Acta Cient. Venezolana 33: 241-248, 1982

CONTENIDO DE RECEPTORES CITOPLASMATICOS AL ESTRADIOL EN HIPOTALAMO Y ADENOHIPOFISIS DE RATA Y SU RELACION CON LOS NIVELES PLASMATICOS DE GONADOTROFINAS Y ESTEROIDES SEXUALES

Gabriela Arata de Bellabarba,
Francisco Rojas, Inés Moretti-Rojas y **Walter Bishop**
Cátedra de Fisiopatología,
Facultad de Medicina,
Universidad de los Andes, Mérida-Venezuela.

RESUMEN

La posible relación existente entre contenido de receptores citoplasmáticos (RC) al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis y la secreción de hormona luteinizante (LH) fue estudiada en la rata hembra normal y en la rata castrada. En la rata hembra durante el ciclo del estro el aumento preovulatorio de LH que acontece en la tarde del proestro, coincidió con la menor concentración de RC al estradiol en ambos tejidos. En cambio, durante la tarde del diestro-2 no se detectaron modificaciones en los niveles de LH asociados con la disminución observada en los niveles de RC al estradiol (54 % hipotálamo, 24 % hipófisis). En la rata castrada, la administración subcutánea (sc) de 5 ug de benzoato de estradiol (EB), indujo a las 24 horas (h) una disminución en los niveles de LH plasmática ($p < 0{,}001$) y en la concentración de RC ($p < 0{,}001$) al estradiol en ambos tejidos. El aumento de LH ($p < 0{,}05$) observado 54 h después del EB cursó con niveles bajos de RC. Se propone que la relación (concentración de LH y contenido de RC) observada en la tarde del diestro-2 y del proestro se asemeja a la observada en la rata ovariectomizada a las 24 h y 54 h respectivamente, después de la administración del estradiol. Se discute la posible asociación entre la concentración de RC y efecto bifásico de los estrógenos sobre la secreción de LH. También se estudió la posibilidad de que el efecto facilitador de la progesterona (P) sobre la secreción de LH pudiera estar asociado con una acción directa de la P sobre el receptor estrogénico. La administración de P (5 mg/rata, sc) 48 h después de la inyección sc de 5 ug de EB a ratas ovariectomizadas, resultó en un aumento de LH mayor ($p < 0{,}001$) que el observado sólo con EB. Bajo estas condiciones no se demostraron cambios en la concentración de RC al estradiol en ninguno de los dos tejidos estudiados. Cuando un tratamiento similar (EB+P) fue administrado a ratas adultas orquidectomizadas, modelo en el cual no existe el aumento de LH inducido por el EB, la concentración de RC tampoco se modificó. Estos resultados sustentan el concepto de que el efecto facilitador de la P sobre el aumento de LH inducido por estrógenos, no es consecuencia del efecto del esteroide sobre los receptores estrogénicos hipotalámicos e hipofisiarios.

Recibido: 25/4/82
Aceptado: 8/6/82

THE CONTENT OF CYTOPLASMIC ESTRADIOL RECEPTORS IN HYPOTHALAMUS AND ANTERIOR PITUITARY OF RAT AND ITS RELATION TO THE PLASMATIC LEVELS OF GONADOTROPHINS AND SEXUAL STEROIDS

ABSTRACT

The possible relationship between the content of cytoplasmic estrogen receptors (CR) in the hypothalamus and pituitary gland and the secretion of luteinizing hormone (LH) was studied in the normal female rat and the castrated rat. In the normal female rat, during the estrous cycle, the preovulatory LH increase that occurs in the proestrous afternoon, coincided with the lowest concentration of CR in both tissues. On the other hand, during diestro-2 afternoon no change of LH was associated with a decrease of CR (54 % in hypothalamus and 24 % in adenohypophysis). In the castrated rat, subcutaneous (sc) injection of 5 ug of estradiol benzoate (EB), induced a decrease of plasmatic LH levels ($p < 0.001$) and of CR ($p < 0.001$) after 24 h in both tissues. The increase of LH ($p < 0.05$) observed 54 h after EB was accompained by low levels of CR. It is postulated that the relationship (LH concentration and CR levels) observed in diestro-2 afternoon and proestrous is similar to that observed in the castrated rat, after 24 h and 54 h respectively, following an estradiol injection. The possible association between CR levels and bifasic estrogen action on LH secretion is discussed. It is possible that the facilitating effect of progesterone (P) on LH secretion could be associated with a direct P action upon the estrogenic receptor. The administration of P (5 mg/rat/sc) to castrated rat, 48 h after 5 ug, EB, resulted in a LH increase larger ($p < 0.001$) that the surge observed with EB alone. Under these conditions, no detectable change in concentration of CR was observed in either of the two tissues studied. When a similar treatment (EB + P) was administered to adult orchydectomized rats (an experimental model in which there is not LH increase induced by EB) the CR concentrations were not modified. These results are consistent with the concept that modulation by P of the estrogen-induced LH surge is not the consequense of its effect on hypothalamic or pituitary gland estrogen receptors.

INTRODUCCION

La concentración sérica de hormona luteinizante (LH) durante el ciclo del estro en la rata hembra resulta de dos modalidades diferentes de secreción.[4, 33] La primera, secreción basal o tónica, mantiene niveles séricos bajos durante la mayor parte del ciclo y es esencial para el desarrollo folicular y la secreción de estrógenos. La segunda modalidad es responsable del aumento preovulatorio de LH, que induce la ovulación y la formación de nuevos cuerpos lúteos. La secreción tónica es controlada por la acción inhibitoria del estradiol y la progesterona,[10, 12, 23] mientras que la secreción fásica de LH es inducida por un aumento en la concentración sérica de estradiol.[19, 32] La progesterona en la rata, tiene un efecto inhibidor sobre la secreción de LH durante la mayor parte del ciclo,[4, 12] sin embargo el aumento preovulatorio de LH, durante el día del proestro es facilitado por la administración de progesterona.[5, 18] El efecto neuroendocrino de estos esteroides sexuales está relacionado con su unión a receptores intracelulares específicos presentes en el hipotálamo y en la hipófisis.[20, 24] La hormona se une a su receptor específico y el complejo hormona-receptor transloca rápidamente al núcleo en donde actúa sobre el genoma induciendo la síntesis de proteínas intracelulares específicas.[9]

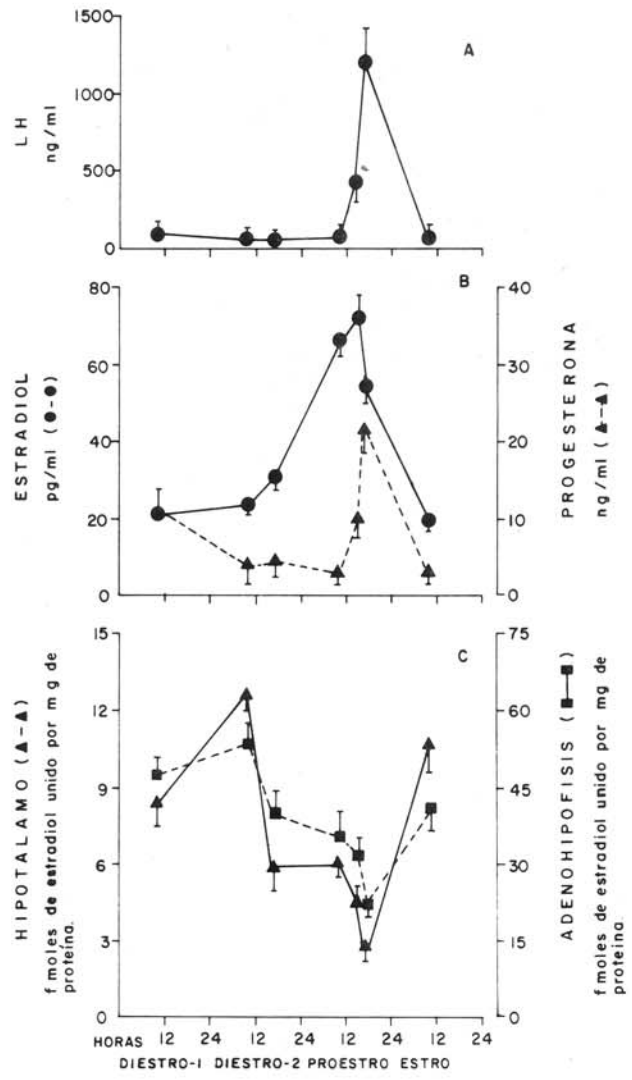

Figura 1. Concentración plasmática de LH (A), progesterona y estradiol (B) cuantificada por RIA a diferentes intervalos de tiempo en ratas hembras durante el ciclo del estro. Cada punto representa el valor promedio ± el error típico (ES) de 10 muestras de sangre obtenidas individualmente. El contenido de receptores al estradiol, en el citosol de hipotálamos y adenohipófisis de ratas (C), se determinó durante los mismos intervalos de tiempo en que se tomaron las muestras de sangre para las determinaciones hormonales. Cada punto representa el valor promedio ± ES obtenido en 8 determinaciones de un homogenizado de tejido de 10 ratas. En la abscisa se indican los días del ciclo marcados en horas.

En la rata hembra adulta la concentración de receptores citoplasmáticos (RC) al estradiol se modifica durante los 4 días del ciclo del estro.[28, 35] Durante el día del proestro la menor concentración de RC en hipotálamo e hipófisis coincide con el aumento preovulatorio de LH y la mayor respuesta de la hipófisis al LHRH.[14] Por el contrario, en la rata ovariectomizada el efecto inhibidor del estradiol sobre la secreción de LH parece depender de la translocación del RC al núcleo.[29]

La interacción entre estrógenos y progesterona en el control de la secreción de gonadotrofinas es compleja. En útero de rata se ha demostrado que la progesterona interfiere con la síntesis o la reutilización del RC[15] mientras que en hipotálamo y en adenohipófisis de ratas, Attardi[2] demuestra que el efecto facilitador, o inhibidor, de la progesterona sobre el aumento de LH inducido por el estradiol no es mediado a través de modificaciones en los RC hipotalámicos e hipofisiarios al estradiol.

El objetivo de este trabajo fue estudiar en tres modelos experimentales diferentes, la rata hembra normal durante el ciclo, la rata ovariectomizada y la rata orquidectomizada, la posible relación existente entre el efecto del estradiol sobre la secreción de gonadotrofinas y el contenido de RC al estradiol en hipotálamo y en adenohipófisis. También se estudió en el modelo de la rata castrada, la relación entre el efecto facilitador de la progesterona y el contenido de RC al estradiol en ambos tejidos.

MATERIAL Y METODOS

Animales

Se utilizaron ratas adultas Sprague-Dawley de 200 a 300 gramos de peso. Fueron alimentadas con ratarina (Protinal), mantenidas en jaulas individuales y en un ambiente de 12 horas (h) de luz y 12 h de oscuridad.

Experimentos

1. A ratas hembras adultas se les tomó citohormonología vaginal durante 10 días consecutivos y sólo se utilizaron las ratas que exhibieron dos ciclos continuos de 4 días. En grupos de 10 animales fueron sacrificadas a intervalos diferentes durante los 4 días del ciclo a las 10:00 h, 15:00 h y 17:00 h.
2. Ratas ovariectomizadas (3 semanas) se inyectaron con 5 ug de benzoato de estradiol (EB) subcutáneo (sc) en 0,1 ml de aceite vegetal. Fueron decapitadas a las 24, 48 y 72 h después de recibir el esteroide (5 ratas para cada intervalo de tiempo).
3. Ratas ovariectomizadas, pretratadas 48 h antes con 5 ug de EB, recibieron 5 mg de progesterona (sc) en 0,1 ml de aceite o el vehículo. Fueron decapitadas a las 2, 4, 6 y 8 h después de la administración del esteroide o del vehículo respectivamente. Otro grupo de ratas castradas sólo recibió 5 mg de progesterona y se decapitaron en los mismos intervalos de tiempo.
4. Ratas orquidectomizadas (3 semanas) fueron inyectadas con 5 ug de EB y 48 h más tarde se les administró 5 mg de progesterona. Las ratas se decapitaron 48 h después del EB y a las 2, 4, 6 y 8 h después de la progesterona.

Obtención de la muestra de sangre y de tejido

Durante los intervalos de tiempo seleccionados en cada experimento, los animales fueron anestesiados ligeramente con éter y la muestra de sangre para las determinaciones hormonales fue obtenida por punción de la vena yugular. Inmediatamente después las ratas se decapitaron y se procedió a extraer el hipotálamo y la adenohipófisis. Los límites del área hipotalámica fueron, por delante el quiasma óptico, a ambos lados las fisuras hipotalámicas laterales y posteriormente por delante de los cuerpos mamilares.

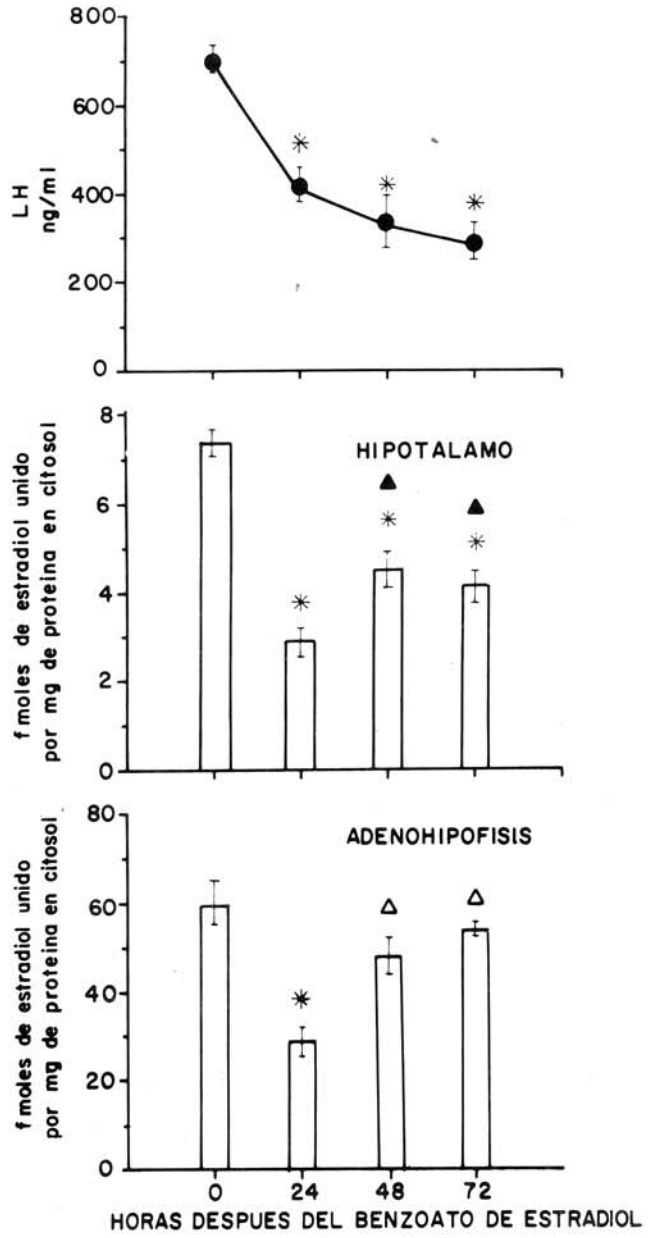

Figura 2. Niveles plasmáticos de LH y concentración de RC al estradiol, cuantificados en el citosol de hipotálamo y adenohipófisis de ratas ovariectomizadas 24, 48 y 72 h después de la administración de 5 ug de EB. La hora cero representa el valor obtenido en el grupo no tratado.
* $p < 0,001$ vs 0 hora
▲ $p < 0,05$ vs 24 horas
△ $p < 0,01$ vs 24 horas

Preparación del citosol y ensayo de RC al estradiol en el citosol

Todo el procedimiento se realizó en frío a 4° C. El tejido, a razón de 5 hipotálamos o 5 adenohipófisis para 1,9 ml de «buffer» Tris-EDTA pH 7,8, fue homogenizado y luego centrifugado a 105.000 xg por 1 h a 4° C. El sobrenadante (citosol) se utilizó en la determinación de RC y proteína. La determinación de RC se realizó según el método descrito por Cidlowski y Muldoon.[7] Brevemente, alícuotas de 200 ul de citosol se incubaron por cuadruplicado con niveles saturantes (330 pM) de (3 H)-17B-estradiol. Para determinar la unión inespecífica las muestras se incubaron con un exceso de estradiol no marcado. La incubación se realizó a 4° C durante 20 h. La separación del estradiol unido del libre se efectuó con carbón activado (Norit A, 0,3 % y Dextran T-70 al 0,03 %). La radioactividad fue medida en un contador de centelleo líquido con 47 % de eficiencia para tritio. A la unión total se le restó la unión no específica y los resultados se expresaron como fentomoles (fmoles) de 3H-estradiol unido por mg de proteína. Un fmol de 3H-estradiol fue equivalente a 200 dpm. Estudios iniciales, realizados con el fin de tipificar el sistema de unión, demostraron que la cantidad de esteroide unido por mg de proteína en el citosol es una constante independiente de la concentración de proteína utilizada. El valor promedio de unión específica obtenido en un rango de 350-500 ug (hipotálamo) o 250-470 ug (adenohipófisis) de proteína fue de 1.910 dpm/mg y 10.645 dpm/mg en citosol de hipotálamo y adenohipófisis respectivamente.

Radioinmunoensayo (RIA) de LH, estradiol y progesterona

La hormona para marcar el anticuerpo y la hormona de referencia utilizadas para cuantificar LH fueron obtenidas del National Institutes of Arthritis, Metabolism and Digestive Diseases (NIAMDD). El método utilizado fue el del doble anticuerpo descrito por Niswender y col.[30] La iodinación de la LH fue realizada por el método de la cloramina-T, usando $Na^{125}I$ (New England Nuclear). La separación de la LH de los otros compuestos químicos fue obtenida por filtración en gel a través de Sephadex G-75. La sensibilidad mínima del ensayo fue de 7,5 ng. Los resultados se expresaron en términos de NIAMDD, Rat, LH-RP-1 con una potencia biológica de 0,03 × NIH-LH-Sl. El coeficiente de variación intraensayo para un valor promedio de 706,0 ± 48,2 ng/ml fue del 7 %.

El método utilizado para determinar la concentración de esteroides fue descrito por Abraham y col.,[1] sin columna de cromatografía.[11] El anticuerpo para el RIA de progesterona fue proporcionado por el Dr. Guy Abraham y para estradiol se obtuvo de Radioassay Sistems Laboratories Inc. El trazador utilizado para cada RIA fue la (1, 2-3H)-progesterona y el (2, 4, 6, 7-3H)-estradiol (New England Nuclear) respectivamente. El coeficiente de variación intraensayo para un valor promedio de 7,9 ± 0,5 ng/ml de progesterona y 27,0 ± 3,8 pg/ml de estradiol fue del 6,3 % y 14 % respectivamente.

Análisis de los datos

Los resultados fueron estadísticamente analizados usando la *t* de Student para contrastar dos media entre grupos y el análisis de varianza F para contrastar la diferencia global entre tres o más medias.

RESULTADOS

Como se puede observar en la figura 1 la concentración de RC al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis de ratas hembras fluctuó durante el ciclo normal del estro. Así, en la mañana del diestro-2 se detectó la mayor concentración de RC en los dos tejidos estudiados. En la tarde del mismo día el

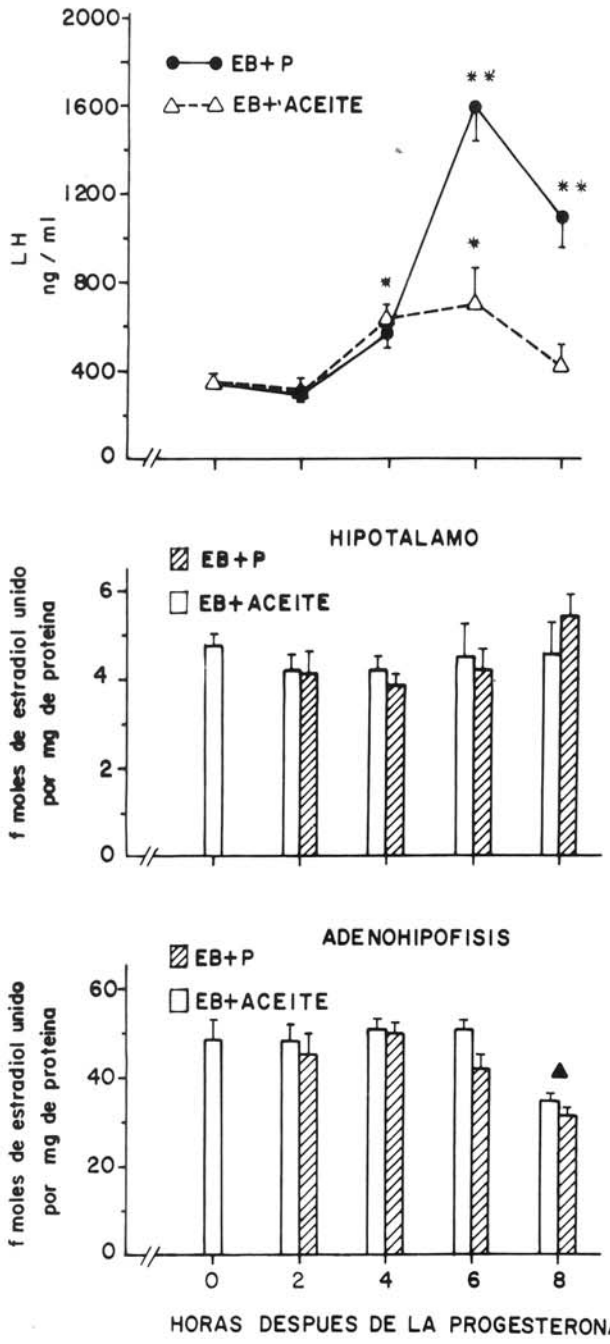

Figura 3. Niveles plasmáticos de LH y concentración de RC al estradiol en hipotálamos y adenohipófisis de ratas ovariectomizadas pretratadas 48 h antes con 5 ug de EB a las 10:00 h (hora cero en la figura) y luego una inyección de 5 mg de progesterona (EB + P) o sólo el vehículo (EB + aceite). Fueron decapitadas a intervalos de 2 h por un período de 8 h después de la inyección de la progesterona. Cada punto representa el valor promedio ± ES.

▲ $p < 0,001$ vs 0 hora
* $p < 0,05$ vs 0 hora
** $< 0,001$ vs EB + aceite

contenido de RC disminuyó en un 54% en hipotálamo y en un 24% en adenohipófisis. La variación observada en el contenido de receptores disponibles al estradiol durante el día de diestro-2 se acompañó de un pequeño aumento en la concentración plasmática de estradiol mientras que los niveles de LH y progesterona no se modificaron significativamente. En la mañana del proestro el contenido de RC fue similar al obtenido en la tarde del diestro-2 y la concentración de estradiol plasmático fue mayor que en diestro-2; los niveles de LH y progesterona no se modificaron con respecto al día anterior. En la tarde del proestro se detectó la menor concentración de RC lo cual coincidió con el aumento preovulatorio de LH y un pico de progesterona. En la mañana del estro el contenido de RC se recuperó alcanzando niveles similares a los obtenidos en diestro. La concentración de LH, progesterona y estradiol fue similar a la obtenida en la mañana del diestro-2.

La posible relación entre concentración de LH plasmática, contenido de RC al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis y un aumento en los niveles de estrógenos fue estudiada en la rata hembra castrada. En este modelo se observó que la administración de 5 ug de EB indujo, a las 24 h, una disminución significativa ($p < 0,001$) en la concentración de LH plasmática y en el contenido de RC en los dos tejidos estudiados (fig. 2). A las 48 y 72 h la concentración de LH se mantuvo baja, mientras que en hipotálamo y adenohipófisis, el contenido de RC aumentó significativamente ($p < 0,05$ y $p < 0,01$ respectivamente) con respecto a las 24 h. En horas de la tarde del segundo día (54 h) después de la administración de EB se detectó un aumento significativo ($p < 0,05$) en los niveles de LH plasmática, mientras que el contenido de RC (durante la tarde de este segundo día) no se modificó en ninguno de los dos tejidos estudiados con respecto al valor obtenido a las 48 h (fig. 2). Al estudiar si el efecto facilitador de la progesterona (administrada 6 h antes del aumento de LH inducido por los estrógenos) sobre la secreción de LH se acompaña de modificaciones en el contenido de RC, nuestros resultados demuestran (fig. 3) que el contenido de RC en los dos tejidos estudiados no fue modificado por la progesterona, a pesar de que la concentración de LH plasmática fue significativamente mayor ($p < 0,001$) que la obtenida en los animales tratados sólo con EB. Al comparar el efecto de la administración de EB a ratas machos castradas con los resultados obtenidos en la rata ovariectomizada se observó que el efecto inhibidor del EB sobre la secreción de LH fue muy similar al obtenido en la rata hembra castrada (fig. 4). El contenido de RC al estradiol en hipotálamo de las ratas orquidectomizadas disminuyó en forma similar a lo observado en la rata hembra castrada, pero en adenohipófisis, la concentración de RC fue significativamente menor ($p < 0,01$) en el macho castrado que en la hembra castrada.

Al igual que lo observado en la rata ovariectomizada la administración de progesterona, 48 h después del EB, a ratas machos castrados, tampoco modificó los niveles de RC al estradiol ni en el hipotálamo ni en la adenohipófisis (fig. 5).

DISCUSION

Los resultados obtenidos en la rata hembra normal demuestran que, durante el ciclo del estro, existe relación entre los cambios en los niveles plasmáticos de estradiol y la concentración de RC al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis. Así, durante la tarde del diestro-2 y el día del proestro, los niveles de RC en hipotálamo y en adenohipófisis disminuyeron pro-

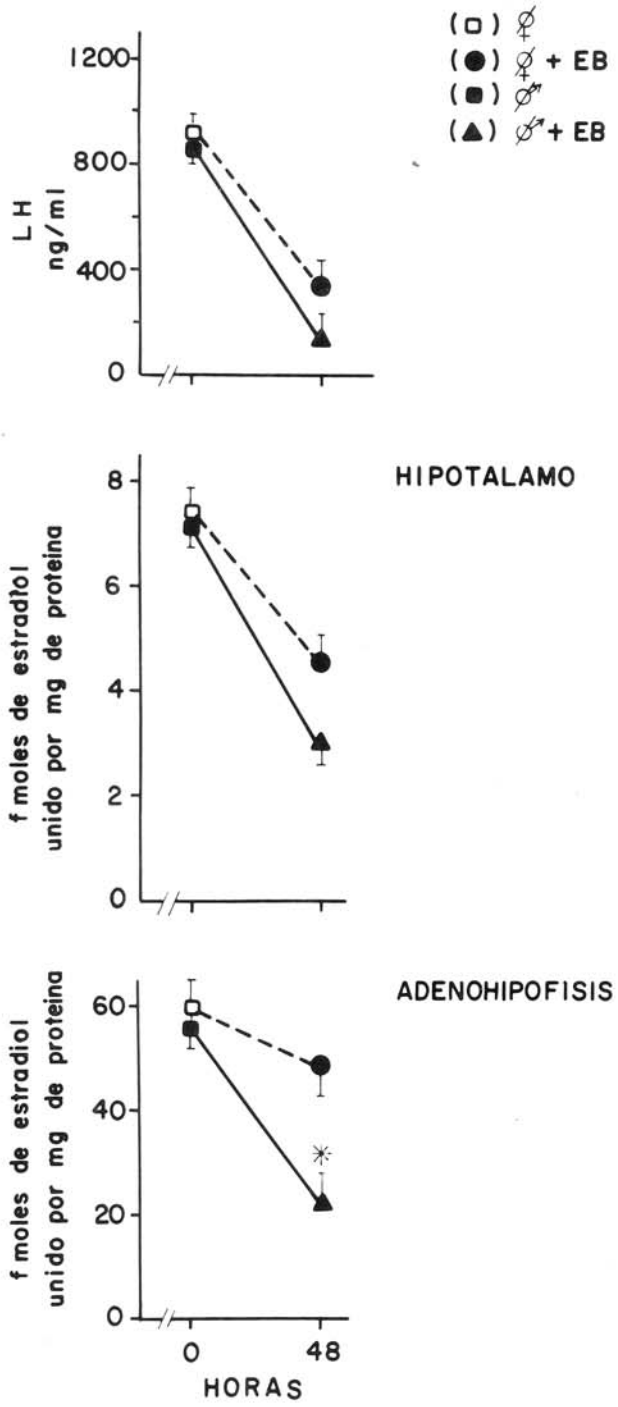

Figura 4. Contenido de RC al estradiol y niveles plasmáticos de LH en ratas castradas de ambos sexos que recibieron 5 ug de EB a las 10:00 h y fueron decapitadas 48 h después. El valor a las cero horas se obtuvo de ratas castradas no tratadas decapitadas a las 10:00 h. Cada punto representa el valor promedio ± ES.

* $p < 0,01$ vs hembra castrada + EB a las 48 h.

gresiva y sincrónicamente con el aumento en la concentración plasmática de estradiol. Después de la máxima disminución en los niveles de RC, observada en la tarde del proestro, el contenido de RC comienza a recuperarse hasta alcanzar en la mañana del estro valores similares a los observados en diestro. Esta fase de recuperación sería la resultante de dos procesos dinámicos, la disminución en la concentración de estradiol y el efecto combinado de síntesis de nuevo receptor, reciclaje y reutilización del mismo.[8] Una relación similar fue descrita por Parker y col.[31] usando como modelo la rata hembra inmadura.

En la tarde del proestro el aumento preovulatorio de LH cursó con una concentración muy baja de RC en hipotálamo y en adenohipófisis. Estos resultados apoyan la sugerencia[14, 35] de que los cambios en los niveles de receptores al estradiol en estos tejidos son importantes para la liberación de gonadotrofinas hipofisiarias. Sin embargo, los resultados obtenidos durante la tarde del diestro-2 demuestran que no siempre la disminución en el contenido de RC al estradiol, se acompaña de un aumento en la LH plasmática. Una posible interpretación de esta observación es que la concentración del complejo hormona-receptor translocado del citosol al núcleo durante el diestro-2 no alcanza el nivel crítico necesario para inducir un pico de LH[25] o para estimular la síntesis de proteínas fisiológicamente implicadas en la secreción fásica de LH.[16, 17] En favor de esta hipótesis están nuestros hallazgos en otro modelo experimental, el de la rata ovariectomizada, donde el efecto de un aumento de estrógenos en plasma sobre la secreción de LH y el contenido de RC varía según el momento en que se estudia este efecto. Así, en la rata castrada, la disminución en el contenido de receptores, 24 h después de recibir el EB, se acompaña de una disminución en la concentración de LH plasmática,[26] respuesta similar a la de la rata normal en diestro-2, donde la disminución en el contenido de RC no va acompañada de un aumento de LH y donde es difícil descartar una disminución de esta hormona, ya que los niveles circulantes de LH en ese momento son muy bajos.[18] También, en la rata castrada y en un momento posterior (54 h), después de la administración del estrógeno, cuando todavía los niveles de RC son bajos con respecto al valor inicial, se observa un aumento de LH semejante al que se sucede en la tarde del proestro en la rata normal. Este análisis nos permite sugerir que el tiempo de acción del complejo hormona-receptor a nivel nuclear parece influir sobre la secreción de LH. Así, en un primer momento la translocación del complejo hormona receptor del citosol al núcleo inhibiría la secreción de LH[29] y, posteriormente, la concentración del complejo hormona receptor nuclear, actuando durante un tiempo crítico, alcanzaría el nivel necesario para estimular la síntesis de proteínas fisiológicamente implicadas en la secreción fásica de LH.[25]

En la rata macho castrada, 48 h después de la administración del EB, la concentración de RC fue menor que en la rata ovariectomizada. Estos resultados sugieren que en el macho castrado la fase de recuperación del RC es más lenta que en la rata ovariectomizada, y apoyan la hipótesis de que la dinámica del receptor estrogénico es diferente entre ambos sexos.[27] También se demuestra en la rata orquidectomizada que la interacción del estrógeno con el receptor y su traslocación al núcleo está relacionada con el efecto inhibidor del estradiol, pero, el resultado de la interacción del complejo hormona-receptor con el genoma es diferente. Así, el estrógeno, que en la rata ovariectomizada inhibe la secreción de LH en las primeras horas y luego provoca su aumento, en la rata orquidectomizada sólo causa inhibición.[6] Gorski[13] sugiere que la presencia o ausencia de este efecto bifásico inducido por los es-

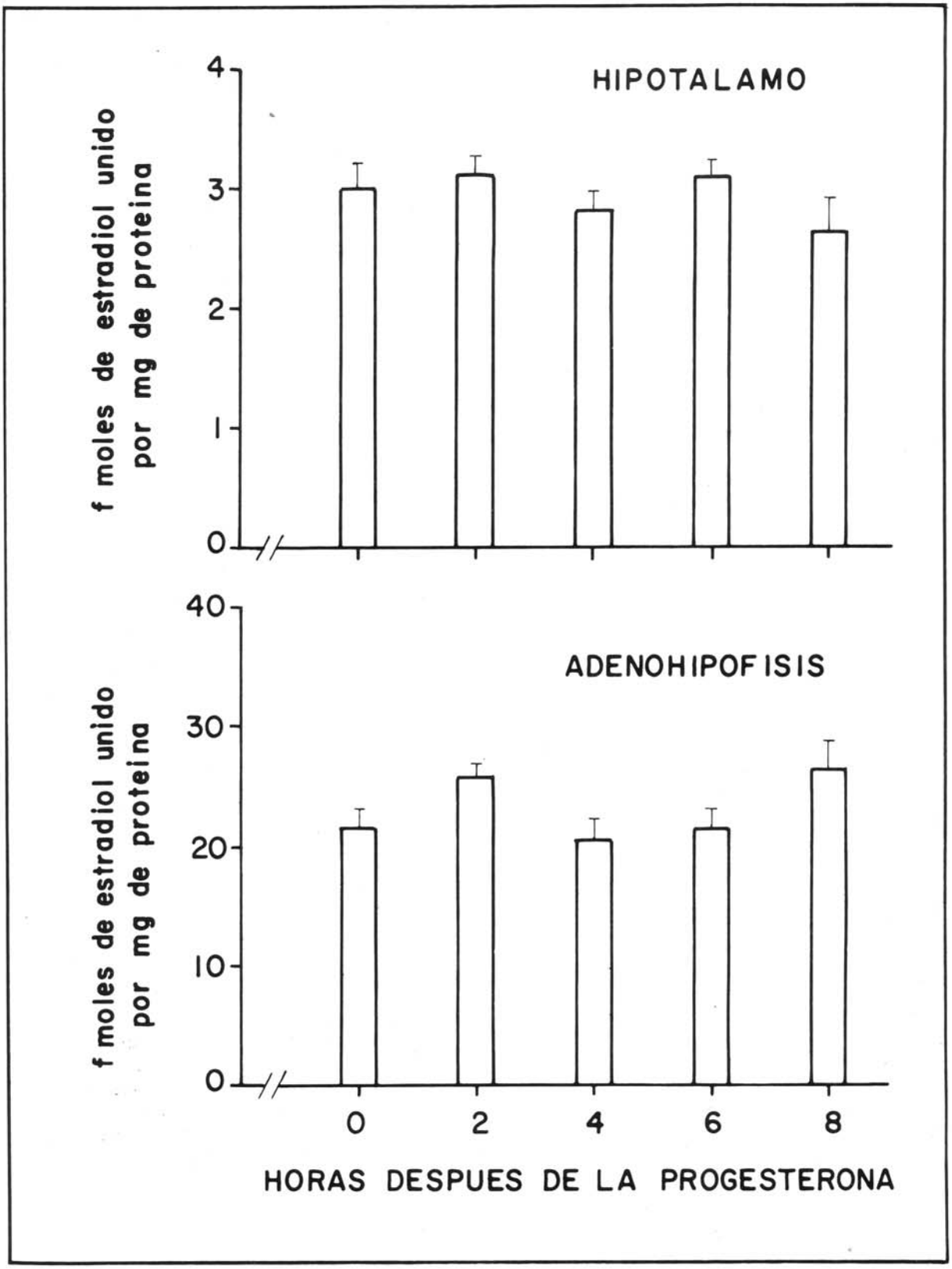

Figura 5. Concentración de RC al estradiol en hipotálamo y adenohipófisis, de ratas machos orquidectomizadas tratadas con 5 ug de EB, sc y 48 h más tarde (hora cero en la figura) con 5 mg de progesterona. Fueron decapitadas a intervalos de 24 h por un período de 8 h después de la administración de la progesterona. Cada punto representa el valor promedio + ES.

trógenos sobre la secreción de LH en la rata podría estar genéticamente determinado o relacionado con la acción de ciertos esteroides durante el período en que ocurre la diferenciación sexual.

El efecto facilitador de la progesterona sobre la secreción de LH en la tarde del proestro también se observó en la rata hembra ovariectomizada pretratada con EB.[5, 6] En este modelo se demuestra que el efecto de la progesterona sobre la secreción de LH no se acompaña de cambios significativos en la concentración de receptores citoplasmáticos al estradiol en hipotálamo ni en adenohipófisis. Estos resultados coinciden con un estudio reciente[2] en el cual se usó como modelo la rata hembra de 28 días de edad y se demostró que la progesterona administrada bajo condiciones que facilitan o inhiben el efecto del estradiol sobre la secreción de LH no modifica la concentración de los receptores citoplasmáticos y nucleares presentes en el hipotálamo y en la hipófisis. Tomados en conjunto, todos estos resultados apoyan el concepto de que el efecto sinérgico o antagónico de la progesterona sobre la secreción de LH no es consecuencia de la acción de este esteroide sobre el receptor estrogénico hipotalámico o hipofisiario.

El mecanismo a través del cual la progesterona modula la secreción de gonadotrofinas no es claro aún. Dado que la síntesis de receptores a progesterona en hipotálamo e hipófisis parece depender de la acción de los estrógenos y que la distribución de los mismos en estos tejidos es similar a la del receptor estrogénico,[21, 22] es posible considerar que la secreción de gonadotrofinas podría estar modulada por la progesterona actuando sobre sus propios receptores aumentados por acción de los estrógenos. En favor de esta posibilidad están los trabajos de Schwartz y col.[34] donde se demuestra que algunos efectos inducidos por la progesterona dependen de la disponibilidad de receptores citoplasmáticos a la progesterona en el hipotálamo. Igualmente, los trabajos de Attardi y Palumbo[3] demuestran que la inducción de receptores a progesterona puede ser un prerrequisito para obtener el efecto facilitador de la progesterona sobre la secreción de LH.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento a la Sra. Aurora Prieto, por su valiosa ayuda técnica.

Este trabajo fue financiado por el CDCH-ULA, proyecto M-184-80 y forma parte de la tesis presentada por G. de Bellabarba para optar al grado de Magister en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina-ULA.

REFERENCIAS

1. Abraham, G. E., Swerdloff, R., Tulchinsky, D. y Odell, W. D. *Radioimmunoassay of plasma progesterone.* J. Clin. Endocrinol., 32: 619-624, 1971.
2. Attardi, B. *Facilitation and inhibition of the estrogen-induced luteinizing hormone in rat by progesterone: effects on cytoplasmic and nuclear estrogen receptors in the hypothalamus-preoptic area, pituary and uterus.* Endocrinology, 108: 1487-1496, 1981.
3. Attardi, B. y Palumbo, L. A. *Effects of nafoxidine on the luteinizing hormone surge: temporal distribution of estrogen receptors and induction of cytoplasmic progestin receptors in the hypothalamus-preoptic area, pituitary, and uterus of the immature rat.* Endocrinology, 109: 1365-1374, 1981.
4. Barraclough, Wise, P. M., Turgeon, J., Shander, D., De Paulo, L. y Rance, N. *Recent studies on the regulation of pituitary LH and FSH secretion.* Biol. Reprod., 20: 86-97, 1979.
5. Brown-Grant, K. y Naftolin, F. *Facilitation of luteinizing hormone secretion in the female rat by progesterone.* J. Endocrinol., 53: 37-46, 1972.
6. Brown-Grant, K. *Steroid hormone administration and gonadotrophin secretion in the gonadectomized rat.* J. Endocrinol., 62: 319-332, 1974.
7. Cidlowski, J. A. y Muldoon, T. G. *Sex-related differences in the regulation of cytoplasmic estrogen receptor levels in responsive tissues of the rat.* Endocrinology, 98: 833-841, 1976.
8. Cidlowski, J. A. y Muldoon, T. G. *The dynamics of intracellular estrogen receptor regulation as influenced by 17B-Estradiol.* Biol. Reprod., 18: 234-246, 1978.
9. Chan, L. y O'Malley, B. W. *Mechanism of action of the sex steroid hormones.* N. Engl. J. Med., 294: 1322-1328, 1976.
10. Everett, J. W. *Progesterone and estrogen in experimental control of ovulation time and others features of the estrous of the rat.* Endocrinology, 43: 389-405, 1948.
11. Garza, R., Burns, B., Manlimos, F. y Abraham, G. E. *Radioinmunoassay of plasma progesterone without chromatography.* Anal. Lett., 8: 225-229, 1975.
12. Goodman, R. L. *Quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat.* Endocrinology, 102: 142-150, 1978.
13. Gorski, R. A. *The neuroendocrinology of reproduction: an overview.* Biol. Reprod., 20: 111-127, 1979.
14. Greeley, G. H., Muldoon, T. G. y Mahesh, V. B. *Correlative aspects of luteinizing hormone releasing hormone sensitivity and cytoplasmic estrogen receptor concentration in the anterior pituitary and hypothalamus of the cycling rat.* Biol. Reprod., 13: 505-512, 1975.
15. Hsueh, A. J. W., Peck, E. J. Jr. y Clark, J. H. *Progesterone antagonism of the oestrogen receptor and oestrogen induced uterine growth.* Nature, 254: 337-339, 1975.
16. Jackson, G. L. *Effect of actinomicin D on estrogen-induced release of luteinizing hormone in ovariectomized rats.* Endocrinology, 91: 1284-1287, 1972.
17. Jackson, G. L. *Time interval between injection of estradiol benzoate and LH release in the rat and effect of actinomycin D or ciclohexamide.* Endocrinology, 93: 887-892, 1973.
18. Kalra, S. P. y Kalra, P. S. *Temporal interrelationships among circulating levels of estradiol, progesterone and LH during the rat estrous cycle: effects of exogenous progesterone.* Endocrinology, 95: 1711-1718, 1974.
19. Kalra, S. P. y Kalra, P. S. *Dynamic changes in hypothalamic LH-RH levels associated with the ovarian steroid-induced gonadotrophin surge.* Acta Endocrinol. (Kbh), 92: 1-7, 1979.
20. Kato, J. *Steroid hormone receptors in brain, hypothalamus and hypophysis.* In «Receptors and Mechanism of Action of Steroid Hormones». Part II. Edited by J. R. Pasqualini, pp. 603-672, Dekker, New York, 1977.
21. Kato, J. y Onouchi, T. *Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat.* Endocrinology, 101: 920-928, 1977.
22. Kato, J., Onouchi, T. y Okinaga, S. *Hypothalamic and hypophysial progesterone receptors: estrogenpriming effect, differential localization, 5 α-dyhidroprogesterone binding, and nuclear receptors.* J. Steroid Biochem, 9: 419-427, 1978.
23. Mc Cann, S. M. y Ramírez, V. D. *The neuroendocrine regulation of hypophyseal luteinizing hormone secretion.* Recent Prog. Horm. Res., 20: 131-166, 1964.
24. Mc Ewen, B. S. *Steroid receptor in neuroendocrine tissues, topography, subcellular distribution and functional implications.* In «Subcellular Mechanism in Reproductive neuroendocrinology». Edited by F. Naftolin, K. Ryan and J. Davies, pp. 277-304, 1977. Elsevier, Amsterdam.
25. Mc Ginnis, M. Y., Krey, L. C., Mac Lusky, N. J., y McEwen, B. S. *Steroid receptor levels in intact and ovariectomized estrogentreated rats: an examination of quantitative, temporal and endocrine factors influencing the efficacy of an estradiol stimulus.* Neuroendocrinology, 33: 158-165, 1981.
26. Menon, K. M. J. y Gunaga, K. P. *Cytoplasmic and nuclear receptor-estradiol complex in the hypothalamus and pituitary: relationship with pituitary sensitivity to gonadotropin releasing hormone and gonadotropin secretion in the rat.* Neuroendocrinology, 22: 8-17, 1976.
27. Muldoon, T. G. *Pituitary estrogen receptors.* In «The pituitary». A current Review. Edited by B. M. Allen and V. B. Mahesh, pp. 273-295, Academic Press, Inc. New York, 1977.
28. Muldoon, T. G. y Watson, G. H. *Steroid hormone receptor functionality*

in the brain and anterior pituitary. In «Endocrinology». Edited by I. A. Cumming, J. W. Funder and F. A. O. Mendelsohn, pp. 106-109. Academy of Science, Camberra. 1980.

29. Muldoon, T. G. y Singh, P. *Correlations between control of LH secretion and estrogen receptor dynamics in the anterior pituitary and hypothalamus.* In «Fuctional Correlates of Hormone Receptors in Reproduction». Edited by V. B. Mahesh, T. G. Muldoon, B. B. Sadler, pp. 65-92. Elsevier, North Holland. 1981.
30. Niswender, G. D., Midgley, A. R., A. R., Monroe, S. E. y Reichert, L. E. *Radioinmunoassay for rat luteinizing hormone with antiovine LH serum and ovine LH-131-I.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 128: 807-811, 1968.
31. Parker, C. R., Costoff, A., Muldoon, T. G. y Mahesh, V. B., *Actions of pregnant mare serum gonadotropin in the immature female rat: correlative changes in blood steroids gonadotropins and cytoplasmic estradiol receptors of the anterior pituitary and hypothalamus.* Endocrinology, 98: 129-138, 1976.
32. Shneider, H. P. G. y Mc Cann, S. M. *Estradiol and the neuroendocrine control of LH release in vitro.* Endocrinology, 87: 330-338, 1970.
33. Schwartz, N. B., Dierschke, D. J., Mc Cormack, Ch. E. y Waltz, P. W. *Feedback regulation of reproductive cycles in rats, sheep, monkeys, and humans, with particular attention to computer modeling.* In «Frontiers in Reproduction and Fertility Control». Part II. Edited by R. O. Greep, pp. 55-89. The MIT Press, Massachussets, 1977.
34. Schwartz, S. M., Blaustein, J. D. y Wade, G. N. *Inhibition of estrous behavior by progesterone in rats: role of neural estrogen and progestin receptors.* Endocrinology, 105: 1078-1082, 1979.
35. Sen, K. K. y Menon, K. M. J. *Oestradiol receptors in the rat anterior pituitary gland during the oestrous cycle: quantitation of receptor activity in relation to gonadotrophin releasing hormone mediated luteinizing hormone release.* J. Endocrinol., 76: 211-218, 1978.