

Factores reflejos que modifican el efecto de la reserpina sobre la ovulación

S. González-Barón,* J. Jiménez-Vargas y F. Hernández **

Departamento de Investigaciones Fisiológicas
Sección de Fisiología Aplicada
C. S. I. C.
Pamplona (España)

(Recibido el 20 de julio de 1973)

S. GONZALEZ-BARON, J. JIMENEZ-VARGAS and F. HERNANDEZ. *Reflex Factors that Modify the Reserpine Effect on the Ovulation*. Rev. esp. Fisiol., 29, 279-288. 1973.

An experimental study in rats has been realized with the purpose of obtaining data on reflex factors in the ovulation. Several groups of rats have been set in different conditions of copulation in the phases of metaestro, diestro and proestro.

The inhibition of the ovulation, observed in previous experiments by administration of reserpine (2 mg/kg) at the eight hour of the day of diestro, neutralized by the copulation, as it has been shown by the fact that rats treated with reserpine at the same dosis and in the same step of the cycle were fecundated. The ovulation is attributed to genital reflex mechanisms. The inhibition of the ovulation observed in rats treated with 4 mg/kg of reserpine at the eight hour of the day of proestro, was compared to the inhibition of the fecundation found when reserpine was administered in identical conditions. This suggests that a certain level of catecholamines is necessary for the onset of the ovulation.

In rats set in conditions of coupling in the phase of metaestro during 24 and 48 hours, fecundation was not observed neither in the controls nor in the rats subjected to previous vaginal stimulation. In all cases, both with and without copulation, a lengthening of the phase of diestro was found. The ovaries showed a pronounced diffuse luteinization. The same results and morphological changes were attained in rats set in conditions of coupling in the phase of diestro during 16 hours. The histological study showed a great similarity in the morphological changes of the ovarian tissue, observed in the rats treated with reserpine 4 mg/kg at the eight hour of the day of proestro in which the ovulation did not take place. The diffuse luteinization of the ovary found in both cases is interpreted as due to a greater secretion of prolactine, by vaginal or extravaginal reflex mechanisms in some cases, and by reserpine in others.

In a different group of rats set in conditions of copulation in the phase of diestro during 16 hours, to which amphetamine 4 mg/kg was previous by given fecundation was not observed, nor any significant change in the length of the phases of the cycle. The histological study of the ovaries showed the morphology corresponding to the phases in which the rats were killed. From these data, the role of adrenergic mechanisms related to spontaneous ovulation and to reflex ovulations is emphasized.

* Con una beca del M. E. C.

** Departamento de Anatomía Patológica. Universidad de Navarra. Pamplona.

La rotura folicular con liberación de oocitos en muchas especies de mamíferos es un proceso desencadenado por la cópula, lo que se conoce como ovulación refleja. Son casos típicos la coneja y la gata. En otras especies, la ovulación — la llamada ovulación espontánea — depende de mecanismos *feed back* hormonales entre ovario, hipófisis y mecanismos neurosecretorios hipotalámicos que de modo cíclico inducen la rotura folicular y la ovulación. Pero estas dos formas de ovulación no se pueden diferenciar como tipos independientes como lo sugieren observaciones clínicas (10) y algunos hechos experimentales. ARON *et al.* (1-5) ponen de manifiesto que la cópula anticipa la ovulación en ratas tratadas con estradiol en el día de metaestro — primer día de frotis vaginal leucocitario — y puesta con los machos en el día de diestro, durante 24 horas. Este efecto no se produce por la administración previa de atropina, sugiriendo la mediación de mecanismos colinérgicos. Tampoco ha sido observado cuando previamente se seccionan los nervios pélvicos (9). EVERETT *et al.* (12-14) estudian la influencia de la estimulación de estructuras centrales y de la copulación sobre el ciclo ovárico. La copulación neutraliza el efecto inhibitorio de la ovulación producido por barbitúricos. Resultados análogos han sido encontrados en ratas inmaduras tratadas con PMS (27), y cuando el bloqueo de la ovulación era producido por clorpromacina en ratas adultas (19), y en ratas inmaduras tratadas con PMS (28, 29). En el mismo sentido se han de interpretar los resultados de la excitación vaginal artificial en la rata (6). Todos estos trabajos ponen de relieve la importancia de los factores reflejos en animales de ovulación espontánea. Pero los hechos conocidos son todavía insuficientes para profundizar en el problema y por eso eran interesantes nuevas investigaciones.

En este trabajo se exponen las experiencias realizadas para estudiar en la rata, el efecto de la cópula y de la excitación vagi-

nal artificial, en distintos momentos del ciclo, tomando como índice la fecundación. Partiendo de resultados obtenidos en trabajos anteriores en este laboratorio (8, 16-18, 20, 21) se estudia también la fecundación en ratas tratadas con una sola dosis de anfetamina en una serie de experiencias, y administrando una sola dosis de reserpina en distintos momentos del ciclo, en otras experiencias.

Material y métodos

Las experiencias se han realizado en 138 ratas hembras Wistar de 180 a 220 g, que se mantienen a temperatura muy uniforme entre 20 y 25° C y en condiciones de iluminación artificial controlada con 14 horas de luz y 10 de oscuridad (12), correspondiendo la hora cero a la una de la madrugada. Comida y agua *ad libitum*.

Se realiza control del ciclo mediante frotis vaginales diarios a la misma hora (7). Todas las ratas han estado por lo menos dos meses en condiciones de iluminación controlada, y sólo se han utilizado aquellas de ciclo ovárico regular, comprobado por el frotis vaginal por lo menos desde 15 días antes de la experiencia.

Las ratas hembras se ponen con los machos en jaulas individuales, en días concretos del ciclo, y durante un número de horas variable, según las experiencias. Los machos, entre 250 a 320 g de peso, se han utilizado después de comprobada su capacidad de fecundación.

Los ensayos se han realizado en distintas condiciones de fecundación. En cada fase estudiada, un grupo ha servido como control y en otro los animales se someten a estimulación vaginal mediante dispositivo mecánico automático, protegiendo el extremo de la varilla de madera de algodón y gasa humedecida en suero fisiológico. Las ratas recibían sesiones de estímulos de cinco minutos, a frecuencia de 1 por segundo, seguido de un intervalo de 5 a 6 minutos, y se reanudaba la estimulación en las mismas condiciones du-

rante otros 4 ó 6 minutos. A continuación se llevaban a la jaula con el macho, permaneciendo 16, 24 ó 48 horas en condiciones de fecundación, según las experiencias. Los frotis vaginales se han realizado durante todos los días de la experiencia. Especial interés presentaba el frotis vaginal siguiente a las horas de puesta en fecundación, en el que la presencia de espermatozoides es la comprobación de que se ha producido la cópula.

En grupos de experiencias se administra una sola dosis de anfetamina (4 mg/kg) o reserpina (2 ó 4 mg/kg) por vía intraperitoneal. Estas ratas no se someten a estimulación vaginal, se ponen con los machos inmediatamente después del tratamiento, y se sacrifican en su mayoría entre 8 y 10 días después de apartadas de las condiciones de fecundación. Se diseccionan los cuernos uterinos y se cuenta el número de embriones. En todas las experiencias varias ratas se han sacrificado a los cuatro días de abandonar las condiciones de fecundación, para contar el número de embriones en el útero, y realizar estudio histológico de trompas y ovarios.

Las experiencias se han hecho estudiando tres fases del ciclo. En la fase de metaestro, cuatro grupos. Dos en condiciones de fecundación durante 24 horas; uno control y otro con estimulación vaginal previa.

Otros dos grupos en idénticas condiciones, pero 48 horas para fecundación.

En la fase de diestro, cuatro grupos. Tres durante 16 horas en condiciones de fecundación: uno de control, otro con estimulación vaginal previa, un tercero con 4 mg/kg de anfetamina y un cuarto grupo con 2 mg/kg de reserpina en la hora 8 del día de diestro y 48 horas en condiciones de fecundación.

En la fase de proestro, cinco grupos. Dos en condiciones de fecundación durante 16 horas: uno de control y otro con estimulación vaginal previa. Tres en condiciones de fecundación durante 24 horas: uno control, otro con reserpina, 2 mg/kg, en la hora 16, previa a la puesta a fecundación, y un tercero con 4 mg/kg de reserpina en la hora 8 del proestro.

Resultados

En las tablas I, II y III se exponen los resultados en las diversas condiciones de copulación.

En metaestro. — En las ratas de los dos grupos puestos 24 horas no tuvo lugar la copulación. Se observa en el ciclo vaginal un predominio de la fase de diestro. No se aprecian diferencias entre el grupo control y en el que fueron sometidos a estimulación vaginal artificial.

Tabla I. *Ratas puestas en condiciones de copulación en la hora 8 de la fase de metaestro. Número de ratas por grupo, 11.*

Condiciones experimentales	Horas en condiciones de copulación	N.º de ratas que copulan	N.º de ratas preñadas	Ciclo de ratas que copulan	Ciclo de ratas que no copulan
Control	24	—	—	—	Predominio Diestro
Estimulación vaginal	24	—	—	—	Predominio Diestro
Control	48	1	—	Diestro 4 días consecutivos	Diestro 3 a 5 días consecutivos
Estimulación vaginal	48	1	—	Diestro 5 días consecutivos	Diestro 4 a 6 días consecutivos

Tabla II. *Ratas puestas en condiciones de copulación en la fase de diestro.*
Número de ratas por grupo, 10.

Condiciones experimentales	Horas en condiciones de copulación	N.º de ratas que copulan	N.º de ratas preñadas	N.º embriones por rata	Ciclo de ratas que copulan	Ciclo de ratas que no copulan
Control	16 horas desde la hora 16 de diestro	3	—	—	Diestro de 3 a 5 días consecutivos	Predominio Diestro
Estimulación vaginal	íd.	2	—	—	Diestro de 3 a 5 días consecutivos	Predominio Diestro
Anfetamina: 4 mg/kg (hora 8)	íd.	4	—	—	Normal	Normal
Reserpina: 2 mg/kg (hora 8)	48 horas desde la hora 8 de diestro	10	10	9 ± 1,15	Diestro	—

Tabla III. *Ratas puestas en condiciones de copulación en la fase de proestro.*

Condiciones experimentales	N.º de ratas	Horas en condiciones de copulación	N.º de ratas que copulan	N.º de ratas preñadas	N.º de embriones por rata	Ciclo de ratas que copulan	Ciclo de ratas que no copulan
Control	12	16 horas desde la hora 16 del proestro	10	8	11,37 ± 1,82	Diestro de 3 a 5 días consecutivos	Normal
Estimulación vaginal	12	íd.	10	8	9,75 ± 0,94	íd.	Normal
Control	10	24 horas desde la hora 8 del proestro	9	8	10 ± 1,19	Diestro	Normal
Reserpina: 4 mg/kg (hora 8)	10	íd.	10	4	9 ± 0,90	Diestro de 5 a 6 días consecutivos	—
Reserpina: 2 mg/kg (hora 16)	10	24 horas desde la hora 16 del proestro	9	8	9 ± 1,20	Predominio Diestro	Normal

En los dos grupos puestos 48 horas en condiciones de copulación, a partir de la hora 8 del metaestro, tampoco se observa diferencia entre grupo control y los sometidos a estimulación vaginal artificial. En ambos se produce copulación en una de las 11 ratas, pero no tiene lugar fecunda-

ción. En las dos ratas que copulan y en alta proporción de las que no copulan, se observan diestros consecutivos de 3 a 5 días de duración. Los ovarios de las ratas que copulan presentan luteinización difusa de aspecto morfológico muy semejante al que presentan los de las ratas tra-

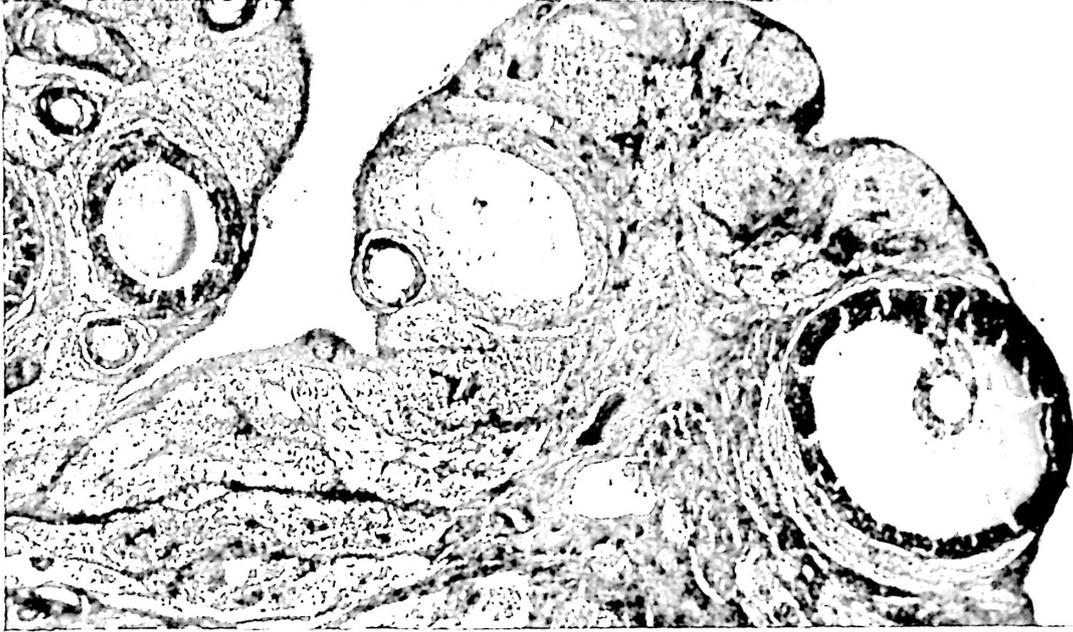


Fig. 1. Ovario de rata tratada con 4 mg/kg de reserpina en la hora 8 del día de proestro. Se observan folículos sin romper y amplias zonas luteinizadas ($\times 25$).

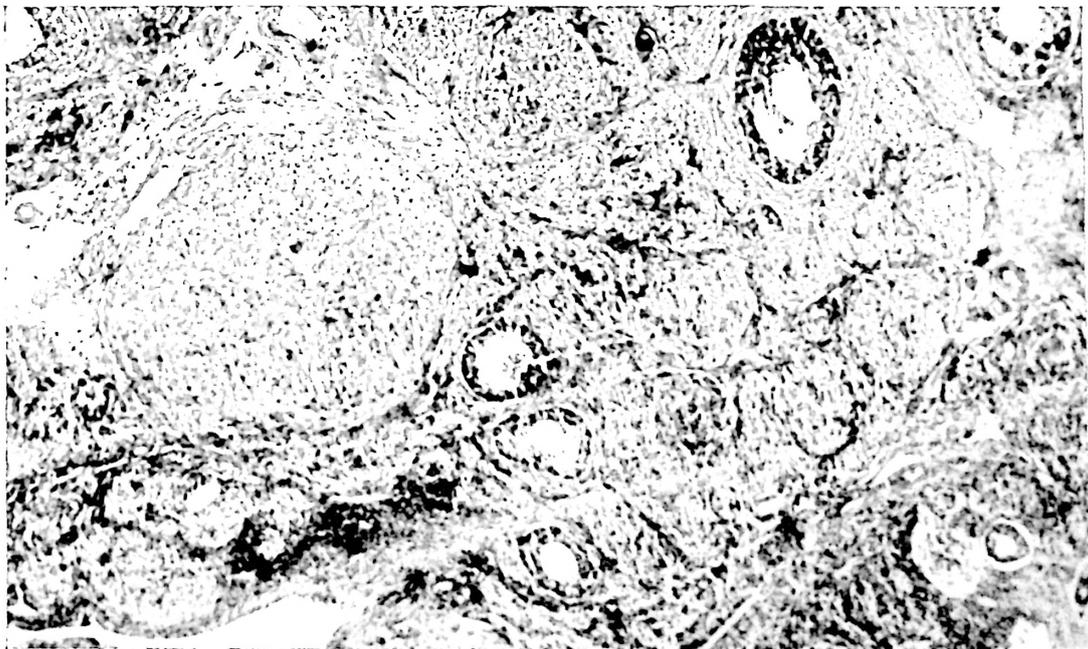


Fig. 2. Una zona del ovario de la misma rata de la figura anterior, vista a mayor aumento ($\times 100$).

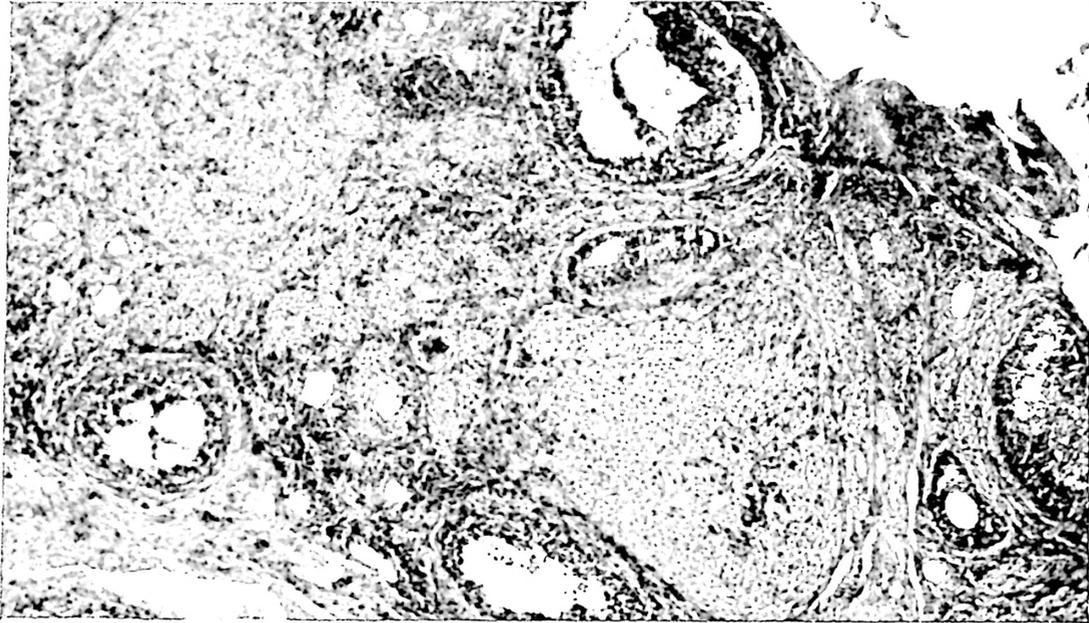


Fig. 3. Ovario de rata puesta en condiciones de fecundación en la fase de metaestro y sacrificada a los cuatro días, durante los cuales la fase del ciclo fue de diestro. Hubo copulación pero no fecundación. En la microfotografía destaca una luteinización difusa muy semejante a la de la figura 2 ($\times 100$).



Fig. 4. Cuerpo lúteo incipiente de una rata sacrificada en la fase de estro ($\times 100$).

Tabla IV. Estudio comparativo de la ovulación y la fecundación en ratas tratadas con una sola dosis de reserpina.

Entre paréntesis, número de ratas por grupo.

Reserpina mg/kg	Fase administración y hora	OVULACION			FECUNDACION		
		Sacrificadas	N.º de ratas que ovulan	N.º de óvulos por rata	Duración en horas	N.º de ratas preñadas	N.º embriones por rata
2	Diestro (hora 8)	A las 56 horas	6 (11)	8,56 ± 1,04	48	10 (10)	9 ± 1,15
4	Proestro (hora 8)	A las 32 horas	4 (11)	10 ± 2,11	24	4 (10)	9 ± 0,90
2	Proestro (hora 16)	A las 24 horas	9 (11)	10,7 ± 1,32	24	8 (10)	9 ± 1,20

tadas con 4 mg/kg de reserpina en la hora 8 del proestro, distinto del cuerpo lúteo de rata gestante y del cuerpo lúteo incipiente que se aprecia en la fase de estro (figuras 1, 2, 3, 4).

En diestro. — En los tres grupos de experiencias con las ratas en condiciones de cópula 16 horas a partir de la hora 16 del día de diestro, copulan pocas ratas y no se observa fecundación en ningún caso. Como se señala en la tabla II, se observa también alargamiento de la fase de diestro en una proporción alta de animales, a excepción del grupo tratado con anfetamina (4 mg/kg), en el que se aprecia regularidad en las fases de los ciclos siguientes a la puesta en condiciones de cópula. El estudio histológico de ovarios y trompas de ratas tratadas con anfetamina pone de manifiesto morfología normal correspondiente a la fase en que se sacrificaron.

En la hora 8 del día de diestro, se pone en condiciones de fecundación durante 48 horas un grupo de 10 ratas, previamente tratadas con reserpina (2 mg/kg). Se observa copulación y fecundación en todas las ratas.

En proestro. — En dos grupos — uno control y otro con estimulación vaginal previa — puesto en condiciones de cópula durante 16 horas a partir de la hora 16 del día de proestro, se produce, en cada

grupo, copulación en 10 de las 12 ratas, y quedan preñadas 8 en cada grupo. En las cuatro que no quedan preñadas y copulan se observa fase de diestro de 3 a 5 días consecutivos. Las que no copulan presentan ciclo regular.

En las experiencias en las que las ratas se ponen durante 24 horas en condiciones de cópula — en la fase de proestro — se observa lo siguiente:

En el grupo control y en el que la reserpina fue administrada en la hora 16, se observa que copulan 9 de 10 ratas en cada grupo y quedan fecundadas 8 por grupo.

En el que la reserpina se administra en la hora 8 del día de proestro, copulan todas y quedan fecundadas sólo 4. Las que copularon y no quedan gestantes, presentan diestro permanente de 5 a 6 días.

Efectos comparativos de la reserpina sobre la ovulación y fecundación. — Los efectos de la reserpina sobre la ovulación obtenidos en experiencias precedentes en este laboratorio (18), se han comparado con los observados en el presente trabajo sobre la fecundación (tabla IV). En ambas experiencias, la reserpina se administra a la misma dosis y en el mismo momento del ciclo.

La administración de 2 mg/kg de reserpina en la hora 8 del diestro produce inhibición significativa de la ovulación (0,05 >

$> P > 0,01$), mientras se observa fecundación en la totalidad de las ratas tratadas en las mismas condiciones.

En la hora 8 del día de proestro, la administración de 4 mg/kg de reserpina produce efectos inhibidores más marcados sobre la ovulación ($0,01 > P > 0,001$), y sobre la fecundación. La administración de reserpina (2 mg/kg) en la hora 16 del día de proestro no tiene efectos inhibidores valorables sobre la ovulación ni sobre la fecundación.

Discusión

El estudio comparativo del efecto de la reserpina sobre la ovulación de experiencias anteriores (18, 21) y sobre la fecundación, pone de manifiesto que el efecto inhibitor que tiene sobre la ovulación ($0,05 > P > 0,01$) cuando se administra en la hora 8 del día de diestro (2 mg/mg), desaparece cuando las ratas se ponen en condiciones de fecundación. Estos resultados son comparables a los obtenidos por otros autores con barbitúricos y clorpromazina (14, 19, 27-29) y sugieren que el bloqueo por reserpina administrada en un momento del ciclo alejado del instante de la rotura folicular, queda neutralizado por mecanismos reflejos de la cópula. Se produce rotura folicular y fecundación en todas las ratas. De acuerdo con otros autores (25, 26) se interpreta que la cópula aumenta, en esas condiciones, la liberación de LH y la ovulación.

La administración de dosis más altas de reserpina (4 mg/kg) en la hora 8 del día de proestro, lleva consigo inhibición de la ovulación no neutralizada por la cópula. Esto pone de manifiesto que los posibles mecanismos reflejos, que en otras experiencias se interpretan como responsables de la ovulación, no se producen en las ratas en las que se han disminuido de forma importante los niveles de catecolaminas. La luteinización difusa del tejido ovárico en las ratas tratadas con dosis de 4 mg/kg sugiere que el efecto de la reser-

pina se ejercería más bien a nivel del hipotálamo, aunque sin descartar la influencia de mecanismos adrenérgicos a nivel del ovario.

La reserpina administrada en la tarde del día de proestro no ejerce efecto inhibitor sobre la ovulación, ni sobre la fecundación. Su acción se ejerce en estos casos, probablemente, después de haber tenido lugar la rotura folicular.

En ninguno de los animales puestos en condiciones de copulación en la fase de metaestro se produjo fecundación. En los dos que tuvo lugar copulación se observan ciclos con diestro consecutivo durante 4 ó 5 días. En estos casos los ovarios presentan una luteinización difusa que guarda gran semejanza con la comprobada en animales tratados con 4 mg/kg de reserpina en la mañana de proestro. En esas condiciones, la estimulación por la cópula produce un cambio en la secreción de hormonas hipofisarias.

Ciclos de diestro mantenidos se han puesto de manifiesto por lesiones de estructuras diencefálicas y mesencefálicas (15). Estudiando el efecto de la cópula sobre la ovulación en momentos del ciclo más próximos a la rotura folicular, EVERETT (14) observa ciclos semejantes con atresia de folículos de Graff — pseudoembarazo — por formación de nuevo cuerpo lúteo. ARON *et al.* (3) señalan cambios en los frotis vaginales y en los ovarios de ratas tratadas con estradiol y puestas a copular, semejantes a los encontrados en el pseudoembarazo por estimulación eléctrica del cervix. Teniendo en cuenta estos resultados, y el hecho de que el mantenimiento del cuerpo lúteo en la rata, a diferencia de otros mamíferos, es más dependiente de la liberación de prolactina que de LH, los cambios en el ciclo y en la morfología del ovario producidos por la copulación parecen, en estas condiciones, más bien debidos a una mayor secreción de prolactina que de LH.

Los animales puestos en condiciones de copulación en la fase de diestro presentan

variaciones en el ciclo en el mismo sentido que se observa en los grupos puestos en la fase de metaestro. En los que tiene lugar copulación, el diestro se mantiene varios días consecutivos. En los que no se produce copulación, en los ciclos siguientes hay sólo mayor frecuencia en la aparición de diestro; parece que por estímulos extravaginales tiene lugar también una modificación en el ciclo, aunque menos manifiesta.

El número de ratas que copulan bajo tratamiento con anfetamina no difiere significativamente en relación a los otros dos grupos puestos en condiciones de copulación en la misma fase. Presentan gran regularidad en las fases del ciclo. Aunque no hay datos suficientes para una explicación satisfactoria, podría interpretarse que la anfetamina impide el aumento en la liberación de prolactina, ocurrida en esas circunstancias por la cópula, facilitando la secreción del factor inhibidor de prolactina, dependiente del nivel de catecolaminas del hipotálamo. De este modo neutralizaría el efecto de la estimulación vaginal que tiende a la sustitución del ciclo, por la existencia de diestros consecutivos.

En relación con los factores determinantes de la conducta reproductora en ratas hembras, parece destacar el efecto directo sobre el hipotálamo y otras estructuras centrales de las hormonas ováricas, especialmente los estrógenos (11). Por otra parte, ha sido observada una relación antagónica entre nivel de monoaminas centrales y conducta reproductora (24). Las experiencias realizadas administrando reserpina han indicado efectos inhibidores sobre la ovulación, sin inhibición en la conducta reproductora. El bloqueo de la ovulación pone de manifiesto la existencia de mecanismos adrenérgicos en la rotura folicular, en el mismo sentido que lo observado por otros autores (22, 23) sobre la regulación hipofisaria de gonadotrofinas. Los resultados de este trabajo indican también que la ovulación refleja tiene lugar bajo determinadas condiciones en la rata,

siendo necesario para ello cierto nivel de aminas biógenas del hipotálamo.

Resumen

Se realiza un estudio experimental en ratas con el objeto de aportar datos sobre factores reflejos en la ovulación. Los diversos grupos de ratas se ponen en diferentes condiciones de copulación en las fases de metaestro, diestro y proestro.

La inhibición de la ovulación observada en experiencias previas por la administración de reserpina (2 mg/kg) en la hora 8 del día de diestro, queda neutralizada por la copulación, como se pone de manifiesto en que todas las ratas tratadas con reserpina a la misma dosis y momento del ciclo quedan fecundadas. La ovulación se atribuye a mecanismos reflejos genitales.

La inhibición de la ovulación observada en ratas tratadas con 4 mg/kg de reserpina en la hora 8 del día de proestro, es comparable a la inhibición observada sobre la fecundación administrando la reserpina en idénticas condiciones. Esto sugiere que es necesario cierto nivel de catecolaminas para que se produzca la ovulación.

En ratas puestas en condiciones de cópula en la fase de metaestro durante 24 y 48 horas, no se observa fecundación ni en las ratas de grupos control ni en las sometidas a estimulación vaginal previa. En todos los casos, tanto si hubo copulación como si no, se encuentra alargamiento en la duración de la fase de diestro. Los ovarios muestran luteinización difusa marcada. Iguales resultados y cambios morfológicos se observan en ratas en condiciones de cópula en la fase de diestro durante 16 horas. El estudio histológico señala una gran semejanza con los cambios morfológicos del tejido ovárico, observado en las ratas tratadas con reserpina, 4 mg/kg, en la hora 8 del día de proestro en las que no se produjo ovulación. La luteinización difusa del ovario encontrada en ambos casos se interpreta debida a una mayor secreción de prolactina, por mecanismos reflejos vaginales o extravaginales en unos casos, y por reserpina en otros.

En las ratas de otro grupo puestas en condiciones de cópula en la fase de diestro durante 16 horas, a las que se administró previamente anfetamina, 4 mg/kg, no se produjo fecunda-

ción ni cambio apreciable en la duración de las fases del ciclo. El estudio histológico de los ovarios mostró la morfología correspondiente a las fases en que se sacrificaron.

Del conjunto de datos se destaca el papel de mecanismos adrenérgicos en relación con la ovulación espontánea, y con posibles ovulaciones reflejas.

Bibliografía

1. ARON, C., ASCH, G. y ASCH, L.: *Compt. Rend. Acad. Sci.*, 253, 1864, 1961.
2. ARON, C. y ASCH, G.: *Compt. Rend.*, 255, 3056, 1962.
3. ARON, C., ASCH, G. y ROOS, J.: *Int. Rev. Cytol.*, 20, 139, 1966.
4. ARON, C., ROOS, J. y ASCH, G.: *Neuroendocrinology*, 3, 47, 1968.
5. ASCH, G. y ARON, C.: *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 158, 1560, 1964.
6. BALL, J.: *Am. J. Physiol.*, 107, 698, 1934.
7. BERTALANFFY, F. D. y LAUX, CH.: *Acta Anat.*, 54, 39, 1963.
8. CARRASCOSA, M.^a A., CROFTON, J. y TEJERA, V.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, 14, 7, 1970.
9. CARLSSON, R. R. y DEFEO, V. J.: *Endocrinology*, 77, 104, 1965.
10. CLARK, J. H. y ZARROW, M. X.: *Amer. J. Gynecol.*, 109, 1083, 1971.
11. DAVIDSON, J. M.: *Endocrinology*, 84, 1365, 1969.
12. EVERETT, J. W.: *Anat. Rec.*, 112, 327, 1952.
13. EVERETT, J. W. y QUINN, D. L.: *Endocrinology*, 78, 141, 1966.
14. EVERETT, J. W.: *Endocrinology*, 80, 145, 1967.
15. FLÉRKO, B. y BARDOS, V.: *Exp. Brain Res.*, 1, 299, 1966.
16. GONZÁLEZ BARÓN, S., JIMÉNEZ VARGAS, J. y LÓPEZ GARCÍA, G.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, 15, 251, 1971.
17. GONZÁLEZ BARÓN, S., JIMÉNEZ VARGAS, J. y LÓPEZ GARCÍA, G.: *Actas XIV Reunión Nal. Soc. Esp. Estudio Esterilidad y Fertilidad*. Santa Cruz de Tenerife, 1973 (en prensa).
18. GONZÁLEZ BARÓN, S., JIMÉNEZ VARGAS, J. y HERNÁNDEZ, F.: *Rev. esp. Fisiol.*, 29, 2, 1973.
19. HARRINGTON, F. E., EGGERT, R. G., WILBUR, R. D. y LINKERHEIMER, W. H.: *Endocrinology*, 79, 1130, 1966.
20. JIMÉNEZ VARGAS, J., TEJERA, V. y GONZÁLEZ BARÓN, S.: *Rev. Med. Univ. Navarra*, 14, 123, 1970.
21. JIMÉNEZ VARGAS, J., GONZÁLEZ BARÓN, S. y HERNÁNDEZ, F.: *Actas XIV Reunión Nal. Soc. Esp. Estudio Esterilidad y Fertilidad*. Sta. Cruz de Tenerife, 1973 (en prensa).
22. KORDON, C.: *Neuroendocrinology*, 6, 202, 1971.
23. KORDON, C. y GLOWINSKI, J.: *Neuropharmacology*, 11, 153, 1972.
24. MEYERSON, B. J.: *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.*, 46, 394, 1968.
25. RODGES, C. B.: *Endocrinology*, 88, 433, 1971.
26. TELEISNIK, S., CALIGARIS, L. y ASTRADA, J. J.: *Endocrinology*, 79, 49, 1966.
27. YING, S. M. S. y MEYER, R. K.: *Fertil. Steril.*, 20, 772, 1969.
28. ZARROW, M. X. y CLARK, J. H.: *J. Endocr.*, 40, 343, 1968.
29. ZARROW, M. X., CAMPBELL, P. S. y CLARK, J. H.: *Science*, 159, 329, 1968.