

FUNCION REGULADORA DEL SISTEMA ENZIMATICO HIPOTALAMICO-HIPOFISARIO QUE DEGRADA LH-RH, EN EL CONTROL DE RETROALIMENTACION DE LA SECRECION DE GONADOTROFINAS

Dr. Patricio López J.(*)

Introducción

La influencia del cerebro en la función sexual humana es conocida desde mucho tiempo atrás. Que la pseudociésis y las anormalidades menstruales son comunes en mujeres con disturbios psicológicos y que las drogas neurolépticas interfieren con la ovulación, fueron observaciones que enfatizaron el papel de factores neuronales en la regulación de la función reproductiva, y la influencia de sensaciones y factores del medio ambiente tales como la nutrición, luz, temperatura(1).

El papel del Sistema Nervioso Central (SNC) incluye la integración del comportamiento reproductivo, la producción de ciclos reproductivos, el tiempo de apareamiento de la pubertad, la iniciación y mantenimiento de la lactación(2).

El descubrimiento del fenómeno llamado neurosecreción(3), el establecimiento del sistema sanguíneo portal hipofisario(4) la demostración de que una pequeña región del hipotálamo medial, llamada área hipofisiotrófica, es esencial en el mantenimiento de la función hipofisaria(5), y el aislamiento, caracterización y síntesis (1,6) del péptido hipotalámico llamado hormona liberadora de hormona luteinizante (LH-RH), son eventos fundamentales en nuestro actual conocimiento de las bases neurohormonales de la regulación de la liberación de las hormonas gonadotróficas.

(*) Departamento de Ciencias Fisiológicas. Universidad Central del Ecuador.
Departamento de Postgrado. Facultad de Medicina de Ribeirão Preto. Universidad de São Paulo. Brasil.



RETROALIMENTACION LARGA, CORTA Y ULTRACORTA

Las funciones secretoras gonadotróficas de la hipófisis anterior son moduladas por señales hormonales originadas en las gonadas (retroalimentación larga) y en la propia hipófisis (retroalimentación corta). Además de esto, se tiene evidencias que sugieren que las síntesis y liberación de LH-RH puede ser autorregulado por los almacenamientos intrahipotalámicos de esta hormona (retroalimentación ultracorta) (7).

Retroalimentación Larga: Hormonas del Ovario

Estrógenos

La acción de retroalimentación de los estrógenos tiene que ser visto dentro de una acción global que envuelve el desarrollo de un efecto positivo (estimulador) y un efecto negativo (inhibitorio).

Un aumento en la secreción de hormona luteinizante (LH) es observado luego de la administración de estrógenos en ratas hembras(8) y en mujeres normales(9) bajo ciertas condiciones de dosis y tiempo de administración, posiblemente por aumentar la sensibilidad de la hipófisis a LH-RH (10).

Este efecto de "feedback" positivo de estrógenos en la secreción de LH puede ser de importancia fisiológica en la inducción de la pubertad en el sexo femenino, y en el apareamiento del pico pre-ovulatorio de LH (11). En estas condiciones de aumento fisiológicos de estrógenos plasmáticos, habría también un aumento de la sensibilidad de la hipófisis a LH-RH (12).

Por otro lado, se sabe que los niveles de gonadotrofinas aumentan en el plasma, orina e hipófisis luego de la ovariectomía, tanto en animales como en mujeres, y que la administración de dosis constante de estrógenos suprime la secreción de LH y hormona foliculo estimulante (FSH).



Este efecto de "feedbak" negativo de estrógenos se ejercería en el animal tanto en el SNC (hipotálamo) cuanto a nivel de la hipófisis anterior (13).

El mecanismo responsable para estos cambios no está completamente esclarecido. Se cree que los estrógenos podrían actuar tanto a nivel hipotalámico, regulando las síntesis y secreción de LH-RH (14), cuanto a nivel de la hipófisis modificando su suceptibilidad a LH-RH (15).

Estos cambios en la sensibilidad hipofisaria a LH-RH puede ser explicada por cambios en el número de receptores a LH-RH en la superficie de los gonadotrofos (16) visto que LH-RH como otras hormonas polipéptideas, actúan por ligación inicial a receptores específicos en la superficie de los tejidos blanco.

Se ha sugerido que los esteroides gonadales, que influyen en la respuesta hipofisaria a LH-RH, pueden ejercer su acción por alterar el número de receptores para LH-RH en la superficie del gonadotrofo (16). Sin embargo, en un reciente estudio, Frager e cols. (17) demostraron que el aumento del número de receptores a LH-RH después de castración y tratamiento con análogos superagonistas de LH-RH son autorregulados por la propia cantidad de LH-RH, y que los efectos de los esteroides gonadales en el número de receptores a LH-RH pueden ser mediados por cambios en la secreción de LH-RH.

Estos datos, asociados al hecho de que las concentraciones de LH-RH en el hipotálamo aumenta después de la ovariectomía (18) y que los estrógenos inducen una disminución en esta concentración (19), son argumentos a favor de un efecto central de los estrógenos en los mecanismos de "feedback" negativo.

Sin embargo, en el presente momento, efectos directos de los estrógenos en la hipófisis no pueden ser excluidos.

Discutiremos a continuación el papel de las peptidasas hipotalámicas e hipofisarias que degradan LH-RH, deteniéndonos, por ser motivo de nuestra actual línea de investigación.



La inactivación y eliminación de sustancias hormonales activas son importantes prerequisites para el mantenimiento de la sensibilidad de los sistemas hormonales. A partir del inicio de la década pasada, algunos grupos de investigadores demostraron la presencia de enzimas que degradan LH-RH a nivel hipotalámico e hipofisario (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27) utilizando diferentes métodos biológicos, químicos y radio inmunológicos.

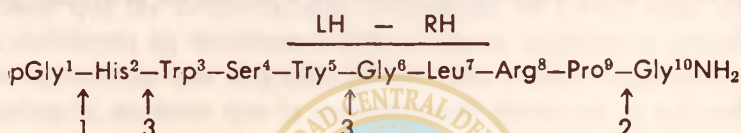
Las enzimas que inactivan LH-RH, son relativamente no específicas y son capaces de degradar otros peptidos con actividad biológica tales como la bradicinina (28, 29), angiotensina I y II (29, 30), hormona liberadora de tireotrofina (TRH) (31).

Producto de los diferentes métodos y de las diferentes nomenclaturas empleados por los diferentes grupos de investigación, parecería que son numerosas las enzimas de hidrolizan LH-RH; sin embargo, los recientes trabajos de Bauer e cols. (32, 33) y Carvalho y Camargo (34) muestran que serán tres las enzimas que degradan LH-RH:

1. Aminopeptidasa piroglutamato (EC 3. 4. 11. 8) que hidroliza la ligación piroglutamil-histidina (27);
2. Una enzima que hidroliza la ligación $\text{Pro}^0\text{-Gly}^{10}\text{-NH}_2$ que fue prime:amente descrita por Oliveira y cols. (29), llamada posteriormente por Camargo y cols. (35) endo-oligopeptidasa B de cerebro, y que comparte las mismas características (peso molecular, pH óptimo, punto isoeléctrico y selectividad para hidrolizar ligaciones peptídicas que envuelven el grupo carboxil de la prolina) con las enzimas descritas por Orlowski y col. (36), Knisatscheck y Bauer (37), Rupnow y col. (38) y Hersh y Mckelvy (31) y denominadas como prolil endopeptidasa o enzima hidrolizadora de postprolina;
3. Una endopeptidasa neutra descrita por Horsthemke y Bauer (33) y que hidroliza LH-RH en las ligaciones $\text{Ty}^5\text{-Gly}^6$ e $\text{His}^2\text{-Trp}^3$, que tiene propiedades similares a la endooligo peptidasa A de cerebro, con excepción del peso



molecular, y que fue primeramente descrito por Camargo y cols. (28). Kuhl y Taubert (29, 39) han presentado evidencias que LH-RH es degradada por una L-cystine arylamidasa, mas los productos de su hidrólisis no han sido identificados.



1. Aminopeptidasa piroglutamato
2. Endo-oligopeptidasa B
3. Endo-oligopeptidasa A

El papel de estas peptidasas en el control de la secreción de gonadotrofinas fue propuesto por Griffiths y cols. (23, 40, 41), Koch y cols. (22, 42) y y Kulh y cols. (43, 44, 45, 46), a partir de las observaciones que este sistema enzimático en el hipotálamo puede ser activado por la inyección de esteroides sexuales, LH y prostaglandinas, en tanto que la castración disminuye la actividad peptidásica.

Kulh y cols. (46) mostraron que la actividad de la L-cystina arylamidasa en la hipófisis de la rata puede también ser estimulada por la inyección de esteroides gonadales y LH, destacando que la activación de la enzima por LH ocurre solamente en la hipófisis anterior y no en la neurohipófisis.

El aumento de la actividad de las enzimas que degradan LH-RH en la hipófisis, en respuesta al tratamiento con esteroides gonadales, puede tener un papel en la regulación de la efectividad de LH-RH y puede explicar, al menos en parte, los propuestos efectos directos de los esteroides sexuales en la glándula hipófisis (47, 48, 49).

En estos estudios, el pre-tratamiento de animales con esteroides sexuales suprime la liberación de LH y FSH inducido por bajas dosis de LH-RH, en tanto



que altas dosis de LH-RH causan una respuesta normal. Estos efectos son dependientes de la dosis de los esteroides gonadales y del intervalo de tiempo dejado transcurrir después de su administración. Lo que sugiere que los efectos inhibitorios pueden ser mediados por aumento en la actividad de las enzimas que degradan LH-RH en la hipófisis, en respuesta a niveles de esteroides gonadales variables.

Progesterona

La Progesterona tiene un efecto sinérgico con los estrógenos en la regulación de retroalimentación negativa de las gonadotrofinas (50), hecho que justifica su utilización en los contraceptivos orales (51). La Progesterona también disminuye la liberación de gonadotrofinas e inhibe la ovulación después de la implantación local dentro del hipotálamo, hipófisis (52) y amígdala (53), en tanto, el más importante sitio de acción para el efecto inhibitorio de la Progesterona parece ser la hipófisis anterior (7). La Progesterona inhibe notablemente el efecto liberador de LH y FSH del LH-RH infundido dentro de la hipófisis (59).

Es interesante destacar que la estimulación de las enzimas que degradan LH-RH en el hipotálamo de ratas machos, es observado solamente después de la inyección de testosterona o estradiol, siendo la progesterona inefectiva, en tanto que a nivel hipofisario, cuando se utiliza progesterona, se tiene un significativo aumento de la actividad enzimática (45).

Se tiene postulado también que la progesterona ejerce un efecto facilitario en la liberación de gonadotrofinas, por acciones ejercidas sobre el SNC (55) o en la hipófisis anterior (56).

Testosterona

La castración en machos resulta en un aumento de la liberación de LH y FSH. La Testosterona parece ser el mayor supresor de la secreción de LH en mamí-



feros castrados (57), en tanto que el efecto de "feedback" negativo sobre la secreción de FSH puede ser ejercido a través de la aromatización de testosterona en estrógenos (58).

Se sabe que las concentraciones plasmáticas de LH-RH están elevadas en hombres deficientes en testosterona (59), y que la testosterona aumenta la actividad de las enzimas que degradan LH-RH tanto a nivel hipotalámico cuanto a nivel hipofisario, en tanto que la orquidectomía disminuye la actividad enzimática (41, 45), observaciones éstas que destacan el papel de los sistemas enzimáticos en el control del "feedback" negativo de los esteroides gonadales en la secreción de gonadotrofinas.

Inhibina

Un efecto de "feedback" negativo sobre las células secretoras de FSH es también ejercido por la Inhibina, un hormonio peptideo producido en las células germinales de los ovarios y testículos (60) y que tiene un efecto selectivo en la inhibición de la secreción de FSH.

RETROALIMENTACION CORTA

Hormona Luteinizante

Observaciones que en animales castrados, la administración sistémica o la implantación de pequeñas cantidades de LH dentro del área supraquiasmática o dentro de la región arquata ventromedial del hipotálamo (considerando los sitios de origen de LH-RH (61) disminuyen los niveles séricos e hipofisarios de LH (62, 63, 64), como también los almacenamientos intrahipotalámicos de LH-RH (65), y que en animales hipofisectomizados se produce un aumento de LH-RH circulante (66), que disminuye por la administración exógena de LH (67) llevaron a la proposición de la existencia de un mecanismo de retroalimentación corta.

Estos efectos de "feedback" negativo corto de LH pueden estar mediados



por el sistema enzimático hipotalámico que degrada LH-RH ya que LH aumenta la actividad enzimática (45) en un proceso dependiente de la presencia de esteroides gonadales.

Se demostró también una relación inversa entre actividad del sistema enzimático que degrada LH-RH en el hipotálamo y el contenido de LH-RH hipotalámico (68).

Hormona Folículo Estimulante

En ratas normales y castradas la administración sistemática de FSH o su implantación intrahipotalámica disminuye los niveles de FSH tanto en la hipófisis como en el plasma, como también disminuyen las concentraciones de LH-RH en el hipotálamo. (62), (69).

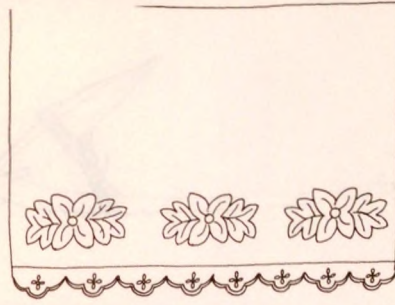
La hipofisectomía realizada en ratas castradas aumenta los almacenamientos hipotalámicos de LH-RH y facilita la liberación de LH-RH dentro de la circulación general (70).

Este mecanismo de "feedback" negativo corto que controla la secreción de FSH también se opera en humanos (7) e igualmente al LH, puede ser mediado por el sistema enzimático que degrada LH-RH.

Por otro lado, fue sugerida la existencia de un "feedback" positivo de FSH en su propia secreción (71). Este efecto positivo de FSH podría ser explicado por la interferencia de la hormona con el mecanismo de captación de estrógenos dentro del hipotálamo (72).

RETROALIMENTACION ULTRACORTA

Ha sido propuesto que la síntesis, almacenamiento y liberación de LH-RH pueden ser influenciados por cambios de sus propias concentraciones circulantes



(73), en base a las observaciones que la adición de LH-RH a tejidos hipotalámicos incubados in vitro disminuye específicamente la incorporación de aminoácidos marcados dentro de proteínas hipotalámicas (74).

De igual manera se ha indicado la existencia de un mecanismo de retroalimentación ultracorta de LH y FSH (69) por la observación de que FSH, implantado dentro de la hipófisis de ratas ovariectomizadas, disminuye el contenido de FSH de la adenohipófisis.

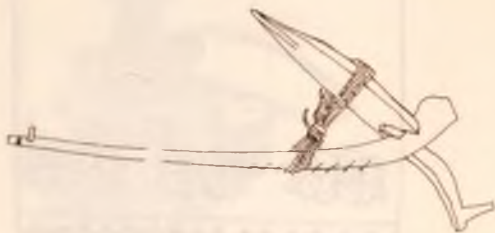
El hecho de que el aumento de la actividad de las enzimas que degrada LH-RH, a nivel hipofisario por acción de LH, es independiente de los esteroides sexuales, puede ser interpretado como una parte de este mecanismo de "feedback" ultracorto de LH (45).

Debido a la alta capacidad para degradar LH-RH que muestra el sistema enzimático hipofisario, se puede inferir entonces que estas enzimas son capaces de controlar la cantidad de LH-RH que es disponible para la ligación con los receptores de superficie de los gonadotrofos (45).

El involucrimiento de la degradación de LH-RH en la regulación de la liberación de gonadotrofinas, encuentra un punto más a favor por el dato de que los análogos superagonistas de LH-RH muestran aumentada resistencia a la degradación enzimática, cuando sustituidos en su sitio primario de hidrólisis (24, 42).

RESUMEN

En la presente revisión se muestra que los esteroides sexuales, LH y FSH activan las enzimas hipotalámico-hipofisarias que degradan LH-RH, manteniendo la sensibilidad de la hipófisis a cambios en la liberación de LH-RH, y que la alteración de la actividad enzimática debido a niveles variables de esteroides gonadales en suero sanguíneo es un factor importante en el mecanismo de regulación de la secreción de las gonadotrofinas.



- (1) SCHALLY, A. V.: Aspects of hypothalamic regulation of the pituitary gland. Its implications for the control of reproductive processes. **Science**, **202**: 18-28, 1978.
- (2) REISHLIN, S.: Neuroendocrinology. In: Williams, R. H. (ed.) **Textbook of Endocrinology**. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1981, Cap. 11, pp. 620-624.
- (3) BARGMANN, W. and E. SCHARRER: The site of origin of the hormones of the posterior pituitary. **Am. Scientist**, **39**: 255-259, 1951.
- (4) HARRIS, G. W.: Neural control of the pituitary gland. Edward Arnol Publishers, London, 1955, pp. 1-298.
- (5) HALASZ, B.: Endocrine effects of isolation of the hypothalamus from the rest of the brain. In: Ganong, W. F. and L. Martini (eds.) **Frontiers in Neuroendocrinology**. Oxford University Press, New York, 1969, pp. 307-342.
- (6) GUILLEMIN, R.: Reptides in the brain: the new endocrinology of the neuron. **Science**, **202**: 390-402, 1978.
- (7) PIVA, F.; MOTTA, M. and L. MARTINI: Regulation of hypothalamic and pituitary function: long, short and ultrashort feedback loops. In: De Groot, L. J. (ed.) **Endocrinology**. New York, Grune and Stratton, 1979, Cap. 3, pp. 21-33.
- (8) KALRA, P. S., FAWCETT, C. P., KRULICH, L.: The effects of gonadal steroids on plasma gonadotropins and prolactin in the rat. **Endocrinology**, **92**: 1256, 1973.
- (9) YEN, S. S. C. and TESAI, C. C.: Acute gonadotropin release induced by exogenous estradiol during the mid-follicular phase of the menstrual cycle. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **34**: 342, 1972.
- (10) GREELEY, C. H.; ALLEN, M. B. and Mathesh, V. B.: Potentiation of luteinizing hormone release by estradiol at the level of the pituitary. **Neuroendocrinology**, **18**: 233, 1975.
- (11) YEN, S. S. C.: The human menstrual cycle. In: Yen, S. S. C. and Jaffe, R. B. (eds.) **Endocrine regulation of the Reproductive System**. Philadelphia, W. B. Saunders Co., 1978, Cap. 7, pp. 126-171.
- (12) YEN, S. S. C.; Vandenberg, G. and Rebar, R.: Variation of pituitary responsiveness to synthetic LRF during different phases of the menstrual cycle. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **35**: 931, 1972.
- (13) ZANISI, M. and MARTINI, L.: Effect of ovariectomy on oestrogen-sensitive feedback elements. **Acta Endocrinol.**, **78**: 689, 1975.
- (14) KALRA, P. S. and KALRA, S. P.: Modulation of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone levels by intracranial and subcutaneous implants of gonadal steroids in castrated rats: effects of androgen and estrogen antagonist. **Endocrinology**, **106**: 390-397, 1980.



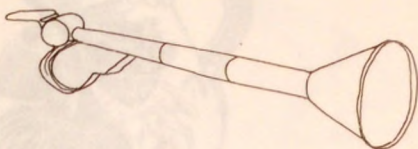
- (15) HSEUH, A. J. W.; ERIKSON, G. F. and YEN, S.S.C.: The sensitizing effect of estrogeus and catechol estrogen on cultured pituitary cells to luteinizing hormone-releasing hormone: its antagonism by progestins. **Endocrinology**, 104: 807-813, 1979.
- (16) HEBER, D. and ODELL, W. D.: Estrogen modulation of pituitary LHRH in the rat: In vivo and in vitro studies. **An. J. Physiol.**, 237: E136-141, 1979.
- (17) FRAGER, M. S.; PIEPER, D. R.; TONETTA, S. A.; DUNCAN, J. A. and MARCHALL, J. C.: Pituitary gonadotrofin-releasing hormone receptors. Effects of castration, steroid replacement and the role of gonadotropin-releasing hormone in modulating receptors in the rat. **J. Clin. Invest.**, 67: 615-623, 1981.
- (18) ARAKI, S.; FERIN, M. and ZIMMERMAN, E. A.: Ovarian modulation of immunoreactive gonadotropins releasing hormone (Gn-RH) in the rat brain: Evidence for a differential effect on the anterior and mid-hypothalamus. **Endocrinology**, 96: 644, 1075.
- (19) MARTINI, L.; FRASCHINI, F. and MOTTA, M.: Neural control of anterior pituitary functions. **Recent. Progr. Horm. Res.**, 24: 439, 1968.
- (20) SANDOW, J.; HEPTNER, W. and NEIMANN, E.: Kinetic studies with LH-RH. **Arch. Pharmacol. Suppl.** 277: R64, 1973.
- (21) GRIFFITHS, E. C.; HOPPER, J. C. and HOPKINSON, C. R.: Evidence for an enzymic component in the rat hypothalamus capable of inactivating luteinizing hormone-releasing factor (LRF).
Acta Endocrinológica, 74: 49-55, 1973.
- (22) ROCK, Y.; BARAM, T.; CHOBSIENG, P. and FRIDKIN, M.: Enzymic degradation of LH-RH by hypothalamic tissue. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 61: 95-103, 1974.
- (23) GRIFFITHS, E. C.; HOPPER, K. C.; JEFFCOATE, S. L. and HOLLAND, D. T.: The presence of peptidases in the rat hypothalamic inactivating luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH).
Acta Endocrinológica, 77: 435-442, 1974.
- (24) MARKS, N. and STERN, F.: Enzymatic mechanisms for the inactivation of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH).
Biochem. Biophys. Res. Commun., 61: 1458-1463, 1974.
- (25) KUHL, H. AND TAUBERT, H. D.: Inactivation of luteinizing hormone-releasing hormone by rat hypothalamic L-cystine arylamidase. **Acta Endocrinológica**, 78: 634-648, 1975.
- (26) KOCHMAN, K.; KERDELHUE, B.; ZOR, V. AND JUTISZ, M.: Studies of enzymatic degradation of luteinizing hormone-releasing hormone by different tissues. **FEBL Lett.**, 50: 190-194, 1975.
- (27) REDDING, T. W.; KASTING, A. J.; GONZALES-BARCENA, D.; COY, D. H.; COY, E. J. SCHALLY, D. S. AND SCHALLY, A. V.: The half-life, metabolism and escretion of tritiated luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in man. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 37: 626, 1973.
- (28) CAMARGO, A. C. M.; RAMALHO-PINTO, F. J. AND GREENE, L. J.: Brain peptidases: conversion and inactivation of kinin hormones. **J. Neurochem.**, 19: 37-49, 1972.



- (29) OLIVEIRA, E. B.; MARTINS, A. R. AND CAMARGO, A. C. M.: Isolation of brain endopeptidases: Influence of size and sequence of substrates structurally related to bradykinin. **Biochemistry**, **16**: 1967-1974, 1976.
- (30) MARTINS, A. R.; CALDO, H.; COELHO, H. L.; MOREIRA, A. C.; RODRIGUEZ, J. A.; GREENE, L. J. AND CAMARGO, A. C. M.: Screening for rabbit brain neuropeptide-metabolizing peptidases. Inhibition of endopeptidase B by bradykinin potentiating peptide 9⁹ (SQ 20881). **J. Neurochem.**, **34**: 100-107, 1980.
- (31) HERSH, L. B. AND MCKELVY, J. F.: Enzymes involved in the degradation of thyrotropin releasing hormone (TRH) and luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in bovine brain. **Brain Research**, **168**: 553-564, 1979.
- (32) BAUER, K.; HORSTHEMKE, B.; KNISATSCHEK, H.; NOWAK, P. AND KLEINKAUF, H.: Degradation of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) by brain and pituitary tissue enzymes. **Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.**, **360**: 229, 1970.
- (33) HORSTHEMKE, B., BAUER, K.: Characterization of a nonchymotrypsin-like endopeptidase from anterior pituitary that hydrolyzes luteinizing hormone-releasing hormone at the Tyrosyl-Glycine and Histidyl-Tryptophan Bonds. **Biochemistry**, **19**: 2867-2873, 1980.
- (34) CARVALHO, K. M. AND CAMARGO, A. C. M.: Purification of brain endooligopeptidases and preparation of anti-enzymes antibodies. **Biochemistry** (in press).
- (35) CAMARGO, A. C. M.; CALDO, H. AND REIS, M. L.: Susceptibility of a peptide derived from bradykinin to hydrolysis by brain endo-oligopeptidases and pancreatic proteinases. **J. Biol. Chem.**, **254**: 5304-5307, 1979.
- (36) ORLOWSKI, M.; WILK, E.; PEARCE, S. AND WILK, S.: Purification and properties of a prolyl endopeptidase from rabbit brain. **J. Neurochem.**, **33**: 461-469, 1979.
- (37) KNISATSCHEK, H. AND BAUER, K.: Characterization of "Thyroliberin-deamidating enzyme" as a post-proline cleaving enzyme. **J. Biol. Chem.**, **254**: 10936-10934, 1979.
- (38) RUPNOW, J. H.; TAYLOR, W. L. AND DIXON, J. E.: Purification and characterization of a Thyrotropin-releasing hormone reamidase from rat brain. **Biochemistry**, **18**: 1206-1212, 1979.
- (39) KUHL, H.; SANDOW, J.; KRAUSS, B. AND TAUBERT, H. D.: Enzyme kinetic studies and inhibition by oligopeptidases of LH-RH degradation in rat hypothalamus and pituitary. **Neuroendocrinology**, **28**: 339-348, 1979.
- (40) GRIFFITHS, E. C.; HOOPER, K. C.; JEFFCOATE, S. L. AND HOLLAND, D. T.: Peptidases in different areas of the rat brain inactivating luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). **Brain Research**, **85**: 161-164, 1975.
- (41) GRIFFITHS, E. C.; HOOPER, K. C.; JEFFCOATE, S. L. AND HOLLAND, D. T.: The effects of gonadectomy and gonadal steroids on the activity of hypothalamic peptidases inactivating luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). **Brain Research**, **88**: 384-388, 1975.
- (42) KOCH, Y.; BARAM, T.; HAZUM, E. AND FRIDKIN, M.: Resistance to enzymic degradation of LH-RH analogs possessing increased biological activity. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **74**: 488-491, 1977.



- (43) KUHL, H. AND TAUBERT, H. D.: Short-loop feedback mechanism of luteinizing hormone: LH stimulates hypothalamic L-cystine arylamidase to inactivate LH-RH in the rat hypothalamus. **Acta Endocr.**, **78**: 649-663, 1975.
- (44) KUHL, H.; FREY, W.; ROSNIATOWSKI, C.; DERICKS-TAN, J. S. E. AND TAUBERT, H. D.: The effect of prostaglandins of hypothalamic L-cystine arylamidase activity on luteinizing hormone secretion in the rat. **Acta Endocr.**, **82**: 15-28, 1976.
- (45) KUHL, H.; ROSNIATOWSKI, C. AND TAUBERT, H. D.: The regulatory function of a pituitary LH-RH-degrading enzyme system in the feedback control of gonadotrophins. **Acta Endocr.**, **86**: 60-70, 1977.
- (46) KUHL, H.; ROSNIATOWSKI, C. AND TAUBERT, H. D.: The activity of an LH-RH-degrading enzyme in the anterior pituitary during the rat oestrus cycle and its alteration by injections of sex hormones. **Acta Endocr.**, **87**: 476-484, 1978.
- (47) SCHNEIDER, H. P. G. AND MCCANN, S. M.: Estradiol and the neuroendocrine control of LH release in vitro. **Endocrinology**, **87**: 330-338, 1970.
- (48) SCHALLY, A. V.; REDDING, T. W. AND ARIMURA, A.: Effect of sex steroids on pituitary responses to LH and FSH-releasing hormones in vitro. **Endocrinology**, **93**: 893, 1973.
- (49) VILCHEZ-MARTINEZ, J. A.; ARIMURA, A.; DEBELJUK, L. and SCHALLY, A. V.: Biphasic effect of estradiol benzoate on the pituitary responsiveness to LH-RH. **Endocrinology**, **94**: 1300, 1303, 1974.
- (50) KNOBIL, E.: On the control of gonadotropin secretion in the rhesus monkey. **Recent Progr. Horm. Res.**, **30**: 1, 1974.
- (51) ROSS, G. T.; ODELL, W. D. and RAYFORD, P. L.: Luteinizing hormone activity in plasma during the menstrual cycle. **Science**, **155**: 1679, 1967.
- (52) LABHSETWAR, A. P. and BAINBRIDGE, J. G.: Inhibition of ovulation by intracranial implantation of progesterone in the 4-day cycling rat. **J. Reprod. Fertil.**, **27**: 445, 1971.
- (53) PIVA, F., KALRA, P. S. and Martini, L.: Participation of the amygdala and of the cerebellum in the feedback effects of progesterone. **Neuroendocrinology**, **11**: 229, 1973.
- (54) HILLARD, J.; SCHALLY, A. V. and SAWYER, C. H.: Progesterone blockade of the ovulatory response to intrapituitary infusion of LH-RH in rabbits. **Endocrinology**, **88**: 730, 1971.
- (55) KALRA, P. S. and MARTINI, L.: The "Facilitatory" effect on ovulation of the retrosteroid 1,6-Dehydro-6-Chloro-Retroprogesterone (Ro 4-8347). **J. Endocrinol.**, **51**: 675, 1971.
- (56) MCLEAN, B. K.; CHANG, N. and NIKITOWITCH-WINER, M. B.: Ovarian steroids directly alter luteinizing hormone (LH) release by pituitary homografts. **Endocrinology**, **96**: 196, 1975.
- (57) STEWARD-BENTLEY, M.; ODELL, W. and HORTON, R.: The feedback control of luteinizing hormone in normal adult men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **38**: 545, 1974.
- (58) ZANISI, M.; MOTTA, M. and MARTINI, L.: Inhibitory effect of 5 α -reduced metabolites of testosterone on gonadotrophin secretion. **J. Endocrinol.**, **56**: 315, 1973.
- (59) Seyler, L. E., Jr. and REICHLIN, S.: Feedback regulation of circulating LRF concentrations on men. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, **39**: 906, 1974.



- (60) DE JONG, F. K. and SHARPE, R. M.: Evidence for inhibin-like activity in bovine follicular fluid. **Nature**, **203**: 71, 1976.
- (61) MESS, B.; ZANISI, M. and TIMA, L.: Site of production of releasing and inhibiting factors. In Martini, L., Motta, M., Fraschini, F. (eds.): **The Hypothalamus**. New York, Academic, 1970, pp. 259.
- (62) DESJARDINS, C.: Alterations of hypophyseal LH and FSH release by exogenous LH and FSH in orchidectomized mice. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **130**: 535, 1969.
- (63) DAVID, M. A.; FRASCHINI, F. and MARTINI, L.: Control of LH secretion: Role of a "short" feedback mechanism. **Endocrinology**, **78**: 55, 1966.
- (64) HIRONO, M.; IGARASHI, M. and MATSUMOTO, S.: The direct effect of HCG upon pituitary gonadotropin secretion. **Endocrinology**, **90**: 1214, 1972.
- (65) CORBIN, A. and COHEN, A.: Effect of median eminence implants of LH on pituitary LH of female rats. **Endocrinology**, **78**: 41, 1966.
- (66) SCHNEIDER, H. P. G. and McCANN, S.: Release of LH-releasing factor (LRF) into the peripheral circulation of hypophysectomized rats by dopamine and its blockage by estradiol. **Endocrinology**, **87**: 249, 1970.
- (67) MCCANN, S. M.; WATANABE, S.; CRIGHTON, D. B.: The physiology and biochemistry of luteinizing hormone-releasing factor and follicle stimulating hormone-releasing factor. In Back, N.; Martini, L.; Paoletti, R. (eds.): **Pharmacology of Hormonal Polipeptides and Proteins**. New York, Plenum, 1968, p. 112.
- (68) KAMBERI, I. A. and de Vellis, J.: Peptidases in the rat hypothalamus inactivating gonadotropin-releasing hormone (Gn-RH). **60 th Ann. Meeting Endocr. Soc. (USA)**, 1978, p. 172.
- (69) HIRONO, M.; IGARASHI, M. and MATSUMOTO, S.: Short —and Auto— Feedback control of pituitary FSH secretion. **Neuroendocrinology**, **6**: 274, 1970.
- (70) CORBIN, A.; DANIELS, E. L. and MILMORE, J. E.: An "Internal" feedback mechanism controlling follicle stimulating hormone releasing factor. **Endocrinology**, **86**: 735, 1970.
- (71) OJEDA, S. R.; RAMIREZ, V. D. and LACKEY, R. W.: Induction of FSH secretion by FSH implants in the medial basal hypothalamus (MBH) of ovariectomized rats. **Fed. Proc.**, **29**: 311, 1970.
- (72) RAMIREZ, V. D.; ALVAREZ, E. O. and OJEDA, S. R.: Blockade of estrogen uptake in the rat hypothalamus by pretreatment with FSH. **Program 52nd Meet. Endocrine Soc.** 1970, p. 196.
- (73) HYYPPA, M.; MOTTA, M. and MARTINI, L.: "Ultrashort" feedback control of follicle-stimulating hormone-releasing factor secretion. **Neuroendocrinology**, **7**: 227, 1971.
- (74) MOGUILEVSKY, J. A. and CHRISTOT, J.: The effect of synthetic luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) on the protein synthesis of different hypothalamic areas and anterior pituitary gland. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **143**: 260, 1973.