



CASA ABIERTA AL TIEMPO

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICA Y DE LA SALUD

"ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACION
DEL SISTEMA COLINERGICO DE LAS AREAS
PREOPTICA E HIPOTALAMICA ANTERIOR
(POA-AHA) EN LOS MECANISMOS
NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA
OVULACION DE LA RATA ADULTA"

U. A. M. IZTAPALAPA BIBLIOTECA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO EN BIOLOGIA
DE LA REPRODUCCION ANIMAL**

P R E S E N T A :

EVANGELINA LOPEZ NIETO

ASESORES:

DR. ROBERTO DOMINGUEZ CASALA

DRA. MA. ESTHER CRUZ BELTRAN

MEXICO, D. F.

MAYO, 1994

153833

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA

UNIDAD • IZTAPALAPA *

DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD

"ESTUDIO DE LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACION DEL SISTEMA COLINERGICO DE LAS AREAS PREOPTICA E HIPOTALAMICA ANTERIOR (POA-AHA) EN LOS MECANISMOS NEUROENDOCRINOS QUE REGULAN LA OVULACION DE LA RATA ADULTA".

Tesis que para obtener el grado de Maestro en Biología de la Reproducción Animal presenta Evangelina López Nieto.

Director (es) de tesis: Dr. Roberto Domínguez Casalá y
Dra. Ma Esther Cruz Beltrán

Esta tesis fue realizada en el Laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Durante el desarrollo de la tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA (convenio IN 204693), DGAPA (convenio IN 210893) y del Programa Universitario de Investigación en Salud (PUIS).

146.1976
L. G. L.

**Gracias a la vida,
que me ha dado tanto.**

A mis hijos: Elsie Edlin y Edwin

Porque son mi mayor motivo en la vida y porque creo que la mayor herencia que les puedo brindar es el ejemplo, y este es uno de ellos.

A mis padres: Matividad y Raúl

Por su apoyo, respeto, confianza y sobre todo por su cariño desinteresado.

Y por lo que soy.

A mis hermanos: Javier, Miguelangel y Raúl

Son parte de mi vida y nunca olviden que los quiero.

A mi esposo: Efrén

Por su amor y el respeto a mi vida profesional.

Agradecimientos

Agradezco de manera muy especial al Dr. Roberto Domínguez Casalá por haberme brindado la gran oportunidad de trabajar con tan excelente grupo de investigadores y a la Dra. Ma Esther Cruz Beltrán por haberme asesorado en este trabajo.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá
Dra. Ma Esther Cruz Beltrán
M. en C. Javier Velázquez Moctezuma
M. en C. Jorge Armando Haro Castellanos

Por su valiosa ayuda al revisar esta tesis y sus recomendaciones tan acertadas.

Gracias a cada uno de mis amigos del Laboratorio de Biología de la Reproducción por su constante estímulo y sus consejos siempre tan oportunos.

A mis amigos de las carreras de QFB y Medicina por su amistad y su apoyo.

A mis alumnos por estimularme siempre a seguir adelante.

A todas las personas que me han sustituido en mis labores de ama de casa: Isabel, Yolanda, Sra. Demes, Verónica, Laura, Sra. Cristina, Sra. Fidela y sobre todo a mi madre.

A mis amigos de toda la vida que han compartido mis triunfos, mis tristezas y que me han ayudado a seguir adelante con su constante cariño, su disposición incondicional en los momentos difíciles de mi vida personal y profesional. Los tengo presentes todos los días. Elia Roldán, Lety Quintero, Amada López, Silvia Mufiz y Javier Palacios.

INDICE

Contenido:	Página
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	3
CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA OVULACION.....	3
Control de la secreción de la GnRH.....	5
Control de la secreción de las gonadotropinas durante el ciclo estral de la rata.....	10
ANATOMIA DE LAS NEURONAS COLINERGICAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y SU RELACION CON EL HIPOTALAMO..	16
El papel del sistema colinérgico en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario	17
Los aspectos asimétricos del sistema colinérgico y la función reproductora.....	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
HIPOTESIS DE TRABAJO.....	25
OBJETIVOS.....	26
MATERIALES Y METODOS.....	26
RESULTADOS.....	30
DISCUSION.....	46
CONCLUSIONES.....	51
BIBLIOGRAFIA.....	52
APENDICE.....	61

RESUMEN

Previamente se ha mostrado que el bloqueo unilateral del sistema colinérgico del área preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) provocado por el implante de atropina, bloquea la ovulación; los efectos de la atropina dependen del lado de POA-AHA afectada y del día del ciclo estral (J. Endocrinol. 123: 437-439, 1989). Para continuar con el estudio de la participación del sistema colinérgico en la regulación de la ovulación se implantó pilocarpina (agonista colinérgico) en el lado izquierdo o derecho de POA-AHA a las 13:00 horas de cada día del ciclo estral. Para comparar, un grupo de ratas fue implantado con colesterol.

La estimulación del sistema colinérgico hipotalámico redujo significativamente la proporción de animales ovulantes (27/63 vs 27/29, $P < 0.01$). No se observaron diferencias en el número de animales ovulantes implantados con pilocarpina del lado izquierdo o derecho de POA-AHA (8/26 vs 19/37). La estimulación del sistema colinérgico modificó la ovulación según el día del ciclo y del lado de POA-AHA estudiado. Y los resultados fueron: Control 27/29; Estro derecho 4/4, izquierdo 0/5*; Diestro 1 derecho 0/6, izquierdo 4/10; Diestro 2 derecho 3/8, izquierdo 5/10; Proestro derecho 1/6*, izquierdo 10/12 ($P < 0.05$ vs control). No hubo diferencias en el número de ovocitos liberados en aquellos animales que ovularon, ni en el rango de cornificación vaginal ni en la presencia de útero balonado.

Estos resultados nos muestran que la estimulación del sistema colinérgico de POA-AHA afecta la ovulación espontánea de la rata dependiendo del lado de POA-AHA y del día del ciclo estral. La comparación de los resultados obtenidos por el implante de atropina y pilocarpina nos permiten sugerir que durante los días de diestro, mantener el tono colinérgico de POA-AHA es fundamental para que ocurra la ovulación, ya que cualquier desplazamiento en más o en menos la inhibe. En los días del estro y proestro, la participación del sistema colinérgico derecho o izquierdo de POA-AHA, parece ser en espejo.

INTRODUCCION

La ovulación es el proceso por el cual el folículo se rompe y libera al óvulo (Esquema 1). Inicialmente el óvulo se separa del cumulus oophorus y flota libre, rodeado de las células foliculares de la corona radiata, en el líquido folicular. Durante este tiempo se acumula rápidamente gran cantidad de fluido folicular y se adelgaza la pared celular. La primera señal de la inminente ovulación es la aparición sobre la superficie externa del folículo, de una pequeña área oval, el estigma. En la rata, la formación del estigma dura aproximadamente 5 minutos o menos, se rompe la parte superior del estigma y en uno o dos minutos el óvulo y la masa celular son expulsadas a través del orificio, seguido por una gran cantidad de fluido folicular (47, 48).

Si no ocurre la fertilización, el óvulo degenera durante el trayecto hacia el útero una vez que ocurrió la ovulación (30, 39, 47, 48).

CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA OVULACION

La ovulación es la etapa final de una serie de eventos regulados por señales neuroendócrinas que involucran al sistema nervioso central (áreas hipotalámicas y extrahipotalámicas), a la hipófisis y al ovario. Esta serie de eventos incluyen la secreción de la hormona liberadora de secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y la liberación de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona estimulante del folículo (FSH).



Esquema 1. La ovulación. Fluido folicular, células de la granulosa, algo de sangre y restos celulares acompañan al ovocito después del rompimiento del folículo (48).

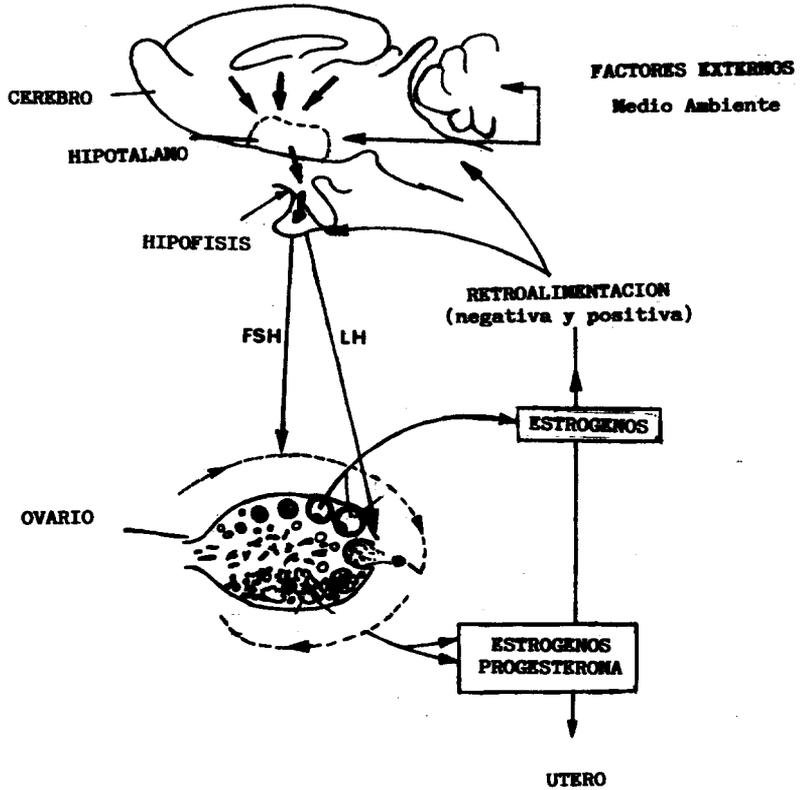
La regulación de la liberación de las gonadotropinas sucede de manera secuencial y sincrónica durante toda la vida reproductiva del animal (1, 13, 25, 35, 39). En los mamíferos, la secreción de las gonadotropinas está influenciada por factores del medio ambiente como la longitud del día, la temperatura, la disponibilidad de alimento etc., y por factores conductuales (Esquema 2).

Control de la secreción de la GnRH

En la rata, la GnRH es sintetizada por neuronas (neuronas GnRHérgicas) que se localizan en la banda diagonal de Broca, en el área septal, el núcleo de la estría terminal y en algunas áreas del diencéfalo, que incluyen el núcleo periventricular, área preóptica anterior (POA), media y lateral, área hipotalámica anterior (AHA) y la zona retroquiasmática. Algunos grupos de neuronas GnRHérgicas se localizan en el hipotálamo lateral y en la parte dorsal del núcleo supraóptico. No existen neuronas GnRHérgicas en el núcleo arcuato, sólo se encuentran pocas de ellas en la zona que separa a este núcleo de la región ventromedial, y en el núcleo ventromedial (84, 85).

En otras especies como el cobayo, si existen neuronas GnRHérgicas en el núcleo arcuato y ventromedial, zona que algunos autores han denominado hipotálamo medio basal, en la eminencia media dorsal y los núcleos premilares (56).

Las neuronas que se localizan en el septum proyectan sus fibras hacia el epitálamo y la estría medular y desde



Esquema 2. Diagrama esquemático que muestra el control del ciclo ovárico por las gonadotropinas. La liberación de la GnRH por las neuronas hipotalámicas es influenciada por factores del medio externo. La participación de mecanismos de retroalimentación estimulante e inhibitoria por parte de los estrógenos secretados por el ovario, que actúan sobre el útero (35).

aquí al núcleo interpeduncular del cerebro medio. Las células GnRHérgicas de la región preóptica/pericomisural envían sus axones a la región del órgano vasculoso de la lamina terminal, al órgano subfornical, la amígdala, la eminencia media y el lóbulo neural a la hipófisis. Estos axones también se proyectan hacia el pedúnculo mamilar y de aquí al cerebro medio, el núcleo del rafe y la región periacueductal (51, 56, 84, 85) [Esquema 3].

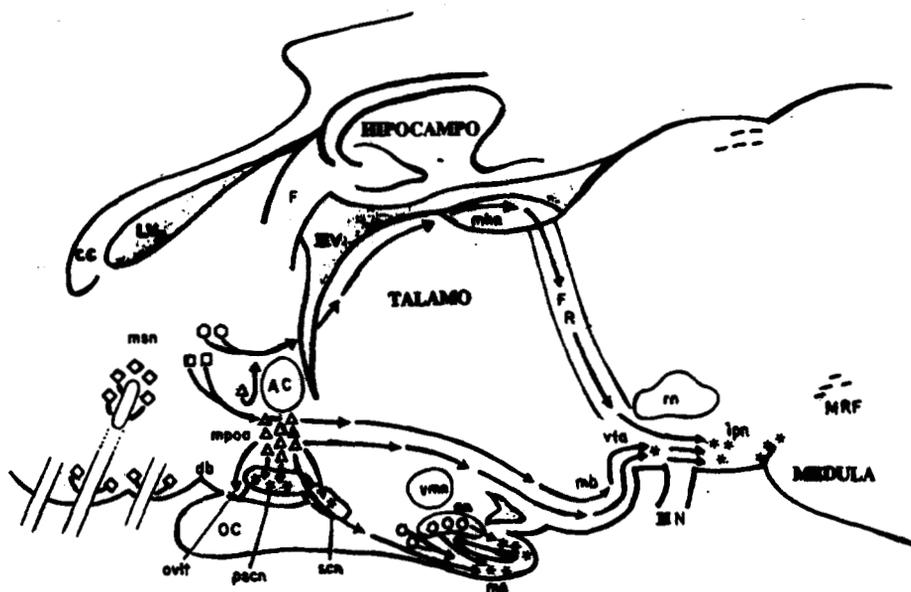
En el cobayo, las neuronas del núcleo arcuato proyectan un gran número de axones a la eminencia media (26, 34, 56).

En la mayoría de las especies, la lámina terminal es la segunda estructura más inervada por neuronas GnRHérgicas y contiene pocos cuerpos neuronales de este tipo (26, 85).

Existen neuronas GnRHérgicas en otras regiones del sistema nervioso central como el hipocampo, las cortezas prepiriforme y cingulada, los bulbos olfatorios accesorios, la amígdala y estructuras del sistema límbico (56).

La principal vía de neuronas GnRHérgicas es la septo-preóptico-infundibular (común en la mayoría de las especies). Este se origina en la parte rostral del área septal y de la banda diagonal de Broca y se proyecta hacia el quiasma óptico (26, 56, 85).

Las neuronas GnRHérgicas del área preóptica e hipotalámica anterior están involucradas en la regulación de la liberación fásica de las gonadotropinas (5, 6, 7). Mientras que las neuronas GnRHérgicas del núcleo arcuato y del núcleo ventromedial participan en la regulación de la



Esquema 3. Localización de las neuronas GnRHérgicas y sus principales proyecciones. Corte sagital del cerebro de la cobaya que muestra la localización de los diferentes grupos de neuronas GnRHérgicas (representadas por símbolos geométricos), la dirección de sus fibras (indicadas por flechas) y las terminaciones nerviosas (simbolizadas por asteriscos). AC: comisura anterior; an: núcleo arcuato; CC: cuerpo caloso; db: banda diagonal de Broca; F: fornix; FR: fascículo retroflejo; ipn: núcleo interpeduncular; LV: ventrículo lateral; mb: cuerpos mamilares; me: eminencia media; mha: habénula medial; mpoa: área preóptica medial; msn: septo medial; OC: quiasma óptico; ovlt: órgano vasculoso de la lámina terminal; pscn: núcleo supraquiasmático preóptico; ra: núcleo rojo; scn: núcleo supraquiasmático; vma: núcleo ventromedial; vta: área tegmental ventral; IIIV: tercer ventrículo; IIIN: nervio oculomotor (85).

liberación tónica de las gonadotropinas (5, 6, 7).

Estudios de microscopia electrónica han mostrado la existencia de varios tipos de interacciones entre las neuronas GnRHérgicas y los de diversos neurotransmisores.

Las neuronas GnRHérgicas de la parte media de POA reciben sinapsis axosomáticas o axodentríticas de terminales colinérgicas, noradrenérgicas, dopaminérgicas, serotoninérgicas, histaminérgicas, ácido gama aminobutírico (GABAérgicas); de péptidos como sustancia P, somatostatina, neurotensina, neuropéptido Y, péptido YY, péptido pancreático, galanina, oxitocina, vasopresina, TRH, CRF, colecistoquinina, angiotensina II, bradiquinina, bombesina, polipéptido vasoactivo intestinal (VIP), GRH y opioides (13, 14, 26, 53, 73, 85, 88).

Las neuronas GnRHérgicas también forman sinapsis entre ellas. Por ejemplo, en la región de POA de la rata y en el cobayo se han observado sinapsis axodentríticas entre neuronas GnRHérgicas (34). En el cobayo se han observado interacciones locales de tipo dendrodentríticas y somatodentríticas (85, 88).

La síntesis y liberación de la GnRH, también es modulada por las hormonas esteroides ováricas.

Las hormonas ováricas actúan directamente sobre las neuronas GnRHérgicas o sobre otras neuronas que modulan la actividad de ellas (26, 51). Aunque la mayoría de las neuronas GnRHérgicas no tienen receptores nucleares a estrógenos (83), se ha sugerido que los estrógenos estimulan

la secreción preovulatoria de la GnRH al actuar en otro tipo de neuronas que hacen sinapsis con la neurona GnRHérgica y afectan su actividad (85) [Esquema 4].

La GnRH es liberada del sistema portahipofisiario, y transportada a la sangre. También puede ser liberada al líquido cefalorraquídeo y de esta manera actuar sobre otras neuronas del SNC donde funcionaría como un neuromodulador y no como una neurohormona (57).

Control de la Secreción de Gonadotropinas durante el Ciclo estral de la rata

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

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

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

2) el aumento progresivo de la sensibilidad de los gonadotropos a dicha hormona (llamado efecto de imprimación de la GnRH) (35).

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

resultado de los siguientes factores:

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

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

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

La FSH estimula la aromatización de los andrógenos a estrógenos en las células de la granulosa, por sus efectos sobre la actividad de la enzima aromatasa. La LH regula la síntesis de los estrógenos al estimular la producción de andrógenos en las células de la teca y la actividad de la aromatasa en las células de la granulosa. La prolactina, la GnRH, la oxitocina, el factor de crecimiento epidermal, la vasopresina y los corticoides suprarrenales inhiben la producción de estrógenos por sus efectos primordiales sobre la síntesis de andrógenos, mientras que la noradrenalina y la prostaglandina E₂ la estimulan (26, 50).

En las células de la granulosa de los folículos antrales grandes y preovulatorios pequeños, la FSH estimula la síntesis de progesterona, efecto que es reforzado por la prolactina y los andrógenos, e inhibido por la prostaglandina F₂. En el folículo preovulatorio grande, la síntesis de progesterona es estimulada por la LH, la

prolactina y la noradrenalina (26, 50).

Además de las hormonas esteroideas, el ovario sintetiza y secreta péptidos con actividad hormonal tales como la inhibina, el factor inhibidor del ovocito, el factor inhibidor de la unión de la FSH a sus receptores, la hormona inhibidora de la luteinización y la gonadocrinina (GnRH de origen ovárico) (50).

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

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

En la rata, los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación siguen un patrón circádico. Los cambios periódicos (conducta sexual y citología vaginal) que se suceden durante el ciclo estral son utilizados como indicadores biológicos de las fluctuaciones en la liberación de las hormonas ováricas como reflejo de las variaciones de la secreción de gonadotropinas (Esquema 5).

La duración del ciclo estral de la rata es de 4 6 5

días y se han denominado como los días de estro, diestro 1, diestro 2 y proestro; en el caso de los ciclos de 5 días existe un día más de diestro.

Las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas y las hormonas ováricas varían durante el ciclo estral. Cada uno de los diferentes días del ciclo se caracterizan para su estudio, de la siguiente manera:

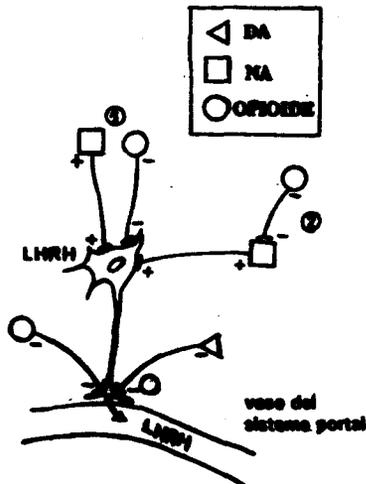
En el día del **estro** disminuye la concentración plasmática de los estrógenos, respecto a la tarde o noche del día anterior; entre las 4:00-5:00 horas del día del estro, la FSH circulante se eleva bruscamente, para luego disminuir gradualmente. La LH en el plasma es muy baja (7). En el frotis vaginal predominan células cornificadas (escamas sin núcleo) y en el ovario ha ocurrido la ovulación.

Durante el **diestro 1** las concentraciones circulantes de estrógenos se mantienen bajos al igual que los de FSH y LH (7). En la citología vaginal predominan los leucocitos y las células nucleadas. En el ovario se observan folículos en crecimiento.

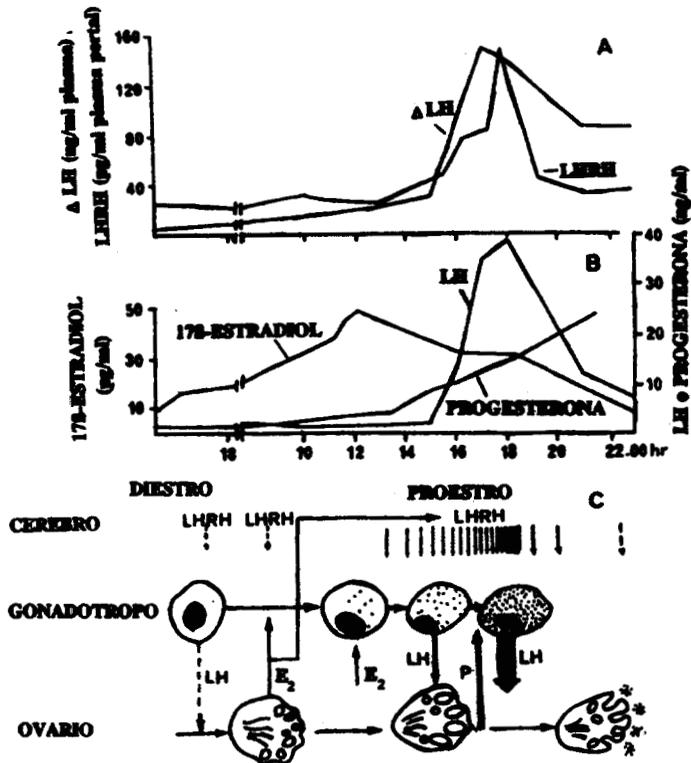
En la tarde del **diestro 2**, aumenta la secreción de estrógenos, mientras que los niveles de FSH y LH se mantienen como en el diestro 1 (7). El frotis vaginal muestra un mayor número de leucocitos que el de células epiteliales. Los folículos ováricos siguen en proceso de desarrollo.

En el día del **proestro** ocurre el primer evento en la

cascada, que es la secreción preovulatoria de estrógenos por parte del ovario, el cual se observa en la mañana de este día. Durante la tarde del proestro ocurre la liberación preovulatoria de la LH (35). La citología vaginal es representada por un gran número de células epiteliales nucleadas.



Esquema 4. Posibles mecanismos de la acción de los estrógenos sobre la secreción preovulatoria de la GnRH. 1: Estimulación de las neuronas noradrenérgicas (NA) o inhibición de las neuronas sintetizadoras de opioides; 2: desinhibición de las neuronas NA por la inhibición de las neuronas opioides; 3: inhibición de las neuronas dopaminérgicas y opioides en la eminencia media (35).



Esquema 5. Representación de la "cascada" de eventos neuroendócrinos del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, durante los días del ciclo estral de la rata adulta (35).

ANATOMIA DE LAS NEURONAS COLINÉRGICAS DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y SU RELACION CON EL HIPOTÁLAMO

En el cerebro de la rata se ha descrito la presencia de cuerpos celulares colinérgicos en la banda diagonal de Broca, el septo medial, el tubérculo olfatorio, las islas de Calleja, la amígdala, el hipocampo, la sustancia innominada, el globo pálido y la neocorteza. En el diencefalo se les ha identificado en la habénula, el núcleo arcuato y en el hipotálamo lateral. En el tallo cerebral, en el núcleo parasimpático, el sistema reticular, el núcleo pontopeduncular, la parte dorsal del rafé, el núcleo dorsotegmental, el locus coeruleus, el núcleo solitario y el núcleo ambiguo (66, 67).

En el hipotálamo también se han identificado células colinérgicas en el núcleo supraóptico, el área preóptica lateral y el núcleo supramamilar, las que envían sus fibras hacia la estria terminal y de ahí a la amígdala (66, 67).

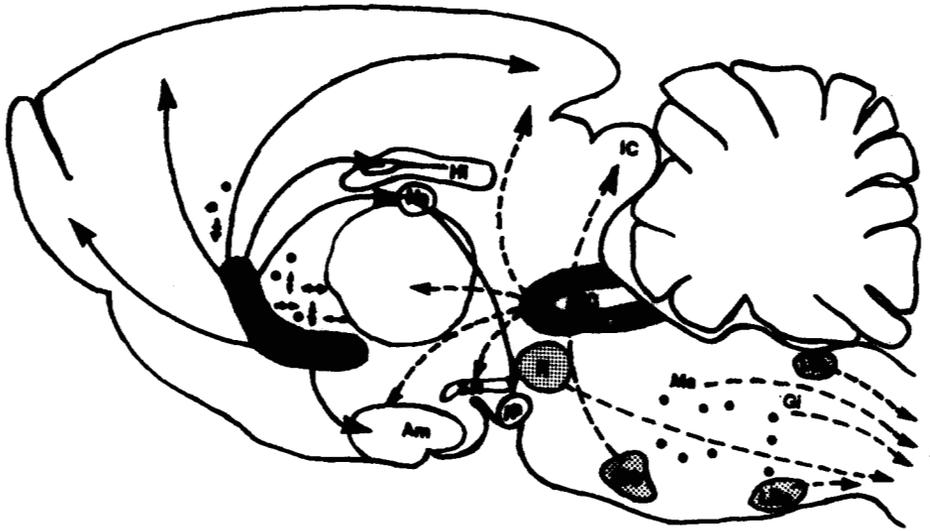
En el cerebro de la rata se describen dos vías colinérgicas: la vía tegmental dorsal formada por fibras que contienen las enzimas colinesterasa y acetilcolinesterasa, que provienen del núcleo cuneiforme (situado en la parte dorsolateral de la formación reticular mesencefálica) y se proyectan al tectum, al área pretectal, a los cuerpos geniculados, al tálamo y al sistema límbico. La vía tegmental ventral se origina en la sustancia negra y el área tegmental ventral del cerebro medio, sólo contiene acetilcolinesterasa, y atraviesa el hipotálamo y el

subtálamo, y llega al cerebro posterior basal. Algunas fibras de esta vía que contienen acetilcolinesterasa, llegan a corteza cerebral y al bulbo olfatorio (66, 67) [Esquema 6].

El papel del Sistema Colinérgico en la Regulación del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario

El sistema colinérgico es uno de los sistemas de neurotransmisión que regula la secreción de las gonadotropinas y en consecuencia la ovulación. Desde la década de los años cuarentas, Everett y colaboradores (32) mostraron que el sistema colinérgico regula de manera estimuladora la secreción preovulatoria de la LH que ocurre en el día del proestro. Estos autores observaron que la inyección subcutánea de 700 mg/kg de sulfato de atropina bloqueaba la ovulación esperada en la mañana del día siguiente. Además, observaron que esta dosis era efectiva de las 14:00 a las 16:00 horas de este día del ciclo, intervalo que denominaron "período crítico".

Posteriormente, Domínguez y colaboradores (31) mostraron que el grado de participación del sistema colinérgico en la regulación de la secreción de las gonadotropinas es diferente en cada día del ciclo estral, ya que la dosis de atropina necesaria para bloquear la ovulación también depende del día del ciclo estral en el que se realiza el tratamiento. Así, en el día del estro se requiere de 300 mg/kg; en el diestro 1 y diestro 2, de 100 mg/kg y en el proestro de 700 mg/kg. Además, mostraron que la participación del sistema colinérgico no sólo varía con



Esquema 6. Representación de algunas de las vías colinérgicas propuestas. Las rutas ya establecidas están indicadas con flechas continuas; rutas supuestas con flechas discontinuas; interneuronas doble flecha. Am; amígdala; BC: conjuntiva braquial; Gi: división gigantocelular de la formación reticular; Ha: habénula; Hi: hipocampo; IC: colículo inferior; IC: núcleo interpeduncular; LRe: núcleo reticular lateral; LVe: núcleo vestibular lateral; Ma: división magnocelular de la formación reticular; PB: complejo parabraquial; R: núcleo rojo; SM: sustancia negra; SO: olivo superior.

el día del ciclo, sino con la hora del día, ya que la administración de la dosis mínima efectiva (100 mg/kg) a diferentes horas de cada día del ciclo estral, interrumpe la ovulación de los animales en diferente proporción según la hora y el día del ciclo que se considere.

En ratas ovariectomizadas tratadas con altas dosis de estrógenos la administración de atropina directamente en el ventrículo inhibe la liberación de LH, en tanto que la inyección de pilocarpina o de fisostigmina (ambos agonistas colinérgicos), inicialmente inhiben y más tarde estimulan la liberación de LH (59).

La liberación de la GnRH ocurre en respuesta a la estimulación de los receptores muscarínicos, ya que en estudios *in vitro* se ha mostrado que la acetilcolina estimula la liberación de la FSH y de la LH, sólo cuando la hipófisis es co-incubada con fragmentos de hipotálamo, efecto que es bloqueado por la atropina (36, 86).

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

Tanto en POA-AHA como en la adenohipófisis, la afinidad de los receptores muscarínicos varía durante el ciclo

estral, siendo mayor en el día del proestro (2, 3, 65). La estimulación del sistema colinérgico por la administración de fármacos colinomiméticos, estimula la división mitótica de los gonadotropos que sintetizan LH (78).

Asimismo, la actividad del sistema colinérgico, medida por la actividad de la enzima colino-acetil-transferasa (CAT), por el contenido o la liberación de la acetilcolina, por la densidad o la afinidad de sus receptores, está regulada por las hormonas esteroideas (18, 58). La actividad de la CAT de POA-AHA varía durante el ciclo estral (14) y se ha mostrado que la acetilcolina se encuentra en concentraciones relativamente altas en el hipotálamo (52, 68).

En la rata macho, la castración provoca aumento de la actividad de la CAT y la concentración de acetilcolina en el área tegmental, por lo que se considera que está relacionada con los mecanismos colinérgicos que estimulan la secreción de LH (68).

En el animal hemiovariectomizado, la información neuroendócrina generada por los receptores colinérgicos de la zona anterior del hipotálamo participa en la regulación del proceso de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, ya que el implante bilateral de sulfato de atropina inhibe este proceso (63).

Los Aspectos Asimétricos del Sistema Colinérgico y la Función Reproductora.

Resultados experimentales de varios autores han mostrado que la regulación neuroendócrina que ejerce el hipotálamo, sobre la función de uno y otro ovario, es asimétrica (1, 12, 19, 20, 29, 40, 41, 42, 45, 46, 62, 69, 70, 71, 72). A la fecha, no se cuenta con datos que indiquen que esta asimetría funcional se acompaña de asimetrías anatómicas. Al respecto sabemos que la concentración de GnRH es diferente entre el lado derecho e izquierdo del hipotálamo medio basal (4, 46). Es posible que estas diferencias bioquímicas entre un lado y otro del hipotálamo, estén relacionadas con diferencias anatómicas, morfológicas o aún bioquímicas de los diversos sistemas de neurotransmisión que regulan la síntesis y la liberación de la GnRH entre uno y otro lado del hipotálamo o de las áreas extrahipotalámicas que se relacionan funcionalmente con él. Por ejemplo, se ha mostrado que la extirpación de uno de los ovarios aumenta significativamente el contenido de GnRH en el hipotálamo del mismo lado que se extrajo el ovario (46). La hemiovariectomía del lado derecho aumenta la asimetría en el contenido de GnRH, mientras que la del lado izquierdo la disminuye (42, 46).

La región preóptica responde de manera asimétrica a las hormonas esteroides. El implante de estradiol en el lado derecho de POA o el núcleo ventromedial de ratas hembras recién nacidas provoca masculinización cuando los animales

llegan a la edad adulta (estas hembras prefieren sexualmente a otras hembras). En cambio, cuando el estradiol se implanta en el lado izquierdo, ocurre defeminización (los animales no tienen ciclos estrales) (72).

En el hipotálamo de la rata adulta, la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), varía durante el ciclo estral; y es mayor en el lado derecho que en el izquierdo (18).

De igual manera, la actividad de la CAT del lado derecho de POA-AHA varía durante el ciclo estral, la actividad más alta ocurre en el día del estro y la menor durante el día el diestro 2 (82).

La participación de los receptores muscarínicos de POA-AHA en la regulación de la secreción de la GnRH y la ovulación varía durante el ciclo estral y es asimétrica (15, 16, 19); esta conclusión se desprende de los siguientes hechos experimentales:

- 1.- En el día del estro, el implante de atropina en el lado derecho de POA-AHA bloquea la ovulación en todos los animales. En cambio, todos ovulan si el implante se coloca del lado izquierdo. Cuando el implante se realiza en el día del diestro 1, el número de animales que ovulan disminuye significativamente, independientemente del lado de POA-AHA en que se coloque la atropina. Cuando el implante se realiza en el día del diestro 2, casi ningún animal ovula cuando el implante está del lado izquierdo, mientras que la mayoría lo hace si el implante está del lado derecho. Los implantes

realizados en el día del proestro no bloquean la ovulación.

2.- En los animales con implante unilateral de atropina que no ovulan, la administración de GnRH o de la gonadotropina coriónica humana (hCG), a las 13:00 horas del día del proestro esperado, induce la ovulación en la mayoría de los animales.

3.- En este mismo modelo de animales, la administración de benzoato de estradiol en el segundo día del diestro, restaura la ovulación en la mayoría de los animales con implante de atropina del lado izquierdo de POA-AHA, pero no lo hace en los que fueron implantados del lado derecho.

4.- La inyección de la gonadotropina de suero de yegua preñada (PMSG) una hora después de realizar el implante de atropina en el día del diestro 1, provoca la ovulación solamente en los animales con implante del lado izquierdo de POA-AHA.

Los resultados antes descritos llevaron a sugerir que: el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, realizado en los días previos de ese ciclo, bloqueó la señal ovulatoria de la secreción de la LH. Por lo que, el sistema colinérgico participa de manera estimulante y asimétrica en la regulación de la secreción de la GnRH durante el proestro (16).

La falta de ovulación provocada por la ausencia de las señales hipotalámica e hipofisaria, es el resultado de la ausencia del estímulo estrogénico. Además, que dicha señal ovárica es efectiva sólo cuando el lado derecho de POA-AHA

no es alterado (16).

Con base en estos resultados, los autores plantean que aún cuando existan estrógenos suficientes como para disparar la secreción preovulatoria de GnRH, la falta del estímulo colinérgico del lado derecho de POA-AHA en los días previos al proestro, impide que se cierre el circuito de regulación estimulante de la secreción preovulatoria de la GnRH y de la LH (15, 16).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

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

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

1) Existen diferencias anatómicas, funcionales, o ambas, entre las neuronas GnRHérgicas de uno y otro lado del hipotálamo lo que explicaría la concentración asimétrica del péptido (4, 46).

2) Las diferencias funcionales de los sistemas de neurotransmisión o de los péptidos de uno y otro lado del sistema nervioso central que regulan directa o indirectamente la actividad de la neurona GnRHérgica. Esto

explicaría el efecto asimétrico del implante de atropina sobre la secreción preovulatoria de la GnRH y la ovulación.

3) Las diferencias anatómicas, funcionales, o ambas, entre uno y otro ovario, las que serían a su vez reguladas por el "tipo", "cantidad" y "calidad" de la información nerviosa aferente a cada una de las gónadas.

4) Las diferencias en la información neuroendócrina que intercambia el hipotálamo con cada gónada.

Con base en lo anterior y con el fin de continuar con el estudio del papel regulador del sistema colinérgico, en este trabajo se estudiaron los efectos, así como las implicaciones neuroendócrinas, del estímulo del sistema colinérgico de POA-AHA sobre la ovulación de la rata adulta.

Para ello se analizaron los efectos de la estimulación unilateral del sistema colinérgico de POA-AHA realizado en cada uno de los días del ciclo estral, sobre la ovulación esperada en el día del estro. Asimismo, se estudiaron los efectos del reemplazo de la hormona secretada por el hipotálamo o el ovario, cuya secreción pudo ser alterada por la estimulación del sistema colinérgico.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La participación del sistema colinérgico de POA-AHA en la regulación de la ovulación es asimétrica y varía durante el ciclo estral.

OBJETIVOS

I. Estudiar los efectos de la estimulación del sistema colinérgico del lado derecho o izquierdo de POA-AHA, durante el ciclo estral, sobre la ovulación de la rata adulta.

II. Analizar los mecanismos por los que la estimulación unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, inducido por el implante de Pilocarpina, provocaría asimetría en la respuesta ovulatoria y funcional del ovario.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembras adultas (190 - 230 g) de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luces encendidas de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al alimento y al agua. Los animales fueron mantenidos en grupos de seis ratas por caja y se les realizó el estudio del ciclo estral por la toma diaria de frotis vaginales. Sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de 4 días de duración. A todos los animales que fueron sometidos a alguna de las intervenciones quirúrgicas, se les reanudó la toma de frotis vaginales 24 horas después de la cirugía. Para las intervenciones quirúrgicas, los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Anestosal: 30 mg/kg) y todos se realizaron entre las 08.00 y 11.30 h.

Como grupo testigo absoluto, se utilizaron animales sin tratamiento, sacrificados en el día del estro, después que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días.

Intervención quirúrgica:

Implante unilateral de pilocarpina

El implante se realizó siguiendo la metodología previamente descrita (16, 19). Los animales fueron anestesiados, colocados en el aparato estereotáxico con la barra incisora a 5 mm por debajo de las barras auditivas. Las coordenadas antero-posterior seleccionadas para las áreas hipotalámicas en estudio fueron las siguientes: antero-posterior: 64 μm y lateral: 40 μm .

A ratas en los diferentes días del ciclo estral se les implantó en el lado izquierdo o derecho de POA-AHA, una aguja de acero inoxidable del No. 20 (cánula directriz) cuya longitud promedio es de 4 mm la que se fijó a la calota con cemento acrílico. Una vez que los animales presentaron 2 ciclos consecutivos de 4 días, a las 13:00 horas del día del estro, o del diestro 1, o del diestro 2 o del proestro, en la cánula directriz se introdujo la cánula interna (aguja de acero inoxidable del No. 25), cuya punta se cargó previamente con $105 \pm 8 \mu\text{g}$ de pilocarpina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MS, EE. UU).

El fármaco fue expulsado hacia la región POA-AHA con la ayuda de un alambre de acero inoxidable. Como grupo control se utilizaron animales a los que se les implantó colesterol (11), a las mismas horas. Todos los animales fueron sacrificados en el día del estro esperado.

Procedimiento de Autopsia:

Los animales se sacrificaron por decapitación. Se disecaron y pesaron los ovarios y el útero. En los oviductos se buscó la presencia de ovocitos. Cuando esto ocurrió se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. El peso de los órganos se expresó en mg por 100 gramos de peso corporal (mg/100 gr p.c.).

El cerebro de los animales con implante de pilocarpina o colesterol se fijó en solución de formol al 10 % y se cortó a 80 μ m. Los cortes se tificaron con violeta de cresilo para localizar la zona del implante. Los diagramas de la localización de los implantes, así como la nomenclatura utilizada, fueron tomados directamente del atlas de König y Klippel (52). Solamente se utilizaron los datos de los animales cuyo implante se localizó en el área de estudio.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos del número de ovocitos liberados se analizaron por la prueba de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba de U-de Mann-Whitney; los del peso de los ovarios y del útero, se analizaron por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA), seguida de la prueba de Duncan. La tasa de los animales ovulantes (número de ratas que ovulan/número de animales tratados x 100), la frecuencia relativa de animales con útero distendido (número de animales con presencia de líquido en la luz del útero/número de animales tratados x 100) y la frecuencia de

animales que presentan estro vaginal al día del sacrificio (número de animales en estro vaginal/número de animales tratados x 100) fueron analizados por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o por Chi-cuadrada.

EXPERIMENTOS REALIZADOS:

Estudio de los efectos del implante de pilocarpina en la región izquierda o derecha de POA-AHA sobre la ovulación de la rata adulta.

Para analizar si la estimulación del sistema colinérgico de POA-AHA modifica de forma asimétrica la función del ovario, se realizó el siguiente experimento:

Experimento 1. A animales adultos a los que se les colocó la cánula directriz dirigida a POA-AHA, una vez que presentaron por lo menos 2 ciclos consecutivos de 4 días, se les implantó pilocarpina a las 13:00 horas del día del estro, o del diestro 1, o del diestro 2 o del proestro. Los animales se sacrificaron en el día del estro esperado inmediato.

RESULTADOS

Cuando se comparan con el grupo de animales sin tratamiento sacrificados en el día del estro vaginal no se observaron diferencias significativas en el número de ovocitos liberados, en el peso de los ovarios y del útero de los animales implantados con colesterol en los diferentes días del ciclo estral (Tabla 1).

Tabla 1. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados, peso de ambos ovarios y el útero de animales intactos o con implante de colesterol en POA-AHA en los diferentes días del ciclo estral.

Grupo	n	Ovocitos totales	Peso (mg/100 g)	
			Ovarios	Utero
Intactos	17	10.7 \pm 0.7	28.7 \pm 0.9	168 \pm 6.8
Colesterol				
Estro:	10	11.2 \pm 0.7	30.7 \pm 1.2	195 \pm 12.0
Diestro 1:	10	9.1 \pm 0.9	32.1 \pm 1.7	185 \pm 15.0
Diestro 2:	10	8.0 \pm 1.7	29.1 \pm 1.2	185 \pm 10.0
Proestro:	11	11.3 \pm 0.7	30.3 \pm 1.0	180 \pm 7.2

(ANDEVA seguido de la prueba de Tukey)

Tampoco se observaron diferencias entre los grupos de animales con implante de colesterol en el lado izquierdo o derecho de POA-AHA (Tabla 2).

Tabla 2. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos, del peso de los ovarios y del útero, en los animales intactos o con implante de colesterol del lado izquierdo o derecho de POA-AHA.

Grupo	n	Ovocitos	Peso (mg/100 g)	
			Ovarios	Utero
Intactos	17	10.7 \pm 0.7	28.7 \pm 0.9	170 \pm 6.8
Colesterol				
Izquierdo	20	10.1 \pm 0.8	31.0 \pm 6.6	188 \pm 6.6
Colesterol				
Derecho	19	9.8 \pm 0.7	30.0 \pm 0.8	185 \pm 9.1

(ANDEVA seguido de la prueba de Tukey)

Dado que no se observaron diferencias significativas en los efectos del implante de colesterol del lado izquierdo o del lado derecho de POA-AHA, los resultados se agruparon en un sólo grupo denominado testigo.

En los animales con implante unilateral de pilocarpina (lado izquierdo o derecho) disminuyó la tasa de animales ovulantes, y no se modificaron la tasa de cornificación vaginal ni la de útero distendido (Tabla 3).

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

Grupo	Tasa de Ovulantes	animales Cornificación Vaginal	Utero Distendido
Testigo	56/58	56/58	2/58
Pilocarpina Izquierda	19/37*	32/37	6/37
Pilocarpina Derecha	7/26*	22/26	9/26

*P<0.05 comparado con el grupo control testigo (Prueba de Ji2)

En la Figura 1 se muestra la tasa de animales ovulantes de los grupos con implante unilateral de colesterol o de pilocarpina realizado en el lado izquierdo o derecho de POA-AHA. Como se puede observar la proporción de animales que

ovulan en el día del estro esperado disminuye significativamente cuando se implanta la pilocarpina en el lado derecho de POA-AHA y las diferencias no fueron significativas cuando el implante se realizó del lado izquierdo.

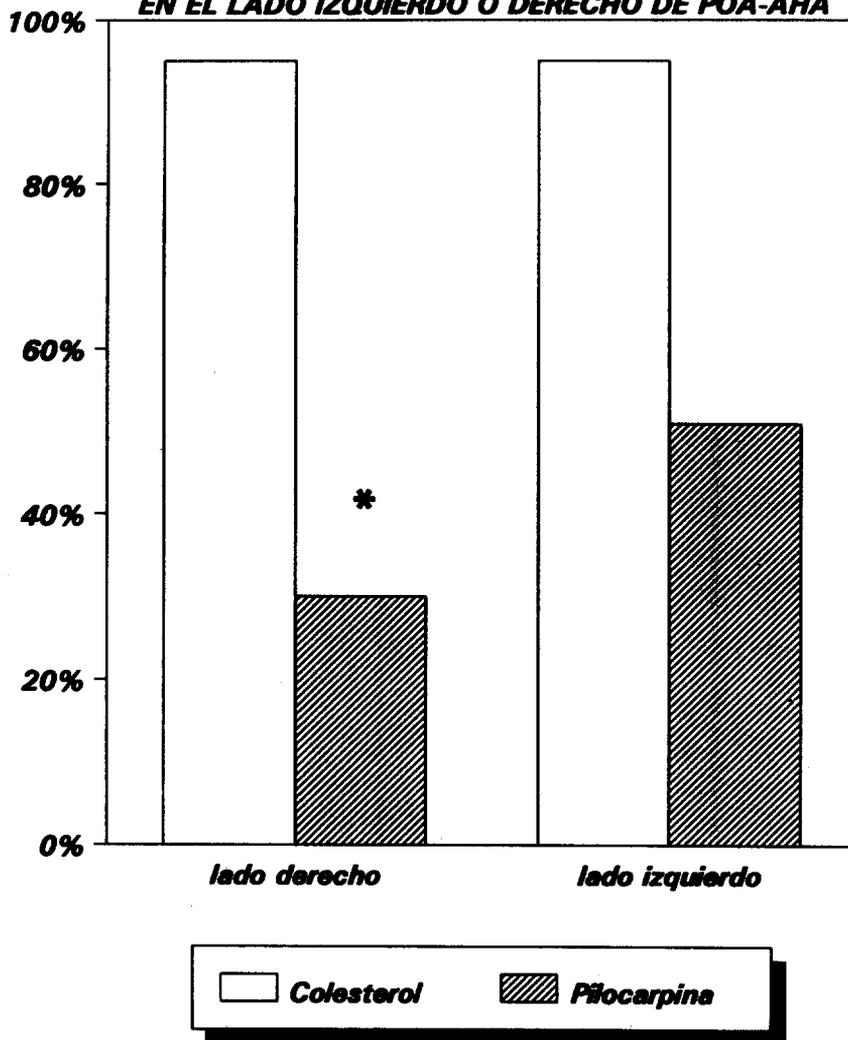
En los animales con implante de pilocarpina, el número de ovocitos liberados por animal ovulante, así como el peso de los ovarios fueron semejantes al del grupo de animales testigo (Tabla 4).

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

Grupo	n	Ovocitos	Peso (mg/100 g)	
			Ovarios	Utero
ANIMALES QUE OVULARON				
Testigo	56	10.5 \pm 0.4	29.7 \pm 0.6	184 \pm 4.8
Pilocarpina Izquierda	19	9.5 \pm 0.6	26.6 \pm 1.4	183 \pm 4.9
Pilocarpina Derecha	7	9.9 \pm 0.6	27.8 \pm 2.0	208 \pm 12.2*
ANIMALES QUE NO OVULARON				
Testigo	2		34.2 \pm 4.2	190 \pm 4.0
Pilocarpina Izquierda	18		27.0 \pm 1.3	178 \pm 5.2
Pilocarpina Derecha	19		32.9 \pm 1.7	208 \pm 10.5*

* $P < 0.05$ vs testigo (ANDEVA, seguida de la Prueba de Tukey).

FIG. 1 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES CON IMPLANTE DE COLESTEROL O PILOCARPINA EN EL LADO IZQUIERDO O DERECHO DE POA-AHA



* $P < 0.05$ vs Colesterol

Cuando se considera el día del ciclo en que se implantó la pilocarpina, observamos que la tasa de animales ovulantes en el estro inmediato, disminuye significativamente cuando el implante se realizó en los días de estro, diestro 1 y diestro 2 (Figura 2).

Analizando los resultados en función del lado en que se realizó el implante, encontramos una disminución en el peso de los ovarios cuando el implante se realizó del lado izquierdo en el día del proestro (Tabla 5).

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

Grupo	n	Ovocitos	Peso (mg/100 g)	
			Ovarios	Utero
Testigo	56	10.7 \pm 0.7	28.7 \pm 0.9	170 \pm 6.8
<i>Pilocarpina</i>				
ESTRO:				
Derecho	4	9.8 \pm 0.9	25.9 \pm 2.7	210 \pm 20.4
DIESTRO 1:				
Izquierdo	4	8.8 \pm 1.3	28.8 \pm 2.1	188 \pm 14.9
DIESTRO 2:				
Izquierdo	5	10.0 \pm 0.7	28.1 \pm 2.8	174 \pm 2.5
Derecho	3	10.0 \pm 1.2	30.2 \pm 2.8	206 \pm 14.5
PROESTRO:				
Izquierdo	10	9.6 \pm 0.9	25.1 \pm 2.0*	187 \pm 7.3

* $P < 0.05$ vs testigo (ANDEVA seguido de la prueba de Tukey).

Cuando se analizan los resultados en función del día y del lado en que se colocó la pilocarpina, observamos que en el día del estro, el implante del lado izquierdo bloqueó la ovulación en todos los casos (0/5 ovularon), mientras que no la afectó cuando se implantó del lado derecho (4/4). La proporción de animales ovulantes disminuyó significativamente cuando los animales se implantaron en el día del diestro 1 (implante izquierdo 4/10 ovularon, implante derecho 0/8) o del diestro 2 (implante izquierdo 5/10, implante derecho 3/8). Cuando el implante se realizó en el lado derecho del día del proestro la ovulación fue bloqueada en la mayoría de los animales (1/6 ovuló) y no fue afectada cuando el implante se realizó en el lado izquierdo (10/12 ovularon), (Tabla 6) [Figura 3].

Los resultados de este primer experimento muestran que la estimulación del sistema colinérgico afecta la ovulación. Los efectos varían con el día del ciclo estral y se presentó lateralización, la cual también varía con el ciclo.

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

Grupo	n	Peso (mg/100g)	
		Ovarios	Utero
Testigo	2	34.2 \pm 4.2	190 \pm 4.0
<i>Pilocarpina</i>			
ESTRO:			
Izquierdo	5	24.6 \pm 3.1*	164 \pm 11.1*
DIESTRO 1:			
Izquierdo	6	27.6 \pm 1.5	180 \pm 6.9
Derecho	8	34.6 \pm 2.5	211 \pm 19.3
DIESTRO 2:			
Izquierdo	5	30.2 \pm 2.5	180 \pm 7.9
Derecho	5	29.1 \pm 4.5	192 \pm 24.7
PROESTRO:			
Izquierdo	2	23.4 \pm 3.1*	205 \pm 25.0
Derecho	6	33.7 \pm 1.9	215 \pm 11.8

*P<0.05 vs Testigo (ANDEVA seguido de la prueba de Tukey).

**FIG. 2 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES
CON IMPLANTE DE COLESTEROL O PILOCARPINA
EN CADA DIA DEL CICLO ESTRAL**

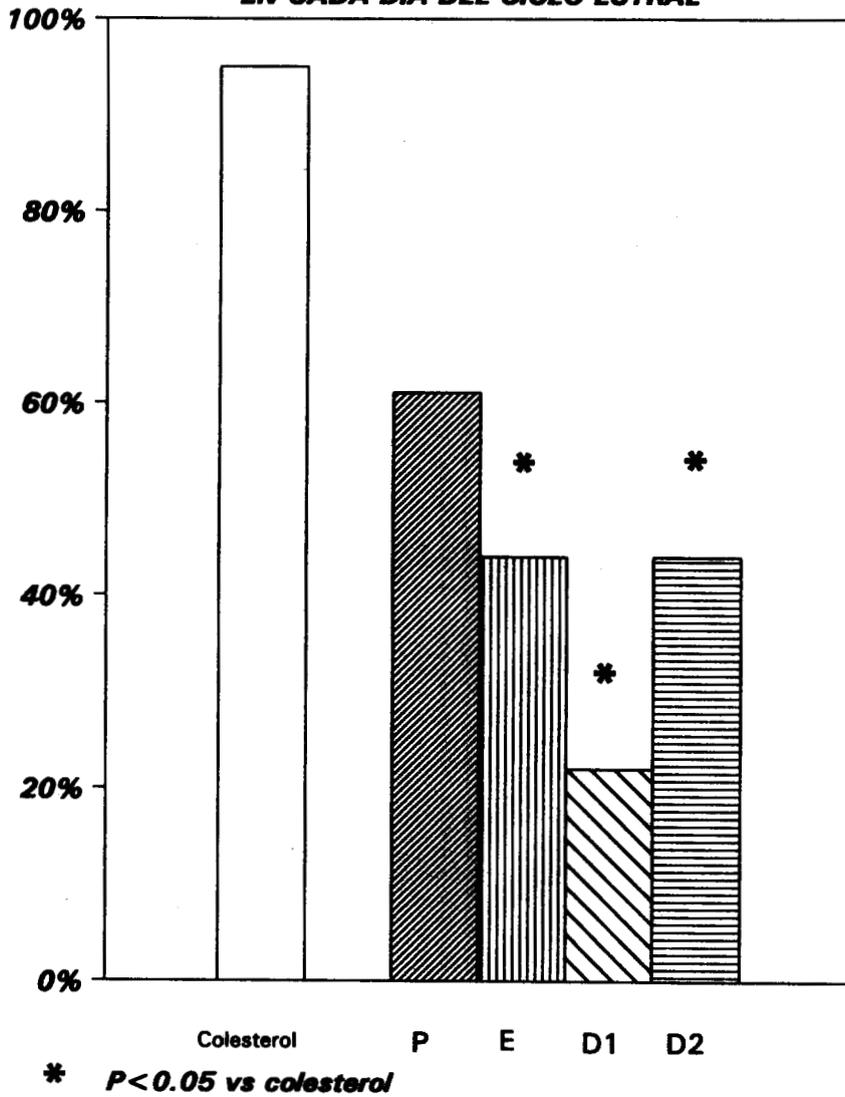
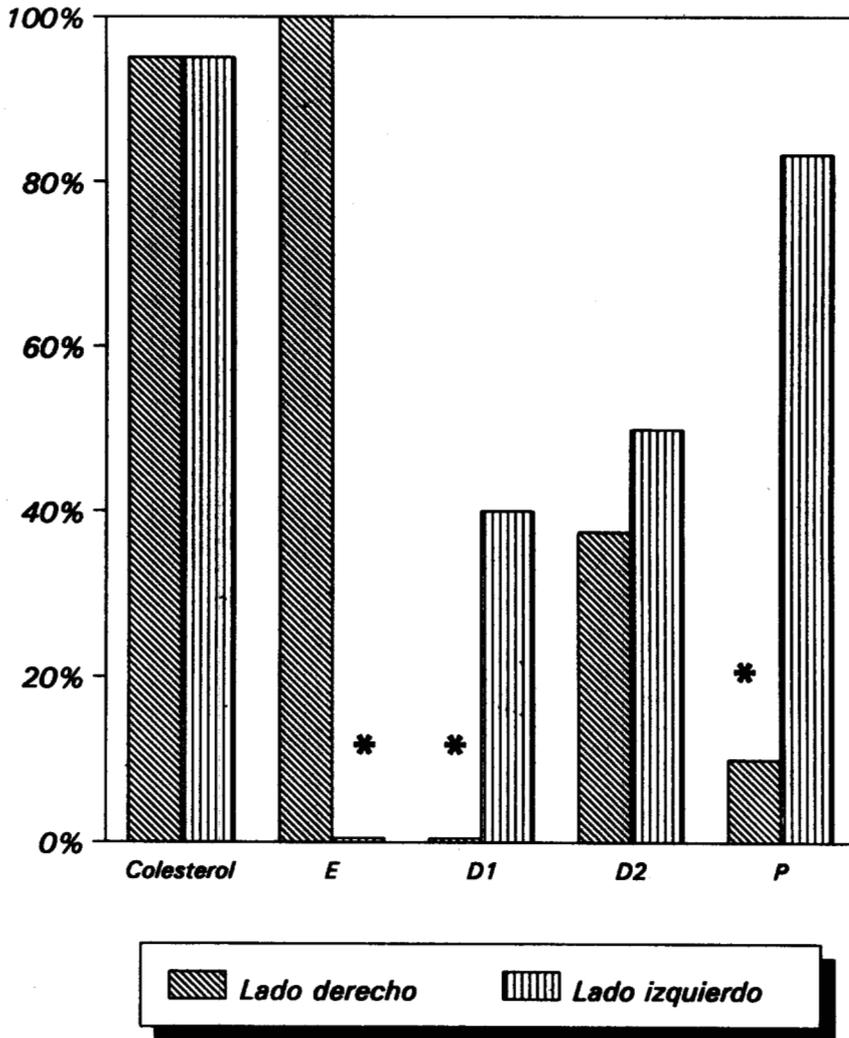


FIG. 3 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES CON IMPLANTE UNILATERAL DE COLESTEROL O PILOCARPINA EN POA-AHA, DURANTE EL CICLO ESTRAL



* $P < 0.05$ vs Colesterol

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN EL BLOQUEO DE OVULACION POR EL IMPLANTE UNILATERAL DE PILOCARPINA EN POA-AHA

Con el fin de analizar si la falta de ovulación provocada por el implante unilateral de pilocarpina en POA-AHA, es consecuencia de la alteración de la secreción fásica de la GnRH y de las gonadotropinas o por la alteración de la capacidad de respuesta del ovario a las mismas se realizaron los siguientes experimentos.

Experimento 2

Ratas adultas cíclicas en las que la ovulación fue bloqueada por el implante unilateral de pilocarpina: Estro del lado izquierdo, Diestro 1 lado izquierdo o derecho, Diestro 2 lado izquierdo o derecho y Proestro lado derecho, fueron inyectados por vía subcutánea a las 14:00 horas del día del proestro esperado o del ciclo en estudio con 3.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de (Gly-OH)-LHRH sintética (Sigma), y se autopsiaron en el día del estro esperado.

RESULTADOS

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOTALÁMICA

En las ratas con el implante unilateral de pilocarpina que no ovularon, el reemplazo de la hormona hipotalámica (LH-RH) a las 14:00 horas del día del proestro, indujo la ovulación en el 86 % (Figura 4).

El número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los ovarios no se modificaron, en tanto que el peso del útero disminuyó significativamente (Tabla 7).

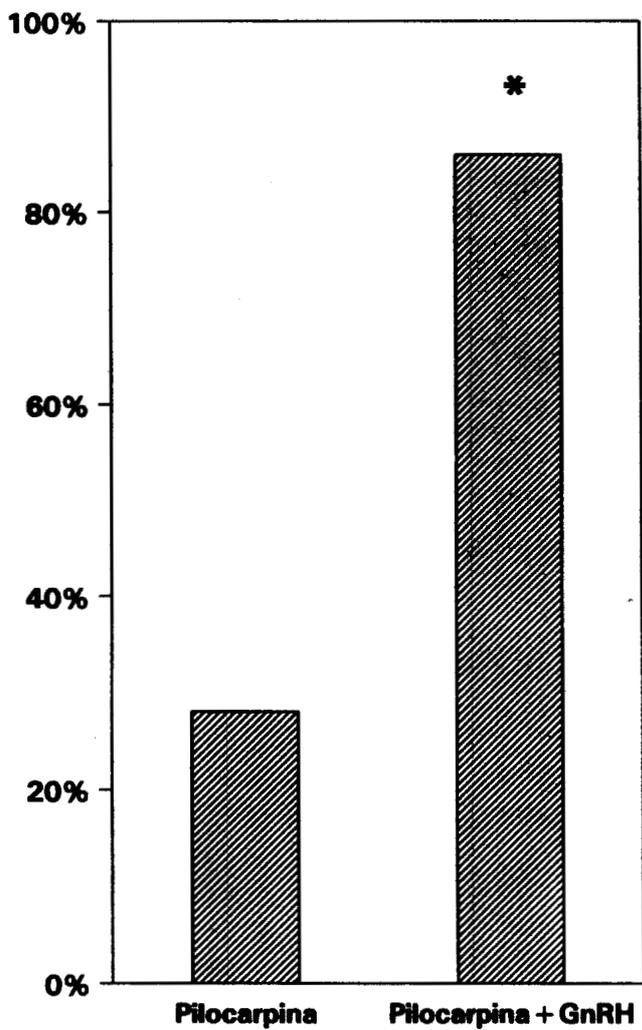
Tabla 7. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100g) de los ovarios y del útero de ratas con implante unilateral de pilocarpina (estro: izquierdo; diestro 1: izquierdo y derecho; diestro 2: izquierdo y derecho; proestro: izquierdo), tratadas con GnRH.

Grupo	n	Ovocitos	Peso (mg/100g)	
			Ovarios	Utero
Testigo	17	10.7 \pm 0.7	28.7 \pm 0.9	168 \pm 6.8
Pilocarpina:				
Izquierda	19	9.5 \pm 0.6	26.6 \pm 1.4	183 \pm 4.9
Derecha	7	9.9 \pm 0.6	27.8 \pm 2.0	208 \pm 12.2
Pilocarpina +GnRH				
	36	9.6 \pm 0.5	29.5 \pm 0.9	170 \pm 4.3*

*P<0.05 vs pilocarpina (ANDEVA seguido de la prueba de Tukey).

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

**FIG. 4 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES
CON IMPLANTE DE PILOCARPINA, TRATADOS CON GnRH**



* $P < 0.05$ vs Pilocarpina

Experimento 3

Para analizar cuales podrían ser los factores que condicionan la falta de la secreción preovulatoria (en el día del proestro) de la GnRH y en consecuencia la de LH, a las 14:00 horas del día del diestro 2 a cada rata con implante unilateral de pilocarpina se les administró por vía subcutánea, 10 μ g de benzoato de estradiol (Sigma) y fueron autopsiados en el día del estro esperado.

RESULTADOS.

EFFECTOS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL OVARICA

La administración de benzoato de estradiol restauró la ovulación en el 44% de los animales con implante unilateral de pilocarpina (Figura 5). Cuando se analizaron los resultados en función del lado en que se realizó el implante se observó que la tasa de animales ovulantes fue mayor del lado izquierdo que del derecho (12/22 vs 4/14 p 0.05). La tasa de animales ovulantes con útero distendido aumentó (15/63 vs 34/36, $P < 0.05$) y no se modificó la de cornificación vaginal (54/63 vs 36/36, $P < 0.05$).

El número de ovocitos liberados y el peso de los ovarios fueron similares al de los animales con implante sin tratamiento hormonal. El peso del útero aumentó después del tratamiento (Tabla 8).

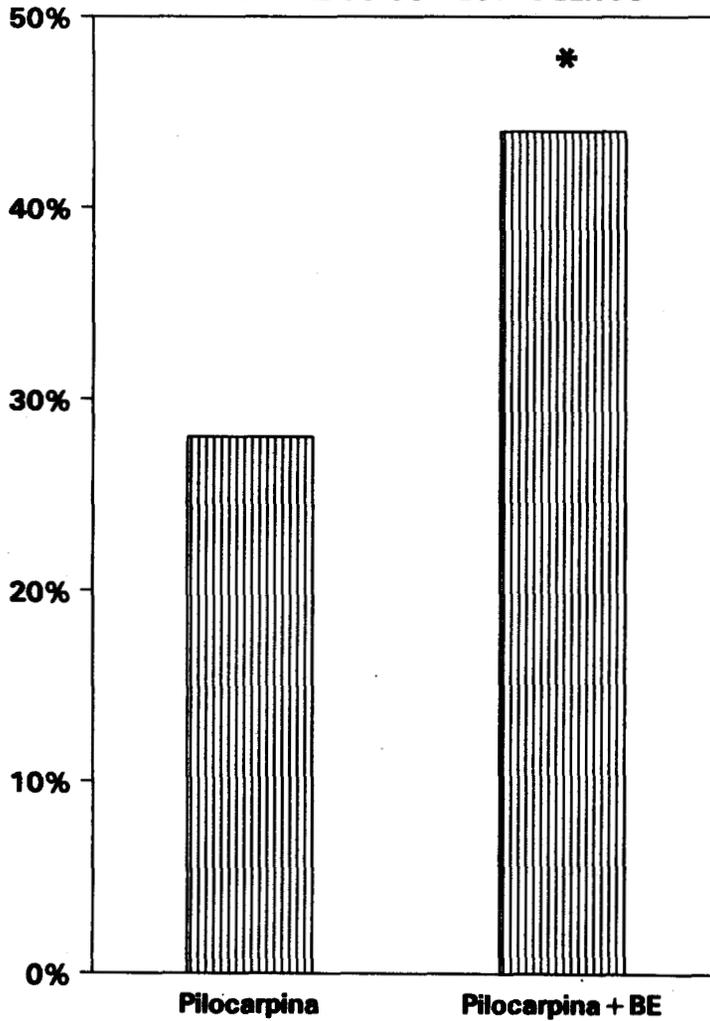
Tabla 8. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100g) de los ovarios y del útero de ratas con implante unilateral de pilocarpina (estro: izquierdo; diestro 1: izquierdo y derecho; diestro 2: izquierdo y derecho), tratadas con benzoato de estradiol (BE) a las 14:00 horas del diestro 2 esperado.

Grupo	n	Ovocitos	Peso mg/100g	
			Ovarios	Utero
Testigo	17	10.7 \pm 0.7	28.7 \pm 0.9	168 \pm 6.8
Pilocarpina:				
Izquierda	19	9.5 \pm 0.6	26.6 \pm 1.4	183 \pm 4.9
Derecha	7	9.9 \pm 0.6	27.8 \pm 2.0	208 \pm 12.2
Pilocarpina +BE				
	16	8.5 \pm 0.8	30.1 \pm 1.4	213 \pm 6.6*

* $P < 0.05$ vs pilocarpina (ANDEVA seguido de la prueba de Tukey).

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

**FIG. 5 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES
CON IMPLANTE DE PILOCARPINA,
TRATADOS CON ESTROGENOS**



* $P < 0.05$ vs Pilocarpina

DISCUSION

Los resultados del presente estudio permiten apoyar la hipótesis de que el sistema colinérgico de POA-AHA participa de manera asimétrica en la regulación de los mecanismos neuroendócrinos que culminan con la ovulación y que su participación varía durante el ciclo estral.

La estimulación o el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA, mediante el implante unilateral de pilocarpina o atropina interrumpieron la ovulación. En ambos casos los efectos dependieron tanto del día del ciclo en que se trató a los animales, como del lado afectado.

Al igual que lo observado en los animales con implante de atropina, el bloqueo de la ovulación provocado por el implante unilateral de pilocarpina es el resultado de la alteración de la liberación fásica de la GnRH que ocurre en el día del proestro, ya que su reemplazo restableció la ovulación de la mayoría de los animales implantados (Cuadro 1).

A partir de estos resultados, podemos sugerir que la región de POA-AHA regula de manera asimétrica y lateralizada la secreción "fásica" de la GnRH. Esta asimetría funcional de POA-AHA podría ser resultado de diferencias anatómicas entre el lado izquierdo y derecho de POA-AHA.

La comparación de los resultados de estimular o bloquear los receptores muscarínicos del sistema colinérgico durante el ciclo estral permiten sugerir que en el día del

estros este sistema del lado derecho de POA-AHA tendría un papel estimulador de los eventos que culminan con la liberación fásica de la GnRH en el día del proestro, mientras que del lado izquierdo sería inhibitorio.

Al parecer para que ocurra la ovulación es fundamental mantener el tono colinérgico de POA-AHA durante el diestro 1. Durante los días del diestro 2 y proestro el sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA tendría un efecto inhibitorio sobre la ovulación.

El hecho de que en el día del estro la actividad de la colino-acetil transferasa (CAT) del lado derecho de POA-AHA sea mayor que en el izquierdo (82), implica que existe mayor liberación de acetilcolina que desencadena los eventos que culminan con la ovulación. Esta interpretación es apoyada por el hecho de que el implante de atropina del mismo lado bloquea la ovulación (16), lo que no se observa con el implante de pilocarpina.

Existen evidencias que indican que la concentración de esta enzima en el área preóptica se modifica por efecto de los estrógenos y el tiempo de exposición a los mismos (61). Las diferencias de la actividad de la CAT, y su dependencia de los estrógenos, podrían explicar los resultados de falta de ovulación al estímulo por estrógenos en la mayoría de los animales con implante de atropina o pilocarpina (presente estudio) en el lado derecho de POA-AHA. Estos resultados permiten sugerir que para que los estrógenos ejerzan su papel estimulante de la secreción de las gonadotropinas, es

imprescindible el funcionamiento normal del sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA, lo que indica que dicha respuesta es asimétrica (Figura 6).

Ya que en los somas de las neuronas GnRHérgicas de la rata no existen receptores nucleares a estrógenos (81), es posible pensar que los estrógenos actúen sobre la neurona colinérgica (5, 6, 26, 35, 88).

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, es posible suponer que aún cuando existan estrógenos suficientes como para disparar la secreción preovulatoria de GnRH, es imprescindible que el sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA no se modifique en los días previos al proestro para que se cierre el circuito que regula de manera estimulante la secreción preovulatoria de GnRH y de LH (15, 16).

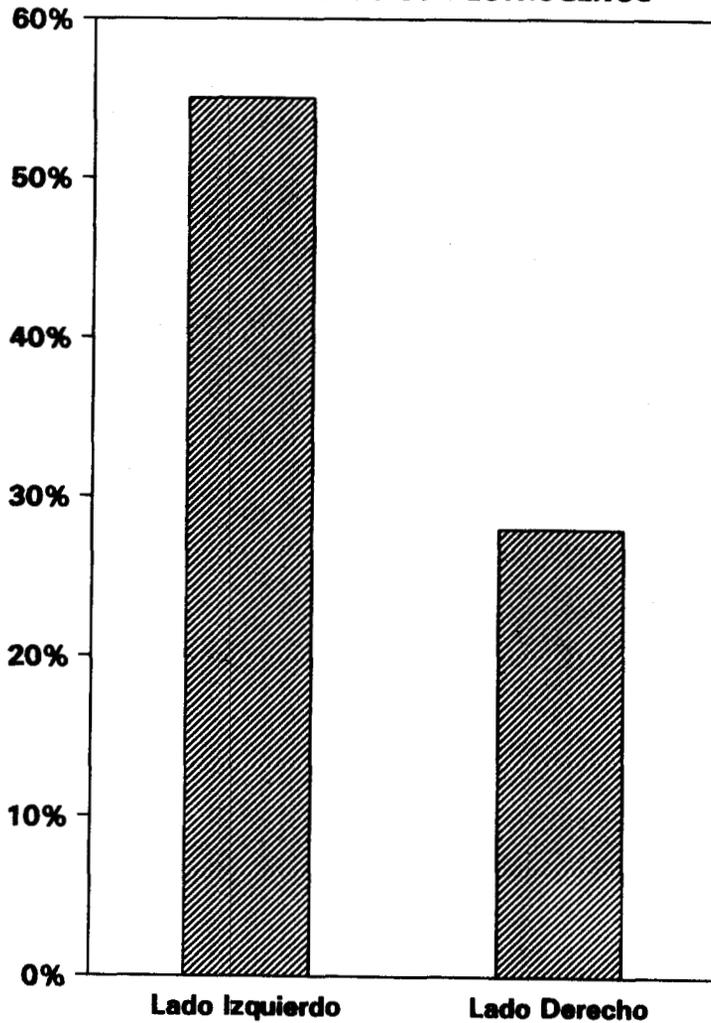
Es posible que la respuesta asimétrica a dicho estímulo se deba a diferencias en la cantidad de receptores a estrógenos en las neuronas de un lado y otro de POA-AHA.

Los resultados de este estudio son diferentes a los observados en animales con lesión del área hipotalámica anterior, en donde el reemplazo hormonal con benzoato de estradiol restableció la ovulación en los animales con lesión en el lado derecho y no en aquellos con lesión de lado izquierdo. Una posible explicación para esta diferencia es que la lesión destruye irreversiblemente los somas neuronales y fibras que llegan o pasan por la zona, mientras que en este modelo sólo se afectan los receptores, otra

diferencia es el tiempo de evolución entre los tratamientos y confirmación de la ovulación (92 horas este estudio y 20 a 35 días en el modelo de lesiones).

El aumento en la tasa de animales con útero distendido, en aquellos que recibieron un implante de pilocarpina y tratados con benzoato de estradiol en la tarde del diestro 2, puede deberse a la falta oportuna de la secreción de progesterona por el ovario (33). Este hecho podría indicar que para su liberación, en la tarde del diestro 2, se requiere del "apagado" del sistema colinérgico de POA-AHA y el arribo de la señal al ovario por vía neural (29).

**FIG. 6 PROPORCION DE ANIMALES OVULANTES
CON IMPLANTE UNILATERAL DE PILOCARPINA,
TRATADOS CON ESTROGENOS**



CONCLUSIONES

Los resultados de la estimulación o el bloqueo unilateral de los receptores muscarínicos indican que el sistema colinérgico regula de manera diferente (estimulador o inhibidor) y lateralizados los eventos que culminan con la liberación fásica de GnRH y en consecuencia de la ovulación y varía según el día del ciclo estral.

Para que los estrógenos ejerzan su papel estimulante sobre la secreción preovulatoria de la LH es imprescindible que el sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA no se modifique en los días previos al estro.

Los mecanismos que regulan la acción estimulante de los estrógenos sobre la secreción preovulatoria de las gonadotropinas que culminan con la ovulación, presentan asimetría.

El sistema colinérgico de POA-AHA participa en los mecanismos neuroendócrinos de la ovulación y varía de manera asimétrica.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1.- ADVIS JP, AHMED CE, OJEDA SR. (1989). Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Res Bull* 22: 605-610
- 2.- AVISSAR S, EGOZI Y, SOKOLOVSKY M. (1981). Studies on muscarinic receptors in mouse and rat hypothalamus: a comparison of sex and cyclical differences. *Neuroendocrinology* 32: 295-302
- 3.- AVISSAR S, EGOZI Y, SOKOLOVSKY M. (1981). Biochemical characterization and sex dimorphism of muscarinic receptors in rat adenohypophysis. *Neuroendocrinology* 32: 203-309
- 4.- BAKALKIN GY, TSIBEZOV VV, SJUTKIN EA, VESELOVA SP, NOVILOV ID, KRIVOSHEEV OG. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res* 296: 361-364
- 5.- BARRACLOUGH CA, WISE PM (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrine Rev* 3: 91-119
- 6.- BARRACLOUGH CA. (1983). The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphol Hung* 31: 101-106
- 7.- BARRACLOUGH CA, WISE PM, SELMANOFF MK. (1984). A role for hypothalamic catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Recent Prog Res* 40: 487-529
- 8.- BLAKE CA. (1974). Parallelism and divergence in luteinizing hormone and follicle stimulating hormone release in nicotine-treated rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 145: 716-720
- 9.- CUELLO AC, SOFRONIEW MV. (1984). Uptake and release of tritium-labeled dopamine by the median eminence: Evidence for presynaptic dopaminergic receptors and for dopaminergic feedback inhibition. *Trends NeuroSci* (Pers. Ed) 7: 74-78
- 10.- BLAKE CA, SCARAMUZZI RJ, NORMAN RL, KANEMATSU S, SAWYER CH. (1972). Nicotine delays the ovulatory surge of luteinizing hormone in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 141: 1014
- 11.- BURDEN H. (1978). Ovarian Innervation. En: *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology*. Editor RE Jones Nueva York. Plenum Press pp. 615-638
- 12.- COOK B. (1987). Endocrine asymetry (Commentary). *J Endocrinol* 113: 331-332

- 13.- **CRAMER OM, BARRACLOUGH CHA.** (1978). The actions of serotonin, norepinephrine, and epinephrine on hypothalamic processes leading to adenohipophyseal luteining hormone release. *Endocrinology* 103: 694-703
- 14.- **CROWLEY WR, KALRA SP.** (1989). Regulation of preovulatory luteinizing hormone secretion by ovarian hormone-monoamine- neuropeptide interactions in the rat. En: **Neural Control of Reproductive Function.** Editores JM Lakoski, JR Pérez-Polo, DK Rassin, Alan R Liss. Inc., Nueva York. pp. 79-93
- 15.- **CRUZ ME.** (1992). Asimetría hipotalámica en los mecanismos que regulan la función del ovario. Estudio experimental en la rata adulta. Tesis de Doctorado, UACPyP, UNAM., México.
- 16.- **CRUZ ME, CASTRO J, DOMINGUEZ R.** (1992). A comparative analysis of the neuroendocrine mechanisms regulating ovulation, affected by a unilateral implant of atropine in the preoptic-anterior hypothalamic area, in intact and hemiovariectomized adult rats. *J Endocrinol* 133: 205-210
- 17.- **CRUZ ME, CHAVEZ R, DOMINGUEZ R.** (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev Invest Clin* 38: 167-171
- 18.- **CRUZ ME, CHAVEZ R, ROSAS P, LUJAMBIO VM, MORAN JL, DOMINGUEZ R.** (1990). Diurnal changes in hypothalamic acetylcholinesterase activity during the oestrus cycle of the rat. *Med Sci Res* 18: 137-138
- 19.- **CRUZ ME, JARAMILLO LP, DOMINGUEZ R.** (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus in the cyclic rat. *J Endocrinol* 123: 437-439
- 20.- **CRUZ ME, MORAN JL, JARAMILLO LP, DOMINGUEZ R.** (1990). Differential effects of a unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rat. *J Endocrinol* 124: 37-41
- 21.- **CRUZ ME, MORAN JL, JARAMILLO LP, DOMINGUEZ R.** (1990). Differences in spontaneous ovulation in rats with unilateral lesion of the hypothalamus. *Brain Res Bull* 24 (6): 739-742
- 22.- **CHAVEZ R, CARRIZOSA L, DOMINGUEZ R.** (1991). Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. *Med Sci Res* 19: 41-42

- 23.- **CHAVEZ R, CRUZ ME, DOMINGUEZ R.** (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: Effect of ipsi- and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113: 397-401
- 24.- **CHAVEZ R, SANCHEZ S, ULLOA-AGUIRRE A, DOMINGUEZ R.** (1989). Effects on estrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrous cycle in the rat. *J Endocrinol* 123: 441
- 25.- **CHAPPEL SC, ULLOA-AGUIRRE A, COUTIFARIS CE.** (1983). Biosynthesis and secretion of follicle stimulating hormone. *Endocrine Society* 4: 179-181
- 26.- **CHARLI JL, PONCE G, JOSEPH-BRAVO P.** (1991). Los mecanismos de la regulación de la actividad de las neuronas LH-RHérgicas hipotalámicas. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Roberto Domínguez Casala (Ed). Ed. Porrúa, México. pp 58-81
- 27.- **DIAMOND MC.** (1987). Sex differences in the rat forebrain. *Brain Res Rev* 12: 235-240
- 28.- **DOMINGUEZ R, CRUZ ME.** (1989). Different effects of unilateral lesions of the hypothalamus on the spontaneous ovulation in intact and hemiovariectomized adult rat. XVI Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Zacatecas, Mex., p.p. 399-422
- 29.- **DOMINGUEZ R, CRUZ ME, CHAVEZ R.** (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: *Growth factors and the ovary*. Ed. Anne N. Hirshfield. Plenum Press. New York. 39: 321-325
- 30.- **DOMINGUEZ R, CHAVEZ R, CRUZ ME.** (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Editor R. Domínguez. UNAM-PORRUA, México. pp. 161-192
- 31.- **DOMINGUEZ R, RIBONI L, ZIPITRIA D, REVILLA R.** (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat? *J Endocrinol* 95: 175-180
- 32.- **EVERETT JW, SAWYER CE, MARKER JE.** (1949). A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cycle rat. *Endocrinology* 44: 234-250

- 33.- **FEDER HH.** (1981). Estrous cyclicity in mammals. En: **Neuroendocrinology of Reproduction, Physiology and Behavior.** Editor N.T. Adler, Plenum Press, Nueva York, p.p. 279-348
- 34.- **FINK G, STANLEY HF, WATTS AG.** (1983). Central Nervous Control of Sex and Gonadotropin Release Peptide and Nonpeptide Transmitter Interactions. In: **Brain Peptides.** Krieger DT, Brownstein MJ, Martin JB. (Eds). John Wiley & Sons, Inc. USA. pp. 414-435
- 35.- **FINK G.** (1988). Gonadotropin secretion and its control. 32: 1349-1377. En: **The Physiology of Reproduction.** E. Knobil, J. Neil (Eds). Raven Press, LTD. New York.
- 36.- **FIORINDO RP, MARTINI L.** (1975). Evidence for a cholinergic component in the neuroendocrine control of luteinizing hormone (LH) secretion. **Neuroendocrinology** 18: 322-332
- 37.- **FLORES A, LEDESMA L, ULLOA-AGUIRRE A, DOMINGUEZ R.** (1990). Acute changes in serum levels of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrous cycle of the rat. **Med Sci Res** 18: 819-821
- 38.- **FRANKEL AI, CHAPMAN JC, COOK B.** (1989). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. **J Endocrinol** 122: 485-488
- 39.- **FREEMAN ME.** (1988). The ovarian cycle of the rat. In: **The Physiology of Reproduction.** Edited by E Knobil, J Neill. Raven Press, Ltd., New York. pp.1893-1928
- 40.- **FUKUDA M, YAMANOUCHI K, MAKAWO Y, FUKUDA M, ARAI Y.** (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. **Neurosci Let** 51: 365-370
- 41.- **GERENDAI I.** (1980). Unilateral complete isolation of the medial basal hypothalamus interferes with the compensatory ovarian growth following unilateral ovariectomy. **Neuroendocr Let** 2: 39
- 42.- **GERENDAI I.** (1986). Laterality in the Neuroendocrine Systems. En: **Duality and unity of the brain. Unified functioning and specialisation of the hemispheres.** Editor Ottoson D. Proceedings of an International Symposium held at The Wenner Gren Center, Stockholm pp. 17-28

- 43.- GERENDAI I, CLEMENTI G, PRATO A, SCAPAGNINI V. (1983). Unilateral vagotomy induces hyperprolactinaemia in male rats. *Neuroendocrinology Lett* 5: 41-45
- 44.- GERENDAI I, DRAGO F, CONTINELLA G, SCAPAGNINI V. (1984). Effects of mastectomy and vagotomy on grooming behavior of the rat: Possible involvement of prolactin. *Physiol Behav* 33:1-4
- 45.- GERENDAI I, HALASZ B. (1981). Participation of a pure neuronal mechanism in the control of gonadal functions. *Andrologia* 13: 275-282
- 46.- GERENDAI I, ROTSZTEJN W, MARCHETTI B, SCAPAGNINI V. (1979). LH-RH content changes in the mediobasal hypothalamus ter unilateral ovariectomy. In: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Proceeding of Sorono Symposia Vol 19 edited by A Polleri, R MacLeod. New York. Academic Press pp. 97-102
- 47.- GOODMAN HM. (1980). The pituitary gland. In: *Medical Physiology*. Edited by Vernon B. Mouncastle, M.D. The C.V. Mosby Company St. Louis, Missouri. pp. 1468-1494
- 48.- GOODMAN HM. (1980). Reproduction. In: *Medical Physiology*. Edited by Vernon B. Mouncastle, M.D. The C.V. Mosby Company St. Louis, Missouri. pp. 1602-1637
- 49.- GOODMAN A, GOODMAN LS, RALL TW, MURAD F. (1986). *Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. 7a. ed. Ed. Médica Panamericana. México. pp. 112-120
- 50.- HERMAN V, KALK WJ, de MOOR NG, LEVIN J. (1981). Serum prolactin after chest wall surgery: elevated levels after mastectomy. *J Clin Endocrinol Metab* 52: 148-151
- 51.- HOFFMAN GE, PHELPS CJ, KHACHATURIAN H, SLADEK JR. (1986). Neuroendocrine projections to the median eminence. In: *Morphology of Hypothalamus and Its Connections*. Ganten D, Pfaff D. Current Topics in Neuroendocrinology 7: 161-196
- 52.- JUSTO G, MOTTA M, MARTINI L. (1975). In vivo effects of acetylcholine on LH secretion. *Experientia* 31: 598-600
- 53.- KISS J, HALASZ B. (1985). Demonstration of serotonergic axons terminating on luteinizing hormone-releasing hormone neurons in the preoptic area of the rat using a combination of immunocytochemistry and high resolution autoradiography. *Neuroscience* 14:69-78

- 54.- **KONIG JFR, KLIPPEL RA.** (1963). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p. 162
- 55.- **KOSTLOW SH, RACAGNI G, COSTA E.** (1974). Estrogen receptors in the hypothalamus and hypophysis in relation to reproduction. *Neuroendocrinology* 13: 1123
- 56.- **KREY LC, SILVERMAN AJ.** (1978). The luteinizing hormone releasing-hormone (LHRH) neuronal networks of the guinea pig brain. II. The regulation of gonadotropin secretion and the origin of terminals in the median eminence. *Brain Res* 157:247-255
- 57.- **KRISCH B.** (1986). Ultrastructure of regulatory neuroendocrine neurons and functionally related structures. In: *Morphology of Hypothalamus and Its Connections*. Ganten D, Pfaff D. (Eds). Current Topics in Neuroendocrinology 7: 251-290
- 58.- **LAPCHAK PA, ARAUJO DM, QUIRION R, BEAUDET A.** (1990). Chronic estradiol treatment alters central cholinergic function in the female rat: effect on choline acetyltransferase activity, acetylcholine content, and nicotine autoreceptor function. *Brain Res* 525: 249-255
- 59.- **LIBERTUN C, McCANN SM.** (1973). Blockade of the release of gonadotropins and prolactin by subcutaneous or intraventricular injection of atropine in male and female rats. *Endocrinology* 92:1214
- 60.- **LIBERTUN C, McCANN SM.** (1974). Further evidence for cholinergic control of gonadotropin and prolactin secretion. *Proc Soc Exp Biol Med* 147: 498
- 61.- **LUINE V, PARK D, JOH T, REIS D, McEWEN B.** (1980). Androgen affects cholinergic enzymes in syrin geal motor neurons and muscle. *Brain Res* 191: 273-277
- 62.- **MIZUNUMA H, De PALATIS LR, McCann SM.** (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37: 291-296
- 63.- **MONTI JM, SALA MA, OTEGUI JJ, BENEDETTI WI, GRIFO E.** (1970). Inhibition of ovarian hypertrophy by implants of atropine in the hypothalamus. *Experientia* 15: 1263-1264

- 64.- **MORAN JL.** (1991). Estudio de los efectos de la lesión unilateral de las áreas preóptica e hipotalámica anterior sobre los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del ovario de la rata adulta. Tesis de Maestría, IBSH, UNAM., México.
- 65.- **MUKHERJEE A, SNYDER G, McCANN SM.** (1980). Characterization of muscarinic cholinergic receptors on intact rat anterior pituitary cells. *Life Science* 27: 475-477
- 66.- **MULLER EE, NISTICO G.** (1989). Chemical Messengers in the Brain. In: *Brain Messengers and the Pituitary*. Academic Press, Inc. USA. pp. 1-14
- 67.- **MULLER EE, NISTICO G.** (1989). Neurotransmitters, Neuromodulators and Neuromediators. In: *Brain Messengers and the Pituitary*. Academic Press, Inc. USA. pp. 112-128
- 68.- **MUTH EA, CROWLEY WR, JACOBOWITZ DM.** (1980). Effect of gonadal hormones on luteinizing hormone in plasma and on choline acetyltransferase activity and acetylcholine levels in discrete nuclei of the rat brain. *Neuroendocrinology* 30: 329-336
- 69.- **NANCE DM, BHARGAVA M, MYATT GA.** (1984). Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Res Bull* 8: 299-302
- 70.- **NANCE DM, MOGER WE.** (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH following hemicastration. *Brain Res Bull* 8: 299-302
- 71.- **NANCE DM, WHITE JP, MOGER WE.** (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Res Bull* 10: 353
- 72.- **MORDEEN EJ, YAHR P.** (1982). Hemispheric asymmetries in the behavioral and hormonal effects of sexually differentiating mammalian brain. *Science* 218: 391-393
- 73.- **PALKOVITS M, LERANTH C, LEW JY, WILLIAMS T.** (1982). Simultaneous characterization of pre- and postsynaptic neuron contact sites in brain. *Proc Natl Acad Sci* 79: 2705-2708
- 74.- **PALKOVITS M.** (1986). Afferents onto neuroendocrine cells. In: *Morphology of Hypothalamus and Its Connections*. Ganten d, Pfaff D (Eds). Springer-Verlag. Current Topics in Neuroendocrinology 7: 197-222

- 75.- RAO ChV, EDGERTON LA. (1984). Dissimilarity of corpora lutea within some ovaries or those from right and left ovaries of the pigs during the estrous cycle. *J Reprod Fert* 70: 61-66
- 76.- ROBINSON TE, BECKER JB, CAMP DM, MANSOUR A. (1985). Variations in the pattern of behavioral and brain asymmetries due to sex differences. En: *Cerebral Lateralization in Nonhuman Species*. Editor Glick SD. Academic Press, Inc. Orlando, Florida pp. 185-231
- 77.- RODRIGUEZ-SIERRA JF, MORLEY BJ. (1985). Evidence that cell bodies in the arcuate nucleus of the hypothalamus are not cholinergic. *Neuroendocrinology* 41: 427-431
- 78.- ROSIE R, THOMSON E, FINK G. (1990). Oestrogen positive feedback stimulates the synthesis of LHRH mRNA in neurones of the rostral diencephalon of the rat. *J Endocrinol* 124: 285-289
- 79.- RUIZ de GALARRETA CM, FANJUL LF, MEITES J. (1981). Influence of cholinergic and anticholinergic drugs on plasma luteinizing hormone and prolactin levels in male and female rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 168: 185-195
- 80.- RUIZ de GALARRETA CM, FANJUL LF, HANSON E, MEITES J. (1981). Effects of cholinergic and anti-cholinergic drugs on restraint-induced prolactin release. *Med Sci Biochem* 9: 1152
- 81.- SANCHEZ MA, LOPEZ JC, HUERTO L, CRUZ ME, TAPIA R, DOMINGUEZ R. (1991). Asymmetrical variations of the cholinergic system of the preoptic-hypothalamic anterior area (PO-HAA) during the estrous cycle of the rat. 21st Annual Meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans, Louisiana. Abst 486 (4): 1229
- 82.- SANCHEZ MA, LOPEZ JC, CRUZ ME, TAPIA R, DOMINGUEZ R. (1993). Asymmetrical changes in the choline-acetyltransferase activity in the preoptic-anterior hypothalamic area during oestrous cycle of the rat. Enviado a publicación.
- 83.- SHIVERS BD, HARLAN RE, MORELL JI, PFAFF DW. (1983). Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LH-RH-immunoreactive neurones. *Nature* 304: 345-347
- 84.- SHIVERS BD, HARLAN RE, MORELL JI, PFAFF DW. (1983). Immunocytochemical localization of luteinizing hormone-releasing hormone in male and female rat brains. *Neuroendocrinology* 36:1-12

- 85.- SILVERMAN A. (1988). The Gonadotropin-Releasing Hormone (GnRH) Neuronal Systems: Immunocytochemistry. En: **The Physiology of Reproduction**. Capítulo 29. Ed. E Knobil, J Neill, et al. Raven Press, Ltd. Nueva York. pp.
- 86.- SIMONOVIC I, MOTTA M, MARTINI L. (1974). Acetylcholine and the release of the follicle-stimulating hormone-releasing factor. **Endocrinology** 95: 1373-1379
- 87.- VALENCIA RM, JOHNSTON CA, CHING M, NEGRO-VILLAR A. (1987). Evidence for a negative ultrashort loop feedback mechanism operating on the luteinizing hormone-releasing hormone neuronal system. **Endocrinology** 121: 2256-2259
- 88.- WEINER RI, FINDELL PR, KORDON C. (1988). Role of classic and peptide neuromediators in the neuroendocrine regulation of LH and prolactin. En: **The Physiology of Reproduction**. Editores E Knobil, J Neill. Raven Press, Ltd. Nueva York. pp. 1235-1281
- 89.- WEICK RF, SMITH ER, DOMINGUEZ R, DEARIVAL APS, DAVIDSON JM. (1971). Mechanism of stimulatory feedback effect of estradiol benzoato on the pituitary. **Endocrinology** 88: 293-301

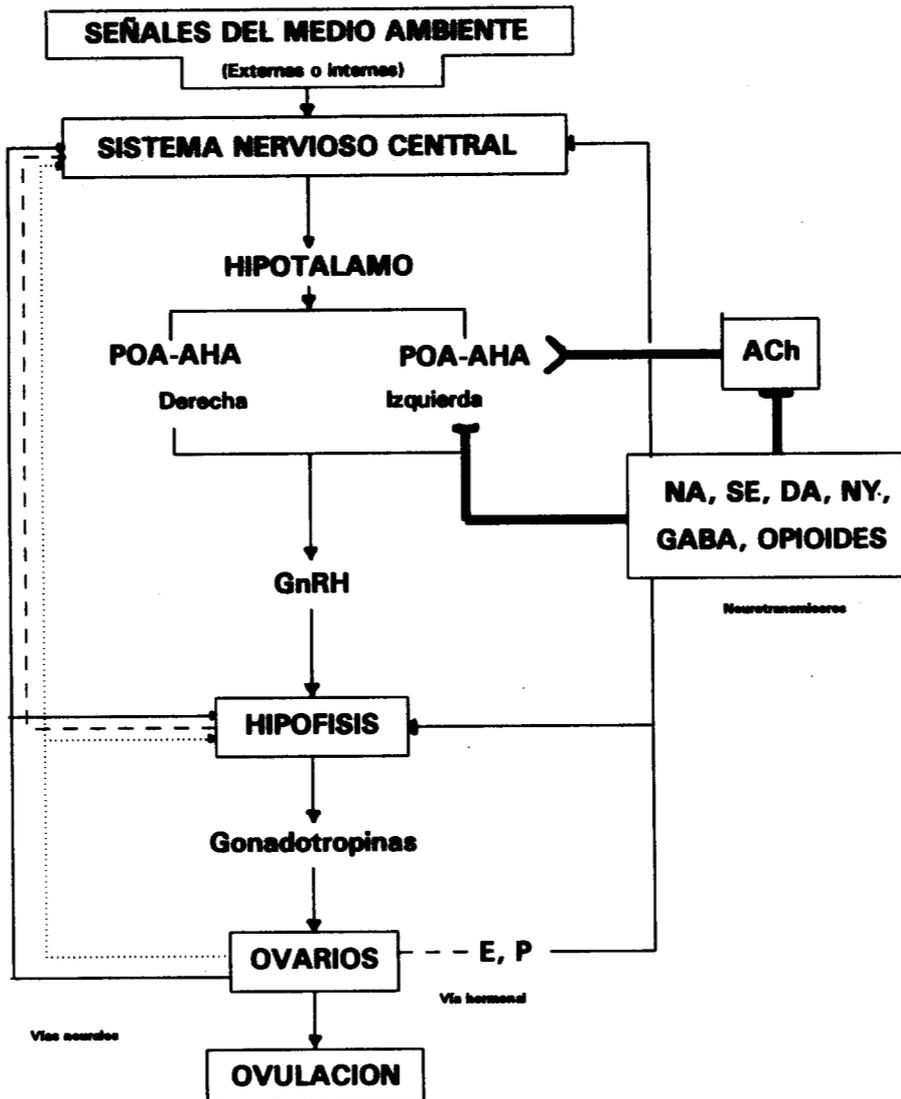
Cuadro 1. Resumen de los Efectos del Implante Unilateral de Pilocarpina y la Respuesta del Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario al Reemplazo Hormonal.

Día del Ciclo	IMPLANTE		REEMPLAZO HORMONAL	
	IZQUIERDO	DERECHO	GnRH	BE
ESTRO	CERO	NORMAL	I-SI	I-SI
DIESTRO 1	↓	CERO	I-SI D-SI	I-↓ D-NO
DIESTRO 2	↓	↓	I-SI D-SI	I-NO D-NO
PROESTRO	NORMAL		D-SI	

I: izquierdo

D: derecho

El modelo de trabajo que se propone para explicar los mecanismos neuroendócrinos que participan en la regulación de la ovulación de la rata adulta es el siguiente:





ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES ZARAGOZA
DIRECCION

RECONOCIMIENTO

A:

M. en IBSH. MARIA ESTHER CRUZ BELTRAN

BIOL. JOSE LUIS MORAN PERALES

BIOL. EVANGELINA LOPEZ NIETO

PAS. BIOL. ALEJANDRO DANIEL DOMINGUEZ GONZALEZ

M. en IBB. MARCO ANTONIO SANCHEZ RAMOS

**POR LA PRESENTACION DEL TRABAJO: ESTUDIO DE LOS
MECANISMOS NEUROENDORINOS EN LA PARTICIPACION
ASIMETRICA DEL SISTEMA COLINERGICO DE LAS AREAS
PREOPTICA Y ANTERIOR DEL HIPOTALAMO, SOBRE LA
FUNCION DEL OVARIO.**

**QUE FORMO PARTE DE LA EXPOSICION DE CARTELES
ORGANIZADA EN LA:**

"SEMANA DE LA INVESTIGACION 1991"

**EFECTUADA EN LAS INSTALACIONES DE LA DEPENDENCIA EN
EL MES DE JUNIO DE 1991.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
México, D.F., a 6 de junio de 1991.

EL DIRECTOR


DR. BENNY WEISS STEIDER

AMA

SOCIETY FOR THE STUDY OF REPRODUCTION

Supplement Number 1 / Biology of Reproduction / Volume 46



SSR

JULY 12-15, 1992 • 25th ANNUAL MEETING
NORTH CAROLINA STATE UNIVERSITY
RALEIGH, NORTH CAROLINA

XXXV



CONGRESO NACIONAL
de CIENCIAS FISIOLÓGICAS
PROGRAMA GENERAL Y RESUMENES



Universidad Veracruzana

Xalapa, Ver., Julio 27 - Agosto 1
Veracruz, Ver., Agosto 2 - 8

9 1

253 BASAL AND AGONIST-INDUCED SECRETION AND CHANGES IN RELEASABLE POOLS OF GnRH, LH AND FSH DURING THE ESTABLISHMENT OF SUCKLING AND INHIBITION OF GONADOTROPIN SECRETION IN THE SOW

L.A.C. Sesti and J.H. Britz
Dept. of Anim. Sci., North Carolina State Univ., Raleigh, NC - 27695-7621

Two experiments evaluated relationships between changes in hypothalamic GnRH, pituitary and serum gonadotropins and ovarian function during the first week postpartum in multiparous sows. In Exp. 1, sows were killed at day 1 (n = 5) or day 7 (n = 5) of lactation. Blood was taken every 6 h from 48 h before until 24 (day 1 sows) or 156 h (day 7 sows) after parturition. Preoptic area (POA), medial basal hypothalamus (MBH), stalk median eminence (SME), anterior pituitary (AP) and ovaries were collected at slaughter. Sows on day 1 had fewer (p < .05) small follicles (< 4 mm diameter), but more (p < .05) medium (4 to 6 mm) and large (> 6 mm) follicles than sows on day 7 (20 ± 2, 6.5 ± 1.1 and 2.5 ± .7 vs 26.3 ± 3, 0 and 0, respectively). Serum LH and FSH decreased (p < .04) during 24 to 48 h postpartum and remained low through day 7. GnRH concentrations in POA, MBH and SME and the proportion of residual GnRH released *in vitro* in response to K⁺ did not differ between day 1 and 7. Weights of AP were not different, but pituitary concentrations (ng/mg) of GnRH, LH and FSH increased (p < .05) from day 1 to 7 (LH: 0.27 ± .03 vs 0.44 ± .01; FSH: 2.6 ± .07 vs 7.8 ± .8, respectively). In Exp. 2, sows were administered (i.v.) either saline (n = 5; control) or the neuroexcitatory amino acid n-methyl-DL-aspartic acid (NMA; 10 mg/kg BW; n = 5) to estimate releasable pools of GnRH. NMA was given at day 1 and 7 of lactation and blood was taken every 10 min for 2 h before and after treatment. Sows given saline at 0 h received a GnRH bolus (100 µg; i.v.) 2 h later to estimate releasable pools of gonadotropins and were bled for 2 additional hours. To estimate releasable pools of GnRH, LH and FSH responses were quantified by area under the curve (ng·min⁻¹·min). Basal LH (ng/ml) was greater (p < .05) at day 1 (1.63 ± .04) than 7 (1.22 ± .03), but basal FSH secretion did not differ between days. The LH response to NMA was similar at days 1 and 7 (96.5 ± 5.7 vs 99.9 ± 10.4) whereas NMA-induced FSH release was greater (p < .05) at day 7 than 1 (2897 ± 559 vs 1821 ± 245). Similarly, GnRH-induced LH secretion (ng/ml) was not different between groups (3.13 ± .2 vs 3.1 ± .1 for days 1 and 7), but more (p < .05) FSH was released at day 7 (92.2 ± 3.8) than 1 (56.4 ± 5.6). These results indicate that, in multiparous sows: 1) the inhibitory effect of suckling on GnRH/LH secretion is established within 24-48 h postpartum, 2) basal LH decreases from day 1 to 7 and readily-releasable pools of LH remain constant, 3) basal FSH did not change from day 1 to 7, but readily-releasable pools of FSH increased, and 4) that readily-releasable pools of both GnRH and LH remained constant from day 1 to 7. These data are consistent with the hypothesis that suckling decreases GnRH pulse frequency, thereby altering the ratios of basal concentrations and releasable pools of LH and FSH.

255 BLOCKADE OF SPONTANEOUS OVULATION INDUCED BY A UNILATERAL IMPLANT OF Pilocarpine IN THE PREOPTIC-ANTERIOR HYPOTHALAMIC AREA (POA-AHA) OF THE ADULT RAT. López, E., Cruz, M.E. and Domínguez, R. Biology of Reproduction Research Unit. ENEP-Zaragoza - AP 9-020, CP 15000, México DF.

It was previously shown that the unilateral blockade of the POA-AHA cholinergic system provoked by an implant of atropine, blocked ovulation; the effects of atropine depend on the side of POA-AHA affected and the day of the estrous cycle (J.Endocrinol.123:437-9, 1989). To follow with the analysis of the participation of the cholinergic system in the regulation of ovulation, the implant of pilocarpine in the right or left side of the POA-AHA at 13:00h on each day of the estrous cycle, on spontaneous ovulation, were studied. For comparison, a group of the rats were implanted with cholesterol. The stimulation of the hypothalamic cholinergic system reduced significantly the ovulation rate (27/61 vs 27/29 P<0.01). No differences in the blockade of the ovulation by the pilocarpine implant in the right or left side of POA-AHA were observed (8/24 vs 19/32). The effectiveness of cholinergic stimulation to modify ovulation varied with the day of the estrous cycle. The results of the ovulation rate observed in rats treated on each day of the estrous cycle were: Control 27/29; Oestrus right 4/4, left 0/5*; Dioestrus right 0/6, left 4/10; Dioestrus right 3/8, left 5/10; Prooestrus right 1/6*, left 10/12 (*P<0.05 vs control). No differences in the number of ova shed in those animals how ovulated were observed, neither in the rate of vaginal cornification nor in ballooned uterus. Presents results show that the unilateral stimulation of the POA-AHA cholinergic system affects spontaneous ovulation in a similar way than its blockade. The efficiency of pilocarpine implants during estrous cycle seems to be a mirror than that obtained when the atropine was implanted in the same area.

Supported by DGAPA and PUIS-UNAM and CONACyT.

254 EFFECTS OF LESION OF THE DORSAL RAPHE NUCLEUS (DRN) ON THE OVULATORY RESPONSE IN PREPUBERTAL RATS. M.E. Ayala*, P. Rosas* and R. Domínguez. Biology of Reproduction Research Unit. ENEP Zaragoza UNAM AP 9-020, México DF, México.

The direct injection of 5,7-dihydroxytryptamine to the DRN on immature rats blocked PMSG induced ovulation (Endocrinology 103: 1067; 1078), meanwhile the serum levels of LH decreased in adult rats with an electrolytic lesion of the DRN made the first day of diestrus, without affecting ovulation (Neuroendocrinology 46: 252; 1987). To study if puberty and first spontaneous ovulation depend on the functional integrity of serotonergic inputs from the DRN to the hypothalamus, the effects of electrolytic lesion in right side (RDRN), left side (LDRN) of the DRN or affecting both sides of DRN (BDRN) in 30 day old rats, outspsted the first day of vaginal estrus, were analyzed. Table 1 shows the results obtained.

	CONTROL	RDRN	LDRN	BDRN
Age of				
Vaginal opening	42.1±0.4	44.0±0.5*	43.8±0.5	41.6±0.9
First estrus	42.7±0.5	46.6±0.8*	44.9±0.6*	42.6±0.8
Ovulation rate	12/15	6/8	7/9	0/8*
Number of ova shed				
Both ovaries	7.7±0.4	10.1±1.0*	10.3±0.6	0
Left ovary	4.2±0.4	4.6±0.5	6.4±0.3*	0
Right ovary	4.5±0.4	6.5±0.5*	3.9±0.7	0
Ovarian weight	30.0±1.9	28.7±2.6	32.4±1.9	17.9±0.9*

*p<0.05 vs control group.

The injection of 10 µl of hCG to rats with bilateral lesion of DRN restored ovulation (3/5) and weight of the ovaries (32.0±2.5). Present results suggest that serotonergic hypothalamus input from the DRN exerts a facilitatory influence in the control of LH release during puberty for ovulation. The response of the ipsilateral ovary on the unilateral lesion shows that the existence of the neural connection between the DRN and the ovaries.

Supported by DGAPA, PUIS-UNAM and CONACyT

256 EFFECTS OF SUPERIOR OVARIAN NERVE (SON) SECTION ON EACH DAY OF ESTROUS CYCLE ON THE COMPENSATORY OVARIAN HYPERTROPHY (COH) IN THE HEMIOVARICTOMIZED ADUL RAT. Chávez, R. Biology of Reproduction Research Unit ENEP-Zaragoza, UNAM AP 9-020, México, D.F. 15000

Removal of one ovary is followed by hypertrophy of the remaining ovary, and a possible role of a neural noradrenergic mechanism involved in the development of COH has been postulated. Since SON is considered the principal pathway of noradrenergic innervation in the rat, the participation of this nerve on the regulation of COH was studied.

Adult female rats of CIIZ-V strain, hemiovariectomized of the left (OvxL) or right (OvxR) ovary on each day of the estrous cycle were used. In other groups, the section of the SON of the *in situ* ovary was performed at the same moment. Six or 20 days after treatment the rats were sacrificed. The body and ovarian weight were recorded at the time of the operation and autopsy. The results are expressed in the next table as percent.

	SONO			
	E	D1	D2	P
6 days				
OvxL	1.2	9.3	39.5	53.0*
OvxL+SON section	33.4*	27.2	10.0	23.7
OvxR	35.3	9.2	24.1	20.7
OvxR+SON section	52.0*	38.7	6.8	20.7
20 days				
OvxL	31.8	37.2	26.5	27.8
OvxL+SON section	33.4	35.4	57.9**	105.9**
OvxR	25.5	20.5	19.2	17.7
OvxR+SON section	25.5	51.6*	46.7**	65.9**

*P<0.05 vs. other days of cycle, U-Mann Whitney test

**P<0.05 vs. Ovx same group, U-Mann Whitney test

Our results show that the COH depended of the day of the cycle when the ovary was removed, the ovary extirpated, the postoperative time and that the information that arrives to the ovary by the SON have a modulatory pathway on this event along the estrous cycle.

Supported by DGAPA, PUIS-UNAM and CONACyT.

153833

C102

EFFECTOS DE LA ESTIMULACION UNILATERAL DEL SISTEMA COLINERGICO DE POA-AHA SOBRE LA OVULACION DE LA RATA ADULTA. M. Esther Cruz, Evangelina López y Roberto Domínguez. VIBR- Lab. Neuroendocrinología. ENEP Zaragoza, UMM.

Con el fin de estudiar si el sistema colinérgico del área preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) regula en forma asimétrica la ovulación de la rata adulta, se implantó pilocarpina en el lado derecho o en el izquierdo de esta área, a las 13:00 h de uno de los días del ciclo estral. Como grupo testigo se utilizaron ratas implantadas con colesterol.

El implante unilateral de colesterol no modificó el número de animales ovulantes (27/29 vs 22/22). La estimulación del sistema colinérgico de POA-AHA redujo la proporción de animales ovulantes (27/63 vs 27/29, P<0.01). No se observaron diferencias en el número de animales ovulantes implantados con pilocarpina del lado derecho o del izquierdo de POA-AHA (8/26 vs 19/37). La estimulación del sistema colinérgico modificó la ovulación según el día del ciclo y del lado de POA-AHA estudiado (Tabla 1).

Tabla 1. Número de animales que ovularon respecto al total de ratas implantadas con pilocarpina o atropina* en el lado derecho o izquierdo de POA-AHA en uno de los días del ciclo estral.

	ESTRO	DIESTRO 1	DIESTRO 2	PROESTRO
Pilocarpina:				
POA-AHA izquierda	0/5	4/10	5/10	10/12
POA-AHA derecha	4/4**	0/6	3/8	1/6**
Atropina:				
POA-AHA izquierda	10/10	1/13	1/8	6/7
POA-AHA derecha	0/15**	3/11	8/11**	6/7

* (J. Endocrinol. 123: 43-9, 1989)
** P<0.01 comparado con POA-AHA izquierda

Estos resultados nos muestran que la estimulación del sistema colinérgico de POA-AHA afecta la ovulación de la rata dependiendo del lado de POA-AHA y del día del ciclo estral. La comparación de los resultados obtenidos por el implante de atropina y pilocarpina nos permiten sugerir que durante los días de diestro, mantener el tono colinérgico de POA-AHA es fundamental para que ocurra la ovulación, ya que cualquier desplazamiento en más o en menos la inhibe. En los días del estró y el proestro, la participación del sistema colinérgico derecho o izquierdo de POA-AHA parece ser en espejo.

Ayudado por CONACYT, DGAPA y PUIS

C104

NEUROFARMACOLOGIA Y FARMACODEPENDENCIA DE LA INGESTION ESPONTANEA DE ALCOHOL. Susán-Flores, C., Alcaraz M., García-Castella E., Ervin F. R. y Palmer R. E. Instituto de Investigaciones Biológicas, UNAM. Centro de Prietas San Andrés Totoltepec, México D.F. y Universidad de McGill, Montreal, Canadá.

Las drogas depresoras del sistema nervioso central producen a dosis crecientes una secuencia de síntomas consistente en hiperactividad indiscriminada (etapa I), excitabilidad (etapa II) con 3 fases: a) ataxia, b) alucinaciones con conducta estereotipada y c) catatonía; en la etapa III se induce anestesia y en la IV la muerte. Anestésicos como el nometal, a dosis subanestésicas, alcanzan rápidamente la etapa II manteniéndose estables por un tiempo; su acción desaparece siguiendo la secuencia sintomática en orden decreciente. En el mono aislado, cuando se administra alcohol a dosis suficientes para producir la etapa II, se presenta cualquiera de las 3 fases, oscilando la sintomatología indistintamente de una a otra dependiendo de los estímulos externos. Cuando se administra la dosis necesaria para producir la etapa III el mono no responde a ningún estímulo externo. En grupos sociales, el mono verde bebe espontáneamente en cantidades que varían de un sujeto a otro y de una sesión a otra, sin embargo las oscilaciones se mantienen dentro de niveles relativamente constantes, así, aunque la dosis no puede controlarse es posible estimar los efectos de distintas dosis y evaluar la sintomatología de distintas etapas y fases. Las respuestas inducidas se modifican en intensidad y duración por las condiciones sociales y ambientales en que se desarrollan, y en cada sesión se observa una gama de dosis y respuestas que en ningún caso alcanzan el nivel de la etapa III. En la etapa II, las respuestas de las distintas fases están expresadas por cualquiera de los individuos que beben a cierto nivel, y si se considera al grupo como un todo, se produce principalmente la sintomatología de la etapa IIb (conducta bizarra y agresividad) y en menor grado ataxia y catatonía (fases a y b). En conclusión, la ingestión espontánea de alcohol sigue la relación dosis-respuesta de las drogas depresoras del sistema nervioso central y permite el estudio de fenómenos sociales de la farmacodependencia como es el desarrollo de la conducta antisocial.

C103

RESPUESTAS DE LA FRECUENCIA CARDIACA Y PRESION ARTERIAL AL ORTOSTASIS TIENEN ACTIVO EN DIABETICOS, APROXIMADAMENTE AUTONOMICAMENTE Y OBESOS. Rivera A.F., FJ Díaz, López M., ME Cabrera, VC Carredón, L Ramos, MR García, JM Malacara. Inst. de Investigación S/Trabajo, Instituto de Investigaciones Médicas, Universidad de Guanajuato.

Las respuestas de la Frecuencia Cardíaca (FC), Presión Arterial Sistólica (PAS), Diastólica (PAD) y Media (PAM) al ortostasis no activo, son indicadores aceptados de la función autonómica del corazón. Con el objeto de comparar esta respuesta entre 2 grupos de humanos que cursan con disautonomía, se condujo el presente estudio.

MATERIAL Y METODO

Participaron 16 individuos con edades de 35 a 55 años de edad, que pertenecieron a 3 grupos: GPOID (n=6) portadores de Diabetes Mellitus no Insulino Dependientes (DMID), sin manifestaciones clínicas de disautonomía, con más de 5 años de evolución; GPOIC (n=5), entre los corredores de medio y gran fondo, con un VO2 max superior al predicho para una persona activa de su edad y con más de 5 años de práctica ininterrumpida de ejercicio; GPOIIS individuos sedentarios de similar edad (CTRL) y en aparente buen estado de salud. Durante el estudio los participantes permanecieron durante 10 minutos en posición supina, al término de los cuales se les pidió que adoptaran la posición ortostática en 3-5". La FC fue obtenida por EKG en posición V4-V5 modificada y la PA por auscultación. Las derivaciones fueron efectuadas al final del periodo supino (a) y al primer minuto del ortostatismo.

RESULTADOS (Los valores son \bar{x} y \pm SEM. * = P<0.05)

GRUPOS	FCs (lpm)	PASs (mmHg)	PADs (mmHg)	PAMs (mmHg)	ΔFC (lpm)	ΔPAS (mmHg)	ΔPAD (mmHg)	ΔPAM (mmHg)
ID	70±3	130±5	84±4	99±6	6±2	-5±3	-3±2	-4±2
IIC	55±4	111±4	68±2	82±3	13±3	0±2	0±2	-1±2
IIIS	63±6	122±4	82±5	95±4	12±2	-4±3	3±2	0±2

DISCUSION Y COMENTARIOS.

Los resultados muestran cifras menores de FC y PA del Grupo IIC en condiciones de reposo supino, y una respuesta disminuida de la FC en ID a pesar de una caída en la PAD y PAM. Los datos indican que los diabéticos no insulino dependientes presentan evidencia de disautonomía a pesar de no manifestarse clínicamente, por lo que las maniobras ortostáticas son útiles en la detección temprana de disautonomías en individuos con esta Patología Metabólica.

C105

DIFERENCIAS EN LA HIPERTROFIA COMPENSADORA OVARICA EN RATONES DESNUDOS HIPOTIENDICOS et/et Y NORMALES, Y RESPUESTA PONDERAL DEL TIPO A LA CASTRACION Y LA HEMICASTRACION. De Paz, R., Rosas, P. y Domínguez, R. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción E.N.E.P. Zaragoza, U.N.A.M.

Dado que las hembras hipotíndicas et/et presentan retraso en su pubertad, ovarios con menor peso y receptividad a las gonadotropinas que los normales, en el presente trabajo se analizó la respuesta del ovario de ratones adultos hipotíndicos a los mecanismos de regulación compensadora. Al mismo tiempo, se comparó la capacidad de respuesta del tipo normal y del hipotíndico a la ausencia de los esteroides gonadales. Ratones hembra adultos de la cepa CD1 y sustantivos hipotíndicos et/et, mantenidos en condiciones de fotoperíodo controlado y libre acceso al agua y al alimento, fueron divididos en intactos (TA), ovariectomía simulada (OS), castrados, hemicastrados del ovario izquierdo o derecho. Los animales fueron operados a las 10:00 h y sacrificados siete días después. A la autopsia se pesaron los ovarios, útero y el tipo. El peso del tipo de las hembras desnudas fue significativamente menor que el de las normales (35.7±2.6 vs 65.9±5.6 mg, P<0.05). En ambos tipos de animales, la OS provocó disminución del peso del tipo respecto al grupo TA (normales: 38.8±4.6 vs 65.9±5.6 mg; hipotíndicas: 18.8±3.6 vs 35.7±2.6 mg, P<0.05). En comparación con la OS, la castración indujo un aumento significativo del peso del tipo en los animales desnudos (41.4±4.8 vs 18.8±3.6 mg, P<0.05), efecto que no llegó a ser significativo en las hembras normales (44.3±4.2 vs 38.8±4.6 mg). En las hembras normales, la hemicastración provocó aumento significativo en el peso del tipo cuando el ovario izquierdo fue el remanente (63.3±8.4 vs 38.8±4.6 mg, P<0.05), mientras que en la hembra desnuda este efecto fue inverso, es decir, cuando el ovario remanente fue el derecho (31.3±5.1 vs 18.8±3.6 mg, P<0.05). En los animales normales el grado de hipertrofia compensadora del ovario izquierdo fue mayor que el del derecho (49.4 vs 28.2 g, P<0.05), en cambio, en las hipotíndicas el mayor porcentaje lo presentó el ovario derecho (26.4 vs 3.2g, P<0.05). Nuestros resultados muestran que la respuesta de los ovarios a los mecanismos de regulación compensadora es asimétrica, pero inversa y menor en el animal hipotíndico, y que la respuesta ponderal del tipo está en función del ovario remanente.

Ayudado por PUIS y CONACYT

XVIII REUNION ANUAL

ACADEMIA DE INVESTIGACION EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION

ABRIL 27-30, 1993

OAXACA, MEXICO

PROGRAMA CIENTIFICO

MARTES 27 DE ABRIL

- 14:00 **REGISTRO**
- 16:00 **CEREMONIA DE INAUGURACION**
- 16:20 **SIMPOSIO - MODERADORA: NIEVES PEDRON**
REPRODUCCION ASISTIDA
- 16:20 **El programa de fertilización asistida del Hospital Angeles del**
Pedregal durante 1992. Alfonso Gutiérrez Najar.
- 16:40 **Regímenes de inducción de ovulación y seguimiento en pacientes que**
serán sometidas al programa de fertilización in vitro. Ernesto
Gómez Arzapalo y José I. Gorozpe Calvillo.
- 17:00 **Reproducción Asistida: Alternativas. José I. Gorozpe Calvillo y**
Ernesto Gómez Arzapalo.
- 17:20 **Biotecnología en Bovinos: Fertilización in vitro. Javier Valencia**
Méndez.
- 17:40 **Microcirugía tubárica. Juan José Flores.**
- 18:00 **Discusión Coordinada**
- 18:15 **RECESO**

**PARTICIPACION DE LOS RECEPTORES MUSCARINICOS DEL AREA
PREOPTICA-HIPOTALAMICA ANTERIOR EN LA REGULACION DE LA
OVULACION DE LA RATA ADULTA.**

Evangelina López, María Esther Cruz y Roberto Domínguez.

Laboratorio de Neuroendocrinología de la Unidad de
Investigación en Biología de la Reproducción. Facultad de
Estudios Superiores Zaragoza. UNAM.

Este trabajo fue financiado por la Dirección General de
Asuntos del Personal Académico y el Programa Universitario
en Salud de la UNAM.

INTRODUCCION.

Diversos estudios muestran que los mecanismos hipotalámicos que participan en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y de la hipertrofia compensadora del ovario están lateralizados. Los efectos de lesiones unilaterales en el hipotálamo anterior varían según el día en que se realizan, la edad del animal y si se trata de un animal hemiovariectomizado o con ambos ovarios (7, 8, 13, 16, 17, 18, 19). Además, la concentración de la hormona hipotalámica que estimula la secreción de las gonadotropinas (GnRH) es diferente entre el lado derecho e izquierdo del hipotálamo medio basal (1, 14).

A la fecha no existen datos experimentales que muestren que esta asimetría se relaciona con diferencias anatómicas, morfológicas o bioquímicas entre cada lado del hipotálamo o de las áreas extrahipotalámicas que se relacionan funcionalmente con él, o en la participación de los diversos sistemas de neurotransmisión que regulan la síntesis y la liberación de la GnRH.

Uno de los sistemas de neurotransmisión que regula la secreción de las gonadotropinas y, en consecuencia la ovulación, es el sistema colinérgico. Desde la década de los cuarentas, Everett y colaboradores (11) mostraron que éste sistema modula de manera estimulante la secreción preovulatoria de la LH que ocurre en el día del proestro. Posteriormente, Domínguez y colaboradores (10) mostraron que su grado de participación varía durante el ciclo estral y las horas del día.

El sistema colinérgico de las áreas preóptica e hipotalámica anterior (POA-AHA) regula en forma asimétrica la secreción de las gonadotropinas y por ende, la ovulación y que dicha participación varía durante el ciclo estral, que la falta de ovulación es consecuencia del bloqueo de la liberación fásica de GnRH en el día del proestro y que los mecanismos hipotalámicos que responden al efecto estimulante de los estrógenos y que provocan la secreción de las gonadotropinas, son asimétricos (5, 6).

Con el propósito de continuar con el análisis de la participación del sistema colinérgico de POA-AHA, en la regulación de la ovulación, se estudiaron los efectos de la estimulación farmacológica unilateral de los receptores muscarínicos de POA-AHA en los diferentes días del ciclo estral.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembra adultas (190-230 g) de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luces encendidas de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al alimento (Purina) y al agua. Los animales

fueron anestesiados con pentobarbital sódico (Anestosal, Smith Kline Norden de México) (35 mg/kg p.c.) i.p., se colocaron en un aparato estereotáxico y a cada animal se le implantó una cánula directriz (aguja de acero inoxidable del No. 20), dirigida hacia el lado derecho o izquierdo de POA-AHA, siguiendo las coordenadas del atlas del cerebro de la rata de König y Klippel (15). La cánula fue sujeta a la calota con cemento acrílico.

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

A las 13:00 horas del día del estro, del diestro 1, del diestro 2 ó del proestro, en la cánula directriz se introdujo otra cánula (cánula interna: aguja de acero inoxidable del No. 25), en cuya punta se colocó la pilocarpina en cristales (Sigma Chemical Co., St. Louis, MS, EE.UU). La cantidad promedio de pilocarpina implantada fue de 110±13 µg. El fármaco fue expulsado hacia la región POA-AHA con la ayuda de un alambre de acero inoxidable. En el grupo testigo se implantó colesterol en lugar del fármaco.

Grupos de animales con el mismo tratamiento que en aquellos grupos experimentales en los que el implante unilateral de pilocarpina bloqueó la ovulación fueron tratados de la siguiente forma y sacrificados en el día del estro esperado:

1. a las 13:00 h del día del proestro esperado del ciclo en estudio, los animales fueron inyectados con 3.7 µg/kg de [Gly-OH]-LHRH sintética (Sigma Chemical, Co., St. Louis, MS, EE.UU.), s.c.

2. a las 14:00 h del día del diestro 2, animales con implante de pilocarpina inyectados con 10 µg de benzoato de estradiol (Sigma).

Procedimiento de autopsia

Los animales fueron sacrificados por decapitación. A la autopsia se disecaron las trompas uterinas, los ovarios y el útero. En las trompas se buscó la presencia de ovocitos, los que en su caso fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Los ovarios y el útero fueron pesados en una balanza de precisión. Al disecar el útero se anotó la presencia o ausencia de líquido en la luz del mismo (útero distendido). El peso de los órganos se expresó en mg/100 g de peso corporal.

El cerebro se fijó en formol al 10% y se cortó en un crióstato a 80 µm. Los cortes fueron teñidos con violeta de cresilo. La zona del implante se localizó utilizando como referencia los esquemas del atlas de König y Klippel (15). Solamente se utilizaron los datos de los animales cuyo

implante se localizó en el área de estudio.

Análisis estadístico

Los resultados del número de ovocitos liberados, peso de los ovarios y útero, fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Los resultados de la tasa de animales ovulantes (número de ratas que ovulan/número de animales tratados x 100), la tasa de cornificación vaginal (número de animales que presentaron cornificación vaginal en el día del sacrificio/número de animales tratados x 100), la tasa de animales con útero distendido (número de ratas que tuvieron el útero distendido el día del sacrificio/número de ratas tratadas x 100), se analizaron por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o la de χ^2 . En todos los casos se aceptaron como válidas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al cinco por ciento.

RESULTADOS

No se observaron diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes, de cornificación vaginal, de animales con útero distendido, en el número de ovocitos liberados, en el peso de los ovarios y del útero, entre los animales con implante de colesterol del lado derecho o del lado izquierdo de POA-AHA, ni entre los grupos de animales con implante de colesterol y los del testigo absoluto (Tablas 1 y 2).

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

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

Grupo	n	Ovario		Ambos ovarios
		izquierdo	derecho	
Intactos	10	6.4 \pm 0.5	4.9 \pm 0.5 *	11.2 \pm 0.6
Colesterol Izquierdo	17	5.7 \pm 0.7	5.2 \pm 0.8	10.9 \pm 0.6
Colesterol Derecho	12	4.5 \pm 0.4	4.2 \pm 0.7	8.7 \pm 0.8

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

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

Grupo	n	peso ovarios	peso útero
Intactos	10	26.6 \pm 1.1	190 \pm 3.3
Colesterol Izquierdo	17	29.9 \pm 1.6	198 \pm 10.2
Colesterol Derecho	12	30.4 \pm 1.3	192 \pm 11.4

La tasa de animales ovulantes fue menor en los animales con implante unilateral de pilocarpina, mientras que no se modificaron la tasa de cornificación vaginal y la de animales con útero distendido (Tabla 3).

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

Grupo	Tasa ovulantes	Tasa de animales cornificación vaginal	Tasa de animales útero distendido
Testigo	32/39	37/39	7/39
Pilocarpina Derecha	8/26*	24/26	8/26
Pilocarpina Izquierda	19/37*	32/37	6/37

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

El número de ovocitos liberados por animal ovulante con implante de pilocarpina, así como el peso de los ovarios, fue similar al del grupo testigo con implante de colesterol. El peso del útero de los animales con implante del lado derecho fue mayor que el de los testigos (Tabla 4).

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

Grupo	n	ovocitos	peso ovarios	peso útero
ANIMALES QUE OVULARON				
Testigo	32	10.3 \pm 0.4	25.8 \pm 2.0	176 \pm 4.9
Pilocarpina Izquierda	19	9.5 \pm 0.6	26.6 \pm 1.3	175 \pm 6.6
Pilocarpina Derecha	7	9.9 \pm 0.6	27.8 \pm 2.0	209 \pm 12.5*
ANIMALES QUE NO OVULARON				
Testigo	7		29.2 \pm 1.7	236 \pm 18.8 $\frac{1}{2}$
Pilocarpina Izquierda	18		27.0 \pm 1.3	179 \pm 5.4*
Pilocarpina Derecha	19		32.9 \pm 1.3**	209 \pm 10.6

$\frac{1}{2}$ P<0.05 comparado con el grupo de animales testigo que ovularon; * P<0.05 comparado con su testigo; ** P<0.05 comparado con el grupo de pilocarpina izquierda (ANDEVA seguido de la prueba de Tukey)

En los animales que fueron implantados con colesterol y que no ovularon, el peso del útero fue significativamente mayor que el de los que ovularon. En cinco de los siete animales que no ovularon, el frotis vaginal en el día del estro esperado fue de proestro y el peso del útero fue semejante al que se observa en los animales sin tratamiento sacrificados al proestro vaginal (236 \pm 9.2 vs. 202 \pm 30.1). Los otros dos animales tuvieron el frotis característico del día del estro, el peso del útero fue semejante al de los animales intactos que ovularon en el día del estro.

En los animales que no ovularon y que fueron implantados del lado izquierdo disminuyó el peso del útero (Tabla 4).

En los animales tratados en el día del estro, el implante de pilocarpina en el lado izquierdo bloqueó la ovulación en todos los casos (0/5 ovularon), mientras que no la afectó cuando el implante se colocó del lado derecho (4/4). La proporción de animales ovulantes disminuyó significativamente cuando se realizó el implante en el día del diestro 1 (izquierdo 4/10, derecho 0/8) y del diestro 2

(izquierdo 5/10, derecho 3/8). Cuando el implante se realizó en el lado derecho del día del proestro la ovulación fue bloqueada en la mayoría de los animales (1/6 ovuló) y no fue afectada cuando el implante se realizó en el lado izquierdo (10/12 ovularon).

El número de ovocitos liberados y el peso de los ovarios y del útero de los animales con implante unilateral de pilocarpina que ovularon o no fue semejante al del grupo testigo (Tabla 5).

Tabla 5. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas testigo o con implante unilateral de pilocarpina en POA-AHA, colocado en los diferentes días del ciclo estral, que ovularon o no en el día del estro esperado.

Grupo	n	ovocitos	ovarios	útero
ANIMALES QUE OVULARON				
Testigo	32	10.3 \pm 0.4	25.8 \pm 0.7	176 \pm 4.9
Pilocarpina:				
ESTRO:				
Izquierdo	4	9.8 \pm 0.9	26.0 \pm 2.7	210 \pm 20.8
DIESTRO 1:				
Izquierdo	4	8.8 \pm 1.3	28.8 \pm 2.1	187 \pm 14.7
DIESTRO 2:				
Derecho	3	10.0 \pm 1.2	30.2 \pm 2.8	206 \pm 15.1
Izquierdo	5	10.0 \pm 0.7	28.0 \pm 2.8	173 \pm 3.2
PROESTRO:				
Derecho	1	8	34.2	183
Izquierdo	10	9.6 \pm 0.9	25.1 \pm 2.0	171 \pm 11.1
ANIMALES QUE NO OVULARON				
Testigo	7		29.2 \pm 1.7	236 \pm 18.8
Pilocarpina:				
ESTRO:				
Izquierdo	5		24.6 \pm 3.1	164 \pm 11.2
DIESTRO 1:				
Derecho	8		34.6 \pm 2.5	212 \pm 19.3
Izquierdo	6		27.6 \pm 1.5	179 \pm 6.9
DIESTRO 2:				
Derecho	5		29.1 \pm 4.5	193 \pm 24.7
Izquierdo	5		30.1 \pm 2.5	183 \pm 7.9
PROESTRO:				
Derecho	5		33.7 \pm 1.9	218 \pm 11.2
Izquierdo	2		20.3, 26.5	230, 183

(ANDEVA seguido de la prueba de Tukey)

ANÁLISIS DE LOS MECANISMOS INVOLUCRADOS EN EL BLOQUEO DE LA OVULACION POR EL IMPLANTE UNILATERAL DE PILOCARPINA EN FOEA-ANA.

Debido a que no se observaron diferencias significativas en los resultados obtenidos por el reemplazo hormonal en los animales con implante unilateral de pilocarpina, los resultados fueron agrupados según el tratamiento hormonal.

En las ratas con implante unilateral de pilocarpina, el reemplazo de la hormona hipotalámica a las 13:00 horas del día del proestro, indujo la ovulación en el 86% (32/37) de los animales. El número de ovocitos liberados por animal ovulante y el peso de los ovarios no se modificaron, pero el peso del útero aumentó (Tabla 6).

Tabla 6. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados y del peso (mg/100 g) de los ovarios y del útero de ratas con implante unilateral de pilocarpina (estro: izquierdo; diestro 1: izquierdo y derecho; diestro 2: izquierdo y derecho; proestro: derecho) tratadas con GnRH a las 13:00 horas del día del proestro esperado (GnRH-P) o con benzoato de estradiol (BE) a las 14:00 horas del diestro 2, sacrificadas en el día del estro esperado.

Grupo	n	ovocitos	peso ovarios	peso útero
Testigo	32	10.3 \pm 0.4	25.8 \pm 0.7	176 \pm 4.9
Pilocarpina	37	0	30.0 \pm 1.1	194 \pm 6.5
Pilocarpina +GnRH-P	32	9.4 \pm 0.5	28.6 \pm 0.9	172 \pm 4.9*
Pilocarpina +BE	18	9.6 \pm 1.0	28.2 \pm 1.2	206 \pm 5.8

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

La administración de benzoato de estradiol restauró la ovulación en el 42% de los animales con implante unilateral de pilocarpina. Cuando se analizan los resultados en función del lado en que se colocó el implante observamos que el 60% de los animales con implante izquierdo ovularon (6/10), mientras que el 25% lo hacen con el implante del lado derecho (2/8). El número de ovocitos liberados y el peso de los ovarios y del útero fueron similares a los animales con implante sin tratamiento hormonal (Tabla 6).

DISCUSION

Los resultados de este estudio confirman que la participación del sistema colinérgico de POA-AHA en la regulación de la secreción de las gonadotropinas que culmina con la ovulación es asimétrica y varía durante el ciclo estral (5, 6).

Con base en los resultados de la estimulación y el bloqueo de los receptores muscarínicos de POA-AHA, se sugiere que estos receptores participan de manera asimétrica en la regulación de la secreción fásica de la GnRH.

En el día del estro, el sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA tiene un papel estimulante o disparador de los procesos neuroendócrinos que culminan con la ovulación del siguiente ciclo, ya que el bloqueo de los receptores muscarínicos (5, 6) inhibe la ovulación, en tanto que su estimulación no la modifica. En cambio, el sistema colinérgico del lado izquierdo de POA-AHA tendría un papel inhibitorio, debido a que la estimulación de los receptores muscarínicos inhibe la ovulación, mientras que su bloqueo no la modifica.

En el día del diestro 1, la participación del sistema colinérgico en los mecanismos de regulación de la ovulación no es asimétrica. Ya que la estimulación o la inhibición de este sistema resulta en el bloqueo de la ovulación, su participación en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación carece de latitud, por lo que podemos pensar que su participación es fundamental para la culminación del proceso.

En el día del diestro 2, la intervención del sistema colinérgico es asimétrica y el lado izquierdo de POA-AHA parece tener un papel estimulante. En el día del proestro, el sistema también muestra asimetría y el lado derecho parece tener un papel inhibitorio, ya que su estimulación bloquea la ovulación, mientras que su bloqueo no la afecta (5, 6). Esta asimetría funcional de POA-AHA parece estar relacionada con diferencias en la actividad de la enzima colinacetil-transferasa (CAT) (21).

La estimulación o el bloqueo (6) de los receptores muscarínicos siempre resulta en la alteración de la secreción "fásica" de la GnRH que ocurre en el día del proestro, ya que su administración en la tarde del proestro esperado, restablece la ovulación.

Para que los estrógenos ejerzan su papel estimulante de la secreción de las gonadotropinas es imprescindible el funcionamiento normal del sistema colinérgico del lado derecho de POA-AHA, ya que la administración de benzoato de estradiol a animales con implante de pilocarpina o atropina (6) en el lado izquierdo induce la ovulación y no lo hace cuando se modifican los receptores muscarínicos del lado derecho. El hecho de que en la rata no existan receptores nucleares a estrógenos en el soma de las neuronas GnRHérgicas (22), permite sugerir que los estrógenos no

actuarían directamente sobre esas neuronas, sino que su papel disparador que culmina con la secreción preovulatoria de la GnRH, sería sobre otro tipo de neuronas o "interneuronas" que cuentan con receptores a estrógenos y que afectan directamente la actividad de las neuronas GnRHérgicas (2, 23, 12, 20).

Con base en estos resultados, es posible suponer que aún cuando existan estrógenos suficientes como para disparar la secreción preovulatoria de GnRH, la falta del estímulo colinérgico del lado derecho de POA-AHA en los días previos al proestro, impide que se cierre el circuito de regulación estimulante de la secreción preovulatoria de la GnRH.

Es posible que la respuesta asimétrica a dicho estímulo se deba, en parte, a diferencias en la capacidad de enlace de los estrógenos en algunas regiones del sistema nervioso central, como se ha planteado en el caso del dimorfismo sexual, o que exista asimetría en la cantidad de receptores a estrógenos o, de neuronas y glía por unidad de área, como ocurre en la corteza de los animales prepúberes (4, 9), lo que daría como consecuencia modificaciones diferenciales en la densidad de espinas y en la longitud de las dendritas, entre el lado derecho e izquierdo de POA-AHA.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BAKALKIN, G.Y., TSIBEZOV, V.V., SJUTKIN, E.A., VESELOVA, S.P., NOVIKOV, I.D. y KRIVOSHEEV, O.G. (1984). Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res* 296: 361-364
- 2.- BARRACLOUGH, C.A. (1983). The role of catecholamines in the regulation of gonadotropin secretion. *Acta Morphol. Hung.* 31: 101-106
- 3.- BARRACLOUGH, C.A. y WISE, P.M. (1982). The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrine Rev.* 3: 91-119
- 4.- BROWN, T.J., HOCHBERG, R.B., ZIELINSKI, J.E y MacLUSKY, N.J. (1988). Regional sex differences in cell nuclear estrogen-binding capacity in the rat hypothalamus and preoptic area. *Endocrinology* 123: 1761-1770
- 5.- CRUZ, M.E., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *J. Endocrinol* 123: 437-439
- 6.- CRUZ, M.E., CASTRO, J. y DOMINGUEZ, R. (1992). A comparative analysis of the neuroendocrine mechanisms regulating ovulation, affected by a unilateral implant of atropine in the preoptic-anterior hypothalamic area, in intact and hemiovariectomized adult rats. *J. Endocrinol.* 133: 205-210

- 7.- CRUZ, H.E., MORAN, J.L., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1990). Differential effects of a unilateral hypothalamic lesion on ovulation and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rat. *J. Endocrinol* 124: 37-41
- 8.- CRUZ, H.E., MORAN, J.L., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1990). Differences in spontaneous ovulation in rats with unilateral lesion of the hypothalamus. *Brain Res. Bull.* 24: 739-742
- 9.- DIAMOND, M:C: (1987). Sex differences in the rat forebrain. *Brain Res. Rev.* 12:235-240
- 10.- DOMINGUEZ, R., RIBONI, L., SIPITRIA, D. & REVILLA, R. (1982). Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the estrous cycle related to ovulation in the rat?. *J. Endocrinol.* 95: 175-180
- 11.- EVERETT, J.W., SAWYER, C.H. y MARKEE, J.E. (1949). A neurogenic timing factor in control of the ovulatory discharge of luteinizing hormone in the cycle rat. *Endocrinology* 44: 234-250
- 12.- FINK, G. (1988). Gonadotropin secretion and its control. En: *The Physiology of Reproduction*. Capitulo 32, Ed. E. Knobil y J. Neill, et. al. Raven Press, Ltd. Nueva York, p.p. 1349-1377
- 13.- FUKUDA, M. y ARAI, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neurosci.Let.* 51: 365-370
- 14.- GERENDAI, I., ROTSZTEJN, W., MARCHETTI, B. y SCAPAGNINI, V. (1979). LH-RH content changes in the medio-basal hypothalamus after unilateral ovariectomy. En: *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Proceeding of Sorono Symposia, Vol 19, editores A. Polleri y R. MacLeod. New York. Academic Press, p.p. 97-102
- 15.- KÖNIG, J.F.R. y KLIPPEL, R.A. (1963). The rat brain. A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, p. 162
- 16.- MIZUNUMA, H., De PALATIS, L.R. y McCann, S.M. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: Evidence for direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37: 291-296
- 17.- NANCE, D.M., BHARGAVA, M. y MYATT, G.A. (1984). Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Res Bull* 13: 651-655
- 18.- NANCE, D.M. y MOGER, W.H. (1982). Ipsilateral hypothalamic deafferentation blocks the increase in serum FSH followin hemi-castration. *Brain Res. Bull.* 8: 299-302
- 19.- NANCE, D.M., WHITE, J.P. y MOGER, W.H. (1983). Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Res. Bull* 10: 353-355
- 20.- ROSIE, R., THOMSON, E. y FINK, G. (1990). Oestrogen positive feedback stimulates the synthesis of LHRH mRNA in neurones of the rostral diencephalon of the rat. *J. Endocrinol* 124: 285-289

- 21.- SANCHES, M.A., LOPES, J.C., HUERTO, L., CRUZ, M.E., TAPIA, R. y DOMINGUES, R. (1991). Asymmetrical variations of the cholinergic system of the preoptic-hypothalamic anterior area (PO-HAA) during the oestrous cycle of the rat. 21st Annual Meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans, Louisiana, Abst. 486.4: 1229
- 22.- SHIVERS, B.D., HARLAN, R.E., MORELL, J.I. y PFAFF, D.W. (1983). Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LHRH-immunoreactive neurones. Nature 304: 345-347