



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**UNIDAD DE INVESTIGACION EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION**

**PAPEL DE LAS GLANDULAS SUPRARRENALES Y LOS  
OVARIOS EN LA SECRECION DE PROGESTERONA  
DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA RATA.**

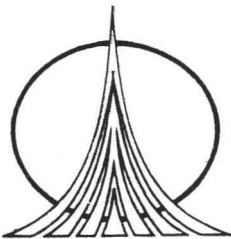
**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I O L O G O**

**P R E S E N T A :**

**GRISelda MELENDEZ DE LA ROSA**



Unidad en la Diversidad:  
Zaragoza Frente al Siglo XXI

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARIA ESTHER CRUZ BELTRAN**

**MÉXICO, D. F.**

**2005**

M 345553



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

PAPEL DE LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES Y LOS  
OVARIOS EN LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA DURANTE  
EL CICLO ESTRAL DE LA RATA

Autor: Griselda Meléndez de la Rosa

Directora de tesis: Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán

Esta tesis fue desarrollada en el laboratorio de Neuroendocrinología de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.

Durante la realización de este trabajo se contó con el apoyo de CONACYT convenio 40300-Q.

Gracias **Señor** por brindarme la gran oportunidad de vivir y sobre todo por  
darme lo que tengo.

## **DEDICATORIAS**

A mi hijo:

Aramis, por ser quien me impulsa a seguir adelante y pensar que siempre hay un mañana que puede y debe ser mejor.

A mi esposo:

Hugo, por su gran apoyo en el tiempo que llevamos juntos, por todos los momentos compartidos y por ser mi mejor ejemplo de superación.

A mis padres:

Ubalda y Adalberto, por su amor, cuidados, consejos y regaños, por creer en mí y sobre todo por darme una bonita familia y un buen ejemplo a seguir.

A mis Hermanos:

Gaby, Angélica y Toño, por todas las travesuras que compartimos y la buena relación que llevamos.

A mis tíos:

Oralia, Enrique, Héctor, Gracia, Eladio y Juana por apoyarme y brindarme siempre su ayuda incondicional.

A mis primos y sobrinas:

Daniela, Jimena, Omar, César, Ileana, Laura, Uriel, Valeria y Karen por ser parte de esta gran familia y aportar a su manera un granito de arena para seguir siempre adelante.

A mi abuelita:

Juana<sup>†</sup>, por mostrar entereza hasta en los momentos más difíciles, por tratar de mantener siempre una familia unida, enseñarme a compartir y a disfrutar todos y cada uno de los momentos en la vida.

A mis amigos:

Pao, Alex, Sergio, Iván, Lalo, Miguel, Eloir, Inés, Miriam, Magy, Yanet, Ana, Julissa, Genaro y Arturo por todos los momentos compartidos.

A mis amigos y compañeros de laboratorio:

Tere, Jorge, Angy, Ana Isabel, Edna, Eduardo, Esteban, Karina, Alma, Fernando, Cristina, Gladys, Bárbara y Adriana por ayudarme a tener una vida más placentera en el labo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Esther Cruz por su tiempo, paciencia y enseñanzas para la realización de éste trabajo.

A la M. en IBSH Angélica Flores, por ser quien me motivó a inclinarme por el área de la reproducción, por estar siempre dispuesta a escuchar, por su enorme paciencia y compañerismo, pero sobre todo por ser una buena amiga y “mamá” de todos sus niños de el laboratorio.

A la. Dra Leticia Morales y a la Dra Patricia Rosas por tratar siempre de tener un lugar de trabajo lleno de armonía.

A la M en IBSH Ana Isabel Barco por compartir conmigo todos sus conocimientos y por el apoyo incondicional brindado en todo momento.

Al Dr. Domínguez por enseñarnos una perspectiva diferente de la investigación.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá  
Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán  
M en IBSH Angélica Flores Ramírez  
M en C. Raúl Zavala Chavero  
Biól. Carlos Martínez Montoya

Por sus sugerencias y acertados consejos realizados para enriquecer este trabajo.

A mis dos grandes amigos Tere y Jorge por su apoyo tanto moral como laboral y por el simple hecho de habernos conocido.

A la MVZ Adriana Altamirano directora del bioterio y a todo el personal que colabora en él, ya que gracias a ellos es posible el trabajo experimental.

A el laboratorio de hormonas esteroides del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y al Dr Roberto Chavira por su apoyo en la cuantificación de hormonas.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	3
Ciclo estral	7
El ovario	10
Secreción de hormonas esteroides en el ovario	12
El cuerpo lúteo	14
Regulación de la síntesis de progesterona en el ovario	15
Inervación del ovario	16
Las glándulas suprarrenales	18
Asimetrías morfológicas y funcionales en los ovarios y las glándulas suprarrenales	20
<b>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</b>	22
<b>HIPÓTESIS</b>	23
<b>OBJETIVOS GENERALES</b>	23
<b>OBJETIVOS PARTICULARES</b>	23
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	24
<b>RESULTADOS</b>	27
<b>DISCUSIÓN</b>	34
<b>CONCLUSIONES</b>	38
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	39

## **Resumen**

Con la finalidad de analizar el grado de contribución de los ovarios y las adrenales en la concentración de progesterona ( $P_4$ ) durante el ciclo estral, y de si la capacidad secretora de las glándulas del lado izquierdo es diferente a las del lado derecho, en este estudio se cuantificaron los cambios en la concentración sérica de la hormona una hora después de extirpar una o ambas adrenales u ovarios en los días del diestro-1, diestro-2 o proestro a las 13:00 horas.

Los efectos de la adrenalectomía o la ovariectomía sobre la concentración de  $P_4$  cambia según el día del ciclo en que se realicen estos tratamientos: La concentración de  $P_4$  disminuye a la hora de extirpar ambas adrenales en cualquiera de los días del ciclo, lo que nos lleva a plantear que éstas glándulas secretan  $P_4$  en todos los días del ciclo. En cambio, la falta de ambos ovarios en diestro-1 disminuye la concentración de la hormona, en diestro-2 no tiene efectos y en proestro la aumenta, resultados que nos llevan a sugerir que los ovarios regulan la secreción de  $P_4$  por parte de las adrenales. Esta regulación varía durante el ciclo estral: siendo estimulante en diestro-1 e inhibitoria en proestro.

La extirpación de la adrenal izquierda realizada en proestro, disminuyó significativamente la concentración de  $P_4$ ; efecto que no se observó cuando se extirpó la adrenal del lado derecho. Estos resultados nos llevan a plantear que la adrenal izquierda secreta más  $P_4$  que la derecha.

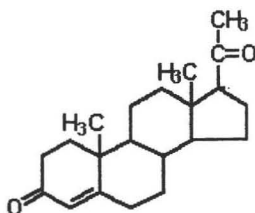
Solamente la extirpación del ovario derecho, realizada en diestro-2 o proestro resultó en aumento de la concentración de la hormona; resultados que nos permiten sugerir que el ovario derecho ejerce un efecto regulador inhibitorio sobre la secreción de  $P_4$  por las adrenales y el ovario izquierdo. En el día del proestro, el ovario izquierdo parece secretar más  $P_4$  que el derecho.



Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que la contribución de las adrenales y los ovarios a la concentración sérica de  $P_4$  cambia durante el ciclo estral y que la función secretora de las glándulas suprarrenales es regulada de manera inhibitoria por el ovario derecho.

## INTRODUCCIÓN

La progesterona ( $P_4$ ) (4-pregnen-3, 20 diona) es una molécula lipídica, formada por el núcleo ciclopentano perhidro-fenantreno, constituido por 21 átomos de carbono y grupos metilo en el átomo de carbono en posición 10 y 13 (C-10 y C-13). (Cantarow y Schepartz, 1989). Su nombre deriva del latín: *pro*= a favor y *gestare*= llevar, lo que denota el efecto de llevar o sostener el producto de la concepción (Pérez-Palacios, 1985) (Figura 1).



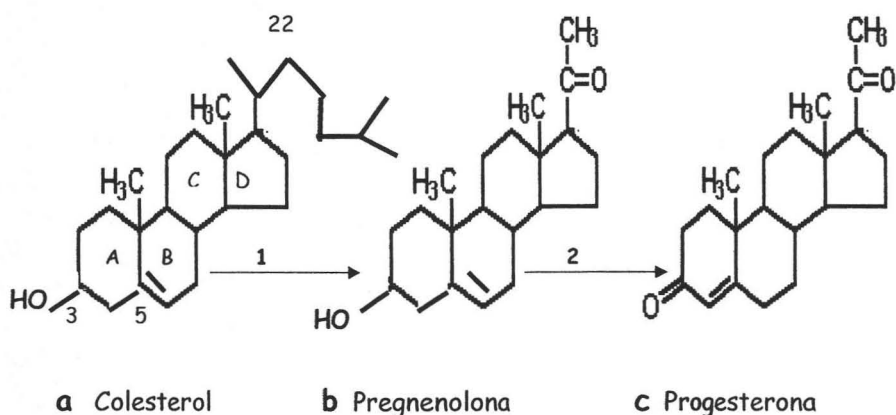
**Figura 1.** Molécula de progesterona (tomado de Litwack y Schmidt, 2000).

La  $P_4$  se sintetiza a partir de acetato o de colesterol. (Cantarow y Schepartz, 1989) (Figura 2). La biotransformación del colesterol a progesterona implica tres cambios estructurales en la molécula:

a).- pérdida de un fragmento de seis átomos de carbono de la cadena lateral en el C-17 por medio de la enzima 20,22 esteroide liasa,

2).- la oxidación del grupo alcohol en C-3 por medio de la enzima  $3\beta$ -OH-esteroide deshidrogenasa.

3).- la migración del doble enlace del anillo B al anillo A (Gore-Langton, 1988), lo que origina 5-pregнено-3-ol-20-ona o pregnenolona.



**Figura 2.** Biosíntesis de la progesterona (Tomado de Gore-Langton, 1988).

Entre sus características bioquímicas podemos señalar que es soluble en casi todos los disolventes orgánicos, excepto en éter de petróleo, alcohol diluido, acetona y piridina. Es muy soluble en aceites, moderadamente soluble en el suero y prácticamente insoluble en agua (Cantarow y Schepartz, 1989). La P<sub>4</sub> circula en la sangre ligada a la albúmina, a una  $\alpha$ -glucoproteína y a la transcortina; tiene una vida media de 20 a 30 minutos (Borel y col., 1989); es inactivada sobre sus receptores (A y B) por hidrogenaciones sucesivas de la doble unión en C-3-C-5 y sobre las funciones cetona en los C-3 y C-20, lo que provoca la formación del pregnandiolo, el cual es conjugado por el hígado con el ácido glucurónico y eliminado por la bilis. Existe cierto grado de reabsorción intestinal de pregnandiolo y otra parte es eliminado por la orina (Borel y col., 1989).

La P<sub>4</sub> es el intermediario en la biosíntesis de diversas hormonas esteroides (cortisol, aldosterona, testosterona, 17 $\beta$ -estradiol). El sustrato en la síntesis de la P<sub>4</sub> es el colesterol no esterificado, que es transportado por las lipoproteínas plasmáticas de alta densidad que se fijan sobre receptores membranales específicos (Borel y col., 1989).

La P<sub>4</sub> es sintetizada por los ovarios (Hsueh y col., 1984; Hutchison y col., 1986), las glándulas suprarrenales, la placenta (Perrot-Applanat,

1982), el testículo (Weisz y Ward, 1980) y el cerebro (Zwain y Yen, 1999; Ukena y col., 1999). Su síntesis es regulada por numerosas hormonas como la luteinizante (LH), la foliculo estimulante (FSH), las prostaglandinas y la adrenalina (Graham, 1997).

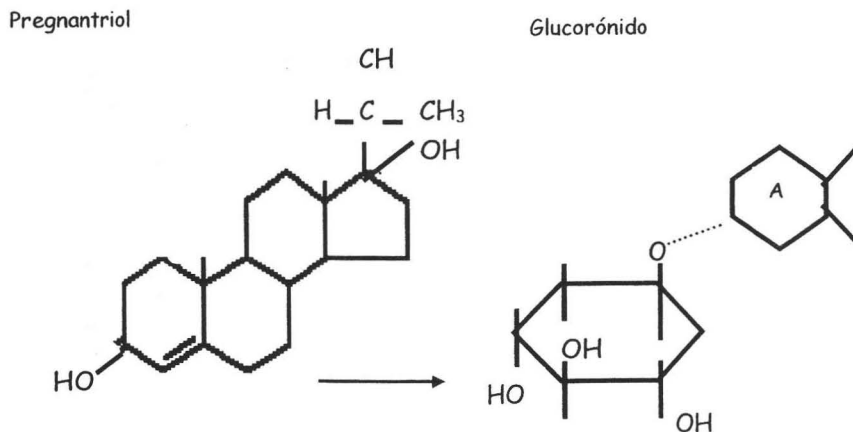
A esta hormona se le describen las siguientes funciones (Cantarow y Schepartz, 1989; Ninomiya y col., 1995; Gilman y col., 1991; Kilen y Schwartz, 1999; Bentley, 2001; Greenspan, 1999; Schaeffer y col., 1990; Meizel, 1991; Tesarik y col., 1992; Musgrove y col., 1991,1993; Shinoyima y col., 1991, Wei y col., 1993; Camacho-Arroyo, 1999 ):

- Cambios progesteronales del endometrio, del oviducto, el cuello uterino y la vagina.
- Disminuye la excitabilidad de la musculatura uterina, al disminuir la frecuencia con que se generan los potenciales eléctricos de membrana.
- Disminuye la respuesta de la musculatura uterina a la oxitocina.
- Regula el número de receptores a estrógenos en el endometrio.
- Regula el número de receptores a la oxitocina en el miometrio.
- Favorece la conversión de  $17\beta$ -estradiol en otros estrógenos menos activos.
- En la glándula mamaria estimula el crecimiento de los lóbulos y alvéolos glandulares.
- En perros y roedores regula la retención de sodio, cloruro y agua.
- Estimula la conducta de estro y promueve el apareamiento en especies como el criceto, la rata y el ratón.
- Regula el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos.
- En la mujer, una dosis de 50 mg de  $P_4$  intramuscular puede elevar la concentración de insulina y disminuir la respuesta de la glucosa sanguínea a la insulina.
- Puede competir con la aldosterona en el tubo renal, lo cual provoca un decremento en la absorción de sodio.

- Modifica la función de los centros respiratorios: al aumentar la respuesta ventilatoria a  $\text{CO}_2$ .
- Junto con los estrógenos tienen efectos hipnóticos en el cerebro.
- Junto con los estrógenos regula la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés).
- Estimula la conducta de lordosis en los roedores hembra.
- Interviene en la regulación de la reacción acrosomal y en el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  en el espermatozoide.
- Induce el ciclo celular en las células mamarias, al inducir genes asociados a este proceso.
- Estimula la involución del timo.
- Previene la pérdida de la masa ósea.
- Reduce la excitabilidad de la neurona.
- Estimula el sueño.

Una vez que la progesterona y sus metabolitos han llevado a cabo su función en el organismo, su catabolismo ocurre en dos etapas secuenciales (Figura 3).

1. la reducción en el C-20, lo que da lugar a la formación de  $20\alpha$  y  $20\beta$  dihidroprogesterona; la posterior reducción en el anillo A en C-3 y C-5, da lugar a la formación de ocho pregnandioles o pregnantrioles.
2. la reducción de los pregnandioles resulta en la formación de glucorónidos, lo que incrementa la polaridad de la molécula, formándose así compuestos hidrofílicos que facilitan su excreción por la orina (Renwick, 1970).



**Figura 3.** Principales catabolitos de la progesterona (Tomado de Renwick, 1970)

### CICLO ESTRAL DE LA RATA

La etapa fértil de las hembras se caracteriza por cambios periódicos en la secreción de las hormonas esteroideas femeninas que regulan el crecimiento, la maduración y la liberación de ovocitos fértiles, así como cambios en la conducta sexual que aseguran la máxima receptividad de la hembra durante la etapa pre-ovulatoria. Esta conducta rítmica que presentan las hembras se llama ciclo del estro o ciclo estral.

El término “estro” proviene del latín *oestrus*, que a su vez se deriva del griego *oistros*, que significa tábano, aguijón o frenesí. Este término lo acuñó Heape en el año 1900 para describir el periodo de deseo sexual de la hembra y distinguirlo del celo del macho (Herbison y col., 1990).

La rata es un mamífero que presenta ciclos estrales durante todo el año, cuya duración promedio es de cuatro a cinco días. En el ciclo estral

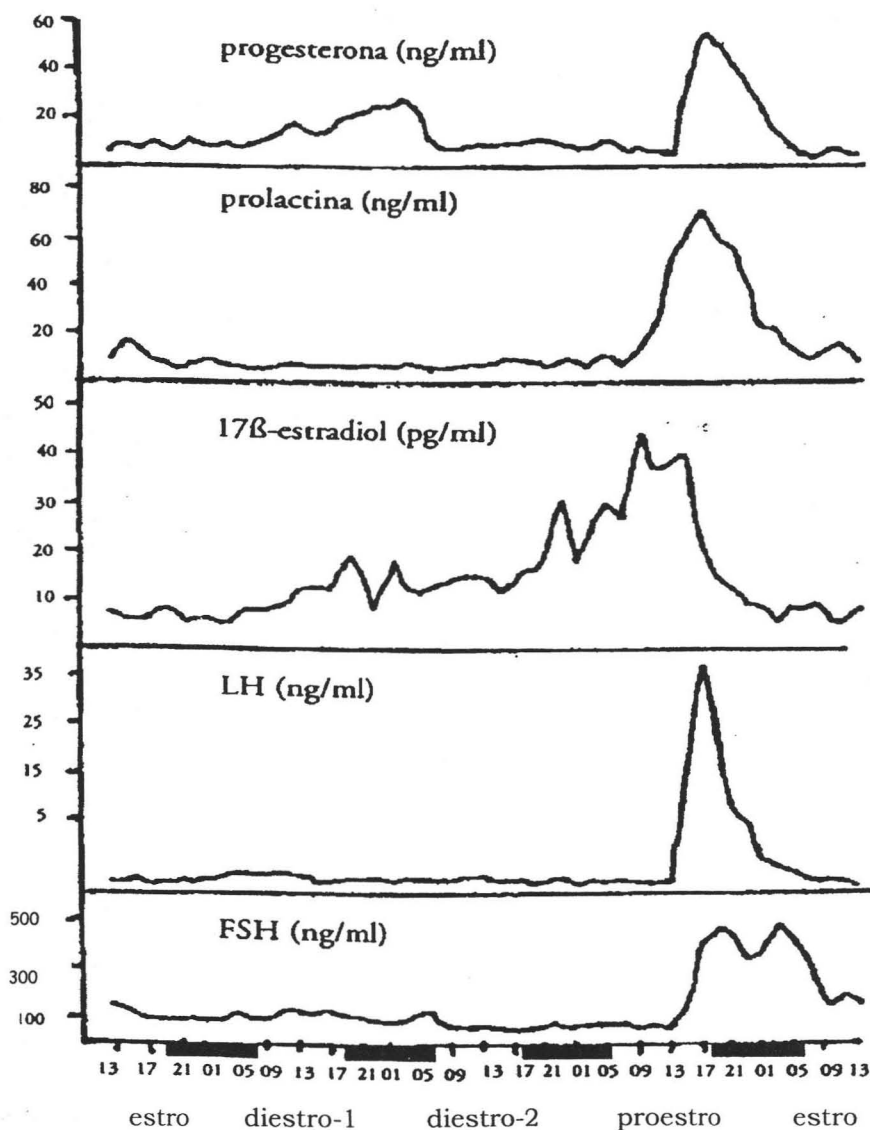
de la rata se reconocen cuatro etapas: diestro-1, diestro-2, proestro y estro. La duración promedio de cada una de estas etapas depende de las condiciones en las que se mantienen a los animales, pero según Freeman (1994), los días de diestro-1 y diestro-2 duran 61 a 65 horas, de proestro 12 a 14 horas y el estro 25 a 27 horas.

En la Gráfica 1, se muestran las variaciones en la concentración plasmática de  $P_4$ , prolactina, estradiol, hormona luteinizante (LH) y hormona foliculo estimulante (FSH) durante el ciclo estral. En los días de estro, diestro-1, diestro-2 y la mañana del proestro, las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas LH y FSH se mantienen en concentraciones basales, principalmente por el efecto de "feedback inhibitorio que ejercen los estrógenos y hormonas proteicas, tales como la inhibina. Las cantidades de LH y FSH circulantes, si bien son bajas, son suficientes para estimular el crecimiento de los folículos. Conforme los folículos crecen y maduran, la concentración plasmática de  $17\beta$ -estradiol también aumenta hasta alcanzar su concentración máxima en la mañana del proestro, evento también llamado secreción pre-ovulatoria de estrógenos o "pico de estrógenos" (Freeman, 1994).

La secreción pre-ovulatoria de estrógenos estimula la secreción fásica de ambas gonadotropinas, que horas después (en la mañana del estro) inducen la ovulación. Esta secreción masiva de ambas gonadotropinas se conoce como "pico" o secreción pre-ovulatoria de gonadotropinas.

En la mañana del estro en la sangre se presenta un segundo aumento en la concentración de FSH, que al parecer participa en el reclutamiento de los folículos ováricos que ovularán en el siguiente ciclo.

Una vez que se produce la ovulación, el folículo se transforma en el cuerpo lúteo (Humphrey y Janice, 1999). La función principal del cuerpo lúteo es la secreción de progesterona, como resultado del efecto estimulante de la LH (Freeman, 1994).



**Gráfica 1.** Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, 17β-estradiol, LH y FSH durante los cuatro días del ciclo estral de la rata (Tomado de Freeman, 1994).

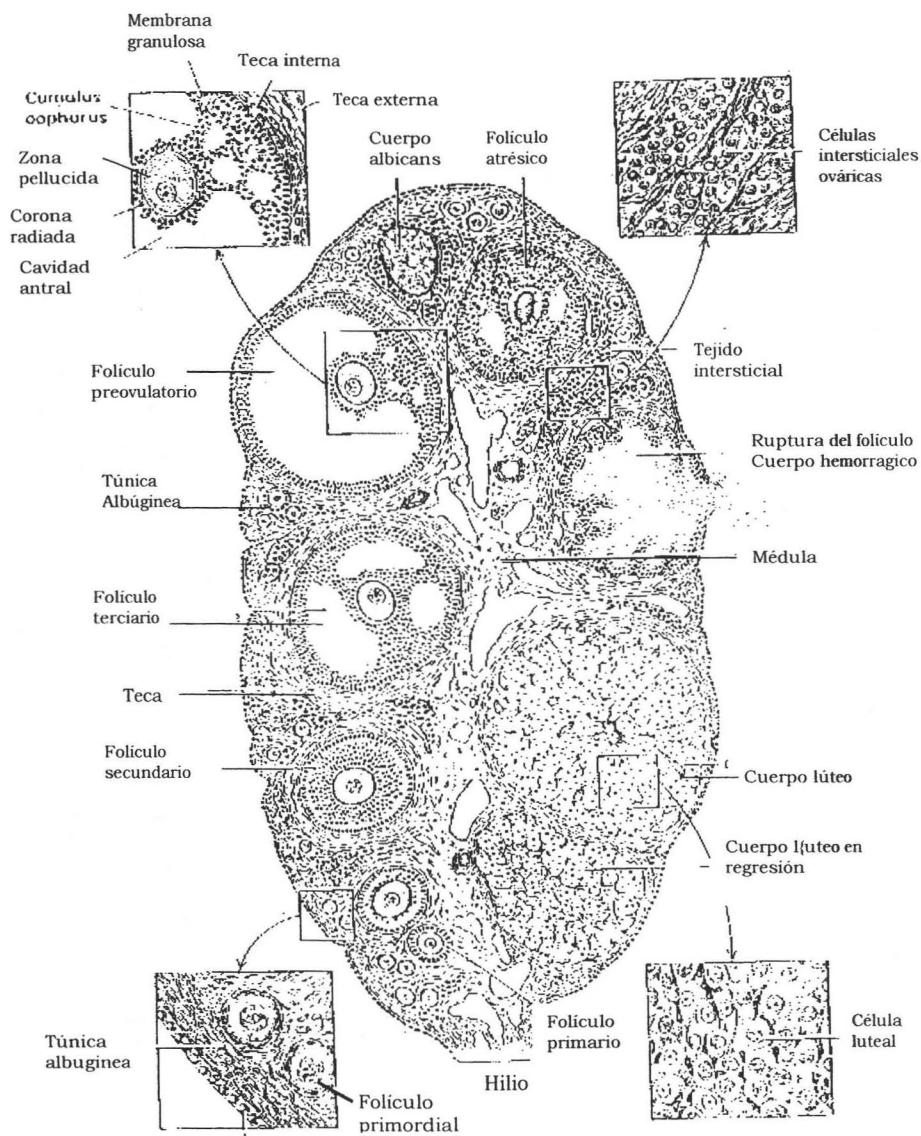


## EL OVARIO

En el ovario se pueden distinguir dos zonas histológicas bien diferenciadas: la corteza y la médula. La zona más externa, la corteza, que contiene los folículos en diferentes estadios de maduración. Entre los folículos se encuentran el tejido conectivo de sostén y las células intersticiales (estroma). La médula, que contiene una rica red de vasos sanguíneos y tejido conectivo, el hilio (donde se encuentran las arterias y vena ováricas), los vasos linfáticos, las terminales nerviosas y las células intersticiales (Domínguez y col., 1991). El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir de la cual se originan los tres compartimentos del órgano: el folicular, el luteal y el intersticial.

Las funciones principales del ovario son liberar al ovocito capaz de ser fecundado y secretar las hormonas que estimulan el crecimiento y diferenciación de los órganos del aparato reproductor (Domínguez y col., 1991) (Figura 4).

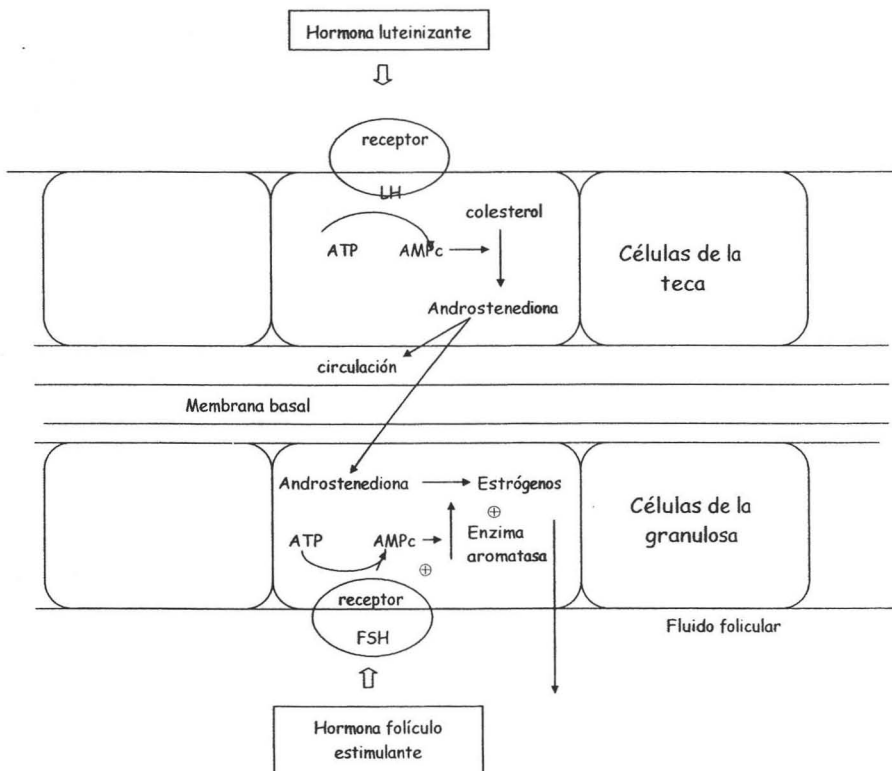
El folículo ovárico está formado por el ovocito, una capa de células foliculares o de la granulosa, una membrana basal que aísla a las células de la granulosa del resto de los componentes del ovario, las células tecales o teco-intersticiales; éstas últimas conforman la denominada teca interna. Además de las células de la granulosa y las tecales, el folículo está rodeado por un complejo sistema de fibras colágenas, células del tejido conectivo, sustancia fundamental y fibras musculares lisas, lo que recibe el nombre de teca externa. Todos estos elementos forman una vaina fibrosa, que al disgregarse en un punto cercano a la superficie del ovario, forma un orificio por el cual saldrá el ovocito. El ovocito y las células foliculares no reciben inervación ni riego sanguíneo en forma directa (Domínguez y col., 1991).



**Figura 4.** Corte de ovario donde se muestran las diferentes estructuras que conforman los tres compartimentos del ovario, así como el aspecto de los folículos en las diferentes etapas de desarrollo (Tomado de Humphrey y Janice, 1999).

## SECRECIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES EN EL OVARIO

En la síntesis de los estrógenos participan dos células del folículo: la célula teca-intersticial, que a partir del colesterol que obtienen del plasma sanguíneo (el que es transportado en la sangre unido a lipoproteínas de baja densidad, o producido a partir de acetato dentro de las células), sintetiza andrógenos (androstenediona, testosterona o ambas), los cuales atraviesan la membrana basal y son incorporadas al citoplasma de las células de la granulosa donde son aromatizados a estrógenos ( $17\beta$ -estradiol, estrona (Tresguerres, 1999). (Figura 5).



**Figura 5.** Modelo de la doble célula-doble hormona en la esteroidogénesis folicular (Tomado de Humphrey y Janice, 1999).

En las células de la teca, la unión de la LH a su receptor estimula el complejo enzimático que separa la cadena colateral del colesterol, y la actividad de la  $17\alpha$ -hidroxilasa y la C17-20 desmolasa, las que provocan la conversión del colesterol a pregnenolona, paso limitante en la síntesis de  $P_4$  y por lo tanto de andrógenos. La oxidación de pregnenolona a  $P_4$  es catalizada por la enzima  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa, que está presente en las células tecales, granulosas y lúteas (Ericsson y Maggoffin, 1983). Estudios *in vitro* muestran que la adición de LH al cultivo de células tecales de animales prepúberes hipofisectomizados, se requieren entre 72 y 96 horas para observar un aumento en la secreción de andrógenos (Maggoffin y Ericsson, 1981).

La unión de la FSH a su receptor en la célula de la granulosa estimula el sistema adenilato ciclasa, lo que resulta en el aumento de AMPc (Adenosin monofosfato cíclico) y estimula la síntesis y la actividad de la aromatasa, dando como resultado la aromatización de los andrógenos en estrógenos. De igual forma, estudios *in vitro* muestran que existe un lapso de 18 horas entre el estímulo de las células de la granulosa con FSH y el aumento de la secreción de estrógenos (Domínguez y col., 1991).

La LH es la hormona más importante en la regulación de la producción de estrógenos, ya que estimula la síntesis de andrógenos, la de sus propios receptores en las células de la teca y la actividad aromatásica en las células de la granulosa. Después de la secreción preovulatoria de LH, esta hormona inhibe la síntesis de sus propios receptores en las células de la granulosa (regulación inhibitoria) lo que resulta en la disminución de la síntesis de estrógenos (Pelusso y col., 1984, Schwall y Ericsson, 1984). La prolactina también inhibe la actividad de la aromatasa de las células de la granulosa y bloquea los efectos de la FSH sobre las mismas, lo que resulta en la disminución de la producción de estrógenos (Bonifacino y Dufau, 1984).

No todos los folículos en crecimiento ovulan, por lo que entran en un proceso de diferenciación denominado atresia. La atresia se presenta en cualquier etapa de crecimiento del folículo. El inicio de la atresia parece depender de alteraciones del ovocito, que pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Las células de la granulosa pierden gradualmente los receptores a FSH y LH, lo que se traduce en disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos, por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo (Dominguez y col, 1991).

Durante el proceso de atresia, además de las alteraciones que se producen en la síntesis de estrógenos, también disminuye la capacidad de síntesis de andrógenos por las células tecales, en parte por pérdida de la actividad de la C17-20 liasa. Sin embargo, estas células mantienen la capacidad de síntesis de progesterona y de AMPc hasta etapas avanzadas del mismo proceso (Dominguez y col, 1991).

## **EL CUERPO LÚTEO**

La formación del cuerpo lúteo se inicia con una serie de cambios morfológicos y bioquímicos en las células de la teca interna y de la granulosa del folículo preovulatorio. A estos cambios se les denomina luteinización y ocurren como resultado del incremento en las concentraciones séricas de LH. Después de éste estímulo preovulatorio de la LH, pero antes de la ovulación, ocurre hipertrofia de las células de la granulosa. Después de la ovulación la membrana basal se rompe y los vasos sanguíneos de la teca interna invaden la cavidad que queda en el folículo que se rompió. El crecimiento de estos nuevos vasos ocurre junto con la secreción de un factor angiogénico poco después de la ruptura del folículo. En la rata, el número y tamaño de las uniones entre las células de la granulosa se incrementa conforme el folículo madura, pero disminuye justo antes de la ovulación. (Gordon y Terry, 1994).

La función principal del cuerpo lúteo es la secreción de  $P_4$ . Se ha planteado que el principal factor que promueve la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis) es la prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), la que provoca un rápido y drástico decremento del flujo sanguíneo, reducción en el número de receptores a LH, desactivación del receptor a LH de la adelinato ciclasa, activación de la proteína cinasa-C y entrada de altas concentraciones de calcio a la célula (Gordon y Terry, 1994). En la rata, la inyección de  $PGF_{2\alpha}$  no disminuye el flujo sanguíneo (Behrman y col., 1979), sin embargo disminuye dramáticamente la unión de la LH a su receptor en el cuerpo lúteo (Gordon y Terry, 1994)

### **REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE PROGESTERONA EN EL OVARIO**

Las células del cuerpo lúteo tienen una capacidad limitada de la secreción de  $P_4$ . El factor endócrino más importante que estimula esta función es la LH. Mientras que la  $PGF_{2\alpha}$  la inhibe. Hay factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de permeabilidad vascular (VPF) que regulan (estimulan o inhiben) la secreción de  $P_4$  (Gordon y Terry, 1994). En la rata, la secreción de  $P_4$  por el cuerpo lúteo durante el ciclo estral es corta y durante el diestro-1 parece ser autónoma de la hipófisis pero durante el diestro-2 requiere de prolactina (Rothchild, 1965).

La secreción de  $P_4$  en el ovario también es regulada por la LH y algunas sustancias de origen nervioso (Kawakami y col., 1981). En cultivos de células de la granulosa de rata, la adrenalina estimula la secreción de  $P_4$  en concentraciones nanomolares y amplifica el efecto estimulante de la gonadotropina coriónica humana (hCG) y de la FSH (Aguado y col., 1982). En cultivos de células de la granulosa de ratas jóvenes tratadas con FSH, la estimulación de los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos estimula la liberación de  $P_4$  al medio (Aguado y Ojeda, 1984a). La administración de agonistas nicotínicos inhiben la biosíntesis

de P<sub>4</sub> inducida por las gonadotropinas, este efecto es revertido por agonistas adrenérgicos (Adashi y Hsueh, 1981; Harwood y col., 1980). Se ha sugerido que la acetilcolina estaría relacionada con la regulación de la división de las células de la granulosa o con la producción de P<sub>4</sub> por estas células (Fritz y col., 2001). En células del cuerpo lúteo de ratas cíclicas o de ovejas, se ha mostrado que su estimulación con agonistas adrenérgicos incrementan la liberación de P<sub>4</sub> al medio de cultivo (Condon y Black, 1976; Goodkin y col., 1977; Zsolsnai y col., 1982).

En estudios *in vitro* con células de la granulosa de mujeres adultas se ha mostrado la presencia de receptores a serotonina y a melatonina (Yie y col., 1995a, 1995b) y se ha informado que la serotonina puede estimular (Bodis y col., 1992) o inhibir (Schaeffer y Sirotkin, 1995) la secreción de P<sub>4</sub> por esas células.

La administración del ácido gama aminobutírico (GABA) en la *bursa* ovárica de ratas pseudo-preñadas disminuye la producción de P<sub>4</sub> (Erdö y col., 1985; Laszlo y col., 1989), lo que significa que este neurotransmisor juega un papel inhibitorio en la secreción de esta hormona.

Los efectos moduladores de los neurotransmisores antes mencionados indican que la inervación del ovario juega un papel importante en su actividad esteroideogénica, en especial sobre la secreción de P<sub>4</sub>.

## **INERVACIÓN DEL OVARIO**

En su mayoría, la inervación extrínseca del ovario esta compuesta por fibras sensoriales y simpáticas, y en menor proporción de componentes parasimpáticos. La inervación simpática se compone de neuronas catecolaminérgicas y neuronas que sintetizan el neuropéptido Y (NPY), fibras sensoriales que liberan a la substancia P (SP) y fibras relacionadas con el gen que libera la calcitocina (CGRP). El ovario es también inervado por fibras nerviosas que contienen al péptido intestinal

vasoactivo (VIP) y al polipéptido activador del adenilato ciclasa de la pituitaria (PACAP) (Dissen y Ojeda, 1999):

Los dos nervios simpáticos que inervan al ovario de los mamíferos son: el nervio del plexo ovárico (NPO) que en la rata corre a lo largo de la arteria del ovario y el nervio ovárico superior (NOS), el cual está asociado con el ligamento suspensorio que se une al ovario, oviducto y al útero (Dissen y Ojeda, 1999). Ambas vías se originan en neuronas postganglionares localizadas en el complejo ganglionar superior celiaco-mesentérico, pero también contienen componentes del ganglio dorsal.

La inervación parasimpática que recibe el ovario proviene del nervio vago. El uso de técnicas de trazado retrógrado muestra que el soma de las neuronas de los nervios que inervan al ovario y que provienen del nervio vago, se localizan en el ganglio nodoso y en las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T10 a L2 de la médula espinal, lo que ha llevado a sugerir que parte de los nervios ováricos, especialmente los parasimpáticos, son de naturaleza sensorial (Burden y col., 1993).

En el NOS se han detectado algunos neurotransmisores de naturaleza peptídica, como el VIP, SP y GABA (Aguado, 2002).

Otro neurotransmisor que ha sido detectado en el ovario es el óxido nítrico (ON), de naturaleza gaseosa, reconocido como un mensajero molecular intra y extracelular (Brann y col., 1997). En la mujer, actúa como factor luteolítico (Fridén y col., 2000).

En el ovario de la rata adulta existen receptores  $\beta_2$  cuya densidad varía durante el ciclo estral, y se asocia con la liberación de  $P_4$  (Aguado y col., 1982).

La secreción de  $P_4$  por los ovarios de ratas prepúberes o adultas hemiovariectomizadas en diestro-1 o diestro-2, puede ser modificada al ser estimulados *in vitro* con adrenalina. En diestro-1, la adrenalina incrementa la concentración de  $P_4$  desde los siete y hasta los 21 minutos posteriores a la adición del fármaco al medio; mientras que en diestro-2 la



disminuye desde el primero y hasta el minuto veinticinco (De Bortoli y col., 2000).

En el día del diestro-2, el bloqueo de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos del ganglio celiaco con propranolol causa incremento en la liberación de  $P_4$ . En cambio, en diestro-1 no hay modificaciones significativas (Sosa y col., 2000).

En el diestro-1, la adición simultánea de noradrenalina en el ganglio celiaco y de LH en el ovario provocan aumento de la secreción de  $P_4$ , pero la disminuyen cuando este tratamiento se realiza en diestro-2 (Sosa y col., 2000).

El bloqueo de los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos provoca una importante liberación de  $P_4$  en la tarde del proestro. En el día del estro, el bloqueo de ambos receptores (tanto  $\alpha$  y  $\beta$ ) incrementan la liberación de la hormona (Aguado, 2002).

La estimulación eléctrica del NOS en el día del diestro-1 provoca la liberación de  $P_4$ ; un efecto opuesto se observa cuando se secciona el nervio en el día del proestro (Aguado y Ojeda, 1984c).

## **LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES**

Estas glándulas endocrinas que secretan diversas hormonas, están situadas inmediatamente por encima de los riñones. Son un par de estructuras constituidas por una corteza y una médula, recubiertas por una cápsula de tejido conectivo. Ambas zonas constituyen dos tejidos endocrinos distintos, con diferente origen embrionario: la corteza, que procede del mesodermo, y la médula, que deriva del neuroectodermo (Tresguerres, 1999). En los mamíferos adultos, la corteza está dividida en tres zonas claramente delimitadas: la zona externa ó zona glomerular, la

zona fascicular y la zona reticular. La médula es la parte más interna de la glándula y no presenta divisiones (Ganong, 1994).

La corteza suprarrenal secreta glucocorticoides, esteroides con extensos efectos sobre el metabolismo de los carbohidratos y proteínas; la aldosterona (mineralocorticoide) esencial para el mantenimiento del equilibrio de sodio y el volumen del líquido extra celular; y hormonas sexuales, que ejercen efectos considerables sobre las funciones reproductoras.

Las secreciones principales de la médula son las catecolaminas: adrenalina y noradrenalina (Ganong, 1994).

La síntesis de los esteroides sexuales se produce en gran parte en la zona reticular. Cantidades importantes de precursores de esteroides con actividad androgénica débil son secretadas y convertidas en testosterona y estradiol por los tejidos periféricos. Estos precursores, androstenediona y dihidro-epiandrosterona (DHEA), son sintetizados a partir de la 17-OH-progesterona o de la 17-OH-pregnenolona, respectivamente (Berne y Matthew, 1992).

La glándula adrenal recibe inervación tanto pre-ganglionar como post-ganglionar. Se ha sugerido la presencia de fibras nerviosas sensoriales aferentes a la corteza y a la médula, cuyos cuerpos neuronales se localizan en el ganglio de la raíz dorsal (Parker y col., 1993).

Algunos nervios vagales adrenales eferentes provienen directamente del núcleo motor del nervio vago; otras terminales vagales se han observadas en los ganglios suprarrenal y celiaco (Gerendai y col., 1997).

La corteza adrenal contiene una compleja inervación autonómica: una parte inerva sólo la corteza y es independiente del nervio esplácnico, mientras que la otra parte parece originarse en la médula adrenal y esta regulada por la actividad del nervio esplácnico (Holzwarth y col., 1987; Parker y col., 1993). Una gran proporción de fibras nerviosas son noradrenérgicas, conteniendo también NPY y VIP (Oomori y col., 1994; Vizi

y col. 1993). La inervación de la glándula juega un importante papel en la regulación de sus funciones (Vinson y col., 1994; Vizi col., 1992).

### **ASIMETRÍAS MORFOLÓGICAS Y FUNCIONALES EN LOS OVARIOS Y LAS GLÁNDULAS SUPRARRENALES**

En la rata, el ovario izquierdo ovula más ovocitos que el ovario derecho (Domínguez y col., 1989). Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovulan en el día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Chavez y col., 1987). En la rata hemiovariectomizada y adrenalectomizada, el ovario izquierdo secreta más testosterona que el ovario derecho, una hora después de efectuada la cirugía (Barco y col., 2003).

Por estudios histológicos se ha mostrado que el ovario derecho es más rico en inervación simpática que el izquierdo (Klein y Burden, 1988). En ratas a las que se les ha extirpado el ovario derecho, la sección del nervio vago izquierdo incrementa la proporción de animales ovulantes, la hipertrofia compensadora del ovario y el número de ovocitos liberados; en cambio, en las ratas a las que se les quita el ovario izquierdo, la sección del nervio provoca efectos contrarios (Chávez y col., 1987). La sección unilateral del nervio ovárico superior disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario que se localiza del mismo lado que se seccionó el nervio, sin modificar la cuota ovulatoria del ovario opuesto. (Morales y col., 1993).

En la rata, la adrenal izquierda pesa más que la derecha (Gerendai y Halász, 1997). El crecimiento compensatorio de la suprarrenal es regulado por el sistema nervioso, ya que este crecimiento puede ser bloqueado por lesiones en el hipotálamo ipsilateral a la adrenal extirpada (Holzwarth y Dallman, 1979), por hemitransecciones del cordón espinal hasta T2 contralateral a la glándula extirpada (Engeland y Dallman, 1976) ó después de una simpatectomía química (Kleitman y Holzwarth, 1985). La

evidencia más convincente de una mediación neural de la respuesta compensatoria de la adrenal fue dada por Dallman y col. (1976), quienes observaron que la manipulación de la adrenal estimula la síntesis de ADN en la glándula contralateral, sugiriendo que esta rápida respuesta proliferativa es mediada por un reflejo nervioso autónomo, que involucra un componente neural que surge de la adrenal manipulada y un componente nervioso aferente a la glándula contralateral. La estimulación del nervio esplácnico altera significativamente la actividad adrenocortical; la transección de este nervio en ratas con adrenalectomía unilateral reduce la concentración de corticosterona por la noche pero no por la mañana (Gerendai y Halász, 1997).

## JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La ovulación es el fenómeno biológico final que resulta de interacciones neuroendocrinas entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios. Cada una de estas estructuras participa mediante la secreción de hormonas y señales nerviosas. La  $P_4$  es una de las hormonas que modulan la función secretora del hipotálamo y la hipófisis. Durante el ciclo estral esta hormona regula o potencia los efectos estimulantes o inhibitorios del estradiol sobre la secreción de la GnRH y las gonadotropinas, eventos de los que depende la ovulación. Previamente se mostró que la extirpación de ambas glándulas adrenales (adrenalectomía) provoca disminución en el número de ovocitos liberados (Jacobs y Pepler, 1980). En el día del estro, la adrenalectomía disminuye en un 50% la concentración sérica de  $P_4$  respecto al animal testigo, lo que sugiere que en este día del ciclo, las glándulas suprarrenales secretan a la circulación la mitad de la  $P_4$  que se encuentra en la sangre (Barco y col., 2003). Estas glándulas regulan de manera inhibitoria la secreción de  $P_4$  por parte de los ovarios, ya que la adrenalectomía en animales con ovariectomía unilateral incrementa la concentración de la hormona con respecto al animal adrenalectomizado (Barco y col., 2003). Estos resultados indican que las adrenales regulan a su vez la función de los ovarios. Sin embargo, se desconoce el aporte de las glándulas adrenales y los ovarios en la concentración plasmática de  $P_4$  en los otros días del ciclo estral. Por tanto, en este proyecto se pretende analizar la contribución de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la concentración plasmática de  $P_4$  en los diferentes días del ciclo estral.

**HIPÓTESIS:**

Dado que los ovarios y las suprarrenales secretan  $P_4$ , la extirpación uni o bilateral de una u otra glándula modificará de manera diferencial la concentración de esta hormona en el suero de la rata, hecho que dependerá a su vez, del día del ciclo estral y de la glándula extirpada.

**OBJETIVOS GENERALES:**

Estudiar el papel de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la concentración sérica de  $P_4$  durante el ciclo estral de la rata.

Analizar si las suprarrenales y los ovarios del lado izquierdo y derecho secretan progesterona de manera asimétrica

**OBJETIVOS PARTICULARES:**

Cuantificar los cambios en las concentraciones séricas de  $P_4$  en ratas ovariectomizadas en los diferentes días del ciclo estral de la rata.

Cuantificar los cambios en las concentraciones séricas de  $P_4$  en ratas adrenalectomizadas en los diferentes días del ciclo estral de la rata.

Cuantificar los cambios en las concentraciones séricas de  $P_4$  en ratas adrenalectomizadas y ovariectomizadas de los lados izquierdo o derecho, en los diferentes días del ciclo estral.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Animales**

Se utilizaron ratas hembras adultas vírgenes de la cepa CIIZ-V, de tres meses de edad (195-225g de peso), mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luz de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al agua y al alimento (Purina S.A., México). Se les tomó el frotis vaginal diariamente y sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron tres ciclos consecutivos de cuatro días de duración.

Los animales fueron seleccionados al azar en los siguientes grupos experimentales (8-10 animales por grupo).

### **Grupos Experimentales**

**Grupo de Animales Intactos.** Ratas cíclicas sin tratamiento fueron sacrificadas a las 14:00 horas del día del diestro-1, diestro-2 o proestro.

**Anestesia.** A las 13:00 h del día del diestro-1, diestro-2 ó proestro grupos de ratas fueron anestesiadas con éter durante 8 a 10 minutos, que es el tiempo que se necesita para realizar las cirugías efectuadas, y fueron sacrificadas una hora después.

**Perforación del peritoneo (PP).** Ratas en diestro-1, diestro-2 ó proestro fueron anestesiadas con éter a las 13:00 horas, e inmediatamente se les hizo una incisión de la piel y de la cavidad peritoneal en el lado izquierdo (PPI) o derecho (PPD), ó en ambos (PPB) lados del dorso, aproximadamente 1.5 cm por debajo de la última costilla, e inmediatamente después se suturó la incisión. Los animales fueron sacrificados una hora después.

**Ovariectomía unilateral (Ovx).** A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo PP se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D). Los animales fueron sacrificados una hora después.

**Ovariectomía (Ovx).** A las 13:00 horas del día del diestro-1, diestro-2 ó proestro se extirparon ambos ovarios y los animales se sacrificaron una hora después de la cirugía.

**Adrenalectomía (Adx).** Ratas en diestro-1, diestro-2 ó proestro, fueron anestesiadas a las 13:00 horas, y mediante una incisión en el peritoneo se extrajo la adrenal izquierda (Adx-I), derecha (Adx-D) o ambas (Adx), los animales fueron sacrificados una hora después de la cirugía.

**Adrenalectomía Bilateral y Ovariectomía (Adx + Ovx).** A la misma hora y días del ciclo que los grupos anteriores, a grupos de ratas se les extirpo ambas suprarrenales y se les quitó uno u otro ovario; los animales fueron sacrificados una hora después de la cirugía.

### **Procedimiento de Autopsia**

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación. Se recogió la sangre del tronco, la que se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos, y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos. El suero se almacenó a -20°C, hasta la cuantificación de P<sub>4</sub> por radioinmunoanálisis (RIA).

### **Cuantificación de Hormonas**

La cuantificación de P<sub>4</sub> se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida para lo cual se utilizó un estuche (COat-A-Count, USA), que consiste de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales de hormona marcada (<sup>125</sup>I Progesterona) y 7 calibradores para la realización de la curva patrón (0.02, 0.1, 0.5, 2.0, 10.0, 20.0 y 40.0



ng/ml). A cada tubo se le adicionaron 100  $\mu$ l de suero problema, más 1000  $\mu$ l de la hormona marcada. Todos los tubos se agitaron y se incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante de cada tubo, se secaron las paredes del mismo y se colocaron en un contador de centelleo gama para su análisis. La concentración de  $P_4$  se expresa en ng/ml de suero.

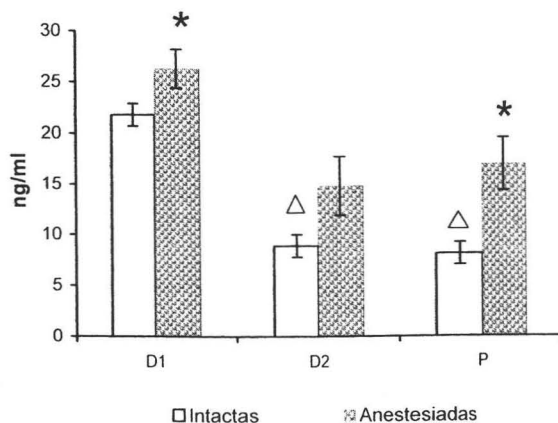
### **Análisis Estadístico**

Los datos de las concentraciones séricas de  $P_4$  fueron analizados mediante la prueba de análisis multivariado de las varianzas (MANOVA), seguida de la prueba de Tukey. En los casos en que se compararon dos grupos, el análisis se realizó por medio de la prueba de "t" de Student. En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al 0.05.

## RESULTADOS

En animales intactos, la concentración de  $P_4$  es mayor en el día del diestro-1 respecto al diestro-2 o proestro (Gráfica 2).

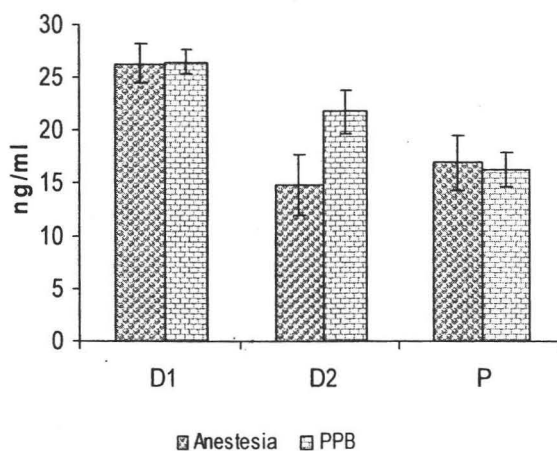
En comparación con el grupo de animales intactos, la anestesia con éter aumentó la concentración sérica de  $P_4$ , aunque este efecto sólo fue significativo en diestro-1 y proestro (Gráfica 2).



**Gráfica 2.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas intactas o anestesiadas con éter, en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

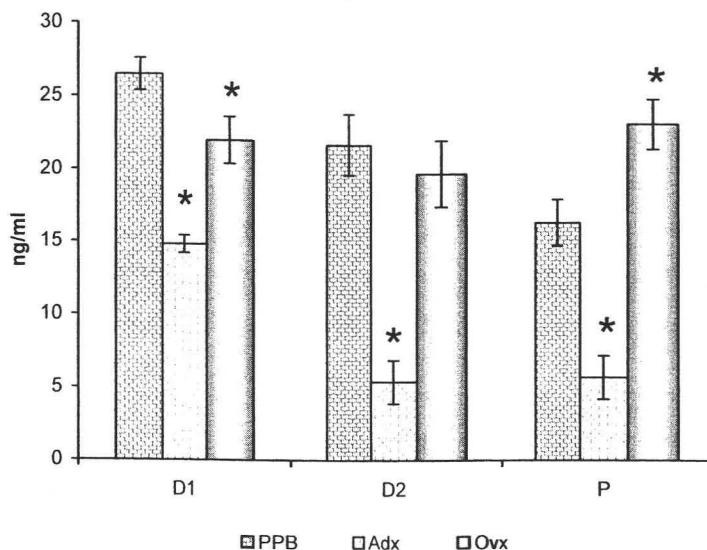
$\Delta p < 0.05$  vs. diestro-1 (MANOVA seguida de la prueba de Tukey); \* $p < 0.05$  vs. intacto. (Prueba "t" de Student).

En comparación con los animales anestesiados, la perforación bilateral del peritoneo (PPB) no modificó la concentración de  $P_4$  en ninguno de los días del ciclo estral (Gráfica 3).



**Gráfica 3.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas anestesiadas o anestesiadas con perforación bilateral del peritoneo (PPB), en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

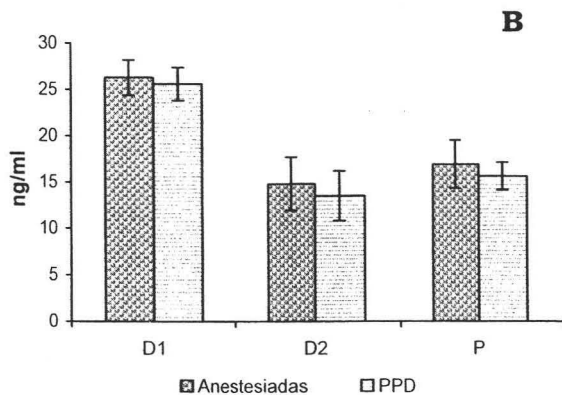
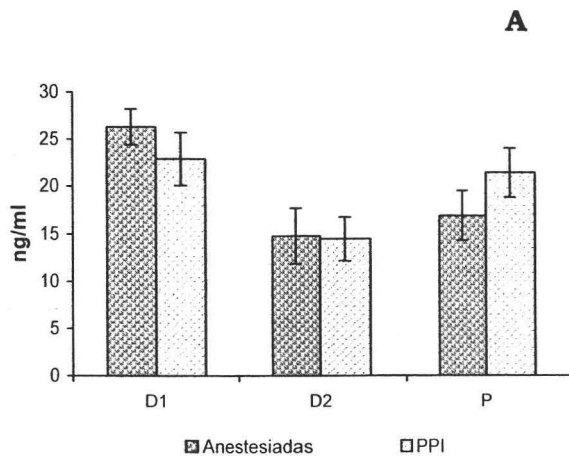
En el diestro-1, tanto la adrenalectomía como la ovariectomía disminuyeron la concentración de P<sub>4</sub>. En diestro-2, sólo la adrenalectomía disminuyó la concentración de la hormona. En proestro, la Adx disminuyó la concentración de P<sub>4</sub>, mientras que la Ovx la aumentó (Gráfica 4).



**Gráfica 4.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas con perforación bilateral del peritoneo (PPB), con adrenalectomía (Adx) o con ovariectomía (Ovx) en diestro-1 (D-1), diestro-2 (D2) ó proestro (P).

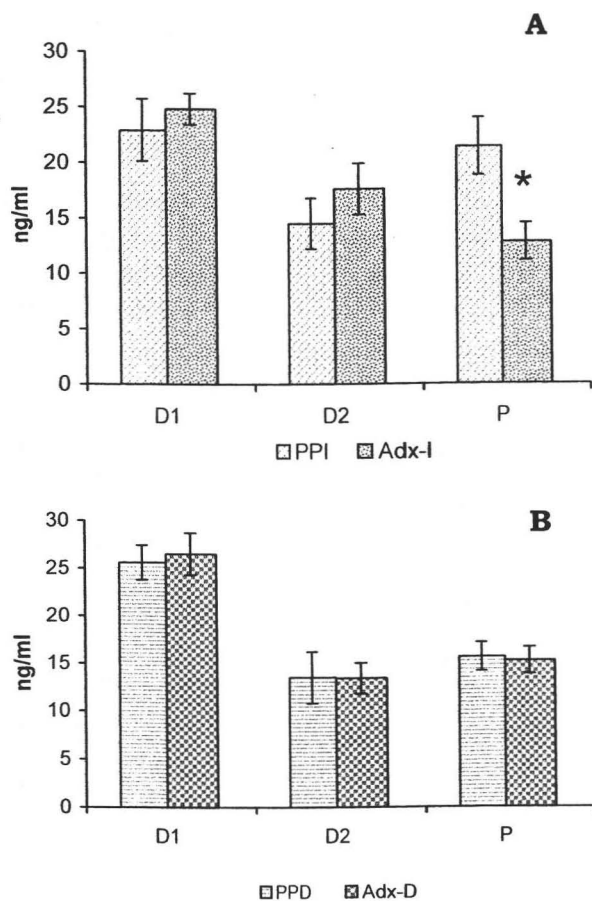
\* $p < 0.05$  vs. PPB (Prueba "t" de Student).

La perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI) (Gráfica 5, panel A) o del lado derecho (PPD) (Gráfica 5, panel B) no modificaron la concentración de  $P_4$  con respecto a los animales anestesiados.



**Gráfica 5.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas anestesiadas o anestesiadas con perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI, panel A) o del lado derecho (PPD, panel B), en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

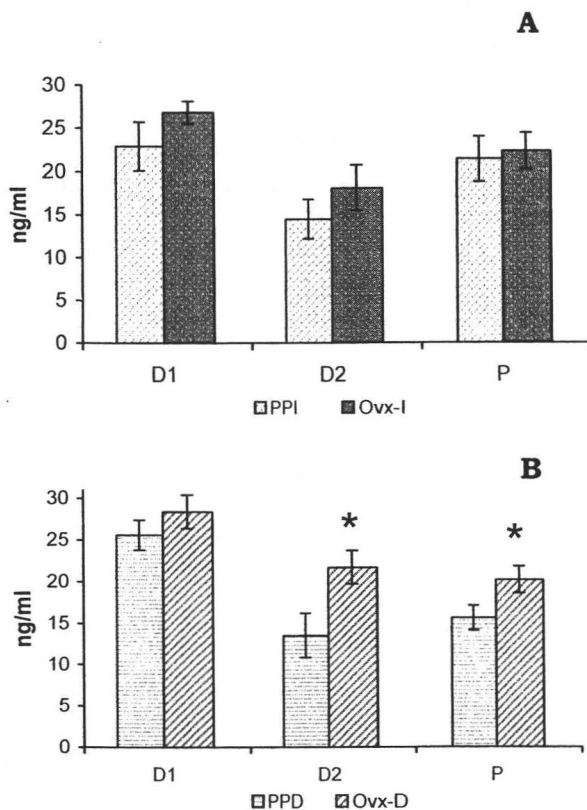
En comparación con los animales con perforación del peritoneo, la extirpación de la adrenal izquierda (Gráfica 6, panel A) disminuyó significativamente la concentración de P<sub>4</sub>, en el día del proestro mientras que la extirpación de la adrenal derecha (Gráfica 6, panel B), no la modificó.



**Gráfica 6.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas con perforación del peritoneo (PPI), ó adrenalectomía del lado izquierdo (Adx-I): (panel A); o perforación del lado derecho (PPD) o Adx-D: (panel B), realizadas en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

\* $p < 0.05$  vs. PP del mismo lado (Prueba "t" de Student).

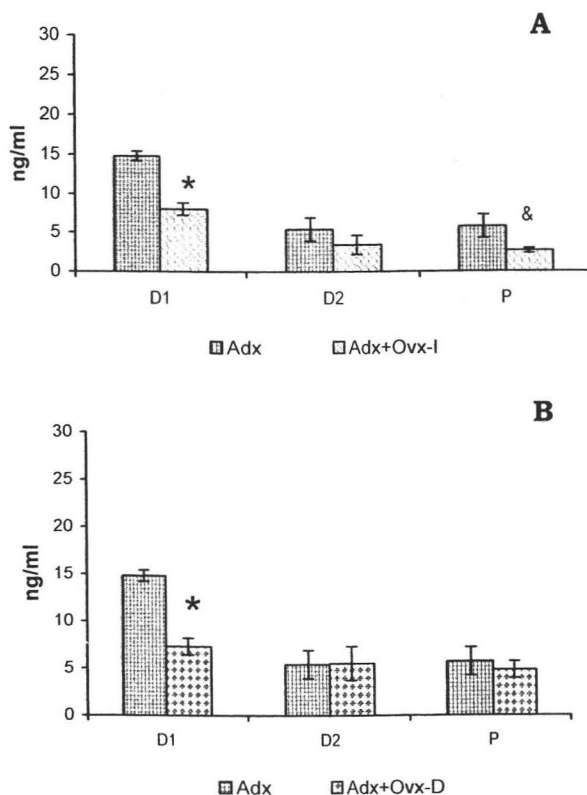
La extirpación del ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), realizada en los diferentes días del ciclo no provocó modificaciones en la concentración de P<sub>4</sub> (Gráfica 7, panel A). En cambio, la extirpación del ovario derecho (ovario izquierdo *in situ*), realizada en diestro-2 o proestro, resultó en un aumento significativo en la concentración de la hormona (Gráfica 7, panel B).



**Gráfica 7.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas, con perforación del peritoneo (PPI) u ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I) (panel A) ó del lado derecho (PPD, Ovx-D) (panel B), realizadas en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

\*  $p < 0.05$  vs. grupo con PP del mismo lado (Prueba "t" de Student).

En animales con adrenalectomía, la ovariectomía unilateral izquierda (ovario derecho *in situ*) (Gráfica 8, panel A) o derecha (ovario izquierdo *in situ*) (Gráfica 8, panel B) realizadas en el día del diestro-1 resultaron en una disminución significativa en la concentración sérica de P<sub>4</sub>; efectos que no se observaron en diestro-2 o proestro. En el día del proestro, la concentración de la hormona fue significativamente menor en ratas con adrenalectomía y ovariectomía unilateral izquierda respecto a las adrenalectomizadas con ovariectomía unilateral derecha (Gráfica 8).



**Gráfica 8.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en ratas con adrenalectomía bilateral y ovariectomía del lado izquierdo (Adx+Ovx-I, panel A) o adrenalectomía bilateral y ovariectomía del lado derecho (Adx+Ovx-D, panel B), realizados en diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro (P).

\*  $p < 0.05$  vs. Adx (Prueba "t" de Student); &  $p < 0.05$  vs. Adx+Ovx-D (Prueba "t" de Student).



## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir que la contribución de las adrenales y los ovarios a la concentración sérica de  $P_4$  cambia durante el ciclo estral. La función secretora de las glándulas suprarrenales es regulada de manera inhibitoria por el ovario derecho.

El aumento en la concentración de  $P_4$  provocada por la anestesia con éter puede ser explicado como un mecanismo de respuesta del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA). Al parecer, el éter actuaría estimulando la secreción de corticosterona, la que a su vez regularía la secreción de ACTH; por medio de catecolaminas (Murakami y col., 1997). En cuyos machos, la ACTH no modifica la concentración plasmática de LH pero aumenta la de  $P_4$  (Fenske, 1997); en cultivos de células adrenales, la ACTH estimula la liberación de  $P_4$ , androstenediona y cortisol (Fenske, 1997). En animales sometidos a estrés mediante la inyección de cocaína (droga que incrementa la liberación de ACTH y corticosterona) aumenta la concentración de  $P_4$ , la que en su mayoría es de origen adrenal (Walker y col., 2001). Aún cuando la perforación bilateral del peritoneo no modificó la concentración de  $P_4$  respecto a las ratas anestesiadas, podemos considerar que los dos tratamientos son respuesta al estrés que provoca la cirugía. Dallman y col. (1975) mostraron que la concentración de ACTH y corticosterona aumentan en las dos primeras horas después de la perforación del peritoneo y aún de la manipulación de la adrenal.

Dado que la adrenalectomía realizada en cualquiera de los días del ciclo, resultó en una disminución significativa de la concentración de la  $P_4$ , podemos considerar que la mayor parte de la  $P_4$  medida después de la anestesia o la perforación de ambos lados del peritoneo, es de origen adrenal.

La cantidad de  $P_4$  secretada por las adrenales varía durante el ciclo estral; su menor contribución a la concentración sérica de la hormona ocurre en diestro-1 y aumenta en el proestro. Una posible explicación a este fenómeno sería que la actividad del eje HPA cambie durante el ciclo

estral de la rata. Durante el ciclo estral, la concentración de corticosterona varía, la que aumenta progresivamente del estro al proestro (Atkinson y Waddell, 1997). Una explicación al hecho que en el día del proestro las adrenales secretan más  $P_4$  que en los otros días del ciclo radicaría en el posible papel de ésta hormona como modulador del momento en que ocurre la secreción preovulatoria de la LH, facilitando el efecto inhibitorio de los estrógenos sobre la liberación de ésta (Salicioni y col., 1993).

Con base en los resultados obtenidos en los animales ovariectomizados postulamos que la contribución de los ovarios a la concentración sérica de  $P_4$  es inversa a la de las adrenales es decir descende del diestro-1 al proestro. Estos resultados nos llevan a sugerir la existencia de un vínculo funcional de tipo inhibitorio de los ovarios sobre las adrenales en la secreción de esta hormona. Previamente se ha propuesto que los estrógenos modulan el eje HPA mediante una reducción en la sensibilidad de la hipófisis al "feedback" inhibitorio de la corticosterona sobre la secreción de ACTH (Burgess y Handa, 1992). Se ha mostrado que los estrógenos aumentan la concentración de  $P_4$ , ya que en ratas ovariectomizadas tratadas con benzoato de estradiol, la concentración de la hormona aumenta significativamente (Salicioni y col., 1993).

Kitay y colaboradores (1963a, 1965) mostraron que la ovariectomía provoca disminución en la secreción de corticosterona y la que es estimulada al inyectar estradiol. Este efecto estimulante del estradiol sobre la esteroidogénesis de las adrenales se debe al aumento en la conversión de colesterol a pregnenolona (Kitay, 1963b).

Vamvakopoulos y Chrousos (1994) mostraron que los estrógenos regulan de manera estimulante la expresión del gen del factor estimulante de la secreción de corticotropina en el hipotálamo.

Otra posible explicación sería que este vínculo funcional ocurra por medio del ganglio celiaco. La mayoría de las neuronas que constituyen el NOS se localizan en éste ganglio (Sarper y col., 1976). El plexo celiaco

recibe fibras del nervio esplácnico y del vago. Se ha sugerido que las fibras VIPérgicas contenidas en el nervio ovárico superior derivan del nervio esplácnico, del vago y del ganglio suprarrenal (Baljet y Drukker, 1980). Por medio de estudios *in vitro* se ha mostrado que el estradiol estimula la secreción basal de corticosterona (pero no de ACTH) al activar la enzima P<sub>450sc</sub> y convertir 25-OH-colesterol a pregnelonona (Nowak y col., 1995; Kau y col., 1999). En la rata macho Malendowicz (1976) mostró que la orquidectomía provoca aumento del peso de las adrenales y que tanto la testosterona como el estradiol inhiben la actividad 5 $\alpha$ -reductasa en la adrenal. Recientemente se ha mostrado que las glándulas adrenales de oveja tienen receptores a estrógenos del tipo  $\alpha$ , los que aumentan después de la castración (Van Lier y col., 2003).

Dado que en el día del proestro (etapa en la que las adrenales contribuyen en mayor proporción a la concentración sérica de P<sub>4</sub>) la extirpación de la adrenal izquierda disminuyó significativamente la concentración de la hormona, sugerimos que la glándula adrenal izquierda secreta más P<sub>4</sub> que la derecha y ésta última no es capaz de compensar la falta de la izquierda. Aunque se sabe que en la rata la adrenal izquierda pesa más que la derecha (Gerendai y Halász, 1997), se desconoce si esta diferencia de peso implique diferente capacidad sintética de las diferentes hormonas; la que estaría regulada por diferencias en la información neural aferente a cada glándula, como sucede con los ovarios (Klein y Burden, 1988; Domínguez y col., 2003).

El efecto inhibitorio de los ovarios sobre las adrenales estaría regulado por el ovario derecho, ya que la extirpación de este ovario en diestro-2 o proestro, incrementó la concentración de P<sub>4</sub>. Esta asimetría funcional puede estar vinculada a las diferencias en la inervación que presentan ambos ovarios (Klein y Burden, 1988; Domínguez y col., 2003). Otro posible mecanismo para explicar las diferencias en la capacidad de respuesta del ovario derecho e izquierdo en la secreción de P<sub>4</sub> puede ser las modificaciones en la concentración del NPY en respuesta al estrés. Hay

evidencias de que el NPY está involucrado en la respuesta al estrés, de hecho se le ha considerado como una “molécula de estrés”, ya que en dichas condiciones aumenta la concentración de NPY en plasma (Zukowska-Grojec, 1995). En el ovario, el NPY estimula la secreción de P<sub>4</sub> por las células luteales (Miyamoto y col., 1993; Pitzel y col., 1991) y no afecta la secreción de esta hormona por parte de las adrenales (Neri y col., 1990).

Según De Bortoli y col (1998), los receptores  $\beta$ -adrenérgicos participan en la regulación de la secreción de P<sub>4</sub> por el ovario en el día del diestro-2, por lo que el aumento de la concentración de P<sub>4</sub> en el día del diestro-2 y proestro, estaría regulado por la estimulación adrenérgica originada en el sistema nervioso central.

En diestro-1 ninguno de los ovarios puede compensar la secreción de P<sub>4</sub> de origen adrenal y del ovario extirpado, no así en diestro-2 o proestro. En estos dos últimos días del ciclo, sólo el ovario izquierdo es capaz de restablecer la concentración de P<sub>4</sub> que se observa en los animales intactos (animales con dos adrenales y dos ovarios). Como se señaló en los párrafos anteriores esta función asimétrica de los ovarios en la secreción de P<sub>4</sub> sería el resultado de diferencias en la inervación que recibe cada ovario.

Los resultados obtenidos en esta tesis derivan del análisis de los efectos producidos por la ausencia parcial o total de alguna de las glándulas estudiadas, por lo que sugerimos continuar este estudio en forma horaria hasta que el sistema muestre “estabilidad”, con la finalidad de corroborar o refutar las sugerencias y conclusiones planteadas.

## CONCLUSIONES

- Tanto las adrenales como los ovarios secretan  $P_4$  y su contribución varía durante el ciclo estral.
- El aporte de  $P_4$  por las adrenales aumenta conforme transcurre el ciclo estral, mientras que el de los ovarios es en sentido inverso.
- Los ovarios ejercen un efecto inhibitorio sobre la secreción de  $P_4$  por las adrenales.
- La capacidad secretora de las adrenales y los ovarios es asimétrica, siendo las glándulas del lado izquierdo las que secretan más  $P_4$  que las del lado derecho.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Adashi E.Y. y Hsueh A.J. 1981. Stimulation of  $\beta_2$ -adrenergic responsiveness by follicle stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 108:2170-2178.
2. Aguado L.I.; Petrovic S.L y Ojeda S.R. 1982. Ovarian  $\beta$ -adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 110:1124-1132.
3. Aguado L.I. y Ojeda S.R. 1984a. Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology* 114:1845-1853.
4. Aguado L.I. y Ojeda S.R. 1984c. Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114:1944-1946.
5. Aguado L.I. 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microscopy Research and Technique* 59: 462-473.
6. Atkinson H.C. y Waddell B.J.1997. Circadian variation in basal plasma corticosterone and adrenocorticotropin in the rat: sexual dimorphism and changes across the estrous cycle. *Endocrinology* 138:3842-3848.
7. Baljet B. y Drukker J. 1980. The extrinsic innervation of pelvic organ in the female rat. *Acta Anat* 107: 241-267.
8. Barco A.I; Chavira R; Domínguez R; Flores A. y Cruz M.E. 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine*; 21:209-215.
9. Bentley P.J. 2001. Sex Hormones in vertebrates. *Encyclopedia of life sciences*. Nature Publishing group.

10. Behrman H.R; Luborsky-Moore J.L; Pang C.Y; Wright K. y Dorflinger L.J. 1979. Mechanims of  $PGF_{2\alpha}$  action in functional luteolysis. In: Channing C.P; Marsh J y Sadler W.A. Eds. Ovarian Follicular an Corpus Luteum Function. Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol.112 New York: Plenum Press, 557-571.
11. Berne M.D. y Matthew N.L. 1992. Fisiología, Mosby/Doyma, España pp 155-168.
12. Bodis J; Torok A; Tinneberg H.R; Hanf V; Hamori M. y Cledon P. 1992. Influence of serotonin on progesterone and estradiol secretion of cultured human granulosa cells. *Fertil Steril* 57:1008-1011.
13. Bonifacino, J.S y Dufau, M.L. 1984. Prolactin receptors in the ovary. En: Hormone receptors in growth and reproduction. Ed. B.B. Saxena. Raven Press, New York; pp. 149-163.
14. Borel J.D; Randox A; Peuch C.L y Maquart F.X. 1989. Bioquímica Dinámica. Editorial Medica Panamericana, Buenos Aires; Argentina pp 405-443.
15. Brann D; Bhat G; Camar Ch y Mahesh V. 1997. Gaseous transmitters and neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 65:385-395.
16. Burden H.W; Leonard M, Smith C.P. y Lawrence J.E Jr. 1993. The sensory innervation of the ovary: a horsereadish peroxidase study in the rat. *The Anatomical record* 207:623-627.
17. Burgess L.H. y Handa R.J. 1992. Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterona secretion, and glucocorticoid receptor-mediated functions in female rats. *Endocrinology* 131:1261-1269.
18. Camacho-Arroyo I; Pérez-Palacios G; Pasapera A.M. y Cerbon M.A. 1994. Intacellular progesterone receptors are differentially regulated by sex steroid hormones in the hypothalamus and cerebral cortex of the rabbit. *J Steroid Biochem Molec Biol* 50:299-303.

19. Cantarow A. y Schepartz B. 1989. Bioquímica. 4<sup>a</sup> edición Editorial Interamericana S.A. de C.V. México, D.F. pp 661-695.
20. Chávez R; Cruz M.E. y Domínguez R. 1987. Differences in the ovulation rate of the right and left ovary unilaterally ovariectomized rats: Effects of ipsi-and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113:397-401.
21. Condon W.A. y Black D.L. 1976. Catecholamine-induced stimulation of progesterone by the bovine corpus luteum in vitro. *Biol Reprod* 15:573-578.
22. Dallman M.F; Engeland W.C. y Mc Bride M.H. 1975. The neural regulation of compensatory adrenal growth. *Annals New York Academy of Sciences*. 373-393.
23. Dallman M.F; Engeland W.C. y Shinsako J. 1976. Compensatory adrenal growth: A neurally mediated reflex. *Am J Physiol* 231:408-414.
24. De Bortoli M.A; Garraza H. y Aguado L.I. 1998. Adrenergic intracerebroventricular stimulation affects progesterone concentration in the ovarian vein of the rat: participation of the superior ovarian nerve. *Journal of Endocrinology* 159:61-68.
25. De Bortoli M.A; Garraza H. y Aguado L.I. 2000. Epinephrine intracerebroventricular stimulation modifies the LH effect on ovarian progesterone and androstenedione release. *J Steroid Biochem Mol Biol* 74:19-24.
26. Dissen G.A. y Ojeda S.R. 1999. Ovarian Innervation In: *Encyclopedia of Reproduction*. Editores Knobil E y Nelly J.D. New York academic Press. Pag. 583-589.
27. Domínguez R; Cruz M.E. y Chávez R. 1989. Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En *Growth factors and the ovary*. Anne M. Hirshfield (Ed). Plenum Press Nueva York. pp:321-325.



28. Domínguez R; Chávez R. y Cruz M.E. 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico En: Tópicos selectos en Biología de la Reproducción. Editorial UAM-Porrúa, México D.F. pp 163-193.
29. Domínguez R; Morales L. y Cruz M.E. 2003. Ovarian asymmetry. ARBS 5: 94-104.
30. Engeland W.C. y Dallman M.F. 1976. Neural mediation of compensatory adrenal growth. Endocrinology 99:1659-1663.
31. Erdő S.L; Varga B. y Horvath E. 1985. Effect of local GABA administration on rat ovarian blood flow, and on progesterone and estradiol secretion. Eur J Pharmacol 111:397-404.
32. Erickson G.F. y Maggoffin A. 1983. The endocrine control of follicle androgen biosynthesis. J. Steroid. Biochem. 19:113-117.
33. Fenske M. 1997. Role of cortisol in the ACTH-induced supresión of testicular steroidogenesis in guinea pigs. Journal of Endocrinology 154(3):407-414.
34. Freeman M.E. 1994. The Neuroendocrine control of the rat oestrus cycle. En: The Physiology of Reproduction. Editores: Knobil E. y Neild, J.D. 2a. Edición, Vol. 2, cap. 46, Raven Press, Nueva York, pp. 613-658.
35. Fridén B; Runesson E; Hahlin M. y Brännström M. 2000. Evidence for nitric oxide acting as a luteolytic factor in the human corpus luteum. Mol Human Reprod 6:397-403.
36. Fritz S; Wessler I; Breetling R; Rossmannith W; Ojeda S.R; Dissen G.A; Amsterdam A. y Mayerhoffer. 2001. Expression of muscarinic receptor types in the primate ovary and evidence for nonneuronal acetylcholine synthesis. J Clin Endocrinol Metab 86:349-354.
37. Ganong W.F. 1994. Fisiología Médica. Ed. El Manual Moderno, S.A. de C. V., México, D.F. pp.385-387.
38. Gerendai I. y Halász B. 1997. Neuroendocrine Asymmetry. Frontiers in Neuroendocrinology 18:354-381.

39. Gilman A.G; Rall T.W; Nies A.S. y Taylor P. 1991. Las bases farmacológicas de la terapéutica 8<sup>a</sup> edición. Editorial medica Panamericana S.A. de C.V. México D.F. pp 1340-1366.
40. Godkin J.D; Black D.L. y Duby R.T. 1977. Stimulation of cyclic AMP and progesterone synthesis by LH, PGE<sub>2</sub> and isoproterenol in the bovine CL in vitro. *Biol Reprod* 17:514-518.
41. Gordon D.N. y Terry M.N. 1994. Corpus Luteum and its control in infrapimate species. En: *The Physiology of Reproduction*. Editores: Knobil E. y Neild, J.D. 2a. Edición, Vol. 1, cap. 14, Raven Press, Nueva York, pp. 781-805.
42. Gore-Langton R. E. 1988. Cyclosporine differentially affects estrogen and progestin synthesis by rat granulosa cells in vitro. *Mol Cell Endocrinol* 57:187-198.
43. Graham J.D. y Clarke C.L. 1997. Physiological action of progesterona in target tissue. *Endocr Rev* 18:502-519.
44. Greenspan 1999. *Endocrinología básica y clínica*. Editorial Reverté S.A. de C.V. México D.F. pp. 435-555.
45. Harwood J.P, Clayton R.N. y Catt K.J. 1980. Ovarian gonadotropin-releasing hormone receptors I. Properties and inhibition of luteal cell function. *Endocrinology* 107:407-413.
46. Herbison A.E; Heavens R.P. y Dyer R. 1990. Oestrogen modulation of excitatory A1 noradrenergic inputs to rat medial preoptic gamma aminobutyric acid neurones demonstrated by microdialysis. *Neuroendocrinology* 52:161-168.
47. Holzwarth M.A. y Dallman M.F. 1979. The effect of hypothalamic hemi-islands on compensatory adrenal growth. *Brain res* 162:33-43.
48. Holzwarth M.A; Cunningham L.A. y Kleitman N. 1987. The role of adrenal nerves in the regulation of adrenocortical functions. *Ann N Y Acad Sci* 512:449-464.

49. Hsueh A.J; Adashi E.Y; Jones P.B. y Welsh T.H. Jr. 1984. Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cell. *Endocr. Rev.* 5:76-127.
50. Humphrey H.C. y Janice M. Bahr. 1999. Ovary, Overview. En: *The physiology of Reproduction*. Editores: Knobil E. y Neild J.D. 2a Edición Vol. 3. Raven Press, Nueva York, pp 590-604.
51. Hutchison J.S; Nelson P.B; Zeleznik A. J. 1986. Effects of different gonadotropin pulse frecuencies on corpus luteum function during the menstrual cycle of rhesus monkeys. *Endocrinology* 119:1964-1971.
52. Jacobs J. y Peppler R. 1980. Adrenalectomy has a diferencial effect on the ovarian response of two strains of rat. *Journal of Endocrinology*; 87:242-246.
53. Kau M.M; Lo M.J; Wang S.W; Tsai S.C; Chen J.J; Chiao Y.C; Yeh J.Y; Lin H; Shum A.Y; Fang V.S; Ho L.T. y Wang P.S. 1999. Inhibition of aldosterone production by testosterone in male rats. *Metabolism* 48:1108-1114
54. Kawakami M; Kubo K; Uemura T; Nagase M. y Hayashi R. 1981. Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. *Endocrinology* 109: 136-145.
55. Kilen S.M. y Schwartz N.B. 1999. Estrous Cycle. *The physiology of reproduction*. Editores, Knobil E. and Neild J.D. 2a Edición Vol. 2 . Raven Press, Nueva York, pp 127-141.
56. Kitay J.I. 1963a. Pituitary-adrenal function in the rat after gonadectomy and gonadal hormone replacement. *Endocrinology* 73:253-260.
57. Kitay J.I. 1963b. Effects of estradiol on pituitary-adrenal function in male and female rats. *Endocrinology* 72:947-954.
58. Kitay J.I; Coyne M.D; Newsom W. y Nelson R. 1965. Relation of the ovary to adrenal corticosterone production and adrenal anzyme activity in the rat. *Endocrinology* 77:902-908.

59. Klein C.M. y Burden H.W. 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurosci Lett* 85:217-222.
60. Kleitman N. y Holzwarth M.A. 1985. Compensatory adrenal cortical growth is inhibited by sympathectomy. *Endocrinol Metab* 11:261-263.
61. Laszlo A; Villanyi P; Zsolnai B. y Erdő S.L. 1989. Gamma-aminobutyric acid, its related enzymes and receptor-binding sites in the human ovary and fallopian tube. *Gynecol Obstet Invest* 28:94-97.
62. Litwack G. y Schmidt T.J. 2000. Bioquímica de las hormonas II: Las hormonas esteroides. En: *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas 3era Edición*. Editor Devlin T.M. Reverté S.A. Barcelona, España, pp: 894-916.
63. Maggoffin A y Ericsson G.F. 1981. Mechanisms by which  $17\beta$ -estradiol inhibits ovarian androgen production in the rat. *Endocrinology* 108:962-969.
64. Malendowicz L.K. 1976. Sex differences in adrenocortical structure and function. III. The effects of postpubertal gonadectomy and gonadal hormone replacement on adrenal cholesterol sidechain cleavage activity and steroids biosynthesis by rat adrenal. *Endocrinology* 67:26-35.
65. Meizel S. y Turner K. 1991. Progesterone acts at the plasma membrane of human sperm. *Mol Cell Endocrinol* 77:1-5.
66. Miyamoto A; Bruckmann A; Von Iutzow H. y Schams D. 1993. *Journal of Endocrinology* 138:451-458.
67. Morales L; Chávez R. y Domínguez R. 1993. Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. *Med Sci Res* 21:15-17.

68. Murakami K; Akana S.F. y Dallman M.F. 1997. Dopamine-beta-hydroxylase activity is necessary for hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) responses to ether, and stress-induced facilitation of subsequent HPA responses to acute ether emerges as HPA responses are inhibited by increasing corticosterone (B). *J Endocrinol* 9(8):601-608.
69. Musgrove E.A; Lee C.S. y Sutherland R.L. 1991. Progestins both stimulate and inhibit breast cell cycle progression while increasing expression of transforming growth factor  $\alpha$  epidermal growth factor receptor, c-fos and e-myc genes. *Mol Cell Biol* 11:5032-5043.
70. Musgrove E.A; Hamilton J.A; Lee C.S; Sweeney K.J; Watts C.K. y Sutherland R.L. 1993. Growth factor, steroid, and steroid antagonist regulation on cyclin gene expression associated with changes in T47-D human breast cancer cell progression. *Mol Cell Biol* 13:3577-3587.
71. Neri G; Andreis P.G. y Nussdorfer G.G. 1990. Effects of neuropeptide Y and substance P on the secretory activity of dispersed zona glomerulosa cells of rat adrenal gland. *Neuropeptides* 17(3):121-125.
72. Ninomiya J.G; Coronado I. y Aguilar R. 1995. Fisiología humana. Endocrinología y metabolismo, Ed. Manual moderno, México D.F. pp 89-96.
73. Nowak K. W; Neri G; Nussdorfer G.G. y Malendowicz L. K. 1995. Effects of sex hormones on the steroidogenic activity of dispersed adrenocortical cells of the rat adrenal cortex. *Life Science* 57(9):833-837.
74. Oomori Y; Okuno S; Fujisawa H; Iuchi H; Ishikawa K; Satoh Y. y Ono K. 1994. Ganglion cells immunoreactive for catecholamine-synthesizing enzymes, neuropeptide Y and vasoactive intestinal polypeptide in the rat adrenal gland. *Cell Tissue Res* 275:201-213.
75. Parker T.L; Kesse W.K; Mohamed A.A. y Afework M. 1993. The innervation of the mammalian adrenal gland. *J. Anat.* 183:265-276.

76. Pelusso J.J; Downey M.C. y Gruenberg M.L. 1984. Role of LH pulse amplitude in controlling rat ovarian oestradiol-17 beta secretion in vitro. *J. Reprod. Fert.* 71:107-112.
77. Pérez-Palacios 1985. Mecanismos de acción de hormonas esteroides en bioquímica e inmunología. Vol 2 Cap VI Ed. Hicks, J y Díaz-Adaya J.C. UNAM. México pp 346-370.
78. Perrot-Aplanat M. y David- Ferreira J.F. 1982. Immunocytochemical localization of progesterone-binding protein P(BP) in guinea-pig placental tissue. *Cell Tissue Res* 223:1511-1519.
79. Pitzel L; Jarry H. y Wuttke W. 1991. Effects of substance P and neuropeptide Y on in vitro steroid release by porcine granulosa and luteal cells. *Endocrinology* 129 (2):1059-1065.
80. Renwick A.G. 1970. Metabolism and function of ovarian and testicular hormones. *J. Reprod Fertil Suppl* 12:55-64.
81. Rothchild I. 1965. Interrelations between progesterone and the ovary, pituitary and central nervous system in the control of ovulation and the regulation of progesterone secretion. *Vitam Horm* 23: 209-327.
82. Salicioni A.M; Carón R.W y Deis R.P. 1993. Adrenal progesterone facilitates the negative feedback of oestrogen on LH release in ovariectomized rats. *Journal of Endocrinology* 139:253-258.
83. Sarper C.B; Loewy A.D; Swanson L.W. y Cowan W. M. 1976. Direct hypothalamo-autonomic connections. *Brian Res* 117:305-316
84. Schaeffer C; Roos J. y Aron C. 1990. Lordosis behavior in intact male rats: effects of hormonal treatment and/or manipulation of the olfactory system. *Horm Behav* 24:50-61.
85. Schaeffer H.J. y Sirotkin A.V. 1995. Melatonin and serotonin directly regulate oxytocin, progesterone and insulin-like growth factor-I secretion from cultured human granulosa cells. *Adv Exp Med Biol* 395:547-548.

86. Schwall R.H. y Erickson G.C. 1984. Inhibition of synthesis of luteinizing hormone (LH) receptors by a down-regulation dose of LH. *Endocrinology* 114:1114-1123.
87. Shinoyima N; Tsuru S; Tsugita M; Katsura Y; Takemura T; Rokutand M. y Nomoto K. 1991. Thymic depletion in pregnancy: kinetics of thymocytes and immunologic capacities of the hosts. *J Clin Lab Immunol* 34:11-22.
88. Sosa Z.Y; Casais M; Rastrilla A.M. y Aguado L.I. 2000. Adrenergic influences on coeliac ganglion affect the release of progesterone from eyeing ovaries. Characterization of an in vitro system. *Journal of Endocrinology* 166:307-318.
89. Tesarik J; Mendoza C; Moos J; Fenichel P. y Fehlmann M. 1992. Progesterone actino through aggregation of a receptor on the sperm plasma membrane. *FEBS Lett* 1308:116-120.
90. Tresguerres J.A. 1999. *Fisiología Humana*. 2ª Edición, Mcgraw-Hill Interamericana, España, pp 170-175.
91. Ukena K; Kohchi C. y Tsutsui K. 1999. Expression and activity of # beta-hidrixsteroid dehydrogenase/delta 5-delta 4-isomerase in the rat purkinje neuron during neonatal life. *Endocrinology* 140:805-813.
92. Vamvakopoulos N.C. y Chrousos G.P. 1994. Hormonal regulation of human corticotropin-releasing hormone gen expresión: implications for the stress response and immune/inflamatory reaction. *Endocr Rev* 15:409-420.
93. Van Lier E; Meikle A; Bielli A; Akerber S; Forsberg M. y Sahlin L. 2003. Sex differences in oestrogen receptor leveles in adrenal gland of sheep during the breeding. *Domest Anim Endocrinol Nov*; 25(4):373-383.
94. Vinson G.P; Hinso J.P. y Tóth I.E. 1994. The neuroendocrinology of the adrenal cortex. *Journal of Neuroendocrinology* 6:235-246.

95. Vizi E.S; Tóth I.E; Szalay K.Sz; Windish K; Orsó E; Szabó D. y Vinson G.P. 1992. Catecholamines release from local adrenergic axon terminals are possibly involved in fine tuning of steroid secretion from zona glomerulosa cells: Functional and morphological evidence. *Journal of Endocrinology* 135:551-561.
96. Vizi E. S; Tóth I.E; Orsó E; Szalay K. Sz; Szabó D; Baranyi M. y Vinson G.P. 1993. Dopamine is taken up from the circulation by and released from local noradrenergic varicose axon terminals in zona glomerulosa of the rat: A neurochemical and immunocytochemical study. *J. Endocrinol* 139:213-226.
97. Walker Q.D; Francis R; Cabassa J. y Kuhn C.M. 2001. Effect of ovarian hormones and estrous cycle on stimulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis by cocaine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* April; 297(1):291-298.
98. Wei L.L; Leach M.W; Miner R.S. y Demers L.M. 1993. Evidence for progesterone receptors in human osteoblast-like cell. *Biochem Biophys Res Commun* 195:525-532.
99. Weisz J. y Ward I.L. 1980. Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses, and neonatal offspring. *Endocrinology* 106:306-316.
100. Yie S.M; Brown G.M; Liu G.Y; Collins J.A; Daya S; Huges E.G; Foster W.G. y Younglai E.V. 1995a. Melatonin and steroids in human pre-ovulatory follicular fluid: seasonal variations and granulosa cells steroid production. *Human Reprod* 10:50-55.
101. Yie S.M; Niles L.P. y Younglai E.V. 1995b. Melatonin receptors on human granulosa cell membranes. *J Clin Endocrinol Metab* 80:1147-1149.
102. Zukowska-Grojec Z. 1995. Neuropeptide Y. A novel sympathetic stress hormone and more. *Ann N Y Acad Sci* Dec; 29:219-233.



103. Zsolsnai B; Varga B. y Horvarth E. 1982. Increase of ovarian progesterone secretion by  $\beta_2$ -adrenergic stimulation in oestrus rats. *Acta Endocrinol* 101:268-272.
104. Zwain I.H. y Yen S.S. 1999. Neurosteroidogenesis in astrocytes oligodendrocytes and neurons of cerebral cortex of rat brain. *Endocrinology* 140:843-852.