

11664



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

EFFECTO DEL NUMERO DE CRIAS LACTANDO Y LA
APLICACION DE NALOXONA SOBRE LA ACTIVIDAD
REPRODUCTIVA POSPARTO EN CABRAS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN PRODUCCION ANIMAL

(OVINOS Y CAPRINOS)

P R E S E N T A

MARIA CONSUELO DUEÑAS SANSON

ASESOR: M. en C. ARTURO ANGEL TREJO GONZALEZ

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2005

m345184



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

A Dios: por darme la oportunidad de vivir un sin fin de experiencias y permitirme disfrutar cada día la más maravillosa de éstas, la de ser mamá. Te agradezco el permitirme vivir en una maravillosa familia, conocer el significado de la amistad y el amor. Te prometo no desperdiciar la oportunidad de vivir cada día que me regalas.

A mis padres: porque siempre han luchado por enseñarme el significado de la palabra hogar y me han demostrado que el amor a los hijos no tiene límites. Gracias por cuidar a lo más importante en mi vida, a mi hijo, porque con su ejemplo, también él va a lograr cumplir sus metas. Los quiero mucho y siempre están en mi mente y corazón. Este también es su triunfo.

A mis hermanas: porque me han enseñado que la familia es lo más importante y para serles sincera, no entendería mi existir sin su presencia. Les comparto este logro y les prometo que siempre le pelearé a la rutina, tiempo para estar juntas, las quiero muchísimo.

A Saby y Beto: han sido el maravilloso primer ejemplo de sonrisas y alegría de un niño en nuestra familia, nunca dejen de serlo, sigan siendo esas estupendas personitas que conozco. Nunca hay que dejar de luchar por lo que deseamos. Los quiero mucho.

A mi hijo: porque me has dado el regalo más grande del mundo: la decisión de ser una mejor mujer para ser tu ejemplo, mi día siempre se iluminará al descubrir tu sonrisa, nunca dejes de hacerlo y confieso que te has vuelto la más hermosa razón de mi lucha interior. *Te amo.*

A Toño: te agradezco todo el amor, comprensión y apoyo brindado en estos años compartidos, es mi compromiso luchar cada instante por conservar el maravilloso regalo de *coincidir* en la vida y estar juntos, ahora tú eres mi familia. Acuérdate que tu felicidad está en mis manos, te prometo nunca darme por vencida para lograrla. Siempre me haces falta. *Te amo.*

A mis suegros y cuñados: gracias por ser mi nueva familia, espero poder estar siempre a su lado, para compartir, disfrutar y luchar a diario.

A mi Doc: usted ha sido uno de los más maravillosos regalos que la vida me ha dado, no tengo palabras para agradecerle tanto, sólo puedo expresarle que desde que lo conocí, aprendo y gozo más la vida y sé que nunca estaré sola. Gracias por su cariño, por los maravillosos momentos compartidos y por su grandioso ejemplo de vida. Lo quiero mucho.

A la Dra. Yolanda, Gaby y Victor: gracias por haberme recibido como una integrante más en su familia y hacérmelo sentir en cada momento compartido. Gracias por sus palabras de apoyo, por compartir mis triunfos y malos momentos. Son otro de mis tesoros y agradezco a la vida, la maravillosa oportunidad de disfrutarla con ustedes. Este también es su triunfo. Los quiero.

A Tere: tu constante presencia en mi vida ha sido un regalo maravilloso, gracias por compartir y tolerar tanto, la amistad que me has brindado, es uno de mis tesoros. Te quiero.

A Ariadna: me haces falta, la distancia es mucha, pero mi cariño y lealtad son mucho más fuertes. No te olvides que eres parte de mi ser.

A Juan Carlos: esta maestría me dio la oportunidad de conocer a quien hoy, considero como a un hermano. Nunca te alejes tanto como para extrañarte. Te quiero.

A Chabela: gracias por estar en mi vida, también por ti, conozco, pero sobretodo, siento y vivo el significado de la amistad.

A Pedro: gracias por compartir tanto y por la amistad sincera que me has proporcionado. Tú también has sido un muy digno ejemplo de vida para mi persona.

A mis chivas y borregos: el gusto es mío.

A la UNAM: porque mi persona se llena de orgullo al saber que soy parte de ti.

ÍNDICE

| | Página |
|--|---------------|
| - RESUMEN | i |
| - ÍNDICE | ii |
| - ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICAS | iii |
| - I.- INTRODUCCIÓN | 1 |
| - II.- REVISIÓN DE LITERATURA | |
| Sistema Nervioso Central | 3 |
| Neuropéptidos | 5 |
| - Clasificación de los neuropéptidos | 6 |
| - Péptidos opioides | 7 |
| Propiedades generales de las neuronas peptidérgicas | 8 |
| - Características citológicas | 9 |
| Biosíntesis de los neuropéptidos | 10 |
| Liberación de neurosecreciones | 11 |
| Degradación metabólica de neuropéptidos | 12 |
| Receptores de neuropéptidos | 12 |
| Transporte de neuropéptidos | 17 |
| Mecanismo de acción de los neuropéptidos | 17 |
| - Distribución de neuronas que contienen β - endorfina | 20 |
| - Biosíntesis de la β - endorfina | 22 |
| - Receptores, transporte y modo de acción de la β - endorfina | 24 |
| Compuestos bloqueadores de los péptidos opioides | 26 |
| Efectos de los opioides endógenos sobre los mecanismos reproductivos | |
| - Ciclo reproductivo | 32 |
| - GnRH | 33 |
| - Gonadotropinas | 35 |
| - LH | 35 |
| - Esteroides | 37 |
| - Prolactina | 37 |
| A) Regulación de los opioides endógenos, sobre la secreción de las gonadotropinas en las diferentes etapas reproductivas | |
| 1) Mecanismos que inducen la supresión de GnRH | |
| Prolactina | 39 |
| Opioides | 40 |

| | |
|--|----|
| 2) LH | 41 |
| B) Relación de los péptidos opioides y la prolactina | |
| 1) Péptidos opioides y la secreción de la prolactina | 45 |
| 2) Mecanismos de acción de la prolactina sobre la secreción de la β - endorfina | 47 |
| C) Regulación de los péptidos endógenos sobre la secreción de oxitocina | 48 |
| 1) Coexistencia de la oxitocina y los péptidos opioides | 48 |
| 2) Receptores a opioides y neuronas productoras de Oxitocina | 49 |
| 3) Neuronas productoras de péptidos opioides y neuronas productoras de oxitocina | 49 |
| 4) Acción de los péptidos opioides sobre las neuronas productoras de oxitocina | 49 |
| Fisiología del anestro posparto | 50 |
| Inducción del estro en rumiantes en anestro posparto | |
| - Control del estro y la ovulación | 62 |
| - Control neuroendocrino de la reproducción en la oveja y cabra | |
| - Inducción del estro con ovulación | 62 |
| - Inducción del estro con ovulación mediante el efecto macho | 63 |
| - Inducción del estro con melatonina | 64 |
| - Inducción del estro con ovulación utilizando GnRH | 65 |
| - Inducción del estro con ovulación utilizando progestágenos | 66 |
| - Inducción del estro con ovulación utilizando progestágenos y gonadotropinas | 67 |
| - Inducción del estro con ovulación utilizando progestágenos y gonadotropinas en anestro lactacional | 67 |
| - Sincronización del estro con ovulación | 69 |
| - Sincronización del estro con ovulación utilizando progestágenos | 69 |
| - Sincronización del estro con ovulación utilizando prostaglandinas F2 α | 70 |
| | |
| - III.- HIPÓTESIS | 72 |
| | |
| - IV.- OBJETIVOS | 73 |
| | |
| - V.- MATERIAL Y MÉTODOS | 74 |
| | |
| - VI.- RESULTADOS | 77 |
| | |
| - VII.- DISCUSIÓN | 93 |
| | |
| - VIII.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 95 |
| | |
| - IX.-LITERATURA CITADA | 96 |

ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICAS

| | Página |
|--|---------------|
| - Cuadro 1. Promedio de tamaño de los folículos ováricos presentes a los 35 y 60 días posparto en cabras sin amantar y amamantando uno o dos cabritos. | 79 |
| - Gráfica 1. Niveles de la hormona luteinizante en cabras amamantando o no, Con uno o dos cabritos, tratadas o no con 1 mg/kg de naloxona. | 80 |
| - Gráfica 2. Niveles de LH en cabras sin amamantar, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto. | 81 |
| - Gráfica 3. Niveles de LH en cabras sin amamantar, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de naloxona a los 36 y 61 días posparto. | 82 |
| - Gráfica 4. Niveles de LH en cabras amamantando un cabrito, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto. | 83 |
| - Gráfica 5. . Niveles de LH en cabras amamantando un cabrito, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de naloxona a los 36 y 61 días posparto | 84 |
| - Gráfica 6. Niveles de LH en cabras amamantando dos cabritos, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto. | 85 |
| - Gráfica 7. . Niveles de LH en cabras amamantando dos cabritos, muestreadas cada quince minutos, antes y después de la aplicación intramuscular de naloxona a los 36 y 61 días posparto | 86 |
| - Gráfica 8. Niveles de estrógenos en cabras sin amamantar, tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 87 |
| - Gráfica 9. Niveles de estrógenos en cabras sin amamantar, y sin tratamiento hormonal. | 87 |
| - Gráfica 10. Niveles de estrógenos en cabras amamantando un cabrito tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 88 |
| - Gráfica 11. Niveles de estrógenos en cabras amamantando un cabrito, y sin tratamiento hormonal. | 88 |

| | Página |
|--|---------------|
| - Gráfica 12. Niveles de estrógenos en cabras amamantando dos cabritos tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 89 |
| - Gráfica 13. Niveles de estrógenos en cabras amamantando dos cabritos, y sin tratamiento hormonal. | 89 |
| - Gráfica 14. Niveles de prolactina en cabras sin amamantar, tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 90 |
| - Gráfica 15. Niveles de prolactina en cabras sin amamantar, y sin tratamiento hormonal. | 90 |
| - Gráfica 16. Niveles de prolactina en cabras amamantando un cabrito tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 91 |
| - Gráfica 17. Niveles de prolactina en cabras amamantando un cabrito, y sin tratamiento hormonal. | 91 |
| - Gráfica 18. Niveles de prolactina en cabras amamantando dos cabritos tratadas con 1 mg/kg de naloxona. | 92 |
| - Gráfica 19. Niveles de prolactina en cabras amamantando dos cabritos, y sin tratamiento hormonal. | 92 |

RESUMEN

Para evaluar la aplicación de naloxona sobre los niveles de LH, estrógenos, prolactina y el crecimiento folicular, se utilizaron 28 cabras entre 2-6 años, encastadas de Nubia, con peso promedio de 38.8 kg, recién paridas. Las cabras se dividieron en seis grupos: IA) Amamantando 2 cabritos, tratadas con solución salina fisiológica (2 hembras); IB) Amamantando 2 cabritos, tratadas con naloxona 1 mg/día (con la mitad de la dosis en la mañana y la otra mitad en la tarde) (3 hembras); IIA) Amamantando 1 cabrito, tratadas con solución salina fisiológica (6 hembras); IIB) Amamantando 1 cabrito, aplicándoles naloxona 1 mg/día (6 hembras); IIIA) Sin amamantar cabritos, tratadas con solución salina fisiológica (5 hembras); IIIB) Sin amamantar cabritos, tratadas con naloxona 1 mg/ (6 hembras). La naloxona y solución salina fisiológica, se inyectaron intramuscularmente del día 4 al 90 posparto. A las cabras se les realizó dos laparoscopías, la primera a los 35 días posparto, coincidiendo con involución uterina y otra a los 60 días posparto, con la finalidad de registrar el número y tamaño de folículos y cuerpo lúteo presentes en los ovarios. Para la medición de LH se utilizaron 2 cabras de cada tratamiento y se realizaron dos series de obtención de muestras sanguíneas cada 15 minutos durante 4 horas, a los 36 y 61 días posparto, las cabras fueron canuladas, tomándose la primera muestra de sangre y de inmediato se aplicó la inyección del tratamiento, centrifugando las muestras a 3500 rpm durante 15 minutos. Los niveles hormonales se determinaron por radioinmunoanálisis. Los datos se evaluaron mediante análisis de varianza con el método de Friedman, para medidas repetidas y comparación de medias utilizando la distribución de "t". Dentro de los resultados, a 36 días posparto los mayores niveles de LH correspondieron a las cabras con 2 cabritos, mientras que a 61 días estos niveles altos, correspondieron a los animales sin cabrito y a las cabras con dos cabritos tratadas con naloxona ($P < 0.0008$). Para los estrógenos, en las cabras sin crías amamantándose, que fueron tratadas con naloxona, los niveles fueron menores que en las no tratadas ($P > 0.05$). No existieron diferencias entre las cabras que alimentaban un cabrito, tratadas y no tratadas con naloxona ($P > 0.05$) y lo mismo ocurrió en las cabras con dos cabritos lactantes ($P > 0.05$). Para la prolactina, se incrementaron los niveles en las cabras amamantando un cabrito o sin amamantar cabritos ($P < 0.05$), mientras que en las cabras con dos crías no hubo diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$). Así mismo, no se encontraron diferencias entre los grupos tratados y los grupos control, estando esto en concordancia con diferentes estudios que han mostrado el efecto de los péptidos en la inhibición de la LH, pero en este trabajo se muestra que la aplicación de la naloxona no cambió las concentraciones de prolactina ($P > 0.05$). Durante el anestro temprano en el posparto, los niveles de LH corresponden más a estímulos uterinos y/o ováricos que a estímulos de lactación, pero conforme aumentan los días posparto, la acción sobre el pezón suele interferir con la actividad hipofisiaria, encontrándose mayores niveles en aquellos animales que no amamantaron y están prácticamente sin leche y en aquellas cabras que habiendo tenido mayor frecuencia de amamantamiento recibieron un tratamiento con naloxona. Cabe señalar, que a los 35 días posparto, las cabras de ambos tratamientos sin cabritos, tuvieron mayor número de folículos de 2 mm ($P < 0.05$). En las cabras tratadas con naloxona, se observa un menor número de folículos de 2 mm, tanto a los 35 y 60 días, pero en ningún caso, fue significativo el desarrollo de folículos de 4 ó 5 mm.

I.- INTRODUCCIÓN

Las características reproductivas suelen ser de baja heredabilidad, por lo que el ambiente ejerce marcada influencia sobre la actividad reproductiva tanto en el macho como en la hembra, considerando al fotoperiodo uno de los factores importantes, por ser el más constante en su variación a través del año, sobre los procesos reproductivos en las cabras y ovejas (Dalton, 1980; Mori, 1992).

Los caprinos en México, presentan períodos de anestro que limitan su capacidad reproductiva y dentro de estos períodos, el anestro posparto o de lactación suele ser importante para el número de días abiertos y por consiguiente para aumentar la producción de leche (Trejo y Pérez, 1987; Zarco *et al.*, 1995; Jainudeen y Hafez, 1989).

En nuestro país, las explotaciones intensivas de caprinos y ovinos son cada vez más numerosas, sin embargo, los altos costos las hacen poco rentables. Esto sugiere la necesidad de disminuir los costos de producción o elevar la eficiencia productiva y reproductiva, mediante el aumento de la fertilidad, la prolificidad y/o reducción en el intervalo entre partos. La obtención de más de un parto por año es fisiológicamente posible, sin embargo, es difícil lograr un parto cada 8 meses debido al anestro posparto y a los procesos de involución uterina. La duración del anestro posparto depende entre otros factores, de la raza, de la época de parición y de la duración de la lactación (Urrutia *et al.*, 1994; Ramos, 1995; Trejo *et al.*, 1996).

El conocimiento de las bases endocrinas de la reproducción y los mecanismos que regulan la secreción hormonal, han permitido el control reproductivo en los animales domésticos con algunas ventajas, por ejemplo, el aumento en el número de partos, disminuyendo el periodo posparto y mejorando genéticamente el rebaño. En particular, uno de los eventos fisiológicos que merece especial atención por su repercusión en los procesos reproductivos, es la lactación. Desde el punto de vista hormonal, se sabe que el amamantamiento es un estímulo que inhibe los pulsos de la hormona luteinizante (LH), sin que se vea involucrada la cooperación de los esteroides ováricos u otro tipo de estímulos (estrés, fotoperiodo, alimentación), directamente actúa en la supresión de la actividad del pulso de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), por lo que la frecuencia de pulsos de la LH es suprimida por los estímulos del amamantamiento (Maeda *et al.*, 1992; Ramos, 1995; Trejo *et al.*, 1996).

Así mismo, el amamantamiento puede incrementar el tono de los opioides hipotalámicos como respuesta al estímulo de amamantamiento, entre los que se encuentra a la β -endorfina, la cual aumenta se incrementa dentro de la circulación portal hipofiseal. y puede causar la supresión de GnRH por un lado y por otro mantiene los niveles elevados de prolactina (PRL). La administración de bloqueadores de receptores a opioides, como la naloxona (NAL) puede resultar en un incremento de la secreción de la LH y un decremento en la PRL, aunque en borregos este factor puede ser observado tanto en hembras con amamantamiento o sin amamantamiento posparto, sugiriendo que esta respuesta está más relacionada a efectos posteriores de altos niveles de prolactina durante la gestación (McNelly *et al.*, 1994; Sarkar *et al.*, 1988).

Por lo que el objetivo del presente experimento fue el de evaluar la aplicación de naloxona como inhibidor de la β endorfina en dosis diarias, midiendo esta respuesta como cambios en los perfiles de LH, estrógenos, prolactina y actividad ovárica en cabras posparto amamantando o no, con uno o dos cabritos.

II.-REVISIÓN DE LITERATURA.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Es indudable que el avance de la ciencia va estrechamente ligado al desarrollo de métodos y al diseño de tácticas y estrategias adecuadas que permitan dar respuestas precisas a las interrogantes concretas que la naturaleza de tal o cual disciplina plantean. Entender el funcionamiento del sistema nervioso central, ha sido sin lugar a dudas, uno de los problemas que más ha fascinado y preocupado al científico. Sus esfuerzos, sin embargo, han sido pobremente recompensados en virtud de la enorme complejidad anatómica y funcional del sistema nervioso central (De la Mora *et al.*, 1990).

Desde los trabajos de los grandes anatomistas del siglo XIX, quienes se preocuparon por comprender la estructura del cerebro, los enfoques del estudio del cerebro, han sufrido cambios notables. El hecho de aceptar a la neurona, como una unidad independiente, tanto desde el punto de vista anatómico como funcional, llevó a la idea de que en el entendimiento de los mecanismos que permiten la comunicación entre las neuronas, daría las bases para explicar el funcionamiento del sistema nervioso. De ahí que en el siglo xx los estudiosos del sistema nervioso hayan enfocado su atención principalmente sobre los mecanismos determinantes de la comunicación neural y su control (Sandoval y Lara, 1990).

El sistema nervioso de un animal en desarrollo es susceptible a estímulos ambientales, de origen exógeno o endógeno (Hayashi y Okamura, 1992). Una de las interrogantes más importantes acerca del cerebro, es su relación entre su estructura y el comportamiento, por lo que se han desarrollado estudios bajo el concepto de neurofisiología. Desafortunadamente, la complejidad de la estructura del cerebro dificulta la interacción de sus componentes a sus capacidades. El cerebro está compuesto por 180 billones de células y de éstas, 50 billones están involucradas en el procesamiento de información (Kolb y Whishaw, 1990).

Las células germinales de un embrión en desarrollo, presentan dos tipos primitivos de células del sistema nervioso: los neuroblastos y espongioblastos. Las primeras, desarrollan a neuronas o células nerviosas, las cuales forman las unidades funcionales del sistema nervioso. El segundo tipo de células desarrollan a las células gliales, que son las que proveen varios tipos de funciones de soporte a las neuronas (Kolb y Whishaw, 1990).

La organización anatómica y funcional del sistema nervioso central ha evolucionado a través del tiempo, presentando finalmente la siguiente división anatómica:

| DIVISIONES PRIMITIVAS DEL CEREBRO | DIVISIONES DEL CEREBRO DE LOS MAMÍFEROS | PORCIÓN DEL DESARROLLO DEL CEREBRO HUMANO | DIVISIONES FUNCIONALES |
|-----------------------------------|---|---|------------------------|
| Procencéfalo | Telencéfalo | Neocorteza | Cerebro anterior |
| | | Ganglios basales | |
| | | Sistema límbico | |
| | Diencefalo | Bulbo olfatorio | |
| | | Ventrículos laterales | |
| | | Tálamo | Cerebro medio |
| Epitálamo | | | |
| Hipotálamo | | | |
| Cuerpo espinal | | | |
| Tercer ventrículo | | | |
| Mesencéfalo | Mesencéfalo | Tecto | |
| | | Tegumento | |
| | | Acueducto cerebral | |
| Romboencéfalo | Metencéfalo | Cerebelo | |
| | | Pons | |
| | | Cuarto ventrículo | |
| | Mielencéfalo | Médula oblongada | |
| | | Cuarto ventrículo | |
| | | | Cordón espinal |

Por su parte, el hipotálamo está compuesto por 22 pequeños núcleos con sistemas de fibras que pasan hasta la hipófisis. Aunque sólo representa el 0.3% del peso total del cerebro, el hipotálamo está involucrado en los aspectos de comportamiento, alimentación, comportamiento sexual, regulación térmica, funciones endocrinas y movimiento (Kolb y Whishaw, 1990). Estudios de inmunocitoquímica han revelado que las células productoras de la GnRH, están principalmente localizadas en la parte rostral del encéfalo, área de septum y área preóptica, extendiendo sus axones a dos áreas, principalmente del hipotálamo: la eminencia media y el órgano vasculoso de la lámina terminal (Norman, 1981; Hayashi y Okamura, 1992).

El hipotálamo es el área donde se incluyen las neuronas que producen los factores de liberación e inhibición de diferentes hormonas. El descubrimiento de su relación entre éste y la glándula pituitaria, enfatiza el potencial que representa sobre el sistema reproductivo. La introducción del hipotálamo dentro de los eventos endocrinológicos y de la glándula pituitaria, como mediador entre éste y las gónadas, dan las bases de la reproducción (Feder, 1981).

El núcleo supraquiasmático del hipotálamo está en íntimo contacto con la glándula pituitaria y es el punto sensible de contacto para la regulación de ésta por parte de los esteroides como lo son los estrógenos y la progesterona. Así mismo, la lesión del núcleo arcuato causa la liberación de gonadotropinas por una abrupta secreción de la hormona

liberadora de gonadotropinas por daño en las neuronas hacia el sistema portal (Feder, 1981).

Cabe señalar que el estudio de los péptidos relacionados con la actividad nerviosa ha llevado a la descripción de nuevos mecanismos de acción de los mediadores químicos. Así, algunos péptidos originan respuestas que no son clásicas en sus características de inhibición o excitación, lo cual dio origen al nuevo concepto de neuromodulador (Sandoval y Lara, 1990).

Florey en 1967, citado por Sandoval y Lara, (1990) propone por primera vez, el concepto de sustancias moduladoras, incluyendo “cualquier sustancia de origen celular, no sináptico, afecta la excitabilidad de las células nerviosas y que representa un lazo normal en los mecanismos reguladores que gobiernan el funcionamiento del sistema nervioso”. En esta categoría han sido incorporadas fundamentalmente las catecolaminas y los neuropéptidos.

NEUROPEPTIDOS

La historia de nuestro conocimiento sobre los péptidos bioactivos, ejemplifica cómo diversas clasificaciones han servido en su momento como marcos conceptuales dentro de las cuales se entendía la existencia y la función de estas cadenas de aminoácidos en los seres vivos, y aún en sus deficiencias y errores, se advierte el origen de posibilidades más interesantes y de relaciones antes insospechables (Valverde y Bayón, 1990).

Hace apenas dos decenios, los péptidos bioactivos conocidos eran etiquetados como hormonas de la hipófisis, las glándulas de secreción endocrina, tracto gastrointestinal o factores de liberación (en el hipotálamo) y la función que les era atribuida o el blanco de su acción, aún están patentes en los nombres que conservan. Aunque los conceptos de hormona y factor de liberación fueron fundamentales para el desarrollo de nuestras ideas actuales sobre las relaciones entre los sistemas nervioso y endocrino, al usarlos como base de una clasificación de las sustancias que mediaban estas acciones, los péptidos aparecían reducidos a la función que les dio ese nombre. Esta idea, si bien estimuló la búsqueda y llegó al descubrimiento de nuevas hormonas y factores de liberación, desalentó la exploración de otras funciones y localizaciones para los péptidos bioactivos. El fenómeno se dio en forma tan acentuada que cuando se obtenía indicación de la localización de un factor hormonal fuera de su “sitio de origen” era porque éste había sido redescubierto en su nueva localización, como en el caso de la sustancia “P” descubierta en el tracto intestinal y años después en la hipófisis (Valverde y Bayón, 1990).

Al inicio del decenio pasado, estos ejemplos se multiplican y la investigación preliminar de las acciones de distintos péptidos en muy diversas localizaciones (entre las que destacaba el sistema nervioso, tanto central como periférico), no sólo mostró la fragilidad de su liga excluyente con la función con que históricamente se les asoció, sino que fortaleció las ideas que entonces surgían sobre nuevas modalidades de transmisión de señales en el sistema nervioso. Así, un neuropéptido, y por supuesto otros mensajeros químicos, pueden actuar en distintas rutas y distintos tipos de comunicación: de sináptica a

endocrina, de neurotransmisión a neuromodulación, dependiendo de la organización funcional del sistema que transmite la información y de las modalidades de interpretación de los mensajes (Valverde y Bayón, 1990).

CLASIFICACIÓN DE LOS NEUROPEPTIDOS

Los péptidos opioides del cerebro están presentes en el sistema nervioso periférico autónomo, en glándulas exócrinas y endocrinas y en el sistema endocrino difuso en la mucosa gastrointestinal, tracto respiratorio y tracto genitourinario (Müler, 1989). Así mismo, los péptidos endógenos están involucrados en la regulación del consumo de alimentos (Cook, 1999; Hatfield *et al.*, 2000) y comportamiento materno (Jarvis *et al.*, 1999; Byrnes, *et al.*, 2000).

Es interesante el papel que juegan los péptidos opioides en el aprendizaje y la memoria, así como en la palatabilidad de los alimentos entre otros. Diversos estudios se enfocan en la inhibición de estos péptidos sobre las funciones gastrointestinales, su potencial terapéutico, mediadores de las funciones cardiovasculares y su relación con las funciones inmunes. Así mismo, los péptidos endógenos participan en el comportamiento sexual y producción espermática. La contribución de los péptidos opioides en la producción de LH en la borrega es alta durante la fase activa de reproducción comparado con la fase de anestro, por otro lado, los péptidos endógenos están involucrados en la gestación y otras funciones reproductivas, donde la β -endorfina tiene conexiones directas con las neuronas de GnRH (Parvizi, 2000; Vaccarino y Kastin, 2000).

Un opiáceo es una sustancia derivada del opio como la morfina y la codeína, mientras que el opioide es una sustancia endógena con actividad morfinoide (endorfinas, encefalina y dinorfinas). Las endorfinas se derivan de la fragmentación de la prepropiomelanocortina, siendo la hormona β -lipotropina un producto intermedio del cual se deriva la β -endorfina. Las encefalinas son péptidos derivados de la preproencefalina. Las dinorfinas se clasifican en endorfina α y β (Lorenzana, 2002).

Las endorfinas son distribuidas en el lóbulo anterior e intermedio de la glándula hipófisis y en el hipotálamo. En cuanto a su periodo de actividad, son estables durante varias horas (Lorenzana, 2002).

Un gran número de péptidos y proteínas tienen funciones farmacológicas importantes como neurotransmisores y neuromoduladores. Estas hormonas circulantes se han identificado junto con sus sucesiones de aminoácidos. Son consideradas estructuras polipéptidas en sus formas biológicamente activas. Al parecer hay tres categorías generales. El primer grupo consiste de una cadena corta de péptidos, tal como el residuo opioide de cinco aminoácidos metionina-encefalina (Met5-encefalina) y leucina-encefalina (Leu5-encefalina), donde esencialmente la estructura entera constituye el sitio específico de reconocimiento que determina sus interacciones con los receptores celulares de superficie y posiblemente con otras moléculas. Las actividades y conformaciones de estos péptidos se determinan enteramente, y se ha hecho un gran número de investigaciones sistemáticas mediante compuestos sintéticos análogos, que frecuentemente incorporan restricciones

conformacionales (Hruby, 1982) a la manera de los estudios farmacológicos clásicos de moléculas orgánicas pequeñas. Un segundo grupo de hormonas polipéptidas consisten de estructuras más complejas que son suficientemente grandes para ser restabilizadas en solución acuosa por la formación de un núcleo hidrofóbico. Los compuestos de este tipo, tal como insulina o la hormona del crecimiento, pueden tener interacciones con sitios obligatorios que involucran los residuos de aminoácidos bien separados en la cadena péptida, pero retiene una conformación particular por la estructura terciaria de la molécula. En este caso, los sinérgicos sintéticos son más difíciles de preparar, pero puede ser posible sacar conclusiones directamente desde el estudio de una solución o estructura de cristal con la asistencia única de sinérgicos, posiblemente incluyendo las variantes de especies y análogos preparados por un químico directo, modificando sitios específicos de residuos de aminoácidos dirigido a la mutagénesis del gen correspondiente. La tercera y última categoría de hormonas peptídicas consisten de polipéptidos que tienen estructuras propias de naturaleza intermedia. Estos péptidos frecuentemente consisten de una sola cadena de 10 a 50 residuos de aminoácidos y comúnmente un único o ningún puente de sulfóxido (Taylor y Kaiser, 1986; Parvizi, 2000).

PÉPTIDOS OPIOIDES

El descubrimiento de los receptores específicos para morfina y otros opioides, han dado un impulso a la investigación de los componentes endógenos capaces de unirse selectivamente a éstos. Ciertos estudios han demostrado que en el sistema nervioso central, ocurren dos clases de péptidos opioides: los péptidos de cadena corta (encefalinas) y los péptidos de cadena larga (β -endorfinas). En los siguientes años se fueron descubriendo diversos péptidos los cuales poseían actividades analgésicas actualmente una de las clasificaciones de los péptidos opioides se les clasifica en seis grupos:

- 1.- Péptidos opioides consistentes de cinco aminoácidos como la metionina-encefalina (Met-encefalina) y la leucina-encefalina (Leu-encefalina).
- 2.- Péptidos formados o presumiblemente formados desde los precursores de la encefalina, es decir de la proencefalina, entre las que se encuentra la β -neoendorfina
- 3.- β -endorfina y otras endorfinas relacionadas (α y γ).
- 4.- Péptidos del tipo β casomorfina, presente en la leche de la vaca.
- 5.- Kiotorfina, la cual estimula la biosíntesis e inhibe la degradación de la encefalina.
- 6.- Dermorfina.

La reciente observación de que la degradación enzimática de un gran polipéptido puede dar origen a fragmentos con secuencias en común pero con acciones distintas y a fragmentos diferentes cuyas acciones ocurren en concierto, ha sugerido la existencia de verdaderas familias de péptidos. Estas familias expresan su función en las diferencias

regionales – anatómicas o citológicas- en el manejo metabólico de sus precursores y en los cambios de estos manejos durante el desarrollo. Los péptidos destinados a la secreción, se sintetizan en general como parte de cadenas más largas de aminoácidos, cuya subsecuente fragmentación intracelular deja libre la secuencia que ha de liberarse fisiológicamente. Pero los sitios de la cadena en que ocurre esta fragmentación pueden ser distintos en diferentes tejidos. Así, por ejemplo, el precursor propiomelanocortina se segmenta en las células corticotrofas de la adenohipófisis para producir y liberar a la circulación corticotrofina y β -lipotropina; en el hipotálamo basal, las neuronas que lo contienen producen preferentemente β -endorfina, que es el segmento carboxilo terminal de la β -lipotropina (Valverde y Bayón, 1990).

Los opioides endógenos son péptidos producidos en diferentes partes del cuerpo y en especial en el cerebro. Las acciones de los opioides están particularmente descritas en tres sistemas neuroendocrinos reproductivos (Russell *et al.*, 1998):

- a).- La regulación de las neuronas secretoras de GnRH y por lo tanto de la secreción de la LH y la hormona folículo estimulante (FSH), repercutiendo así, en la gametogénesis, producción de esteroides sexuales y comportamiento sexual.
- b).- Control de la secreción de la oxitocina desde la glándula pituitaria posterior, con un particular papel durante la gestación y el parto.
- c).- Regulación de la secreción de PRL, desde la pituitaria anterior por acción en las neuronas productoras de los factores hipotalámicos que controlan la secreción de esta hormona.

Diferentes estudios han demostrado el efecto de los péptidos en la inhibición de la liberación de la LH, fuera de la estación reproductiva, demostrando que la aplicación de un antagonista opioide, como la NAL, no cambia las concentraciones de PRL (Aurich *et al.*, 2002)

En lo que corresponde a la acción de los opioides sobre la secreción de GnRH y oxitocina es inhibitorio, aunque estos mecanismos no son siempre activos, ya que son sensibles a los niveles de hormonas esteroidales sexuales. En contraste, los opioides generalmente estimulan la secreción de PRL, así como la síntesis y secreción de leche (Russell *et al.*, 1998). Así mismo, existen reportes de que los péptidos opioides regulan la secreción de la hormona del crecimiento (Aurich *et al.*, 1999).

PROPIEDADES GENERALES DE LAS NEURONAS PEPTIDÉRGICAS

Desde hace varios decenios ha venido reforzándose la noción de que en el mantenimiento de la homeostasis corporal y la ejecución de patrones muy variados de conducta, se manifiesta una fina integración entre los sistemas nervioso y endocrino. La regulación de las funciones adenohipofisiarias por neuronas peptidérgicas hipotalámicas resulta ser un caso particular de un fenómeno mucho más general. La liberación de péptidos en la circulación general o en espacios más restringidos del ambiente extracelular ocurre en

muy distintas regiones del organismo: tanto en el sistema nervioso central como en la periferia (Bravo *et al.*, 1990).

El incremento en el aislamiento, secuencia y síntesis de los neuropéptidos han permitido su caracterización química así como su identificación en muchas de las áreas del cerebro, los cuales se encuentran en altas concentraciones en el hipotálamo como lo es la proopiomelanocortina, de la que se deriva la β -endorfina (Müller, 1989).

CARACTERÍSTICAS CITOLÓGICAS

Los componentes del sistema opioide de los péptidos están presentes en el cerebro en edades tempranas del desarrollo, iniciando la expresión del gen proopiomelanocortina en la pituitaria al final de la gestación y en el caso de la borrega alrededor del día setenta de la gestación (Parvizi, 2000).

El establecimiento de las neuronas peptídicas como un grupo conspicuo de elementos celulares con propiedades comunes y distinguibles de las de otras neuronas, se afianzó inicialmente sobre bases morfológicas. Ya en el segundo decenio del siglo pasado, Speidel (1919) mostró en la médula espinal la existencia de neuronas que presentaban características morfológicas semejantes a las de células secretoras. Posteriormente, Scharrer (1928, 1945) y Bargmann (1966) (Citados por Bravo *et al.*, 1990) identificaron elementos similares en el hipotálamo de diversas especies y otros autores caracterizaron neuronas análogas en el sistema nervioso central de invertebrados. Paralelamente, se descubrió que los grupos de neuronas más representativas de esta estirpe, presentaban en común la propiedad de estar congregadas en núcleos. De los cuerpos neuronales, de diámetro superior al promedio de las células nerviosas, se observó la emergencia de un largo axón, que se extiende hasta un órgano neurohemal, como la neurohipófisis en el vertebrado. Ahí, las terminales axónicas establecen contacto anatómico con la circulación sanguínea. La microscopía electrónica reveló que los productos de secreción se almacenan en forma de gránulos de 50 a 200 nm, llenos de material opaco a los electrones y, por ende, distintos a las vesículas sinápticas, habitualmente translúcidas y con menos de 30 nm de diámetro. Tal organización citológica confirmó la idea de que la función básica de estas neuronas es la secreción de hormonas. La identificación ulterior de la estructura química de estos productos de secreción, demostró su naturaleza peptídica. En los núcleos supraópticos y paraventricular del hipotálamo, se identificaron sustancias de naturaleza peptídica, estableciendo así la comparación entre neurona secretora y neurona peptidérgica. Sin embargo, en años recientes, gracias a los avances en procedimientos de análisis bioquímico y en inmunocitología, se han encontrado que el conjunto de las neuronas peptidérgicas es mucho más vasto de lo que se había supuesto. Virtualmente no hay región del sistema nervioso donde no se le haya detectado y, desde luego, muchas de estas células no parecen terminar en espacios sanguíneos. Incluso se ha llegado a postular la existencia de verdaderas sinapsis peptidérgicas (Bravo *et al.*, 1990).

BIOSÍNTESIS DE LOS NEUROPEPTIDOS

Para entender el papel de los péptidos opioides en el sistema nervioso central, es necesario conocer los mecanismos involucrados en su biosíntesis, liberación y degradación metabólica. Estos péptidos se originan por la degradación enzimática de proteínas de alto peso molecular (prohormona), usualmente inactiva y sintetizada bajo el control del ácido ribonucleico mensajero (RNAm) a un nivel ribosomal. Probablemente el retículo endoplásmico está involucrado en su biosíntesis (Müller, 1989).

A diferencia de los aminoácidos neurotransmisores, que pueden ser sintetizados en la terminal nerviosa, los neuropéptidos se sintetizan, como el resto de las proteínas, en los ribosomas localizados en el soma neuronal. Los axones y terminales parecen ser incapaces de realizar cualquier forma de síntesis mitocondrial de proteínas. En suma, la síntesis de neuropéptidos se realiza en los ribosomas del retículo endoplásmico, en forma análoga a la síntesis proteica en la mayoría de las células secretoras (Bravo *et al.*, 1990).

Un avance de importancia en el estudio de los mecanismos de biosíntesis de péptidos ha sido la caracterización y aislamiento de los RNAm que migran la información para la síntesis del precursor. Así mismo, mediante procedimientos de ingeniería genética se han logrado copias del RNA al ácido desoxirribonucleico (ADN) complementario, el cual ha sido luego introducido a bacterias con objeto de producirlo en cantidades suficientes para caracterizar la secuencia de aminoácidos del precursor. El neuropéptido se sintetiza sobre los ribosomas del retículo endoplásmico rugoso a partir de la información cifrada en el RNAm correspondiente. En una primera etapa se genera un prepeptido. Su secuencia de aminoácidos es la señal que da lugar a su internalización dentro del lumen del retículo. Una vez dentro, el prepeptido se desplaza hasta el aparato de Golgi, donde es sujeto a varias modificaciones postraduccionales (glicosilación, metilación, etc.). Es ahí también, donde se establece su compartimentalización en gránulos, dentro de los cuales será transportado hasta la terminal (Bravo *et al.*, 1990).

Müller en 1989, menciona que las enzimas involucradas en la biosíntesis de los precursores de los péptidos opioides son del tipo de tripsinasas como las endopéptidasas y la n-carboxipéptidasas. Sin embargo, no se sabe aún si existen enzimas específicas para varios precursores o si existen procesos enzimáticos comunes a todas las prohormonas.

Aún es mucho lo que queda por investigar en cuanto a las diferentes etapas y mecanismos participantes en la biosíntesis de neuropéptidos y hasta la fecha ignoramos la respuesta a interrogantes tan fundamentales como si las distintas familias de péptidos comporten un precursor común, si existen precursores diferentes para cada familia. Lo que sí se sabe, es que de un precursor, como en el caso de la proopiomelanocortina, pueden derivar varios neuropéptidos, como la β -endorfina, β -MSH, la β -LPH, la ACTH, la α -MSH y la γ -MSH, cada uno con funciones diferentes, que varían desde la estimulación de células cromáticas en la piel, o la de células adiposas, a diversos efectos sobre el sistema nervioso. Parece ser que el mismo precursor puede ser degradado preferencialmente en cierta célula hasta ciertos productos y en otra célula hasta otros, dependiendo esta opción de modificaciones postraduccionales que puede sufrir el precursor (Bravo *et al.*, 1990).

LIBERACION DE NEUROSECRECIONES

De manera general, los neuropéptidos están mayormente concentrados en las terminales nerviosas o en las terminales sinaptosomales y su liberación es dependiente del calcio ocurriendo una despolarización neuronal inducida por un exceso de potasio o estimulación eléctrica. La liberación de los neuropéptido también puede ser estimulada o inhibida por la aplicación de neurotransmisores u otros péptidos, indicando la existencia de neurotransmisores de péptido a péptido lo cual es un importante paso en el control neurohormonal o neuromodulador de los péptidos (Müller, 1989).

El mecanismo de liberación más comúnmente aceptado para los productos de neurosecreción es la exocitosis. Según esta hipótesis, la membrana de la vesícula entra en contacto con la cara interna de la membrana de la terminal axónica, se fusiona con ella y el contenido del gránulo, ya sin membrana, es expulsado de la célula. La liberación comprende varias etapas:

1. *Despolarización de la membrana de la terminal neurosecretora.* Este fenómeno, actualmente ha demostrado para la liberación de neurotransmisores, ha sido comprobado para un gran número de sistemas neurosecretores y no parece haber duda acerca de que la liberación de sustancias en las terminales nerviosas se inicia con la despolarización de la membrana de la terminal axónica. En condiciones fisiológicas, el cambio en el potencial de membrana se suscita cuando la terminal es invadida por la llegada de un potencial de acción iniciado en algún punto de la neurona, comúnmente cerca del soma. Sin embargo, no es indispensable que el cambio de potencial alcance toda la magnitud de un potencial de acción, basta con despolarizaciones menores, para que en forma proporcional a la magnitud de dicha despolarización, se libere la sustancia de la neurosecreción. En el orden fisiológico, la cantidad de sustancia liberada es en función de la frecuencia y el número total de impulsos que arriban a la terminal.

2. *Entrada de calcio a la terminal.* Al igual que la etapa anterior, esta entrada fue demostrada inicialmente para la liberación de neurotransmisores que luego se hizo extensiva a la secreción de péptidos en el sistema nervioso. Como la permeabilidad al calcio depende del potencial de membrana, la entrada de este ión aumenta en forma proporcional con la despolarización. La despolarización por sí misma resulta insuficiente para causar la liberación de neurosecreciones. Se ignora aún el mecanismo por el cual, el calcio induce la liberación de neurosecreciones, se ha planteado que aumenta la fluidez del citoplasma o de las membranas del gránulo y de la terminal. También se supone que por interacción eléctrica, neutralizando carga superficiales de membrana, promueve la aproximación de los gránulos a la cara interna de la terminal. Recientemente se ha propuesto que el calcio también puede ser liberado a partir de la propia membrana, o de depósitos intracelulares y que sus efectos se ejercen mediante la liberación de mensajeros intracelulares como el AMP cíclico o las prostaglandinas. Existen datos indicativos de que para producir su efecto liberador de neuropéptidos, el calcio intracelular debe unirse a una proteína, la calmodulina, con 16700 daltones de peso molecular, que actúa como receptor específico para este ión.

3. *Exocitosis*. Sea cual sea el mecanismo inmediato, el resultado es la fusión entre la membrana del gránulo y la de la terminal. Estas figuras de exocitosis coinciden con un aumento en el número de vesículas claras en el interior de la terminal durante la liberación, por lo que se ha propuesto que sean los remanentes de las membranas granulares. Con técnicas de criofractura se ha logrado confirmar la exocitosis durante la secreción de neuropeptidos. Si bien este parece ser el mecanismo más común de liberación, de neuropeptidos, no puede excluirse la posibilidad de que éstos se liberen también por otros mecanismos, o bien en otros sitios de la neurona. De hecho, en las prolongaciones axónicas suelen observarse "lagunas" intracelulares donde abundan gránulos de secreción. Sin embargo, no hay pruebas de que se liberen ahí (Bravo *et al.*, 1990).

DEGRADACION METABOLICA DE NEUROPEPTIDOS

Los sitios de ruptura en la molécula son siempre los mismos, lo que indica cierta especificidad de las peptidasas que actúa sobre ellos, una vez liberados en la sangre, es probable que la degradación sea el mecanismo principal de inactivación de los péptidos. Sin embargo, aún no está del todo claro si las peptidasas actúan sobre el neuropeptido en condiciones fisiológicas, afectando su almacenamiento, liberación o acción. Falta también información sobre su localización subcelular. Así por ejemplo, una peptidasa presente en el espacio intersináptico o cerca del receptor, tendrá más posibilidades que aquella localizada en células gliales para modular la acción de un péptido sobre la membrana postsináptica. La mayoría de las peptidasas descritas son más específicas para un enlace peptídico dado que para el péptido íntegro. Otro fenómeno que pudiera intervenir para finalizar la acción del péptido es la captación. Una vez liberado, podría capturarlo una célula presináptica, o bien, la célula postsináptica o los elementos gliales, donde sería degradado a sus aminoácidos constitutivos. De hecho, las células peptidérgicas, en sistemas en que se les ha estudiado, exhiben una notoria incapacidad para captar sus productos de secreción (Bravo *et al.*, 1990; Russell *et al.*, 1998).

RECEPTORES DE NEUROPEPTIDOS

Los efectos descritos a los péptidos sobre la secreción de hormonas, el comportamiento o la actividad eléctrica en el cerebro y la hipófisis, sugieren la presencia de receptores en estos lugares. Se supone que dichos receptores se encuentran sobre la membrana plasmática de la célula blanco. Así, el primer paso en acción de estas sustancias es su unión al receptor, fase que puede estudiarse midiendo el ligamen de un péptido radioactivo a su órgano blanco y que debe cumplir con requisitos análogos de cualquier neurotransmisor o neuromodulador, es decir, ser rápida, reversible, saturable y de alta afinidad. El porcentaje de ligamen observado, que corresponde al de unión receptor, puede ser bajo para los péptidos porque éstos tienden a absorberse inespecíficamente en mayor proporción que las catecolaminas. Para que esta unión resulte funcional es preciso que vaya seguida de un suceso efector que induzca una alteración en la célula blanco. Los estudios de unión definen sólo sitios que pueden ser o no el receptor fisiológico y tiene que ser complementados con otros como la respuesta biológica a consecuencia de la unión del péptido (Bravo *et al.*, 1990).

El receptor peptídico mejor conocido en el cerebro es el de los opioides. Su presencia fue demostrada por la observación de sitios de unión estereoespecíficos para opiáceos, incluso antes de que se hubieran caracterizado los ligandos endógenos. Este receptor se encuentra probablemente en membranas neuronales pre y postsinápticas. Los iones de sodio debilitan la unión de los antagonistas y refuerzan la de los sinérgicos, lo que permite distinguir entre los ligandos y sugiere que la unión del ligando produce cambios en el estado de conformación del receptor. El sitio de unión estereoespecífico es saturable y de alta afinidad. Se admite que en la unión participan proteínas y fosfolípidos, ya que se rompe al tratar las membranas con proteasas, reactivos sulfhídricos y fosfolipasa "A" (Bravo *et al.*, 1990).

También se encuentran en altos niveles de receptores y péptidos en interneuronas en el hipotálamo, lo que ha sugerido que los péptidos opioides participan en la regulación neuroendócrina (Bravo *et al.*, 1990). Respecto a la identificación de neuronas que poseen receptores opioides y que median los efectos de éstos, se ha sugerido que en las neuronas gonadotrópicas poseen este tipo de receptores en las dendritas, axones y sus terminales nerviosas (Kalra *et al.*, 1989).

Poco se conoce sobre los posibles efectos de los esteroides gonadales sobre la síntesis de receptores opioides. El aumento en la unión a opioides se ha informado en homogenizados hipotalámicos de ratas ovariectomizadas expuestas crónicamente a niveles fisiológicos de estrógenos comparadas con animales tratados con vehículo (Wilkinson *et al.*, 1983; Wilkinson *et al.*, 1985; Quiñones-Jenab *et al.*, 1997).

Sin embargo, la exposición a corto plazo a estrógenos y progesterona ha resultado en disminuir (Kelner *et al.*, 1980) o aumentar los receptores a opioides (Mateo *et al.*, 1992; Quiñones-Jenab *et al.*, 1997). Así mismo, Maggi *et al.* (1993) usó ligado específico de receptor para estudiar los receptores en el hipotálamo de la rata y mostrar evidencia de una reducción en la densidad sobre el término del pro-estro (Thom *et al.*, 1996).

Aunque fue esclarecido a mitad de los años sesenta la acción de los productos sinérgicos y antagonistas a los opioides se pudo explicar mejor su acción a través del conocimiento de sus receptores, siendo la primera evidencia convincente para este concepto, los trabajos realizados por Martin y sus colaboradores en 1976. Sus observaciones de comportamiento y neurofisiológicas en la columna espinal en el perro propusieron la existencia de tres tipos de receptores opioides. Estos receptores fueron nombrados después (Malven, 1986; Müller, 1989; Cosgrove *et al.*, 1993; Russell *et al.*, 1998):

1).- Mu (μ), por morfina, el cual induce analgesia, miosis, bradicardia, hipotermia e indiferencia a los estímulos ambientales.

2).- Kappa (κ), por ketociclazosina, la cual produce miosis, sedación general y depresión de los reflejos flexores.

3).- Sigma (σ) por SKF 10047, la cual induce midriasis, incrementa la respiración, taquicardia y delirio.

4).- Delta (δ) por deferente debido a que está presente en el vaso deferente del ratón.

Debido a que posteriormente Mannalack *et al.*, en 1986 demostraron que σ receptor no es de naturaleza opioide, se clasifico farmacológicamente tres tipos de receptores opioides: μ , δ , y κ .

En el siguiente cuadro se describen los tipos de receptores aceptados por la Unión Internacional de Farmacología (IUPHAR). La descripción genérica de estos receptores los cuales actúan como sinérgicos se identifica como OP debido a que el receptor δ , fue el primero en ser clonado, se renombro como OP₁, y los receptores κ y μ fueron posteriormente clonados recibieron los nombre de OP₂ y OP₃ respectivamente (Dhawan *et al.*, 1996).

| LIGANDO OPIOIDE ENDOGENO PREFERENCIAL | RECEPTOR OPIOIDE | | |
|---|-------------------------|-------------------------------|--|
| | RECOMENDACIÓN IUPHAR | NOMENCLATURA FARMACOLÓGICA | NOMENCLATURA BIOLÓGICA MOLECULAR |
| Encefalinas | OP ₁ | δ | DOR (deferente) |
| Dinorfinas | OP ₂ | κ | KOR (ketociclazocina) |
| β -endorfina | OP ₃ | μ | MOR (morfina) |

Así mismo, existe evidencia de la posible existencia de otros tipos de receptores opioides. En particular, el receptor epsilon (ϵ), receptor zeta (ξ) y lambda (λ) aunque se sugiere que pueden corresponder a subtipos de los receptores μ o κ (Dhawan *et al.*, 1996).

Como se mencionó anteriormente, los diversos efectos fisiológicos de los péptidos opioides endógenos son mediados por tipos múltiples receptores de opioides, los más definidos de estos a la fecha, son los μ y δ (Thom *et al.*, 1996). Entre estos efectos, los receptores μ actúan en la respiración, funciones cardiovasculares, tránsito intestinal, alimentación, aprendizaje, memoria, actividad locomotora, termorregulación, secreción hormonal y funciones inmunes, de todas éstas, exceptuando la secreción hormonal, son muchas veces disminuidas al estimular estos receptores (Dhawan *et al.*, 1996).

Posteriormente se descubren las encefalinas y estudian las propiedades de los opioides usando métodos de unión radioligando en tejidos periféricos. Lo cual demostró que los receptores opioides están presentes no sólo en el sistema nervioso central, si no también en el periférico (Dhawan *et al.*, 1996).

La literatura indica que en hembras de otras especies así como en la mujer, los efectos de los opioides y sus antagonistas sobre la secreción de las gonadotropinas, depende del nivel de estrógeno y PRL al momento de la administración. Sin embargo no hay

información disponible sobre los posibles cambios en el número y características de unión de los receptores opioides en el cerebro, durante las diferentes fases del ciclo estral, en las cuales se pueden caracterizar alteraciones significativas de los niveles circulantes de estrógenos y progesterona (Limonta *et al.*, 1989).

Debido a que hay tres tipos de familias de genes, para la síntesis de opioides y tres subtipos de receptores, existe una tendencia a la selectividad, asociada de una familia a un receptor determinado: la familia de la prodinorfinas por los receptores κ , las proencefalinas por los receptores δ y péptidos opioides por los μ . Así mismo, está demostrado que uno o más de los péptidos endógenos de una familia pueden inhibir la secreción de la LH (Malven, 1986; Parvizi, 2000).

La distribución del receptor μ opioide en el núcleo accumbens (Acb) ha sido examinada por autoradiografía e inmunocitoquímica microscópica. Estos estudios han mostrado una densa y particular distribución del receptor dentro del Acb. Estos sitios de intensa unión, presumiblemente ocurren en regiones que contienen neuronas GABAérgicas, porque el GABA (ácido gamma-aminobutírico) es el mayor neurotransmisor en las proyecciones espinosas y también está presente en las neuronas espinosas (Svingos *et al.*, 1997).

Modificaciones de las características obligatorias de los receptores μ opioide han sido estudiadas en el cerebro de ratas hembras durante las fases diferentes del ciclo estral, que son caracterizadas por los niveles secretorios de estrógenos y progesterona (Limonta *et al.*, 1987; Casular *et al.*, 1987; Gordon y Soliman, 1996).

Diferentes resultados han demostrado que en el total del cerebro y en el hipotálamo de la rata hembra, la concentración de receptores μ opioides se altera significativamente durante las diferentes fases del ciclo estral. Además, las más altas concentraciones de receptores μ hipotalámicas presentes durante el período del ciclo estral, se asocian con altos niveles séricos de estrógenos, mientras que la disminución en la densidad de los sitios μ son concomitantes con el aumento en la secreción de progesterona (Gordon y Soliman, 1996).

Así mismo, se ha observado que el número de receptores μ en el cerebro, muestran variaciones significativas durante las diferentes fases del ciclo estral, pero no muestran cambios en su afinidad. En particular, se ha observado un incremento en el número de estos receptores a las doce horas del día de proestro y a las dieciocho horas del primer día del estro, lo que parece concordar con la hipótesis de que los niveles circulantes de estrógenos modifican el número de estos receptores. Estos resultados sugieren, que el efecto de retroalimentación negativa de los estrógenos sobre la liberación de LH, puede ocurrir debido a un cambio en el número de los μ receptores en la amígdala, la cual es una parte importante del complejo nervioso involucrado en el control neuroendocrino de la secreción de gonadotropinas (Limonta *et al.*, 1989).

Por otra parte, se ha propuesto que los estrógenos influyen directamente o indirectamente en la densidad de los receptores μ -opioides de ratas y ratones hembras (Joshi *et al.*, 1993; Mateo *et al.*, 1992; Weiland y Sabio, 1986). El mecanismo de esta

regulación de los receptores μ -opioides por estrógenos no está completamente entendido. Esta regulación puede involucrar los cambios en la proteína nivelando el mensaje translacional de modificación, recirculación, o degradación, o por alterar los niveles de mRNA o el valor de transcripción del gen por alterar al receptor μ opioide y/o la estabilidad del mensaje (Quiñones-Jenab *et al.*, 1997).

Quiñones-Jenab *et al.*, en 1997, observaron un incremento en los receptores μ en el núcleo ventro medial del hipotálamo y el núcleo arcuato después del tratamiento con estrógenos en ratas ovariectomizadas. Sin embargo, esto no sucedió en el núcleo medial posterior de la amígdala, hipocampo, sugiriendo que la regulación estrogénica sobre este receptor en el sistema nervioso central puede ser en parte mediada por la síntesis y/o estabilidad del mensaje para el receptor μ .

Existe poca información en algunas especies acerca del papel de los receptores a opioides (δ , μ , y κ) en los mecanismos neuronales de liberación de oleada de GnRH/LH. En borregas, el número de receptores opioides y su afinidad están regulados por esteroides gonadales. Por lo tanto, es posible que los procesos desinhibitorios estén bajo una posible regulación de uno o más subtipos de receptores opioides en un momento dado (Walsh y Clarke, 1996).

Dos eventos fisiológicos que pueden modificar también el número y afinidad de los receptores μ pueden ser la gestación y el parto. El número de estos receptores se incrementa conforme avanza la gestación, lo cual coincide con las concentraciones mayores de β -endorfina, la cual se une específicamente a los mencionados receptores. Las observaciones acerca de que el número de estos receptores es más bajo en hembras lactantes y en hembras al término de gestación, comparado con hembras en otras etapas de la gestación, muestra que en animales lactantes el contenido hipotalámico de β -endorfina es significativamente más bajo que durante la gestación y al tiempo de parto (Limonta *et al.*, 1989).

Las alteraciones regionales específicas con relación al número de μ y δ receptores en el hipotálamo de la borrega a través del ciclo estral. Estos cambios parecen ser debido al ambiente esteroidal prevaeciente lo cual puede ser minimizado por el tratamiento con esteroides en hembras ovariectomizadas lo cual puede ser relevante en la regulación de la GnRH (Thom *et al.*, 1996).

Por lo anterior, existen alteraciones en los tipos y sitios de localización de los receptores a opioides en el hipotálamo en borregas a lo largo del ciclo estral. El mayor cambio es un incremento del tipo δ con relación al tipo μ en el área preóptica durante la fase lútea del ciclo estral, lo que parece ser dependiente de la progesterona. Así mismo, existe un alza en el número de estos receptores durante la fase folicular del ciclo (Shen *et al.*, 1995; Thom *et al.*, 1996).

El incremento en el número de receptores δ en el área preóptica, pero no en el hipotálamo medio basal en situaciones donde predomina la progesterona, puede estar relacionada con el papel que juega esta hormona dentro de la retroalimentación negativa para la secreción de la GnRH/LH. Lo anterior se destaca en borregas al aplicar NAL, ya

que ésta es capaz de incrementar la secreción de LH en hembras ovariectomizadas a las que se les proporcionó progesterona, pero no en las hembras ovariectomizadas sin tratamiento o en las hembras ovariectomizadas tratadas con estrógenos. En todo caso lo anterior es debido a la acción de la NAL sobre los δ receptores (Thom *et al.*, 1996).

TRANSPORTE DE NEUROPEPTIDOS

Una de las propiedades conocidas desde hace más tiempo sobre las neuronas secretoras es su capacidad de transportar sus productos a lo largo de los axones. Una vez sintetizados los neuropéptidos, quedan cubiertos por membranas del propio aparato de Golgi, formando gránulos que, como ya se mencionó, contienen el producto de neurosecreción. No se ha documentado cabalmente si se modifica el diámetro, aunque se han descrito cambios en la densidad óptica. Así mismo, es aún asunto de controversia si el proceso de síntesis concluye al formarse el gránulo o si se prolonga durante el trayecto en el axón, pero hay datos que parecen indicar que el mecanismo por el cual los gránulos ya formados son transportados a lo largo del axón, comprende la participación del citoesqueleto neuronal. La velocidad con que se desplazan varía del 100 nm/24 h, lo que permitió situar este movimiento en el grupo de flujo axoplásmico rápido. La interrupción del transporte por agentes inactivadores de microtúbulos sugiere que estas estructuras constituyen el almacén citoesquelético para el desplazamiento, y se han propuesto varios modelos para explicar la interacción de la membrana del gránulo y del microtúbulo (Bravo *et al.*, 1990).

MECANISMOS DE ACCION DE LOS NEUROPEPTIDOS

Los opioides inhiben el potencial eléctrico de acción y por lo tanto reducen la secreción de neurohormonas o transmisores en las neuronas en las que actúan. Existen dos tipos de acción presináptica o preterminal y postsináptica. La acción presináptica involucra la reducción de la liberación de transmisores con despolarización por potencial de acción, a través de la hiperpolarización o la entrada en la reducción de calcio. La acción postsináptica es a través de reducir la excitabilidad de la célula (Russell *et al.*, 1998).

Siendo tan variadas las acciones de los neuropéptidos se mencionan algunos de los principales efectos a nivel celular:

Cambios en la permeabilidad selectiva y pasiva a determinados iones es decir, induciendo la apertura o el cierre de canales iónicos. Por estos mecanismos se altera la excitabilidad neuronal cambiando la respuesta a los estímulos.

Estimulación o depresión de la actividad de enzimas presentes en la membrana celular, como la ATPasa de transporte, de cuya actividad depende la concentración intracelular de sodio y potasio. Otro nivel de este tipo de acción es la modificación de la actividad de las ciclasas que regulan la permeabilidad membranal.

Cambios en la afinidad de receptores de sustancias neuroactivas. Así, se ha planteado que algunos péptidos opioides modifican la respuesta de neuronas a neurotransmisores. Estos mecanismos de acción podrían operar en membranas presinápticas, modificando en consecuencia la cantidad de neurotransmisores liberados.

Modificaciones plásticas. Estos cambios deben corresponder a efectos sobre la maquinaria biosintética de la célula.

En el aspecto reproductivo, los opioides pueden generar acción en la maduración del ovocito y en las etapas tempranas del desarrollo embrionario (Kalyuzhni *et al.*, 1997). Mientras que en el cabrío, los péptidos opioides modulan la secreción plasmática de la LH, PRL y testosterona (Singh *et al.*, 2000).

Los péptidos opioides ejercen un efecto estimulante sobre la secreción de la hormona del crecimiento y la PRL, y participan en el control de la secreción de gonadotropinas a nivel del hipotálamo o hipófisis. La mayoría de estos resultados se obtiene a través de la administración de bloqueadores opioides (NAL, naltrexona) donde se sugieren que los péptidos opioides inhiben la secreción de la LH y/o FSH (Limonta *et al.*, 1989).

A continuación se describirán algunos de los péptidos de importancia a nivel neuronal y cuyo efecto es en la fisiología reproductiva.

El péptido de la pituitaria activador de la adenil ciclasa (PACAP) es uno de los primeros aislados desde el tejido hipotálmico. A través de estudios inmunohistoquímicos se han mostrado fibras de PACAP inmunoreactivas que se distribuyen ampliamente en el hipotálamo (Köves *et al.*, 1990), con los cuerpos de células localizadas en los núcleos supraóptico y paraventricular (Köves *et al.*, 1990; Anderson *et al.*, 1996). Se sugiere que PACAP es una hormona hipofisiotrópica, sugiriendo que puede tener una función como neurotransmisor modulando otros factores involucrados en la secreción de otras hormonas desde la glándula pituitaria. Tanto las fibras (Köves *et al.*, 1990) como los receptores (Arimura y Shiada, 1995) para PACAP están presente dentro del hipotálamo, en la eminencia mediana y pituitaria posterior de las ovejas (Koves *et al.*, 1990), ratas (Taamada *et al.*, 1994; Koves *et al.*, 1991), humano y primates (Vigh *et al.*, 1991), aunque existen algunas diferencias entre especies en lo que concierne a la distribución dentro de la eminencia mediana (Anderson *et al.*, 1996).

Inyecciones intracerebroventriculares de PACAP suprimen la secreción de PRL, LH y hormona del crecimiento en ovejas ovariectomizadas (Sawangaraen *et al.*, 1992), mientras que en contraste, el tratamiento similar en ratas macho aumentó los niveles de LH (Osuga y Mitsuhashi, 1992) y PRL (Yamaguchi *et al.*, 1995; Anderson *et al.*, 1996).

Los estudios anteriores sugieren un papel regulador central de este péptido en funciones neuroendócrinas. Sin embargo, los sitios potenciales del cerebro donde PACAP influye en la secreción de las hormonas pituitarias no son conocidas (Anderson *et al.*, 1996).

Otro neuropéptido es el factor de liberación corticotrópico que actúa dentro del cerebro para inhibir la secreción de LH, se ha observado que la inyección intracerebroventricular de este péptido resulta en la disminución de la LH secretada. Estas son presumiblemente acciones a nivel de hipotálamo porque no hay un efecto directo de este péptido sobre la pituitaria en términos de alterar la secreción de LH y porque el factor de liberación corticotrópico (CRF) inhibe la secreción de la GnRH. El CRF parece inducir el modelo de estrés de la secreción hormonal de la glándula pituitaria de la rata, por acción de la vía hipotalámica o la acción directa sobre la pituitaria sobre la secreción de ACTH (Frías *et al.*, 1997).

Se ha demostrado que la dopamina es un neurotransmisor en muchos tejidos y que la existencia de un sistema periférico dopaminérgico ampliamente distribuido (Campana, 1982; Lackovic y Relja, 1982; Lackovic y Neff, 1983; Lackovic y Relja, 1983).

El núcleo arcuato es el centro hipotalámico que tiene la concentración más alta de cuerpos celulares del neuropéptido Y (NPY) que se proyecta al núcleo hipotalámico el cual controla las funciones metabólica y reproductiva (Peligro *et al.*, 1989), tal como el núcleo paraventricular (Billington *et al.*, 1990) y el área preoptica medial (Weiner *et al.*, 1988) donde las terminales de NPY hacen contacto con las neuronas de GnRH (Tsuruo *et al.*, 1990; Abizaid *et al.*, 1997).

Actualmente, la neurona de GnRH neuroendócrina en las ovejas no ha sido identificado. Por su tamaño, las ovejas han sido de un gran valor para obtener información sobre la dinámica real y características secretorias del sistema neuroendocrino GnRH usando técnicas de canulación portal (Clarke *et al.*, 1987; Clark y Cummins, 1982; Levine *et al.*, 1982; Moenter *et al.*, 1992; Barrell *et al.*, 1992; Jansen *et al.*, 1997).

La distribución de neuronas de GnRH en el cerebro de numerosas especies mamíferas se han descrito en forma detallada. En roedores, como la marmota y las ratas, las neuronas de GnRH se encuentran primariamente dentro de la región septual, la región del área preóptica, y del hipotálamo anterior (Silverman *et al.*, 1979; Barry *et al.*, 1985; Dellovade *et al.*, 1993; Lehman *et al.*, 1986a; Caldani *et al.*, 1987; Lehman *et al.*, 1986b; Silverman *et al.*, 1982; Orfebren, 1980; Jansen *et al.*, 1997).

Dentro de cada una de estas áreas, proporciones iguales de células de GnRH se proyectan hacia la eminencia mediana (Lehman *et al.*, 1986; Silvarat *et al.*, 1989; Jenne y Desafia, 1986), sitio desde donde el péptido GnRH se libera a la vasculatura hipofiseal-portal. En otros mamíferos, tales como la ovejas, las neuronas de GnRH también encontraron en regiones más caudales del hipotálamo, específicamente dentro del área medio basal (Lehman *et al.*, 1986; Caldani y Ballatier, 1988; Platee *et al.*, 1987; Jansen *et al.*, 1997).

Durante 10 años, Li y Chung (1976) aislaron e identificaron un péptido de un extracto de glándula pituitaria en camellos, sugiriendo el nombre β -endorfina (Malven, 1987).

La β endorfina es un potente péptido opioidérgico derivado de la proopiomelanocortina es producida por neuronas del núcleo arcuato del hipotálamo de la rata (Finley *et al.*, 1981). El neuropéptido es importante tanto en la maduración sexual como en la disfunción reproductiva inducida por estrés, modulando la actividad de las neuronas de la GnRH a nivel central (Laatikainen, 1991; Ojeda *et al.*, 1986; Seifer *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 1996).

DISTRIBUCION DE NEURONAS QUE CONTIENEN β -ENDORFINA

La β -endorfina, el más fuerte analgésico de los pépticos opioides y se encuentra presente en todas las especies incluyendo el hombre. Inicialmente fue aislada de la pituitaria porcina, aunque también se localizó en el páncreas, antro gástrico y placenta, así como el sistema nervioso central (Müller, 1989).

Las neuronas con proopiomelanocortina presentan largas proyecciones de sus axones desde el núcleo arcuato hasta diferentes sitios del cerebro, donde las terminales liberan la β -endorfina. Así mismo, la presencia del RNAm para la proopiomelanocortina se ha demostrado en los ovarios y placenta y la β -endorfina en el ovario y útero (Kalyuzhni *et al.*, 1997). Muchas de estas neuronas, tienen receptores a estrógenos, por lo que el efecto inicial del tratamiento con estrógenos en animales ovariectomizados, es la de estimular la expresión del gen de la proopiomelanocortina (Russell *et al.*, 1998).

Neuronas inmunoreactivas a la β -endorfina son identificadas en el núcleo arcuato, extendiendo sus fibras hasta el área preóptica y la eminencia media. La actividad inhibitoria de los péptidos opioides es también afectada por el fotoperiodo, pero a diferencia de la dopamina, el tono de los opioides parece aumentar durante los días cortos, durante la fase de actividad sexual (Tortonese, 1999).

A través de pruebas de inmunoactividad, se ha demostrado la presencia de β -endorfina en algunas células del lóbulo anterior y en todas las células del *par intermedio* de la pituitaria. Esta glándula es el mayor sitio de biosíntesis de la proopiomelanocortina. Así mismo, neuronas productoras de β -endorfina y de la proopiomelanocortina están presentes en altas concentraciones en el hipotálamo. En particular, los cuerpos celulares de las neuronas endorfinérgicas están rostralmente distribuidas en el área de la comisura anterior que se extiende en el septum lateral y en el núcleo acumbens (Müller, 1989).

Los primeros reportes de los altos niveles de β -endorfina en el sistema portal fueron proporcionados en 1980 por Wardlaw *et al.*, por lo que se propuso que el hipotálamo secretaba este opioide hacia este sistema. A continuación, en el siguiente cuadro se mencionan los niveles de la β -endorfina en el sistema portal en hembras ciclando y ovariectomizadas (Clarke *et al.*, 1989):

Así mismo, los péptidos endógenos, han sido identificados en el tejido ovárico de diversas especies y puede ser uno de los componentes parácrinos o autócrinos que regulan la función ovárica. Sin embargo, el papel fisiológico de los péptidos en el ovario no es muy

claro, teniendo todavía inconsistencias de los niveles de la β -endorfina ovárica a lo largo del ciclo estral, detectando altas concentraciones en el proestro y mínimos valores en el estro y metaestro. El descubrimiento de este opioide en el ovario ha desencadenado cuestionamientos acerca de que sí éste opioide actúa en la esteroidogénesis ovárica (Przala *et al.*, en 2001).

Por otra parte, los niveles de β -endorfina en los folículos de los días de 6-10 del ciclo estral son bajos, mientras que del día 11-16 éstos se incrementan, reduciéndose nuevamente en el periodo preovulatorio, no existiendo diferencias en el comportamiento de este opioide, con relación al tamaño del folículo (Kamiski *et al.*, 2000).

Przala *et al.*, en 2001, concluyen que la β -endorfina contenida durante el desarrollo del cuerpo lúteo de la cerda, juega un papel importante en la secreción de PRL, oxitocina y progesterona. Así mismo, se ha detectado que las variaciones intraováricas de este opioide, durante el desarrollo del cuerpo lúteo, no se correlacionan con las variaciones plasmáticas de éste, a lo largo del ciclo estral de la cerda y la borrega.

Diferentes estudios sugieren que la retroalimentación negativa de los estrógenos no puede ser contrarrestada por la NAL, implicando que la acción de este esteroide por alguna vía no relacionada a los opioides, involucrándose en un rango del sistema neuronal donde se contienen a los péptidos opioides. Lo anterior tiene sustento con el hecho de que algunas células que contienen β -endorfina también contienen receptores a estrógenos (Shen *et al.*, 1995; Russell *et al.*, 1998).

La β -endorfina circulante en la sangre periférica, proviene principalmente desde las células corticotróficas y melanotróficas de la glándula pituitaria más que el sistema nervioso central (Lincoln y Ssewanyana, 1989). En el siguiente cuadro se describen los niveles de β -endorfina en el sistema portal en borregas ciclando y ovariectomizadas.

| Estado del Ciclo Estral | N | Concentración de β -endorfina (ng ml) | Amplitud de pulso de β -endorfina (ng ml) | Frecuencia de pulso de β -endorfina (ng ml) |
|-------------------------|---|---|---|---|
| Día 1 | 1 | 1.7 | 1.7 | 1.4 |
| Fase lútea | 8 | 7.6 | 7.5 | 1.4 |
| Fase folicular | 4 | 5.9 | 4.3 | 1.4 |
| Ovariectomizadas | 5 | 0.9 | | |

Las fibras y terminales inmunoreactivas para β -endorfina y péptidos opioides endógenos se encuentran a lo largo de la mayoría del sistema nervioso central (Khachaturian *et al.*, 1985; Mann *et al.*, 1997). En contraste, la localización de la β -endorfina de los cuerpos neuronales se restringe a dos áreas distintas sobre el cerebro: la región arcuata del núcleo del MBH (Bloomet *et al.*, 1978; Watson y Frantz, 1983;

Khachaturian *et al.*, 1985) y la región caudal del núcleo *tractus solitarius* (Schwartzberger, 1983; Mann *et al.*, 1997).

Müller en 1989, menciona que fibras con alto contenido de β -endorfina se encuentran en asociación con regiones del hipotálamo y el área preóptica, proyectando esta asociación hacia las zonas olfatorias, la amígdala, estructuras medias del tálamo, continuándose dorsalmente hacia varios núcleos del tronco cerebral y núcleo *tractus solitarius*. Otras fibras están presentes en la parte ventral del tronco cerebral. La densidad de estas fibras disminuye de la línea media hacia las estructuras localizadas lateralmente. Rostralmente, estas fibras inervan la parte anterior hipotalámica y las áreas amigdaloides anteriores. Así mismo, fibras inmunoreactivas a la β -endorfina están también presentes en la corteza olfatoria, y en el hipotálamo.

Durante la preñez, las concentraciones de β -endorfina aumenta en varias estructuras del cerebro, incluyendo el área preóptica medial, hipotálamo, área cerebral media y amígdala, disminuyendo al parto y durante la lactación (Dondi *et al.*, 1991; Paneraj *et al.*, 1980; Warlaw *et al.*, 1982; Mann *et al.*, 1997). En el carnero, las concentraciones de β -endorfina en el hipotálamo, no presentan cambios significativos en relación al estado reproductivo (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

BIOSINTESIS DE LA β -ENDORFINA

La biosíntesis de la β -endorfina ocurre como resultado del procesamiento traslocacional de la proteína precursora, la propiomelanocortina (POMC). Las células que expresan a RNAm de la POMC tienen la misma distribución anatómica como los que contienen β -endorfina (Mann *et al.*, 1997).

En algunos estudios (Bradbury *et al.*, 1976; Cox *et al.*, 1976; Lazarus *et al.*, 1976) con el péptido correspondiente a residuos 61 a 91 del carbono-terminal de β -lipotrofina se produjeron grandes efectos y, en acuerdo con la sugerencia anterior de Li y Chung (1976), llamaron β -endorfina a dicha sustancia. Estos incluyen reconocimiento que:

- 1) β -endorfina, es uno de los muchos productos de la partición proteolítica de la hendidura de la β -lipotrofina y su precursor la POMC.
- 2) β -endorfina es sintetizada desde POMC en la parte anterior intermedio de la glándula pituitaria, así como también en el tejido de cerebro.
- 3) β -endorfina se segrega hacia la sangre concomitante con la hormona adrenocorticotrófica, otro producto de POMC (Malven, 1987).

La β -endorfina es un péptido opioide de 31 aminoácidos y cuya estructura química es la siguiente (Dhawan *et al.*, 1996; Russell *et al.*, 1998):

Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu.

La biosíntesis del opioide endógeno involucra el procesamiento proteolítico de tres precursores pépticos distintos (Hollt, 1983). El residuo 31 del péptido β -endorfina se deriva desde la propiomelanocotina, conteniendo varias copias de [Met5]-encefalina y pequeños péptidos de [Met5]-encefalina, así como también [Leu5]-encefalina, se derivan de la proencefalina. Uno o varios péptidos conteniendo [Leu5]-encefalina, incluyendo las neoendorfinas y dinorfinas "A" (dinotfin1-17) y dinorfina "B" (rimorfina), se derivan de proencefalina "B". Todos estos péptidos contienen la secuencia [Met5]-encefalina o la [Leu5]-encefalina en el amino terminal (Floyd y Battenberg, 1984; Dhawan *et al.*, 1996). Las encefalinas solas contienen suficiente especificidad para su potente unión a los receptores opioides con actividad sinérgica concomitante a su amino terminal. Sin embargo, las extensiones del carbón terminal, resulta en importantes diferencias en sus propiedades. Por ejemplo, la selectividad de encefalinas para κ -receptores no es observada para la β -endorfina que tiene afinidades similares para receptores δ y μ (Lord *et al.*, 1977; Paterson *et al.*, 1983), o para los productos de proencefalina B que son selectivo para receptores κ opioides y se unen menos fuerte o estrecha a los receptores para δ y μ (Chavkin *et al.*, 1982; Corbett *et al.*, Wuster *et al.*, 1980). También se mostrado para conferir una resistencia a la degradación sobre el amino terminal de la estructura de la encefalina (Austin y Smyth, 1977; Corbett *et al.*, 1982; Marca *et al.*, 1977; Taylor *et al.*, 1981), que es de otra manera rápidamente hidrolizado en vivo (Schwartz, 1983). En el caso de β -endorfina y también, posiblemente de la dinorfina, esta propiedad en particular es uniforme con una función como hormona circulante sobre la liberación hacia la corriente sanguínea desde la pituitaria (Taylor y Kaiser, 1986).

Una caracterización estructural de β -endorfina por el modelo peptídico se ha desempeñado usando seis modelos de péptidos que eran designados y estudiados secuencialmente (más bien que en paralelo) (Blanc y Kaiser, 1984; Blanc *et al.*, 1983; Kaiser *et al.*, 1985; Taylor y Kaiser, 1986). El diseño de estos péptidos está basado en la división de la hormona en tres unidades estructurales separadas: un receptor opioide como sitio de reconocimiento al amino terminal (la secuencia de [Met5]-encefalina en los residuos 1-5) que se conectan por medio de un nexo hidrófilo (los residuos 6-12) a un potencial amifílico en espiral en los residuos 13-29. El segmento del amino terminal se retuvo en todas las modelo de estructuras del péptido, donde se esperó tener altas interacciones específicas con los receptores opioides, y las únicas sustitución y eliminación de residuos de análogos ha confirmado esta expectativa. La región de vínculos hidrófilos pareció ser poco propensa para la formación de estructuras secundarias en base de parámetros predichos (Chou y Fasman, 1978). No hay una distribución en particular de los residuos cargados que pueden tener una fuerte influencia sobre las interacciones con los receptores opioides, por ejemplo, los residuos básicos múltiples en dinorfina "A" (1-13) (Chavkin y Goldstein, 1981).

El ambiente funcional de cualquier péptido actuando en interfases biológicas tales como una superficie celular o proteínas frecuentemente será amifílico (Kaiser y Kedzdy, 1983; Kaiser y Kedzdy, 1984). En otras palabras, la expresión de actividad involucrará comúnmente la unión en la interfase entre el centro hidrófobo de una estructura y sus alrededores acuosos. Este tipo de ambiente anisotrópico es favorable para inducir la formación de segmentos discretos de estructura secundaria en hormonas peptídicas de la

tercera categoría, si estas estructuras resultan de la segregación de residuos de aminoácidos hidrófilos e hidrófobos en la cadena peptídica entran en competencia las secciones creando un complemento amifílico (Taylor y Kaiser, 1986).

La formación de estructuras amifílicas secundarias y sus propiedades expuestas, se han estudiado en un gran número de sistemas modelo para péptidos. Una hebra amifílica que resultará de alternar residuos de aminoácidos hidrófobo e hidrófilos en la sucesión lineal (Brack, 1977). El modelo de péptido con este tipo de sucesión que consiste alrededor de seis residuos tiene dicroismos circulares (CD) los espectros indican un alto contenido de hebras β , la cual resulta de una tendencia pronunciada de estos péptidos a asociarse a sí mismo formando una lámina, β -amifílica (Brack, 1977; Osterman *et al.*, 1984; DeGrado y Lear, 1985; Murmure, 1985; Osterman y Kaiser, 1985). En la solución acuosa, esas láminas β pueden asociarse para encerrar sus caras hidrofílicas, o ellos podrían unirse muy estrechamente en las interfases amifílicas tales como las superficies de vesículas de fosfolípidos o lipoproteínas séricas o la interfase aire-agua, donde se forman monocapas sumamente estables. Las secuencias más largas de residuos alternantes hidrófobos e hidrófilos son comúnmente difíciles de solubilizar en soluciones acuosas (Murmure, 1985; Osterman y Kaiser, 1985; Taylor y Kaiser, 1986).

No obstante, una búsqueda inicial de las regiones potenciales de la estructura amifílica secundaria en las hormonas péptidas puede hacerse repasando las secuencias lineales de residuos para regiones alternando residuos hidrofóbicos y residuos hidrófilos que podrían formar láminas. De esta manera, la potencialidad amifílica de la estructura helicoidal se ha identificado en diferentes hormonas peptídicas, incluyendo la β -endorfina, calcitonina, glucagón, CRF, hormona del crecimiento, hormona paratiroidea y polipéptido pancreático, así como también un número de péptidos homólogos estructuralmente (Taylor y Kaiser, 1986).

RECEPTORES, TRANSPORTE Y MODO DE ACCION DE LA β -ENDORFINA

La gran variedad en las características generales de estas estructuras amifílicas, sugiere que éstas pueden contribuir a la diversidad funcional de las hormonas peptídicas. Sin embargo, su ocurrencia común también implica que ellos determinarán aspectos generales de la acción de la hormona péptida, que puede estar relacionada con las propiedades amifílicas del modelo péptido. Por ejemplo, una hebra β podría unirse a un sitio complementario sobre un receptor proteico, que ya sea ocasionando directamente una transmisión de señales o ubicando otras partes de la hormona en la orientación correcta para sus interacciones con receptor resultando en la transmisión de señal. Este tipo de interacción de proteína se parece a la autoasociación de los péptidos modelo sobre la base hidrófoba de la estructura amifílica. El complejo formado por un péptido ligado a su receptor proteico, podría cuando se consideró como una totalidad, tener propiedades estructurales similares a proteínas globulares que consisten de una cadena peptídica continua, y las láminas amifílicas se encuentran usualmente sobre la superficie de esta estructura (Eisenberg *et al.*, 1979; Richardson, 1982; Taylor y Kaiser, 1986).

En el modelo peptídico, los residuos son importantes para restringir las orientaciones relativas de las características estructurales diferentes de la β -endorfina sobre los receptores opioides (Taylor y Kaiser, 1986).

La β -endorfina tiene una buena unión a los μ y δ receptores, pero también se ha mostrado que tiene una alta afinidad a otra clase de receptores como los ϵ (Müller, 1989; Fuentes *et al.*, 1998).

En suma, la densidad de los receptores opioides μ , que unen a la β -endorfina también se incrementan durante la preñez en el hipotálamo (Dondi *et al.*, 1991) y en el área preóptica (Hammer and Bridges, 1987) y decrece durante la lactación (Mann *et al.*, 1997).

Además, infusiones de sinérgicos a receptores opioides dentro del ventrículo lateral han mostrado que: los sinérgicos a receptores μ inhiben la lordosis, mientras que los sinérgicos a los receptores δ y κ facilitan el comportamiento de lordosis de las ratas ovariectomizadas tratadas con estrógenos y progesterona (Pfaus y Gorzalka, 1987a; Pfaus y Gotzalka, 1987; Pfaus y Pfaff, 1992; Quiñones-Jenab *et al.*, 1997).

Existe una correlación positiva entre la β -endorfina y el peso corporal durante el ciclo estral, siendo evidente que ésta se involucra en el control del apetito, metabolismo de carbohidratos y deposición de grasa (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Por otra parte, se han detectado que los niveles de la β -endorfina son de dos a tres veces más altos durante la gestación, que a lo largo del ciclo estral y durante éste, no se detectan cambios significativos de la β -endorfina, sin existir tampoco, cambios en las concentraciones de sus receptores localizados en el hipotálamo, amígdala e hipocampo (Parvizi, 2000).

La información actual disponible acerca del contenido hipotalámico de péptidos opioides y los cambios de la respuesta de LH a la aplicación de sinérgicos y antagonistas a opioides, son muy difíciles de interpretar. Los cambios en los niveles periféricos de la β -endorfina son irrelevantes para el mecanismo central de control de la secreción de GnRH ya que este péptido no puede cruzar la barrera cerebro-sanguínea (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Así mismo, la dopamina, β -endorfina y NPY han sido implicados en la regulación de la secreción de la GnRH en yeguas, al tener una acción directa en las neuronas productoras de este factor de liberación (Scott *et al.*, 2003).

Estudios farmacológicos y morfológicos sugieren la probabilidad de una relación regulatoria entre el NPY y la β -endorfina a nivel hipotalámico. El NPY regula la liberación de la LH a nivel pituitario en diferentes especies, teniendo una influencia estimuladora o inhibitoria dependiendo del ambiente esteroidal, siendo que en animales ovariectomizados ocasionan la supresión y en animales intactos o con tratamientos esteroidales provoca su liberación. Las terminales nerviosas del NPY hacen sinapsis en las dendritas o cuerpo de las células que contiene β -endorfina, por lo que se propone una interacción entre estos dos

péptidos. La NAL bloquea completamente los efectos inhibitorios del NPY sobre la secreción LH, lo que implica que el NPY puede estimular la liberación de la β -endorfina (Kalra *et al.*, 1995).

Los péptidos opioides también están involucrados en el decremento de la secreción de la LH, en circunstancias agudas y crónicas de estrés, ya que la β -endorfina aumenta bajo situaciones estresantes, en diferentes partes del cerebro (Cagampang *et al.*, 1991). Por otra parte, Fordham *et al* en 1991, señala una correlación positiva entre los niveles séricos de la β -endorfina y el cortisol, en situaciones de estrés.

La supresión de la LH pulsátil durante el ayuno, depende de la presencia de las hormonas ováricas, al aumentar la sensibilidad de la retroalimentación negativa ejercida por éstos. El sistema de los péptidos opioides regulan el incremento de este efecto sobre la secreción de LH, por lo que, la administración de NAL bloquea la supresión de la liberación de la LH en ratas en ayuno, tratadas con estradiol, pero no en aquellas que no tenían el tratamiento esteroideal. Lo anterior, soporta que la efectividad de la NAL en inducir la liberación de la LH, está influenciada por la presencia de los esteroides ováricos, al momento de la aplicación de la NAL, sugiriéndose que el ayuno, puede reducir el efecto de la NAL sobre la liberación de LH (Cagampang *et al.*, 1991).

Así mismo, Dell'Alquila *et al.*, en 2002, proponen que el complejo ovocito-cúmulo, junto con las células de la granulosa codifican el RNAm para expresar el receptor a la β -endorfina, lo cual se asocia con la maduración del ovocito.

COMPUESTOS BLOQUEADORES DE LOS PÉPTIDOS OPIOIDES

El conocimiento de los receptores a opioides tiene sus bases en más de 5000 años del uso medicinal del opio, el cual es obtenido de la semilla inmadura de la amapola. Las propiedades analgésicas y antidiarréicas del opio, fueron reconocidas por los Sumerios y las dinastías egipcias, así como el uso terapéutico del opio fue discutido por Hipócrates. La naturaleza de los cambios que produce este compuesto se ha basado en su uso y abuso (Dhawan *et al.*, 1996).

Los dos compuestos químicos sinérgicos a los opioides son la morfina y la heroína, los cuales son derivados del opio y en un inicio tuvieron un uso terapéutico. Los principales antagonistas a los opioides son la NAL y naltrexona (Dhawan *et al.*, 1996). La NAL, es un antagonista a la acción opioide, el cual actúa a nivel de los receptores μ , δ y κ , mostrando una alta afinidad al primero de ellos (Russell *et al.*, 1998).

El primer antagonista puro, la naloxona, fue producido en los años cuarentas después de la síntesis de la nalorfina, la cual fue previamente usada para prevenir los efectos de los receptores sinérgicos opioides. La naloxona es identificada como el primer antagonista a los receptores opioides con alta afinidad a los receptores μ (Dhawan *et al.*, 1996).

La NAL tiene una pobre absorción por vía oral y por vía intravenosa el inicio de acción usualmente es de uno a dos minutos, si se administra intramuscularmente la droga generalmente tiene un inicio de acción de aproximadamente cinco minutos, persistiendo por un periodo de cuarenta y cinco a noventa minutos, llegándose a prolongar por más de tres horas. La NAL es distribuida rápidamente a través de todo el organismo con altos niveles en cerebro, riñón, bazo, músculo esquelético, pulmón y corazón. Es metabolizada en el hígado, principalmente por conjugación glucorónica y los metabolitos son excretados por orina (Sánchez *et al* 1995).

La NAL, fue inicialmente desarrollada para utilizarse en los tratamientos de sobredosis de drogas opioides. A dosis moderadas, la NAL es relativamente específica como antagonista de los péptidos opioides, actuando mejor sobre los receptores μ , que sobre los δ y κ receptores. En general, los efectos biológicos producidos por la NAL en animales, son el resultado del antagonismo de la fisiología relativa a los péptidos opioides. Cuando estos efectos biológicos son ocasionados por dosis moderadas de NAL se observa que los receptores μ son los que median estos efectos. Cuando la NAL administrada no produce efectos significativos, las conclusiones son menos claras. Los receptores pueden no estar involucrados, o los efectos pueden ser mediados por subtipos de receptores opioides no antagonísticos por la dosis de NAL utilizada en los experimentos. Respecto a la interacción específica de la NAL y la LH sérica, los resultados negativos podrían también deberse:

- a.- Almacenaje insuficiente en la pituitaria para LH que pueda ser liberada.
- b.- Insensibilidad de las células secretoras de LH en la pituitaria al LHRH.
- c.- Variaciones temporales de la LH sérica en controles de modo que la NAL induce cambios no significativos.

Con base en las razones mencionadas acerca de que la NAL no afecta la liberación de LH desde la pituitaria anterior, es importante remarcarlo, debido a que muchos reportes señalan el incremento de la LH seguido de la administración de NAL. Debido a que de la NAL se tiene sólo reportada la acción como antagonista de los receptores opioides, es necesario determinar los mecanismos de acción (Malven, 1986).

En carneros, tratamientos con NAL a dosis de 0.75 mg/kg, por vía endovenosa, no produce cambios en el comportamiento sexual entre machos sexualmente activos e inactivos (Stellflug, 2002). Así mismo, Jackson y Kuehl en 2000, sugieren que el efecto de la NAL sobre la secreción de la GnRH de los carneros, está afectada por el largo del fotoperiodo y las concentraciones de testosterona, aunque no basan sus conclusiones, en la teoría de que los péptidos opioides son los mediadores primarios de la retroalimentación negativa de la testosterona.

Los péptidos opioides actúan primariamente a nivel del hipotálamo para suprimir la liberación de LH por inhibición de la GnRH y a través de la aplicación de la NAL, se logra la liberación de la GnRH desde el hipotálamo, tanto en hembras oviectomizadas como en la fase lútea, mientras la aplicación de la NAL incrementa la secreción de la LH en hembras en la fase lútea, pero no en borregas oviectomizadas. Por lo anterior, se sugiere que este

antagonista opioide es dependientemente del estatus gonadal de los animales, sugiriendo que el componente de la independencia de los inhibidores a los opioides sobre la liberación de la GnRH, puede estar involucrado algunos aspectos de neuromodulación que no se refleja en la secreción de LH. Es decir, la NAL permite la liberación de la GnRH de manera independiente del estatus ovárico, mostrando un efecto primario en la liberación de este factor desde el hipotálamo en animales en la mencionada etapa del ciclo estral. Concluyendo que los péptidos opioides pueden tener una cierta modulación sobre la secreción de la GnRH (Wu *et al.*, 1991).

En vacas y ovejas, diferentes estudios han demostrado que existen opioides en el hipotálamo, que inhiben la secreción de la LH, éstos se encuentran en la vecindad con neuronas hipofisarias que regulan la secreción de hormonas de la adenohipófisis. La administración de NAL, incrementa la liberación de la LH en varias especies, y para que esto ocurra, se requiere la presencia del péptido opioide capaz de inhibir la liberación de la LH y el receptor opioide funcional de la ruta metabólica. Por otro lado, el número de cabras paridas fue mayor en un grupo tratado con 0.02 mg de naloxona, en comparación con el testigo (García *et al.*, 2002).

En caballos, la naloxona incrementa significativamente la liberación tanto de la LH como la PRL, mientras que en yeguas, sólo incrementa la secreción de LH, por lo que se sugiere que los péptidos endógenos inhiben la secreción de LH y PRL en el equino y que existe una diferencia sexual de este bloqueo. Debido a que el uso de antagonistas opioides incrementa los niveles plasmáticos de LH y PRL durante la fase lútea se propone la existencia de la acción de los opioides sobre ambas hormonas en primates. Mientras que en otras especies la NAL estimula principalmente la liberación de LH a través del incremento de las secreciones de GnRH desde el hipotálamo, sus efectos sobre la PRL en equinos es menos claro. La secreción de la PRL en el caballo es inhibida por la dopamina y una reducción de dopamina permite que los opioides incrementen la secreción de PRL en cerdas lactantes y en ovinos lactantes y no lactantes (Aurich *et al.*, 1996).

Característicos incrementos en la actividad neuronal, asociados con el inicio de la secreción pulsátil de la LH han sido registrados en el hipotálamo medio basal del mono, rata y cabra, a los cuales se les nombra actividad multiunitaria (MUA). Una ambigua relación se ha descrito entre el incremento en la actividad eléctrica (descarga) y el pulso de LH bajo condiciones fisiológicas experimentales, indicando que las descargas del MUA, representan la actividad eléctrica del pulso generador de GnRH.

La NAL incrementa la duración y decrece los intervalos de las descargas del MUA en dosis dependientes. Aunque los mecanismos precisos bajo los cuales la NAL afecta la duración y frecuencia de la descarga no son bien conocidos, ésta se puede relacionarse con el bloqueo al efecto hiperpolarizante de los opioides. Los péptidos opioides hiperpolarizan las neuronas, incrementando directamente la conductancia de la membrana en los sitios postsinápticos o indirectamente, por supresión de la liberación de neurotransmisores desde las terminales nerviosas presinápticas. Sugiriendo la noción de que el incremento de la duración de la descarga está asociada con la despolarización de la membrana es causado por la NAL (Nishihara *et al.*, 1992).

También la NAL ha sido administrada crónicamente para establecer los mecanismos de bloqueo a largo plazo por parte de los pépticos opioides, durante la fase de regresión del ciclo estacional para inducir una respuesta reproductiva (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Currie *et al* en 1991, al aplicar NAL en dosis de 0.33 mg/kg de peso en borregas no obtuvo la secreción de gonadotropinas esperado, sugiriendo que la supresión de la secreción de LH por actividad a los péptidos opioides es reducida al final de la fase lútea. Así mismo menciona que la administración de la NAL durante la fase folicular no afecta el retorno al estro.

Los cambios en la respuesta a NAL, en los diferentes estados del ciclo reproductivo son igualmente confusos. En particular, la falla de NAL para incrementar la secreción de LH en las fases de regresión del ciclo, se toman como evidencia de que los mecanismos de los pépticos opioides no están involucrados en el control en esos momentos o que otros factores actúan simultáneamente para limitar la secreción de LH. En los ovinos durante el período de regresión, hay un aumento en las concentraciones de GnRH en el hipotálamo, y la hipófisis es capaz de liberar LH en respuesta a la GnRH exógena. Por lo tanto, el hipotálamo parece estar competente para inducir la secreción de LH, hasta que la secreción de GnRH sea inhibida por un mecanismo el cual no sea fácilmente revertido por el sistema opioide (Kalra *et al.*, 1989; Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Tratamientos con NAL indican que al principio del proestro avanza al tiempo de la oleada de LH, aunque en algunos estudios no reportan este efecto. Si una reducción en el tono inhibitorio opioide es parte de los mecanismos de la oleada de GnRH/LH en borregas la interrogante permanece en por qué la NAL no afecta el tiempo de la oleada de LH en la borrega contrastando con los efectos obtenidos en mujeres y roedores aunque, las dosis usadas de este bloqueador (0.3 y 1.0 mg/kg) respectivamente, fueron menores proporcionalmente a la dosis mínima efectiva en ratas (0.03 mg/kg). Es posible que la farmacocinética de la NAL difiere entre especies, y que una diferente dosis o administración central podrían cambiar los efectos en las borregas. En adición, hay evidencias en esta especie de que la oleada de GnRH está estrechamente ligada a un incremento de la respuesta por parte de la pituitaria a esta hormona, por lo que es posible que la NAL incremente la secreción de GnRH en borregas sin que cause un incremento significativo en la secreción de LH (Walsh y Clarke, 1996).

Fuentes y Peraza en ***, al aplicar 3 dosis de 0.4 mg de NAL, cada 12 horas, comenzando 24 horas antes de retirar esponjas con acetato de medroxiprogesterona y 4 dosis de NAL aplicada cada 12 horas, comenzando 12 horas antes del retiro de las esponjas, destacan la acción de la NAL en cabras, al avanzar la época de empadre, afirmando la interacción de las endorfinas endógenas como moduladoras y facilitadoras de la conducta sexual.

La NAL ha sido utilizada extensivamente para estudiar el papel de los opioides en el control estacional de la reproducción en los ovinos la inyección o infusión de ésta causa un agudo incremento en la secreción de LH, ya que es una antagonista opioide pura. El incremento de la secreción de la LH por la aplicación del NAL ocurre en animales sexualmente activos, pero la respuesta es reducida o ausente en animales sexualmente

inactivos. La administración de esteroides gonadales en animales sexualmente inactivos, no fortalece la respuesta de LH a la NAL, por lo que la respuesta a este bloqueador no es debido a cambios en la secreción de esteroides. Los cambios de la respuesta de LH a la NAL relacionado con el ciclo reproductivo, puede ser inducida con un tratamiento a base de melatonina, la cual minimiza los efectos normalmente asociados al fotoperiodo (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Si la respuesta de la LH a los péptidos opioides provee un índice significativo de la actividad regulatoria de éstos sobre la secreción de GnRH, se evidencia que el sistema opioide es funcional en la etapa de reproducción más que en la etapa no reproductiva. La aplicación de NAL altera significativamente la secreción de LH durante las fases activas y de regresión del ciclo. La respuesta acentuada en la etapa de regresión, es particularmente interesante debido a que refleja el papel primordial de los péptidos opioides durante el inicio de la regresión estacional (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

En hembras intactas, la administración de la NAL incrementa los niveles séricos de LH en las borregas en fase lútea, pero en animales maduros adultos en anestro no ocurre lo mismo. Borregas en la fase folicular incrementaron sus niveles de LH sérica por infusiones de NAL, pero no al aplicar inyecciones únicas. En hembras ovariectomizadas, las infusiones crónicas de NAL incrementan los niveles de LH. Así mismo, en borregas que recibieron tratamientos con PRL después de la ovariectomía, seguido de una sola inyección de NAL o infusiones continuas de ésta, incrementaron la LH sérica (Malven, 1986).

La NAL incrementa la liberación de LH en borregas, cerdas y vacas. Las situaciones específicas en las cuales desinhibe el bloqueo de secreción de LH varía dependiendo del estudio, debido a las siguientes circunstancias:

- 1.- Dosis de la NAL.
- 2.- Estado endocrino de los animales tratados.
- 3.- Ansiedad de los sujetos en experimentación.
- 4.- Sensibilidad de la pituitaria.

Para que la NAL tenga éxito en el control de la secreción de la LH, es necesario su aplicación en dosis altas, ya que debido a descuidos en este apartado, han proveído resultados fallidos en diferentes experimentos, ya que al emplear dosis altas de NAL, se bloquea la totalidad de los receptores a opioides, por lo que se sugiere en dosis de 0.8 mg, se facilita la expresión del comportamiento sexual, en la estación no reproductiva, demostrando que los pépticos opioides y sus receptores son susceptible a la manipulación farmacológica, al usar dosis altas y bajas de NAL (Fuentes *et al.*, 1998).

Rensis *et al.*, en 1999, propone que para que la falla en tratamientos con NAL, puede deberse a la ausencia de pépticos opioides, a una baja de los receptores a éstos o que la acción de los pépticos opioides puede estar enmascarada por otro sistema inhibitorio.

Así mismo, implantes de NAL en regiones extrahipotalámicas fallan en la estimulación*de la secreción de LH, mientras que inyecciones intracerebrales de NAL estimulan la liberación de esta hormona. Lo anterior sugiere, que la acción de los péptidos opioides se localiza en la eminencia media y el área preóptica (Kalra *et al.*, 1989).

La secreción de la FSH no parece estar influenciada por opioides en hembras adultas y la estimulación de la NAL sobre la secreción de LH puede ser incrementada o disminuida conforme se acerca la maduración sexual. La naloxona provocó un incremento de la frecuencia pulsátil de LH en hembras intactas prepúberes y en corderas ovariectomizadas. Así mismo, los sinérgicos opioides parecen suprimir la secreción de LH en hembras inmaduras, lo cual sugiere que la respuesta a cada sinérgico se disminuye conforme se acerca la madurez sexual. La supresión de LH por péptidos opioides pero no de FSH, alrededor de las veinte semanas de edad en corderas no presenta cambios significativos en la supresión al primer estro. Es posible que la supresión opioide sobre la secreción de LH pueda declinar inmediatamente antes del inicio del ciclo ovulatorio en las corderas y los efectos de la naloxona sobre la frecuencia pulsátil de la LH tiene un rango hasta de un 80% de efectividad sobre la amplitud de esta hormona (Rawlings y Churchill, 1990).

En corderas prepúberes, el bloqueo de los receptores opioides con naloxona, incrementa las concentraciones de LH y la frecuencia de la secreción pulsátil, evidenciando que los péptidos opioides regulan la secreción de LH durante el periodo prepuberal. Sin embargo, numerosos estudios han fallado en la respuesta de la NAL a mediados del anestro en borregas pospuberales, obteniendo solamente algún tipo de respuesta al principio o final del anestro. La falla de la naloxona en incrementar la secreción de LH en hembras maduras, y en animales estacionalmente en anestro ha sido reportado por diferentes investigadores debido a que farmacológicamente no hay una acción del antagonista (Schall *et al.*, 1991).

Ebling *et al.*, en 1989, indican que los efectos de los antagonistas opioides en corderas prepúberes bajo diferentes tratamientos esteroidales, incrementan la frecuencia pero no la amplitud de la secreción pulsátil de LH y que éstos nos son dependientes de la presencia de esteroides ováricos. La inhibición opioide de la frecuencia de la LH en ausencia de esteroides no parece ser influenciada por el fotoperiodo o el estatus reproductivo de las corderas, a diferencia de lo que ocurre durante la maduración sexual, lo cual contradice la hipótesis de que los cambios en las vías inhibitorias de los opioides son la base neuroquímica en el decremento de la retroalimentación negativa esteroideal que resulta en la pubertad.

Así mismo, la NAL inhibe la liberación de PRL en machos adultos pero no en hembras ciclando. Esta diferencia sexual puede ser adscrita a un modelo diferente de organización de los sistemas opioides en el cerebro, durante el periodo perinatal, bajo la influencia de esteroides gonadales (McNelly *et al.*, 1989).

El efecto residual de los esteroides de la gestación están implicados en la regulación de la inhibición de los opioides sobre la secreción de la LH, durante el periodo posparto en vacas. La remoción de los ovarios en vacas en este periodo, así como el estímulo de amamantamiento, no elimina la desinhibición que produce la NAL, así mismo, el efecto de

este antagonista opioide para estimular la secreción de LH, es variable durante la gestación (Run *et al.*, 1990).

Run *et al.*, en 1990, demostró que durante la gestación o en tratamientos con esteroides ováricos, la aplicación en vacas de NAL, a dosis de 0.5 y 1.0 mg/kg de peso vivo, vía endovenosa, no fue suficiente para estimular la liberación de la GnRH o que fue insignificante como para incrementar los niveles séricos de la LH, debido quizá a un deficiente almacenamiento de ésta en la hipófisis o la respuesta de esta glándula. La falla de la NAL para la estimulación de la LH a los días 7 y 14 después de finalizar la aplicación de los esteroides, soporta la hipótesis de que los ovarios ejercen un efecto residual sobre la inhibición de los opioides sobre la secreción de la LH.

Cosgrove *et al.*, en 1993, señalan que en cerdas lactantes tratadas con NAL, presentaron elevaciones en los niveles de LH, pero este antagonista opioide no afectó el diámetro folicular en los ovarios.

Por otro lado, Hopwood *et al.*, en 1998, indican que existe una leve diferencia en la respuesta en la secreción de LH al tratamiento con NAL, en animales multiparos y primíparos, durante la lactación.

EFFECTOS DE LOS OPIOIDES ENDOGENOS SOBRE LOS MECANISMOS REPRODUCTIVOS

Ciclo reproductivo

El ciclo estral es dependiente de la interacción entre las gonadotropinas, las secreciones esteroides ováricas y los péptidos opioides endógenos, lo cual aplica en diferentes especies. Se ha propuesto que el control de la secreción de LH durante el anestro, no es equivalente en animales prepúberes, y debido a las contribuciones de sistemas inhibitorios de tipo noradrenérgicos, dopaminérgicos y opioides en el anestro, la respuesta varía de acuerdo a la edad y situación estacional (Cosgrove *et al.*, 1993).

Las hembras caprinas presentan esto cada tres semanas. Dicho esto tiene una duración de uno o dos días, en los cuales, la hembra permite al macho la cópula y la ovulación toma lugar horas después del final de esto. A menos que la hembra quede preñada, el ciclo estral aparece durante toda la estación reproductiva que usualmente se extiende durante todo el otoño hasta finales del invierno, cesando esta ciclicidad es la etapa de anestro (Mori, 1992). Por lo anterior, debido a que la cabra presenta actividad sexual cíclica durante determinadas épocas del año, se les ha clasificado como hembras poliéstricas estacionales, siendo esta presentación estacional de su función reproductiva determinada por varios factores, el fotoperiodo (Galina *et al.*, 1990), disponibilidad de alimentos, lactación y el estrés entre otros (Hulet y Shelton, 1989).

El efecto antigonal de los días largos permanece por varios meses y cuando las cabras se vuelven refractarias a la inhibición de los días largos, la actividad gonadal toma lugar (Mori, 1992). La exposición al fotoperiodo de días largos, baja los niveles

plasmáticos de LH en cabras ovariectomizadas tratadas con estradiol, con un curso similar a la anovulación inducida con días largos en cabras intactas, sugiriendo un aumento en la retroalimentación negativa del estradiol sobre la secreción basal de la LH, bajo el régimen de días cortos (Mori, 1992).

El efecto de retroalimentación positiva del estradiol sobre la secreción de LH, fue también aumentada durante los días largos, después de un periodo de latencia, el inicio de la secreción del estradiol para la oleada de LH es corto y por lo tanto, se requiere menos cantidad de estradiol para inducir la oleada de LH. Estos resultados indican que el eje hipotálamo-hipófisis de la cabra, se vierte a una hipersensibilidad de tipo positiva, mientras que el efecto de retroalimentación negativa del estradiol es bajo días cortos. Los ovarios de las cabras y ovejas en anestro no poseen cuerpos lúteos, pero contienen un número considerable de folículos antrales, los cuales secretan estradiol en respuesta a una descarga de LH. Previendo que el eje hipotálamo-hipófisis es más susceptible al estradiol en esta época, una pequeña cantidad de estradiol liberada desde los folículos podría ser capaz de disparar una oleada prematura de LH. Es bien conocido que la exposición prematura a LH, puede provocar el desarrollo de folículos atrésicos y ocurrir una ovulación no deseable durante la época de anestro, la cual podría ser evitada. El control fotoperiódico de la secreción de LH puede ser ejercido de manera indirecta por la vía de la retroalimentación negativa de los esteroides y de manera directa por la actividad pulsátil de la GnRH (Mori, 1992).

Cambios en los niveles circulantes de las hormonas secretadas por la pituitaria anterior y el ovario durante la fase folicular del ciclo estral en la hembra, es determinada por la secuencia a determinados tiempos del estro y la ovulación con un apropiado intervalo. Al declinar los niveles de progesterona con la luteólisis, se continua el desarrollo folicular, el cual se asocia con un incremento del estradiol en el sistema circulatorio que subsecuentemente induce oleadas preovulatorias de gonadotropinas y comportamiento de estro (Mori, 1992).

Por otra parte, la progesterona inhibe la sensibilidad de la pituitaria a la GnRH, siendo su principal sitio de acción el hipotálamo más que la pituitaria. Así mismo la progesterona puede estar inhibiendo la secreción de los estrógenos ováricos con un decremento en la liberación de GnRH (Feder, 1981).

GnRH

El sistema neuroendócrino registra, traduce e integra la información neural y humoral al proporcionar las señales necesarias para diferentes eventos fisiológicos (Levine, 1997). Las neuronas productoras de GnRH se localizan principalmente dentro de la región septal, área preóptica e hipotálamo anterior. En otros mamíferos como los ovinos y primates, la GnRH también se localiza en las regiones caudales del hipotálamo, específicamente dentro del hipotálamo medio basal (Xion *et al.*, 1997).

El pulso generador hipotalámico, el cual regula las descargas de GnRH hacia la circulación de la pituitaria y modula la secreción pulsátil de LH, ha sido reconocido como

la llave que determina la función reproductiva en todos los mamíferos examinados hasta la fecha (Mori, 1992, Xion *et al.*, 1997).

Aunque ciertos investigadores no coinciden con el término “factor de liberación” algunos otros, proveen la existencia de estos factores, los cuales son hormonas producidas por neuronas en el hipotálamo basal y transportadas a la hipófisis por un sistema vascular portal, ocasionando la liberación de LH y FSH (Feder, 1981).

El efecto de retroalimentación positiva del estradiol parece ser ejercido por un circuito neuronal que es intrínsecamente diferente al pulso que genera la GnRH. El origen de dichos pulsos no ha sido aún determinado. En la cabra, las neuronas que contienen GnRH son inmunohistoquímicamente identificadas en la porción rostral del hipotálamo con altas concentraciones en el área preóptica medial (Mori, 1992).

La cantidad de luz influye en la regulación de la reproducción a través del ritmo circadiano de la secreción de la melatonina, por parte de la glándula pineal. La estación reproductiva en los ovinos es generada por este ritmo circadiano, lo cual se comprueba con la exposición a días de diferentes longitudes de duración respecto a las horas luz o después de la pinealectomía, lo que produce que funcionalmente se bloquee la transmisión la información fotoperiódica (Xion *et al.*, 1997).

El mecanismo central sobre el cual actúa el sistema circadiano, es en las neuronas que sintetizan el decapeptido GnRH, las cuales con sus proyecciones a la eminencia media, proporcionan un trayecto de control de la secreción de gonadotropinas (Xion *et al.*, 1997).

Las borregas y hámsters, son dos especies mamíferas con reproducción estacional, en las cuales existen mecanismos neuroendocrinos que gobiernan su ciclo estacional en la reproducción. En ambos, la actividad gonadal declina en la fase regresiva del ciclo estral, debido a la supresión de la secreción de la GnRH desde el hipotálamo, y con la consecuente reducción en la secreción de LH y FHS desde la hipófisis. Los péptidos opioides, han demostrado inhibir la secreción de la GnRH y la actividad sexual, por lo que los péptidos opioides pueden estar implicados en la infertilidad estacional (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Walsh y Clarke en 1996, sugieren que la pituitaria anterior en la borrega no contiene receptores a opioides, por lo que su efecto sobre la secreción de LH es mediada en la secreción hipotalámica de GnRH, más que un efecto directo sobre las gonadotropinas, reportando que los sitios de acción se encuentran en el área preóptica del hipotálamo en los cuerpos celulares de las neuronas de GnRH. Así mismo plantean la posibilidad de que el efecto de los opioides en la secreción de GnRH es indirecto, debido a que está parcialmente modulado por el gasto de catecolaminas en las neuronas secretoras de GnRH, mientras que el efecto en la secreción de PRL es más directo.

Gonadotropinas

La secreción de LH y FSH están reguladas por la secreción de GnRH, el cual es un decapeptido que se libera desde las terminales neurovasculares de la eminencia media y es relacionado y conducido por la vasculatura portal hipofisial hacia la glándula pituitaria donde se une a los receptores expresados en los gonadotropos y estimula la síntesis de LH y FSH (Levine, 1997).

Tratamientos con estrógenos sin progesterona permiten la estimulación de GnRH, ya que el esteroide mantiene las señales neuronales para conducir las señales adecuadas. Así mismo, los estrógenos inducen la expresión de receptores a progesterona (Levine, 1997).

LH

La secreción pulsátil de las gonadotropinas es regulado por la secreción periódica de la GnRH hacia la circulación portal de la pituitaria desde el hipotálamo. Este pulso generador de LH es de un grupo de neuronas, las cuales controlan la liberación intermitente de GnRH hacia los vasos portales (Maeda *et al.*, 1992; Nishihara *et al.*, 1992). Esta pulsatilidad en la secreción de la GnRH es esencial para mantener una secreción normal de las gonadotropinas. Un decremento en la pulsatilidad de la secreción de la GnRH, como se observa en animales estresados o en razas estacionales fuera de la época reproductiva, es incompatible con una función gonadal normal, debido a que cada pulso de GnRH se continúa con un pulso de gonadotropinas (Nishihara *et al.*, 1992).

Así mismo, factores ambientales internos y externos, donde se incluyen los esteroides sexuales, péptidos opioides endógenos, CRF, estrés, amamantamiento, fotoperiodo y condiciones de alimentación, pueden modificar la actividad eléctrica del centro generador de GnRH, con lo cual, se afecta el modelo pulsátil de secreción de gonadotropinas y finalmente, la reproducción. Estos factores actúan en el pulso generador de GnRH a través de conexiones vía aferente, que utilizan una variedad de monoaminas, aminoácidos y péptidos de neurotransmisión (Nishihara *et al.*, 1992).

El incremento en la frecuencia de los pulsos de LH se presenta como una transición de la fase lútea, el cual es necesario para poder desarrollar una fase folicular, con los eventos endocrinos preovulatorios necesarios para que ocurra el estro y la ovulación (Mori, 1992).

La secreción de LH durante el ciclo estral del ovino es controlada por la combinación de acción de estrógenos y progesterona, ya que los primeros inhiben la amplitud de pulso de la LH y la segunda inhibe la frecuencia pulsátil de LH (Goodman *et al.*, 1996).

Es bien conocido que hay dos centros para la liberación de LH en el cerebro. Uno es el centro tónico, localizado en el MBH, el cual regula la secreción tónica de la LH y es el

responsable del desarrollo folicular. El centro cíclico está localizado en el área preóptica, que regula la oleada de LH, el cual induce la ovulación (Maeda *et al.*, 1992).

Por otra parte, a nivel de neurotransmisores, existen tres involucrados en la secreción pulsátil de la LH: péptidos opioides, serotonina y norepinefrina (Gore y Terasawa, 2001).

La secreción basal muestra fluctuaciones a intervalos regulares y cada oleada de LH está compuesta de muchos pulsos y a cada uno de ellos corresponde uno de GnRH, el cual es observado en la circulación portal. Por lo tanto, el mecanismo cerebral, generador de pulsos de LH, ha sido llamado “pulso generador de LH”. Así mismo, se ha demostrado que la frecuencia es el componente más importante de los pulsos de LH en el control de la actividad del eje gonadal. Por ejemplo, factores ambientales suprimen o activan la funcionalidad gonadal, al alterar la frecuencia de los pulsos tónicos de la secreción de LH. Los días largos reduce y los días cortos alarga la frecuencia de los pulsos de LH en carneros y ovejas, por lo que el fotoperiodo altera la actividad gonadal. En ratas, la frecuencia de pulsos es alterada profundamente por el ayuno, así como por el estímulo del amamantamiento sin presencia de esteroides ováricos (Maeda *et al.*, 1992).

Cabe señalar, que altos niveles de progesterona circulante, los cuales son secretados por el cuerpo lúteo lactacional formado después de una ovulación posparto, juegan un papel importante en la supresión de la secreción de la LH en ratas lactantes. La secreción pulsátil de LH fue profundamente suprimida a mitad de la lactación en hembras ovariectomizadas, donde los pulsos de LH fueron evidentes hacia final de la lactación, sugiriendo que el efecto del estímulo de amamantamiento se va debilitando conforme avanza la lactación y presenta un mecanismo de acción diferente al de los esteroides ováricos (Maeda *et al.*, 1992).

El estímulo de amamantamiento no afecta la oleada de LH a lo largo del día, lo cual ha sido demostrado en tratamientos crónicos con estrógenos, por lo que se afirma que este estímulo no deteriora el mecanismo de inducción de las oleadas de LH, ni afecta el mecanismo de retroalimentación positivo de los estrógenos para inducir la oleada de LH. Por lo anterior, se sugiere que el estímulo de amamantamiento está directamente involucrado en la actividad del mecanismo generador de pulsos de LH (Maeda *et al.*, 1992).

La hiperprolactinemia inducida por compuestos sinérgicos opioides puede contribuir a la inhibición de concentración de LH, aunque en ovinos hay poca evidencia del efecto supresor de la PRL (oponiéndose al estímulo de amamantamiento) sobre la secreción de GnRH (Walsh y Clarke, 1996).

Los mecanismos por medio de los cuales actúa la PRL para inhibir la secreción de GnRH no ha sido bien comprendida. La reducción de la liberación de GnRH en la hiperprolactinemia, podría ser el resultado de la secreción dentro del hipotálamo de una sustancia que inhibe presinápticamente la liberación de GnRH. Un candidato muy estrecho es la β -endorfina endógena, ya que este péptido opioide ha mostrado actuar presinápticamente para inhibir la liberación de GnRH. Además, la administración de un antagonista opioide, como la NAL, ha mostrado un incremento en la liberación de LH (Sarkar *et al.*, 1988).

Esteroides

Desde 1932 se planteó la teoría de la regulación de las hormonas reproductivas sobre la glándula pituitaria a efecto de regular su actividad. Aunque el descubrimiento de los esteroide hormonales originarios del ovario, actuaban sobre el tejido del diencéfalo para estimular o inhibir la liberación de las hormonas pituitarias, no resultaba lógica esta posibilidad de acción. Solo después de que se confirmó el papel del diencéfalo en la regulación hipofisial se retomó la acción de las hormonas ováricas sobre la pituitaria (Feder, 1981).

Actualmente se tiene conocimiento de la acción estimuladora directa de los estrógenos sobre la liberación de LH, la cual es independiente de la acción de la GnRH, ya que actúan sobre la pituitaria anterior para incrementar la sensibilidad de esta glándula a la acción de la GnRH. Así mismo los estrógenos son capaces de ejercer una acción inhibitoria directa sobre la pituitaria para la liberación de LH, pero no sobre la secreción de FSH (Feder, 1981).

Respecto a la secreción de PRL existe evidencia de una acción directa de los estrógenos sobre su secreción al actuar directamente sobre la pituitaria siendo este un proceso saturable y que es capaz de ser traslocado por las células de la pituitaria (Feder, 1981).

La progesterona inhibe la frecuencia pulsátil de GnRH y el estradiol inhibe la talla de pulsos de GnRH durante la estación reproductiva por lo que el decremento de la LH es inducido por estos esteroides como reflejo de la acción neural hipofisial. Las neuronas productoras de GnRH poseen receptores a estos dos esteroides. Sin embargo, existen fuertes evidencias de que la inhibición de la GnRH y LH es mediada parcialmente por péptidos endógenos opioides, los cuales a su vez están mediados por la presencia de estrógenos (Goodman *et al.*, 1996).

Así mismo, el concepto de mediación por parte de las neuronas sensibles a esteroides, en el funcionamiento de los neurotransmisores y neuropéptidos es también concebible, ya que los esteroides no sólo son selectivamente acumulables en el cerebro, si no que también se producen en diferentes regiones del cerebro, como los catecolestrógenos, los cuales modulan la secreción de la LH, debido, muy probablemente, a la modificación de los centros neurotransmisores (principalmente catelominérgico), teniendo un efecto estimulador en los procesos de secreción de la LH preovulatoria, y un efecto inhibitorio en la secreción tónica de ésta (Parviza, 2000).

Prolactina

Debido a que hay una estrecha relación entre el aumento de la secreción de PRL y la supresión ovárica, se sugiere que la PRL juega un papel importante en la secreción de las gonadotropinas o en la inhibición de la acción de estas hormonas sobre el ovario (Lamming, 1994).

El modelo de secreción de la melatonina bajo días largos, es necesaria para inducir la respuesta fotoperiódica de las gónadas y la secreción de PRL durante los días largos. Es decir, los ciclos de luz-oscuridad son convertidos por la glándula pineal como una señal endocrina para la secreción de la melatonina, la cual finalmente regula la secreción de PRL desde la glándula pineal de la cabra. Por lo tanto, en el control fotoperiódico de la secreción de la PRL, la glándula pineal actúa como una interfase la cual traduce la señal neural de entrada a través de la retina, hacia la señal endocrina de salida, la melatonina (Mori, 1992).

La PRL es una hormona presente en la pituitaria de no todos los vertebrados y cuya principal acción es la formación de leche en la hembra preparada hormonalmente, en el macho la secreción juega un papel más elusivo (Müller, 1989). Es una hormona proteica secretada por la pituitaria anterior, la cual es esencial para los mamíferos, para la estimulación de la glándula mamaria y para el inicio y manutención de la lactación (Russell *et al.*, 1998), así mismo, esta hormona está involucrada con el comportamiento materno al parto, mostrando cambios en sus receptores a nivel cerebral a través de la gestación y lactación (Mann y Bridges, 2002).

La mayor influencia reguladora sobre la secreción de la PRL por parte del hipotálamo es inhibitoria, aunque también se sugiere un efecto estimulador (Müller, 1989), por otra parte se menciona que los estrógenos interactúan en la proliferación de los lactotrofos, pero no en la secreción de la PRL (Yin *et al.*, 2002).

Aunque estos cambios de PRL sugieren un papel directo en la supresión de la LH, existe poca evidencia en ovinos. Tratamientos con supresores de PRL, pueden o no avanzar el inicio del estro posparto, pero no parece influenciar la liberación basal o pulsátil de LH en hembras lactando. Es posible que niveles altos de PRL reduzcan la secreción de estradiol y progesterona ováricos. Los efectos citados anteriormente, pueden influir en la fertilidad de las hembras lactantes, aunque una secreción inadecuada de LH, es la explicación más probable. Finalmente, existe poca evidencia de que la PRL suprima la secreción de gonadotropinas posparto, siendo la principal razón el estímulo del amamantamiento por sí solo (McNeilly, 1994).

Los niveles plasmáticos de la PRL durante la estación reproductiva, se incrementan en respuesta al aumento del largo de los días, y se encuentra en niveles altos durante el anestro posparto. Los niveles en hembras lactando, independientemente si están en estación reproductiva o anestro, son mayores que en hembras no lactando, debido al mantenimiento de la lactación, la cual incrementa la secreción de β -endorfina (Mori *et al.*, 1985; Lamming, 1994; McNeilly, 1994).

A) REGULACION DE LOS OPIOIDES ENDOGENOS, SOBRE LA SECRECION DE LAS GONADOTROPINAS EN LAS DIFERENTES ETAPAS REPRODUCTIVAS

La administración de opioides sinérgicos reduce las concentraciones plasmáticas de LH y se incrementan los niveles de PRL, retrasando la oleada de LH inducida por estrógenos en borregas ovariectomizadas. Sin embargo, los efectos de los sinérgicos opioides de alta especificidad sobre las concentraciones plasmáticas de LH y PRL no han

sido reportadas y aunque no hay estudios desarrollados en esta especie se sugiere que los δ receptores pueden regular la secreción de LH (Walsh y Clarke, 1996).

1) MECANISMOS QUE INDUCEN LA SUPRESIÓN DE GnRH

Prolactina

El por qué de una estrecha asociación entre un aumento de los niveles de PRL y la supresión de la actividad ovárica sugiere que la PRL puede jugar un papel importante, ya sea en la supresión de gonadotropinas o en la inhibición de la acción de las gonadotropinas en el ovario. La importancia de la PRL en la función ovárica normal varía entre especies. En los ovinos altos niveles de PRL pueden reducir directamente los estrógenos ováricos y la secreción de progesterona, reduciendo el efecto de retroalimentación positiva de los estrógenos en la liberación de LH. Mientras estos efectos pueden contribuir a la reducción de la fertilidad en hembras lactantes, seguidas de una inducción al estro, esto está más asociado a una inadecuada secreción de LH por el estímulo del amamantamiento directamente (MacNelly *et al.*, 1994).

En las cabras, cuando se mantiene un fotoperíodo estacional, debido a una exposición continua artificial donde se aumenta el largo de la luz del día durante otoño, se observa el incremento de la PRL, sin afectar el tiempo normal del inicio de la actividad ovárica cíclica (MacNelly *et al.*, 1994).

Del mismo modo, Sarkar *et al.*, en 1988, también mencionan que la hiperprolactinemia reduce la secreción de la LH y decrece las funciones gonadales en hembras y machos. Esta reducción, puede ser causada por una inhibición de GnRH, secretada desde el hipotálamo y no por cambios o por el hecho de existir niveles elevados de PRL, en los tejidos blanco.

Cabe señalar, que la sensibilidad de la pituitaria en liberar LH por acción de la GnRH, ha sido mostrado en muchos casos ser reducida por niveles elevados de PRL, tal vez en el número de receptores de GnRH en la pituitaria. Sin embargo, se cree que el neuropéptido GnRH regula el contenido de sus receptores en la pituitaria. Por lo tanto, la PRL puede reducir la liberación de LH desde la glándula pituitaria por una reducción de la secreción de GnRH desde el hipotálamo (Sarkar *et al.*, 1988).

Ningún efecto directo de la PRL sobre la liberación de GnRH del hipotálamo ha sido sugerida para tener un efecto de retroalimentación por período corto de la PRL en la dopamina, en los cuales altos niveles de PRL incrementan cambios de la dopamina en el hipotálamo, específicamente en las neuronas tuberoinfundibulares, y esto resulta en un incremento en la liberación hacia la circulación portal hipofiseal y la inhibición de la liberación de PRL más adelante (MacNelly *et al.*, 1994).

Opioides

Los mecanismos neurales involucrados en los efectos fotoperiódicos en el ciclo reproductivo del ovino, es pobremente entendido. De manera general, es aceptado que el fotoperiodo afecta la estación reproductiva, mediado por la red hipotalámica que incide sobre las neuronas productoras de GnRH. Tanto los sistemas opioides como los dopaminérgicos están implicados en la secreción de la GnRH. Lo anterior se ha demostrado a través de la sinapsis de las células secretoras de dopamina con las terminales de las células secretoras de GnRH a nivel de la eminencia media en borregas y el uso de antagonistas a la dopamina, que producen la secreción de la GnRH (Fuentes *et al.*, 1998; Tortonese, 1999). Otros neurotransmisores involucrados en la secreción de la GnRH son las catecolaminas, el GABA, glutamato, NPY, neurotensina, polipéptido intestinal vasoactivo y β -endorfina y todos éstos están influenciados por el estradiol (Smith y Genes, 2001).

El bloqueo de la secreción de GnRH durante la estacionalidad, es asociada con un aparente aumento en la sensibilidad del hipotálamo a la retroalimentación negativa por parte de los esteroides gonadales. Es posible que estos cambios representan una alteración en la actividad de las neuronas peptídicas, la cual en parte es mediada por el efecto de los esteroides (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Por otro lado, hay en general acuerdos de que los opioides tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de las gonadotropinas a través de la regulación de la secreción de la GnRH (Russell *et al.*, 1998; Parvizi, 2000) y no por acción directa sobre la hipófisis (Kalra *et al.*, 1989; Thom *et al.*, 1996; Russell *et al.*, 1998). La estimulación de los receptores a opioides con morfina o un péptido opioide endógeno como la β -endorfina, ha demostrado la supresión de la oleada ovulatoria de LH en ratas, así como la secreción pulsátil de LH en ratas y primates. Por otra parte, la administración de anticuerpos a β -endorfina o dinorfina o el uso de un antagonista a los opioides, como la NAL, estimula la secreción de LH. Además, se ha demostrado, que el efecto que tiene los opioides sobre la secreción de LH es a nivel del sistema nervioso central (Kalra *et al.*, 1989; Nishihara *et al.*, 1992; Parvizi, 2000).

Los péptidos opioides pueden reducir simplemente la cantidad de GnRH liberada en cada pulso, más que reducir la actividad intrínseca del mecanismo generador del pulso de GnRH. Sin embargo, las neuronas de GnRH por sí solas, no expresan receptores a opioides, pero el efecto de los opioides puede estar mediado por otras células cercanas a éstas o presinápticamente, ejerciendo un efecto indirecto a nivel de las terminales nerviosas de las neuronas de GnRH de la eminencia media (Cosgrove *et al.*, 1993; Russell *et al.*, 1998).

El sistema de péptidos opioides en el hipotálamo regulan la secreción de la GnRH. Como ya se mencionó los sinérgicos opioides reducen y los antagonistas a éstos aumentan la secreción de LH en muchas especies, incluyendo los humanos, primates no humanos, borregas y roedores. Estos efectos son mediados por la modulación de la secreción de la GnRH, más que por un efecto directo en la secreción de las gonadotropinas. Los mecanismos neuronales refuerzan la secreción de la oleada preovulatoria de GnRH y LH, mediante la excitación y la eliminación de los mecanismos inhibitorios, y como parte de los mecanismos desinhibitorios puede ser una reducción de los efectos inhibitorios de los

opioides que afecta la secreción de la GnRH. En borregas, estudios de los efectos de sinérgicos y antagonistas a los opioides, sobre la secreción de la LH, proporcionan resultados confusos, por lo que el papel de los opioides endógenos sobre la secreción de la GnRH y LH, no es bien conocida (Walsh y Clarke, 1996).

El amamantamiento puede incrementar el tono de los opioides hipotalámico, y esto puede causar la supresión de la liberación de GnRH por un lado y por otro mantiene los niveles elevados de PRL. La administración de bloqueadores de receptores a opioides, puede resultar en un incremento de la secreción de LH y un decremento en la PRL, aunque en borregos este factor puede ser observado tanto en hembras con amamantamiento o sin amamantamiento posparto, sugiriendo que esta respuesta está más relacionada a efectos posteriores de altos niveles de progesterona durante la gestación (MacNelly *et al.*, 1994).

La administración de un bloqueador de receptor a opioides, como la NAL a ratas lactantes, cerdos, ovejas y vacas, puede resultar en un incremento en la secreción de LH y un decremento de la PRL, en los casos donde se evaluó esta hormona. Aunque en borregos, este efecto puede observarse tanto en hembras lactando como en hembras sin lactar, después del parto, sugiriendo que la respuesta está más relacionada a efectos posteriores de los altos niveles de progesterona durante la gestación, aunque existe un incremento en la liberación de β -endorfina dentro de la circulación portal hipofisiaria, como respuesta al estímulo de amamantamiento (MacNelly *et al.*, 1994).

2) LH

Las interacciones entre la PRL, GnRH y la β -endorfina, fueron determinadas en estudios *in vivo* midiendo las concentraciones de β -endorfina en la sangre colectada desde los vasos pituitarios y la respuesta de GnRH hipotalámica y LH pituitaria a la NAL. Cuando la NAL fue administrada (10 mg/kg) produjo un incremento significativo en los niveles plasmáticos en ratas hiperprolactinémicas, pero no produjo un efecto significativo en las ratas control ovariectomizadas. La respuesta de GnRH a la NAL fue también alta en ratas hiperprolactinémicas que en las control. La NAL no incrementó significativamente las concentraciones de GnRH en ratas control ovariectomizadas. En estudios *in vitro*, la interacción entre PRL, GnRH y β -endorfina fue también estudiada usando cultivos neuronales hipotalámicos de fetos (19 días de vida fetal) y neonatales (5 días después del nacimiento). En ambos cultivos se produjo una cantidad significativa de β -endorfina (40-85 pg/ 5×10^5 células/lavada) después de 10 días. El cultivo neonatal, pero no el fetal, produjo una cantidad detectable de GnRH (8-12 pg/ 5×10^6 células/lavado). Al utilizar potasio (56 mN) estimula la liberación de β -endorfina y GnRH de las neuronas hipotalámicas cultivadas. La incubación de estas neuronas con PRL estimulan la liberación de β -endorfina de una forma dosis dependiente. Al aplicar 100 ng/ml de PRL produce un pequeño decremento no significativo de la liberación espontánea de GnRH pero induce a una inhibición significativa de la liberación de GnRH inducida por potasio. La NAL incrementa moderadamente la liberación de GnRH inducida por potasio cuando se prueba de manera aislada. Este antagonista puede producir inversamente de manera completa la inhibición de la liberación de GnRH inducida por PRL (Sarkar *et al.*, 1988).

La β -endorfina bloquea la liberación preovulatoria de LH y la ovulación, por la acción directa sobre los gonadotrópos, lo cual puede ser revertido a través de la aplicación de NAL. Por otra parte, este antagonista opioide es igualmente efectivo en la estimulación para la liberación de LH en los intervalos del primer día del diestro y la mañana del proestro (Kalra *et al.*, 1989).

En estudios donde se empleó la administración intracerebro ventricular de antisuero para β -endorfina, indica que este opioide es activo en el área preóptica para desinhibir la liberación de LH en la fase lútea de las borregas (Shen *et al.*, 1995).

Sin embargo, Anderson *et al.*, en 1998, reportan que en la regulación estacional de la secreción de LH, no existe un efecto de los péptidos endógenos, ni de la dopamina.

En la rata, se sugiere que los péptidos opioides tienen un efecto inhibitorio sobre la actividad del pulso generador de GnRH y son profundamente involucrados en el control de la frecuencia de la secreción pulsátil de LH, en ausencia de esteroides gonadales. Esto se ha demostrado en primera instancia, que cuando el tono inhibitorio de los péptidos opioides es removido, el pulso generador de GnRH puede generar señales eléctricas en frecuencias mucho más altas que en animales ovariectomizados (Nishihara *et al.*, 1992; Cosgrove *et al.*, 1993).

Walsh y Clarke en 1996, sugieren que la pituitaria anterior en la borrega no contiene receptores a opioides, por lo que su efecto sobre la secreción de LH es mediada en la secreción hipotalámica de GnRH, más que un efecto directo sobre las gonadotropinas, reportando que los sitios de acción se encuentran en el área preóptica del hipotálamo en los cuerpos celulares de las neuronas de GnRH. Así mismo, plantean la posibilidad de que el efecto de los opioides en la secreción de GnRH es indirecto, debido a que esta parcialmente modulado por el gasto de catecolaminas en las neuronas secretoras de GnRH, mientras que el efecto en la secreción de PRL es más directo.

En contraste con la rata, los péptidos endógenos no parecen estar involucrados en la inhibición del pulso generador de GnRH en monos ovariectomizados. Aunque los péptidos opioides han sido sugeridos para mediar los efectos inhibitorios de los esteroides sexuales y el CRF, el cual es mediado presumiblemente por el estrés, la NAL no tiene efecto sobre el pulso de LH, ni tampoco en las descargas de MUA en ausencia de esteroides sexuales o CRF. Los péptidos opioides involucrados en el control del pulso generador de GnRH, se relacionan en el cerebro de la rata, pero no así en el del mono. Estas diferencias entre la rata y el mono en los efectos de la NAL, puede deberse a diferencias entre especies y o al tiempo transcurrido después de la ovariectomizados (Nishihara *et al.*, 1992).

La retroalimentación negativa de los esteroides ováricos sobre la secreción de LH puede ser parcialmente mediada por un mecanismo hipotalámico. La ovariectomía atenúa el efecto de los antagonistas a los receptores opioides sobre la liberación de la LH, mientras que la progesterona restaura la magnitud del efecto de estos antagonistas en hembras intactas (Shen *et al.*, 1995).

La administración de antagonistas a opioides en la fase tardía de la etapa folicular del ciclo estral permite acelerar la liberación de GnRH/LH (Shen *et al.*, 1995; Thom *et al.*, 1996). En borregas, la infusión de NAL no adelanta la inducción de la oleada de LH por estrógenos en hembras ovariectomizadas, sin que a la fecha la razón sea conocida (Thom *et al.*, 1996).

El efecto estimulador de la NAL en la secreción de gonadotropinas ha sido preferencialmente descrito en animales intactos, pero no en gonadoectomizados. Con base en la sugerencia de que los péptidos opioides median el efecto inhibitorio de los esteroides gonadales sobre la secreción de las gonadotropinas, se ha propuesto que la progesterona reduce la frecuencia de los pulsos de LH a través de la mediación por mecanismos de los péptidos opioides endógenos en el mono y en la rata. En el mono, la NAL ha demostrado no tener efecto en los pulsos de LH después de la gonadoectomía. Sin embargo, en ratas, no es todavía claro, cómo los péptidos opioides afectan la secreción de LH en ausencia de los esteroides gonadales (Nishihara *et al.*, 1992).

Así mismo, la administración de antagonistas a opioides como lo es la NAL, bloquea la supresión de la LH por efecto de los péptidos opioides, indicando que esta respuesta endocrina está mediada por receptores a opioides. Estudios en borregos demuestran que la NAL fue capaz de afectar la secreción de LH cuando fue aplicada en el cerebro medio pero no se afectó cuando se aplicó en las regiones caudales del hipotálamo. Los efectos inhibitorios de los péptidos opioides en la secreción de la LH parece variar en relación al ambiente esteroideal prevaleciente. En borregas, la administración de opioides inhibió la liberación de LH y la naloxona estimuló su liberación en hembras intactas. La ovariectomía atenúa el efecto de los antagonistas a los receptores opioides sobre la liberación de LH, mientras que la progesterona pero no el estradiol parece restaurar la magnitud del efecto de los antagonistas opioides semejante al de las hembras intactas. El efecto de la progesterona es independiente a la época del año aunque el efecto de los estrógenos se anula durante el anestro (Thom *et al.*, 1996).

Por otra parte, en borregas se ha encontrado un incremento en la amplitud del pulso de la LH cuando en la fase folicular fueron tratados con NAL, debido a un efecto en la secreción de GnRH, sugiriendo que una baja de la actividad opioide, puede contribuir a la oleada de LH, durante el proestro. La diferencia del efecto de los antagonistas opioides a través del ciclo estral, sobre la amplitud o la frecuencia de los pulsos de la GnRH/LH, podría ser explicada debido a la alteración en la expresión de los receptores opioides. Durante la fase lútea existen altos niveles de receptores δ en el área preóptica, siendo la misma situación en hembras ovariectomizadas tratadas con progesterona en donde se predispone la regulación de la frecuencia de pulsos de GnRH. Por otro lado, el relativo decremento de este tipo de receptores en las fases tempranas de la etapa folicular podría negar este mecanismo. Por otro lado, existen evidencias en estudios realizados en ratas de que los receptores μ pero no los κ están involucrados en la secreción de LH (Thom *et al.*, 1996).

La administración de sinérgicos opioides reduce las concentraciones plasmáticas de LH y se incrementan los niveles de PRL, retrasando la oleada de LH inducida por estrógenos en borregas ovariectomizadas. Sin embargo, los efectos de los agonistas opioides de alta especificidad sobre las concentraciones plasmáticas de LH y PRL no han sido reportadas y aunque no hay estudios desarrollados en esta especie se sugiere que los δ receptores pueden regular la secreción de LH (Walsh y Clarke, 1996).

La posibilidad de que los cambios en los diferentes tipos de receptores son regulados por la progesterona, es reforzada en los tratamientos con esta hormona en hembras ovariectomizadas, sugiriendo que esta hormona incrementa los niveles de receptores δ . Así mismo, se ha encontrado que los implantes con antagonistas a los opioides en el área preóptica e hipotálamo medio basal, fueron efectivos pero existieron diferencias en su efecto sobre la frecuencia y la amplitud de los pulsos de LH dependiendo del estado del ciclo estral. Por lo tanto, existen alteraciones en la población de receptores opioides lo cual controla la secreción de la GnRH, ya que existe un aumento en el número de receptores δ y μ conforme progresa la fase folicular del ciclo estral. En adición a lo anterior también se ha reportado un incremento del número de receptores a lo largo de la fase folicular en la borrega junto con un incremento en la secreción de la β -endorfina en el núcleo arcuato y eminencia media en el período subsecuente a la oleada de LH (Shen *et al.*, 1995; Thom *et al.*, 1996).

Los δ antagonistas incrementan las concentraciones de LH en ratas ovariectomizadas y tratadas con esteroides y también bloquean el efecto supresor de la β -endorfina en la LH plasmática. Así mismo, se sugiere que los δ sinérgicos podrían reducir la secreción de GnRH/LH en animales con gónadas pero no en borregas ovariectomizadas, por lo que los péptidos opioides endógenos están implicados en los efectos de retroalimentación negativa de la progesterona sobre la secreción de GnRH y posiblemente los δ receptores median este efecto (Walsh y Clarke, 1996).

Los κ receptores pueden regular la secreción de GnRH en la rata durante la gestación. El número de estos receptores en el hipotálamo y su afinidad no es alterada por tratamientos esteroidales en hembras ovariectomizadas, por lo que se sugiere un papel sinérgico de los κ receptores en la secreción de la GnRH en las borregas (Walsh y Clarke, 1996).

En la mayoría de las especies, el amamantamiento inhibe directamente la liberación de GnRH resultante del hipotálamo, principalmente inhibe la liberación de LH y como consecuencia hay una inhibición del crecimiento de folículos en el ovario o una disminución de esteroides ováricos por los folículos debido a una baja influencia por parte de la hormona FSH, aunque los niveles de esta hormona son normales durante toda la lactación. La facilidad de la inducción a la ovulación durante la lactación, sugiere que no hay una insensibilidad del ovario hacia las gonadotropinas durante la lactación y el papel de la PRL en la supresión de gonadotropinas no existe o es mínimo. Aunque el amamantamiento incrementa el tono de opioides dentro del hipotálamo, esto puede ser más bien involucrado en el mantenimiento de la secreción de PRL, aunque existen pequeñas

evidencias de que los opioides están involucrados en la supresión o disrupción del modelo pulsátil de liberación de GnRH durante la lactación (MacNelly *et al.*,1994).

Otros neuropéptidos que se han reportado estar involucrados en la liberación de GnRH, son el NPY y sustancia "P", mientras que las endorfinas participan en contraste, como un mecanismo inhibitorio. La participación de los mismos, es posiblemente modulada por circunstancias propias del cerebro, así como los niveles de aminas y esteroides (Hayashi y Okamura, 1992).

B) RELACION DE LOS PEPTIDOS OPIOIDES Y LA PROLACTINA

1) PÉPTIDOS OPIOIDES Y LA SECRECIÓN DE LA PROLACTINA.

El sistema hipotalámico de endorfinas es un componente esencial para la secreción de PRL. Diferentes estudios han demostrado que el amamantamiento induce la liberación de β -endorfina, por lo que se sugiere que la respuesta de las endorfinas fue debida a la secreción de la pituitaria anterior. Aunque se sugiere un efecto parácrino de la β -endorfina de la pituitaria sobre la secreción de PRL, no permite relacionar los mecanismos centrales de la β -endorfina sobre la respuesta a la PRL (Clarke *et al.* , 1989).

El incremento en las concentraciones de β -endorfina en el plasma portal pituitario en ratas hiperprolactinémicas en el medio de neuronas hipotalámicas incubadas con PRL sugiere que el péptido pituitario tiene una acción estimuladora en el opioide. Se ha observado un incremento en los contenidos hipotalámicos de la β -endorfina después de una hiperprolactinemia crónica. El incremento de la secreción de β -endorfina por PRL es consistente con el incremento de la sensibilidad de las neuronas de GnRH a la NAL durante una condición elevada de PRL. Esto afirma que la β -endorfina es inhibitoria a las neuronas GnRH. La habilidad de la NAL en superar el efecto inhibitorio de la PRL en la secreción de GnRH comparte la idea de que la NAL también bloquea la acción inhibitoria de la PRL en la liberación de LH en ratas ovariectomizadas y que también restaura la pérdida de LH pulsátil en hiperprolactinémicos. Esto finalmente sugiere que la hiperprolactinemia inhibe la secreción de GnRH por un incremento del tono de β -endorfina en las neuronas secretoras de GnRH en el hipotálamo (Sarkar *et al.*, 1988).

Los péptidos opioides endógenos están implicados en la secreción de PRL, aunque se sabe poco del papel que juegan los receptores a éstos, para afectar la secreción de esta hormona, sugiriendo que los opioides incrementan los niveles plasmáticos de PRL en diferentes especies incluyendo los ovinos (Walsh y Clarke, 1996; Hopwood *et al.*, 1998; Russell *et al.*,1998). Estudios con antagonistas a los receptores de los péptidos opioides o inyecciones de antisuero a β -endorfina a nivel intracerebroventricular, demuestran que los péptidos opioides estimulan la secreción basal de la PRL (Russell *et al.*,1998).

Los péptidos opioides están implicados en el control de la secreción de PRL así como en la de la LH, pero los efectos son estimulatorios e inhibitorios respectivamente. Durante los días largos, cuando los niveles plasmáticos de PRL son elevados, la NAL disminuye las concentraciones de PRL. Bajo días cortos, cuando los niveles de PRL son

bajos la NAL, no afecta los niveles de esta hormona (Lincoln y Ssewanyana, 1989; Russell *et al.*,1998).

Soaje *et al.*, en el 2002, sugieren que los pépticos endógenos están implicados en la liberación del PRL, inducida por el amamantamiento, para lo cual estudiaron la influencia de los esteroides ováricos y los opioides en la regulación de la PRL, observando que al aplicar NAL, redujo significativamente los niveles séricos de PRL, pero que implantes de progesterona previenen el efecto inhibitorio de dicho antagonista opioide y que este efecto no fue modificado con tratamientos de estrógenos. Concluyendo que el sistema opioide modula la secreción de la PRL inducida por el amamantamiento, que inicia desde una acción moduladora desde antes del parto a una acción estimuladora durante la lactación, mismas que son dependientes del descenso las concentraciones de progesterona al final de la gestación y después del parto.

La β -endorfina es un potente opioide estimulante de la liberación de la PRL (Russell *et al.*,1998). La inyección de 0.5-2-5 microgramos de β -endorfina permite una rápida y significativa estimulación de la PRL. En muchos experimentos, la NAL proporciona un total bloqueo de los péptidos y de su acción sobre la liberación de esta hormona. El mecanismo por medio del cual los péptidos opioides, entre ellos la β -endorfina, estimula la secreción de esta hormona no se ha elucidado todavía, aunque muchos autores concluyen que los receptores μ y κ están involucrados en la secreción de PRL, así como la depresión de la acción inhibitoria de la dopamina sobre los lactotrofos pituitarios (Müller, 1989).

La β -endorfina en el núcleo arcuato disminuye durante el proestro, mientras que el contenido en la eminencia media, coincide con el alza de la secreción de la PRL, dado que existe una disminución en esta zona, del contenido de dopamina (Russell *et al.*, 1998).

Por otro lado, la naloxona a diferentes dosis no cambia el modelo de secreción de la PRL en procesos de estrés hipoglicémico (Müller, 1989). Sin embargo, la secreción de PRL en el proestro o la estimulación de amamantamiento en la lactación es prevenida por la NAL (Russell *et al.*, 1998).

Por otro lado, los péptidos endógenos median la estimulación de la secreción de la PRL, en respuesta al estímulo de amamantamiento, mientras que la administración de antagonistas a opioides, inhiben el estímulo mencionado y retrasan la liberación de esta hormona. Lo anterior se repite al aplicar suero anti β -endorfina. Las neuronas productoras de este péptido en el núcleo arcuato, son estimuladas por al amamantamiento (Russell *et al.*,1998).

En ciertas circunstancias, los péptidos opioides inhiben la secreción de la PRL, por ejemplo, la NAL incrementa la secreción del PRL en la fase folicular del ciclo estral, indicando así dicha influencia inhibitoria. La β -endorfina es menos efectiva a mitad de la gestación y al momento de retirar la influencia de la progesterona, la NAL, aumenta la secreción de la PRL. Esta acción emergente de los péptidos opioides sobre la secreción de la PRL, es debido a la acción crónica de los estrógenos sobre le núcleo arcuato (Russell *et al.*,1998).

La NAL no tiene efecto sobre la secreción de la PRL en la borrega, durante la fase de días cortos del ciclo estacional, cuando la secreción de la PRL es baja, indicando la acción de los péptidos opioides sobre los mecanismos regulatorios de la PRL (Russell *et al.*, 1998).

Los péptidos opioides, en especial, la β -endorfina, están involucrados en la secreción de la PRL, durante la lactación y posiblemente durante el periodo posparto (Hopwood *et al.*, 1998).

2) MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA PROLACTINA SOBRE LA LIBERACIÓN DE LA β -ENDORFINA

Los mecanismos por medio de los cuales la PRL induce la liberación de β -endorfina fueron estudiados *in vitro* en cultivos de neuronas hipotalámicas. La respuesta a la pregunta fue que la PRL induce a la liberación de β -endorfina bajo un control formando localmente metabolitos del ácido araquidónico. En el hipotálamo, la conversión enzimática del ácido araquidónico a algunos metabolitos activos puede ser importante en una reacción integral en los procesos entendidos de la activación de la superficie celular a la exocitosis dependiente de calcio para liberar varios neuropéptidos (Sarkar *et al.*, 1988).

La liberación de β -endorfina inducida por PRL desde las neuronas hipotalámicas parece ser dependiente de calcio, ya que un antagonista cálcico, el verpamil, reduce significativamente la PRL que induce la liberación de β -endorfina (Sarkar *et al.*, 1988).

Existen estudios que proveen evidencias acerca del papel de metabolitos del ácido araquidónico en la secreción de β -endorfina inducida por PRL. Primeramente, la PRL causa la liberación de prostaglandinas y β -endorfina en cultivos celulares. En segundo lugar, el adicionar de manera endógena metabolitos de ácido araquidónico, estimula la liberación de β -endorfina *in vitro*. También, inhibidores del metabolismo del ácido araquidónico modifica los efectos de la PRL en la liberación de β -endorfina. Y por último se sugiere que la liberación de ácido araquidónico es parte del mecanismo de liberación de la PRL (Sarkar *et al.*, 1988).

El ácido araquidónico y sus metabolitos han sido implicados en la regulación de la secreción de varios neuropéptidos en el tejido neural. Una vez formado en la célula durante los cambios secretores y estimuladores de fosfolípidos, el ácido araquidónico es rápidamente metabolizado a través de varias rutas. Son dos las principales rutas metabólicas a seguir la vía del ciclo oxigenasa, para la formación de prostaglandinas y la vía de la lipoxigenasa formando ácidos y leucotrenios. El incremento observado en la producción de prostaglandinas por la PRL es consistente con la estimulación de prostaglandinasa la secreción de β -endorfina y con la inhibición de indometacina de la liberación de β -endorfina inducida por PRL. Estos resultados sugieren que los metabolitos de la vía ciclo oxigenasa pueden mediar la acción estimuladora de la PRL en la liberación de β -endorfina,

por lo tanto también se involucra a la vía de la lipoxigenasa en esta acción (Sarkar *et al.*, 1988).

C) REGULACIÓN DE LOS OPIOIDES ENDÓGENOS SOBRE LA SECRECIÓN DE OXITOCINA.

La oxitocina secretada desde la pituitaria posterior, juega un papel importante al parto, debido a que se involucra en las contracciones uterinas, expulsión fetal e inicio del comportamiento maternal (Jarvis *et al.*, 2000), necesitando el retiro de la progesterona para que se activen las neuronas del núcleo supraóptico (Antonijevec *et al.*, 2000). Así mismo, tienen un papel esencial en la estimulación contráctil de las células mioepiteliales en la glándula mamaria, que produce la eyección de la leche al momento del amamantamiento (Russell *et al.*, 1998; Lupoli, *et al.*, 2001; Baldi y McKusick, 2001; Marnet y McKusick, 2001).

La oxitocina es sintetizada en los cuerpos celulares de las neuronas magnocelulares en los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo y transportada a través de los axones, para ser almacenada en las terminales de éstos en la pituitaria posterior (Russell *et al.*, 1998; Marnet y McKusick, 2001).

1) COEXISTENCIA DE LA OXITOCINA Y LOS PÉPTIDOS OPIOIDES.

El involucramiento de los péptidos opioides en los mecanismos de autorregulación de la oxitocina, es indicado en la coproducción de los péptidos opioides de la proencefalina "A" y proencefalina "B" en las neuronas productoras de oxitocina. Los péptidos opioides están contenidos en las mismas vesículas secretoras que para la oxitocina (Russell *et al.*, 1998; Wellnitz y Bruckmaier, 2001).

Dentro de la pituitaria posterior, algunas de las terminales nerviosas de las neuronas magnocelulares, contienen 5- Met-encefalina, lo que puede contribuir a la mezcla de los péptidos opioides en el ambiente de las terminales de la oxitocina (Russell *et al.*, 1998).

Cabe señalar, que los péptidos opioides inhiben a las neuronas secretoras de oxitocina y que la aplicación de NAL, incrementa la expresión de las células del núcleo paraventricular, previendo el citado efecto inhibitorio (Antonijevec *et al.*, 2000; Jarvis *et al.*, 2000; Baldi y Stelwagen, 2001).

Así mismo, que existe un aumento en las concentraciones de β -endorfina durante la fase de labor en el parto de las cabras (Hydbring *et al.*, 1999), mientras que Petrov *et al.*, en 1998, proponen que existe una población amplia de receptores a opioides involucrados en el inicio del comportamiento de amamantamiento, así como en la respuesta a la estimulación al pezón.

2) RECEPTORES A OPIOIDES Y NEURONAS PRODUCTORAS DE OXITOCINA

La presencia y distribución de los receptores a opioides en las neuronas magnocelulares, productoras de oxitocina, es demostrada a través de radioligandos. La pituitaria posterior, tiene una alta densidad de receptores κ , tanto en las terminales nerviosas de la oxitocina como de la vasopresina, pero en las primeras son funcionalmente importante. Como es de esperarse, también en los cuerpos celulares de las neuronas productoras de oxitocina, tiene receptores κ y una baja densidad de receptores μ (Russell *et al.*,1998).

3) NEURONAS PRODUCTORAS DE PÉPTIDOS OPIOIDES Y NEURONAS PRODUCTORAS DE OXITOCINA

La propiomelanonocortina puede ser expresada en dos *locus*, los cuales pueden tener influencia en las neuronas productoras de oxitocina. El primero, en la *pars intermedia* de la pituitaria, produce péptidos opioides, incluyendo la β -endorfina. La relación íntima entre la *pars intermedia* y la pituitaria posterior sugiere que la β -endorfina de esta porción de la pituitaria puede actuar en las terminaciones de la oxitocina (Russell *et al.*,1998).

4) ACCIÓN DE LOS OPIOIDES SOBRE LAS NEURONAS PRODUCTORAS DE OXITOCINA.

Los péptidos opioides inhiben el reflejo de eyección de la leche. De primera acción se reduce la secreción basal de la oxitocina y de segunda acción, reduce la cantidad de ésta en cada pulso, por lo que el sitio predominante de acción de los péptidos opioides, es la pituitaria posterior. Cabe señalar, que la NAL aumenta la estimulación de la secreción de la oxitocina hacia el final de la gestación (Russell *et al.*,1998; Kraetzl *et al.*, 2001a).

Existen dos mecanismos de los péptidos opioides inciden sobre las neuronas productoras de oxitocina: bajo la regulación de los mecanismos κ , inhiben su liberación a nivel de las terminales de la pituitaria posterior y a través de los mecanismos μ , inhibiendo la excitación de las neuronas centrales, rompiendo la respuesta de las neuronas productoras de oxitocina a su gasto excitatorio. El bloqueo de las acciones de los opioides, través de la NAL, incrementa la secreción de la oxitocina (Russell *et al.*,1998).

La regulación de los péptidos opioides sobre la oxitocina durante el parto, es discutida en relación a que otros neurotransmisores, junto con los opioides, inhiben esta hormona, como parte normal de la respuesta fisiológica al parto o si es inducida por el estrés derivado durante el parto (Jarvis *et al.*, 2000).

Aunque existe evidencia del control de los péptidos opioides en la liberación de la oxitocina, Kraetzl *et al.*, en 2001(b), propone que existen otros mediadores tal vez más potentes en la regulación de esta hormona, bajo situaciones de estrés. Así mismo, se menciona que la aplicación de la NAL, no influye en la inhibición de la eyección de la leche, cuando el ambiente no es familiar para los animales tratados (Macuhova *et al.*, 2002).

FISIOLOGIA DEL ANESTRO POSPARTO EN LOS RUMIANTES

El periodo posparto es el comprendido entre el parto y el comienzo de la actividad ovárica y ciclos estrales regulares (González *et al.*, 1991). Es un periodo de transición de aciclicidad ovárica (Wise, 1994), de reposo reproductivo, que sin embargo no representa la ausencia completa de actividad ovárica y hormonal (Khalid *et al.*, 1991). El posparto y la anovulación en la cabra y en la oveja son una consecuencia de la gestación, el parto, la producción de leche, el amamantamiento o una combinación de estos factores (Mandiki *et al.*, 1990).

El periodo de reposo sexual se caracteriza por la ausencia casi completa de actividad cíclica reproductiva. Algunos factores para determinar el largo del anestro, incluyen parámetros como la involución uterina, el estado endocrino, la nutrición, la lactación y la estación del año. El periodo posparto en la oveja Pelibuey está compuesto de dos fases: la primera es la fase de anestro, seguida de una fase de actividad cíclica- ovárica, con uno o más ciclos lúteos con comportamiento no aparente de anestro (González *et al.*, 1991; Yavas y Walton, 2000).

En las especies estacionales, como los caprinos, ovinos y equinos, la estación reproductiva es gobernada por el fotoperiodo, requiriendo señales de transducción neuroendocrinas, entre las que se incluyen la dopamina, opioides y melatonina, las cuales median la actividad del cerebro y función gonadal (Parvizi, 2000).

La lactación es un gran estímulo para el control y gobierno de los ciclos reproductivos en las hembras mamíferas. Un periodo de anovulación y anestro ocurre en ovejas amamantando siguiendo al parto. Se observa una atenuación de signos neuroendócrinos que suprimen la función gonadal (Williams, 1990). La lactancia induce supresión de gonadotropinas y la ausencia de ciclicidad ovárica en hembras mamíferas (Mc Vey y Williams, 1991; Lamming, 1994).

En la mayoría de las especies, el amamantamiento inhibe directamente la liberación de GnRH, afectando principalmente en la inhibición de las LH, con la consecuente inhibición del desarrollo folicular o una secreción baja de esteroides ováricos. Los niveles de FSH se muestran normales durante la lactación (Lamming, 1994; Pérez *et al.*, 2001).

La aciclicidad en el periodo de posparto es atribuible a la inhibición del pulso generador de GnRH, suponiendo así la liberación pulsátil de LH, el desarrollo folicular y la esteroidogénesis. Así mismo, existe evidencia que los péptidos opioides participan en la supresión de GnRH durante el posparto y la lactación en cerdas, vacas y borregas. Tratamientos con NAL en borregas, ocasionan la elevación de LH en los días diez y veintiséis posparto. Por otra parte, el amamantamiento provoca que la β -endorfina actúe de manera autocrina dentro del hipotálamo, inhibiendo la liberación de GnRH y también la supresión de la dopamina sobre la secreción de PRL (Cosgrove *et al.*, 1993; Callahan *et al.*, 2000; Pérez *et al.*, 2001).

Las concentraciones plasmáticas de PRL pueden representar el resultado del papel que juegan los péptidos opioides. La administración de NAL en borregas amamantando y en borregas destetadas a los veinte días posparto presentaron una elevación en la secreción de LH en ambos grupos, comparado con su contraparte en la cual no hubo inhibición de los péptidos. Estos resultados sugieren que aunque los péptidos opioides tienen una menor secreción de gonadotropinas los efectos no fueron modificados por el amamantamiento (Cosgrove *et al.*, 1993).

El anestro estacional en la oveja y en la cabra está caracterizado por un patrón de infrecuencia en la pulsación de LH. Esta infrecuencia resulta en una disminución de la liberación de GnRH endógeno, pudiendo ser reversible por GnRH exógeno (Jansen *et al.*, 1991). Este periodo se distingue por una etapa de transición de aciclicidad y se ha asociado a la inhabilidad de generar pulsos de LH, debido a cambios en la habilidad de los gonadotropos para sintetizar y liberar LH (Wise, 1994). Este periodo de reposo reproductivo no representa la completa ausencia de actividad ovárica y hormonal, más bien, bien representa un estado similar al encontrado durante la fase lútea del ciclo estral (Khalid *et al.*, 1991).

En los ovinos y caprinos, la presencia o ausencia de la ovulación, representa la línea de división entre la estación reproductiva y el anestro, lo cual es el resultado de una delicada relación entre la progesterona, estrógenos, hormonas polipéptidas y señales neurales. Durante el anestro, el rango de talla y número de folículos antrales son similares a los observados en la etapa reproductiva, pero la ovulación, no ocurre. El bloqueo de la ovulación en el anestro, es causado por un decremento de la frecuencia pulsátil de la LH, la cual es el resultado de un incremento de la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis a la retroalimentación negativa del estradiol, derivado de una variación en los niveles de receptores a esta hormona. Por otra parte, se han encontrado niveles mayores de estradiol en borregas ovariectomizadas en anestro que en estación reproductiva (Lamming, 1994; Tasende *et al.*, 2002).

En ovejas y cabras de latitudes altas, el anestro estacional puede llegar a durar 4 ó 5 meses, empezando inmediatamente después del parto. En muchas razas de ovejas, el periodo de anestro debido a la lactación queda encubierto por el anestro estacional, sin embargo cuando el parto tiene lugar durante la época de cría, la duración del anestro estacional, suele depender solamente del grado de estimulación mamaria (Hunter, 1985). Normalmente el anestro estacional y lactacional ocurren al mismo tiempo. Esta sobreposición puede fortalecer la inhibición de la actividad cíclica (Mandiki *et al.*, 1990). El anestro estacional es un factor limitante para la producción intensiva de la crianza de ovejas y cabras en el mundo (Robic *et al.*, 1992).

Se señala que el anestro posparto puede ser una consecuencia de la gestación y/o parto y no una consecuencia de la lactación (Mandiki *et al.*, 1991).

Una función anormal, pero natural de la fase lútea, ocurre al inicio de la actividad sexual después del anestro estacional o del posparto y al inicio de la pubertad, por lo que sugiere que la progesterona es necesaria para una función lútea normal (Tasende *et al.*, 2002).

La lactancia puede modificar la involución uterina (Pope *et al.*, 1989; yavas y Walton, 2000) y esta etapa por sí misma no es un factor que altere la duración del anestro posparto (Mandiki *et al.*, 1991). Los mecanismos fisiológicos por los cuales la lactancia puede retardar el retorno al estro no están bien dilucidados, pero se sugiere que la lactación induce prolactinemia, la cual puede estar involucrada en la lentitud de la reanudación de los mecanismos en comportamiento de estro después del parto. Después del nacimiento del cordero, se modifica el perfil hormonal, tanto la concentración de LH como su secreción tónica son bajas y se incrementan gradualmente antes de la reanudación de la ciclicidad ovárica, ya sea en ovejas secas como en ovejas lactando. Como se dijo anteriormente, la lactación retarda la reanudación de la secreción pulsátil de LH y la ocurrencia de la primera descarga de LH. La lactación induce hiperprolactinemia, altos niveles de prolactina durante la mañana están relacionados a la intensidad de relación madre-hijo y el periodo del día (Mandiki *et al.*, 1990). El manejo lactacional reduce drásticamente la intensidad de lactación, la cual también disminuye con la edad de los corderos. Se ha observado además que la intensidad de la lactación se incrementa con el número de corderos criados, el número de corderos o el modo de lactación no suele afectar el retorno al estro (Mandiki *et al.*, 1990; Yavas y Walton, 2000).

Existe una acción recíproca entre el hipotálamo, la adenohipófisis y las gónadas. La liberación de LH de la hipófisis, la producción de andrógenos por las células de la teca y la aromatización de andrógenos a estradiol por las células de la granulosa. La dinámica de retroalimentación negativa de la progesterona y el estradiol y positiva por parte del estradiol, son mecanismo de control y regulación de la liberación tónica y cíclica de las gonadotropinas a nivel del hipotálamo e hipófisis en mamíferos domésticos. La preñez interrumpe esta acción cíclica, la secreción de grandes cantidades de esteroides placentarios particularmente, el estradiol, puede agotar el almacén de LH en la hipófisis hacia el final de la preñez (Williams, 1990). En el posparto temprano la lactación inhibe la secreción pulsátil de la LH y consecuentemente la primera descarga de LH. La inhibición por lactancia puede ser debida a un disturbio temporal en el balance hormonal, el aumento de prolactina y la secreción de cortisol (Mandiki *et al.*, 1990). Inmediatamente después del parto, la principal función reproductiva de la hipófisis es estimular la síntesis y secreción de leche de las glándulas mamarias. La oxitocina interviene en el proceso de secreción, mientras que la síntesis de leche está regulada por hormonas del complejo lactogénico, entre éstas están la ACTH y TSH, pero el principal componente hipofisiario es la prolactina. Por la relación inversa entre prolactina y gonadotropinas, la primera fase de la lactancia que es la más intensa, parece inhibir la reanudación de la actividad cíclica ovárica. Esto podría interpretarse como un mecanismo para impedir el establecimiento de una nueva preñez, mientras se atiende a las necesidades del recién nacido. A medida que las crías crecen y se desarrollan, la intensidad del estímulo de amamantamiento permite segregar hormonas gonadotrópicas en cantidad suficiente para reanudar la maduración de los folículos y la actividad cíclica del ovario. También es posible que influya el hecho de reducirse las demandas metabólicas. Una interpretación de estos hechos podría ser que los impulsos aferentes que llegan al cerebro provocados por la estimulación de los pezones establezcan un antagonismo entre dos neurosecreciones hipotalámicas, el factor inhibidor de la prolactina y el GnRH. En el animal posparto es posible que la prolactina ejerza una acción inhibitoria directamente a nivel hipotalámico y/o ovárico. En las ovejas que crían a sus

corderos, el anestro de lactación dura de 5 a 7 semanas e incluso más, pero la mayoría de las ovejas presentan el estro a las dos semanas del destete. También en este caso existen evidencias de un antagonismo entre la secreción de prolactina y la de gonadotropinas que influyen en el retraso de la respuesta ovárica durante la lactancia (Hunter, 1985).

El estado nutricional de la oveja durante el último tercio de gestación y la lactación temprana, juega un papel importante en el retorno de la ciclicidad estral posparto. La suplementación durante el último tercio de la gestación y lactación temprana reduce el periodo de posparto y subsecuentemente incrementa la supervivencia de nacimientos múltiples, sin embargo, la fertilidad disminuye dramáticamente durante el periodo de posparto. La lactación y/o el amamantamiento demoran la primera ovulación y el primer estro en esta etapa. Cuatro efectos fisiológicos que afectan la reproducción durante la lactación y el amamantamiento han sido sugeridos:

- 1) El flujo sanguíneo hacia la glándula mamaria puede trastornar el flujo sanguíneo hacia el aparato genital.
- 2) El metabolismo hormonal – gonadal y adrenal por el tejido mamario, puede interferir con mecanismos endocrinos esenciales para la reproducción.
- 3) La prolactina y la oxitocina liberadas durante el amamantamiento y/o lactación pueden inhibir funciones ovárica y/o hipofisiarias.
- 4) La interacción social asociada a la lactación y amamantamiento puede retardar la reanudación del ciclo estral.

Después del parto, la función de sincronización del hipotálamo, la hipófisis, el ovario y el aparato genital, pueden ocurrir al permitir la reanudación de la actividad cíclica reproductiva en ovejas. Este proceso incluye cambios en la liberación de gonadotropinas, los cuales se cree perjudican o inhiben durante el periodo de posparto la sensibilidad de la hipófisis hacia la liberación de las hormonas gonadotrópicas, por lo que ésta es reducida.

Altos niveles de prolactina inducidos por el amamantamiento pueden también afectar la actividad ovárica. Se ha observado que uno de los primeros cambios evidentes en el eje hipotálamo-hipófisis durante el periodo posparto, es un incremento en la concentración de RNAm para las subunidades de LH.

La concentración de RNAm para ambas subunidades es de 4 a 10 plegamientos altos tanto dos días después del parto como durante la gestación tardía, con detecciones máximas durante el periodo de posparto, es un incremento en la frecuencia de pulsos de LH un tiempo después del parto, la progesterona queda elevada durante la lactación, declinando de 6-10 días antes del parto, con niveles bajos un día antes del parto. La progesterona queda baja durante el periodo del posparto temprano. La actividad cíclica ovárica se reanuda cuando la progesterona incrementa otra vez. En ovejas de lana, los picos de progesterona se han observado en el día tres posparto. La LH hipofisiaria queda baja a través de la gestación y el periodo del posparto temprano (González y Valencia, 1991).

Algunos autores concluyen, que tanto el amamantamiento como la presencia de tejido mamario con amamantamiento pueden retardar el estro posparto, independientemente de la

energía demandada para la lactación. La frecuencia de lactancia y de intensidad o duración han sido consideradas como las primeras determinantes para el largo del anestro posparto.

Claramente el estímulo frecuente de amamantamiento alarga el intervalo posparto en muchos mamíferos (Williams, 1990). Este estímulo causa un incremento transitorio en la concentración de cortisol, el cual declina en el periodo de posparto avanzado. El incremento en la concentración de cortisol indica que el estímulo es generado por el acto de amamantamiento, sin embargo, no se puede decir que el estímulo de amamantamiento no está implicado en la liberación de cortisol, pero se piensa que no existe relación entre la secreción de cortisol y el estado reproductivo posparto (Gómez y López, 1991).

La conexión neural de la glándula mamaria, particularmente del pezón, puede actuar como desencadenador primario de los signos que suprimen la pulsatilidad de LH durante la lactancia, proponiendo que el único factor para esto, es el estímulo sobre el pezón al mamar la cría, aunque una estimulación crónica del pezón no duplica la lactación, además un estudio mostró que el bloquear el hocico de terneros no alteró la lactación, por lo que parece que otras interacciones de conducta durante la lactación tales como los estímulos auditivos, visuales y olfatorios son también requeridos para inducir el anestro por lactación, tanto o más que el estímulo táctil sobre el pezón. Sin embargo, podría ser diferente el mecanismo fisiológico involucrado en los bovinos en relación a los ovinos, ya que la estimulación del nervio somatosensorial mamario es una causa del anestro posparto, debido a que se han observado intervalos cortos de estros en ovejas denervadas de la glándula (McVey y Williams, 1991). El parto, el amamantamiento, el dolor y el estrés asociados con una alta concentración periférica de opioides, han sido relacionados en la supresión de gonadotropinas y la aciclicidad en el posparto (Smart *et al.*, 1994b).

Asociada con el anestro, existe una marcada supresión de la liberación pulsátil de LH. La lactancia interfiere con la liberación de GnRH del hipotálamo y de la hipófisis (Williams, 1990). El periodo posparto está caracterizado por una etapa de transición de aciclicidad. Las bases endocrinas de este periodo de anestro no son bien conocidas pero envuelven en parte los mecanismos endocrinos que controlan la liberación de LH. Como ya se sabe, la liberación de LH depende de la liberación de GnRH, y la sensibilidad de la hipófisis anterior a la GnRH, está reducida durante la gestación tardía y continúa baja durante el periodo del posparto temprano, debido quizás por las bajas concentraciones de gonadotropinas durante este tiempo. Un segundo factor que puede contribuir a la baja frecuencia de la liberación de LH y sensibilidad a GnRH durante el anestro posparto en ovejas, es la disponibilidad de LH para liberación (Wise, 1994).

Las reservas de LH hipofisiaria y los patrones de secreción de GnRH producen posibles deficiencias en el eje hipotalámico-hipófisis, las cuales resultan en una reducción en la secreción de LH durante la fase temprana del periodo posparto, por lo que se sugiere, que la baja en la concentración de LH sea probablemente una de las limitaciones iniciales al reestablecimiento del ciclo estral, así como la alteración en la sensibilidad de este órgano hacia la GnRH. La evaluación del contenido de GnRH de las neuronas hipotalámicas sugiere una reducción en la síntesis de GnRH durante el periodo de posparto temprano. Durante el periodo de posparto el hipotálamo contiene suficiente cantidad de GnRH almacenada para estimular la glándula hipófisis anterior. La ciclicidad ovárica parece ser el

resultado del fracaso de desarrollo folicular, posiblemente debido a una inadecuada frecuencia de pulsos de LH (Schirar *et al.*, 1989; Schirar *et al.*, 1990; Lishman e Inskeep, 1991).

El contenido de FSH hipofisiaria al parto y durante el periodo de posparto temprano, no difiere apreciablemente del periodo de posparto tardío o durante el ciclo estral. Se ha observado que no existe secreción pulsátil de FSH y no afecta la lactancia sobre la concentración media durante el posparto (Williams, 1990). La FSH es deficiente durante el periodo de lactación temprana en la maduración del folículo preovulatorio (Lishman e Inskeep, 1991). Durante el anestro temprano la concentración en el plasma de FSH sigue un claro patrón circadiano, siendo que durante la mitad del anestro, los niveles en plasma de FSH declinan. Se distinguen dos tipos de anestro: uno superficial o ligero y otro profundo. El superficial está caracterizado por niveles relativamente altos de FSH en el plasma y la presencia de folículos normales capaces de ser inducidos a ovular en respuesta a repetidas inyecciones de LH. El anestro profundo, está caracterizado por bajos niveles en plasma de FSH y una reducción en el número total de folículos antrales capaces de responder a estimulación gonadotrópica (Oussaid *et al.*, 1993).

Soboleva *et al.*, en 2000, sugieren que el desarrollo folicular es el resultado de la estimulación intraovarica gonadotrópica, así como de interacciones inhibitorias entre los folículos, donde los más grandes suprimen el crecimiento de los más pequeños. La aplicación exógena de FSH esta asociada con un avance en la maduración de folículos dependientes de gonadotropinas.

Se ha medido la liberación de GnRH dentro de la circulación portal en el tercer ventrículo de la oveja y se ha visto que cada pulso de LH resulta de una descarga de GnRH hipotalámico. Estos datos apoyan una asociación abierta entre la actividad eléctrica de neuronas, descargas hipotalámicas de GnRH y liberación de LH. Estos cambios en el patrón de liberación de GnRH están relacionados a la concentración de GnRH en el hipotálamo (Williams, 1990).

Algunos neurotransmisores han sido implicados como medidores en la lactancia en ratas. Estos incluyen serotonina, dopamina y péptidos endógenos, los cuales tienen efectos recíprocos sobre la secreción de prolactina y LH. Los estudios concernientes a la actividad de los neurotransmisores clásicos en el control de liberación tónica de LH en rumiantes son aún limitados. Sin embargo, las catecolaminas pueden jugar un papel como mediadores de los efectos inhibitorios de los esteroides gonadales sobre la secreción de gonadotropinas. La concentración de péptidos endógenos opioides en el tejido neural, es afectada por la lactancia y se relaciona con la síntesis y liberación de GnRH. Los opioides endógenos pueden jugar una participación integral en el anestro posparto (Williams, 1990).

Durante la estacionalidad reproductiva de los mamíferos, los péptidos opioides son implicados en la modulación de ésta. Una simple hipótesis plantea un incremento en la secreción de los péptidos opioides desde las neuronas del hipotálamo, provocando una inhibición en la liberación de la GnRH y la interrupción de la comunicación del eje hipofísis-gónadas, durante la fase de regresión del ciclo reproductivo. Diferentes estudios en la borrega y hámsters, han investigado el papel de los péptidos opioides en las fases

activas y de regresión, midiendo el contenido hipotalámico o periférico de la β -endorfina, los niveles hipotalámicos de los receptores a opioides y el efecto de sinérgicos (morfina) y antagonistas (naloxona) a éstos. Estos estudios han demostrado el efecto de los opioides en la reproducción, aunque no es muy clara la evidencia del incremento de éstos en la etapa de regresión, la cual pueda explicar la inhibición reproductiva (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

Una alternativa a esta hipótesis, es que el mecanismo de los opioides funciona primariamente durante la fase activa del ciclo reproductivo y son casualmente involucrados en el inicio de la regresión por influencia en el cambio en la sensibilidad del sistema de control de la LH, a los efectos inhibitorios de los esteroides gonadales. Resultados de los efectos del uso de naloxona y morfina demuestran que la influencia inhibitoria de los péptidos opioides sobre la GnRH, es mucho más evidente durante las fases activas y regresivas del ciclo reproductivo estacional (Lincoln y Ssewanyana, 1989). Así mismo, Tortonesi en 1999, propone que el efecto de supresión de los péptidos opioides son más evidentes durante la fase sexual activa de los días cortos.

Es decir, la declinación en la reproducción en las razas estacionales, es el resultado de un incremento de la actividad de las neuronas peptídicas, las cuales inhiben la secreción de la GnRH (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

En las borregas, está bien establecido que parte de la influencia del cambio del largo de los días sobre la secreción de LH, ocurre a través de la alteración de los mecanismos de retroalimentación de los esteroides sobre el eje hipotalámico. En particular, los estrógenos tienen una considerable atención, ya que producen cambios a nivel de las neuronas productoras de GnRH y aunque estas células no expresan receptores para estrógenos, la población de células neuronales implicadas en la regulación de la secreción de GnRH, son aquellas células que secretan dopamina, β -endorfina y GABA en el área preóptica. Por lo que, el fotoperiodo puede influir en la biosíntesis o actividad eléctrica de una o varias de estas neuronas, para brindar los efectos estacionales de los estrógenos sobre las neuronas de GnRH, actuando así de manera indirecta (Skinner y Herbison, 1997).

El periodo de anestro posparto, representa un estado fisiológico en el cual, la NAL induce la desinhibición de la liberación de LH. Así mismo, borregas que no amamantan y que fueron tratadas con NAL, no presentaron un incremento de los niveles séricos de LH, sugiriendo que los péptidos opioides median la liberación de LH la cual depende del estímulo de amamantamiento en vacas y que es independiente de éste en borregas (Malven, 1986).

Algunos estudios citan que en ovejas expuestas a fotoperiodos de días cortos, un 35% menos de células inmunoreactoras a la β -endorfina, tanto en el área rostral y caudal del núcleo arcuato, que las expuestas a días largos. Sin embargo, Skinner y Herbison en 1997, reportan un 20% más de células reactoras a la β -endorfina en animales en anestro, comparado con animales en la fase lútea. Así mismo, sugieren que las neuronas en el área preóptica, pueden expresar receptores a estrógenos en fotoperiodos de días largos y que estas células pueden jugar un papel importante en facilitar los efectos inhibitorios de los estrógenos sobre las neuronas de GnRH, durante el anestro.

Por otra parte, el mecanismo a través del cual, la progesterona bloquea el mecanismo inductor de los estrógenos sobre la GnRH, no es bien conocido. Ritcher *et al.*, en 2001, proponen que los péptidos opioides endógenos que median la retroalimentación negativa de la progesterona sobre la secreción pulsátil de la GnRH, también bloquean la oleada de GnRH. Anteriormente, se afirmaba que los péptidos opioides no estaban involucrados en el bloqueo de la GnRH por acción de la progesterona, debido a que la infusión de NAL, fallaba en la restauración de la ovulación en tratamientos a base de progesterona, sin embargo, los resultados de los tratamientos crónicos con NAL, con la consecuente regulación del tono opioide, podría estar disminuidos debido al efecto de la progesterona sobre los opioides.

En estudios donde la oleada de LH no puede ser restaurada, través del uso de antagonistas a opioides (NAL), se ha sugerido que los efectos inhibitorios de la progesterona sobre la secreción de GnRH son multimodales y que los péptidos opioides están diferencialmente involucrados en mediar el bloqueo ejercido por la progesterona. Por lo anterior, se sugiere que los efectos inhibitorios de la progesterona durante la fase de transmisión son mediados a través de diferentes sistemas de neurotransmisión, siendo uno de éstos, el opioide (Ritcher *et al.*, 2001).

La inhabilidad de la NAL para restaurar la oleada de LH en ovinos tratados con progesterona, puede ser explicada de la siguiente manera. Primero, la progesterona puede estimular la liberación de péptidos opioides que actúan en receptores, en los cuales no tiene acción la NAL, aunque es improbable, debido a que la NAL y sus derivados son antagonistas inespecíficos a un receptor y actúa a nivel de los tres principales receptores opioides (δ , μ , κ). Segundo, la NAL puede fallar en prevenir el bloqueo de la progesterona, a dosis de 1 mg/kg. Por lo anterior, se sugiere que los péptidos opioides que median la inhibición la secreción pulsátil de la GnRH ejercida por la progesterona, no son el principal neurotransmisor involucrado para la prevención de la activación de la retroalimentación positiva de los estrógenos (Ritcher *et al.*, 2001).

Tanto en hámsters como en borregas, hay un marcado cambio en las concentraciones de β -endorfina, con relación al ciclo reproductivo. Los máximos niveles de ésta ocurren en ambas especies en el otoño o durante a la exposición a los días cortos (Lincoln y Ssewanyana, 1989).

En ovejas preñadas cuatro semanas antes del parto, se reduce el cortisol en respuesta al estrés u hormona gonadotrópica. El parto por sí mismo, es doloroso y estresante para las ovejas, asociado con altas concentraciones circulantes de cortisol y opioides. La concentración de los opioides meta-encéfalina y β -endorfina son elevados en el posparto temprano en la oveja (Smart *et al.*, 1994a).

Pérez *et al.*, en 2001, con la finalidad de conocer el efecto de los estrógenos y los opioides sobre la inhibición de la secreción e GnRH y LH, tanto en el hipotálamo, como en la hipófisis, realizaron un experimento en el cual controlaban el tiempo de amamantamiento, concluyendo que dicho manejo puede ser una alternativa para reducir el anestro posparto en vacas.

Existen evidencias de los efectos de la lactación sobre el largo del anestro posparto, en ovejas sugieren que los opioides endógenos están involucrados en la secreción o inhibición de gonadotropinas durante el periodo posparto. En un estudio, la β -endorfina, se incrementó durante el amamantamiento, conjuntamente con los niveles de prolactina (González *et al.*, 1991).

Es durante la primera mitad del periodo de la lactación, donde existen bajos niveles de GnRH y los pépticos opioides son una de las claves neuropéptidas de esta situación (Parvizi, 2000).

Los patrones de secreción de la prolactina en ovejas en lactación durante el periodo de posparto, muestran que el estímulo de amamantar resulta en un incremento significativo en la concentración de prolactina. En mamíferos, tanto la prolactina como el cortisol, son secretadas en respuesta a estímulos externos como son la lactación y el estrés, así como su relación con los ritmos internos relacionados al sueño o fotoperiodo. Las concentraciones de prolactina son altas durante el anestro y bajas durante la estación de crianza. Los altos niveles de prolactina no parecen ser inhibitorios de la función ovárica y esta hormona no juega un papel importante en la regulación de la actividad reproductiva estacional de la oveja. La variación de prolactina en el plasma, puede ser un signo del periodo de cría, cuando los niveles están bajos o de anestro con niveles altos. Estos hallazgos sugieren que el parto, así como los días largos, pueden ser los responsables de la elevación en la concentración de prolactina. Los patrones de secreción de prolactina en ovejas en lactación durante el periodo de posparto, demuestran que el estímulo de amamantar resulta en un incremento significativo en la concentración de prolactina (Gómez y López, 1991).

La oxitocina y la prolactina juegan un papel fundamental en el mantenimiento y dinámica de la lactación. El acto de amamantamiento es por sí mismo un poderoso estímulo para la liberación de oxitocina. Impulsos sensoriales alcanzan la vía de la médula espinal a través de caminos parasimpáticos hacia las neuronas hipotalámicas que producen oxitocina y provocan su liberación. La secreción de prolactina es estimulada por el amamantamiento, pero no por estímulos audiovisuales o psicológicos. A través del periodo lactacional, los niveles de prolactina en el plasma varían de la siguiente manera: los valores basales son bastantes altos durante las primeras semanas posparto y cada episodio de amamantamiento eleva los niveles. Los mecanismos por los cuales el amamantamiento incrementa la liberación de prolactina parecen envolver la secreción-liberación de prolactina del hipotálamo dentro del sistema portal y la supresión de liberación de dopamina del sistema dopaminérgico neural túberoinfundibular. La dopamina por si misma, es un factor inhibidor de la prolactina, la supresión de esta liberación, aumenta la secreción de prolactina (Curlewis y McNeilly, 1991; Ojeda y Griffin, 1992).

Se han realizado estudios en ovejas secas y en lactación y se han encontrado niveles altos de estradiol 17β en el plasma durante el posparto temprano. La reducción en la intensidad de lactación no afecta significativamente la concentración en el plasma del estradiol. El estradiol puede estimular la actividad hipotalámica y la secreción pulsátil de LH en el posparto de la oveja (Mandiki *et al.*, 1990). El estradiol es el principal esteroide

mensajero producido por los folículos y éstos, la acción inicial del estradiol es el de una retroalimentación positiva sobre su propia producción vía incremento de la síntesis de andrógenos en la teca interna. Durante el crecimiento preovulatorio, el folículo favorece más la respuesta hacia LH y adquiere un incremento en la habilidad para sintetizar estradiol (Lishman e Inskeep, 1991).

Se menciona que durante el periodo posparto que coincide con el inicio del anestro estacional, el día 20 posparto representa un intervalo consistente para incrementar la liberación de LH de la hipófisis y que el destete precoz resulta en el aumento de la secreción de LH en el día 40 posparto (Newton y Edgerton, 1989). Se sugiere que la lactación retarda la involución uterina (Pope *et al.*, 1989). La reanudación de la actividad cíclica ovárica y el restablecimiento mediante una involución uterina apropiada suelen resultar en una concepción posparto exitosa. La involución uterina en las ovejas y cabras es completada hacia el día 33 posparto, con regeneración de glándulas y células epiteliales carunculares que usualmente se alcanza el día 14 y 28 posparto respectivamente (Hall *et al.*, 1993; Yavas y Walton, 2000).

La función del cuerpo lúteo de la preñez cesa un poco después del parto y la síntesis de progesterona por el tejido ovárico parece ser mínima durante el periodo de posparto temprano en la oveja. Si los efectos del cuerpo lúteo de preñez sobre el número de folículos encontrados en los ovarios durante el posparto son mediados por la reorganización de una suplementación preferencial de la sangre o por el establecimiento de componentes intraováricos durante la preñez, el cuerpo lúteo de preñez puede enmascarar un aparente efecto inhibitorio del útero grávido sobre la función ovárica en el periodo de posparto temprano (Hall *et al.*, 1993).

El tratamiento con progesterona antes de la inducción de ovulación en ovejas en posparto o anestro estacional incrementa la incidencia de cuerpos lúteos con vida de duración normal. En ovejas en anestro estacional el pretratamiento con progesterona incrementa el número de receptores para LH en la granulosa y aumenta *in vitro* la producción de estradiol en respuesta al pico preovulatorio de LH (Hall *et al.*, 1993).

La presencia de células lúteas hasta el día 140 de preñez y de células más pequeñas hasta el día 15 posparto en ovejas puede estar implicado en un control negativo de secreción de LH después del parto. Los folículos antrales de menos de 2 mm de diámetro, están presentes en ovarios durante la fase lútea del ciclo estral y durante el periodo de anestro en ovejas no preñadas. La población de folículos de más de 2.5 mm aumenta después de la administración de la Gonadotropina Coriónica Equina (eCG o PMSG). Algunos estudios han demostrado que la concentración de FSH y LH en el plasma y la frecuencia y amplitud de pulsaciones de LH se incrementa dentro de los siguientes 5 días después del parto y esto puede estar implicado con la presencia de folículos mayores de 2 mm de diámetro. Después del parto, el rápido incremento de liberación pulsátil de LH coincide con el incremento de LH hipofisaria y la liberación de éste en respuesta a la GnRH, con la concentración de RNAm en la hipófisis para las subunidades alfa y beta de LH y con los receptores para estradiol (Al-Gubory *et al.*, 1989).

Las altas concentraciones basales de LH el día 20 posparto y la liberación de GnRH en la oveja que inducen la liberación de LH los días 20 y 40 aproximadamente, están relacionados al control del anestro estacional y sugieren que la recuperación de la función de la hipófisis anterior y los efectos supresivos de la preñez previa, no son prevenidos por fotoinhibición de los días largos. Se menciona un incremento en la concentración y en el número total de receptores para estradiol en el hipotálamo y tejido de la hipófisis anterior alrededor del día 22 posparto. Este incremento precede el comienzo de la actividad posparto. Por otro lado, se ha observado una alta frecuencia en la pulsación de LH entre los días 8 y 14 posparto en ovejas lactando con cordero durante el anestro estacional comparado con ovejas en anestro estacional y sugieren que la preñez puede participar negativamente en la reducción de la secreción de LH asociado con el fotoperiodo, induciendo aciclicidad. Al administrarse GnRH el día 20 y 40 posparto, se presentó mayor liberación de LH en la hipófisis, gran liberación de GnRH o anulación de los signos inhibitorios de fotoperiodo en el periodo posparto. Las células hipofisarias dispersas liberan aproximadamente 47% del total celular del contenido de LH con su máxima estimulación *in vitro* por GnRH. La GnRH endógeno por si mismo, puede ser el principal responsable del incremento observado de LH en respuesta a GnRH exógeno. Tal vez el ambiente hormonal de preñez y parto, retardan los mecanismos responsables del anestro estacional en ovejas. Se propone que el anestro estacional es el resultado de una hiperrespuesta hacia la retroalimentación negativa del efecto de estradiol. Durante el periodo del posparto que coincide con la transición del anestro estacional, la falta de secreción tónica de LH puede permitir el almacén de esta hormona, para retornar a la normalidad. Esto puede pasar por un incremento en los niveles bajos de secreción de GnRH en forma de minipulsos o secreción continua, resultando en un incremento en la respuesta de la hipófisis (Barrel *et al.*, 1992). Lo anterior, puede crear un periodo de aumento en la respuesta de la hipófisis, la cual puede ser manipulada farmacológicamente para acelerar la reproducción en programas de ovinos. En un experimento, la liberación de LH después del tratamiento con GnRH, fue grande en ovejas lactantes y no lactantes, sin embargo en un segundo experimento, la liberación de LH no difirió con el estado de lactación. Muchos signos convergen en los mecanismos que controlan la ciclicidad reproductiva durante el periodo posparto. La inhibición de la secreción de LH durante el periodo posparto que coincide con el anestro estacional es especialmente complejo, con recuperación de la influencia de la preñez previa que es confundida por fotoinhibición de días largos (Newton y Edgenton, 1989).

Durante la lactación, el amamantamiento controla tres de los mayores componentes de esta etapa: la producción de leche dentro de la glándula mamaria, la eyección de ésta y en muchas especies, la supresión de la actividad ovárica (McNeilly *et al.*, 1994). En este último apartado, el amamantamiento estimula un retraso de la ovulación o si la ovulación tiene lugar, retrasa el tiempo de implantación. En este caso, el intervalo entre partos se extiende. En razas estacionales, los nacimientos ocurren al final de la estación reproductiva y el anestro lactacional coincide con el anestro estacional. Sin embargo, hay evidencia de una reducción en la fertilidad de hembras lactantes comparada con hembras no lactantes en una inducción al estro (MacNelly *et al.*, 1994).

El estímulo del amamantamiento o la lactación y los cambios metabólicos relacionados a la producción de leche durante la lactación, resulta en un amplio cambio

endocrino en la hembra (MacNelly *et al.*, 1994). Lamming (1994), sugiere que el amamantamiento puede inducir un incremento en la sensibilidad a la retroalimentación negativa del estradiol, pero que la respuesta puede variar, dependiendo de la raza de borrega,

En la mayoría de las especies el amamantamiento induce un incremento de la prolactina lo cual es esencial para la producción de leche, con excepción de los rumiantes. En estas especies la hormona del crecimiento es de mayor importancia que la prolactina en la mantención de la producción láctea, la liberación de la hormona del crecimiento ocurre principalmente en respuesta a una relativa hipoglicemia asociada con la producción de leche siendo poco relacionada con el estímulo al pezón o a la teta (MacNelly *et al.*, 1994).

El amamantamiento inhibe directamente la liberación de GnRH desde el hipotálamo resultando, principalmente en no permitir la liberación pulsátil de LH y en la resultante ausencia del crecimiento de los folículos ováricos o en una baja secreción de esteroides ováricos por los folículos por influencia de la FSH. Los niveles plasmáticos de FSH son usualmente normales a lo largo de la lactación. La fácil inducción a la ovulación durante la lactación, sugiere que no hay una insensibilización por parte del ovario a las gonadotropinas durante la lactación, involucrando posiblemente a la prolactina (MacNelly *et al.*, 1994).

En los ovinos, el contenido hipotalámico de GnRH, el contenido pituitario de LH y los niveles plasmáticos de FSH, retornan a sus niveles normales a los catorce días después del parto, ocurra o no la lactación, así como el contenido de RNAm para la gonadotropina α y las subunidades LHb, receptores de GnRH, receptores de estrógenos. Los niveles basales de LH incrementan en paralelo con un incremento de la secreción pulsátil de LH durante la lactación, aunque la tasa de incremento de la frecuencia pulsátil de LH disminuye conforme aumenta el número de corderos amamantándose. El incremento en la liberación pulsátil de LH, está directamente relacionado con un incremento en la liberación pulsátil de GnRH en la circulación portal hipofiseal. Al inicio de la lactación cuando el contenido de LH en la pituitaria es bajo, sólo de un 30 a un 40% de GnRH libera LH, comparado con un 70-80% al final de la lactación. Sin embargo, el efecto de la lactación en la reanudación de los ciclos estrales varía considerablemente entre las diferentes razas de ovinos, aunque los parámetros de LH parecen volver a la normalidad al inicio de la lactación. En hembras lactantes paridas durante la estación reproductiva, existe un incremento paradójico tanto en los niveles basales de LH y en la secreción pulsátil de LH, la frecuencia de pulsos empieza a aumentar durante cada fase lútea o anestro estacional. La LH responde al estímulo de GnRH y retorna a la normalidad tempranamente en las hembras paridas en otoño, que las hembras paridas en primavera al final de la estación reproductiva o al inicio de la estación de anestro, pero a pesar de esta respuesta normal a la GnRH, sólo alrededor del 50% de las hembras muestran una respuesta normal a la retroalimentación positiva del estradiol a los 30 días posparto. Un tratamiento crónico en hembras lactantes con bajas dosis de estradiol, disminuye la respuesta de la LH a la GnRH y causa una gran supresión de LH en hembras lactantes que en hembras no lactantes ovariectomizadas. Esto sugiere que al amamantamiento puede inducir un incremento en la sensibilidad a los efectos de retroalimentación negativa del estradiol, pero la respuesta varía considerablemente entre diferentes razas de ovinos (MacNelly *et al.*, 1994).

INDUCCIÓN DEL ESTRO EN RUMIANTES EN ANESTRO POSPARTO

Los cambios en el fotoperíodo inducen alteraciones en el sistema neuroendócrino-gonadal por acción de la glándula pineal, en un gran número de razas estacionales. La melatonina es una hormona pineal que juega un papel importante al mediar los cambios en el sistema reproductivo lo cual ocurre en respuesta a cambios estacionales en el largo del día (Petterborg *et al.*, 1991).

CONTROL DEL ESTRO Y LA OVULACION

Los ovinos y caprinos y caprinos, tienen una amplia capacidad reproductiva, sin embargo, dentro de las limitantes que frenan esta capacidad se encuentran el hecho de presentar un anestro de tipo estacional que ocasiona intervalos entre partos de aproximadamente 12 meses, cuando biológicamente es posible lograr intervalos entre partos de 8 meses, la mayoría de las veces al parir las hembras presentan un anestro de lactación o posparto, que suele confundirse con el anestro estacional, aunado a esto, los ovinos y caprinos pueden tener más de una cría por parto, sin embargo las tasas ovulatorias de las razas en México se sitúan entre 1.5 y 1.8. Por lo que para lograr una cría eficiente y productiva de las ovejas se requiere manipular la reproducción ya sea por métodos hormonales, físicos o biológicos. Los métodos hormonales aunque costosos suelen tener resultados más previsibles que los métodos biológicos, por lo que a continuación se analiza la inducción del estro con ovulación, la sincronización del estro con ovulación y el aumento moderado de la tasa ovulatoria.

CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA REPRODUCCION EN LA OVEJA Y CABRA

Los mecanismos hormonales generales que regulan la reproducción ovina durante el fotoperíodo actúan sobre la glándula pineal que secreta melatonina y a su vez regula la secreción de GnRH, la cual va a estimular a la hipófisis que secreta la FSH y LH para regular el crecimiento folicular y la ovulación. Los estrógenos producidos por el folículo, son los responsables directos de la conducta del estro, pero en el caso de las ovejas y cabras, se requiere de un estímulo previo de la progesterona sobre el hipotálamo, si no, se presentará una ovulación silenciosa sin la conducta manifiesta de aceptar la cópula, por lo tanto las hormonas de la glándula pineal, del hipotálamo, de la hipófisis anterior y la progesterona, se pueden utilizar para manipular en los ovinos y caprinos el estro con ovulación.

Inducción del estro con ovulación

La inducción del estro con ovulación se realiza cuando los animales están en anestro y por lo tanto está bloqueado el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas y no hay secreción apropiada de gonadotropinas. El objetivo de estos tratamientos consiste en reducir el intervalo entre partos o la edad a la pubertad. Se aplica la inducción del estro cuando las

ovejas y cabras se encuentran en anestro estacional, en anestro lactacional o para inducir la pubertad. Es importante mencionar que los tratamientos de inducción sustituyen al eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, pero no lo activan, por lo tanto, generalmente sólo se tiene el estro sincronizado y no se presenta una segunda oportunidad para gestar a las hembras.

Inducción del estro con ovulación mediante el efecto macho

El "efecto macho" puede definirse como la inducción a la ovulación que se presenta después de la interacción del macho con la hembra, posterior a un período relativamente largo de separación (Pearce y Oldham, 1984).

Pearce y Oldham, (1984) presentan un panorama histórico del estudio del efecto macho que se conoce desde 1944, en el que Underwood observó que en ovejas de la raza Merino, el anestro se interrumpía probablemente por la introducción del carnero. Posteriormente se investigó más al respecto, Schinckel en 1954, Lindsay y Signoret en 1978; Oldham en 1980 y Martin, 1984. Actualmente se ha establecido que la introducción del carnero provoca un cambio hormonal en ovejas y cabras en anestro estacional, en animales lactando y que puede llegar a inducir la pubertad en hembras jóvenes.

En rebaños en los que permanecen todo el año el macho con la hembra, es difícil que llegue a presentarse la estimulación, por lo que es necesario que el carnero esté separado un intervalo de tiempo para que al reintroducirlo desencadene la ovulación.

El estímulo principal está en las feromonas producidas por el carnero secretadas en la lana y grasa del vellón, aunque no debe ignorarse el contacto físico y visual para mediar una respuesta en la hembra (Lindsay, 1988; Lynch et al., 1992; Vandenberg, 1994).

Este efecto puede ser también inducido con carneros castrados o hembras a las cuales se les aplica un tratamiento corto con testosterona o estrógenos obteniendo una respuesta semejante.

Para el mecanismo endocrino del "efecto macho", se ha propuesto una hipótesis en donde la presencia del carnero afecta directamente la relación hipotálamo-hipófisis, pero no anula los efectos de retroalimentación negativa de los esteroides ováricos. Al momento de entrar en contacto las hembras con el macho, se afecta la secreción tónica de gonadotropinas como una respuesta previa a la ovulación. La frecuencia de pulsos de la LH aumenta rápidamente cuando es introducido el macho, independientemente de los efectos de retroalimentación negativa del Estradiol 17- β , que no pueden ser fácilmente revertidos hasta después de 12 horas del estímulo. En la oveja y cabra se incrementan las concentraciones basales de LH, pero no se incrementa significativamente la frecuencia de las pulsaciones y aunque llegan a alcanzarse concentraciones altas, no se garantiza que la ovulación ocurra. Existen evidencias para sugerir que los niveles altos de LH preovulatoria debidos al incremento de la secreción temprana de estrógenos son suficientes para la ovulación.

Si se llega a retirar de manera temprana al macho, esto interfiere en el incremento de los estrógenos por estímulo de LH, la presencia continua de éste, es entonces necesaria para estimular la oleada pulsátil de LH, por lo tanto, si se retira al macho tempranamente se reduce la incidencia de la ovulación (Lindsay, 1984).

En contraste con la LH, la FSH no muestra cambios inmediatamente después de la introducción del macho.

La ovulación silenciosa es una característica de una primera ovulación de la estación de cría, primera ovulación de pubertad y de una ovulación inducida por la presencia del macho.

El cuerpo lúteo de la inducción debida al efecto macho, se presenta normal en aproximadamente el 50% de las hembras y el otro 50% presenta regresión temprana en su primera ovulación. Las hembras con un cuerpo lúteo normal, muestran estro en un tiempo cercano entre los 18-19 días después de la introducción del macho. Mientras que en las hembras con cuerpo lúteo hipofuncional después de la primera ovulación, se forma un segundo cuerpo lúteo tiene una regresión temprana a los 5-6 días pero no se conoce la razón de esto, por lo que la ovulación y la conducta de estro con un cuerpo lúteo funcional, se presentan aproximadamente a los 24 - 25 días de la introducción del macho.

La respuesta ovárica al efecto del macho es similar a la del comienzo de la estación de cría y en términos prácticos este efecto logra dos objetivos:

- a) Un marcado avance en el tiempo de la estación de cría.
- b) Se logra una sincronización del estro.

Para incrementar el grado de sincronización a la respuesta, los cuerpos de vida corta deben de ser eliminados y esto puede realizarse mediante el tratamiento con progesterona alrededor de 5 después de haber introducido al macho, así se eliminan los ciclos cortos producidos por las ovulaciones silenciosas y las hembras muestran un ciclo estral de duración normal. Este grado de sincronización es suficiente para programas de inseminación artificial.

Sin embargo debido a que la respuestas al efecto macho, no son consistentes y tomando en cuenta que es un método relativamente barato, esta es una herramienta para reducir el intervalo entre partos para criadores con empadre controlado que separan sus machos pero no es muy recomendable para implementar un programa de cría intensiva con incrementos en la producción de corderos y cabritos.

Inducción del estro con melatonina

La inducción del estro con ovulación utilizando hormonas, pretende lograr la fertilización e implantación de los ovocitos liberados, por lo tanto, mediante más lejos del sitio de fertilización e implantación (oviducto- útero) se realicen los estímulos hormonales,

la respuesta en términos generales, será mejor, ya que la dosis de hormonas exógenas son altas con relación a los niveles endógenos, alterando algunas funciones como el transporte espermático, la vida del cuerpo lúteo y la implantación embrionaria entre otras, lo que suele traducirse en baja fertilidad (Scaramuzi, 1989).

Por lo anterior, el uso de melatonina tiene buenas expectativas como tratamiento de inducción del estro. La glándula pineal es esencialmente, a la luz de los conocimientos actuales, el reloj biológico que controla la estacionalidad en los ovinos y caprinos, tanto en machos como en hembras y la melatonina parece ser el componente mayor del mecanismo fisiológico, que determina el reconocimiento cerebral de los cambios de luz. La melatonina es una hormona de la pineal, que es regulada por los ciclos circadianos y se secreta durante las fases de oscuridad (Goodman, 1994). La melatonina estimula la secreción de GnRH y como la melatonina se secreta en la fase de oscuridad del día, entonces cuando los días se acortan, la melatonina se incrementa, se reducen los intervalos entre los pulsos de GnRH y se presenta mayor actividad reproductiva en los pequeños rumiantes (Mori, 1992).

Donovan *et al.*, en 1994, aplicando un implante subcutáneo de liberación lenta de melatonina (700 mg), 12 horas después del parto y manteniéndolo por aproximadamente 200 días, lograron obtener durante el verano del hemisferio norte, a finales de agosto, un 80% de las hembras tratadas en estro, contra un 20% del grupo sin tratar, lo que representa aproximadamente 60 días menos de intervalo entre partos por animal. En México, Márquez *et al.*, en 1985, trataron a las ovejas con melatonina (3mg/día/87 días), durante los meses de febrero a mayo y obtuvieron un 80% de ovejas en estro, contra 0% en el grupo sin tratamiento. Sin embargo, los resultados no son siempre consistentes (Eldon, 1993), por lo que se requiere más investigación en México, para aplicar estos tratamientos.

Inducción del estro con ovulación utilizando GnRH

La GnRH se secreta en forma tónica o episódica en el hipotálamo y cada pulso de GnRH, corresponde un pulso de secreción de gonadotropinas, especialmente la LH, ya que la FSH, aunque responde a los pulsos de GnRH, presenta más bien una fluctuaciones circa-horaria y no estrictamente pulsátil (Clarke, 1984).

Como la GnRH, estimula la secreción de ambas gonadotropinas FSH y LH por parte de la hipófisis anterior, entonces puede ser inducido el estro con ovulación utilizando sinérgicos de la GnRH.

Durante la estación reproductiva, los pulsos de GnRH ocurren con relativa frecuencia cada 3-4 horas, mientras que durante el anestro, la secreción pulsátil es más espaciada entre 8-12 horas, lo que no permite el desarrollo folicular (Karsh, 1984). Por lo tanto, la aplicación de GnRH debe imitar la frecuencia pulsátil del hipotálamo, por lo que se requiere de aplicar pequeñas dosis en intervalos de 3-6 horas o bien utilizar implantes de liberación lenta.

Con inyecciones únicas, la GnRH estimula la secreción de FSH con 5 a 635 µg, por vía intravenosa (Wheaton *et al.*, 1982), sin embargo, dosis únicas no son suficientes para

inducir el estro con ovulación. Minoja *et al.*, en 1985, en el hemisferio norte, indujo el estro en marzo, en animales con anestro 0.017 mg de un sinérgico de GnRH, por vía intramuscular a las 6:00-14:00-22:00 horas del día, para un total de 16 inyecciones, logrando 90% de estros y gestaciones en las hembras tratadas. Sin embargo, aunque se han desarrollado implantes de liberación lenta, estos están disponibles comercialmente e inyectar varias veces al día, durante varios días a un número considerable de ovejas o cabras no resulta práctico. Además, el tratamiento con GnRH, requiere de una preparación previa con progesterona para que el estro sea manifiesto y se presenta un porcentaje de cuerpos lúteos hipofuncionales que varía de 20 a 80%, incrementándose cuando el tratamiento no va precedido de progesterona (Hunter *et al.*, 1989).

Inducción del estro con ovulación utilizando progestágenos

El uso de progestágenos como preparadores de la oveja y cabra para inducir el estro con ovulación aplicando gonadotropinas, se ha generalizado ya que son tratamientos relativamente baratos y accesibles de manera comercial (Alonso, 1981). Los principales progestágenos utilizados son el Acetato de Fluorogestona (FGA), el Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) y el Norgestomet, Los dos primeros compuestos se aplican por vía intravaginal en esponjas y el último se aplica en implantes subcutáneos en silastic. Las principales dosis utilizadas se presentan en la siguiente tabla:

| | |
|-------------|---|
| FGA | 30 mg en animales en anestro |
| | 40 mg en hembras en estación reproductiva |
| MAP | 50 mg en animales jóvenes |
| | 60 mg en hembras adultas |
| NORGESTOMET | 3 mg |

Tomado de: Hunter, 1982; Cogne y Mauleon, 1989; Gordon, 1989; Lima *et al.*, 1991; Flores *et al.*, 1991.

Los progestágenos en estos tratamientos tienen como función, estimular al hipotálamo para sensibilizarlo a la acción de los estrógenos y evitar la ovulación silenciosa, presentándose un estro manifiesto.

Las gonadotropinas tienen como función el madurar folículos que pueden llegar a ovular, las más utilizadas son la PMSG y la gonatropina coriónica humana. La dosificación es un poco difícil, ya que no existen resultados de investigación consistentes, pero en general la dosis van de 300 a 700 UI, aplicándose las siguientes recomendaciones generales, en animales chicos, considerando el peso adulto, poner dosis bajas y en razas pesadas dosis altas, en anestro estacional o de lactación poner dosis altas, en estación reproductiva, dosis bajas.

Inducción del estro con ovulación utilizando progestágenos y gonadotropinas

Las corderas y cabritas pueden inducirse al estro antes de cumplir un año de edad, si ya están cerca de alcanzar el 40% de su peso adulto, en México se han probado tanto la dosis del progestágeno MAP, como de la gonadotropina PMSG. En tratamientos utilizando 50 mg en esponjas vaginales durante 14 días, se obtuvieron resultados satisfactorios de 70% de animales paridos, contra solamente 15% en los animales sin tratar. Así mismo, se han reportado resultados de un 50-57% de pariciones en los animales tratados, contra un 0% en los grupos sin tratar, siendo bajo las condiciones de nuestro país, la repetibilidad más probable, que con otros tratamientos hormonales.

Inducción del estro utilizando progestágenos y gonadotropinas en anestro lactacional

Los caprinos y ovinos en México, presentan un periodo del año en que reducen su actividad reproductiva, por lo tanto, no se reproducen de manera uniforme, a lo largo del año, se han estudiado algunas razas que tienen una época reproductiva larga y son muy pocos los meses en los que no presentan un porcentaje bajo de estros, lo que se refleja a su vez, en meses con bajas pariciones. Generalmente, los meses de menor presentación de estros son de marzo para mayo o de febrero a junio, dependiendo la raza (De Lucas *et al.*, 1983). Siendo este periodo de baja actividad reproductiva, lo que alarga el intervalo entre partos, hasta casi un año o más, por lo que es factible mencionar que el principal problema reproductivo de estos animales, es la inactividad reproductiva asociada al parto y/o lactación.

Nett en 1987, propone para el anestro de lactación, un modelo fisiológico para el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, basado en el conocimiento actual. Dicho modelo parte del hecho, de que los ovarios son capaces de madurar folículos en cualquier etapa posparto, por lo que el anestro es debido principalmente a la deficiencia de gonadotropinas. Se ha observado que durante el último tercio de la gestación y el periodo temprano posparto, se altera la secreción de LH, pero no de FSH, por lo que la mayoría de los estudios giran en torno a la LH. Durante la gestación, existe un periodo largo de retroalimentación negativa de la progesterona y estradiol sobre el hipotálamo y la hipófisis anterior, lo cual altera la frecuencia de los pulsos de GnRH y se reduce la síntesis de LH. Durante el posparto, existirían dos fases de recuperación: la primera fase de 2 a 5 semanas de duración, se caracteriza por descargas infrecuentes de GnRH en el sistema portal de la hipófisis anterior (cada 4-8 horas), lo que permite que se almacene LH en esta glándula, esta fase tendría una regulación interna y no se vería afectada por estímulos exógenos como el fotoperiodo o el mamado de los corderos. Cuando la hipófisis anterior almacena suficiente LH y comienzan a liberarse en la circulación general, pulsos de LH con amplitud adecuada para estimular el crecimiento folicular, el estradiol producido en estos folículos, ejerce un efecto de retroalimentación positiva sobre el hipotálamo, que a su vez incrementa los pulsos de GnRH y se obtienen pulsos más frecuentes de LH, para estimular nuevamente el crecimiento folicular y permitir la ovulación. Sobre este último paso,

podrían actuar los péptidos opioides durante el estímulo sobre los pezones o la melatonina, dependiendo del fotoperíodo para inhibir la secreción de LH y alargar la presentación de la primera ovulación posparto.

La mayoría de los criadores, no tienen partos frecuentes o el número de animales que los logran es reducido debido principalmente a los siguientes motivos:

- a) Las crías no se destetan y el amamantamiento constante, bloquea la ovulación de las hembras, por lo que no entran en estro.
- b) La lactación es un periodo de altos requerimientos energéticos y la mayoría de las hembras, están lactando en los meses críticos de escasez de alimentos.

Por lo que se ha estudiado, un método para reducir el intervalo entre partos, aplicando un tratamiento hormonal con progestágenos y PMSG, cuando a prácticas de destete y buena alimentación tanto de las ovejas como de los corderos y se ha probado con buenos resultados (Rivera *et al.*, 1992, Navarro *et al.*, 1993) el siguiente plan de tratamiento:

Se coloca en la vagina de la cabra u oveja una esponja con progestágenos, ya sea 40 mg de FGA o 60 mg de MAP, durante 15 días. Esta aplicación se realiza cuando la hembra cumple 45 días de parida, así, al retirar la esponja, la hembra tendrá 60 días de parida y ese mismo día se inyecta la PMSG, en dosis de: 500UI para animales de 30-50 Kg. de peso o de 700 UI para animales más pesados, al mismo tiempo se desteta la cría. Las hembras tratadas se colocan con el macho durante 7 días en que presentarán estro, aunque la mayoría entrarán en estro, a las 48 horas de la inyección de PMSG.

La esponja con progestágenos tiene como función el que las hembras presenten estro después de ovular y puedan ser montadas por los machos, la PMSG induce crecimiento folicular y la ovulación. En ciertas ocasiones con estos tratamientos se incrementan los partos múltiples, es destete elimina la influencias hormonales propias de la lactación y que bloquean la ovulación. Sí se omiten cualquiera de estos pasos, el tratamiento no funcionará adecuadamente.

Los resultados obtenidos por este método, van de 40 a 75 % de ovejas paridas sobre el total de las ovejas tratadas, comparados con 1 al 10% de ovejas paridas en aquellos grupos que no se trataron, lográndose intervalos entre partos promedio de 210 días en aquellas que paren.

Sincronización del estro con ovulación

A diferencia de la inducción del estro, la sincronización se realiza cuando las ovejas presentan ciclo estral y tiene activo el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, por lo tanto, existen en los ovarios, cuerpos lúteos o folículos maduros. El objetivo de aplicar estos tratamientos, es agrupar los estros en pocos días, a fin de realizar inseminación artificial, transferencia de embriones o bien, sincronizar partos.

Existen dos mecanismos fisiológicos básicos para sincronizar el estro:

- 1) El primero consiste en mantener un nivel artificial de progesterona después del día 14 de estro, para inhibir el desarrollo folicular del proestro. Al retirar la fuente de progesterona, se desarrollan los folículos ovulatorios (Hunter, 1982).
- 2) El segundo se basa en inducir la regresión del cuerpo lúteo para que todo el grupo de hembras con cuerpo lúteo entren en fase folicular al mismo tiempo (Hunter, 1982).

Sincronización de estro con ovulación, utilizando progestágenos

La aplicación de progestágenos durante un periodo de 12 a 14 días, es suficiente para que la mayoría de las hembras lleguen fisiológicamente al día 14 del ciclo estral, día en que finaliza el diestro e inicia un nuevo crecimiento folicular en el proestro, entonces, al retirar la fuente de progesterona que suele ser un implante subcutáneo o una esponja intravaginal, se reanuda el crecimiento folicular, presentándose el estro en la mayoría de las hembras entre las 48 y 72 horas de retirado el tratamiento y la ovulación ocurre en promedio a las 55 horas postratamiento (Cognie y Mauleon, 1989). Generalmente, en el primer estro, la fertilidad suele ser baja entre 30-60% de hembras que llegan al parto después del tratamiento, pero en el segundo estro sincronizado, la fertilidad puede aumentar hasta un 70% (Hunter, 1982), se puede aplicar gonadotropinas para aumentar la tasa ovulatoria o como apoyo cuando no se tiene certeza de que las ovejas están ciclando.

Entre las principales causas que influyen en la baja fertilidad, se han mencionado: alteración en el transporte espermático y fallas de fertilización (Soto y Trejo, 1990), alteración del tiempo de aparición del estro y presentación del pico de preovulatorio de LH y muertes embrionarias debidas a cuerpos lúteos hipofuncionales o a alteraciones en la calidad de la leche uterina, producida por los niveles altos de los progestágenos (López e Inskeep, 1988).

Analizando Las causas anteriormente descritas, se ve que la alteración en el transporte espermático y la modificación de las secreciones uterinas, se originan por el efecto de las hormonas sobre el endometrio. Existe en el mercado un compuesto de acción progestágena de poco efecto sobre el endometrio (Intervet, 1991), que tiene aplicación en carnívoros, pero que también ha sido utilizado en rumiantes.

En México, la estación reproductiva no está claramente delimitada, por lo que los tratamientos en marzo- abril, seguramente serán de inducción, mientras que de julio- agosto serán de sincronización, pero los de mayo-junio, pueden variar y la experiencia experimental así lo indica.

Sincronización del estro con ovulación utilizando prostaglandinas F2 α

La prostaglandina F2 α (PFG2 α), es un derivado graso del ácido araquidónico, que se produce en el endometrio y viaja por vía sanguínea al ovario donde ejerce la acción de lisis o destrucción del cuerpo lúteo.

Como no existe una conexión vascular directa entre el ovario y el útero, y para evitar el metabolismo de las prostaglandinas en el sistema circulatorio, existe un mecanismo de transferencia entre la vena útero-ovárica y la arteria ovárica (McCracken y Schramm, 1988).

Las prostaglandinas se utilizan para manipular la actividad reproductiva y su mecanismo de acción consiste en inducir la regresión prematura del cuerpo lúteo para iniciar un nuevo ciclo. La PFG2 α reduce la progesterona circulante acelerando el catabolismo o disminuyendo su síntesis. McCracken y Schramm en 1988 y Fitz *et al.*, en 1993, mencionan que la PFG2 α causa luteólisis por su acción vasoconstrictora, provocando una reducción en el flujo local de sangre al cuerpo lúteo. Se mencionan además, otros mecanismos de luteólisis funcional, regulados por la PFG2 α como son: el aumento del nivel de calcio libre intracelular, la alteración de la actividad de fosfolipasa "A", o proteína quinasa "C", o la elevación de radicales superóxido (Fitz *et al.*, 1993).

La acción de PFG2 α depende de la presencia de un cuerpo lúteo en el ovario y es considerada la principal luteolisina en ovinos y caprinos. En animales no gestantes, la luteólisis es causada por la PFG2 α secretada por el útero en el día 16 postestro aproximadamente (Castro, 1996). Para la sincronización del estro y ovulación, el uso de la PFG2 α y sus análogos sintéticos, son tratamientos muy usados y su mecanismo de acción consiste en inducir la regresión prematura del cuerpo lúteo, con lo que se interrumpe la fase prostestacional del ciclo estral y se inicia uno nuevo. Así mismo, se ha encontrado que al administrar PFG2 α vía intramuscular los días 4 a 6 del ciclo y una segunda dosis con 9 ó 10 días de diferencia, el 100% de las hembras tratadas, presentaban estro, a las 40 horas después de la aplicación (Castro, 1996). Por otra parte, la dosis también tiene particular atención, ya que con 200 mg de PFG2 α , se indujo el estro en todas las hembras y cuando se redujo la dosis a 15 mg, sólo el 70% lo presentaron (Gordon, 1989).

Sin embargo, la principal desventaja para el uso de las prostaglandinas en el control del ciclo estral, es que no pueden ser utilizadas en hembras que no están ciclando de forma natural, por ejemplo, en la estación de anestro.

La fertilidad después de la administración de PFG2 α con inseminación artificial disminuye, encontrando indicios de que el tratamiento interfiere con el transporte espermático, con una inhibición de éste a nivel de cervix y hacia los oviductos, observando que la adición de las PFG2 α en el semen de carneros, produce un aumento en el índice de concepción (Gordon, 1989; Evans y Maxwell, 1990).

III. HIPÓTESIS

El tratamiento con naloxona, un antagonista del efecto de la β -endorfina que se secreta en función del número de estímulos sobre el pezón, determinados por el número de cabritos, bloqueará los efectos de la lactación reflejados en los niveles hormonales de estrógenos, prolactina y hormona luteinizante, así como en la actividad ovárica posparto en cabras criollas.

IV. OBJETIVOS.

Evaluar los efectos de un tratamiento con naloxona en los niveles hormonales de estrógenos, prolactina y hormona luteinizante, así como en la actividad ovárica posparto en cabras criollas.

V.- MATERIAL Y MÉTODOS

LOCALIZACIÓN

El presente trabajo, se realizó durante los meses de enero a junio de 1998, en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicada en el kilómetro 2.5 de la Carretera Cuautitlán-Teoloyucán en el municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México, cuya ubicación geográfica es 19° 14' de latitud norte y 99° 14' de longitud poniente a 2250 msnm.

ANIMALES

Se utilizaron 28 cabras adultas multíparas entre dos a seis años de edad, de fenotipo criollo, encastadas de Nubia, con peso promedio de 38.8 ± 3.2 kg, recién paridas en los meses de enero a abril, con sus respectivas crías, pertenecientes al rebaño experimental de la Cátedra de Reproducción y Genética en Ovinos y Caprinos, durante todo el experimento, las cabras permanecieron con un macho adulto, con peto marcador, apto para la reproducción.

Las cabras se dividieron en seis grupos de acuerdo al número de cabritos nacidos de la siguiente manera:

| Tratamiento | Número de hembras sin cabrito lactando | Número de hembras con un cabrito lactando | Número de hembras con dos cabritos lactando |
|--|--|---|---|
| Con naloxona (1mg diluido en un ml de solución de solución fisiológica al día) | 6 | 6 | 3 |
| Con solución salina fisiológica (1 ml al día) | 5 | 6 | 2 |

La dosis de naloxona propuesta por Fuentes y Peraza en 1988, se fraccionó de tal manera que se aplicó 1 mg por día.

La aplicación de la naloxona (Fluka 70127) o la solución salina fisiológica, fue intramuscularmente en la tabla del cuello a partir del día 4 posparto y hasta el día 90 posparto.

CRECIMIENTO FOLICULAR

A todas las cabras se les realizaron dos laparoscopías, una a los 35 días posparto, coincidiendo con la involución uterina (McEntee, 1990; Gordon, 1999) y otra a los 60 días posparto. En estas laparoscopías se observaron los ovarios y se tomaron los datos de número de folículos y su tamaño.

MEDICIONES HORMONALES.

A todas las cabras se les tomaron muestras sanguíneas a partir del día 35 posparto, y los sangrados se continuaron hasta los 90 días posparto, obteniéndose una muestra cada 4 días es decir, dos veces por semana.

Las muestras fueron obtenidas de la vena yugular utilizando un tubo al vacío sin anticoagulante con capacidad de 5 ml y una aguja estéril de dos puntas del calibre 21G X 1 1/2 pulgadas (Vacutainer). La sangre se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos, inmediatamente después de ser obtenida para separar el suero del coágulo, el suero fue dividido en alícuotas en tubos eppendorf de 1.5 ml adicionados con 5 µl de solución saturada con Azida de sodio como conservador. Después de esto fueron mantenidas a -20°C hasta su procesamiento.

Se separaron alícuotas para determinación de las siguientes hormonas:

Estrógenos: el 17β estradiol fue determinado por Radioinmunoanálisis utilizando un kit con iodo 125_I (ESTR-CTRIA de CIS bio International, Francia) con una sensibilidad de 0 a 5000 pg /ml y con un error intraensayo menor de 4%.

Prolactina: fue determinada por Radioinmunoanálisis utilizando un kit con iodo 125_I (RIA-gnost Prolactin de CIS bio International, Francia) con una sensibilidad de 0 a 200 ng/ml y con un error intraensayo menor de 10%.

Para la medición de la LH, se utilizaron 2 cabras de cada grupo, a los 36 y la segunda a los 61 días posparto, las cuales fueron canuladas, tomándose la primera muestra de sangre y de inmediato se aplicó la inyección de naloxona o solución salina fisiológica, recolectando cada quince minutos las muestras restantes durante 4 horas postaplicación. Las muestras sanguíneas se procesaron de igual manera que las anteriores, separándose el suero del coágulo y almacenando a -20 °C hasta su procesamiento.

La LH se determinó por radioinmunoanálisis utilizando un kit comercial a base de iodo 125_I (RIA-gnost hLH de CIS bio International, Francia) con una sensibilidad de 0 a 200 mU.I./ml y con un error intraensayo menor de 10 %.

Análisis estadístico

Para los niveles de LH, prolactina y estrógenos, se utilizó el método estadístico de Friedman ANOVA, para medidas repetidas (Steel y Torrie, 1980), de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + C_j + S_k + G_l + E_{ijklm}$$

Donde: Y_{ijklm} es la variable de respuesta; μ es la media poblacional constante; T_i es el efecto del tratamiento ($i =$ con o sin naloxona); C_j es el efecto del número de cabritos ($j = 0,1,2$); S_k es el efecto de la semana de estudio (agrupando los datos cada ocho días) ($k= 1...9$); G_l es el efecto de cada cabra analizada como bloque; E_{ijklm} es el error aleatorio asociado a cada observación \approx NID ($0, \sigma^2$).

Para los niveles de prolactina y estrógenos, las interacciones no fueron significativas, por lo que no se incluyen en el modelo.

Para el tamaño y números de folículos, se utilizó una prueba de comparación de medias, con la distribución de "t".

VI.- RESULTADOS

Niveles de LH

En la gráfica 1, se presentan los niveles de hormona luteinizante y se puede observar que las cabras sin amamantar, tuvieron una elevación drástica desde los 35 hasta los 61 días posparto, este mismo patrón pero con menor intensidad se presentó en cabras amamantando dos cabritos, pero en las cabras que solo tenían un cabrito lactando, ocurrió un efecto contrario ya que los niveles disminuyeron de los 36 a los 61 días posparto ($P < 0.02$).

Con respecto al tratamiento con naloxona y el número de cabritos, se obtuvo que los mayores niveles de LH correspondieron a las cabras amamantando dos cabritos a los 36 días, mientras que a los 61 días posparto las cabras sin crías lactando presentaron los niveles más altos, seguidos de las cabras tratadas con naloxona que amamantaban dos crías, como se puede observar en las gráficas 2 a 7 ($P < 0.0008$).

Niveles de estrógenos

En las gráficas 8 y 9 se puede observar que en las cabras sin crías amamantándose, que fueron tratadas con naloxona, los niveles de estrógenos fueron menores que en las no tratadas, sin embargo esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($P > 0.05$).

En las gráficas 10 y 11 se aprecia que no existen diferencias entre las cabras que alimentaban un cabrito, tratadas y no tratadas con naloxona ($P > 0.05$) y lo mismo ocurrió en las cabras con dos cabritos lactantes (Gráficas 12 y 13) ($P > 0.05$).

Niveles de prolactina

Respecto a los niveles de prolactina durante el experimento, se puede observar que, el tratamiento con naloxona, incrementó los niveles de prolactina en las cabras amamantando un cabrito o sin amamantar cabritos ($P < 0.05$) (Gráficas 14, 15, 16 y 17) mientras que en las cabras con dos cabritos no hubo diferencias entre tratamientos ($P > 0.05$) (Gráficas 18 y 19).

Comparando los niveles de PRL, para las hembras que no amamantaron ningún cabrito sin y con naloxona, los animales del segundo tratamiento, presentaron una elevación alrededor del día 72 y 88 (Gráfica 14).

Crecimiento folicular

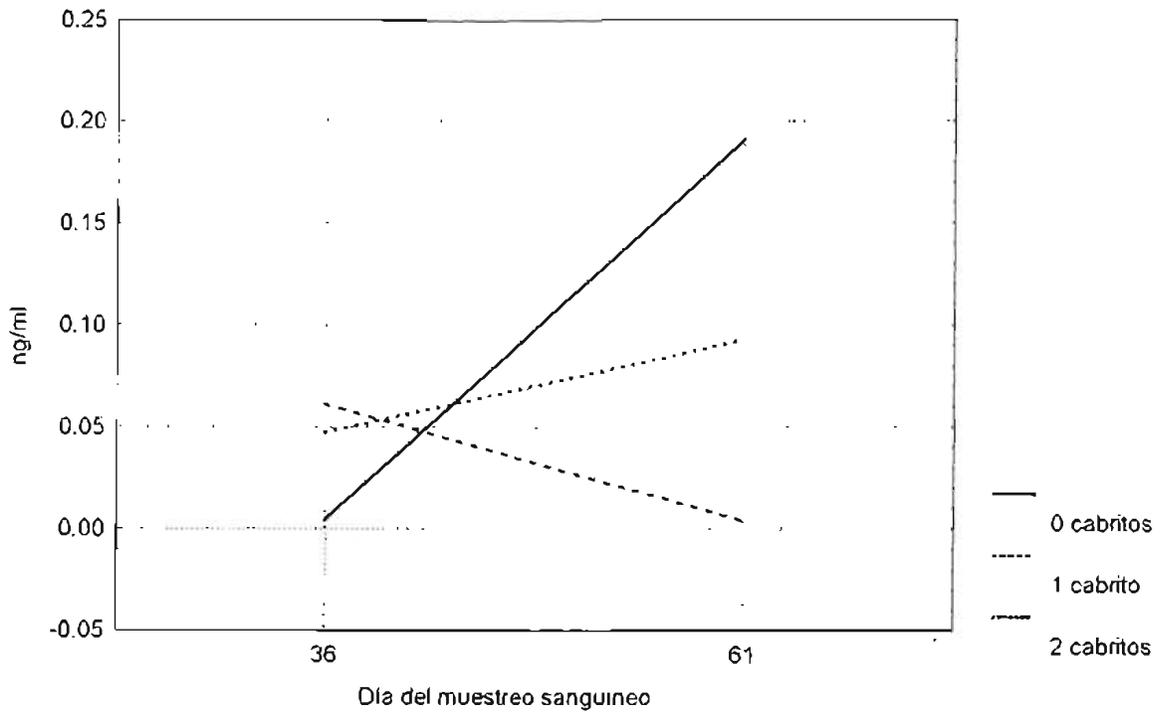
En el cuadro 1, aparecen los promedios del número de folículos encontrados en los ovarios en las laparoscopias realizadas a los 35 y 60 días postparto, en el que se observa que el ovario derecho fue más activo que el ovario izquierdo. A los 35 días, las cabras de

ambos tratamientos sin cabrito, tuvieron mayor número de folículos de 2 mm, que las cabras con uno o dos cabritos ($P<0.05$). En las cabras tratadas con naloxona, se observa un menor número de folículos de 2 mm, tanto a los 35 como a los 60 días, pero en ningún caso, con o sin naloxona fue significativo el desarrollo de folículos de 4 ó 5 mm, que pudieran haber sido dominantes ($P<0.05$).

Cabe señalar que el único cuerpo lúteo se presentó en una cabra con una cría amamantada cuando se revisó a los 60 días.

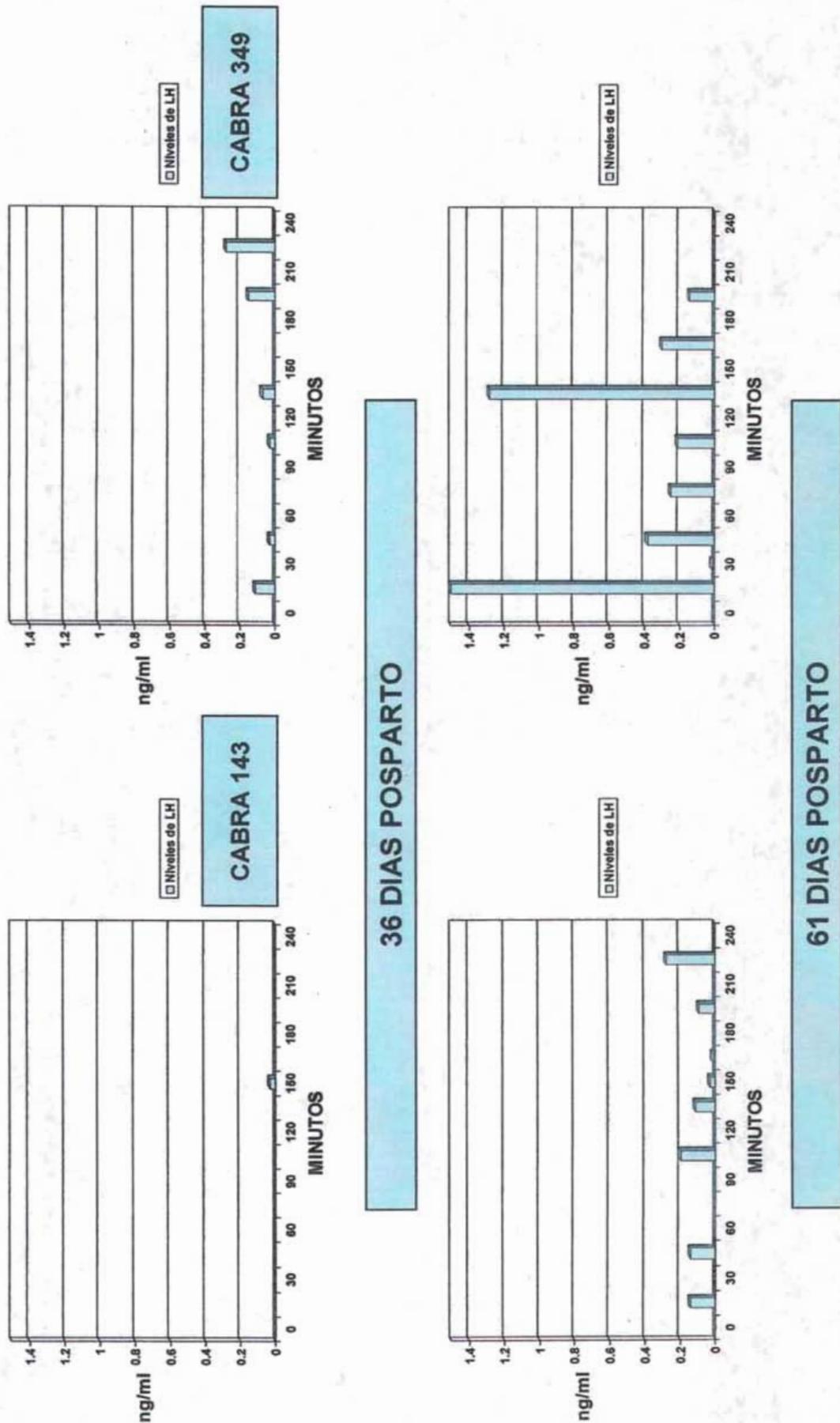
Cuadro 1. Promedio de tamaño de los folículos ováricos presentes a los 35 y 60 días posparto en cabras sin amamantar y amamantando uno o dos cabritos.

| TRATAMIENTO | TAMAÑO FOLICULAR | LAPAROSCOPIA A LOS 35 DÍAS POSPARTO | | | LAPAROSCOPIA A LOS 60 DÍAS POSPARTO | | | PROMEDIO |
|---------------------------|------------------|-------------------------------------|------------------|----------|-------------------------------------|------------------|----------|----------|
| | | OVARIO DERECHO | OVARIO IZQUIERDO | PROMEDIO | OVARIO DERECHO | OVARIO IZQUIERDO | PROMEDIO | |
| Sin cabrito con naloxona | 2 mm | 3.30 | 0.66 | 1.98 | 1.00 | 0.00 | 0.50 | |
| | 3 mm | 0.60 | 0.50 | 0.55 | 1.75 | 0.74 | 1.20 | |
| | 4 mm | 1.0 | 0.66 | 0.83 | 1.25 | 1.75 | 1.50 | |
| | 5 mm | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | | 2.20 | 3.50 | 5.70 | 0.25 | 1.00 | 0.62 | |
| Sin cabrito sin naloxona | 3 mm | 0.50 | 0.12 | 0.31 | 1.75 | 2.50 | 2.12 | |
| | 4 mm | 0.75 | 0.00 | 0.37 | 0.50 | 0.20 | 0.35 | |
| | 5 mm | 0.25 | 0.00 | 0.12 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 2 mm | 1.00 | 1.16 | 1.08 | 0.50 | 0.00 | 0.25 | |
| | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.83 | 0.33 | 0.58 | |
| Un cabrito con naloxona | 4 mm | 0.33 | 0.00 | 0.16 | 0.20 | 0.50 | 0.35 | |
| | 5 mm | 0.16 | 0.00 | 0.08 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 2 mm | 1.60 | 0.60 | 1.10 | 1.00 | 0.80 | 0.90 | |
| | 3 mm | 0.60 | 0.60 | 0.60 | 1.40 | 2.00 | 1.70 | |
| | | 1.4 | 0.80 | 1.10 | 0.00 | 0.40 | 0.20 | |
| Un cabrito sin naloxona | 5 mm | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | 2 mm | 2.30 | 1.33 | 1.81 | 1.00 | 0.66 | 0.83 | |
| | 3 mm | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2.30 | 0.00 | 1.15 | |
| | 4 mm | 1.00 | 0.33 | 0.66 | 0.66 | 0.33 | 0.49 | |
| | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| Dos cabritos sin naloxona | 2 mm | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 1.00 | 2.50 | 1.75 | |
| | 3 mm | 0.00 | 1.50 | 0.75 | 1.50 | 0.00 | 0.75 | |
| | 4 mm | 1.00 | 0.50 | 0.75 | 0.50 | 2.50 | 1.50 | |
| | 5 mm | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |
| | | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | |

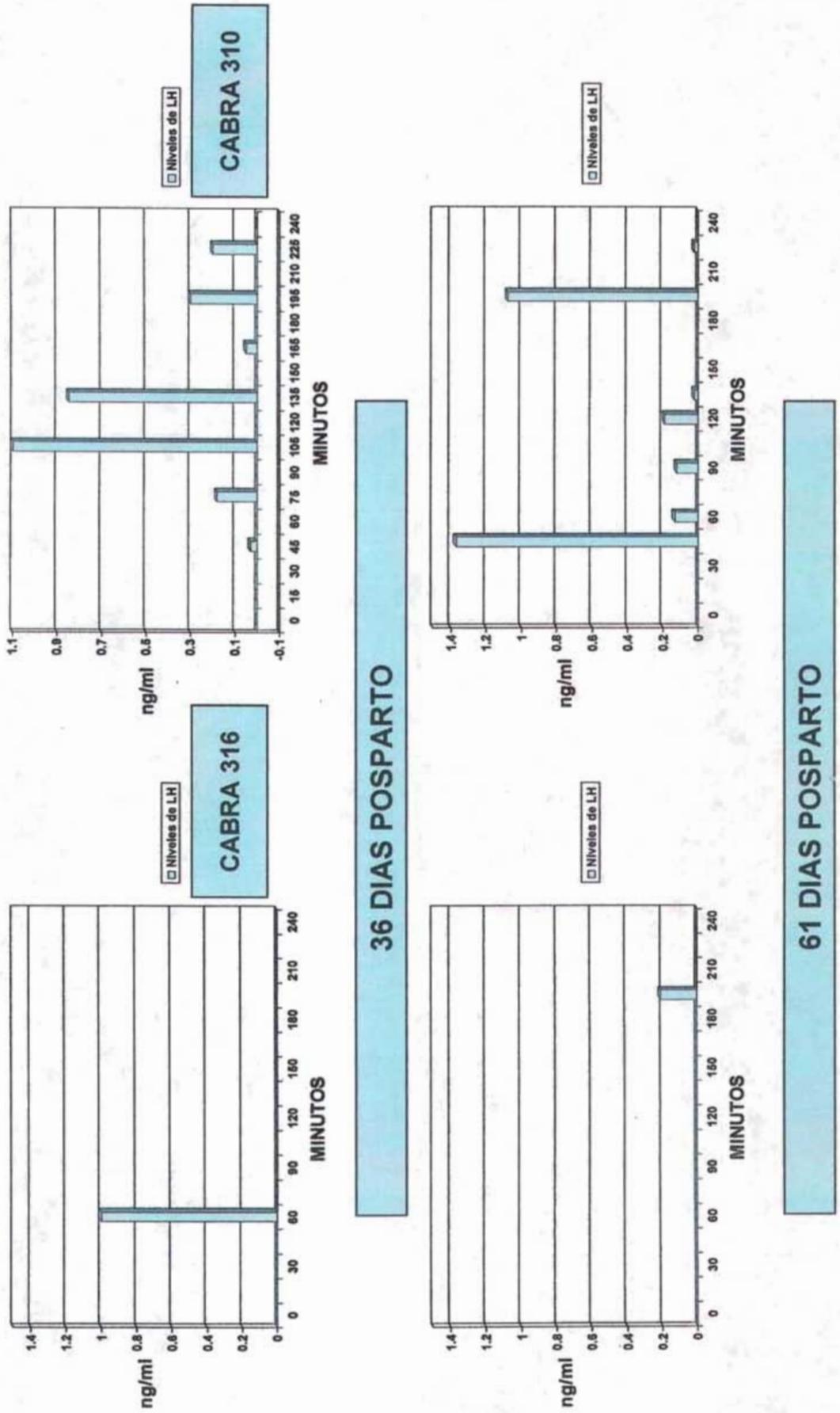


Gráfica 1. Niveles de hormona luteinizante en cabras amamantando o no, con uno o dos cabritos, tratadas o no con 1 mg/día de Naloxona.

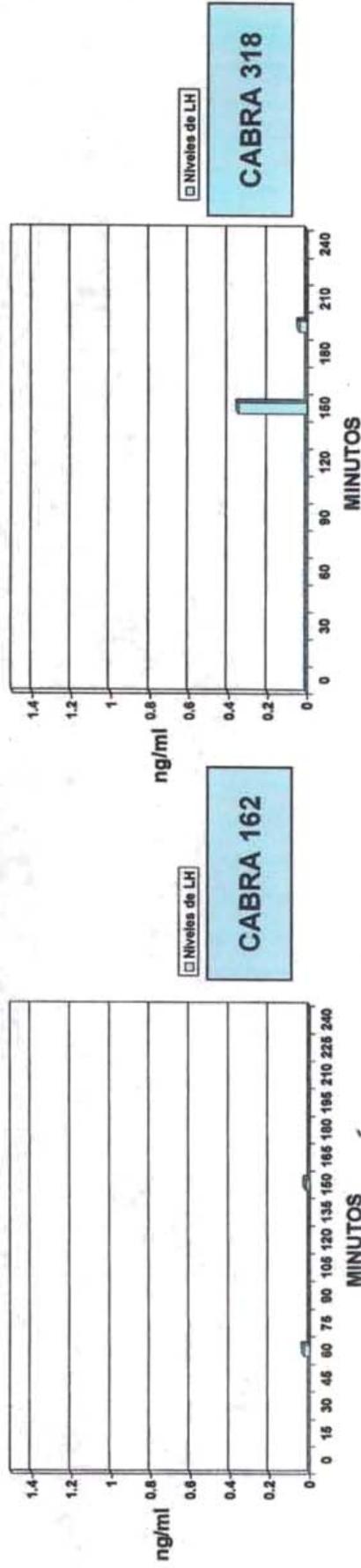
Gráfica 2. Niveles de LH en cabras sin amamantar, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto.



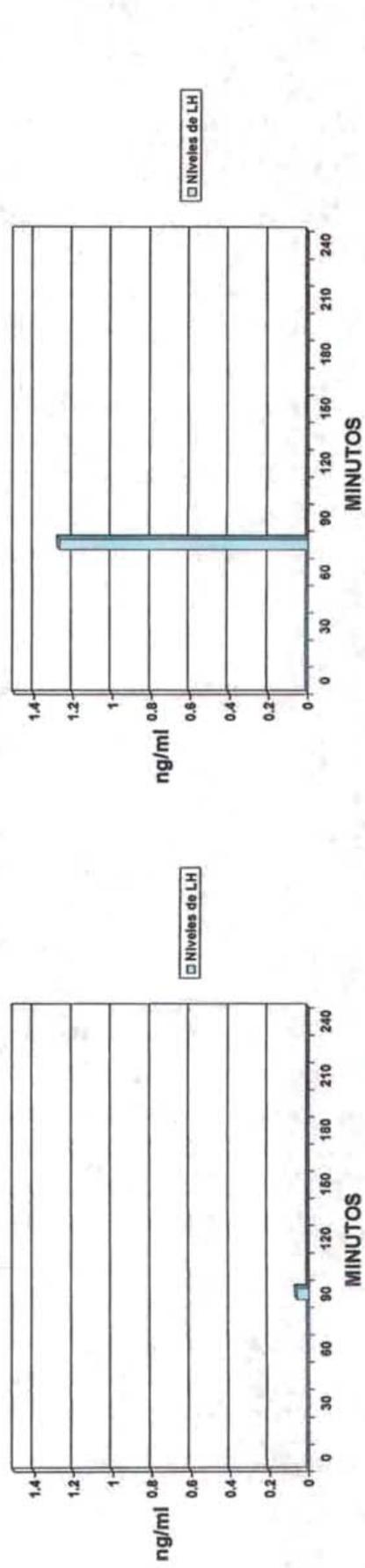
Gráfica 3. Niveles de LH en cabras sin amamantar, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de Naloxona a los 36 y 61 días posparto.



Gráfica 4. Niveles de LH en cabras amamantando un cabrito, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto.

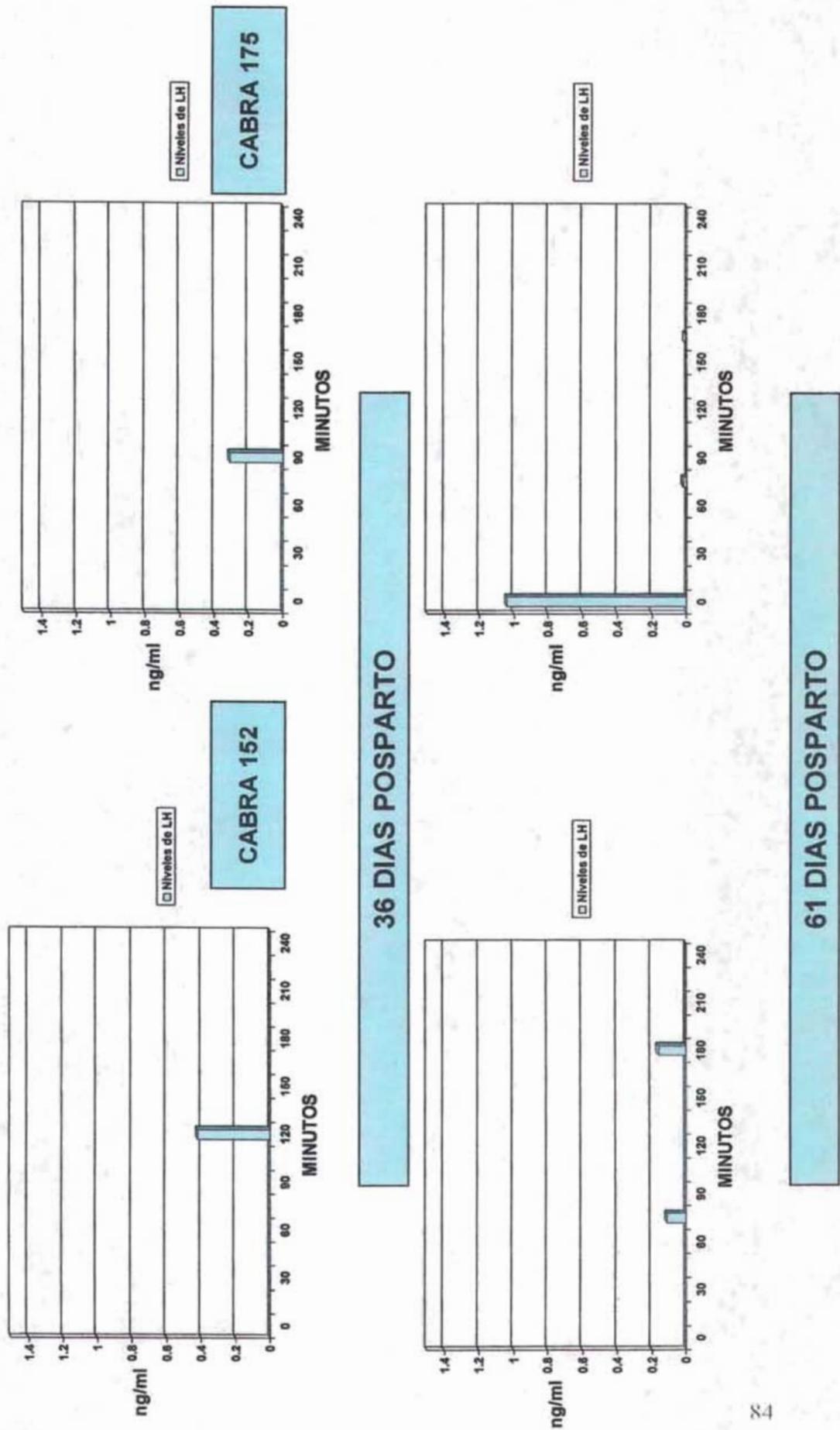


36 DIAS POSPARTO

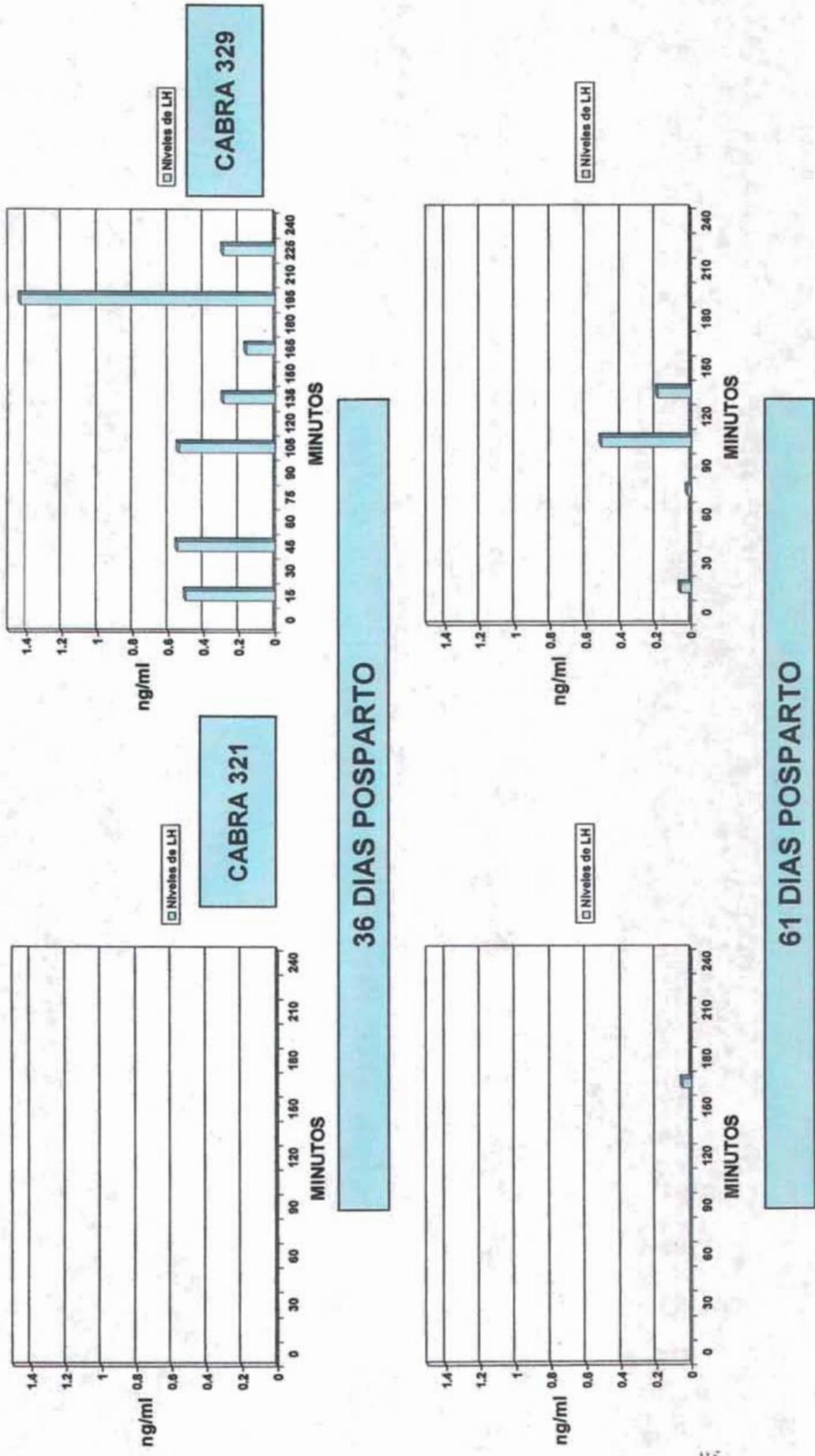


61 DIAS POSPARTO

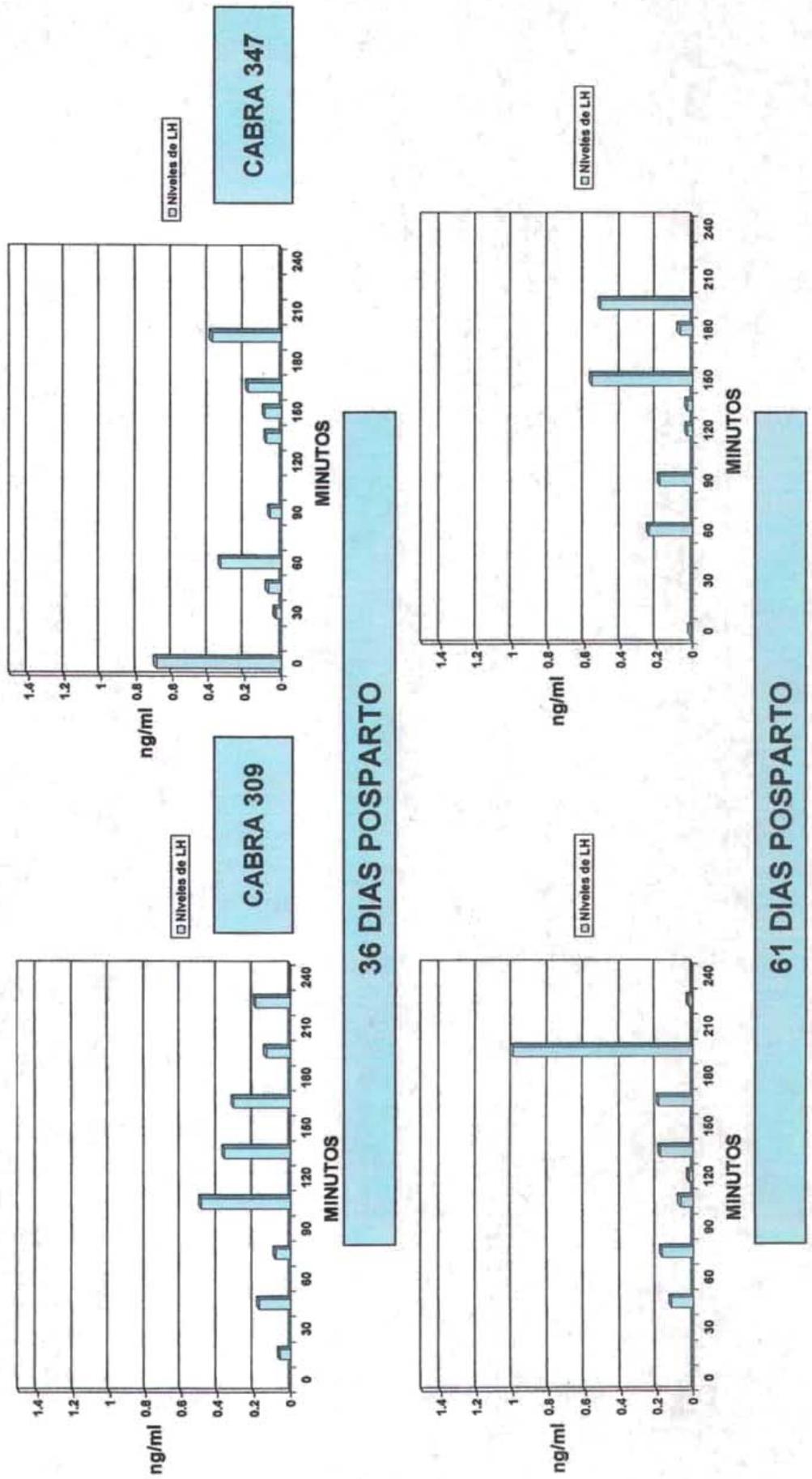
Gráfica 5. Niveles de LH en cabras amamantando un cabrito, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de Naloxona a los 36 y 61 días posparto.

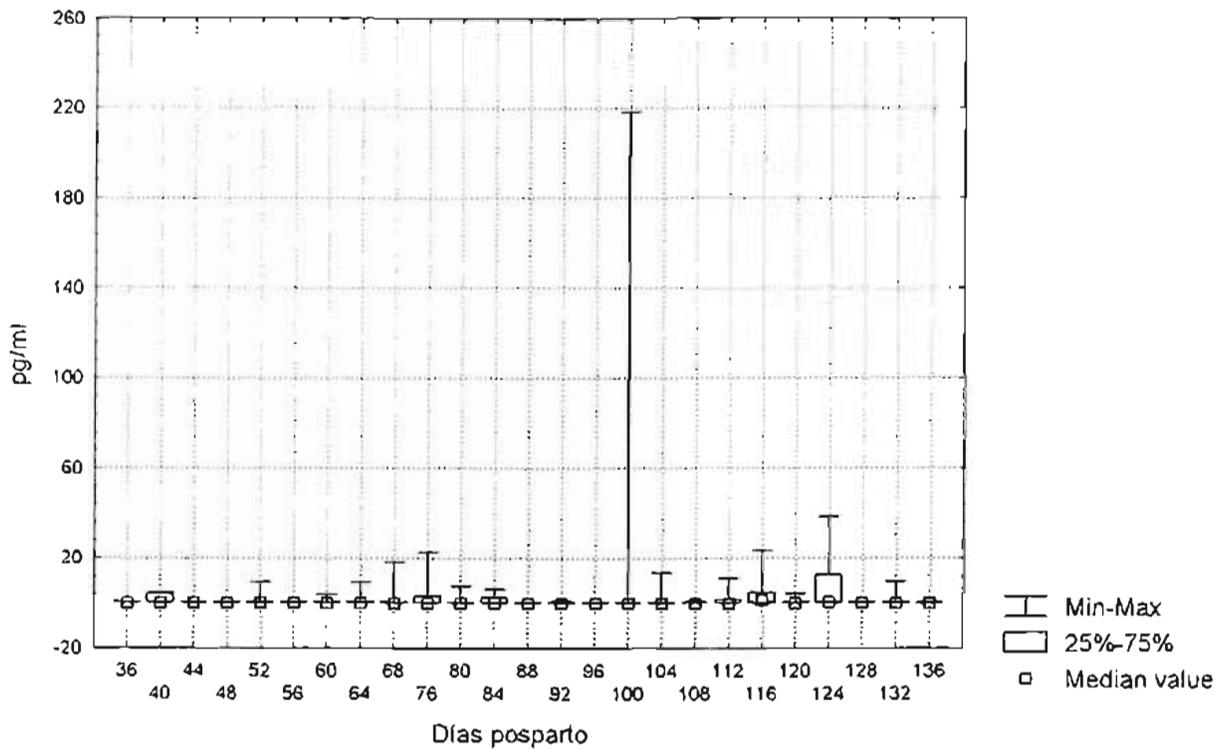


Gráfica 6. Niveles de LH en cabras amamantando dos cabritos, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de solución salina fisiológica a los 36 y 61 días posparto.

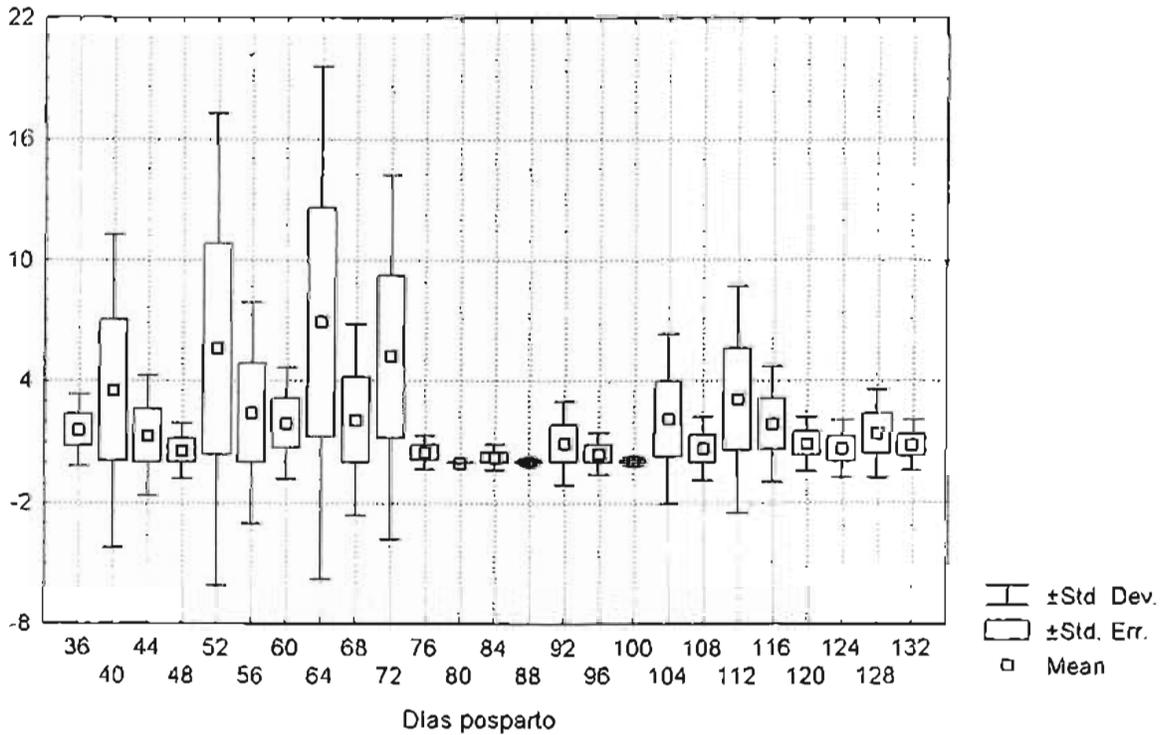


Gráfica 7. Niveles de LH en cabras amamantando dos cabritos, muestreadas cada quince minutos antes y después de la aplicación intramuscular de Naloxona a los 36 y 61 días posparto.

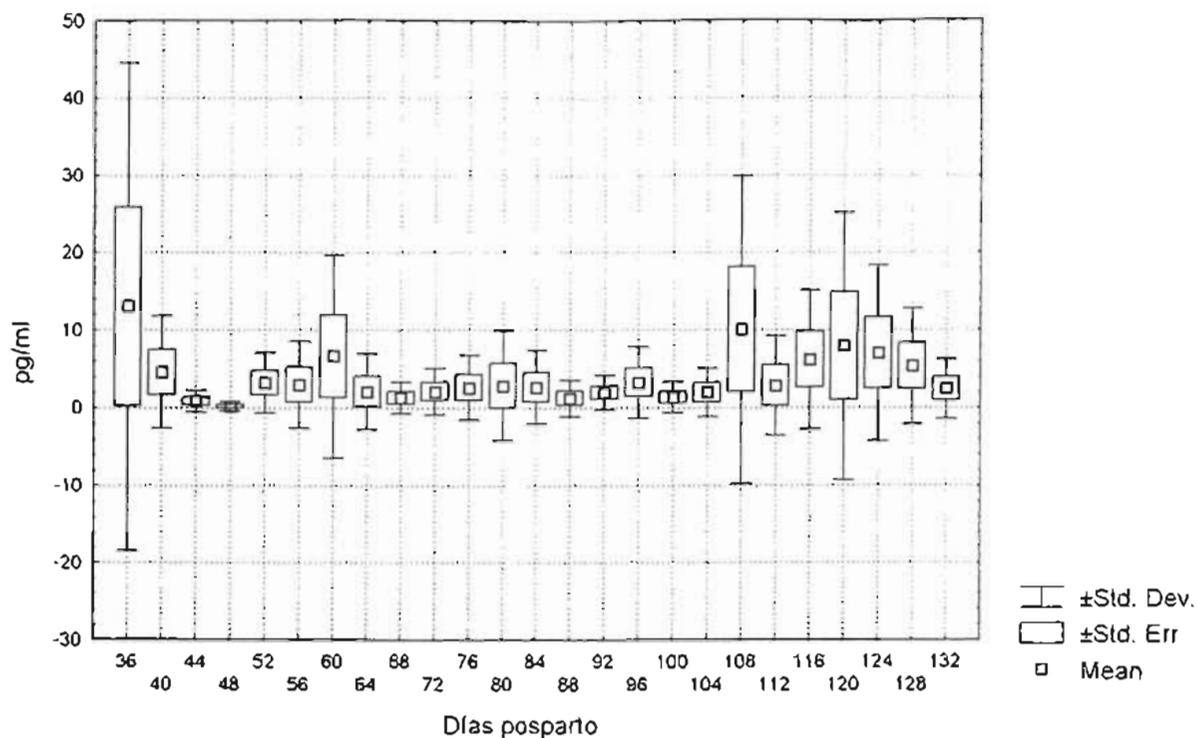




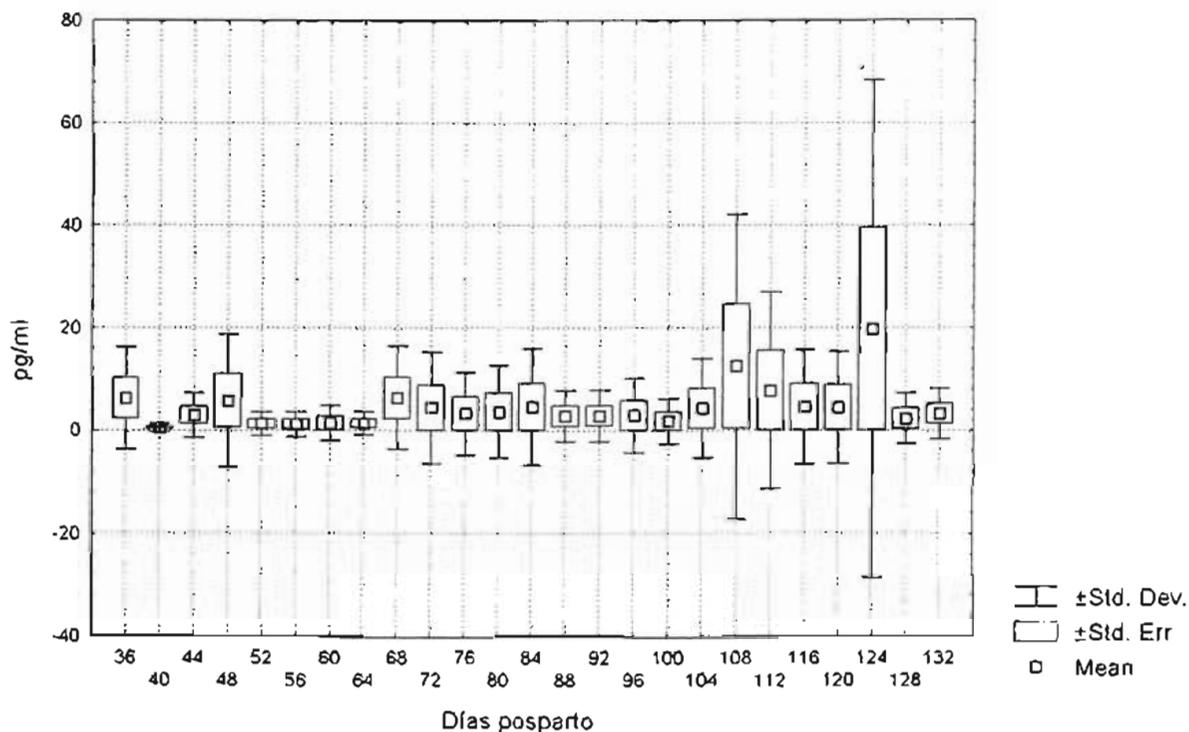
Gráfica 8. Niveles de estrógenos en cabras sin amamantar, tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



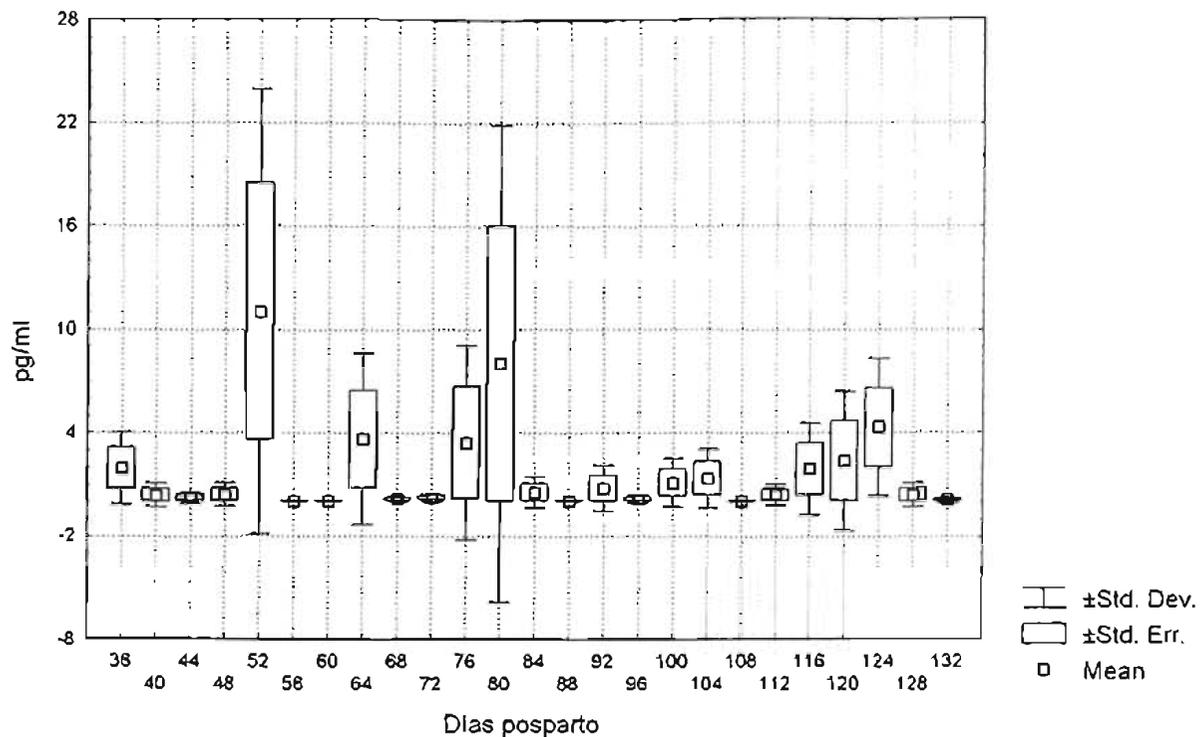
Gráfica 9. Niveles de estrógenos en cabras sin amamantar y sin tratamiento hormonal.



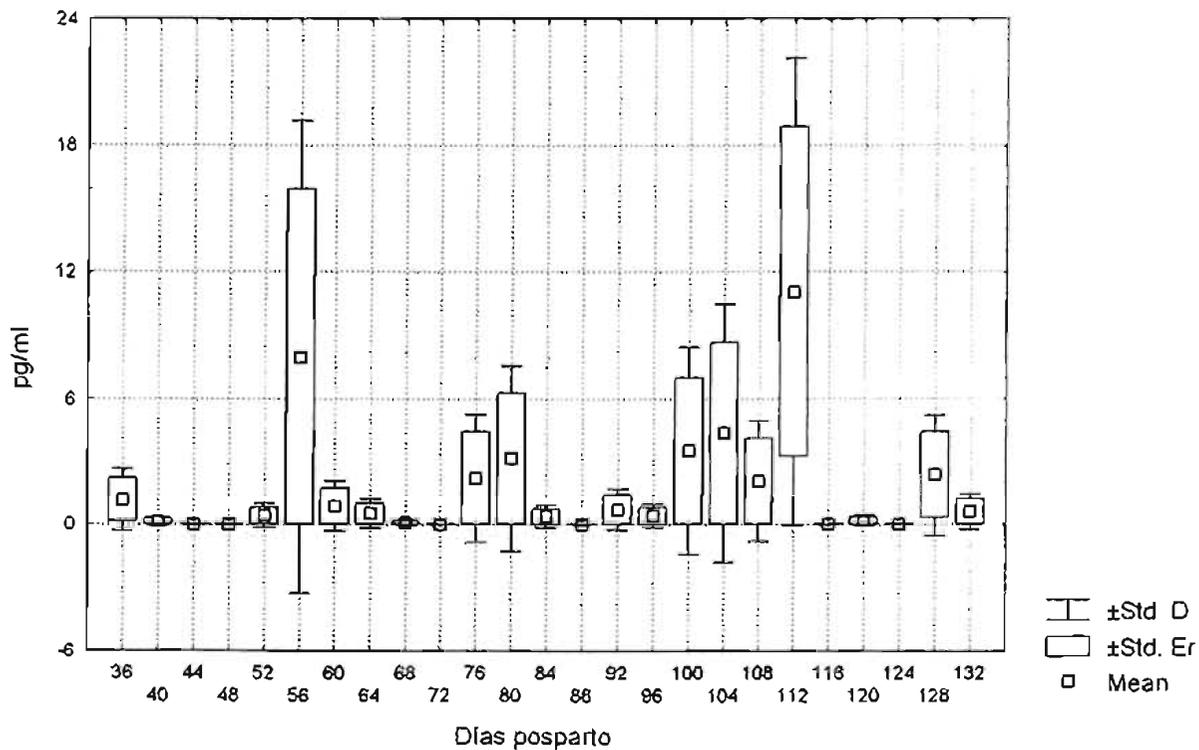
Gráfica 10. Niveles de estrógenos en cabras amamantando un cabrito, tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



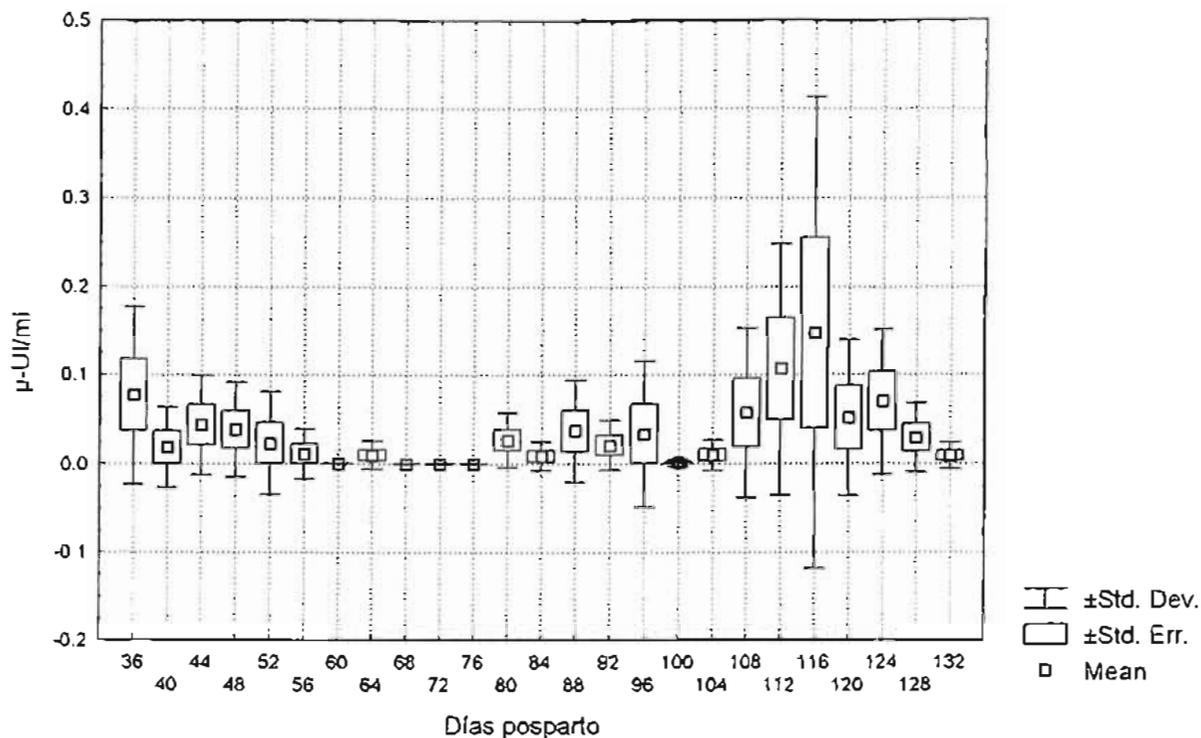
Gráfica 11. Niveles de estrógenos en cabras amamantando un cabrito y sin tratamiento hormonal.



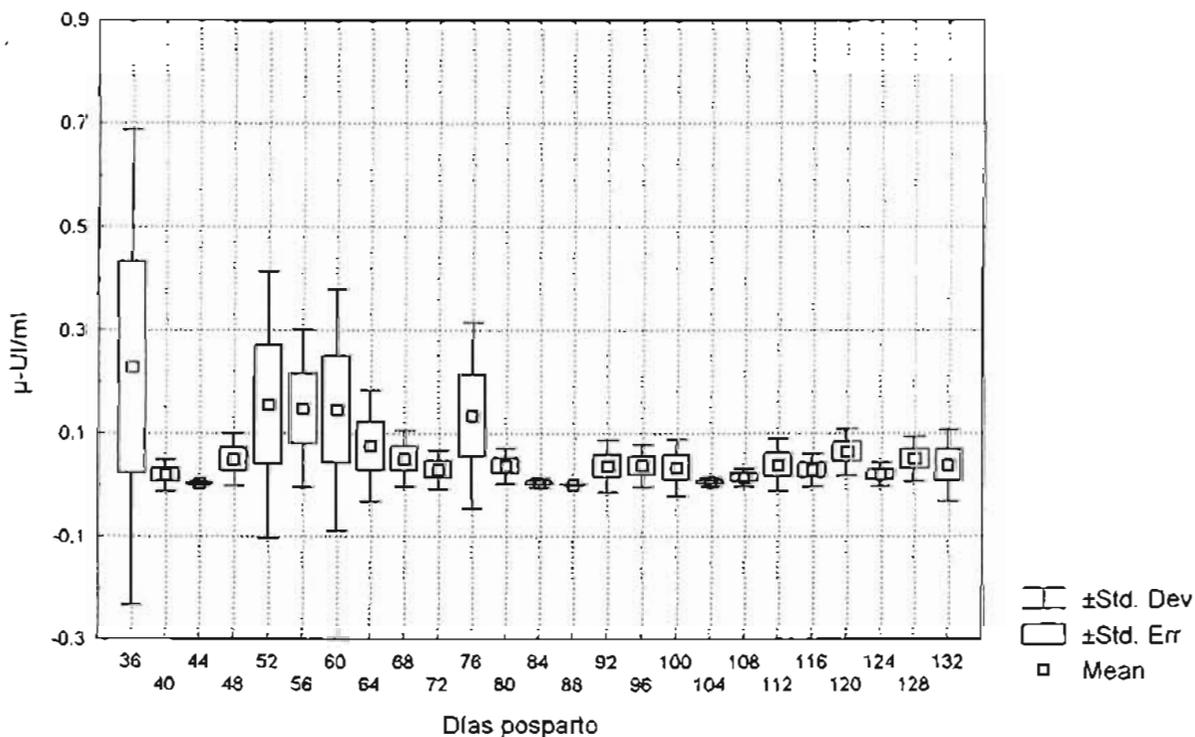
Gráfica 12. Niveles de estrógenos en cabras amamantando dos cabritos, tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



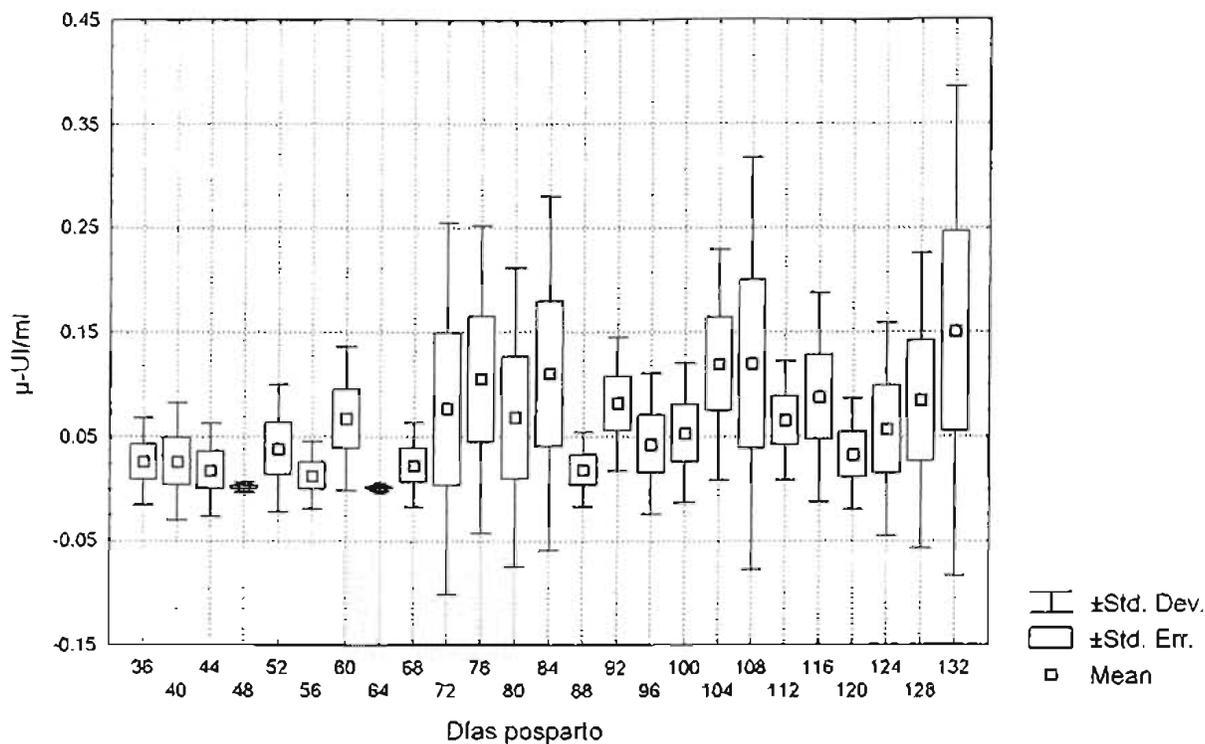
Gráfica 13. Niveles de estrógenos en cabras amamantando dos cabritos y sin tratamiento hormonal.



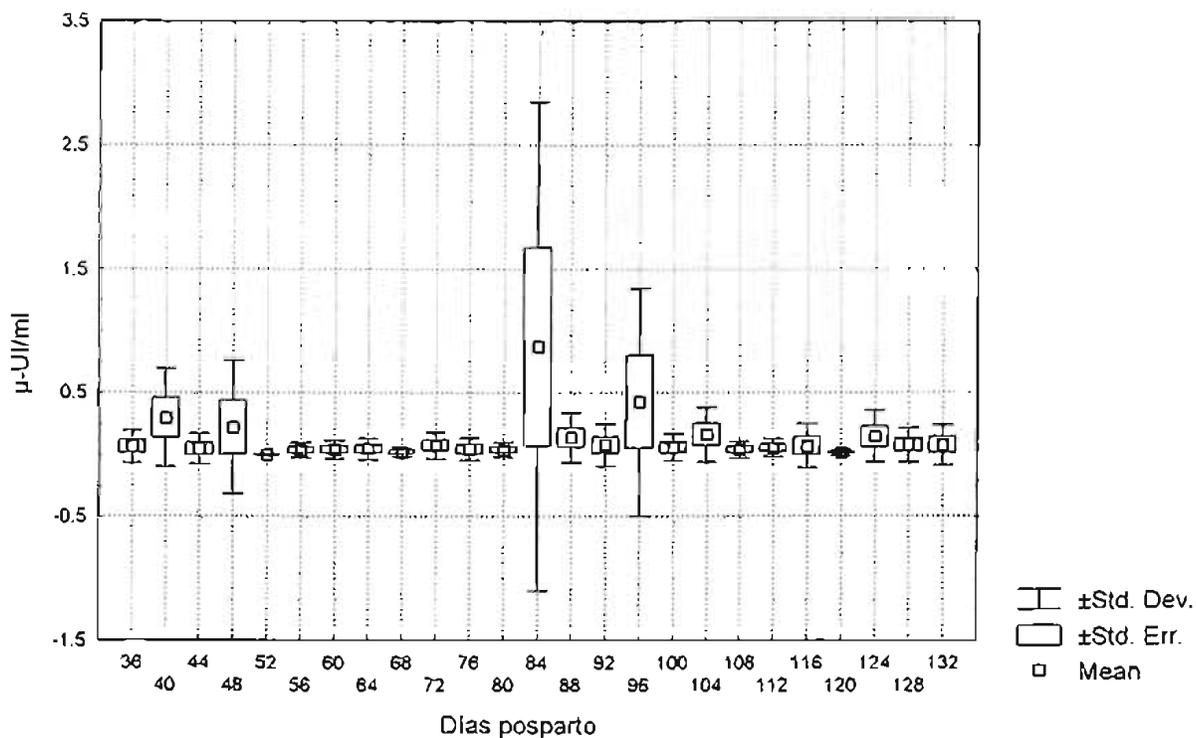
Gráfica 14. Niveles de prolactina en cabras sin amamantar, tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



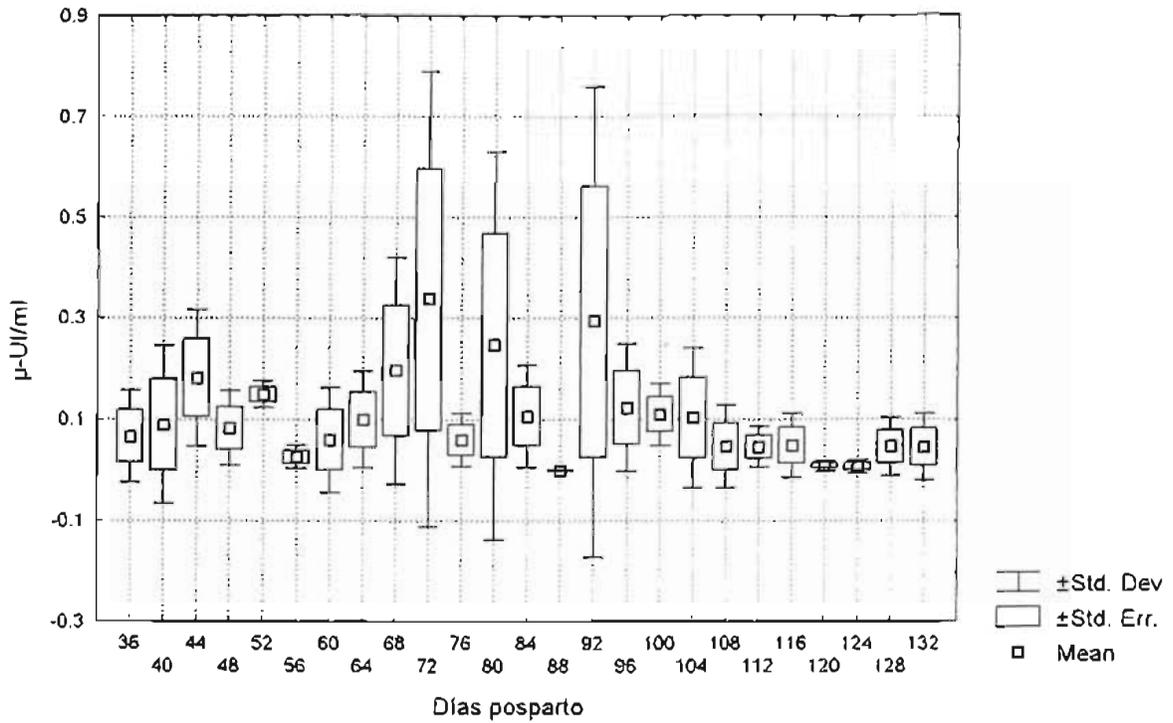
Gráfica 15. Niveles de prolactina en cabras sin amamantar y sin tratamiento hormonal.



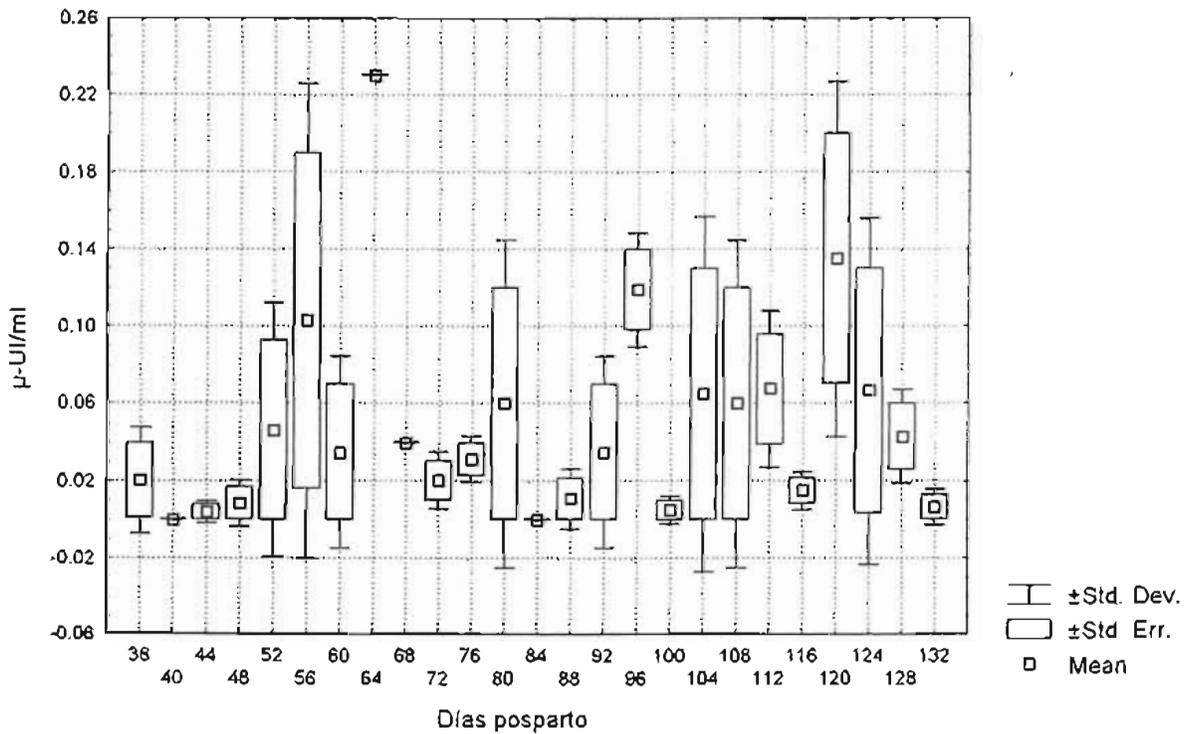
Gráfica 16. Niveles de prolactina en cabras amamantando un cabrito tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



Gráfica 17. Niveles de prolactina en cabras amamantando un cabrito y sin tratamiento hormonal.



Gráfica 18. Niveles de prolactina en cabras amamantando dos cabritos, tratadas con 1 mg/día de Naloxona.



Gráfica 19. Niveles de prolactina en cabras amamantando dos cabritos y sin tratamiento hormonal.

VII. DISCUSION.

Aunque los caprinos en México muestran una estacionalidad moderada con solamente dos a tres meses de anestro, los intervalos entre partos se aproximan al año (Gutiérrez, 1979; Trejo y Pérez, 1987; Trejo 1998), por lo que el anestro posparto o de lactación parece ser de importancia para reducir el intervalo entre partos, especialmente en cabras lecheras, por lo que el estudio de la actividad ovárica posparto y los tratamientos para activarla son de relevancia.

NIVELES HORMONALES

Hormona luteinizante.

Respecto a los niveles de LH, se sabe que durante el anestro temprano en el posparto, los niveles de LH corresponden más a estímulos uterinos y/o ováricos que a estímulos de lactación, pero conforme aumentan los días posparto, la estimulación sobre el pezón suele interferir con la actividad hipofisiaria, encontrándose mayores niveles de LH, en aquellos animales que no amamantaron cabritos y están prácticamente sin leche y en aquellas cabras que habiendo tenido mayor frecuencia de amamantamiento, recibieron un tratamiento con naloxona, sin embargo ninguna de las cabras del experimento quedó gestante en este período (Nett, 1987).

En algunos tratamientos con naloxona, se ha mostrado que se aumenta la oleada de LH, pero este efecto no es constante (Wu *et al.*, 1991; Sarkar *et al.*, 1998); y otros estudios muestran que no siempre se revierte el tono inhibitorio opioide (Kalra *et al.*, 1989; Lincoln y Ssewanyana, 1989), en esos casos, se ha postulado que la respuesta puede estar modulada por diferentes tipos de receptores opioides algunos de los cuales no son afectados por las diferentes dosis de naloxona utilizados en los experimentos, por lo que pueden existir diferencias específicas entre el tratamiento con naloxona y los niveles de LH en el suero periférico que estarían en función de diferentes variantes fisiológicas, como pueden ser un almacén insuficiente en la pituitaria de la LH que pueda ser liberada en un momento determinado; puede cambiar también la sensibilidad a la GnRH de las células secretoras de LH en la hipófisis o pueden existir variaciones temporales de la LH sérica, de tal modo que la naloxona exógena no induzca cambios fisiológicamente detectables (Malven, 1986).

En el presente trabajo el incremento de la LH a los 61 días posparto, se aprecia que fue normal en los animales que no amamantaban, sin embargo la naloxona solamente tuvo efecto sobre las cabras sometidas a una lactación intensa de dos cabritos. Sin embargo, existen evidencias de que la naloxona no afecta la liberación de LH desde la hipófisis (Lincoln y Ssewanyana, 1989). Entonces los trabajos como éste, donde se encuentra un incremento de la LH seguido de la administración de naloxona que actúa solamente como antagonista de los receptores opioides, no puede ser explicada por lo que aún es necesario determinar los mecanismos de acción (Malven, 1986).

Estrógenos y prolactina.

Para los estrógenos y la prolactina se observa una alta variabilidad, destacándose que existieron picos de estrógenos en las cabras sin lactación y picos aislados de prolactina en las cabras amamantando sin naloxona.

Se ha mencionado como acción de los péptidos opioides sobre la reproducción la regulación de las neuronas secretoras de GnRH y por lo tanto de la secreción de la LH y FSH (Lincoln y Ssewanyana, 1989; Walsh y Clarke, 1996), repercutiendo así, en la producción de esteroides sexuales y comportamiento sexual. Sin embargo en el presente trabajo no existió un efecto del tratamientos sobre la secreción de estrógenos que es una estimación indirecta del crecimiento folicular, por lo que se puede inferir que la naloxona no fue capaz de bloquear los efectos de la β -endorfina.

Igualmente los opioides regulan la secreción de prolactina, desde la pituitaria anterior por acción en las neuronas productoras de los factores hipotalámicos que controlan la secreción de esta hormona (Wals y Clarke, 1996; Hopwood *et al.*, 1998; Russell *et al.*, 1998), en este trabajo no se encontraron diferencias entre los grupos tratados con naloxona y los grupos sin aplicación de naloxona, estando esto en concordancia con diferentes estudios que han mostrado el efecto de los péptidos en la inhibición de la liberación de la LH (Aurich *et al.*, 2002), pero también sugiere que la aplicación de un antagonista opioide, como la naloxona no cambió en este trabajo las concentraciones de prolactina.

ACTIVIDAD OVÁRICA

Cuando se revisó la actividad ovárica se pudo observar que las cabras con dos cabritos tuvieron mayor número de folículos relativamente pequeños entre los 2 y 3 mm de diámetro, mientras que las cabras con un cabrito tuvieron más folículos con 5 mm que se consideran folículos dominantes e incluso una de ellas ovuló encontrándose un cuerpo lúteo, por lo que su actividad ovárica puede considerarse mejor.

Pese que las cabras con un solo cabrito tuvieron mejor desempeño ovárico, es decir con folículos dominantes y con cuerpo lúteo, ninguna cabra del experimento quedó gestante durante ese periodo, lo que puede atribuirse que la lactación no tiene mucho efecto en esa época del año, cuando las cabras suelen encontrarse en anestro estacional, pero cabe señalar que fue un año excesivamente caluroso y seco por efectos del fenómeno del niño y esto pudo afectar la fisiología de las cabras independientemente de la lactación.

VIII.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

En base a lo expuesto anteriormente, se puede concluir que:

- El uso de la naloxona, con la dosis empleada y en las condiciones particulares de este trabajo, en cabras bajo anestro posparto, no presentó ninguna ventaja en el reinicio de la actividad reproductiva de los animales, ya que ninguna cabra mostró estro o quedó gestante durante el tratamiento.
- Las hembras con un cabrito tuvieron folículos de mayor tamaño y una incluso ovuló.
- Los niveles de estrógenos fueron mayores en las cabras amamantando dos cabritos.
- El número de cabritos amamantados no influyó sobre el retorno al estro en las cabras criollas paridas de enero a abril.
- Se requieren más estudios, abarcando diferentes épocas del año.
- En trabajos futuros, medir la actividad hipotálamo – hipófisis, a través de la medición de diferentes hormonas involucradas.

IX.- LITERATURA CITADA

Al-Gubory, K.H., Blanc, M.R. y Martinet, J. (1989). Role of the corpus luteum of pregnancy in controlling pituitary gonadotropin secretion during the early postpartum period in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 86:697-703.

Alonso, A.J.L. (1981). Manejo reproductivo en el ovino. Ciencia Veterinaria. Universidad Nacional Autónoma de México. 434-463.

Anderson, S.T. Sawangjaroen, K. y Curlewis, J.D. (1996). Pituitary adenylate cyclase-activating neurons polypeptide acts within the medial basal hypothalamus to inhibit prolactin and luteinizing hormone secretion. *Endocr.* 137: 3424-3429.

Anderson, G.M. y Barrell, G.K. (1998). Pulsatile luteinizing hormone secretion in the ovariectomized, thyroidectomized red deer hind following treatment with dopaminergic and opioidergic agonist and antagonist. *Biol Reprod.* 59:4, 960-969.

Antonijevic, I.A., Russell, J.A., Bicknell, R.J., Leng, G. y Douglas, A.J. (2000). Effect of progesterone on the activation of neurone of the supraoptic nucleus during parturition. *J. Reprod. & Fert.* 120:2, 367-376.

Aurich, C., Burgmann, F. y Hoppe, H. (1996). Opioid regulation of luteinizing hormone and prolactin release in the horse-identical or independent endocrine pathways?. *Anim. Reprod. Sci.* 44: 127-134.

Aurich, C., Gerlach, T., Aurich, J.E. y Parvizi, N. (1999). Seasonal variation and opioidergic regulation in cyclic, ovariectomized and pregnant pony mares. *Biol. Reprod.* 61:6, 1575-1580.

Aurich, C., Gerlach, T., Aurich, J.E., Hoppen, H-O, Lange, J. y Parvizi, N. (2002). Dopaminergic and opioidergic regulation of gonadotropin and prolactin release in stallions. *Reprod. Dom. Anim.* 37:335-340.

Barrel, G.K., Moenter, S.M., Caraty, A. y Karsch, F.J. (1992). Seasonal changes of gonadotrophin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biol Reprod.* 46:1130-1135.

Bravo, P.J., Charli, J.L. y Aréchiga, H. (1990). Propiedades generales de las neuronas peptidérgicas. En: Aminoácidos y pépticos en la integración de funciones nerviosas. Ed. Pasantes, H-Morales y Aréchiga, H. UNAM, México D.F. 125-238.

Bymes, E.M., Rigerio, B.A. y Bridges, R.S. (2000). Opioid receptor antagonism during early lactation results in the increased duration of nursing bouts. *Physiol. & Behav.* 70:1/2, 211-216.

Cagampang, F.R.A., Maeda, K.I., Tsukamura, H., Ohkura, S. y Ota, K. (1991). Involvement of ovarian steroids and endogenous opioids in the fasting-induced suppression of pulsatile LH release in ovariectomized rats. *J. Endocr.* 129: 321-328.

Callahan, P., Klosterman, S., Prunty, D., Tompkins, J. y Janik, J. (2000). Immunoneutralization of endogenous opioid peptides prevents the suckling-induced prolactin increase and the inhibition of tuberoinfundibular dopaminergic neurons. *Neuroendocr.* 71:4, 268-276.

Castro, R.D. (1996). El papel de las prostaglandinas en la actividad reproductiva de ovinos y caprinos. Cátedra de Reproducción y Genética en ovinos y caprinos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 21

Clarke, I.J., Wright, P.J., Chamley, W.A. y Burman, K. (1984). Difference in the reproductive endocrine status of ewes in the early postpartum period and during seasonal anoestrus. *J. Reprod. Fert.* 70: 591-597.

Clarke, I.J., Burman, K.J., Perry, R.A., Prince, K.M. y Horton, R.J.E. (1989). β -endorphin in hypophyseal portal blood. En: Brain Opioid Systems in Reproduction. By: Dyer, R.G. y Bicknell, R.J. Ed. Oxford University Press. Inglaterra. 135-148.

Cognie, Y. y Mauleon, P. (1989). Control de la reproducción en la oveja. En: Producción ovina. Ed. Haresing, W. Ed. AGT. Editor. México. 397-408.

Conover, Ch., D., Kuljis, R.O., Rabii, J. y Advis, J.P. (1993). Beta-Endorphin regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at the Median Eminence in ewes: Immunocytochemical and physiological evidence. *Neuroendocr.* 57: 1182-1195.

Cook, C.J. (1999). Maternal behaviour in sheep (*Ovis aries*) following administration of opioid agonist. *New Zealand Vet. J.* 47:2, 67-70.

Crosgrave, J.R., Rensis, F. y Foxcroft, G.R. (1993). Opioidergic pathways in animal reproduction: Their role and effects of their pharmacological control. *Anim. Reprod. Sci.* 33:373-392.

Crowley, W.R. y Zemlan, F.P. (1981). Neurotransmitter systems. Anatomy and Pharmacology. En: Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behaviour. Ed. by Norman, T.A. Plenum Press N.Y., USA. 65-85.

Cruz, F.M. y Castillo, R.H. (1991). Ciclo anual de estros y concepciones de borregas Pelibuey en clima tropical. *Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina.* Universidad Autónoma de Chiapas, México. 145-147.

Curlewis, D.J. y McNeill, A.S. (1991). Prolactin short-loop feedback and prolactin inhibition of luteinizing hormone secretion during the breeding season and seasonal anoestrus in the ewe. *Neuroendocr.* 54: 279-285.

- Currie, W.D., Joseph, I.B.J.K. y Rawlings, N.C. (1991). Morphine, naloxone and the gonadotrophin surge in ewe. *J. Reprod. Fert.* 92: 407-414.
- Dalton, D.C. (1980). Population genetics, selection and breeding. En: *An Introduction to Practical Animal Breeding*. Granada Pub. U.K. 42-106.
- De la Mora, M.P., Velasco, A.F. y Muñoz, M.G. (1990). Métodos para el estudio de neurotransmisores en el sistema nervioso central. En: *Aminoácidos y pépticos en la integración de funciones nerviosas*. Ed. Pasantes, H-Morales y Aréchiga, H. UNAM, México D.F. 31-60.
- De Lucas, T.J., González, P.E. y Martínez, R.L. (1983). Estacionalidad reproductiva de cinco razas ovinas. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*. 11-12.
- De Lucas, T.J., González, P.E. y Martínez, R.L. (1994). Estacionalidad reproductiva de cinco razas ovinas. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*. México, D.F. 119-123.
- Dell'Aquila, M.E., Casanova, V., Reshkin, S.J., Albrizio, M., Guerra, L., Maritato, F. y Minoia, P. (2002). Effects of beta-endorphin and naloxone on *in vitro* maturation of bovine oocytes. *Mol. Reprod. & Develop.* 63:2, 210-222.
- Devariux, J. (1989). *Fisiopatología de la gestación y obstetricia veterinaria*. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Dhawan, B.N., Cesselin, F., Raghbir, R., Reisine, T., Bradley, P.B., Portoghese, P.S. y Hamon, M. (1996). International union of pharmacology. XII. Classification of opioid receptors. *Pharm. Rev.* 48(4): 567-592.
- Dondi, D., Maggi, R., Panerai, A.E., Piva, F. y Limonta, P. (1991). Hypothalamic opiate tone during pregnancy, parturition and lactation in rat. *Neuroendocr.* 53:460-466.
- Donovan, A., Boland, M.P., Roche, J.F. y O'Callaghan, D. (1994). The effect of supplementary long days, a subcutaneous melatonin implant and exposure to a ram on the onset of the breeding season in ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 34: 231-240.
- Ebling, F.J.P., Schwartz, M.L. y Foster, D.L. (1989). Endogenous opioid regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion during sexual maturation in the female sheep. *Endocr.* 125 No.1: 369-383.
- Eldon, J. (1993). Effect of exogenous melatonin and exposure to a ram on the time of onset and duration of the breeding season in Icelandic sheep. *J. Reprod. Fert.* 99:1-6.
- Evans, G. y Maxwell, W.M.C. (1990). Preparación de las hembras para la inseminación. En: *Inseminación Artificial de ovejas y cabras*. Ed. Acribia, S.A. España. 59-76.

Feder, H.H. (1981). Experimental analysis of hormone actions on the hypothalamus, anterior pituitary and ovary. En: Norman, 243-277.

Fitz, T.A., Marr, M.M., Contois, D.F., Rexroad, C.E.Jr. y Fritz, M.A. (1993). Effects of individual and combined treatment with prostraglandin E2 y F2 on progesterone secretion by ovine luteal cells supplement with homologous serum lipoproteins in vitro. *Biol Reprod.* 48:662-668.

Flores, M.L., Cuadra, S.C., Trejo, G.A., Lima, C.M. y Ramírez, B.E. (1991). Comparación de la fertilidad y prolificidad en corderas y ovejas adultas encastadas de razas de cara negra, inducidas al estro utilizando dos dosis de PMSG e inseminado a tiempo fijo con semen fresco. *Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Chiapas. México. 175-177.

Floyd, E.B. y Battenberg, L.F. (1984). Inmmunochemistry of endorphins and enkephalins. En: Neuroendocrine Peptide Methodology. Edited by: Conn, M.P.. Selected methods in Enzymology Academic Press Inc. USA.

Fordham, D.P., Al.Gahtani, S., Durotoye, L.A. y Rodway, R.G. (1991). Changes in plasma cortisol and β -endorphin concentrations and behaviour in sheep subjected to a change of environment. *Anim. Prod.* 52:287-296.

Frias; J. Puertas, A., Ruiz, E. y Ortega, E. (1997). Effect of corticotropin releasing factor (CFR) injected into the emiience on LH secretion in male rats. *Neurochemil Res.* 22(2): 171-175.

Fuentes, V.O. y Peraza, C. (1988). El uso de la naloxona y la progesterona para adelantar la época de empadre en la cabra Alpina. V Congreso Nacional Azteca.

Fuentes, V.O., González, H., Sánchez, A., Garcia, A. y Fuentes, P. (1998). The effects of nalaoxe on the duration of estrous ovulation rate and oestradiol 17 β in crossbred ewes with induced oestrous during seasonal anoestrous. *S. Rum. Res.* 29: 89-92.

Galina, H.C. Saltiel, C.A. y Valencia, M.J. (1990). Reproducción en animales domésticos. Ed. Limusa, México. 348.

García, C.J., Pérez, M.S.C., Gómez, R.N.M., García, Q.J.H., Guajardo, H.J., Salas, V.A. y Perera, M.G. (1995). Efecto de la naloxona y GnRH en la liberación de la LH durante el estro inducido de cabras jóvenes. *X Reunión Nacional sobre Caprinocultura*. Zacatecas. México.

González, A., Murphy, B.D., De Alba, M.J., y Mannus, J.G. (1991). Endocrinology of the postpartum period in the Pelibuey ewe. *J. Anim. Sci.* 64:1717- 1724.

Goodman, R.L. (1994). Neuroendocrine control of the oviine cycle. En: Physiology of Reproduction. Ed. Knobil, E. y Neill, J.D. 2nd Ed. Raven Press. Estados Unidos. 659-709.

- Goodman, R.L., Havern, R.L. y Whisnant, S. (1996). Alpha adrenergic inhibits luteinizing hormone pulse amplitude in breeding season ewes. *Biol. Reprod.* 54: 380-386.
- Gore, A.C. y Terasawa, E. (2001). Neural circuit regulating pulsatile luteinizing hormone release in the female guinea-pig: opioid, adrenergic and serotonergic interactions. *J. Neuroendocr.* 13:3, 239-243.
- Gordon, I. (1989). Control artificial del estro y la ovulación. En: Control en la crianza de los animales de granja. Ed. Compañía Editorial Continental México. 197-212.
- Gordon, I. (1999). More frequent lambing in sheep. Capítulo 6. En: Controlled Reproduction in sheep and goat". Cabi Publishing. Vol. 2. 177-186.
- Gordon, F.T. y Soliman, M.R. (1996). The effects of estradiol and progesterone on pain sensitivity and brain opioid receptors in ovariectomized rats. *Horm. Behav.* 30:244-250.
- Gómez, B.A. y López, S.S. (1991). Effect of the season on plasma concentration of prolactin and cortisol in pregnant, non-pregnant and lactating ewes. *Anim. Reprod. Sci.* 26:251-268.
- González, R.A. y Valencia, M.J (1991). Hair sheep in México: Reproduction in the Pelibuey sheep. *Anim. Breed. Abstr.* 59:509-524.
- Gregg, D.W., Moss, G.E., Hudgens, R.E. y Malven, P.V. (1986). Endogenous opioid modulation of luteinizing hormone and prolactin secretion in postpartum ewes and cows. *J. Anim. Sci.* 63:838-847.
- Gutiérrez, A.J., (1979). Comportamiento y eficiencia reproductiva en cabras en la región central del Estado de Chihuahua. Centro de Investigación y Fomento Pecuario. Boletín 17. Chihuahua.
- Hall, J.A., Dailey, R.A., Inskeep, E.K. y Lewis, P.E. (1993). Influence of the corpus luteum of pregnancy on ovarian function in postpartum ewes. *J. Anim. Sci.* 71: 3067-3072.
- Hatfield, P.G., Ramsey, W.S. y Fitzgerald, J.A. (2000). Effect of naloxone on intake and growth hormone concentration in lactating and non-lactating ewes. *Small Rum. Res.* 35:21-27.
- Hayashi, S. y Okamura, H. (1992). Factors regulating sexual differentiation of the neonatal steroid treatment and development of the reproductive brain in the rat. En: Brain control of the reproduction system. Edited by: Yokoyama, A. En: Japan Scientific Societies Press. Tokio. 49-68.
- Hernández, V.C., Oviedo, F.G., López, P.M. y Ximello, L. (1988). Empadre continuo. Evaluación de algunos parámetros productivos y reproductivos. *Memorias del Primer Congreso Nacional de producción Ovina*. Asociación Mexicana de Técnicas Especialistas en Ovinocultura, A.C. La Calera, Zacatecas, México: 140-143.

Higuchi, T. y Negoro, H. (1992). Oxytocin and prolactin secretion by suckling and their reduced response to stimuli other than suckling. En: Brain control of the reproduction system. Edited by: Yokoyama, A. En: Japan Scientific Societies Press. Tokio. 165-189.

Hopwood, R.M., Mann, P.E. y Bruges, R.S. (1998). Reproductive experience and opioid regulation of luteinizing hormone release in female rats. *J. Reprod. Fert.* 114:2, 259-265.

Hulet, C.V. y Shelton, M. (1984). Borregos y Cabras. En: Reproducción e Inseminación artificial en Animales Domésticos. Hafez, E.S.E. 4ª ed. Editorial Interamericana. México: 329-340.

Hunter, R.H.F. (1982). Técnicas para modificar el ciclo estrico: Sincronización del estro con la cría programada. En: Fisiología y Tecnología de la Reproducción de la hembra de los animales domésticos. Ed. Acribia, España. 33-45.

Hunter, C.V. (1985). Fisiología y Tecnología de la reproducción de la hembra de los Animales Domésticos. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 326-336.

Irving, E., Madej, A., MacDonald, E., Drugge-Boholm, G., Berglund, B. y Olsson, K. (1999). Hormonal changes during parturition in helpers and goats are related to the phases and severity of labour. *J. Endocr.* 160:1, 75-85.

Intervet México, S.A de C.V. (1991). Covinan. Folleto informativo.

Jackson, G.L. y Kuehl, D.E. (2000). Interactions of photoperiod, testosterone and naloxone on GnRH and LH pulse parameters in the male sheep. *Dom. Anim. Endocr.* 18: 97-100.

Jainudeen, M.R. y Hafez, E.S.E. (1989). Ovejas y Cabras. En: Reproducción e Inseminación artificial en animales. 5ª ed. Editorial Interamericana. México. 329-340.

Jansen, H.T., Khalid, M. y Jackson, G.L. (1991). N-Methyl-D, L-aspartate induces a transient increase in LH secretion in the seasonally anestrous ewe. *Domes. Anim. Endocr.* 81:55-62.

Jansen, H.T., Hileman, S.M., Lubbers, L.S., Kuehl, D.E., Jackson, G.L. y Lehman, M.N. (1997). Identification and distribution of neuroendocrine gonadotropin-releasing hormone neurons in the ewe. *Biol. Reprod.* 56: 655-662.

Jarvis, S., McLean, K.A., Calvert, S.K., Deans, L.A. Chnside, J. y Lawrence, A.B. (2000). The responsiveness of sows to their piglets in relation to the length of parturition and the involvement of endogenous opioids. *Appl. Anim Behav. Sci.* 63:3, 195-207.

Jarvis, S., Lawrence, A.B., Chnside, J., Deans, L.A., Calvert, S.K., Gilbert, C.L., Goode, J.A. y Forsling, M.L. (2000). The effect of opioid antagonism and environmental restriction on plasma oxytocin and vasopresin concentration in parturient gilts. *J. Endocr.* 166:39-44.

Kalra, S.P., Allen, L.G. y Kalra, P.S. (1989). Opioids in the steroids-adrenergic circuit regulating LH secretion: dynamics and diversities. En: *Brain Opioid Systems in Reproduction*. By: Dyer, R.G. y Bicknell, R.J. Ed. Oxford University Press. Inglaterra. 95-111.

Kalra, P.S., Norlin, M. y Kalra, S.P. (1995). Neuropeptide Y stimulate β -endorphin release in the basal hypothalamus: role of gonadal steroids. *Brain Res.* 705: 353-356.

Kaminski, T., Siawrys, G., Bogacka, I. y Przáła, J. (2000). The physiology role of the beta-endorphin in porcine ovarian follicles. *Reprod. Nutrit. Develop.* 40:1, 63-75.

Kalyuzhny, A.E., Hensleigh, H.C., Arvidsson, U. y Elde, R. (1997). Immunochemical localization of μ -opioid receptors in follicular cells and preimplantation mouse embryos. *Anat. Embryol.* 195: 451-455.

Khalid, M., Haresing, W., Hunter, M.G. y McLeod, B.J. (1991). Pituitary response of seasonally anoestrous ewe to long-term continuous infusion of low doses of GnRH. *Anim. Prod.* 49: 95-102.

Khalid, M., Haresing, W. y Hunter, M.G. (1991). Regulation of pituitary GnRH receptors by continuous infusion of GnRH in the seasonally anoestrous ewe: evidence of ovarian involvement. *Anim. Reprod. Sci.* 24:271-282.

Kolb, B. y Wishaw, I.Q. (1990). *Fundamentals of human Neuropsychology*. 3a ed. Ed. by Freeman, W.H. y Company, N. USA. 3-57.

Kraetzl, W.D., Tancin, V. y Shams, D. (2001a). Inhibition of oxytocin release and milk let-down in postpartum primiparous cows is not abolished by naloxone. *J. of Dairy Research.* 68:4, 559-568.

Kraetzl, W.D., Tancin, V., Shams, D. y Bruckmaier, R.M. (2001b). Naloxone cannot abolish the lack of oxytocin release during unexperienced suckling of dairy cows. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 72:3, 247-253.

Lamming, G.E. (1994). *Pregnancy and lactation*. Past two. Fetal Physiology , Parturition and Lactation Part. II. En: *Marshall's Physiology of Reproduction*. 4a ed. Fourth Edition Vol: 3 Ed. by Chapman & Hall. 1067-1101

Levine, J.E. (1997). New concepts of the neuroendocrine regulation of gonadotropins surges in rats. *Biol. Reprod.* 56: 293-302.

Lima, C.M., Ramirez, B.E., Flores, M.M., Cuadra, S.C. y Trejo, G.A. (1991). Comparación de la fertilidad en corderas encastadas con razas de cara negra, inducidas al estro, utilizando tres dosis de MAP e inseminadas a tiempo fijo con semen fresco. *Memorias del IV Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Chiapas. México. 172-174.

- Limonta, P., Maggi, R., Dondi, D. y Piva, F. (1989). Endocrine regulation of brain opioid receptors. En: Brain Opioid Systems in Reproduction. By: Dyer, R.G. y Bicknell, R.J. Ed. Oxford University Press. Inglaterra. 27-37.
- Lincoln, G.A. y Ssewannayana, E. (1989). Opioid peptides and seasonal reproduction. En: Brain Opioid Systems in Reproduction. By: Dyer, R.G. y Bicknell, R.J. Ed. Oxford University Press. Inglaterra. 53-69.
- Lindsay, D. (1988). Ovulation and Oestrus. En: Breeding the flock. Inkata Press Australia. 3-13.
- Lishman, A.W. y Inskeep, E.W. (1991). Deficiencies in luteal function during reiniciation of cycling breeding.
- López, A. e Inskeep, E.K. (1988). Effects of lactation status, progesterona and ram exposure to cloprostenol in ewes during the anestrus season. *Theriogenology*. 30:279-289.
- Lorenzana, C.L.C. (2002). Control opioide del comportamiento reproductivo de la cabra. El uso de implantes para la administración crónica de naloxona. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Colima.
- Lupoli, B., Johansson, B., Uvnäs-Morberg, K. y Svennersten-Sjaunja, K. (2001). Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves. *J. Dairy Res.* 68: 175-187.
- Lustig, R.H., Fishman, J. y Pfaff, D.W. (1989). Ovarian steroids and endogenous opioid peptide action in control of the rat LH surge. En: Brain Opioid Systems in Reproduction. By: Dyer, R.G. y Bicknell, R.J. Ed. Oxford University Press. Inglaterra. 3-25.
- Lynch, J.J., Hinch, G.N. y Adams, D.B. (1992). The reproductive behaviour of sheep. En: The behaviour of sheep. Ed. C.A.B. international and CSIRO Australia. 96-125.
- Maeda, K., Tsukamura, H. Ohkura, S. y Yokoyama, A. (1992). Neuroendocrine mechanism regulating the pulsatile luteinizing hormone secretion. En: Brain control of the reproduction system. Edited by: Yokoyama, A. En: Japan Scientific Societies Press. Tokio. 119- 139.
- Mandiki, S.N.M., Fossion, M. y Paquay, R. (1989). Daily variations in suckling behaviour and relationship between suckling intensity and lactation anestrus in Texel ewes. *Applied Anim. Behav. Sci.* 23:247-255.
- Mandiki, S.N.M., Bister, J.L. y Paquay, R. (1990). Effects of suckling mode on endocrine control of reproductive activity resumption in Texel ewes lambing in july or november. *Theriogenology*. 33:397-413.
- McEntee, K. (1990). Reproductive Pathology of Domestic Mammals. Academic Press. Londres. Reino Unido. 131 -135.

Macuhova, J., Tancin, V., Kraetzl, W.D. y Meyer, H.H.D. (2002). Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: the importance of opioid and adrenal cortex sensitivity. *J. Dairy Reserch.* 69: 63-73.

Malven, P.V. (1986). Inhibition of pituitary LH release resulting from endogenous opioid peptides. *Dom. Anim. Endocr.* 3(3): 135-144.

Mann, P.E. Rubin, B.S. y Bridges, R.S. (1997). Differential propiomelanocortin gene expression in the medial basal hypothalamus of rats during pregnancy and lactation. *Mol. Brain. Res.* 104: 1, 9-16

Mann, P.E. y Bridges, R.S. (2002). Prolactin receptor gene expression in the forebrain of pregnant and lactating rats. *Mol. Brain Reseach.* 105:1/2, 136-145.

Marines, M.J.L., Soto, G.R. y Trejo, G.A. (1988). Efecto de la dosis de medroxiprogesterona y PMSG sobre la fertilidad y la tasa ovulatoria en ovejas inseminadas con semen congelado durante el anestro estacional. *Proc. 3rd World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding.* Institut National de la Recherche agronomique. Francia- 1:197-200.

Marnet, P.G. y McKusick, B.C. (2001). Regulation of milk and milkability in small ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 70:1/2, 125-133.

Márquez, B.G.A., Pineda, F.M.P., Cardoso, A.V.M., De Lucas, T.J. y Pijoan, A.P. (1985). Inducción de la actividad sexual en ovejas Corriedale mediante administración de melatonina y la variación del fotoperiodo. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México.* Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos y Universidad nacional Autónoma de México. 210.

McCracken, J.A. y Schramm, W. (1988). Prostaglandins and corpus luteum regression. En: *Biology and Chemistry of prostaglandins and related eicosanoids.* Ed. Curtis-Prior, P.B. Ed. Churchill Livingstone. Reino Unido. 425-462.

McNeilly, A.S. (1994). Suckling and the control of gonadotropin secretion. En: *The Physiology of reproduction.* 2a Ed. Ed by: Knobil, E. y Neill, D.J. Cap. 60 : 1179-1212.

McVey, W.R. Jr. y Williams, G.L. (1991). Mechanical masking of neurosensory pathways at the calf-teat interface: endocrine, reproductive and lactational features of the suckled anestrous cow. *Theriogenology.* 35:931-941.

Moenter, S.M. Caraty, A. Locatelli, A. y Karsch, F.J. (1992). Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge. *Endocr.* 129: 1175-1182.

Mori, Y., Maeda, K., Sawasaki, T. y Kano, Y. (1985). Photoperiodic control of prolactin secretion in the goat. *Japanese J. Anim. Reprod.* 31:1, 9-15.

Mori, Y. (1992). Central integration of photoperiodicity for gonadotropin release in ruminants. En: Brain Control of the reproductive system, Ed. Yokoyama, A. Ed. Japan Scientific Societies Press. Estados Unidos. 93-118.

Müller, E.E. (1989). Brain messengers and the pituitary. Academic Press. 602.

Navarro, M. de O.M.L. y Cuellar, O.J.A. (1992). Distribución de los partos en ovejas Criollas bajo empadre continuo y algunas correlaciones de interés que inciden sobre la eficiencia reproductiva del rebaño. *Memorias del 5º Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad nacional Autónoma de Nuevo León, México. 172-176-

Navarro, M. Ma. C., Trejo, G.A. Franco, D.F.J. y Ramírez, R.E.H. (1993). Estudio comparativo de la inducción del estro en un rebaño ovino a los 60 días posparto con destete y a los 90 días posparto sin destete, mediante el uso de esponjas vaginales con FGA e inyección de PMSG. *Memorias del 6º Congreso Nacional de Producción Ovina*. Ciudad Valles, S.L.P. México. 115-118.

Negrao, J.A. y Marnet, P.G. (2002). Effect of calf suckling on oxytocin, prolactin, growth hormone and milk yield in crossbred Gir x Holstein cows during milking. *Reprod. Nutrit. Develop.* 42:4, 373-380.

Nett, T.M. (1987). Function of the hipotalamic hyposiphysial axis the potpartum period in ewe and cows. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 34:201-203.

Newton, G.R. y Edgerton, L.A. (1989). Effects of seasonal and lactation on luteinizing hormone secretion in postpartum ewes. *Theriogenology*. 31:885-895.

Nishihara, M., Himura, H. y Kimura, F. (1992). Generating mechanism of pulsatile gonadotropin release. En: Brain control of the reproduction system. Edited by: Yokoyama, A. En: Japan Scientific Societies Press. Tokio. 69-91.

Norman, A.W. (1981). Hormones. Academic Press, New York, USA.

Pearce, D.T. y Oldham, C.M. (1984). The ram effect, its mechanism and application to the management of sheep. En: Reproduction in Sheep. Ed. Lindsay, D.R. y Pearce, D.T. Cambridge University Press. Reino Unido. 26-34.

Ojeda, C. y Griffin, R. (1992). Textbook of endocrinology physiology. 2nd ed. Oxford, USA. 160-162.

Oussaid, B., Cognie, Y. y Mariana, J.C. (1993). Ovarian stimulation following repeated injections of LH or LH +FSH in Ile France sheep in early and mid-seasonal anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* 31:83-98.

Parvizi, N. (2000). Neuroendocrine regulation of gonadotropins in the male and the female. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61: 31-47.

- Pérez, H.P., Sánchez, D.R.C. y Gallegos, S.J. (2001). Anestro posparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico. *Investigación Agraria Producción y Sanidad Animales. Colegio de Posgraduados. Especialidad Ganadería.* 16:2, 257-270.
- Petrov, E.S., Varlinskava, E.I., Becker, J.A. y Smotherman, W.P. (1998). Endogenous mu opioid systems and suckling in the neonatal rat. *Physiol. & Behav.* 65:3, 591-599.
- Pope, W.L., McClure, K.E., Hogue, D.E. y Day, M.L. (1989). Effect of season and lactation on postpartum fertility of Polypay, Dorset, St. Croix and Taghee ewes. *J. Anim. Sci.* 67:1167-1174.
- Przala, J., Kaminski, T., Okrasa, S., Siawrys, G. y Bogacka, I. (2001). The content of beta-endorphin-like immunoreactivity in porcine areas and the potential roles of progesterone, oxytocin and prolactin in the regulation of beta-endorphin release from luteal cells *in vitro*. *Reprod. Dom. Anim.* 36:2, 107-112.
- Quiñónez-Jenab, V., Jenab, S., Ogawa, S., Inturrisi, C. y Pfaff, D.W. (1997). Estrogen regulation of μ -receptor mRNA in the forebrain of female rats. *Mol. Brain. Res.* 47: 134-138.
- Rawlings, N.C. y Churchill, I.J. (1990). Effect of naloxone on gonadotropin secretion in underfed prepubertal sheep. *Horm. Metab. Res.* 22: 225-289.
- Rensis, F., Cosgrove, J.R., Willis, H.J., Höfacker, S. y Foxcroft, G.R. (1999). Ontogeny of the opioidergic regulation of LH and prolactin secretion in lactating sows II: interaction between suckling and morphine administration. *J. Reprod. Fert.* 116: 243-251.
- Rivera, R.E., Navarro, M. Ma. C., Trejo, G.A., Flores, M.L.M., Ramírez, B.E. y Cuadra, S.C. (1992). Efecto de dos edades de destete a los 60 y 90 días sobre la fertilidad y prolificidad posparto en ovejas criollas, encastadas de cara negra, después de la inducción del estro con ovulación, aplicando PMSG el día del destete e inseminando a tiempo fijo con semen fresco. *Memorias del 5º Congreso Nacional de Producción Ovina.* Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México. 202-205.
- Ramos, M.L., Murcia, M.C., Rojas, M.S., Salas, V.A. y Pereira, M.G. (1995). Determinación de la hormona luteinizante con un radioinmunoanálisis (RIA) homólogo en cabras estimuladas con diferentes dosis de hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH). *Vet. Mex.* 26(3).
- Ritcher, T.A., Spackman, D.S., Robinson, J.E., Dye, S., Harris, T.G., Skinner, D.C. y Evans, N.P. (2001). Role of endogenous opioid peptides in mediating progesterone-induced disruption of the activation and transmission stages of the GnRH surge induction process. *Endocr.* 142 (12): 5212-5219.
- Robic, Z., Liker, B. y Rupic, V. (1992). Duration of anestrus in Pramenka and Romanov ewes in Yugoslavia. *J. Anim. Sci.* 70:13-17.

Run, L.A., Thomposon, F.N., Byerley, D.L. y Kiser, T.E. (1990). Failure of naloxone to stimulate luteinizing hormone secretion during pregnancy and steroid treatment of ovariectomized beef cows. *Biol. Reprod.* 42: 619-624.

Russell, J.A., Brown, C.H. y Carón, R.W. (1998). Endogenous opioids. En: *Enciclopedia of Reproduction Vol. 1 A-En.* Edited by: Knobil, E. y Neill, J.D. falta país

Saavedra, S.G., Vázquez, T.A., Grajales, L.H., Trejo, G.A. y Urrea, E. (1990). Efecto de la fertilidad después de la inseminación con semen congelado a las 24 y 36 horas proestro en cabras Alpinas sincronizadas con dos dosis de acetato de fluorogestona y una dosis de acetato de medroxiprogesterona. *Memorias de la VI Reunión Nacional sobre Caprinocultura.* Colegio de Posgraduados, San Luis Potosí, México. 119-122.

Sánchez, P.V.M. (1995). El efecto de la naloxona sobre la secreción pulsátil de la LH en borregas criollas durante la época de anestro. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Sandoval, M.E. y Lara, R. (1990). Propiedades generales de la transmisión sináptica. En: *Aminoácidos y pépticos en la integración de funciones nerviosas.* Ed. Pasantes, H-Morales y Aréchiga, H. UNAM, México D.F. 19-30.

Sarkar, D.K. Mitsugi, N. y Mitchell, M.D. (1988). The mechanism of action of prolactin on gonadotrophin release. En: *Neuroendocrine control of the hypothalam-pituitary system.* Imuro Hiroo. Japan Scientific Societies. KARGER 115-125.

Scaramuzzi, R.J (1984). Pharmacological agents of manipulating Oestrus and ovulation in the ewe. En: *Reproduction in Sheep.* Ed. Lindsay, D.R. y Pearce, D.T.. Ed. Cambridge University Press. Reino Unido. 316-325.

Scott, C.J., Clarke, I.J. y Tilbrook, A.J. (2003). Neuronal inputs from the hypothalamus and brain medial preoptic area of the ram: neurochemical correlates and comparison to the ewe. *Biol. Reprod.* 68:4, 1119-1133.

Schall, R.E., Ebling, F.J.P., Karsch, F.J. y Foster, D.L. (1991). Postpubertal maturation of endogenous opioid regulation of luteinizing hormone secretion in the female sheep. *Biol. Reprod.* 44:760-768.

Schirar, A., Cognié, Y., Louault, F., Poulin, N., Levasseur, M.C. y Martinet, J. (1989a). Resumption of oestrus behaviour and cyclic ovarian activity in suckling and non suckling ewes. *J. Reprod. Fert.* 87:789-794.

Schirar, A., Meusnier, C., Paly, J., Levasseur, M.C. y Martinet, J. (1989b). Resumption of ovarian activity in post-partum ewes: role of the uterus. *Anim. Reprod. Sci.* 19:79-89.

Schirar, A., Cognié, Y., Louault, F., Poulin, N., Levasseur, M.C. y Martinet, J. (1990). Resumption of gonadotrophin release during the postpartum period in suckling and non-suckling ewes. *J. Reprod. Fert.* 88: 593-604.

Shen, P.J., Smith, A.I., Evans, R.G. y Clarke, I.J. (1995). Effects of ovarian steroids on hypothalamus opioid receptor subtypes in ovariectomized ewes: regional changes in density and affinity. *J. Endocr.* 145: 559-567.

Skinner, D.C. y Herbison, A.E. (1997). Effects of photoperiod on estrogen receptor, tyrosine hydroxylase, neuropeptide Y and β -endorphin immunoreactivity in the ewe hypothalamus. *Endocr.* Vol. 138 No. 6: 2585-2595.

Singh, B., Dixit, V.D., Singh, P. P., Georgie, G.C. y Dixit, V.P. (2000). Effect of naloxone on the plasma levels of LH, FSH, prolactin and testosterone in Beetal bucks. *S. Rumin. Res.* 37:51-55.

Smart, D., Singh, I., Smith, R.F. y Dobson, H. (1994a). Opioids and suckling to inhibition of estradiol induced LH secretion in postpartum ewes. *J. Reprod. Fert.* 101:115-119.

Smart, D., Singh, I., Smith, R.F., Forhead, A.J. y Dobson, H. (1994b). The hypothalamic-pituitary axis in postpartum ewes. *Anim. Repr. Sci.* 35:223-229.

Smart, D., Forhead, A.J., Smith, R.F. y Dobson, H. (1994c). Transport stress delays the estradiol-induced LH surge by a non-opioidergic mechanism in the early postpartum ewe. *J. Endocr.* 142: 447-451.

Snedecor, G.W. y Cochran, W.G. (1971). Métodos estadísticos. Compañía Editorial Continental. México.

Soaje, M., Di Nasso, E.G. y Deis, R.P. (2002). Regulation by opioids of suckling-induced prolactin secretion in pregnant and lactating rats: role of ovarian steroids. *J. Endocr.* 172:2. 255-261.

Soboleva, T.K., Peterson, A.J., Pleasants, A.B., McNatty, K.P. y Rhodes, (2000). A model of follicular development and ovulation in sheep and cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 58: 45-57.

Soto, G.R. y Trejo, G.A. (1990). Efecto de la ergonovina y la oxitocina sobre el transporte espermático y el porcentaje de fertilización de ovocitos de ovejas inseminadas con semen congelado durante un estro sincronizado. *Memorias del 3er Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. México. 159-162.

Stellflug, J.N. (2002). Use of naloxone challenge to predict sexual performance of rams before the fall breeding season. *Theriog.* 58:123-134.

Svingons, A.L., Moriwaki, A., Wang, J.B., Uhl, G.R., Pickel, V.M. (1997). M-opioid receptor are localized to extrasynaptic plasma membranes of GABAergic neurons and their targets in the rat nucleus accumbens *J. Neurosci.* 17(7): 2585-2594.

Tasende, C., Meikle, A., Rodríguez-Piñón, M., Forsberg, M., y Garófalo, E.G. (2002). Estrogen and progesterone receptor content in the pituitary gland uterus of progesterone-

primed and gonadotropin releasing hormone-treated anestrus ewes. *Theriogenology*. 57: 1719-1731.

Taylor, J.W. y Kaiser, E.T. (1986). The structural characterization of β -endorphin and related peptide hormones and neurotransmitters. *Pharm. Rev.* 38(4): 291-319.

Thom, B., Vanny, B.J., Cowley, M., Wright, P.J. y Clarke, I.J. (1996). Changes in the binding characteristics of the μ , δ , and κ subtypes of the opioid receptor in the hypothalamus on the normal cyclic ewe in the ovariectomised ewe following treatment with ovarian steroids. *J. Endocr.* 149: 509-518.

Tortonesi, D.J. (1999). Interaction between hypothalamic dopaminergic and opioidergic system in the photoperiodic regulation of pulsatile luteinizing hormone secretion in sheep. *Endocr. (Philadelphia)*. 140:2, 750-757.

Trejo, G.A. y Pérez, R.Y., (1987). Seasonal reproductive activity of criollo does slaughtered in Mexico. Proc. IV Int. Conf. on Goats. Brasilia, Brasil. 728.

Trejo, G.A., Soto, G.R. y Frey, S.E. (1990). Algunos parámetros productivos y reproductivos en ovinos Pelibuey en un rebaño comercial de Chalma, Estado de México. *Memorias del 3er Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. México. 117-120.

Trejo, G.A., Navarro, M.Ma. C., Soto, G.R. y González, D.F. (1992). Efecto del progestágeno proligestona sobre la fertilidad en ovejas inducidas al estro (trabajo preliminar). *Memorias del 5º Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Nuevo León, México.

Trejo, G.A., (1998). Evaluación reproductiva de caprinos y ovinos. En: *Reproducción Animal Métodos de Estudio en Sistemas*. IICA. RISPAL. Costa Rica.:131-173

Turner, M.L. y Hallford. (1993). Return to estrus and endocrine patterns in early postpartum, spring lambing ewes treated with melatonin. *Theriogenology*. 39:6, 1245-1255.

Uribe, M.J., Oviedo, F.G. y Hernández V.C. (1990). Eficiencia productiva y reproductiva de 10 rebaños ovinos, bajo un sistema de empadre continuo en el municipio de Ajacuba, Estado de Hidalgo, México. *Memorias del 3er Congreso Nacional de Producción Ovina*. Universidad Autónoma de Tlaxcala. México. 125-128.

Urrutia, M.J., Ochoa, C.M.A., Medina, P.A. y Bonilla, P.F. (1994). Efecto de la duración de la lactancia sobre el reinicio de la actividad sexual de borregas Rambouillet y sobre el crecimiento de sus corderos. *Rev. Lat. Peq. Rum.* 1:127-133.

Vaccarino, A.L. y Kastin, A.J. (2000). Endogenous opiates:1999. *Peptides* 21:1975-2034.

Valverde, C. y Bayón, A. (1990). Los neuropéptidos :estructura química y localización de las células que los produce. En: Aminoácidos y pépticos en la integración de funciones nerviosas. Ed. Pasantes, H-Morales y Aréchiga, H. UNAM, México D.F.109-125.

Vandenbergh, J.G. (1994). Pheromones and mammalian reproduction. En: Physiology of reproduction. Ed. Knobil, E. y Neill, J.D. Ed. Raven Press. Estados Unidos. 343-358.

Walsh, J.P. y Clarke, I.J. (1996). Effects of central administration of highly selectiw opioid μ , δ and κ receptor agonist on plasma luteinizing hormone (LH), prolactin and the estrogen induced LH surge in ovariectomized ewes. *Endocr.* 137 (9): 3640-3648.

Wellnitz, O. y Bruckmaier, R.M. (2001). Central and peripheal inhibition of milk ejection. *Livest. Prod.* 70:1/2, 135-140.

Williams, G.L. (1990). Suckling as a regulator of pospartum rebreeding in cattle a review. *J.Anim. Sci.* 68:831-852.

Williams, L.M. y Hlliwell, R.J.A. (1993). Melatonin and seasonality in the sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 33:159-182.

Williams, G.L., Gazal, O.S., Guzmán, G.A. y Stanko, R.L. (1996). Mechanism regulating suckling –mediated anovulation in the cow. *Anim. Reprod. Sci.* 42: 289-297.

Wise, M.E. (1994). Gonadotrophin-releasing hormone secretion during the pospartum anestrous period of the ewe. *Biol. Reprod.* 43:719-725.

Wu, T.J., Morris, D.L., McArthur, N.H. y Harms, P.G. (1991). A priming effect of anloxone on in vitro LHRH release from the hypothalamus of mid-luteal ewes. *Biol. Reprod.* 44: 546-549.

Xion, J.J., Karsch, F.J. y Lehman, M.N. (1997). Evidence for seasonal plasticity in the gonadotropin releasing hormone (GnRH), system of the ewe: changes in synaptic inputs onto GnRH neurons. *Endocr.* 138:3, 12401250.

Yang, Z., Copolov, D.L. y Lim,, A.T. (1996). Ascorbis acid augments the adenylyl cyclse-c-AMP system mediated POMC mRNA expression and β -endorphin secretion from hypothalamic nuerons iin culture. *Brain Res.* 706: 243-248.

Yavas, Y. y Walton, J.S. (2000). Pospartum acyclicity in suckled beef cows: a rewiew. *Theriol.* 54:1, 25-55.

Yin, P. Kawashima, K. y Arita, J. (2002). Direct actino of estradiol on the anterior pituitary gland are requered for hypothalamus-depend lactotrope proliferation and secretion surges of luteinizing hormone but not of prolactin in female rats. *Neuroendocr.* 75:6, 392-401.

Zarco, L., Valencia, M.J. y Ducoing, W.A. (1995). Control artificial de la estacionalidad reproductiva de la cabra en México.. Facultad de medicina Veterinaria y Zootecnia.

Universidad Autónoma de Zacatecas. Asociación Mexicana de Producción Caprina.
Simposium Internacional sobre Brucelosis Caprina. *X Reunión Nacional sobre
Caprinocultura. Memorias Magistrales.* Zacatecas. México.