



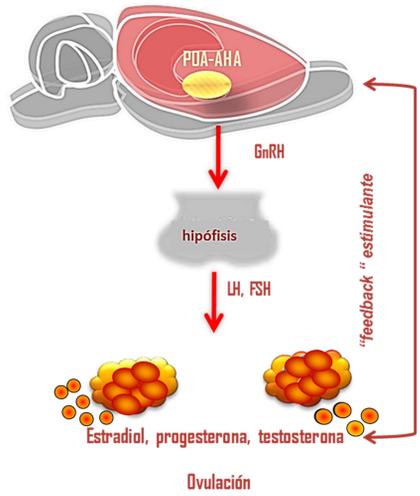
Modelo experimental: rata adulta, cepa CIIZ-V

Orientación Terminal: Biología del Desarrollo

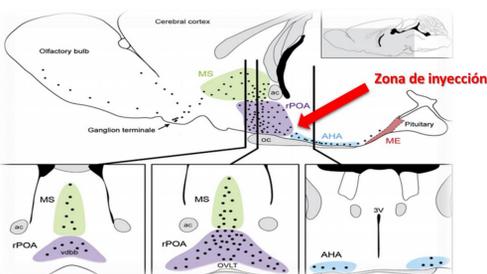
Línea de Investigación: Biología de la Reproducción

Título del proyecto: *Participación de los receptores muscarínicos del área preóptica-hipotalámica anterior (POA-AHA) en la regulación de la ovulación de la rata.*

Introducción

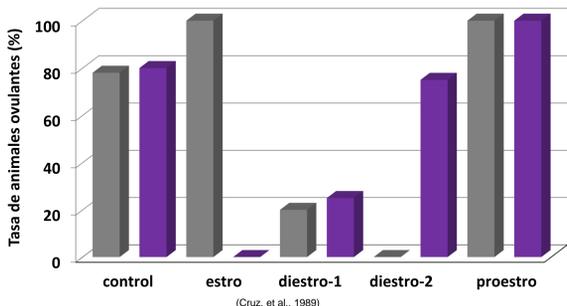


Localización de neuronas GnRHérgicas en el cerebro de la rata.

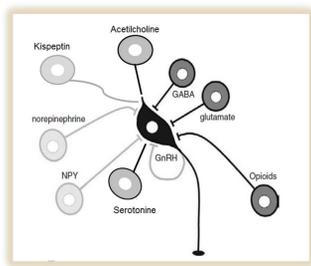


Distribución de las neuronas GnRH (puntos negros) en el cerebro de ratón. Esquemática de un corte sagital y tres cortes coronales a diferentes profundidades en torno a bregma. ME: Eminencia media, rPOA: Área preóptica rostral, AHA: Hipotálamo anterior, MS: septo medial, 3V: tercer ventrículo, OVL: órgano vasculoso de la lámina terminal, OC: quiasma óptico, ac: comisura anterior. (Tomado de Herbison, 2015)

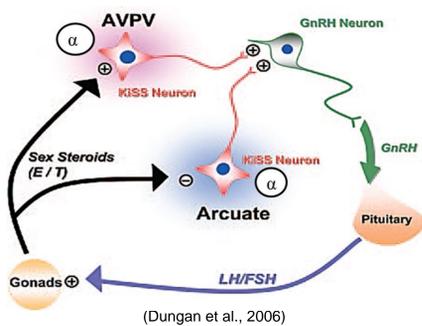
Animales que ovulan después de bloquear los receptores muscarínicos de POA-AHA izquierda o derecha, a las 13:00 h de cada fase del ciclo estral



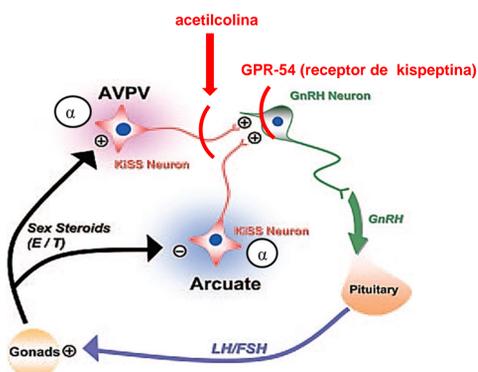
(Cruz, et al., 1989)



Tomada de Herbison, 2015



(Dungan et al., 2006)

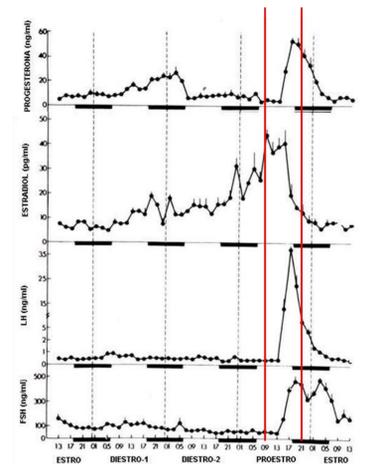


- ¿La ACh unida a los mACHR altera el contenido de kisseptina en el hipotálamo?
- ¿La inyección de kisseptina es capaz de inducir la ovulación en ratas con bloqueo de los mACHR de POA-AHA?
- ¿La ACh unida a los mACHR regula de manera asimétrica la actividad de las neuronas kisseptidérgicas?
- ¿El sistema muscarínico regula la expresión de receptores a estrógenos en neuronas kisseptidérgicas?

Materiales y Métodos

- Evaluar el contenido de la proteína GnRH, kisseptina, RE α y RE β en el hipotálamo antero-medial de ratas con bloqueo de los mACHR de POA-AHA izquierda o derecha, realizado en los días del estró y diestro-2 del ciclo estral de la rata.
- Analizar si el bloqueo unilateral de los mACHR de POA-AHA resulta en un efecto asimétrico en la cantidad de la proteína kisseptina, GnRH, RE α y RE β .
- Estudiar si la falta de ovulación en ratas con bloqueo unilateral de los mACHR de POA-AHA, realizado en estró o diestro-2, depende de kisseptina.

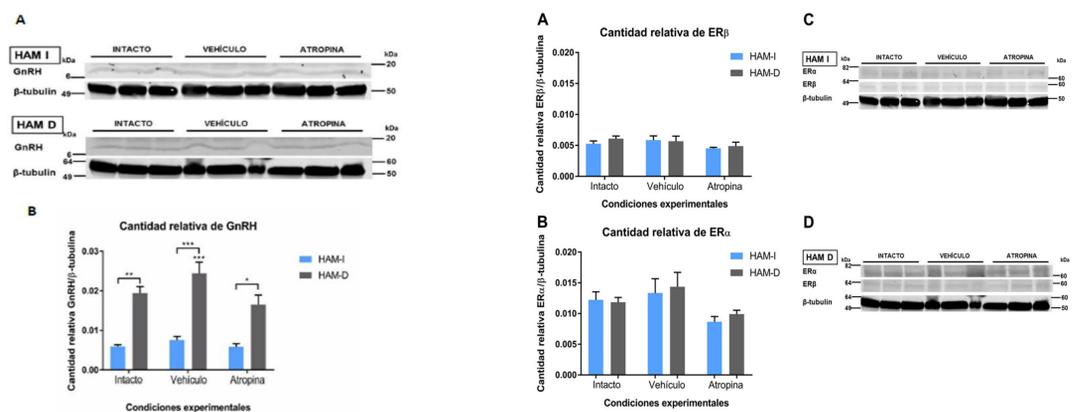
- ratas ♀ adultas (3 meses), cepa CIIZ-V, (luzes de 05:00 a 19:00 horas) y libre acceso al alimento y agua.
- En el día del estró o del diestro-2: 12:15 h: anestesia (ketamina/xilacina)
- 12:30 a 13:30 h, microinyección en POA-AHA > 62.5ng de atropina diluida en 1 μ L de agua estéril, durante 1 min.
- Inyección por vía subcutánea con 6.7 nmol de Kisseptina-54.
- sacrificio: 24, 28 y 44 horas posteriores a la microinyección de atropina.



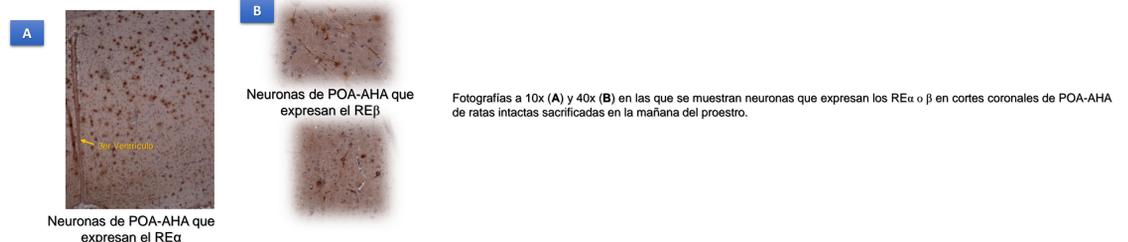
- En POA-AHA izquierda y derecha se cuantificara el contenido de la proteína GnRH (por western-blot).
- En suero se cuantificara el contenido FSH, LH, P $_4$ y E $_2$ (por RIA y ELISA).
- En las trompas uterinas se verificara la presencia o ausencia de ovocitos.

- Examinar el número y la distribución de células que expresan el anticuerpo para la proteína kisseptina en el hipotálamo anterior de ratas con bloqueo de los mACHR de POA-AHA izquierda o derecha, realizado en los días del estró y diestro-2 del ciclo estral de la rata.
- Analizar si el bloqueo unilateral de los mACHR de POA-AHA resulta en un efecto asimétrico en el número y la distribución de células que expresan el anticuerpo para la proteína kisseptina en el hipotálamo anterior.

- En hipotálamo antero-medial izquierdo y derecho de ratas con bloqueo de los receptores muscarínicos, se cuantificara el contenido de la proteína GnRH, kisseptina, RE α y RE β , por la técnica de western-blot.
- En hipotálamo antero-medial izquierdo y derecho de ratas con bloqueo de los receptores muscarínicos, se cuantificara el número de células inmunoreactivas para kisseptina y GnRH por inmuno-histo-química..
- En suero se cuantificara el contenido FSH, LH, P $_4$ y E $_2$ por RIA y ELISA.
- En las trompas uterinas se verificara la presencia o ausencia de ovocitos.



Media \pm e.e.m. del contenido de GnRH en el lado izquierdo o derecho del hipotálamo antero-medial (HAM) a las 11:00 h del proestro, de ratas micro-inyectadas con vehículo o atropina (62.5 ng) en la porción izquierda o derecha de POA-AHA a las 13:00 h del estró. A: Imagen representativa de la electroforesis para la proteína de la GnRH (7.5 kDa) y la proteína constitutiva β -tubulina (54 kDa), para las diferentes condiciones experimentales. B: Representación gráfica de los resultados del western-blot. (Zanabria OD, 2016).



Evaluar los efectos del bloqueo de los mACHR sobre la expresión de los RE α y RE β en neuronas kisseptidérgicas

- En POA-AHA izquierda y derecha se cuantificara el contenido de los receptores kisseptidérgicos (por western-blot).
- En POA-AHA izquierda y derecha se cuantificara la presencia del receptor a kisseptina en neuronas GnRHérgicas (por inmuno-histo-química: IHQ).
- En suero se cuantificara el contenido FSH, LH, P $_4$ y E $_2$ (por RIA).

Responsable del Proyecto: Dra. María Esther Cruz Beltrán
 Académicos Co-responsables: Dra. Isabel Arrieta Cruz y M en IBSH Angélica Flores Ramírez
 Laboratorio de Neuroendocrinología, Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción,
 Laboratorio 6, planta baja de la UMIEZ (Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza, Campo II. FES Zaragoza, UNAM
 Teléfonos: 56-23-07-71 o 56-23-02-22 ext. 30181
 Correos electrónicos: angy1414@yahoo.com.mx, arrieta777@mail.com, mecbloym@yahoo.com.mx, tetecruz@yahoo.com.mx