Haloperidol	Izquierdo	4/12	12.5 \pm 1.0	31.5 \pm 1.1	191 \pm 10
Proestro:					
Colesterol	Derecho	10/10	11.1 \pm 1.0	27.7 \pm 1.5	193 \pm 9
Haloperidol	Derecho	7/7	11.5 \pm 0.8	26.8 \pm 1.5	187 \pm 5
Colesterol	Izquierdo	10/10	12.2 \pm 0.2	27.6 \pm 1.3	186 \pm 7
Haloperidol	Izquierdo	8/8	11.2 \pm 1.0	26.6 \pm 1.1	207 \pm 2

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher); ** $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol (Prueba de t de Student); @ $p < 0.05$ comparado con el implante del lado derecho (Prueba de t de Student)

Los resultados del presente experimento muestran que la participación del sistema dopaminérgico de POA-AHA en la regulación de las funciones del ovario es fundamental al inicio del ciclo estral. La falta de ovulación podría ser explicada por la afectación de la secreción fásica de GnRH en la tarde del proestro. Dado que la tasa de animales con estro vaginal disminuyó significativamente en los animales con implante unilateral de haloperidol en los días del estro y diestro 1, es posible que también se haya afectado la capacidad secretora de estrógenos por parte del ovario, lo que resultaría en la no existencia del feedback estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2. Para probar esta hipótesis se realizaron los siguientes experimentos.

EXPERIMENTO No.2

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS RESPONSABLES DE LAS MODIFICACIONES DE LA OVULACIÓN PROVOCADAS POR EL BLOQUEO UNILATERAL DE LOS RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS EN POA-AHA.

Objetivo.- *Analizar los mecanismos neuroendócrinos que explican los efectos del implante unilateral con haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, sobre la ovulación espontánea.*

Con el propósito de analizar las causas que provocaron el bloqueo de la ovulación en los grupos experimentales con implante unilateral de colesterol o haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA en los días del estro o diestro-1, se realizaron los siguientes tratamientos hormonales:

1. Reemplazo hormonal de la señal GnRH-érgica.

En los grupos experimentales con implante unilateral de haloperidol en POA-AHA, realizados en estro y diestro-1, se analizó la función adenohipofisiaria por medio del reemplazo de la señal GnRH-érgica, inyectando 3.7 µg/kg de peso corporal de GnRH sintético s.c. (Sigma) a las 13:00 horas del día del proestro esperado y los animales se sacrificaron en la mañana del siguiente día (estro esperado).

RESULTADOS

La administración de GnRH en el proestro esperado en animales con implante unilateral de colesterol en estro y diestro-1, restableció la ovulación en el 100 % de los casos. La inyección de la hormona indujo un incremento relativo en el peso de los ovarios (Colesterol+GnRH: 32.7 ± 0.8 vs. Colesterol: 29.3 ± 0.5 , $p < 0.05$). En comparación con los otros grupos con implante unilateral de colesterol tratados con la hormona, se observó un decremento en el peso del útero en los animales con implante de colesterol en el lado derecho de POA-AHA realizado en el diestro-1 (Tabla 7).

Tabla 7. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de colesterol a las 13:00 h del día del estro o diestro-1 en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 3.7 μ g/kg de hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) a las 13:00 h del proestro esperado y luego sacrificados en la mañana siguiente.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Estro:					
Colesterol	Derecho	8/15	11.9 ± 0.6	29.7 ± 1.3	192 ± 7
Colesterol+GnRH	Derecho	4/4 *	9.5 ± 1.2	32.4 ± 1.1	210 ± 9
Colesterol	Izquierdo	6/15	12.0 ± 1.0	29.6 ± 0.9	217 ± 9
Colesterol+GnRH	Izquierdo	4/4 *	12.3 ± 0.9	$35.5 \pm 1.3^{**}$	201 ± 2
Diestro-1:					
Colesterol	Derecho	6/10	10.7 ± 1.9	27.7 ± 0.5	214 ± 22
Colesterol+GnRH	Derecho	4/4 *	12.3 ± 0.8	$32.0 \pm 0.9^{**}$	$170 \pm 4 @$
Colesterol	Izquierdo	6/10	11.3 ± 0.3	28.7 ± 1.7	180 ± 11
Colesterol+GnRH	Izquierdo	4/4 *	10.8 ± 0.9	31.1 ± 2.0	208 ± 6

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con Colesterol sin reemplazo hormonal (Prueba de χ^2); ** $p < 0.05$ comparado con el grupo con Colesterol sin reemplazo hormonal (Prueba de t de Student); @ $p < 0.05$ comparado con todos los grupos con Colesterol+GnRH (Prueba de t de Student).

En los grupos con implante unilateral de haloperidol realizado en el estro y en el diestro-1, la inyección de GnRH a las 13:00 h del proestro esperado restableció la ovulación en el 86 % (19/22) de los animales. En comparación con el grupo de animales ovulantes implantados con colesterol, se observó una disminución en el número de ovocitos liberados por los animales que recibieron el implante de haloperidol en el día del estro y la administración de GnRH (Colesterol: 11.9 ± 0.5 vs. Haloperidol+GnRH: 7.6 ± 1.9 , $p < 0.05$), en tanto que los implantados en el diestro-1 ovularon una cuota normal de ovocitos. En conjunto, se observó un incremento en el peso de los ovarios en los animales con implante en el lado izquierdo de haloperidol que recibieron el tratamiento hormonal (Haloperidol+GnRH: 31.7 ± 1.9 vs. Haloperidol: 26.3 ± 0.9 $p < 0.05$), el peso de los ovarios y del útero se incrementó significativamente en los animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo de POA-AHA realizado en el estro y que recibieron la inyección de GnRH. el tratamiento con GnRH incremento el peso del utero en los animales con implante de haloperidol en el lado derecho de POA-AHA realizado en diestro-1 (Tabla 8).

Tabla 8. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de haloperidol o de colesterol a las 13:00 h del día del estro o diestro-1 en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 3.7 μ g/k de hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) a las 13:00 h del proestro esperado y luego sacrificados en la mañana siguiente.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Estro:					
Haloperidol	Derecho	1/11	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Colesterol+GnRH	Derecho	4/4 *	9.5 \pm 1.2	32.4 \pm 1.1**	210 \pm 9
Haloperidol+GnRH	Derecho	4/5 *	6.8 \pm 2.8	29.1 \pm 0.7	200 \pm 9
Haloperidol	Izquierdo	0/10	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11
Colesterol+GnRH	Izquierdo	4/4 *	12.3 \pm 0.9	35.5 \pm 1.3**	201 \pm 2 **
Haloperidol+GnRH	Izquierdo	3/5 *	8.7 \pm 3.0	33.5 \pm 1.6**	220 \pm 14**
Diestro-1:					
Haloperidol	Derecho	0/7	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Colesterol+GnRH	Derecho	4/4 *	12.3 \pm 0.8	32.0 \pm 0.9**	170 \pm 4
Haloperidol+GnRH	Derecho	6/6 *	11.2 \pm 0.7	29.6 \pm 1.4	221 \pm 19**,#
Haloperidol	Izquierdo	0/7	0	24.6 \pm 1.6	225 \pm 17@
Colesterol+GnRH	Izquierdo	4/4 *	10.8 \pm 0.9	31.1 \pm 2.0**	208 \pm 6 @
Haloperidol+GnRH	Izquierdo	6/6 *	12.5 \pm 0.8	29.8 \pm 2.3	208 \pm 14

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con Haloperidol sin tratamiento hormonal (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher); ** $p < 0.05$ comparado con el grupo con Haloperidol sin tratamiento hormonal (Prueba de t de Student); # $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol tratado con GnRH (Prueba de t de Student); @ $p < 0.05$ comparado con el implante del lado derecho (Prueba de t de Student).

2. Reemplazo hormonal de la señal ovárica.

Para analizar si el sistema *feedback* estimulante de los estrógenos fue modificado por el bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico de POA-AHA, otros grupos de animales con implante unilateral del fármaco en el día del estro o del diestro-1 fueron inyectados con 10 µg de benzoato de estradiol s.c. (Sigma) a las 13:00 horas del día del diestro-2 y los animales fueron sacrificados en la mañana del día del estro esperado del ciclo estudiado.

RESULTADOS

En animales con implante unilateral de colesterol en el día del estro o del diestro-1, la administración de benzoato de estradiol a las 13:00 del diestro-2 restableció la ovulación en el 100 % de los casos y el número de ovocitos liberados fue similar al del grupo con colesterol sin tratamiento hormonal. El tratamiento hormonal indujo un incremento relativo en el peso de los ovarios en los animales con implante unilateral de colesterol en el lado derecho de POA-AHA en diestro-1; en cambio, el peso del útero se incrementó en los animales con implante de colesterol en el lado derecho realizado en el día del estro y en los animales con implante del lado izquierdo realizado en el día del diestro-1 (Tabla 9).

La inyección de benzoato de estradiol a las 13:00 h del diestro-2 no restableció la ovulación en los animales con implante del lado derecho de POA-AHA en el día del estro, lo que si ocurrió en los animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo y en los grupos tratados en diestro-1 (0/8 vs. 14/18, $p < 0.05$). En comparación con los animales con implante unilateral de colesterol, el tratamiento con estrógenos en los animales con bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico no fue suficiente para que el animal liberara una cuota normal de ovocitos (Haloperidol+BE: 7.4 ± 0.8 vs. Colesterol+BE: 11.9 ± 0.3 , $p < 0.05$). Con excepción de los animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo de POA-AHA realizado en diestro-1, el peso de los ovarios no se modificó por el tratamiento con los estrógenos. En cambio, el peso del útero aumentó significativamente en los animales con implante unilateral de haloperidol en estro y en aquellos con implante derecho en el diestro-1 tratados con benzoato de estradiol (Tabla 10).

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que la secreción preovulatoria de la GnRH en el día del proestro, que precede a la ovulación, depende de la función óptima del sistema dopaminérgico de POA-AHA durante los primeros días del ciclo estral de la rata, ya que el bloqueo del sistema dopaminérgico durante los días del estro y del diestro-1 indujo un bloqueo significativo de la ovulación, posiblemente por alteración en la secreción de estrógenos y del mecanismo *feedback* estimulante de éstos en el día del diestro-2.

Tabla 9. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de 8.0 ± 2.0 μ g de colesterol a las 13:00 h del día del estro o diestro-1 en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 10 μ g de benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro-2 sacrificados en el estro esperado.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Estro:					
Colesterol	Derecho	8/15	11.9 \pm 0.6	29.7 \pm 1.3	192 \pm 7
Colesterol+BE	Derecho	4/4 *	13.4 \pm 1.2	34.0 \pm 3.8	242 \pm 19 **
Colesterol	Izquierdo	6/15	12.0 \pm 1.0	29.6 \pm 0.9	217 \pm 9
Colesterol+BE	Izquierdo	4/4 *	12.0 \pm 0.6	30.7 \pm 2.5	248 \pm 20
Diestro-1:					
Colesterol	Derecho	6/10	10.7 \pm 1.9	27.7 \pm 0.5	214 \pm 22
Colesterol+BE	Derecho	4/4 *	11.8 \pm 0.9	32.0 \pm 1.5**	222 \pm 17
Colesterol	Izquierdo	6/10	11.3 \pm 0.3	28.7 \pm 1.7	180 \pm 11
Colesterol+BE	Izquierdo	4/4 *	10.8 \pm 0.3	29.6 \pm 1.3	258 \pm 10 **

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con Colesterol sin reemplazo hormonal (Prueba χ^2); ** $p < 0.05$ comparado con el grupo con Colesterol sin reemplazo hormonal (Prueba de t de Student).

Tabla 10. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral de 10.0 ± 3.0 μ g de haloperidol o 8.0 ± 2.0 μ g de colesterol a las 13:00 h del día del estro o diestro-1 en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 10 μ g de benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro-2 y luego sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Estro:					
Haloperidol	Derecho	1/11	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Colesterol+BE	Derecho	4/4 *	13.4 \pm 1.2	34.0 \pm 3.8	242 \pm 19**
Haloperidol+BE	Derecho	0/8	0	32.6 \pm 1.8	236 \pm 16**
Haloperidol	Izquierdo	0/10	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11
Colesterol+BE	Izquierdo	4/4 *	12.0 \pm 0.6	30.7 \pm 2.5	248 \pm 20**
Haloperidol+BE	Izquierdo	5/6 *	6.0 \pm 1.2 #	32.0 \pm 1.5	235 \pm 9**
Diestro-1:					
Haloperidol	Derecho	0/7	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Colesterol+BE	Derecho	4/4 *	11.8 \pm 0.9	32.0 \pm 1.5**	222 \pm 17**
Haloperidol+BE	Derecho	5/6 *	8.6 \pm 0.8 #	29.2 \pm 2.1	250 \pm 9**
Haloperidol	Izquierdo	0/7	0	24.6 \pm 1.6	225 \pm 17
Colesterol+BE	Izquierdo	4/4 *	10.8 \pm 0.3	29.6 \pm 1.3**	258 \pm 10
Haloperidol+BE	Izquierdo	4/6 *	7.8 \pm 2.2	30.7 \pm 2.3**	232 \pm 7

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con Haloperidol sin tratamiento hormonal (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher); ** $p < 0.05$ comparado con el grupo con Haloperidol sin tratamiento hormonal (Prueba de t de Student); # $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol y tratado con Benzoato de Estradiol (Prueba de t de Student).

El bloqueo del sistema dopaminérgico de POA-AHA en estro y diestro-1 interrumpe los mecanismos que regulan la secreción preovulatoria de la GnRH, ya que su reemplazo permite la recuperación parcial de la capacidad de respuesta ovulatoria de los animales.

Se ha observado que la lesión electrolítica de la zona incerta medial resulta en la disminución de la concentración de GnRH en la eminencia media (Wilkes y col., 1979) y que la administración de fenobarbital en esta zona es capaz de bloquear la ovulación (MacKenzie y col., 1989). Por tanto, los somas dopaminérgicos de la zona incerta tendrían una participación importante en el estímulo de las neuronas GnRH-érgicas para inducir la síntesis y la descarga preovulatoria del péptido desde la eminencia media (Sanhera y col., 1991).

El efecto estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2 requiere de la integridad funcional del sistema dopaminérgico del lado derecho de POA-AHA en el día del estro, sitio en donde los estrógenos parecerían ejercer su acción estimulante para que se produzca la ovulación (Cruz y col., 1991).

El hecho de que la administración de estrógenos haya restablecido la ovulación solamente en los animales con el implante de haloperidol en el lado izquierdo, permite sugerir que la respuesta de cada lado de POA-AHA a la acción estimulante de los estrógenos es asimétrica. Sin embargo, dado que la neurona GnRH-érgica no posee receptores a estrógenos, estos resultados nos permiten sugerir que los estrógenos actúan a otro nivel para inducir la descarga preovulatoria de la GnRH, es decir sobre otras neuronas que afectan directamente la actividad de las neuronas GnRH-érgicas (Barraclough, 1983; Barraclough y Wise, 1982; Fink, 1979).

La explicación de la respuesta asimétrica en los animales con bloqueo unilateral de la información dopaminérgica de POA-AHA en el día del estro es difícil. Es posible que la respuesta asimétrica al estímulo estrogénico pudiera deberse a diferencias en la capacidad de unión de los estrógenos a sus receptores en el lado derecho o izquierdo de las diferentes regiones cerebrales que son blanco de sus acciones (Rosie y col., 1990).

Se ha sugerido que las neuronas dopaminérgicas que proyectan hacia el área preóptica son blanco de los efectos estimulantes de los estrógenos en la regulación

de la liberación de las gonadotropinas (Wilson y col., 1991). Nuestros resultados muestran que el bloqueo de la información dopaminérgica de POA-AHA afecta la respuesta de los somas GnRH-érgicos a la liberación fásica del péptido lo que provocaría una disminución en la producción endógena de los estrógenos.

El hecho de que el reemplazo hormonal con la GnRH y los estrógenos en los animales con implante unilateral de haloperidol realizado en estro no sea capaz de restablecer una cuota de ovulación normal, podría indicar que el sistema dopaminérgico de POA-AHA participa en los mecanismos neurales que regulan el desarrollo folicular del ovario, idea que ha sido sugerida por varios autores (Burden y Lawrence, 1977; Dominguez y Riboni, 1971; Mizunuma y col., 1983; Nance y col., 1983).

EXPERIMENTO No.3

ANÁLISIS DE LA PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO DE POA-AHA EN EL DÍA DEL ESTRO: BLOQUEO UNILATERAL INDUCIDO POR EL IMPLANTE DE UNA MEZCLA DE HALOPERIDOL+COLESTEROL EN RATAS ADULTAS.

Objetivo.- *Analizar la sensibilidad del sistema dopaminérgico de POA-AHA, por efectos del implante unilateral de diferentes cantidades de haloperidol sobre la ovulación espontánea de ratas adultas con ciclos estrales de cuatro días.*

Dado que el implante de 10.0 ± 0.3 μg de haloperidol a las 13:00 h del estro vaginal, en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, bloqueó la ovulación de los animales y dado que se han descrito resultados que indican que, en este día del ciclo, el sistema colinérgico de las mismas áreas participa de manera lateralizada en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación (Cruz y col., 1987), se decidió analizar la participación del sistema dopaminérgico del lado derecho o izquierdo de POA-AHA sobre la respuesta ovulatoria de ratas adultas cíclicas a un implante unilateral con la mitad de la dosis de haloperidol utilizada en el Experimento No.1.

Para ello, a las 13:00 h del día del estro, a los animales se les introdujo dentro de la cánula permanente otra cánula (cánula interna: aguja de acero inoxidable del No. 25) de 8.0 mm de longitud, en cuya punta se colocaron 10.0 ± 0.4 μg de una mezcla

en cristales de haloperidol + colesterol (1:1). El fármaco fue expulsado dentro del lado derecho o izquierdo de la región POA-AHA con la ayuda de un alambre de acero inoxidable más delgado que la cánula interna [Esquema 3].

Como grupo testigo se utilizaron animales a los que se les implantaron $8.0 \pm 0.2 \mu\text{g}$ de colesterol en cristales (Sigma) en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, a las 13:00 h del día del estro.

Todos los animales fueron sacrificados en la mañana (09:00-10:00h) del día del estro esperado del ciclo estudiado.

En el caso donde el tratamiento realizado bloqueó la ovulación, se procedió a analizar la función del hipotálamo por medio del reemplazo de la señal GnRH-érgica, inyectando $3.5 \mu\text{g}$ de GnRH sintético s.c. (Sigma) a las 13:00 horas del día del proestro esperado, de la manera descrita en el Experimento No.2 .

Así mismo, para analizar si el sistema feedback estimulante de los estrógenos fue modificado por el bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico, en el modelo del animal con implante unilateral del fármaco en el que se bloqueó la ovulación, a las 13:00 horas del día del diestro-2 esperado se inyectaron $10 \mu\text{g}$ de benzoato de estradiol s.c. (Sigma), de la forma descrita en el Experimento No.2 .

RESULTADOS

Implante unilateral de fármaco diluido realizado en el día del estro

Los efectos del implante unilateral con la mezcla (1:1) de haloperidol + colesterol en POA-AHA a las 13:00 h del día del estro, fueron diferentes en función del lado en el cual se realizó el bloqueo de la información dopaminérgica. El implante en el lado derecho de POA-AHA bloqueó la ovulación en todos los casos, en tanto que el izquierdo no afectó la ovulación. No se observaron diferencias en el peso de los ovarios ni del útero (Tabla 11).

Tabla 11. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral con una mezcla (1:1) de haloperidol+colesterol (HLP+COL) o con colesterol a las 13:00 h del día del estro en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA). Todos los animales fueron sacrificados en el día del estro esperado.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
Colesterol	Derecho	8/15	11.9 \pm 0.6	29.7 \pm 1.3	192 \pm 7
HLP+COL	Derecho	0/8 *	0	30.7 \pm 0.8	187 \pm 9
Colesterol	Izquierdo	6/15	12.0 \pm 1.0	29.6 \pm 0.9	217 \pm 9
HLP+COL	Izquierdo	5/8	10.2 \pm 0.6	33.1 \pm 1.8	203 \pm 12

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol y con HLP+COL del lado izquierdo (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher).

El reemplazo hormonal con GnRH a las 13:00 h del proestro esperado restableció significativamente la ovulación en los animales con implante del fármaco diluido en el lado derecho de POA-AHA. El número de ovocitos liberados fue semejante al del grupo tratado con colesterol y GnRH (Haloperidol Diluido+GnRH: 9.5 ± 1.5 ; Colesterol+GnRH: 10.9 ± 0.9). La administración de la hormona no modificó el peso de los ovarios ni del útero (Tabla 12).

Tabla 12. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral con una mezcla (1:1) de haloperidol+colesterol (HLP+COL) a las 13:00 h del día del estro en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 3.7 μ g/k de hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) a las 13:00 h del proestro esperado y luego sacrificados en la mañana siguiente.

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
HLP+COL	Derecho	0/8	0	30.7 ± 0.8	187 ± 9
HLP+COL+GnRH	Derecho	5/6 *	9.2 ± 2.3	35.7 ± 3.0	220 ± 13
HLP+COL	Izquierdo	5/8	10.2 ± 0.6	33.1 ± 1.8	203 ± 12
HLP+COL+GnRH	Izquierdo	3/4	10.0 ± 1.7	30.7 ± 1.1	174 ± 5

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con Haloperidol (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher).

La inyección de benzoato de estradiol a las 13:00 h del diestro-2 también fue inefectiva para restablecer la ovulación en aquellos animales con bloqueo de la información dopaminérgica del lado derecho de POA-AHA en el día del estro pero sí fue efectiva en los animales con bloqueo del lado izquierdo (Haloperidol Diluido: 8/12 vs. Haloperidol: 0/10, $p < 0.05$). El peso del útero se incrementó significativamente sólo en los animales con implante del lado izquierdo que fueron tratados con los estrógenos (Tabla 13).

Tabla 13. Tasa de animales que ovularon en el día del estro esperado (Tasa Ovulatoria) y media \pm e.e. del número de ovocitos liberados, del peso (mg/100g de peso corporal) de los ovarios y del útero de los animales a los que se les realizó un implante unilateral con una mezcla (1:1) de haloperidol+colesterol (HLP+COL) a las 13:00 h del día del estro en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) y una inyección de 10 μ g de benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados en la 44 horas más tarde (estro esperado).

Grupo	Lado	Tasa Ovulatoria	Número de Ovocitos	Peso de los Ovarios	Peso del Útero
HLP+COL	Derecho	0/8	0	30.7 \pm 0.8	187 \pm 9
HLP+COL+BE	Derecho	0/4	0	36.5 \pm 2.6	190 \pm 4
HLP+COL	Izquierdo	5/8*	10.2 \pm 0.6	33.1 \pm 1.8	203 \pm 12
HLP+COL+BE	Izquierdo	3/4*	5.7 \pm 3.3	34.3 \pm 2.3	258 \pm 12 **

* $p < 0.05$ comparado con los grupos implantados en el lado derecho (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher); ** $p < 0.05$ comparado con los grupos con implante unilateral sin reemplazo hormonal (Prueba de t de Student).

Efectos del implante unilateral de la mezcla 1:1 de haloperidol+colesterol sobre las tasas de cornificación vaginal, diestro vaginal, proestro vaginal y de útero distendido.

El implante unilateral en el lado derecho de POA-AHA con 10.0 \pm 4.0 μ g de una mezcla de haloperidol + colesterol (1:1) resultó en un decremento en la tasa de animales que presentan un frotis característico de estro al momento del sacrificio al compararlo con el grupo testigo absoluto y con el grupo que recibió el implante del lado izquierdo; el 75% de estos animales presentaron un frotis típico de diestro. No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de útero distendido (Tabla 14).

Tabla 14. Tasas de animales que en el día del estro esperado presentan cornificación vaginal, frotis típico de diestro o de proestro y útero distendido al sacrificio después del implante unilateral de $10.0 \pm 4.0 \mu\text{g}$ de una mezcla 1:1 de haloperidol+colesterol ó con $8.0 \pm 2.0 \mu\text{g}$ de colesterol a las 13:00 h del día del estro, en el lado derecho o izquierdo de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA).

Grupo	Tasas de :			
	Cornificación Vaginal	Diestro Vaginal	Proestro Vaginal	Útero Distendido
Testigo Absoluto	12/12	0/12	0/12	0/12
Colesterol	20/30	8/30	2/30	8/30
Haloperidol+Colesterol colocado en el lado :				
Derecho	1/8 *	7/8	0/8	0/8
Izquierdo	6/8	0/8	2/8	2/8

* $p < 0.05$ comparado con todos los grupos (Prueba de probabilidad Exacta de Fisher).

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que el sistema dopaminérgico de POA-AHA en el día del estro presenta lateralidad funcional sobre la regulación neuroendócrina de la ovulación. Al parecer, el lado derecho de POA-AHA en este día del ciclo es más sensible al bloqueo de los receptores dopaminérgico que el izquierdo.

Se ha observado que el bloqueo unilateral de los receptores colinérgicos muscarínicos de POA-AHA a las 13:00 h del estro, diestro-1 y diestro-2 interrumpió significativamente la ovulación de ratas adultas cíclicas. En el día del estro, el sistema colinérgico está lateralizado, ya que el bloqueo inducido por el implante de atropina en el lado derecho de POA-AHA bloquea la ovulación, mientras que el implante en el lado izquierdo no afecta la respuesta ovulatoria de los animales (Cruz, y col., 1989). Nuestros resultados son congruentes con dichas observaciones, por lo que es posible que en el día del estro los sistemas colinérgico y

dopaminérgico del lado derecho de POA-AHA comandarían los eventos neuroendócrinos que culminan con la ovulación.

La lateralidad funcional de POA-AHA que se manifiesta en el día del estro puede estar asociada a las diferencias en el contenido de GnRH en el lado derecho o izquierdo del hipotálamo medial basal (Gerendai, 1979), de tal manera que el bloqueo unilateral de la información dopaminérgica (y colinérgica) afecte las señales necesarias para que se produzca la descarga preovulatoria de la GnRH en la tarde del proestro.

El bloqueo de la información dopaminérgica del lado derecho de POA-AHA con una dosis menor de haloperidol sigue impidiendo que los estrógenos ejerzan su acción *feedback* estimulante en la tarde del diestro-2, lo que no ocurrió con el implante del lado izquierdo.

DISCUSIÓN GENERAL

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que la secreción preovulatoria de la GnRH en el día del proestro, que precede a la ovulación, depende de la función del sistema dopaminérgico de POA-AHA durante los primeros días del ciclo estral de la rata. El bloqueo del sistema dopaminérgico durante los días del estro y del diestro-1 indujo un bloqueo significativo de la ovulación. Al parecer y al igual que en el sistema colinérgico de estas áreas, el lado derecho de POA-AHA es el que comanda la secreción de GnRH en el día del estro (Cruz y col., 1989).

El bloqueo de los receptores dopaminérgicos de POA-AHA, inducido por el implante unilateral haloperidol, afectó la respuesta ovulatoria de los animales, así como las frecuencias relativas del estro vaginal al sacrificio y de la presencia de útero distendido, en función del día del ciclo en que se realizó la intervención. El bloqueo sustancial de la ovulación durante los días del estro, diestro-1 y el parcial durante el diestro-2, nos lleva a sugerir que el sistema dopaminérgico de POA-AHA participa de manera importante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación. Este papel del sistema dopaminérgico pudiera estar relacionado con las acciones de las diferentes hormonas esteroides sobre los somas dopaminérgicos, ya que se ha mostrado la presencia de receptores a estas hormonas en estas neuronas (Sanhera y col., 1991).

La información dopaminérgica que llega a POA-AHA proviene del grupo de somas del área A11, A13 y A14, denominados en conjunto como sistema dopaminérgico incerto-hipotalámico (Björklund y col, 1975). La lesión electrolítica bilateral a nivel de los somas A13 de la zona incerta de ratas hembra adultas bloquea la liberación preovulatoria de la LH y de la prolactina en el 70% de los animales, lo que permite sugerir una participación significativa de la información dopaminérgica proveniente de esta área en la regulación de la liberación fásica de la LH y la prolactina (Sanhera y col., 1991), por lo que los resultados obtenidos con el bloqueo de los receptores dopaminérgicos de POA-AHA son congruentes con estas observaciones.

La posibilidad de que los somas dopaminérgicos A13 estén relacionados con la regulación de las funciones sexuales deriva de otras observaciones: 1) en la rata la

lesión de la zona incerta medial (que contiene a los somas A13) reduce la concentración de GnRH en la eminencia media (Wilkes y col., 1979); 2) la inyección de fenobarbital dentro de la zona incerta medial bloquea la ovulación (Mackenzie y col., 1989); 3) la tasa de recambio de la dopamina se incrementa en la zona incerta medial al momento de la liberación preovulatoria de LH en el día del proestro (MacKenzie y col., 1988); 4) los somas dopaminérgicos de la zona incerta están involucrados con las acciones feedback estimulantes de los estrógenos y la progesterona sobre la descarga ovulatoria de la LH (Sanhera y col., 1991; Wilson y col., 1991).

El bloqueo del sistema dopaminérgico de POA-AHA en el día de estro redujo la tasa de animales con cornificación vaginal sin afectar la tasa de animales con útero distendido, lo que se acompañó de un incremento significativo en la frecuencia de un frotis vaginal típico de diestro, lo que nos permite sugerir una alteración en la secreción de progesterona acompañada de la caída de los estrógenos. De igual forma, la interrupción de la información dopaminérgica en el día del diestro-1 también indujo un bloqueo de la ovulación acompañado de una disminución de la frecuencia de cornificación vaginal; en estos grupos experimentales la frecuencia de un frotis vaginal con leucocitos no fue estadísticamente diferente respecto al testigo absoluto y al testigo con colesterol; sin embargo, la tasa de animales con útero distendido fue mayor en los animales con implante de haloperidol en el lado izquierdo respecto al derecho, hecho que nos permite sugerir la posibilidad de una acción disímil del sistema dopaminérgico sobre la generación de señales neuroendócrinas que modulan la secreción de estrógenos y progesterona.

El bloqueo del sistema dopaminérgico de POA-AHA durante el diestro-2, afectó relativamente la respuesta ovulatoria de los animales, mientras que en el día del proestro no modificó las tasas de ovulación, de cornificación vaginal ni de la presencia de útero distendido.

Estos hechos en conjunto nos permiten sugerir que el sistema dopaminérgico de POA-AHA participa en la regulación de los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación de manera diferencial durante el ciclo estral. Se ha observado que la administración sistémica de 2.5 mg/kg de peso de haloperidol a

ratas adultas cíclicas induce un bloqueo diferencial de la ovulación, que es más significativo cuando la inyección se realiza durante los días del estro y del diestro-1, con un bloqueo parcial cuando se interrumpe la información dopaminérgica en la mañana del diestro-2 y en la tarde del proestro (Dominguez y col., 1987).

El hecho de que la inyección sistémica del haloperidol afecte la respuesta ovulatoria de los animales en el proestro y que el implante unilateral en POA-AHA no lo haga, podría indicar que en la regulación de la ovulación participan otro u otros sistemas dopaminérgicos fuera del de POA-AHA en el día del proestro.

El efecto estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2 requiere de la integridad funcional de los sistemas dopaminérgicos y colinérgico en el lado derecho de POA-AHA. En diferentes experimentos, la administración de estrógenos a ratas con implante de haloperidol, atropina (Cruz y col., 1992) o pilocarpina (López y col., 1993) induce la ovulación sólo cuando los fármacos se implantan en el lado izquierdo de POA-AHA, pero resulta ineficaz cuando el implante se da en el lado derecho.

Por otro lado, el *feedback* estimulante de los estrógenos sobre la ovulación no se presenta en ratas adultas con una lesión unilateral en el lado izquierdo del área hipotalámica anterior (Morán y col., 1994). Tales diferencias pueden ser explicadas basados en el momento del implante y la inyección de estrógenos (48 horas) y la lesión y la inyección (más de 25 días). Para explicar estas discrepancias, hemos propuesto previamente que en el lapso mayor se pueden desarrollar mecanismos neurales de compensación (plasticidad neuronal) (Morán y col., 1994).

CONCLUSIONES

- 1) La participación del sistema dopaminérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación espontánea, varía durante el ciclo estral de la rata.
- 2) Durante los días del estro y del diestro-1, la información dopaminérgica que llega a las áreas preóptica e hipotalámica anterior es necesaria para que el animal ovule en el día del estro esperado.
- 3) La información neural que transcurre en las estructuras extrahipotalámicas, que se ubican por encima y por fuera de las áreas preóptica e hipotalámica anterior, también participan en la modulación de los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación y la regulación del ciclo estral.
- 4) En el día del estro, la sensibilidad de los receptores dopaminérgicos del lado derecho de las áreas preóptica e hipotalámica anterior al bloqueo farmacológico con haloperidol, es mayor que la del izquierdo.
- 5) La ausencia de ovulación, inducida por el implante unilateral de haloperidol en las áreas preóptica e hipotalámica anterior, es resultado del bloqueo de la liberación preovulatoria de la GnRH que ocurre en el día del proestro.
- 6) El bloqueo unilateral de la información dopaminérgica en las áreas preóptica e hipotalámica anterior, que se traduciría en la alteración de la secreción tónica de la GnRH durante el ciclo estral, origina la falta de secreción endógena de los estrógenos.
- 7) En el día del estro, el lado derecho de las áreas preóptica e hipotalámica anterior actúa como un centro importante para que se produzca el efecto feedback estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2.

PERSPECTIVAS

Los resultados del presente trabajo apoyan la idea de que en la rata existe lateralidad funcional en los mecanismos neuroendócrinos que participan en la interacción del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y que culminan con la ovulación. Sin embargo, ante las limitaciones del modelo experimental utilizado los resultados mostrados son insuficientes para responder las siguientes preguntas:

¿La inhibición de la respuesta ovulatoria por la interrupción de la información dopaminérgica de POA-AHA al inicio del ciclo es resultado del bloqueo de los receptores dopaminérgicos de las neuronas GnRH-érgicas? o bien, ¿que otras neuronas que modulan la actividad de las neuronas GnRH-érgicas son influidas por la información dopaminérgica que llega a POA-AHA?

Las diferencias en sensibilidad de las neuronas GnRH-érgicas en ambos de POA-AHA ¿son el reflejo de la presencia de un mayor número de interconexiones hacia las neuronas? o que en el día del estro ¿las neuronas GnRH-érgicas del lado derecho tienen mayor actividad metabólica que las del izquierdo?

¿Qué subtipos de receptores dopaminérgicos de POA-AHA están involucrados en la regulación de los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación en la rata? Si se expresaran diferentes subtipos de receptores a dopamina en POA-AHA ¿éstos presentan variaciones en su número, su expresión o ambos, durante el ciclo estral de la rata?

La asimetría en el mecanismo de retrocontrol que ejercen los estrógenos en el día del estro sobre la ovulación espontánea ¿es resultado de la expresión lateralizada de receptores a estrógenos en POA-AHA o en otras áreas del SNC que están influenciadas por el sistema dopaminérgico?

¿Existe una vía neural directa entre el sistema dopaminérgico de POA-AHA y el ovario? De existir esta vía neural dependiente de la actividad dopaminérgica de POA-AHA ¿cómo está actuando a nivel del ovario en la regulación de la ovulación?

Al parecer la información neural que transcurre dorsal a POA-AHA participa de manera importante en la regulación de la ovulación, pero ¿sobre cuáles estructuras neurales asociadas al proceso de la ovulación ejerce su influencia? ¿Es esta información extrahipotalámica la que conecta directamente con el ovario?

BIBLIOGRAFÍA

- ABE, H., K. CHIHARA, N. MINAMITANI, J. IWASAKI, T. CHIBA, S. MATSUKURA & T. FUJITA (1981). Stimulation by bombesin of immunoreactive somatostatin release into rat hypophysial portal blood. *Endocrinology* 109:229-234
- ADELMAN, J.P., A.J. MASON, J.S. HAYFLICK & P.H. SEEBURG (1986). Isolation of the gene hypothalamic cDNA for the common precursor of gonadotrophin-releasing hormone and prolactin releasing inhibiting factor in human and rat. *Proc Natl Acad Sci* 83:179-183
- ADVIS, J.P., C.E. AHMED & S.R. OJEDA (1989). Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Res Bull* 22:605-610
- ADVIS, J.P., S. SMITH WHITE, S.R. OJEDA (1981). Delayed puberty induced by chronic suppression of prolactin release in the female rat. *Endocrinology* 109:1321-1330
- APUD, J.A., G. RACAGNI, E. IULIANO, D. COCCHI, F. CASANUEVA & E.E. MULLER (1981). Role of central nervous system-derived or circulating γ -aminobutyric acid on prolactin secretion in the rat. *Endocrinology* 108:1505-1510
- ARITA, J. & J.C. PORTER (1984). Relationship between dopamine release into hypophyseal portal blood and prolactin release after morphine treatment in rats. *Neuroendocrinology* 38:62-67
- ARNOLD, A.P. & BOTTJER, S.W. (1985). Cerebral lateralization in birds. En: *Cerebral Lateralization in Non Human Species*. Eds. S.D. Glick. Academic Press. Orlando. pp.11-39
- BAKALKIN, G.Y., V.V. TSIVEZOV, E.A. SJUTKIN, S.P. VESELOVA, I.D. NOVILOV & O.G. KRIVOSHEEV (1984). Laterization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res* 296:361-364
- BARRACLOUGH, C.A. (1973). Sex steroid regulation in reproductive neuroendocrine processes. En: "Handbook of Physiology". Sección 7. Vol. II. Capítulo 2. Eds. R.O. Greep & E.B. Astwood. Am. Physiol. Soc. Washington, D.C. pp.29-52
- BARRACLOUGH, C.A. (1983). The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphol Hung* 31:101-116
- BARRACLOUGH, C.A. & P.M. WISE (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion. *Endocrine Rev* 3:91-119

BARRY, J., G.E. HOFFMAN & S. WRAY (1985). LHRH-containing systems. En:"Handbook of Chemical Neuroanatomy: GABA and Neuropeptides in the CNS, Part I". Vol. 4. Capitulo IV. Eds. A. Björklund & T. Hokfelt. Elsevier. Amsterdam. pp.166-215

BJÖRKLUND A. & A. NOBIN (1973). Fluorescence histochemical and microspectrofluorometric mapping of dopamine and noradrenaline cells groups in the rat diencephalon. Brain Res 51:193-205

BJÖRKLUND A., O. LUNDVALL & A. NOBIN (1975). Evidence of an incertohypothalamic dopamine neuron system in the rat. Brain Res 89:2942

BLEIER, R. & W. BYNE (1985). Septum and hypothalamus. En:"The Rat Nervous System. Volume 1. Forebrain and Midbrain". Ed. G. Paxinos. Academic Press. Sydney. pp.87-118

BORGEAT, P., G. CHAVANCY, A. DUPONT, F. LABRIE, A. ARIMURA & A.V. SCHALLY (1972). Stimulation of adenosine 3,5-cyclic monophosphate accumulation in anterior pituitary gland in vitro by synthetic luteinizing-hormone releasing hormone / follicle stimulating hormone-releasing hormone (LH-RH/FSH-RH). Proc Natl Acad Sci USA 69:2677-2681

BORGEAT, P., F. LABRIE, J. C. TÉ, F. RUEL, A.V. SCHALLY, D.H. COY & E.J. YANAIHARA (1974). Parallel stimulation of cyclic AMP accumulation and LH and FSH releasing by analogs of LHRH in vitro. J Mol Cell Endocrinol 1:7-20

BROCA, P. (1861). Remarques sur le siege de la faculte du langage articule, survies d'une observation d'aphemie. Bull Soc Anat 6:398-407

BROWNSTEIN, M.J. (1980). Distribution of hypothalamic hormones. En:"The Endocrine Functions of the Brain". Capitulo 7. Eds. M. Motta. Raven Press. New York. pp.143-149

BRADBURY, A.F. & D.G. SMYTH (1985). C-terminal amide formation in peptide hormones. En: Biogenetics of neurohormonal peptides. Eds. R. Hakanson & J. Thorell. Academic Press. pp.171-186

BURDEN, H.W. & I.E. Lawrence, Jr. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. Neuroendocrinology 23:368-378

BUSBY, W.H. Jr, G.E. QUACKENBUSH, J. HUMM, W.W. YOUNGBLOOD & J.S. KIZER (1987). An enzyme(s) that converts glutamyl peptides into pyroglutamyl-peptides. J Biol Chem 262:8532-8535

CALIGARIS, L., J.J. ASTRADA, & S. TELEISNIK (1974). Oestrogen and progesterone influence on the release of prolactin in ovariectomized rats. *J Endocrinol* 60:205-215

CHÁVEZ, R., M.E. CRUZ & R. DOMINGUEZ (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113:397-401

CHIHARA, K, A. ARIMURA & A.V. SCHALLY (1979). Effect of intraventricular injection of dopamine, norepinephrine, acetylcholine, and 5-hydroxytryptamine on immunoreactive somatostatin release into rat hypophyseal portal blood. *Endocrinology* 104:1656-1662

CHING, M.C.H. & R.E. UTIGER (1983). Hypothalamic portal blood immunoreactive TRH in the rat: Lack of effect of hypothyroidism and thyroid hormone treatment. *J Endocrinol Invest* 6:347-352

CHOUDHURY, S, R. SHARPE, P. BROWN (1974). The effect of pimozide, a dopaminergic antagonist, on pituitary gonadotrophic function in the rat. *J Reprod Fert* 39:275-283

CLEMENS, J.A., E.B. SMALSTING & B.D. SAWYER (1976). Studies on the role of the preoptic area in the control of reproductive function in the rat. *Endocrinology* 99:728-735

CONN, M. (1994). The molecular mechanism of gonadotropin-releasing hormone action in the pituitary. En: *The Physiology of Reproduction*. Segunda Edición. Capítulo 32. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press. New York, pp.1815-1832

CRITCHLOW, V. (1958). Ovulation induced by hypothalamic stimulation in the anesthetized rat. *Am J Physiol* 195:171-174

CROWLEY, W.R. & S.P. KALRA (1989). Regulation of preovulatory luteinizing hormone secretion by ovarian hormone-monoamine-neuro-peptide interactions in the rat. En: *Neural Control of Reproductive Function*. Eds. J.M. Lakoski, J.R. Pérez-Polo & D.K. Rasin. Alan R. Liss, Inc., New York, pp.79-93

CROWLEY, W.R. & F.P. ZELMAN (1981). Neurotransmitter system: Anatomy and pharmacology. En: *Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behavior*. Sección 1. Capítulo 1. Eds. N.T. Adler. Plenum Press. New York & London. pp.65- 71 y 76-82.

CRUZ, CASTRO & DOMINGUEZ (1992). A comparative analysis of the neuroendocrine mechanisms regulating ovulation, affected by unilateral implant of

atropine in the preoptic-anterior hypothalamic area, in intact and hemiovariectomized adult rats. *J Endocrinol* 133:205-210

CRUZ, M.E. R. CHAVEZ & R. DOMINGUEZ (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adults rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38:167-171

CRUZ, M.E., L.P. JARAMILLO & R. DOMINGUEZ (1989). Asymmetric ovulatory response induced by a unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *J Endocrinol* 123:437-439

CRUZ, M.E., J.L. MORAN, L.P. JARAMILLO & R. DOMINGUEZ (1990). Differential effects of a unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rats. *J Endocrinol* 124:37-41

DAWSON, T.M., D.R. GEHLERT & J.K. WAMSLEY (1986). Quantitative autoradiographic localization of central dopamine D1 and D2 receptors. *Adv Exp Med Biol* 204:93-118

DAY, T.A., W. BLESSING & J.O. WILLOUGHBY (1980). Noradrenergic and dopaminergic projections to the medial preoptic area of the rat. A combined horseradish peroxidase / catecholamine fluorescence study. *Brain Res* 193:543-548

D'ANGELO, S.A & A.S. KRAVATS (1960). Gonadotropic hormone function in persistent estrous rats with hypothalamic lesions. *Proc Soc Exp Biol Med* 104:130-133

De GREFF, W.J., W. KLOOTWIJK, B. KARELS & T.J. VISSER (1985). Levels of dopamine and thyrotrophin-releasing hormone in hypophyseal stalk blood during an oestrogen-stimulated surge of prolactin in the ovariectomized rat. *J Endocrinol* 105:107-112

De GREEF, W.J. & J.D. NEILL (1979). Dopamine levels in hypophysial stalk plasma of the rat during surges of prolactin secretion induced by cervical stimulation. *Endocrinology* 105:1093-1099

De GREEF, W.J. & P. Van Der SCHOOT (1985). Some recent developments in the study of prolactin in mammals. *Front Horm Res* 14:70-99

De GREEF, W.J. & T.J. VISSER (1981). Evidence for the involvement of hypothalamic dopamine and thyrotrophin-releasing hormone in suckling-induced release of prolactin. *J Endocrinol* 91:213-223

DENEFF, C., M. BAES & C. SCHRAMME (1984). Stimulation of prolactin secretion after short term or pulsatile exposure to dopamine in superfused anterior pituitary cells aggregates. *Endocrinology* 114:1371-1378

DIAMOND, M.C. (1985). Rat forebrain morphology: Right- left; Male-female; Young-old; Enriched-impoverished. En:"Cerebral Laterization in Nonhuman Species". Edt. S.D.Glick. Academic Press. New York. pp.73-87

DIAMOND, M.C. (1987). Sex differences in the rat forebrain. *Brain Res Rev* 12:235-240

DOMINGUEZ, R., M.E. CRUZ & R. CHAVEZ (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En:"Growth Factors and the Ovary". Edt. A.N. Hirshfield. Plenum Press. New York. pp.321-325

DOMINGUEZ, R., C.M. GAITAN, S.A. MÉNDEZ & A. ULLOA- AGUIRRE (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *J Endocrinol* 113:37-44

DOMINGUEZ, R. & L. RIBONI (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7:164-170

DOMINGUEZ, R., D. ZIPITRIA, L. RIBONI & R. REVILLA (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation through the estrous cycle of the rat. *J Interdisc Cycle Res* 16:63-72

ENJALBERT, A., M. RUBERG, S. ARANCIBIA, M. PRIAM & C. KORDON (1979). Endogenous opiates block dopamine inhibition of prolactin secretion in vitro. *Nature* 280:595-596

ERICKSON, G.C. (1982). Follicular maturation and atresia. En: *Serono Symposium No.42 "The Gonadotropins: Basic science and clinical Aspects in Females"*. Eds. C. Flamigi & J.R. Givens. Academic Press, New York, pp.177-182

EVERETT, J.W. (1939). Spontaneous persistent estrous in a strain albino rats. *Endocrinology* 25:123-127

EVERETT, J.W. (1956). Luteotropic function of autografts of the rat hypophysis. *Endocrinology* 54:685-695

EVERETT, J.W. & H.M. RADFORD (1961). Irritative deposits from stainless steel electrodes in the preoptic rat brain causing release of pituitary gonadotropin. *Proc Soc Exp Biol Med* 108:604-609

EVERETT, J.W., C.H. SAWYER & J.E. MARKEE (1949). A neurogenic timing factor in the control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cycle rat. *Endocrinology* 44:234-250

FEDER, H.H. (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: "Neuroendocrinology of Reproduction: Physiology and Behavior". Sección III. Capítulo 10. Eds. N.T. Adler. Plenum Press. New York & London. pp.279-308

FINK, G., H.F. STANLEY & A. G. WATTS (1983). Central nervous control of sex and gonadotropin release: Peptide and nonpeptide transmitter interactions. En: "Brain peptides". Ed. D.T. Krieger, M.J. Brownstein & J.B. Martin. John Wiley & Sons. New York. pp. 413-435

FINK, G. (1979). Feedback actions of target hormones on hypothalamus and pituitary with special reference to gonadal steroids. *Ann Rev Physiol* 41:571-585

FINK, G. (1988). Gonadotropic secretion and its control. En: *The Physiology of Reproduction*. Capítulo 32. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp.1349-1377

FLERKO, B. (1970). Control of follicle stimulating and luteinizing hormone secretion. En: "The Hypothalamus". Eds. L. Martini, M. Motta & F. Fraschini. Academic Press. New York & London. pp.351-363

FLERKO, B. & V. BARDOS (1959). Zwei verschiedene effekte experimental läsion des hypothalamus auf die gonaden. *Acta Neuroveget.*, Vienna 20:248-262

FOORD, S.M., J.R. PETERS, C. DIEGUEZ, M.F. SCANLON & R. HALL (1983). Dopamine receptors on intact anterior pituitary cells in culture: Functional association with the inhibition of prolactin and thyrotropin. *Endocrinology* 112:1567-1577

FREEMAN, M.E. (1988). The ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. Capítulo 45. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp.1893-1928

FUKUDA, M., K. YAMANOUCHI, Y. NAKANO, H. FURUYA & Y. ARAI (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: Unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neurosci Letters* 51:365-370

GAINOTTI, G. (1972). Emotional behavior and hemispheric side of the lesion. *Cortex* 8:41-55

GALABURDA, A., G. SHERMAN & N. GESCHWIND (1985). Cerebral lateralization: Historical note on animal studies. En: *Cerebral Lateralization in Non Human Species*. Eds. S.D. Glick, Academic Press, Orlando, pp. 1-10

GALABURDA, A.M., M. LEMAY, T.L. KEMPER & N. GESCHWIND (1978). Right-left asymmetries in the brain. *Science* 199:852

GALIN, D. (1974). Implications for psychiatry of left and right cerebral specialization. *Arch Gen Psychiat* 31:572-583

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

GERENDAI, I., W. ROTSYTEIN, B. MARCHETTI & V. SCAPAGNINI (1979). LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. En: "Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects". *Proceedings of Sero Symposium*. Vol. 19. Eds. A. Polleri & R. McLeod. Academic Press. New York. pp. 97-102

GESCHWIND, N. & M. GALABURDA (1985). Cerebral lateralization. Biological mechanisms, associations, and pathology: I. A hypothesis and a program for research. *Arch Neurol* 42:428-459

GIBBS, D.M. & J.D. NEILL (1978). Dopamine levels in the hypophysial stalk blood in the rat sufficient to inhibit prolactin secretion in vivo. *Endocrinology* 102:1895-1900

GIBBS, D.M., P.M. PLOTSKY, W.J. De GREEF & J.D. NEILL (1979). Effect of histamine and acetylcholine on hypophysial stalk plasma dopamine and peripheral plasma prolactin levels. *Life Sci* 24:2063-2070

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

GLICK, S.D., R.M. SHAPIRO (1985). Functional and neurochemical mechanisms of cerebral lateralization in rats. En: "Cerebral Lateralization in Nonhuman Species". Edt. S.D. Glick. Academic Press. New York. pp.158-183

GOLDSMITH, P.C., J.M. CRONIN & R.I. WEINER (1979). Dopamine receptor sites in the anterior pituitary. *J Histochem Cytochem* 27:1205-1207

GORE-LANGTON, R.E. & D.T. ARMSTRONG (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: *The Physiology of Reproduction. Segunda Edición. Capítulo 11*. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press. New York, pp.571-627

GOODMAN, R.L. (1978). The site of the positive feedback action of estradiol in the rat. *Endocrinology* 102:151-159

GUDELSKY, G.A., J.A. APUD, C. MASOTTO, V. LOCATELLI, D. COCCHI, G. RACAGNI & E.E. MULLER (1983). Ethanolamine-O-sulfate enhances γ -aminobutyric acid secretion into hypophyseal portal blood and lower serum prolactin concentrations. *Neuroendocrinology* 37:397-399

GUDELSKY, G.A., D.D. NANSEL & J.C. PORTER (1981). Role of estrogen in the dopaminergic control of prolactin secretion. *Endocrinology* 108:440-444

GUIGUÈRE, V., H. MEUNIER, R. VEILLEUX & F. LABRIE (1982). Direct effects of sex steroids on prolactin release at the anterior pituitary level: Interactions with dopamine, thyrotrophin-releasing hormone, and isobutylmethylxanthine. *Endocrinology* 111:857-862

GREENWALD, G.S. & S.K. ROY (1994). Follicular development and its control. En: *The Physiology of Reproduction. Segunda Edición. Capítulo 12.* Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press. New York, pp.629-724

GROSSMAN, A., G. DELITALA, T. YEO & G.M. BASSER (1981). GABA and muscimol inhibit the release of prolactin from dispersed rat anterior pituitary cells. *Neuroendocrinology* 32:145-149

HALASZ, B. & R.A. GORSKI (1967). Gonadotrophic hormone secretion in female rats after partial or total interruption of neural afferents to the medial basal hypothalamus. *Endocrinology* 80:608-622

HAUGER, R.L., F.J. KARSCH & D.L. FOSTER (1977). A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on temporal relationships between luteinizing hormone, estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. *Endocrinology* 101:807-817

HILLARP, N.A. (1949). Studies on the localization of hypothalamic centre controlling the gonadotropic function of the hypophysis. *Acta Endocrinol* 2:11-23

HOTCHKISS & KNOBIL (1994). The menstrual cycle and its control. En: *The Physiology of Reproduction. Segunda Edición. Capítulo 48.* Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press. New York, pp. 711-750

HUNG, C.R., J.S. HONG & S.C. BONDY (1982). Lack of asymmetrical distribution of receptor binding sites and of neurally active peptides within rat brain. *Neuroscience* 7:2295-2298

JOHNSON, M.D. & W.R. CROWLEY (1983). Acute effects of estradiol on circulating luteinizing hormone and prolactin concentrations and on serotonin turnover in individual brain nuclei. *Endocrinology* 113:1935-1941

KALRA, S.P. (1974). Role of estrogen in the restoration of LH release following stimulation of partially deafferented hypothalamus in rat. *Brain Res* 68:297-307

KIMURA, F., C. TSAI & M. KAWAKAMI (1983). Detailed profile of prolactin secretion in the immature female rat: Evidence for the existence of an ultradian rhythm. *Encrinol Jap* 30:297-303

KÖNIG, J.F.R. & R.A. KLIPPEL (1963). The rat brain: A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Eds. Williams & Wilkins Company. Baltimore.

KORDON, C., S.V. DROUVA, G. MARTINEZ DE LA ESCALERA & R.I. WEINER (1994). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of luteinizing hormone and prolactin. En: *The Physiology of Reproduction*. Segunda Edición. Capítulo 27. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press. New York, pp.1621-1681

KUPFERMANN, I. (1985). Hypothalamus, limbic system and cerebral cortex: Homeostasis and arousal. En: "Principles of Neural Science". 2a. edición. Sección VIII. Capítulo 46. Eds. E.R. Kandel & J.H. Schwartz. Elsevier. New York. pp.608-625

LABRIE, F., P. BERGEAT, J. DROUIN, M. BEAULIEU, L. LAGACÉ, L. FERLAND & V. RAYMOND (1979). Mechanism of action of hypothalamic hormones in the adenohipofisis. *Ann Rev Physiol* 41: 555-569

LAMBERTS, S.W.J., M. de QUIJADA, J.M. Van REE & D. De WIED (1982). Non-opiate β -endorphin fragments and dopamine-V'-type endorphins and prolactin secretion in rats. *Neuropharmacology* 21:1129-1135

LOPEZ, E., M.E. CRUZ & R. DOMINGUEZ (1992). Blockade of spontaneous ovulation induced by a unilateral implant of pilocarpine in the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) of adult rat. 25th Annual Meeting of Society for the Study of Reproduction. *Biology of Reproduction* Vol.46, Abstract No.255

LUNA, L.G. (1975). Manual of histology staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. McGraw-Hill Book Company. New York. pp.21 y 52

MacKENZIE, F.J., A.J. HUNTER, C. DALY & C.A. WILSON (1989). Evidence that the dopaminergic incertohypothalamic tract has a stimulatory effect on ovulation and gonadotrophin release. *Neuroendocrinology* 39:289-295

MacKENZIE, F.J., M.D. JAMES & C.A. WILSON (1988). Changes in dopamine activity in the zona incerta (ZI) over the rat estrous cycle and the effect of lesions of the ZI on cyclicity: Further evidence that the incertohypothalamic tract has a stimulatory role in the control of LH release. *Brain Res* 444:75-83

MALARKEY, W.J., T.M. O'DORISIO, M. KENNEDY & S. CATALAND (1981). The influence of vasoactive intestinal polypeptide and cholecystokinin on prolactin release in rat and human monolayer cultures. *Life Sci* 28:2489-2495

MARTÍNEZ de la ESCALERA, G. & R.I. WEINER (1992). Dissociation of dopamine from its receptor as a signal in the pleiotropic hypothalamic regulation of prolactin secretion. *Endocrine Rev* 13: 241-255

MATTHEIJ, J.A.M. & J.J.M. SWARTS (1978). Circadian variations in the plasma concentration of prolactin in the adult male rat. *J Endocrinol* 79:85-89

McCANN, S.M., S.M. OJEDA, E. VIJAYAN & R.L. MOSS (1978). LH-releasing hormone (LHRH), its localization, mechanism of release and action in the anterior pituitary and CNS. En: "Clinical Psychoneuroendocrinology in Reproduction". Eds. L. Carenza, P. Pancheri & L. Zichella. Academic Press. New York. pp.57-69

McNEILLY, A.S. (1980). Prolactin and the control of gonadotrophin secretion in the female. *J Reprod Fert* 58:537-549

MITCHELL, R., G. GRIEVE, R. DOWN & G. FINK (1983). Endogenous GABA receptor ligands in hypophyseal portal blood. *Neuroendocrinology* 37:169-176

MIYAKE, A. (1988). Control of LHRH secretion in women and female rats. En: *Neuroendocrine Control of the Hypothalamo-Pituitary System*. Ed. Hiroo Imura. Karger, pp.65-76

MIZUNUMA, H., L.R. De PALATIS & M. McCANN (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37:291-296

MONTES, G.S & E.H. LUQUE (1988). Effects of ovarian steroids on vaginal smears in the rat. *Acta Anatomica* 133: 192-199

MORAN, J.L., M.E. CRUZ & R. DOMINGUEZ (1994). Differences in the ovulatory response to unilateral lesions in the preoptic or anterior hypothalamic area performed on each day of the estrous cycle of adult rats. *Brain Res Bull* 33:663-668

MORAN, J.L. & A. DOMINGUEZ (1992). Alteraciones en el peso de los ovarios y las adrenales provocadas por la transección de vías no específicas en el sistema nervioso central (SNC). XXXV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, C-91

MULCHAHEL, J.J. & J.D. NEILL (1982). Gamma-aminobutyric acid (GABA) levels in hypophyseal stalk plasma of rats. *Life Sci* 31:453-456

MULLER, E.E., G. NISTICO & U. SCAPAGNINI (1977). Neurotransmitters and neurohormones. En:"Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function". Academic Press. New York. pp.1-12

MULLER, E.E., G. NISTICO & U. SCAPAGNINI (1977). Hypothalamic releasing and inhibiting hormones. En:"Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function". Academic Press. New York. pp.162-175 y 191-219

MULLER, E.E., G. NISTICO & U. SCAPAGNINI (1977). Brain neurotransmitters and the regulation of anterior pituitary function. En:"Neurotransmitters and Anterior Pituitary Function". Academic Press. New York. pp.267-291

NANCE, D.M. & W.H. MOGER (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. Brain Res Bull 8:299-302

NANCE, D.M., J.P. WHITE & W.H. MOGER (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. Brain Res Bull 10:353-355

NANSEL, D.D., G.A. GUDELSKY & J.C. PORTER (1979). Subcellular localization of dopamine in the anterior pituitary gland of the rat: Apparent association of dopamine with prolactin secretory granules. Endocrinology 105:1073-1077

NEILL, J.D. (1988). Prolactin secretion and its control. En: The Physiology of Reproduction. Capitulo 33. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp. 1379-1390

OKE, A., R. LEWIS & R.N. ADAMS (1980). Hemispheric asymmetry of norepinephrine distribution in the rat thalamus. Brain Res 188:269-272

OTHA, Y., T. SATO & T. IGUCHI (1993). Immunocytochemical localization of progesterone receptor in the reproductive tract in adult female rat. Biology of Reproduction 48: 205-213

PALKOVITS, M. (1980). Functional anatomy of the 'endocrine' brain. En:"The Endocrine Functions of the Brain". Capitulo 1. Eds. M. Motta. Raven Press. New York. pp.1-16

PALKOVITS, M. & M.J. BROWNSTEIN (1985). Distribution of neuropeptides in the central nervous system using biochemical micromethods. En:"Handbook of Chemical Neuroanatomy: GABA and Neuropeptides in the CNS, Part I". Vol. 4. Capitulo I. Eds. A. Björklund & T. Hokfelt. Elsevier. New York. pp. 1-2 y 10-12

PASQUALINI, C, V. LENOIR, A. EL ABED & B. KERDELHUE (1984). Anterior pituitary dopamine receptors during the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 38:39-44

PELLETIER, G., F. LABRIE, A. ARIMURA, R. PUVIANI & A.V. SCHALLY (1974). Immunohistochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone in the rat median eminence. *Endocrinology* 97:314-317

PIERCE, J.G. (1988). Gonadotropins: chemistry and biosynthesis. En: *The Physiology of Reproduction*. Capitulo 31. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp.1335-1348

PLOTSKY, P.M., W.J. De GREFF & J.D. NEILL (1982). In situ voltammetric microelectrodes: Application to the measurement of median eminence catecholamine release during stimulated suckling. *Brain Res* 250:251-262

PORTER, J.C., D.D. NANSEL, G.A. GUDELSKY, M.M. FOREMAN, N.S. PILOTTE, C.R. PARKER Jr., G.H. BORROWS, G.W. BATES & J.D. MADDEN (1980). Neuroendocrine control of gonadotropin secretion. *Fed Proc* 39:2896-2901

RAMIREZ, V.D., H.M. FEDER & C.H. SAWYER (1984). The role of brain catecholamines in the regulation of LH secretion: A critical inquiry. En: "Frontiers in Neuroendocrinology". Vol.VIII. Capitulo 2. Eds. L. Martini & w.f. Ganong. Raven Press. New York. pp.27-71

RANCE, N., P.M. WISE & C.A. BARRACLOUGH (1981). Negative feedback effects of progesterone correlated with changes in hypothalamic norepinephrine and dopamine turnover rates, median eminence luteinizing hormone-releasing hormone, and peripheral plasma gonadotropins. *Endocrinology* 108:2194-2199

RAO, Ch.V. & L.A. EDGERTON (1984). Dissimilarity of corpora lutea within some ovaries or those from right and left ovaries of pigs during the oestrous cycle. *J Reprod Fert* 70:61-66

RICHARDS, J. (1978). Hormonal control of follicular growth and maturation in mammals. En: "The Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution". De. R.E. Jones. Plenum Press. New York. pp.331-360

RICHARDS, J. (1980). Maturation of ovarian follicles: Actions and interactions of pituitary and ovarian hormones of follicular cell differentiation. *Physiologica Reviews* 60:51-89

RIVIER, C., M. BROWN & W. VALE (1977). Effect of neurotensin, substance P and morphine sulfate on the secretion of prolactin and growth hormone in the rat. *Endocrinology* 100:751-754

RIVIER, C., W. VALE, N. LING, M. BROWN & R. GUILLEMIN (1977). Stimulation in vivo of the secretion of prolactin and growth hormone by β -endorphin. *Endocrinology* 100:238-241

ROSENZWEIG, L.J. & Y.S. KANWAR (1982). Dopamine internalization by and intracellular distribution within prolactin cells and somatotrophs of the rat anterior pituitary as determined by quantitative electron microscopic autoradiography. *Endocrinology* 111:1817-1829

ROSIE, R., E. THOMPSON & G. FINK (1990). Oestrogen positive feedback stimulates the synthesis of LHRH mRNA in neurones of the rostral diencephalon of the rat. *J Endocrinol* 124:285-289

ROTCHILD, I. (1981). The regulation of the mammalian corpus luteum. *Recent Prog Hormon Res* 37:183-298

SÁNCHEZ, M.A. & R. DOMÍNGUEZ (1995). Differential effects of unilateral lesions in the medial amygdala on spontaneous and induced ovulation. *Brain Res Bull* 38:313-317

SANHERA, M.K., J. ANSELMO-FRANCI & S.M. McCANN (1991). Effect of medial zon incerta lesions on the ovulatory surge of gonadotrophins and prolactin in the rat. *Neuroendocrinology* 54:433-438

SANHERA, M.K., S. GRADY, W. SMITH, D.J. WOODWARD & J.C. PORTER (1991). Incertohypothalamic A13 dopamine neurons: Effect of gonadal steroids on tyrosine hydroxylase. *Neuroendocrinology* 53:268-275

SAWYER, C.H. & D.K. CLIFTON (1980). Aminergic innervation of the hypothalamus. *Fed Proc* 39:2889-2895

SCHNEIDER, H. & S. McCANN (1970). Monoamine and indolamines on control of LH secretion. *Endocrinology* 86:1127-1133

SCHULTING, G.A. & T.R. KOITER (1985). Regulation of the release of LH and FSH. *Front Horm Res* 14:34-52

SCHRAMME, C. & C. DENEFF (1984). Stimulation of spontaneous and dopamine-inhibited prolactin release from anterior pituitary reaggregate cellcultures by angiotensin peptides. *Life Sci* 34:1651-1658

SERAFETINIDES, E.A. (1965). The significance of the temporal lobes and of hemispheric dominance in the production of LSD-25 symptomatology in man. *Neurpsychologia* 3:345-347

SHERIDAN, R. B. LORIAS, L. SURARDT, F. ECTORS & J.L. PASTEELS (1979). Autonomous secretion of follicle stimulating hormone by long-term organ cultures in rat pituitaries. *Endocrinology* 104:198-204

SHIVERS, B.D., R.E. HARLAN & D.W. PFAFF (1983). Reproduction: The central nervous system role of luteinizing hormone releasing hormone. En: "Brain Peptides". Ed. D.T. Krieger, M.J. Brownstein & J.B. Martin. John Wiley & Sons. New York. pp. 389-412

SILVERMAN, A.J. (1988). The gonadotropin-releasing hormone (GnRH) Neuronal Systems: Immunocytochemistry. En: *The Physiology of Reproduction*. Capitulo 29. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp.1282-1304

SIMERLY, R.B. (1995). Anatomical substrates of hypothalamic integration. En: "The Rat Nervous System" Second Edition. Ed. G. Paxinos. Academic Press. New York. pp.353-376

STUMPF, W.E. (1980). Anatomical distribution of steroid hormone target neurons and circuitry in the brain. En: "The Endocrine Functions of the Brain". Capitulo 3. Eds. M. Motta. Raven Press. New York. pp.43-47

SWANSON, L.W. (1987). The hypothalamus. En: *Handbook of Chemical Neuroanatomy*. Vol.5: "Integrated systems of the CNS". Eds. A. Bjorklund, T. Hokfelt & L.W. Swanson. Elsevier. Amsterdam. pp.1-124

TAJASEN, T. & J.W. EVERETT (1967). Surgical analysis of the preoptico-tuberal pathway controlling ovulatory release of gonadotrophins in the rat. *Endocrinology* 81:1387-1396

TASAKA, K., A. MIYAKE, T. SAKUMOTO & T. AONO (1985). Dopamine decreases release of luteinizing hormone releasing hormone from superfused rat mediobasal hypothalamus. *J Endocrinol Invest* 8:373-376

TOBIAS, H., L.A. CARR & J.L. VOOGT (1983). Catecholamine mechanisms in the feedback effects of estradiol benzoate on the release of Lh and prolactin. *Proc Soc Exp Biol Med* 174:284-290

TOUGARD, C. & A. TIXIER-VIDAL (1988). Lactotropes and Gonadotropes. En: *The Physiology of Reproduction*. Capitulo 30. Eds. E. Knobil & J. Neill et al. Raven Press, New York, pp.1305-1333

UILENBROEK, J.T.J., P. Van Der SCHOOT, D. BESTEN & R.R. LANKHORST (1982). A possible direct effect of prolactin on follicular activity. *Biol Reprod* 27:1119-1125

VIJAYAN, E. & S. McCANN (1978). Re-evaluation of the role of catecholamines in control of gonadotropin and prolactin release. *Neuroendocrinology* 25:150-165

WALKER, S.F. (1980). Lateralization of functions in the vertebrate brain: A review. *Brain J Physiol* 71:329-334

WEINER, N. & P.B. MOLINOFF (1994). Catecholamines. En: *Basic Neurochemistry*. Capítulo 12. Eds. G.J. Siegel, B.W. Agranoff, R.W. Albers & P.B. Molinoff. Raven Press, New York. pp. 211-281

WEINER, R. & W. GANONG (1978). Role of brain monoamines and histamine in regulation of anterior pituitary secretion. *Physiol Rev* 58:905-976

WEBER, R.F.A., W.J. De GREFF, J. De KONING & J.T.M. VREEBURG (1983). LH-RH and dopamine levels in hypophysial stalk plasma and their relationship to plasma gonadotrophins and prolactin levels in male rats bearing a prolactin-adrenocorticotrophin-secreting pituitary tumor. *Neuroendocrinology* 36:205-210

WEST, B & P.S. DANNIES (1980). Effects of estradiol on prolactin production and dihydroergocryptin-induced inhibition of prolactin production in primary cultures of rat pituitary cells. *Endocrinology* 106:1108-1113

WESTENDORF, J.M. & A. SCHONBRUNN (1982). Bombesin stimulates prolactin and growth hormone release by pituitary cells in culture. *Endocrinology* 110:352-358

WIERSMA, J (1981). A detailed characterization of prolactin secretion patterns during daylight in individual cycling and pseudopregnant rats. *Neuroendocrinology* 33:288-294

WIESNER, J.B., J.I. KOENIG, L. KRULICH & R.L. MOSS (1984). Site of action for β -endorphine-induced changes in plasma luteinizing hormone and prolactin in the ovariectomized rat. *Life Sci* 34:1463-1473

WILKES, M.M., R.M. KOBAYASHI, S.S.C. YEN & R.Y. MOORE (1979). Monoamine neurone regulation of LRF neurons innervating the organum vasculosum lamina terminalis and median eminence. *Neurosci Lett* 13:41-46

WILSON, C.A., M.D. JAMES, J.P. GRIERSON & D.R. HOLE (1991). Involvement of catecholaminergic systems in the zona incerta in the steroidal control of gonadotrophin release and female sexual behaviour. *Neuroendocrinology* 53:113-123

TRABAJOS y PUBLICACIONES

- 1) Morán, J.L. & R. Domínguez. Ovulation blockade induced by implants of haloperidol (HLP) in the preoptic-anterior hypothalamic areas (POA-AHA) during the estrus cycle of the rat. 26th. Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. C-18. 1993.
- 2) Morán, J.L. El bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico (DA) de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) afecta la ovulación espontánea de la rata adulta. XXXVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. C-210. 1993.
- 3) Morán, J.L. & R. Domínguez. Un estudio de los mecanismos neuroendócrinos sobre las modificaciones de la ovulación inducidas por el bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico (DA) de POA-AHA. XVIII Congreso Latinoamericano de Ciencias Fisiológicas. P6/14. 1994.
- 4) Morán, J.L. El bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico (DA) de las áreas preóptica e hipotalámica anterior afecta la ovulación de las ratas adultas estimuladas con GnRH y estrógenos. XXXVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. C-100. 1994.
- 5) Morán Perales, J.L. & Domínguez Casala, R. Efecto del bloqueo unilateral del sistema dopaminérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) sobre la ovulación espontánea de la rata. XIII Reunión Anual de Maestrías y Doctorados en Ciencias de la Salud. C-4. 1995
- 6) Morán, J.L. Asymmetry in the ability of an unilateral implant of haloperidol (HLP) into the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA), performed on estrus day, to modify spontaneous ovulation of the rat. 28th. Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction. C-136. 1995.
- 7) Morán, J.L. Lateralización del sistema dopaminérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) sobre la ovulación espontánea de la rata: Respuesta asimétrica al implante unilateral de haloperidol (HLP) realizado en el día del estro. XXXVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. C-121. 1995.
- 8) Morán, J.L. & R. Domínguez (1994). Effects of the unilateral implant of haloperidol at the proptic-anterior hypothalamic area, on ovulation. Endocrine 3(6):391-393.

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Biology of Reproduction/Volume 48/Supplement 1



SSR

AUGUST 1-4, 1993 • 26th ANNUAL MEETING
COLORADO STATE UNIVERSITY
FORT COLLINS, COLORADO

17 INVOLVEMENT OF PROSTAGLANDINS IN THE SUPPRESSION OF HYPOTHALAMIC GONADOTROPIN RELEASING HORMONE PULSE GENERATOR ACTIVITY BY TUMOR NECROSIS FACTOR- α IN THE RAT Masugi Nishihara* and Mi Jeong Yoo*
Department of Veterinary Physiology, Veterinary Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan.

Under stress conditions such as infectious and neoplastic diseases, reproductive function is known to be suppressed. In response to invasive stimuli, a large amount of tumor necrosis factor- α (TNF- α) is produced by activated macrophages and astrocytes, and recognized to play pivotal roles in the coordination of the host defense mechanisms. The purpose of the present study was 1) to elucidate the effect of TNF- α on the electrical activity of hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH) pulse generator, which initiates a cascade of neuroendocrine events that are required for the normal reproductive processes, and 2) to examine the possible involvement of prostaglandins in mediating the effect of TNF- α on GnRH pulse generator activity. Ovariectomized rats were fitted with chronically implanted electrode arrays in the medial basal hypothalamus, and multiunit activity (MUA) was monitored from freely moving animals. Blood samples were withdrawn every 6 min through the indwelling atrial cannula for the determination of serum luteinizing hormone (LH) levels. During a pretreatment control period, characteristic increases (volleys) in MUA associated with the initiation of each LH pulse were recorded about every 20 min. After a single bolus injection of TNF- α (1 μ g) was intravenously administered, MUA volleys occurred at regular intervals for about 4 hr, but thereafter the interval was significantly prolonged for a few hours and then returned to the control level. Intracerebroventricular administration of TNF- α (50 ng) through a chronically implanted cannula in the lateral ventricle similarly prolonged the interval between MUA volleys. These changes in the interval between MUA volleys were faithfully reflected by the pulsatile LH secretion. On the other hand, neither intravenous nor intracerebroventricular injection of TNF- α affected MUA volley interval when administered 10 min after intravenous injection of indomethacin (1 mg/100g BW), a cyclooxygenase inhibitor. Injection of indomethacin alone did not have any effect on the volley interval. These results suggest that TNF- α , produced either in the peripheral tissue or in the brain, leads to a decrease in GnRH pulse frequency with a resultant suppression of reproductive function, and that the TNF- α action on hypothalamic GnRH pulse generator may be mediated by prostaglandins.

19 GnRH REPLACEMENT DID NOT RESTORE OVULATION IN RATS WITH UNILATERAL LESION IN THE AMYGDALA. M.A. Sánchez* and R. Domínguez. Biology of Reproduction Research Unit, FES-Zaragoza, AP 9-020, CP 15000, México D.F. México.

The hypothalamic mechanisms regulating ovulation presents asymmetry and lateralization which varies during the estrous cycle. To analyze if the participation of the amygdala in the regulation of ovulation is also asymmetric, the effects of a unilateral lesion of the right (R) or left (L) amygdala done on each day of the estrous cycle on ovulation occurring after 2 consecutive 4-day cycles, were analyzed. Also, the effects of GnRH injection on proestrus (P) of those animals with an alteration in ovulation provoked by the lesion, were studied. The ovulation rate (OR) in sham operated rats was 8/8, the left ovary (LO) released 6.4 \pm 1 ova and 4.8 \pm .7 the right one (RO). When the lesion in the R-amygdala was done on diestrus 1 (D1), 4/8 rats ovulated ($p < 0.05$ vs. sham), the LO released 2.3 \pm .9 ova ($p < 0.05$) and 6.0 \pm 1.5 the RO. The OR in rats lesioned on P was normal (6/6 and 4/4). The number of ova shed by the RO of the rats with a lesion in the R-amygdala, however, was very low (2.0 \pm 1.4). The OR and number of ova shed by rats lesioned on estrus, D2, or in the L-amygdala in D1 were similar to sham. The injection of GnRH, 3.75 μ g, 48h after placement a lesion in the R- or L- amygdala in D1 did not restore ovulation (lesion in L-amygdala+GnRH 4/11; lesion in R-amygdala+GnRH 4/10 ovulated). The differences in ovulation induced by a lesion the R- or L-amygdala and its dependence on the day of the estrous cycle, suggest that the participation of this area on the regulation of ovulation is partially asymmetric and varies during the estrous cycle. Since the GnRH injection did not restore ovulation, the existence of some neural connection between the amygdala and the ovaries is suggested. Supported by DGAPA, PUIS and CONACYT

18 OVULATION BLOCKADE INDUCED BY UNILATERAL IMPLANTS OF HALOPERIDOL (HLP) IN THE PREOPTIC-ANTERIOR HYPOTHALAMIC AREAS (POA-AHA) DURING THE ESTRUS CYCLE OF THE RAT. J.L. Morán* and R. Domínguez. Reproduction Research Unit, FES-Zaragoza, UNAM AP9-020, CP1500, México City.

In the rat, participation of the cholinergic system of POA-AHA in the regulation of ovulation is asymmetric and varies during the estrous cycle. Then, it was decided to analyze if the participation of the dopaminergic system of POA-AHA is also asymmetric and lateralized. Cyclic 4-day rats were implanted in the right (R) or left (L) side of POA-AHA with HLP, a dopamine (DA) receptor blocker, or cholesterol (CHOL), at 11:00 h of estrus (E), diestrus-1 (D1) or proestrus (P), and autopsied on the expected day of E. Results are shown in the table:

Day	Implant	Ovulation rate	Number of ova shed
E	CHOL-R-L	14/10	11.9 \pm 0.8
	HLP-R	1/11*	12
	HLP-L	0/10*	0
D1	CHOL-R-L	6/10	11.0 \pm 1.2
	HLP-R	0/5*	0
	HLP-L	0/5*	0
P	CHOL-R-L	16/16	11.5 \pm 1.0
	HLP-R	6/6	11.5 \pm 0.8
	HLP-L	5/5	11.2 \pm 1.0

Present results show that for normal ovulation the function of the POA-AHA DA system is necessary at the beginning of the cycle. Since the injection of HLP on P blocked ovulation, we can assume that other DA system plays an stimulatory role in the regulation of gonadotrophin secretion related to ovulation. Since no differences in the implants placed in the R or L side of POA-AHA were observed, the asymmetry observed in the cholinergic system does not occur with DA system.

Supported by PUIS, CONACYT and DGAPA.

20 CHANGES IN THE MOBEPINEPRINE (NE) CONTENT IN THE RIGHT AND LEFT OVARIES OF THE ADULT RAT THROUGHOUT THE ESTRUS CYCLE. R. Chávez and G. Costa*. Reprod. Res. Unit, FES-Zaragoza, UNAM AP9-020, CP1500 México, D.F. and IIBCE², Montevideo, Uruguay.

The neuroendocrine mechanisms controlling ovulation are lateralized, and the differences in the ovulatory ability by the right and left ovary partially depend on ovarian innervation. To understand such differences, the ovarian content of NE in the right and left ovary during the estrus cycle was studied.

The right and left ovary of cyclic adult female rats of the C12-V strain, sacrificed between 10.00 to 12.00 h on estrus (E), diestrus 1 (D1), diestrus 2 (D2), or proestrus (P) were used for quantification of NE by HPLC.

The results obtained are present in the table:

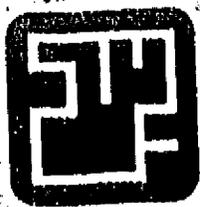
Day	n	Ovary	Weight (mg)	Content (ng)	Concentration (ng/mg)
E	6	left	26.3 \pm 1.1	14.7 \pm 2.2	0.6 \pm 0.01
	6	right	24.4 \pm 2.4	38.4 \pm 6.7ab	1.6 \pm 0.33a
D1	8	left	25.4 \pm 2.2	13.2 \pm 1.6	0.5 \pm 0.01
	8	right	24.4 \pm 2.5	16.5 \pm 2.7	0.7 \pm 0.12
D2	8	left	26.9 \pm 2.0	16.0 \pm 1.4	0.6 \pm 0.09
	7	right	27.4 \pm 2.4	25.5 \pm 3.4	1.0 \pm 0.20
P	10	left	30.7 \pm 2.1	57.4 \pm 6.9b	1.9 \pm 0.20
	8	right	30.8 \pm 3.4	23.8 \pm 3.2a	0.8 \pm 0.10a

a, $P < 0.01$ vs. left ovary same day

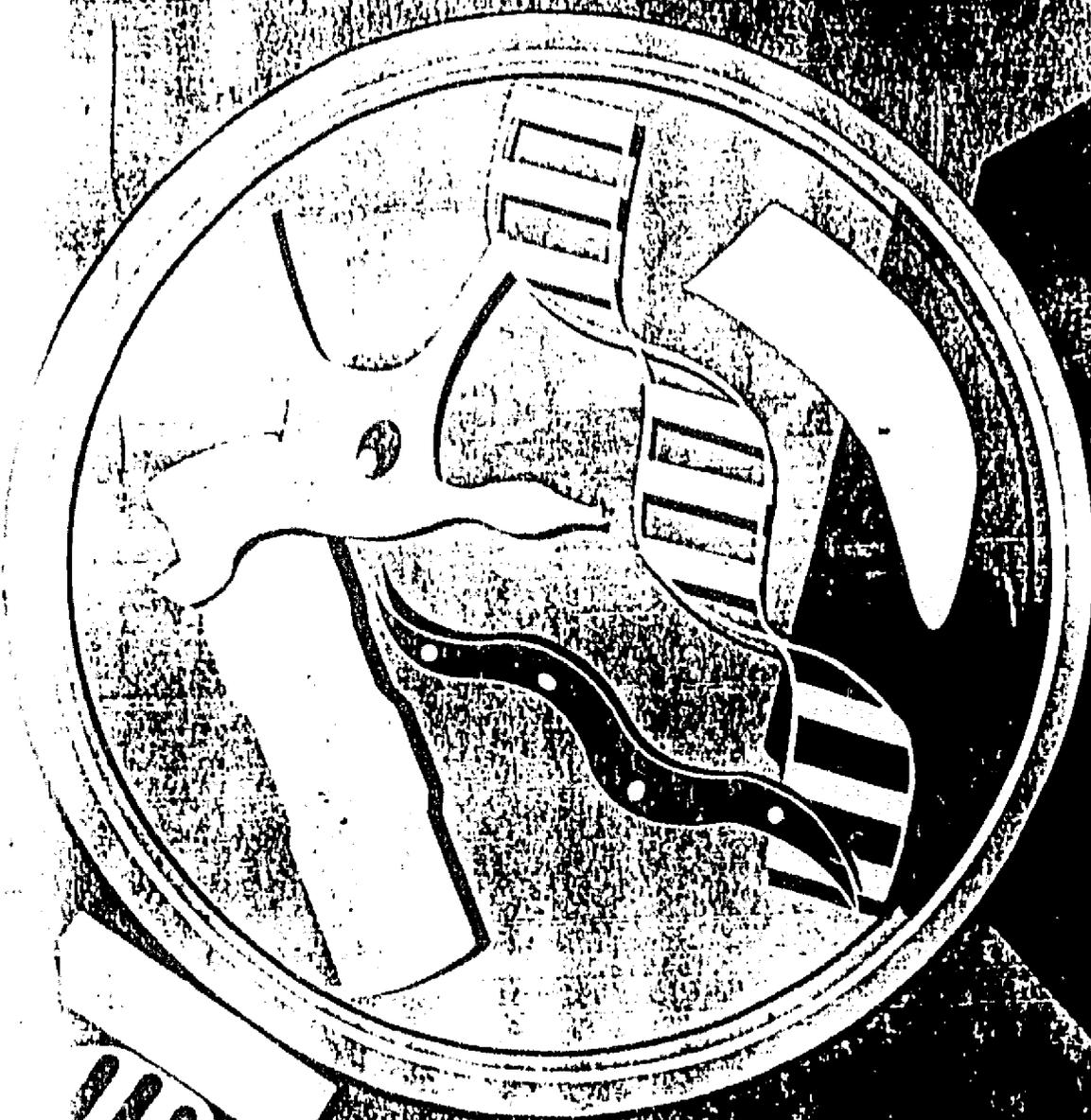
b, $P < 0.01$ vs. same ovary, other days of the cycle

Present results show that the ovarian content and concentration of NE varies in the estrus cycle, with a different pattern in the right and left ovaries in E and P. These results could explain the differences in ovulatory ability by the ovaries previously described.

Supported by DGAPA, PUIS-UNAM and CONACYT.



Sociedad Mexicana de
Ciencias Fisiológicas



XXXVI Congreso Nacional



UNIVERSIDAD AMERICANA
DE ACAPULCO
EXCELENCIA PARA EL DESARROLLO

Agosto 11-20

1993

C210

EFFECTO DEL BLOQUEO UNILATERAL DEL SISTEMA DOPAMINERGICO (DA) DE LAS AREAS PREOPTICA E HIPOTALAMICA ANTERIOR (POA-AHA) SOBRE LA OVULACION ESPONTANEA DE LA RATA ADULTA. Moran J. Luis. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, FES Zaragoza, UNAM.

Existen evidencias de que la unidad POA-AHA ejerce un control asimétrico en la regulación de la ovulación de la rata, ya que el bloqueo unilateral del sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA, realizado en el día del estro, impide la ovulación en tanto que el bloqueo del lado izquierdo no la afecta. Para averiguar si el bloqueo del sistema DA de POA-AHA afecta la ovulación de la misma manera, se utilizaron ratas adultas con ciclos estrales regulares de 4-días; a las 12:00 h del día del estro vaginal a los animales se les administraron 10 µg de haloperidol en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA. Un grupo testigo fue implantado con 10 µg de colesterol de la misma forma. Todos los animales fueron sacrificados en la mañana del estro esperado. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Lado \ Implante	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES	
	COLESTEROL	HALOPERIDOL
DERECHO	8/15	1/11 *
IZQUIERDO	6/15	0/10 *

* p < 0.05 comparado con el implante con Colesterol.

La administración de GnRH en el proestro esperado restablece parcialmente la ovulación en los animales con bloqueo unilateral (7/10 vs 1/21). El tratamiento con benzoato de estradiol no restableció la ovulación en los animales con bloqueo del lado derecho (0/8) pero sí lo hizo en los animales con el implante del lado izquierdo (5/6). Estos resultados muestran que la información dopaminérgica que se genera en el día del estro participa de manera importante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación. La ausencia de ovulación sería el resultado de la alteración de la secreción preovulatoria de GnRH. Al parecer, en el lado derecho de POA-AHA existe un centro que es importante para que se produzca el efecto feedback estimulante de los estrógenos. Es posible que la información extrahipotalámica en ambos lados del cerebro tengan un papel importante en esta regulación, ya que la simple introducción de la cánula vacía bloquea parcialmente la ovulación (cánula vacía: 11/20 vs con colesterol: 14/30).
Apoyado por PUIS, CONACYT y DGAPA.

C211

TEJIDO GLANDULAR EXOCRINO EN ADENOHIPOFISIS DE RATA (RATTUS NORVEGICUS) EN UN CASO

*XVIII Congreso
Latinoamericano de
Ciencias Fisiológicas*



12 al 16 de Abril de 1994
Centro de Conferencias
Palacio Municipal
Montevideo - Uruguay

**Resúmenes de Simposios y
Comunicaciones Libres**

P0/14

UN ESTUDIO DE LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS SOBRE LAS MODIFICACIONES DE LA OVULACION INDUCIDAS POR EL BLOQUEO UNILATERAL DEL SISTEMA DOPAMINERGICO (DA) DE POA-AHA

Morán, J.L. y Domínguez, R.

UIRR, FES Zaragoza, UNAM, México.

La participación del sistema colinérgico de POA-AHA en la regulación de la ovulación es lateralizada y varía durante el ciclo estral. Resultados previos indican que la participación del DA no sería asimétrica, ya que su bloqueo por el implante unilateral con haloperidol (HLP) afecta por igual la capacidad ovulatoria de los animales. Para analizar los mecanismos neuroendócrinos afectados por el bloqueo del DA, ratas cíclicas con implante del HLP en el lado derecho [-D] o izquierdo [-I] realizado en los días del estró o diestro 1 fueron tratadas con 3.7 µg/k de GnRH a las 13.00 h del proestro. Otros animales recibieron 10 µg de benzoato de estradiol (BE) a las 13.00 h del diestro 2. Los animales fueron sacrificados en el estró esperado. La proporción de animales que ovularon se muestra en la siguiente tabla:

Día	Estró		Diestro 1	
	HLP-D	HLP-I	HLP-D	HLP-I
Grupo				
Sin Tratamiento	1/11	0/10	0/7	0/7
GnRH	4/5	3/5	5/5	6/6
BE	0/8**	5/5	5/5	4/5

** p<0.05 comparado con los grupos tratados.

Estos resultados muestran que la ausencia de ovulación sería el resultado de la alteración de la secreción proovulatoria de GnRH. En el día del estró el lado derecho de POA-AHA actúa como un centro importante para que se produzca el efecto feedback estimulante de los estrógenos.

Ayudado por PUIS, CONACyT y DGAPA.

P0/15

INTERACCION ENTRE TEJIDO EPITELIAL Y ESTROMATICO AL INICIO DE LA DIFERENCIACION TESTICULAR

Moreno Mendoza, N. y Merchant-Larios, H.

Dept. Biol. del Desarrollo, Inst. de Invest. Bioméd. UNAM, México, D.F., México.

En el ratón, el gen *Sry* se expresa el día 11 de la gestación (*dg*), desencadenando una serie de interacciones celulares que llevan la diferenciación de un testículo a partir de la gónada indiferenciada.

En nuestro laboratorio investigamos los mecanismos celulares que controlan la morfogénesis del testículo a partir de la expresión del *Sry*. Cultivando gónadas de 11 *dg*, establecimos que el mesonefros adyacente es necesario para la organización de los cordones seminíferos, sin embargo, la diferenciación de las células de Sertoli y de Leydig se lleva a cabo en gónadas aisladas. Observamos que células del estroma mesonefrico penetran hacia la gónada y probablemente participan en la organización de los cordones. Posteriormente, encontramos que estroma proveniente de otros órganos también permite la organización de los cordones, por lo que la presencia de células mesonefricas no parece ser específica. Postulamos que el gen *Sry* controla la expresión de genes involucrados en la proliferación y migración de células estromáticas necesarias para la diferenciación del testículo.



Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A. C.

XXXVII Congreso Nacional

que se celebra en la ciudad de Mérida con el auspicio de la Facultad de
Medicina de la Universidad Autónoma de Yucatán.
25 a 29 de Septiembre de 1994



MEMORIA DE LOS RESÚMENES



C100

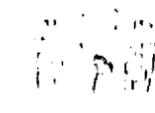
EL BLOQUEO UNILATERAL DEL SISTEMA DOPAMINERGICO (DA) DE LAS AREAS PREEPTICA E HIPOTALAMICA ANTERIOR (POA-AHA) AFECTA LA OVULACION EN LAS RATAS ADULTAS ESTIMULADAS CON GnRH Y ESTROGENOS. Morán J.Luis. UIBR, FHS-Maraqosa, UNAM.

El bloqueo unilateral del DA de POA-AHA, inducido por el implante unilateral con haloperidol (HLP), impide la ovulación espontánea de la rata adulta con efectos que dependen del día del ciclo estral en que se realiza la intervención. El implante unilateral con HLP realizado en el día del estro o diestro-1 bloqueó significativamente la ovulación en los animales tratados. Para analizar los mecanismos neuroendócrinos afectados por el bloqueo del DA, a ratas adultas cíclicas con implante de HLP en lado derecho o izquierdo de POA-AHA se les administraron 3.7 µg/kg de GnRH a las 13.00 h del proestro. Otros animales recibieron 10 µg de benzoato de estradiol (BE) a las 13.00 h del diestro-2. Un grupo testigo fue implantado unilateralmente con colesterol (COL) pero no se les administraron las hormonas. La inyección de GnRH restableció parcialmente la ovulación en los animales bloqueados (19/22 vs 1/35, $p < 0.01$). La inyección de BE produjo efectos asimétricos en función del lado y del día del ciclo en que se realizó el bloqueo; sólo el implante con HLP en el lado derecho de POA-AHA realizado en el día del estro falla para restablecer la ovulación de los animales (0/8 vs 14/18, $p < 0.01$). El número de ovocitos liberados (NOL) por los animales con COL fue semejante al de un grupo control sacrificado en estro (COL: 12.0 ± 0.4 vs Control: 12.0 ± 0.3). El NOL \pm e.e.m. se muestra en la siguiente tabla:

Día / Grupo	Número de Ovocitos Liberados		
	Colesterol	HLP + GnRH	HLP + BE
Estro	12.0 ± 0.3	7.6 ± 1.9 *	11.8 ± 0.9
Diestro-1	12.0 ± 0.9	6.0 ± 1.2 *	8.2 ± 0.9 *

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con colesterol

Los resultados muestran que la falta de ovulación sería el resultado de la alteración de la secreción preovulatoria de GnRH. En el día del estro el lado derecho de POA-AHA actúa como un centro importante para que se produzca el efecto feedback estimulante de los estrógenos. El bloqueo unilateral del DA de POA-AHA en el estro o diestro-1 afecta directamente al ovario. {Apoyado por PUIS, CONACyT y DGAPA}



PROGRAMA Y MEMORIAS

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACION
PROGRAMA UNIVERSITARIO DE
INVESTIGACION EN SALUD



XIII

REUNION ANUAL DE MAESTRIAS Y DOCTORADOS EN CIENCIAS DE LA SALUD

Palacio de la Antigua Escuela de Medicina, UNAM
del 2 al 3 de Marzo de 1969

EFECTO DEL BLOQUEO UNILATERAL DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO DE LAS AREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR [POA-AHA] SOBRE LA OVULACIÓN ESPONTÁNEA DE LA RATA. MORAN PERALES J.L. y DOMÍNGUEZ CASALÁ R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, FES-Zaragoza, UNAM, México, D.F.

Se ha observado que la participación del sistema colinérgico de POA-AHA en la regulación de la ovulación es lateralizada y varía durante el ciclo estral. Para analizar si el sistema dopaminérgico (DA) de POA-AHA se comporta de la misma forma, se estudió el efecto del bloqueo dopaminérgico inducido por el implante unilateral de haloperidol (HLP) en el lado derecho (-D) o izquierdo (-I) de POA-AHA durante el ciclo estral de la rata. Se utilizaron ratas adultas con ciclos regulares de 4 días y a las 13:00 h del estro (E), diestro-1 (D-1), diestro-2 (D-2) o proestro (P), grupos de animales fueron implantados unilateralmente con 10 µg HLP ó con 8 µg de colesterol (COL) en POA-AHA. Todos los animales se sacrificaron en la mañana del estro esperado del ciclo estudiado; se diseccionó la trompa y se contó el número de ovocitos liberados. En los animales con implante unilateral realizado en E y D-1 la proporción de animales que ovulan en el E esperado disminuyó significativamente (HLP-D: 1/18 vs. COL-D: 14/25; HLP-I: 0/17 vs. COL-I: 12/25, $p < 0.05$), en tanto que el realizado en D-2 y P no la afectó (HLP-D: 11/14 vs. COL-D: 16/17; HLP-I: 12/20 vs. COL-I: 14/20, ns). El número de ovocitos liberados por los animales ovulantes no se modificó por ninguno de los implantes. Para analizar los mecanismos neuroendócrinos afectados por el bloqueo del DA, otros animales con implante de HLP-D ó HLP-I realizado en los días del E y D-1 fueron tratadas con 1.7 µg/kg de GnRH a las 13:00 h del proestro esperado. Otros animales recibieron 10 µg de benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro 2. Los animales fueron sacrificados en el estro esperado. La proporción de animales que ovularon se muestra en la siguiente tabla:

Día	Estro		Diestro 1	
	HLP-D	HLP-I	HLP-D	HLP-I
Sin Tratamiento	1/11	0/10	0/7	0/7
GnRH	4/5	3/5	5/5	6/6
BE	0/8 **	5/6	5/6	4/6

** $p < 0.05$ comparado con los grupos tratados.

Estos resultados nos permiten sugerir que la información dopaminérgica generada al inicio del ciclo estral es esencial para que la ovulación se produzca; que el bloqueo de la ovulación es el resultado de la alteración de la secreción preovulatoria de GnRH; que en el día del estro el lado derecho de POA-AHA sería un centro importante para que se produzca el efecto feedback estimulante de los estrógenos en la tarde del diestro-2.

[Apoyado por FUIS, CONACYT y DGAPA IN 210903]

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Biology of Reproduction/Volume 52/Supplement 1



Biking to C-Lives

Photo by Editorial Design UCD



SSR

JULY 9-12, 1995 28TH ANNUAL MEETING
UNIVERSITY OF CALIFORNIA
DAVIS, CALIFORNIA

313 Sex Differences in Cytus induced Release of Hypothalamic Norepinephrine and GnRH in Rabbits as Measured by Microdialysis. *Shu Ping Yang*, K. Y. Francis Pan, David L. Hess, and Harold G. Spies.* Division of Reproductive Sciences, Oregon Regional Primate Research Center, Beaverton, OR 97006

Gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion is activated by cytus in female rabbits, and while norepinephrine (NE) is involved in this process, the temporal sequence for NE effects is unclear. Furthermore, although increments in circulating LH and testosterone (T) after mating in male rabbits have been consistently observed, changes in male hypothalamic neurochemicals in association with cytus remain to be described. In experiment 1, we utilized the technique of microdialysis (μ D) to examine simultaneous hypothalamic NE and GnRH release before, during and after mating in both male and female rabbits. Each rabbit received a femoral vein catheter and a μ D guide tube directed toward the median eminence (ME) via a headpiece. The fluid lines were passed to another room where all samples were collected without disturbing the animals. Accumulated μ D samples (Krebs Ringer Phosphate buffer, KRBP) and intermittent blood samples were collected at 10 min intervals for 7 hours. Tethered, freely moving rabbits were exposed to their unmated partners for 30 minutes at the beginning of the 4th hour by removing a plexiglass barrier. Cytus was confirmed by the presence of sperm in the vagina. Levels of GnRH were determined by radioimmunoassay (RIA) and NE by HPLC with electrochemical detection in 50 μ l of KRBP. Concentrations of plasma LH and PRL were assayed by specific RIAs. Levels of NE increased over pre mating values within 20 min of cytus (4.30 ± 1.81 vs 1.10 ± 0.91 pg/ml, $n=3$, $P<0.05$) in the females and remained elevated for 1-2 h. Increased levels of GnRH were also observed within 20 min of cytus (179.11 ± 29.5 vs 4.41 ± 1.8 pg/ml) and GnRH levels remained elevated for 3-4 h. Concomitant surges of plasma LH and PRL were maximum within 11 (pre-1.6(0.6) and 0.9(0.1), peak=147.4(45.8) and 19.1(4.3) ng/ml, respectively for LH and PRL, $P<0.05$). No significant changes in any of the four hormones were observed in sham mated females ($n=6$). Likewise, no significant changes in the levels of hypothalamic GnRH and NE or plasma LH and PRL were observed in males after cytus or sham mating ($n=4$, each). To confirm these results, Experiment 2 was repeated in males without μ D headpieces. Levels of plasma LH, PRL, as well as T were unchanged after cytus ($n=4$) or sham mating ($n=6$) in these male rabbits. In sum, these observations support the majority of published reports, and are consistent with the concept that sexually dimorphic mechanisms regulating GnRH and LH secretion are present in the rabbit. We conclude that the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the two sexes of rabbits responds differently to genital stimulation, and that the release of hypothalamic NE increases prior to, or concurrent with, a GnRH surge in the female. (Supported by NIH grants RR 00163, HD 18185 and DK-30116)

315 THERE IS NOT RELATIONSHIP BETWEEN SEROTONIN CONTENT IN THE HYPOTHALAMUS AND OVULATION, IN PREPUBERTAL RATS WITH A LESION IN THE DORSAL RAPHE NUCLEUS (DRN).

M.E. Ayala, J. Monroy and R. Dominguez.* Biology of Reproduction Unit, FES Zaragoza UNAM, AP 9-020 CP 15,000 Mexico, D.F. Mexico.

Serotonin participates in the neuroendocrine regulation of GnRH secretion preceding ovulation. The effects of a lesion in the DRN on first ovulation, depend on the age of the animal when the lesion was done. To analyze if the changes in ovulation depend on the content of serotonin in the hypothalamus, serotonin and its metabolite were quantified by HPLC in rats with a lesion in the DRN was done performed on days 21, 24, 27 or 30 of age, autopsied the day of first vaginal estrus.

Table shows the results (expressed as ng/ mg of tissue):

Group	Ovulation rate	Number of ova shed	5-HT	5-HIAA
11 day				
Sham	7/9	8.0(0.6)	0.99(0.11)	0.94(0.11)
Lesion	6/12	7.0(0.4)	0.12(0.03)*	0.87(0.18)
21 day				
Sham	13/14	7.4(0.4)	0.92(0.09)	1.19(0.11)
Lesion	10/12	9.7(0.4)*	0.19(0.01)*	1.02(0.14)
27 day				
Sham	8/11	7.7(0.4)	0.92(0.07)	0.71(0.07)
Lesion	10/10	9.5(0.5)*	0.14(0.01)*	0.63(0.03)
30 day				
Sham	11/16	7.5(0.4)	0.94(0.03)	1.99(0.31)
Lesion	0/14*	0	0.13(0.02)*	1.29(0.10)*

* $P<0.05$ vs sham group. Present results suggest that the modifications in spontaneous ovulation induced by DRN lesions, do not depend on the hypothalamic serotonin content.

Supported by PADEP, DOPA IM 210893, CONACYT N1719 and PHS.

314 PATTERNS OF CIRCULATING PROLACTIN, LH AND FSH DURING DOPAMINE-AGONIST INDUCED TERMINATION OF ANESTRUS IN BEAGLE DOGS. *K. Onlein,¹ J. Versteegen,¹ L.D.H. Silva,^{1*} and P. Concannon.²* Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege, Liege, Belgium¹ and College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, NY²

Administration of a dopamine agonist during the obligate anestrus of ovarian cycles in dogs results in early termination of anestrus, a premature follicular phase and fertile ovulation. Three groups of 5 dogs each were administered the dopamine agonist cabergoline (5 μ g/kg/day) until proestrus or for 40 days beginning in early (mean cycle day 106), mid (day 142) or late (day 178) anestrus. LH, FSH and prolactin were assayed in plasma obtained every 1-3 days. The resulting interestrus intervals were 131 ± 11 , 166 ± 15 , and 188 ± 5 days, respectively, and shorter or less variable ($P<0.05$) than the 196 ± 24 days in 5 control bitches. The duration of treatment until proestrus was 20 ± 5 , 14 ± 6 and 6 ± 2 days in the early, mid, and late anestrus dogs, respectively. In each group prolactin was reduced from values at 75 days post estrus (5.8 ± 1.0) but detectable (2.8 ± 0.4 ng/ml) before the start of treatment, was decreased to non-detectable (<0.4 ng/ml) or near-nondetectable levels within 2-5 days, and remained low throughout treatment. FSH was elevated at normal anestrus levels (185 ± 20 ng/ml) pre-treatment, remained high until proestrus in all early and mid-anestrus bitches, but was decreased within 2-3 days (77 ± 15 ng/ml) in all late anestrus bitches, at or just before signs of induced proestrus. FSH reached nadir (30 ± 2) in late proestrus, 2-4 days before increasing to ovulatory peak levels (260 ± 26). LH was low pre-treatment (0.7 ± 0.2), increased transiently to 4.7 ± 0.8 at day 3-5 in 10 of 15 dogs, and was then reduced until the ovulatory LH surge (19.5 ± 3.5). The data demonstrate that prolactin-lowering doses of dopamine agonist can transiently elevate LH rapidly in early or late anestrus, but alter ovarian function sufficient to cause negative feedback on FSH secretion more rapidly in late than early anestrus. Therefore, changes other than reduced prolactin and LH elevation, and related to stage of cycle, must be required for the follicular response of dogs to dopamine agonist treatment.

316 ASYMMETRY IN THE ABILITY OF A UNILATERAL IMPLANT OF HALOPERIDOL (HLP) INTO THE PREOPTIC-ANTERIOR HYPOTHALAMIC AREA (POA-AHA), PERFORMED ON ESTRUS DAY, TO MODIFY SPONTANEOUS OVULATION OF THE RAT.

J. L. Moran.* Reproduction Research Unit, FES-Zaragoza, UNAM, AP9-020, CP15000, Mexico City.

The participation of the cholinergic system of POA-AHA in the regulation of ovulation on the day of estrus (E) is asymmetric and lateralized, while there is evidence that the participation of the dopaminergic system of POA-AHA is not. The unilateral implant of 10.0(3.0) μ g of HLP in the right (R) or left (L) side of POA-AHA blocked ovulation when was done the day of E. To analyze if a lower dose of HLP does not hide the asymmetric response on E, at 13:00 h of E, cyclic 4-day rats were implanted with cholesterol (CHOL), HLP, or a 1:1 mixture of cholesterol and HLP (MIX), into the R or L side of POA-AHA and autopsied on the next expected day of E. Some animals with an implant of the mixture into the right side were injected at 13:00 h with GnRH on the expected day of proestrus, or with estradiol benzoate (EB) on diestrus-2. Results are shown in the table:

Implant	Ovulation rate	Number of ova shed
CHOL-R-L	14/30	11 9(0.8)
HLP-R-L	1/21*	12
MIX-R	0/8*	0
MIX-L	5/8	10 2(0.6)
MIX-R+GnRH	5/6	9 2(2.3)
MIX-R+EB	0/4*	0

* $p<0.05$ compared with CHOL-R-L and MIX-L.

Present results suggest that the dopaminergic system of POA-AHA plays an asymmetric role in the neuroendocrine mechanisms regulating the ovulation and the sensibility of the right side to blockade is higher than the left one.

[Supported by CONACYT and DGAPA IN 210893]



Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A. C.

XXXVIII

Congreso Nacional

del 27 al 31 de agosto de 1995

QUERÉTARO, QRO.

con el auspicio de la

Universidad Autónoma de Querétaro



Programa general

y

memoria de los

resúmenes



C121

LATERALIZACIÓN DEL SISTEMA DOPAMINÉRGICO DE LAS ÁREAS PREÓPTICA E HIPOTALÁMICA ANTERIOR [POA-AHA] SOBRE LA OVULACIÓN ESPONTÁNEA DE LA RATA: RESPUESTA ASIMÉTRICA AL IMPLANTE UNILATERAL DE HALOPERIDOL [HLP] REALIZADO EN EL DÍA DEL ESTRO. Morán J. Luis. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción. FES-Zaragoza, UNAM.

El sistema colinérgico de POA-AHA participa de manera lateralizada y asimétrica en la regulación de la ovulación, pero el sistema dopaminérgico de estas áreas aparentemente no, ya que el implante unilateral con 10.0 ± 3.0 μ g de HLP en el lado derecho (D) o izquierdo (I) de POA-AHA bloquearon la ovulación en ratas cíclicas que recibieron el implante en el día del estro (E). Para analizar si esta dosis de HLP pudo enmascarar una respuesta ovulatoria asimétrica en los animales, a las 13:00 h del E: grupos de ratas que presentaron ciclos regulares de cuatro días fueron implantadas con una mezcla 1:1 del fármaco diluido en colesterol (COL+HLP) en el lado D ó I de POA-AHA. Otros animales con implante de la mezcla en el lado derecho de POA-AHA fueron inyectados con GnRH a las 13:00 h del proestro esperado, ó con benzoato de estradiol (BE) a las 13:00 h del diestro-2. Como grupo testigo se utilizaron animales con implante unilateral de 8.0 ± 2.0 μ g de colesterol en POA-AHA. Todos los animales fueron sacrificados en la mañana del E esperado. La tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados *per se*, se muestran en la siguiente tabla:

Implante	Tasa de Animales	Número de Ovocitos
	Ovulantes :	Liberados :
COL-D-I	14/30	11.9 \pm 0.8
HLP-D-I	1/21 *	12
COL+HLP-D	0/8 *	0
COL+HLP-I	5/8	10.2 \pm 0.6
COL+HLP-D+GnRH	5/6	9.2 \pm 2.3
COL+HLP-D+BE	0/4 *	0

* $p < 0.05$ comparado con el grupo con COL-D-I y COL+HLP-I

Estos resultados nos permiten sugerir que el sistema dopaminérgico de POA-AHA participa de manera lateralizada en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación de la rata y que la sensibilidad en el lado derecho de esta región es mayor que la del izquierdo en el bloqueo de la ovulación. El lado derecho de POA-AHA parece ser un sitio importante para que se produzca el efecto *feedback* estimulante de los estrógenos.

Apoyado por CONACyT y DGAPA IN 210893.



Effects of the unilateral implant of haloperidol at the preoptic-anterior hypothalamic area, on ovulation

José Luis Morán & Roberto Domínguez

Biology of Reproduction Research Unit, HS-Zatagoza, UNAM AP 9, 020, CP1500, Mexico

In order to analyse whether the participation of the dopaminergic system of the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) in the regulation of ovulation is asymmetric and varies during the estrous cycle of the rat, as it occurs with the cholinergic system, the effects of a unilateral implant of haloperidol were studied. Cyclic fourth-day rats with a permanent cannula directed to the right or left side of the POA-AHA, at 13:00 h of estrus (E), diestrus 1 or 2 (D1, D2) or proestrus (P), received an implant of haloperidol (100 ± 10 µg) or cholesterol (80 ± 20 µg). The animals were killed at the morning of the next expected day of estrus in comparison with cholesterol-implanted animals; the ovulation rate was reduced by haloperidol implantation made on E or D1 on either side of POA-AHA (Cholesterol: 26/50 vs Haloperidol: 1/15, $P < 0.05$). The implantation of haloperidol on D2 or P did not affect ovulation (Cholesterol: 30/37 vs Haloperidol: 23/34, ns). The injection of gonadotropin-releasing hormone (17 µg/kg) on the afternoon of P to rats with an implant of haloperidol made on E or D1 on either side of POA-AHA, restored ovulation (19/22 vs 1/15, $P < 0.01$). The injection of estradiol benzoate (10 µg) at 11:00 h on D2, to D1-haloperidol-implanted rats restored ovulation. The same treatment to E-haloperidol-implanted animals restored ovulation when the haloperidol was placed into the left side of POA-AHA (5/6), and it was ineffective when haloperidol was in the right side (0/8). These results suggest that the participation of the POA-AHA-dopaminergic system on the neuroendocrine mechanisms controlling the release of GnRH on the afternoon of proestrus and ovulation, varies during the estrous cycle, and is necessary at the beginning of the estrous cycle for normal ovulation. The positive feedback of estrous on D2 needs the integrity of the right side of POA-AHA.

Keywords: ovulation, POA-AHA, dopaminergic system, haloperidol, unilateral implant.

Introduction

The participation of the dopaminergic system in the regulation of the gonadotropin secretion and ovulatory process is controversial since both stimulatory, inhibitory and neutral roles of dopamine have been described (Weiner & Ganong, 1978; Sawyer & Kiltun, 1980; Yasaka *et al.*, 1985). Previous results of our laboratory has shown that the effects of the blockade of the dopaminergic system on ovulation varies during the estrous cycle and presents some type of circadian variations (Domínguez *et al.*, 1987).

The effects of unilateral blockade or stimulation of the cholinergic system at the preoptic-anterior hypothalamic areas (POA-AHA), provoked by the unilateral implant of atropine or pilocarpine, on spontaneous ovulation, is asymmetric and varies during the estrous cycle (Cruz *et al.*, 1989; Cruz *et al.*, 1992; López *et al.*, 1992).

In those animals which the cholinergic system of POA-

AHA was blocked or stimulated, the estrogen stimulatory feedback resulting on ovulation was working only when the implant of atropine or pilocarpine was done on the left side of POA-AHA (Cruz *et al.*, 1992; López *et al.*, 1992).

To continue with the study of the laterality and asymmetry on the hypothalamic areas regulating gonadotropin release and ovulation, we decided to analyse whether the participation of the dopaminergic system of POA-AHA on these mechanisms, is also asymmetric and lateralized. To analyse this hypothesis, we studied the effects on spontaneous ovulation of a unilateral implant of haloperidol in POA-AHA, performed on each day of estrous cycle of the rat.

Results

Since the unilateral implantation of cholesterol reduced the ovulation rate, without affecting the number of ova shed, nor the weight of the ovaries and uterus, the results of the implantation of haloperidol on ovulation, number of ova shed, weight of the ovaries and uterus were compared with those in the cholesterol implanted animals.

The effects of haloperidol implant on ovulation varied according with the day of the cycle when the implant was done. The implants made on estrus or diestrus 1 resulted in the blockade of ovulation, while when the implants were done on diestrus 2 or proestrus, ovulation was not affected. Differences on the implant on the left or right side affecting ovulation were not observed. In comparison with the cholesterol implanted animals, the weight of the uterus was lower when haloperidol was implanted in the left side of POA-AHA on estrus, and was increased by saline implant made on diestrus-1 (Table 1).

The injection of GnRH on the expected day of proestrus to rats with a unilateral implant of haloperidol made on estrus or diestrus-1, induced ovulation in 86% of the animals. In comparison with ovulating cholesterol-implanted rats, the number of ova shed by those animals implanted with haloperidol on estrus and treated with GnRH, was significant lower (Cholesterol: 11.9 ± 0.5 vs Haloperidol + GnRH: 7.6 ± 1.9, $P < 0.05$) (Table 2).

The animals with an implant of haloperidol in the right side of POA-AHA, made on estrus, receiving estradiol benzoate on diestrus-2 did not ovulate, while those with the implant in the left side did. Seventy-five percent of haloperidol-implanted rats on diestrus-1 ovulated after estradiol benzoate administration on diestrus-2 (Table 3).

Discussion

Present results suggest that the preovulatory release of GnRH on the day of proestrus resulting in ovulation, depends on the function of the dopaminergic system of both sides of the POA-AHA region at the beginning of the cycle. Because no differences on the ovulation blockade provoked by the implants placed in the right or left side of POA-AHA on estrus or diestrus-1 were observed, the asymmetry observed in the cholinergic system does not occur with the dopaminergic system at POA-AHA.

Table 1. Ovulation rate and mean \pm SEM of the number of ova shed and weight of the ovaries and uterus in intact rats with a unilateral implant of cholesterol or haloperidol in the right or left side of the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) performed on each day of the estrous cycle. The animals were sacrificed on the next expected estrus day

Day/Group	Side	Ovulation rate	Number of Ova Shed	Ovarian weight	Uterus weight
Estrus					
Cholesterol	Right	8/15	11.9 \pm 0.6	29.7 \pm 1.3	192 \pm 7
Haloperidol	Right	4/11	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Cholesterol	Left	6/15	12.0 \pm 1.0	29.6 \pm 0.9	217 \pm 9
Haloperidol	Left	0/10	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11**
Diestrus-1					
Cholesterol	Right	6/10	10.7 \pm 1.9	27.7 \pm 0.5	214 \pm 22
Haloperidol	Right	0/7*	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Cholesterol	Left	6/10	11.3 \pm 0.3	28.7 \pm 1.7	180 \pm 11
Haloperidol	Left	0/7*	0	24.6 \pm 1.6	224 \pm 17**
Diestrus-2					
Cholesterol	Right	6/7	11.0 \pm 0.5	30.1 \pm 1.1	210 \pm 31
Haloperidol	Right	4/7	13.0 \pm 0.0	27.3 \pm 1.3	179 \pm 7
Cholesterol	Left	4/10	12.5 \pm 0.5	29.6 \pm 3.2	191 \pm 9
Haloperidol	Left	4/12	12.5 \pm 1.0	31.5 \pm 1.1	191 \pm 10
Proestrus					
Cholesterol	Right	10/10	14.1 \pm 1.0	27.7 \pm 1.5	193 \pm 9
Haloperidol	Right	1/7	11.5 \pm 0.8	26.8 \pm 1.5	167 \pm 5
Cholesterol	Left	10/10	12.2 \pm 0.2	27.6 \pm 1.3	186 \pm 7
Haloperidol	Left	8/8	11.2 \pm 1.0	26.6 \pm 1.1	207 \pm 2

* $P < 0.05$ Chi Square test; ** $P < 0.05$ Student's *t* test

Table 2. Ovulation rate and mean \pm SEM of the number of ova shed and weight of the ovaries and uterus in intact rats with a unilateral implant of haloperidol in the right or left side of the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) performed estrous or diestrus-1. The animals received 3.7 μ g/kg of gonadotropin releasing hormone (GnRH) at 11:00 h on the expected day of proestrus and were sacrificed in next morning

Day/Group	Side	Ovulation rate	Number of Ova Shed	Ovarian weight	Uterus weight
Estrus					
Haloperidol	Right	1/11	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Haloperidol + GnRH	Right	4/5	6.8 \pm 2.8	29.1 \pm 1.7	209 \pm 9
Haloperidol	Left	0/10	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11
Haloperidol + GnRH	Left	3/5	8.7 \pm 3.0	33.5 \pm 1.6**	270 \pm 14**
Diestrus-1					
Haloperidol	Right	0/7	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Haloperidol + GnRH	Right	6/6*	11.2 \pm 0.7	29.6 \pm 1.4	221 \pm 19**
Haloperidol	Left	0/7	0	24.6 \pm 1.6	225 \pm 17
Haloperidol + GnRH	Left	6/6*	12.3 \pm 0.8	29.8 \pm 2.3	208 \pm 14

* $P < 0.05$ Chi Square test; ** $P < 0.05$ Student's *t* test.

Table 3. Ovulation rate and mean \pm SEM of the number of ova shed and weight of the ovaries and uterus in intact rats with a unilateral implant of haloperidol in the right or left side of the preoptic-anterior hypothalamic area (POA-AHA) performed on estrous or diestrus-1. The animals received 10 μ g/kg of estradiol benzoate (EB) at 13:00 h of the diestrus day 2 and were sacrificed 44 h later

Day/Group	Side	Ovulation rate	Number of Ova Shed	Ovarian weight	Uterus weight
Estrus					
Haloperidol	Right	1/11	12	29.0 \pm 0.9	187 \pm 7
Haloperidol + EB	Right	0/8	0	32.6 \pm 1.8	236 \pm 16**
Haloperidol	Left	1/10	0	28.0 \pm 1.2	174 \pm 11
Haloperidol + EB	Left	5/6*	6.0 \pm 1.2	32.0 \pm 1.5	233 \pm 9**
Diestrus-1					
Haloperidol	Right	0/7	0	27.3 \pm 0.9	177 \pm 10
Haloperidol + EB	Right	5/6*	8.6 \pm 0.8	29.2 \pm 2.1	250 \pm 9**
Haloperidol	Left	0/7	0	24.6 \pm 1.6	225 \pm 17
Haloperidol + EB	Left	4/6*	7.8 \pm 2.2	30.7 \pm 2.3**	232 \pm 7

* $P < 0.05$ Fisher's exact probability test; ** $P < 0.05$ Student's *t* test.

When haloperidol was injected subcutaneously on diestrus-2 or proestrus, 50% of animals did not ovulate (Domínguez *et al.*, 1987).

We have reported haloperidol injected on the day of diestrus-2 or proestrus partially blocked ovulation (Domínguez *et al.*, 1987). The amount of haloperidol used in this study was higher than in present one (2.5 mg/kg). Then, we can assume that other dopaminergic system(s) plays a stimulating role on the regulation of gonadotropin secretion related to ovulation, since according with Kordon *et al.* (1994) 'the possibility exists that DA may act through D1 rather than D2 receptors possibly in the median eminence via receptors on nerve terminals. Therefore the A12 neurosecretory neuronal system which is tonically active in the suppression of PRL secretion may also be involved in the regulation of LH'.

The positive feedback effects of estrogen on diestrus-2 needs the functional integrity of the dopaminergic and cholinergic systems at the right side of POA-AHA. In all experiments, estrogen administration to rats with an implant of haloperidol, atropine (Cruz *et al.*, 1992) or pibovapone (López *et al.*, 1992), induced ovulation only when the drugs were implanted on the left side of POA-AHA, and was ineffective when the implant was on the right side.

On the other hand, the estradiol stimulating feedback resulting in ovulation was not present in rats with a unilateral lesion on the left side of the anterior hypothalamic area (Morán *et al.*, 1994). Such differences can be explained based on the time between the implant and the injection of estrogen (48 h) and the lesion and the injection (> 25 days). To explain such discrepancies, we have previously proposed 'during this time period a compensatory neural mechanism (neuronal plasticity) developed' (Morán *et al.*, 1994).

Materials and methods

Adult (190–250 g) virgin rats of the C/H 2-V strain, from our own stock were maintained under conditions of controlled lighting (lights on from 05:00 to 19:00 h) with free access to food and tap water. A cannula (20 gauge outer diameter) was implanted stereotaxically under anaesthesia induced with sodium pentobarbital (35 mg/kg) (Anestestal, Smith Kline Forden de México, México), following the method previously described (Cruz *et al.*, 1989). Estrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only animals showing three consecutive 4 day cycles were used.

References

Cruz, M.E., Jaramillo, I.P. & Domínguez, R. (1989) *J. Endocrinol.*, **123**, 417–439.
Cruz, M.E., Castro, J. & Domínguez, R. (1992) *J. Endocrinol.*, **133**, 205–210.
Domínguez, R., Gaitán, C.M., Mendez, S.A. & Ulloa-Aguirre, A. (1987) *J. Endocrinol.*, **113**, 37–44.
König, J.F. & Klippel, H.A. (1963) *The rat brain: A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem*. Baltimore, Williams & Wilkins Co.
Kordon, C., Drouva, S.V., Martínez de la Escalera, G. & Weiner, R.J. (1994) *Physiology of Reproduction*. Second Edition. Eds E. Knobil & J.D. Neill. Chapter 27, Vol. 1. Raven Press, New York, pp. 1621–1681.

Unilateral implants haloperidol in POA-AHA

After the rats with an outer cannula implanted showed three consecutive 4 day cycles, an inner cannula (25 gauge) with a $10.0 \pm 3.0 \mu\text{g}$ crystals of haloperidol (Sigma Chemical Co, St Louis MS, USA) or $8.0 \pm 2.0 \mu\text{g}$ of cholesterol (Sigma) at the tip was inserted at 13:00 h on estrus, diestrus-1, diestrus-2 or proestrus day and the pellet ejected. The animals were autopsied on the morning of the expected day of estrus after unilateral implantation.

Hormonal replacement

Groups of animals with an unilateral implant of haloperidol performed on estrus or diestrus-1, at 13:00 h on the expected day of proestrus were injected subcutaneously (sc) with $3.7 \mu\text{g/kg}$ of gonadotropin releasing hormone (GnRH) (synthetic luteinizing hormone releasing hormone, Sigma) and sacrificed the next morning. Such dose of GnRH induced ovulation in rats with unilateral blockade or stimulation of the POA-AHA cholinergic system (Cruz *et al.*, 1992; López *et al.*, 1992).

Another group of rats with a unilateral implant of haloperidol on estrus or diestrus-1, on the second day of diestrus received $10 \mu\text{g}$ of estradiol benzoate sc (Sigma) and were killed 44 h later.

Autopsy procedure and statistical analysis

The animals were killed by decapitation, the oviducts dissected and ova counted using a dissecting microscope. The ovaries and uterus were dissected and weighed in a precision balance. The brain, fixed in formaldehyde 10% was cut serially at 80 μm and stained with cresyl violet. The stereotaxic atlas of König & Klippel (1963) was used to place the implants. Those animals with the implant outside of the POA-AHA were discarded from analysis (two rats).

Data of the weight of the ovaries and uterus were analysed by multifactorial analysis of variance (MANOVA), followed by Tukey's test or by Student's *t* test; ovulation rate (number of ovulating/number of rats treated) was analysed by a Chi square or Fisher's exact probability test; the number of ova shed by ovulating animal by the Kruskal-Wallis test, followed by U-Mann Whitney test. A probability value equal or less than 5% was admitted as significant.

López, E., Cruz, M.E. & Domínguez, R. (1992) *25th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction* Vol. 46, Abstract No. 755.
Morán, J.L., Cruz, M.E. & Domínguez, R. (1994) *Brain Res. Bull.*, **33**, 663–668.
Sawyer, C.H. & Clifton, D.K. (1980) *End. Proc.*, **39**, 2889–2895.
Tasaka, K., Miyake, A., Sakamoto, T. & Aono, T. (1985) *J. Endocrinol. Invest.*, **8**, 373–376.
Weiner, R.J. & Ganong, W.F. (1978) *Physiological Reviews*, **58**, 905–976.