



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“Un estudio de las interacciones funcionales de las adrenales y
la secreción de estrógenos por parte de los ovarios”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
MARÍA TERESA PALAFOX MATURANO



DIRECTOR DE TESIS
M. en IBSH Angélica Flores Ramírez

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo
financiero de CONACYT 40300Q; DGAPA-PAPIIT IN200405-3.

MÉXICO, D.F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS:

A DIOS:

Por mi existencia, por darme la fortaleza para que yo pudiera alcanzar esta preciada meta

A MI MADRE Y LA MEMORIA DE MI PADRE:

A quienes me heredaron su amor, el tesoro más valioso que puede dársele a un hijo, quienes sin escatimar esfuerzo alguno sacrificaron gran parte de su vida para formarme y educarme, a quienes nunca podré pagar todos sus desvelos ni aún con las riquezas más grandes del mundo.

A MIS HERMANOS: VICTORIA, EDUARDO, PATRICIA, SILVIA, MIGUEL, ROSALIA, PILAR Y MARTIN

Por su cariño y apoyo, mi gratitud por la invaluable ayuda que siempre me han proporcionado

A RUBEN:

Por ayudarme a cruzar con firmeza el camino de la superación, porque con su apoyo y aliento hoy he logrado uno de mis más grandes anhelos.

AGRADECIMIENTOS

A LA M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES:

Por sus valiosos consejos para crecer como ser humano, gracias por su confianza, paciencia y apoyo en mi formación profesional.

DR. ROBERTO DOMÍNGUEZ

DRA. MA. ESTHER CRUZ

BIOL. MARISELA VALDEZ

DRA. BERTHA PEÑA

A quienes fungieron como sinodales, gracias por su apoyo y colaboración para poder enriquecer el presente trabajo.

A GRIS Y JORGE:

Por su amistad y por formar parte del equipo de trabajo.

A ADELITA Y LIZ:

Por su amistad, apoyo y confianza; por todos los momentos buenos y malos que hemos pasado juntas.

ÍNDICE

RESUMEN.

MARCO TEÓRICO.	1
Estrógenos.	1
El ciclo estral de la rata	2
Las gónadas femeninas	5
Síntesis de hormonas esteroides por el folículo ovárico	9
Asimetrías neuroendócrinas.	13
Integración neuroendócrina de la función ovárica.	14
Glándulas suprarrenales	18
Biosíntesis de los corticosteroides suprarrenales	19
Integración neuroendócrina adrenal	20
Interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales	22
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.	24
HIPÓTESIS.	25
OBJETIVOS.	26
MATERIALES Y MÉTODOS.	27
RESULTADOS.	30
❖ Efecto de la anestesia o la perforación del peritoneo	
❖ Efecto de la ovariectomía o la adrenalectomía unilateral	
❖ Efecto de la ovariectomía o la adrenalectomía bilateral	
❖ Efecto de la hemiovariectomía en animales con adrenalectomía	
DISCUSIÓN.	39

CONCLUSIONES.	43
BIBLIOGRAFÍA.	44
ANEXOS	50

RESUMEN

Existen evidencias sobre las interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales; con el fin de analizar el papel de las glándulas suprarrenales en la regulación de la secreción de estradiol (E_2) durante el ciclo estral de la rata, se utilizaron ratas hembra adultas vírgenes, en condiciones controladas de iluminación, con libre acceso al agua y alimento. A los animales se les tomaron frotis vaginal diariamente y sólo se utilizaron aquellos que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días. A las 13:00 horas del día del diestro-1 (D1), diestro-2 (D2) o proestro los animales fueron destinados a alguno de los siguientes grupos experimentales (10 ratas por grupo) (testigo, anestesia, perforación del peritoneo uni o bilateral, ovariectomía unilateral, castración, adrenalectomía uni o bilateral, y adrenalectomía + ovariectomía unilateral) y fueron sacrificados una hora después de la intervención quirúrgica.

La anestesia con éter no alteró la concentración de estradiol respecto a la del grupo intacto. La perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI) en los días del D1 resultó en una menor concentración de E_2 (PPI: 25 ± 4.5 vs. Anestesia: 62.9 ± 8.4 pg/ml $p < 0.05$), D2 (PPI: 29.1 ± 8.2 vs. anestesia: 69.5 ± 12 pg/ml $p < 0.05$) o proestro (PPI 111.1 ± 15.3 vs. anestesia: 164.1 ± 17.6 pg/ml $p < 0.05$), mientras que la perforación del peritoneo del lado derecho (PPD) en el día del D2 resultó en una mayor concentración de la hormona respecto a la de los grupos sometidos a anestesia (PPD: 109.3 ± 5.5 vs. anestesia: 69.5 ± 13 pg/ml $p < 0.05$) en proestro (PPD: 78.9 ± 8.3 vs. anestesia: 164.1 ± 17.6 pg/ml $p < 0.05$). Cuando la perforación del peritoneo se realizó en el lado izquierdo y derecho en el día del proestro se observó disminución en la concentración de la hormona (PPB: 93.7 ± 16.8 vs. anestesia: 164.1 ± 17.6 pg/ml $p < 0.05$). En los animales con el ovario derecho *in situ* la concentración de estradiol en el día del proestro fue menor respecto a la de los animales con PPI (Ovariectomía unilateral izquierda: 61.5 ± 6 vs. PPI: 111.1 ± 15.3 pg/ml $p < 0.05$). Cuando el ovario *in situ* fue el izquierdo, el resultado dependió del día

del ciclo estral en el que se realizó la cirugía; en el día del D1 no se observaron diferencias significativas en la concentración de la hormona; en el día del D2 se observó una menor concentración de estradiol (Ovariectomía unilateral derecha: 49.5 ± 10.8 vs. PPD: 109.3 ± 5.5 pg/ml $p < 0.05$), mientras que en el día del proestro resultó en una mayor concentración de la hormona respecto al grupo de animales con PPD (Ovariectomía unilateral derecha: 142 ± 14.1 vs. PPD: 78.9 ± 8.3 pg/ml $p < 0.05$). Cuando a los animales se les extirparon ambos ovarios se observó una menor concentración de estradiol en los días del ciclo en que se realizó la cirugía, en comparación con los resultados obtenidos en el grupo con perforación bilateral del peritoneo (PPB) (D1: 20.2 ± 3.7 vs. 76.3 ± 6.5 ; D2: 17.3 ± 2.6 vs. 63.3 ± 7.1 ; P: 14.7 ± 5.4 vs. 93.7 ± 16.8 pg/ml $p < 0.05$).

La eliminación de la adrenal izquierda no modificó las concentraciones de estradiol. En cambio, la extirpación de la adrenal derecha resultó en una menor concentración de la hormona cuando la cirugía se realizó en el día del D2 que la observada en los animales con PPD (Adrenal izquierda *in situ*: 65.2 ± 8.7 vs. PPD: 109.3 ± 5.5 pg/ml $p < 0.05$). Cuando a los animales adrenalectomizados se les realizó la ovariectomía unilateral izquierda en el día del D2 se observó una mayor concentración de estradiol que en el grupo al que se le realizó la ovariectomía unilateral izquierda en el mismo día del ciclo estral (47 ± 6.7 vs. 26 ± 6.9 pg/ml $p < 0.05$). En los animales adrenalectomizados a los que se les realizó la ovariectomía unilateral derecha en el día del proestro, la concentración de la hormona fue menor que en el grupo de animales al que se les realizó la ovariectomía unilateral derecha (21.7 ± 5.9 vs. 142 ± 14.1 pg/ml $p < 0.05$). Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio concluimos que la perforación del peritoneo es un factor estresante que provoca una respuesta inmediata del sistema, ya que la concentración de estradiol se modificó significativamente una hora después de la manipulación experimental y esta variación depende del lado del peritoneo y del día en que se realiza la cirugía. Así mismo, que la capacidad de síntesis de estradiol por los ovarios derecho e izquierdo

es diferente y varía durante el ciclo estral; el ovario izquierdo secreta más estradiol que el derecho.

La capacidad de secreción de estradiol por parte de los ovarios es regulada por las adrenales y regulación varía durante el ciclo estral y es diferente para cada ovario: en D2 sería de tipo inhibitorio sobre el ovario derecho, mientras que, en el día del proestro la regulación sería de tipo estimulante sobre el ovario izquierdo. Esta regulación asimétrica de los ovarios por parte de las adrenales podría depender en parte, de la inervación de las adrenales, en particular la que recibe del nervio vago por su vinculación con el sistema nervioso central.

MARCO TEÓRICO

En los mamíferos, las hormonas esteroides desempeñan un papel esencial en la regulación de múltiples procesos biológicos entre los que destacan la homeostasis, el dimorfismo sexual y la función reproductora. La mayoría de estas hormonas se sintetizan en las glándulas de secreción interna (adrenal, ovario y testículo) y en otros órganos que también tienen actividad esteroidogénica, como la placenta, el tejido adiposo, las neuronas, la piel, los huesos y el hígado fetal (Brown, 1994).

Estrógenos

Los estrógenos son un grupo de hormonas esteroides que en forma conjunta con la progesterona, aseguran la función gametogénica del ovario, lo cual les confiere un papel esencial en la regulación de la función reproductora de los mamíferos. Estimulan el crecimiento de los folículos ováricos, incrementan el flujo uterino, y la excitabilidad uterina aumentando la frecuencia de los potenciales de acción de las fibras musculares individuales (Loza y col., 1995).

Los estrógenos son indispensables desde las etapas más tempranas de la vida para mantener la implantación del óvulo fecundado; estimulan el desarrollo de los genitales internos y externos (útero, trompas de Falopio) y la cornificación de la vagina, las características sexuales secundarias (glándulas mamarias, distribución de grasa corporal) y algunas características conductuales. La concentración de 17 β -estradiol en el folículo de Graaf es mucho mayor que la encontrada en el torrente circulatorio, lo cual mantiene un entorno hormonal favorable para el crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos (Loza y col., 1995).

Tienen efectos estimulantes e inhibitorios sobre la secreción de la hormona luteinizante (LH) hipofisaria, los cuales dependen del momento del ciclo estral en los animales adultos y de la edad en los animales prepúberes. Estimulan la secreción de

angiotensinógeno y de la proteína fijadora de tiroxina que de algún modo reflejan el efecto anabólico proteico que caracteriza a los estrógenos. Ejercen una función importante en la estimulación del estro conductual en los animales y la libido en el varón, a través de un efecto estimulante directo sobre las neuronas hipotalámicas. Asimismo, tienen efectos similares a los mineralocorticoides ya que estimulan la retención de sal y agua, lo que da como resultado incremento de peso corporal durante el periodo premenstrual (Loza y col., 1995).

La estructura química básica de los estrógenos es la del hidrocarburo estrano, constituido por 18 átomos de carbono con sustituciones específicas. El rasgo distintivo de este grupo de hormonas esteroides es la forma fenólica de su anillo A. Los principales estrógenos naturales son estrona (E_1), 17 β -estradiol (E_2) y estriol (E_3), los cuales se biosintetizan en ovario, placenta y, en menor proporción, testículo; aunque debe señalarse que la formación de estrógenos a partir de andrógenos también ocurre a nivel extragonadal (Loza y col., 1995).

El ciclo estral de la rata

La etapa fértil de la vida de las hembras se caracteriza por cambios periódicos en la secreción de las hormonas que resultan en el crecimiento, la maduración y liberación de ovocitos fértiles, así como cambios en la conducta sexual que aseguran la máxima receptividad de la hembra durante la etapa ovulatoria. Esta conducta rítmica que presentan las hembras se llama ciclo del estro o ciclo estral. El término “estro” proviene del latín *Oestrus* y éste a su vez 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 (Kilen y Schwartz, 1999).

La rata es un mamífero que presenta ciclos estrales durante todo el año con una duración promedio de cuatro o cinco días (Schwartz, 2000). En el ciclo estral de la rata se reconocen cuatro etapas: diestro 1, diestro 2, proestro y estro. En este último, se produce la ovulación. La duración promedio de cada una de estas etapas es la siguiente: diestro 1 y 2 de 61 a 66 horas, proestro de 12 a 14 horas y estro de 25 a 27 horas. Durante los días de estro, diestro 1, diestro 2 y la mañana del proestro, las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas, LH y FSH, se mantienen en concentraciones basales, principalmente por las acciones de retro-regulación inhibitoria que ejercen los estrógenos y algunas hormonas proteicas, como la inhibina. Las cantidades de LH y FSH circulantes, si bien son bajas, son suficientes para estimular el crecimiento folicular y la secreción de estrógenos, los cuales aumentan conforme crecen y maduran los folículos en desarrollo (Kilen y Schwartz, 1999).

Por efecto del incremento de los estrógenos circulantes secretados por los folículos en maduración, en la tarde del proestro se presenta liberación masiva de ambas gonadotropinas, la que induce la ovulación en la mañana del siguiente día: el estro. Posteriormente, se presenta una segunda liberación de FSH que se prolonga hasta la mañana del estro, que al parecer participa en el reclutamiento de los folículos ováricos para el siguiente ciclo (Kilen y Schwartz, 1999; Freeman, 1994)(Figura 1).

En el animal intacto, la concentración plasmática de 17β - estradiol es baja en diestro-1, comienza a incrementarse en la mañana del diestro-2 y alcanza su máxima concentración plasmática en la mañana del proestro (11:00 h). La concentración plasmática de progesterona presenta dos picos durante el ciclo estral: uno ocurre en la tarde del diestro-1 (17:00 h) y el otro en la tarde del proestro (Villegas, 1998).

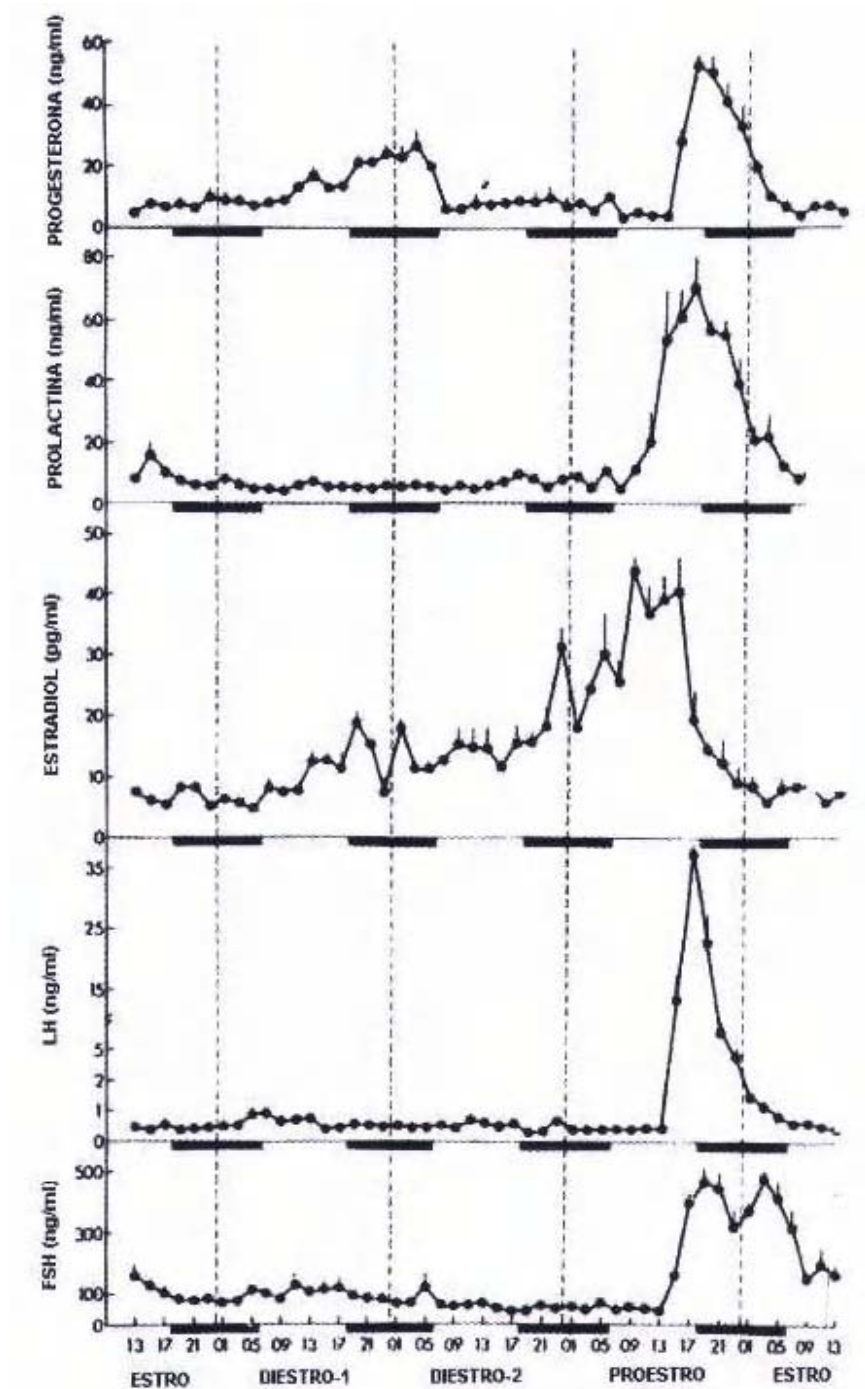


Figura 1. Concentración de progesterona, prolactina, estradiol, LH, FSH obtenido del plasma periférico cada 2 horas de intervalo en cada día del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media $\pm$ e.e.m. de la concentración de hormona de 5 a 6 ratas. Las barras negras representan las horas de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 - 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

Las gónadas femeninas

Las funciones de los ovarios son la liberación del ovocito capaz de ser fecundado y la secreción de hormonas que estimulan el crecimiento y la diferenciación de los órganos del aparato reproductor. El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir de la cual se originan los tres compartimientos endócrinos: el folicular (folículos en diferentes grados de desarrollo: primario, secundario y terciario), el luteal y el intersticial (Domínguez y col., 1991).

En el ovario se pueden distinguir dos zonas bien diferenciadas: La zona más externa, la corteza, que contiene los folículos en diferentes estadios de maduración y los cuerpos lúteos. Entre los folículos se encuentran el tejido conectivo de sostén y las células intersticiales (estroma). La médula, que contiene una rica red vascular y tejido conectivo, y el hilio, donde se encuentran las arterias y vena ovárica, los vasos linfáticos, las terminales nerviosas y las células intersticiales (Domínguez y col., 1991; Espey, 1999; Humphrey y col., 1999) (Figura 2).

El folículo ovárico, fuente de los estrógenos ováricos, está formado por el ovocito, una membrana basal que aísla a las células de la granulosa del resto de los componentes del ovario y las células tecales o teco-intersticiales. 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, todo lo que recibe el nombre de teca externa. Todos estos elementos forman una vaina fibrosa, la 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 innervación ni riego sanguíneo en forma directa (Domínguez y col., 1991).

En el folículo en crecimiento, las células de la granulosa proliferan por estímulo de la FSH, evento fisiológico en el cual los estrógenos actúan de manera

sinérgica (efecto mitogénico). El número de receptores a FSH es constante durante el ciclo estral, mientras que los de LH aparecen en el diestro 1, aumentan en la tarde del diestro 2 y alcanzan su máximo antes de la secreción preovulatoria de LH y no a consecuencia de éste. En la tarde del diestro 2 y la mañana del proestro, en las células de la granulosa aparecen receptores a prolactina, cuya síntesis es estimulada por la FSH, la LH y la propia prolactina. Durante los días del estro, diestro 1 y 2, la unión de la prolactina a las células tecales y de la granulosa sigue el mismo modelo que el de la LH. A las 8:00 h del proestro, las células tecales y de la granulosa de los folículos antrales presentan mayor porcentaje de unión que en los otros días del ciclo estral, mientras que en los folículos preantrales es menor. En ambos casos, la capacidad de unión en los folículos atrésicos es significativamente menor (Domínguez y col., 1991).

En el folículo preantral, las células de la granulosa se caracterizan por presentar abundante retículo endoplasmático rugoso (RER) y mitocondrias con crestas en forma de anaquel. Luego de la secreción preovulatoria de LH, estas células disminuyen su riqueza de RER, aumenta el liso y en las mitocondrias las crestas adquieren la forma tubular, semejante al de células secretoras de hormonas esteroideas. Las células de la granulosa también presentan desmosomas y nexos entre ellas, cuya formación es estimulada por los estrógenos (Domínguez y col., 1991).

Las células tecales maduras presentan abundante retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares; las que están cerca de la membrana basal presentan nexos. Las células tecales están en estrecha vecindad con los capilares que riegan la teca interna. En ésta existen numerosas terminaciones nerviosas, tanto colinérgicas como adrenérgicas. Después de la ovulación, las células tecales se transforman en células teco-luteínicas del cuerpo lúteo. Las células tecointersticiales de los folículos atrésicos con antro, pasan a formar parte de la glándula intersticial. En cambio, las que rodean a los folículos preantrales, en las que no se ha producido

la diferenciación celular y que entran en atresia, no forman parte de la glándula intersticial, ya que no poseen receptores a la LH. Lo mismo sucede con las células tecaes de los folículos preovulatorios que entran en atresia, las que tampoco forman parte de la glándula intersticial. Las células teco-intersticiales tienen receptores a la LH, la prolactina, la hormona adrenocorticotrópica, la noradrenalina, la GnRH y los estrógenos (Domínguez y col., 1991).

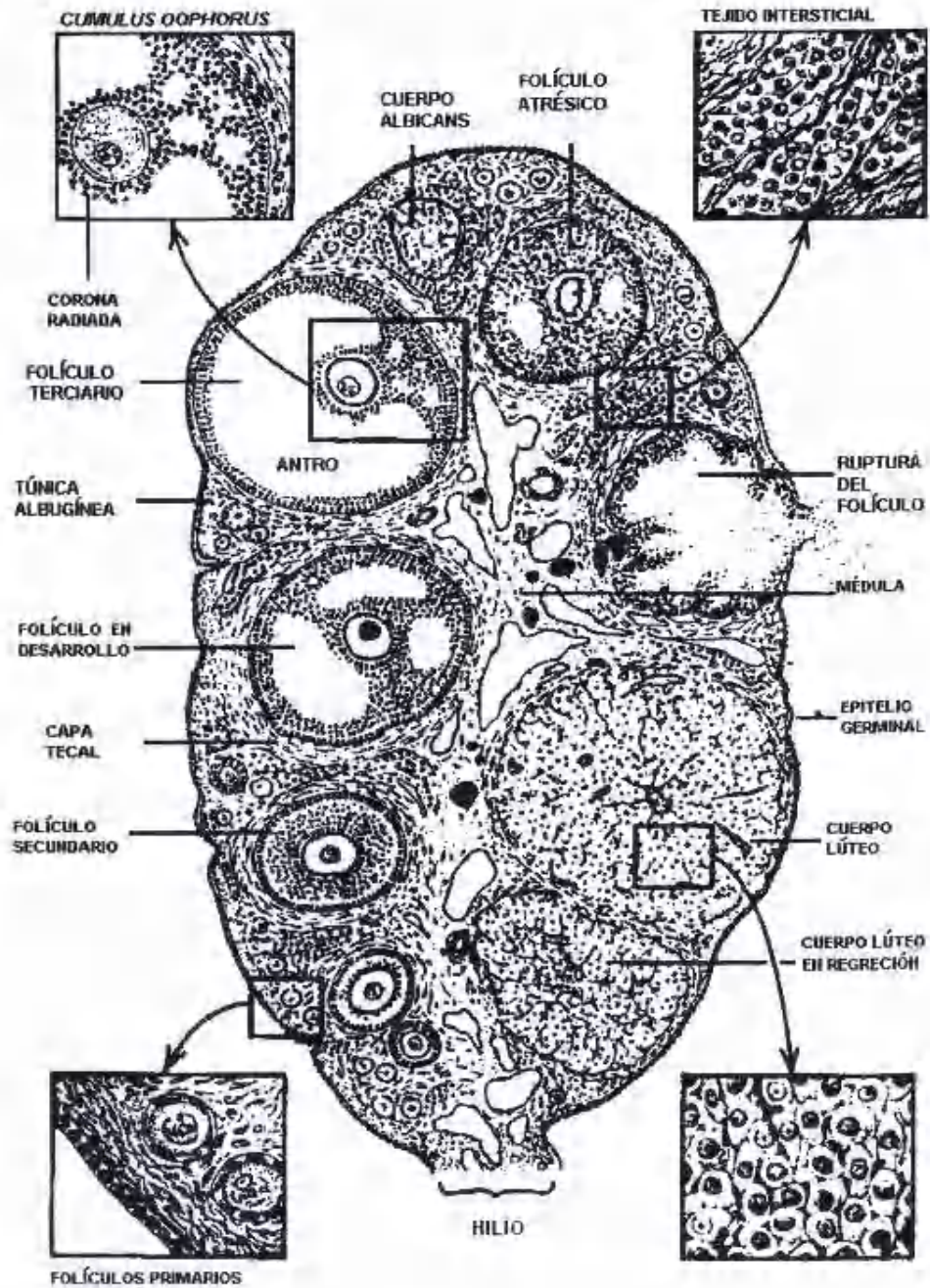


Figura 2. Esquema de la morfología de un ovario de la rata durante el periodo de desarrollo folicular, formación del cuerpo lúteo y su regresión (Tomada de Humphrey y col., 1999).

Síntesis de hormonas esteroideas por el folículo ovárico

La síntesis de estrógenos requiere la cooperación entre las células de la granulosa y las células tecales vecinas. La participación de estos dos tipos celulares y de ambas gonadotrofinas (FSH y LH) apoya la hipótesis de dos células/dos gonadotropinas que regulan la biosíntesis de estrógenos ovárica. (Humphrey y col. 1999; Tresguerres, 1999; Yeh y Adashi, 2001) (Figura 3).

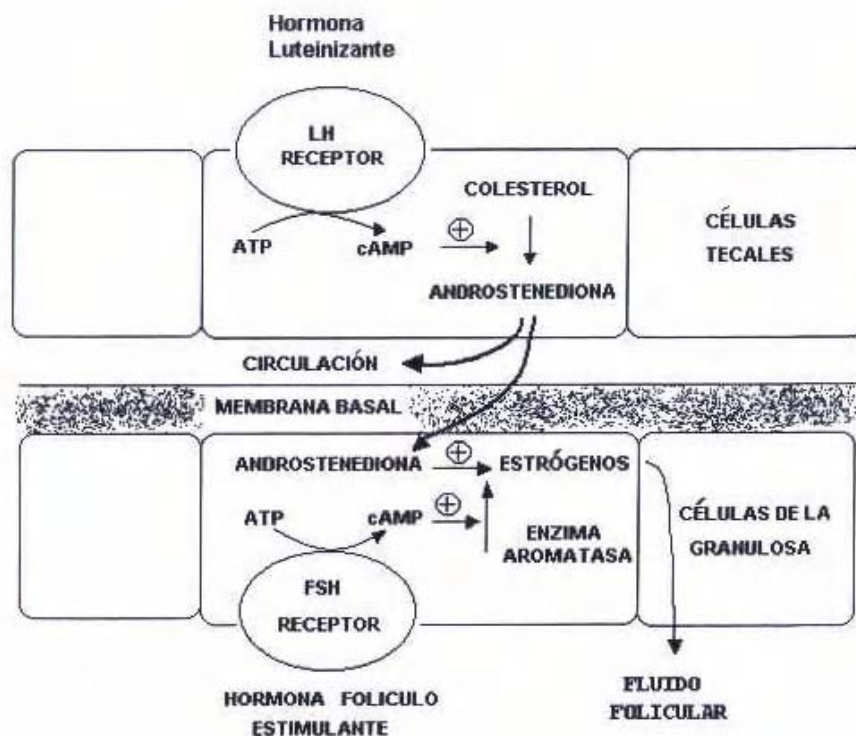


Figura 3. Teoría de la doble célula - doble hormona que explica la esteroidogénesis folicular. La LH se une a receptores específicos en la membrana de las células de la teca y estimula la producción de AMP cíclico (AMPc) y la conversión de colesterol a andrógenos, androstenediona y testosterona. Estos andrógenos se difunden a la circulación y atraviesan la membrana basal hasta llegar al interior de las células de la granulosa. La FSH se une a receptores específicos sobre la membrana de las células de la granulosa y estimula al Adenosin trifosfato (ATP) que sirve para

producir el Adenosin monofosfato (AMPc), el cual permite que se incremente la actividad de las enzimas aromatasas y la conversión de los andrógenos tecales a estrógenos (Tomada de Humprey y col., 1999).

En condiciones normales, el folículo secreta estradiol y estrona en relaciones variables según el día del ciclo estral y la especie en estudio. La célula tecointersticial, a partir del colesterol que obtiene del plasma sanguíneo, o de acetato (tanto *in vivo* como *in vitro*), sintetiza andrógenos (androstenediona, testosterona o ambos), los que atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa donde son aromatizados. Los estrógenos ejercen acciones directas sobre las células de la granulosa y el ovocito y otros difunden a la circulación general.

La síntesis de los estrógenos es regulada por varias hormonas y neurohormonas, cada una de las cuales estimula o inhibe algunos pasos específicos de la biosíntesis en la célula tecointersticial, en la célula de la granulosa o en ambas. La FSH estimula la síntesis de estrógenos por las células de la granulosa, al unirse a su receptor en la membrana celular. El complejo receptor - hormona actúa sobre el sistema de la adenilato ciclasa, provoca el aumento del AMPc y estimula la síntesis y actividad de la aromatasas. Esto explica que los efectos de la FSH sobre la síntesis de estrógenos sean mimetizados por el AMPc. 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 en la secreción de estrógenos, además que dicho aumento es inhibido al bloquear la síntesis de RNA mensajero y de proteínas. La FSH no tiene efectos sobre la síntesis de andrógenos por la célula tecal. A diferencia de la FSH, la LH regula la síntesis de estrógenos por sus efectos sobre la producción de andrógenos por las células tecales y por la estimulación de la síntesis y la actividad de la aromatasas en las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991).

En el folículo en crecimiento, las células teco-intersticiales son las únicas capaces de sintetizar andrógenos *de novo*. Estudios *in vitro* muestran que la adición de LH al cultivo de células tecales de animales prepúberes hipofisectomizados,

provoca aumento en la concentración de andrógenos en el medio de cultivo 72 a 96 horas después del agregado de LH. Al igual que lo que sucede con la FSH, los efectos de la LH son mimetizados por el AMPc. La LH estimula selectivamente el complejo enzimático que separa la cadena colateral del colesterol y las actividades de la 17 α hidroxilasa y la C 17-20 desmolasa, las que provocan la conversión del colesterol a pregnenolona, paso limitante en la síntesis de progesterona y por lo tanto de andrógenos (Domínguez y col., 1991).

Los efectos de la LH sobre la síntesis de estrógenos son amplificados por su liberación pulsátil, ya que la respuesta secretora es controlada tanto por la amplitud como por la frecuencia de los pulsos de LH (Domínguez y col., 1991).

La LH estimula la actividad de la aromatasa en aquellas células de la granulosa que fueron previamente estimuladas por la FSH. En el caso de la rata adulta esto ocurre en la tarde del diestro 2. En los folículos pre-antrales, las células de la granulosa carecen de receptores a LH y su síntesis es estimulada por la FSH y los estrógenos (Domínguez y col., 1991).

Según Hsueh y colaboradores, 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 (regulación estimuladora o "up regulation") y la actividad aromatásica en las células de la granulosa. Después del "pico de LH", esta hormona inhibe a sus propios receptores en las células de la granulosa (regulación inhibitoria o "down regulation"), lo que resulta en la disminución de la síntesis de estrógenos. La FSH en el folículo con antro preovulatorio, previo al "pico de LH", estimularía la síntesis de receptores a la LH y mantendría en cierto grado la producción de estrógenos (Domínguez y col., 1991).

La prolactina 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. Además, actúa en las células tecaes donde bloquea la síntesis de andrógenos al disminuir la formación de AMPc y de la escisión de la cadena colateral del colesterol (Domínguez y col., 1991).

Además de la FSH, la LH y la prolactina, la secreción de estrógenos por el folículo está regulada por otros factores cuyos efectos en general van acoplados a los de la FSH y la LH:

- a) La GnRH inhibe la síntesis de andrógenos en las células tecaes e impide los efectos estimulantes de la FSH sobre la actividad aromatásica en las células de la granulosa.
- b) La oxitocina, inhibe la actividad de la 17 α -hidroxilasa y la 20-22 desmolasa.
- c) El factor de crecimiento epidermal bloquea los efectos de la FSH sobre la aromatasa y la síntesis de receptores a LH en las células de la granulosa.
- d) La vasopresina y la arginina-vasopresina (secretadas por el cuerpo lúteo), también inhiben la secreción de estrógenos por un mecanismo semejante al de la oxitocina.
- e) Los estrógenos y los corticoides suprarrenales inhiben la síntesis y la secreción de estradiol, al modificar la síntesis de andrógenos por las células de la teca. En las células de la granulosa los corticoides suprarrenales bloquean el desarrollo de los receptores a la LH, inducidos por la FSH.

Las células de la granulosa del ovario representan el sustrato anatómico principal para la síntesis de estradiol. Los intermediarios en la biosíntesis del estradiol por las células de la granulosa lo constituyen los andrógenos producidos a nivel de las células de la teca interna, la cual es estimulada por la LH. La biotransformación de androstendiona a estrona y estradiol en la granulosa, requiere de la acción de la FSH. Este mecanismo necesita de sistemas enzimáticos conocidos genéricamente como aromatasas (de localización microsomal y dependientes del citocromo P-450). El sistema de aromatización de esteroides por las células de la granulosa, representa el paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides con actividad estrogénica (Domínguez y col., 1991).

La síntesis de progesterona por el ovario tiene como sustrato anatómico el cuerpo lúteo, el cual se desarrolla después de la luteinización de las células de la teca y de la granulosa por la acción de la LH. El precursor más importante para la síntesis de progesterona lo constituye el colesterol proveniente de las lipoproteínas de baja densidad. El colesterol libre, por acción de la LH se transforma en pregnenolona en la mitocondria de la célula y es posteriormente biotransformada a progesterona por enzimas microsomales (Domínguez y col., 1991).

Asimetrías Neuroendócrinas

Hay evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. La expresión “asimetría funcional”, alude a las diferencias puestas de manifiesto por las partes constituyentes de los llamados órganos pares en sus respuestas ante un estímulo. Tales diferencias entre los órganos derecho e izquierdo, puede observarse en humanos y en los animales silvestres y como consecuencia de una condición patológica o cuando los animales son sometidos a ciertos procedimientos experimentales (Domínguez y col., 2003).

La asimetría ovárica alcanza su máxima expresión en las aves, donde sólo el ovario izquierdo es funcional. La gónada derecha se reduce a una capa de tejido localizado por debajo de la vena cava (Cruz y col., 2001; Domínguez y col., 2003).

Desde el punto de vista anatómico, el riego sanguíneo que recibe cada ovario se origina de fuentes diferentes. La cantidad de somas neuronales que envían o reciben fibras nerviosas es diferente. Desde el punto de vista funcional existen numerosas diferencias entre los ovarios, las que se pueden resumir en los siguientes parámetros: en la rata el número de ovocitos que libera el ovario izquierdo es mayor que en el derecho; en otras especies el ovario con mayor capacidad ovulatoria es el derecho (Cruz y col., 2001).

En el caso de los mamíferos, las diferencias ováricas pueden ser observadas en los murciélagos, donde la ovulación ocurre predominantemente en la gónada derecha; el ovario contralateral tiene la capacidad de ovular sólo si se extirpa el ovario dominante (Cruz y col., 2001). En la musaraña diente blanco, el ovario izquierdo juega un papel dominante sobre el ovario derecho. En la cerda se han observado diferencias bioquímicas entre los cuerpos lúteos del ovario derecho y del izquierdo. (Cruz y col., 2001; Gerendai y Halász., 1997). En humanos, el ovario derecho recibe mayor inervación que el ovario izquierdo y la sangre venosa del ovario derecho llega a la vena cava inferior, mientras que la vena del ovario izquierdo entra en la vena renal izquierda. El ovario derecho se desarrolla más temprano que el izquierdo (Cruz y col., 2001; Domínguez y col., 2003).

Integración neuroendócrina de la función ovárica

De todos los elementos implicados en la regulación de la función ovárica, el hipotálamo es el lugar de control e integración de todas las señales (nerviosas y humorales) procedentes del sistema nervioso central, hipófisis, ovarios y útero (Noback, 1981; Constanzo, 1998).

En la rata, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) ha sido localizada tanto en neuronas del Sistema Nervioso Central (SNC) como en otros órganos. A diferencia de otros neuropéptidos, la GnRH en el cerebro se encuentra localizada predominantemente en la hipotálamo, especialmente en la eminencia media y el tallo hipofisario, en donde está contenida en las terminaciones nerviosas. Sin embargo, estudios recientes han demostrado su presencia en varias regiones extrahipotalámicas, donde se encuentra en bajas concentraciones, en particular en el lóbulo olfatorio y en la sustancia gris mesencefálica. El número de somas GnRH-érgicos es muy pequeño (alrededor de 1,000). Casi el 70% de todos los cuerpos celulares se encuentran en el área preóptica (núcleo preóptico mediano) o en su proximidad (séptum, núcleo hipotalámico anterior). Algunas células se encuentran en el tubérculo olfatorio, y en los bulbos olfatorios principal y accesorio. En la rata, la mayoría de las fibras van desde el área preóptica y las áreas cercanas hasta la eminencia media, conformando el haz septo-preóptico-infundibular. Algunas fibras se dirigen al órgano vascular de la lámina terminal, a la misma área preóptica (donde terminan en la vecindad de los somas GnRH-érgicos, a los cuerpos mamilares y el área tegmental ventral (Rissman, 1996).

El papel regulador de la GnRH sobre la secreción de las gonadotropinas se puede mostrar en las siguientes condiciones: la variación de las concentraciones hipotalámicas de la GnRH en ciertos estados fisiológicos está relacionada con la diferenciación sexual, la pubertad, el ciclo estral y la reproducción, así como por la posibilidad de inhibir la función reproductora al interferir con la acción de la GnRH (por inyección de antagonistas o anticuerpos)(Domínguez y col., 1991).

En las terminaciones nerviosas, la GnRH se encuentra dentro de gránulos de secreción. Estudios *in vitro*, indican que la liberación en respuesta a la llegada de un potencial de acción se inicia por la entrada de calcio extracelular a través de canales de Ca^{++} dependientes de voltaje. Esto induce la liberación de GnRH por exocitosis,

cuyo mecanismo todavía desconocido, aunque parece involucrar la activación de la proteína-quinasa C (Arimura, 2000).

In vivo, la secreción de la GnRH se ha estudiado en la sangre portal y por perfusión del hipotálamo medio basal (técnica del "push-pull"). La secreción de la GnRH es pulsátil, lo que es indispensable para mantener la secreción de las células blanco. La amplitud y la frecuencia de los pulsos dependen de las concentraciones fisiológicas del animal. En la tarde del proestro aumenta la liberación del péptido, y en las hembras ovariectomizadas el tratamiento con 17- β estradiol la inhibe. La frecuencia de los pulsos, modifica la especificidad del efecto de la GnRH, es decir, la proporción de las cantidades de la LH y la FSH liberadas. Los estudios *in vivo* han sido complementados por estudios *in vitro*, más fáciles de implementar y que permiten resolver problemas de difícil resolución *in vivo*. Por ejemplo, con esta técnica se puede analizar la tasa de secreción de la GnRH durante el ciclo estral y así entender mejor el papel de la progesterona (Arimura, 2000).

Los efectos retrorreguladores estimulantes e inhibitorios de los esteroides sexuales sobre la secreción de las gonadotropinas, se llevan a cabo tanto sobre la hipófisis como sobre el hipotálamo. Sus acciones dependen de la duración y la amplitud de la exposición del hipotálamo, lo que modifica la frecuencia de la liberación pulsátil de la GnRH.

En la eminencia media de la rata, la concentración de la GnRH es regulada por las concentraciones plasmáticas de los esteroides sexuales. En la hembra, el 17- β estradiol mantiene la concentración y la secreción normal de la GnRH por el hipotálamo. Este efecto sobre la liberación puede ser debido a un cambio en la cantidad de la GnRH lista para ser liberada (por un efecto en la biosíntesis o la degradación del péptido) o una modificación de las propiedades del acoplamiento estímulo-secreción.

Algunos de los efectos de las hormonas esteroides pueden ser debidos a su interacción con las neuronas que las concentran. Éstas no son las neuronas GnRH-érgicas pero pudieran ser los circuitos que las regulan directa o indirectamente. Además, diversos estudios sugieren que los esteroides modulan la secreción no solamente de la GnRH, sino también de otros péptidos implicados en la regulación de la secreción de las gonadotropinas, sea directa o indirectamente por intermedio de la GnRH.

Las hormonas de naturaleza proteica, producto de la síntesis y secreción de la glándula hipofisaria, ejercen sus efectos sobre los órganos blanco. Dichos efectos inician una serie de eventos bioquímicos en la membrana y el interior de la célula que resultan en la expresión de su actividad biológica (Constanzo, 1998) (Figura 4).

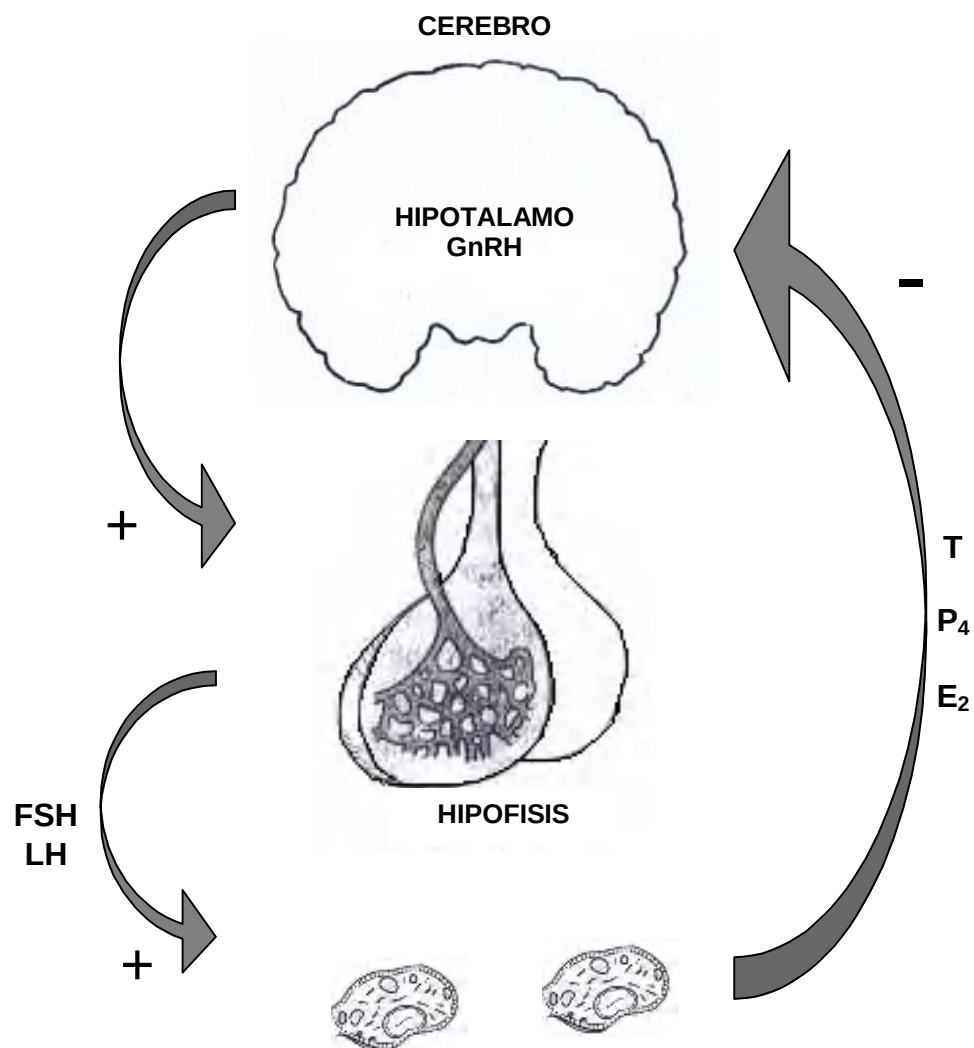


Figura 4. Eje hipotálamo - hipófisis - ovario. El hipotálamo libera la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), y en la hipófisis estimula la liberación de la hormona estimulante de los folículos (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas llegan a los ovarios y estimulan la secreción de progesterona (P_4), testosterona (T) y estradiol (E_2). (Tomada y modificada de Constanzo, 1998).

En la regulación el eje hipotálamo-hipófisis-ovario participan la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), múltiples hormonas tróficas hipofisarias (LH, FSH, PRL), hormonas ováricas (estrógenos, andrógenos, progestágenos, hormonas peptídicas y factores locales y las hormonas producidas por el útero (prostaglandinas, relaxina). La señal de salida es la secreción pulsátil de GnRH de las terminales nerviosas en la eminencia media a los vasos portal- hipotálamo-hipofisarios. La frecuencia y la amplitud con la que la GnRH es secretada son cruciales para la síntesis y secreción de gonadotropinas. Los estrógenos regulan el patrón de secreción por medio de prostaglandinas, opiáceos endógenos, neurotransmisores, etc.

La secreción de gonadotropinas depende de la acción de la GnRH sobre la hipófisis. La señal de salida de la hipófisis es, consecuentemente, la secreción pulsátil de LH y FSH. Esta secreción hipofisaria está inhibida por las hormonas ováricas (estradiol y progesterona) (Tresguerres, 1999).

Las glándulas suprarrenales

Las glándulas suprarrenales, situadas por encima de los riñones, son una combinación de dos entidades funcionales diferentes. La zona externa o corteza, formada por el 80-90% de su peso, es la fuente de las hormonas corticoesteroides. La zona interna o médula, que constituye el 10-20% restante, es la fuente de las catecolaminas. Las adrenales tienen una de las mayores tasas de flujo sanguíneo

por gramo de tejido. La sangre arterial entra en la corteza externa ramificándose en capilares; a continuación, la sangre drena hacia las venas de la médula. De este modo, las células internas de la corteza y las células de la médula se exponen a concentraciones elevadas de hormonas esteroides procedentes de la corteza externa. (Berne y Matthew, 1992).

La corteza suprarrenal al ser estimulada por la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) secreta dos tipos de corticosteroides; las hormonas esteroides no sexuales llamados glucocorticoides y los mineralocorticoides sintetizados en la zona fascicular y glomerular, respectivamente. Y las hormonas esteroides sexuales, llamados gonadocorticoides, sintetizados por la zona reticular. Las células secretoras de esteroides suelen ser ricas en gotitas de lípidos y contienen numerosas mitocondrias grandes. (Berne y Matthew, 1992; Ninomiya y col., 1995). Los gonadocorticoides son esteroides con 19 carbonos: la dehidroepiandrosterona, la cual se convierte en ciertos tejidos en esteroides con actividad androgénica, y la androstenediona, con débil acción androgénica (Laguna y Garza, 1995).

Biosíntesis de los corticosteroides suprarrenales

El colesterol es el intermediario obligado de la biosíntesis de los corticosteroides. Si bien la corteza suprarrenal sintetiza colesterol a partir de acetato mediante un proceso similar a los que se producen en el hígado, la mayor parte del colesterol (60-80 %) utilizado en la corticosteroideogénesis es de origen exógeno, tanto en reposo como después de la administración de hormona adrenocorticotrópica (ACTH). Las células corticosuprarrenales tienen un gran número de receptores a las LDL, que constituyen la fuente más importante de colesterol. Este último es convertido por acción enzimática en corticosteroides C21 y en andrógenos débiles de C19. La mayoría de estas reacciones son catalizadas por oxidasas de función mixta que contienen citocromo P-450 y requieren NADPH y O₂ (Murad y Kuret, 1990).

Además de otros andrógenos, la corteza suprarrenal secreta testosterona; sin embargo, la mitad de la testosterona plasmática de las mujeres normales deriva de la androstenediona en un sitio extraadrenal (Murad y Kuret, 1990).

Los corticoesteroides suprarrenales no son almacenados en las suprarrenales. La cantidad de corticosteroides que se encuentra en el tejido suprarrenal es insuficiente para mantener la secreción normal durante pocos minutos en ausencia de la biosíntesis continuada (Murad y Kuret, 1990).

Integración neuroendócrina adrenal

Las neuronas hipotalámicas reciben información de otras áreas del sistema nervioso central, así como de las concentraciones circulantes de hormonas esteroides, tiroideas y peptídicas, y con base en esta información liberan distintas hormonas que son secretadas a la circulación portal hipotalámica-hipofisaria que controlan la secreción de las hormonas elaboradas en la adenohipófisis. De esta manera, el hipotálamo, específicamente en el grupo de células que se encuentran en la parte parvocelular de los núcleos paraventriculares secretan la hormona liberadora de la corticotropina (CRH), que es liberada al sistema portal hipotalámico-hipofisiario para llegar a la adenohipófisis donde a su vez estimula la secreción de ACTH por los corticotropos (Gore-Langton y Armstrong, 1994). Esta hormona llega a las suprarrenales donde estimula la secreción de β -endorfina, cortisol y corticosterona. El efecto de CRH es específico para la liberación de ACTH y es inhibido por glucocorticoides (Arimura, 2000; Halász, 2000; Constanzo, 1998) (Figura 5).

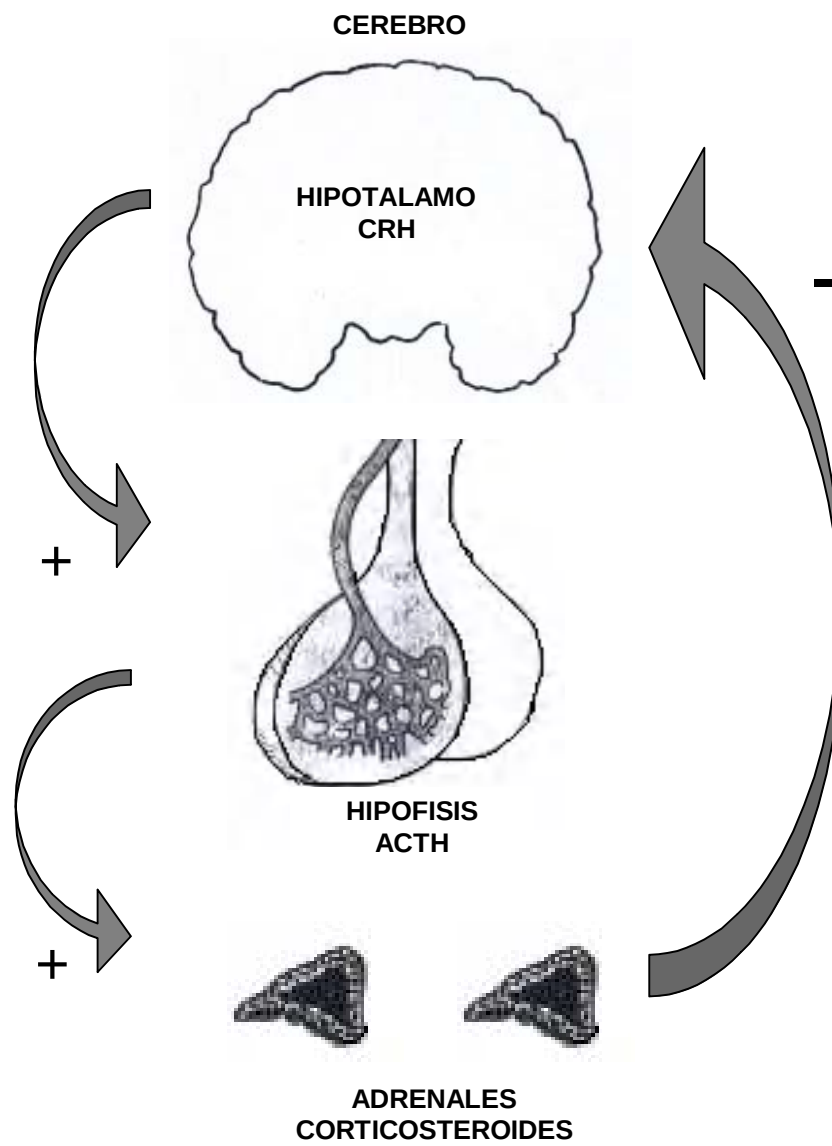


Figura 5. Eje hipotálamo - hipófisis - adrenales. Control de la secreción de cortisol y otros glucocorticoides. Las flechas indican efectos inhibidores o efectos estimulatorios. (Tomada y modificada de Constanzo, 1998).

Interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales

Existen numerosas evidencias sobre las interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales. Jacobs y Peppler (1980) mostraron que en los animales adrenalectomizados y sacrificados un mes después de la cirugía, se presenta disminución en el número de ovocitos liberados respecto al de los animales control. Sin embargo, estos autores no especifican el día del ciclo en el que fue realizada la cirugía.

Tinnikov y col. (1992) mostraron que seis horas después de la eliminación de las adrenales o de los ovarios, se observó disminución del número de receptores a estradiol en el citoplasma del útero.

Cuando se someten ratas adultas a estrés durante tres semanas, los ovarios desarrollan quistes y hay aumento en la actividad simpática (liberación de noradrenalina) en los ovarios. La adrenalectomía aumenta la liberación de noradrenalina en los ovarios, el contenido de receptores beta-adrenérgicos y la secreción basal de andrógenos (Galvez y col., 1999. Paredes y col., 1998).

Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que en el día del estro de la rata con ovariectomía unilateral y con adrenalectomía bilateral, a las 24 horas, el ovario izquierdo remanente secreta más testosterona y estradiol que cuando queda *in situ* el ovario derecho (Cruz y col., 2001). Asimismo, la perforación del peritoneo

dorsal afecta de manera diferencial la concentración sérica de P_4 , T, E_2 y LH, lo que depende del lado afectado (Barco y col., 2003).

Cuando se realiza una adrenalectomía bilateral en el día del estro a las 13:00 horas y los animales son sacrificados una hora después (14:00 h) de la cirugía, ocurre disminución en la concentración plasmática de progesterona y aumento en la concentración de testosterona y estradiol con respecto a su grupo de ratas testigo (Barco y col., 2003).

Cuando la adrenalectomía bilateral se realiza a las 13:00 h del proestro se observa disminución en la tasa de animales ovulantes respecto a la del grupo con operación simulada, sin cambio en el número de ovocitos liberados (Flores, 2004).

La ovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*) realizada en animales adrenalectomizados en el día del proestro a las 13:00 h y sacrificados en el día del estro a las 13:00 h, resulta en disminución del número de animales ovulantes respecto al de los animales exclusivamente adrenalectomizados. Por el contrario, cuando la ovariectomía es del lado izquierdo (ovario derecho *in situ*), disminuye el número de ovocitos liberados por los animales ovulantes respecto al de los adrenalectomizados, sin que se observen cambios en la tasa de animales ovulantes (Flores, 2004).

JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

Si bien se ha mostrado claramente que las hormonas hipofisarias tienen un papel fundamental en la regulación de la secreción hormonal del ovario, los resultados obtenidos en los estudios donde se analizan las relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales sugieren que existen vías nerviosas vinculadas con la innervación del peritoneo, las adrenales y los ovarios que modularían los efectos de las hormonas hipofisarias sobre los órganos blanco (Barco y col., 2003; Flores y col., 2006).

Dado que se ha mostrado que los efectos de varias manipulaciones neuroendócrinas dependen del día del ciclo estral en el cual se realizan, es probable que la extirpación unilateral o bilateral de una o ambas glándulas endocrinas, en este caso las adrenales o los ovarios, provoquen cambios inmediatos en los mecanismos de regulación que dependerán del día del ciclo estral en el que se realiza la intervención quirúrgica. El análisis de esos cambios en la concentración de estradiol ayudará a comprender de manera más completa las interacciones funcionales entre las adrenales y los ovarios. Además, es posible que la respuesta dependa de una regulación asimétrica funcional de los ovarios.

HIPÓTESIS

Dado que la concentración sérica de 17β -estradiol en cada día del ciclo estral es el resultado de las interacciones neuroendócrinas de las diferentes glándulas que regulan los procesos reproductivos; que los ovarios son la fuente principal de los estrógenos; que las adrenales secretan progesterona y testosterona; que la extirpación bilateral de las glándulas suprarrenales altera la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos que se liberan en dichos animales, entonces la extirpación de ambas adrenales modificará la secreción de estradiol, lo que dependerá del día del ciclo estral en el que se realice la operación quirúrgica y del ovario que permanezca "*in situ*" en el animal con ovariectomía unilateral.

OBJETIVO GENERAL:

Estudiar el papel de las glándulas adrenales en la regulación de la secreción de estradiol durante el ciclo estral de la rata.

OBJETIVOS PARTICULARES:

Analizar los efectos de la ovariectomía uni o bilateral durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración de estradiol.

Analizar los efectos de la adrenalectomía uni o bilateral durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración de estradiol.

Analizar los efectos de la adrenalectomía y la ovariectomía unilateral durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración de estradiol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra adultas vírgenes (200 a 280 g) de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de iluminación, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y al alimento (Purina rat chow). A los animales se les tomó el frotis vaginal diariamente y sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron, al menos, dos ciclos consecutivos de cuatro días. A las 13:00 horas del día del diestro-1, diestro-2 o proestro los animales fueron destinados a alguno de los siguientes grupos experimentales (10 ratas por grupo) y sacrificados una hora después de la intervención quirúrgica (14:00 hrs.).

Grupos experimentales:

Grupo 1: Ratas cíclicas intactas fueron sacrificadas a las 14:00 hrs. del día del diestro-1, diestro-2 o proestro.

Grupo 2: Con el fin de analizar los efectos provocados por la anestesia sobre las concentraciones plasmáticas de estradiol, un grupo de ratas fue anestesiado con éter durante 8 a 10 minutos, que es el tiempo que se necesita para realizar la ovariectomía unilateral.

Grupo 3: Para estudiar el efecto que provoca la incisión de la piel, el músculo y el peritoneo (PP), las ratas fueron anestesiadas y se les realizó una incisión en el dorso (aproximadamente 2 cm. por debajo de la última costilla) en el lado izquierdo (PPI) o derecho (PPD) o ambos (PPB) se atravesó la piel, el músculo y el peritoneo, sin tocar el ovario. Una vez terminada la operación, se cerró la piel con una grapa.

Grupo 4: Con el propósito de analizar los efectos de la ovariectomía sobre las concentraciones de estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les ligó el pedículo ovárico y extirpó el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), el ovario derecho (ovario izquierdo *in situ*) o ambos ovarios (castración).

Grupo 5: Con el fin de analizar los efectos provocados por la adrenalectomía sobre la concentración de estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les extirpó la adrenal izquierda (adrenal derecha *in situ*), la adrenal derecha (adrenal izquierda *in situ*) o ambas adrenales.

Grupo 6: A fin de conocer que ovario secreta más estradiol, se utilizaron animales a los cuales se les extirparon ambas adrenales y un ovario.

Procedimiento de autopsia

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación, se colectó la sangre del tronco y se mantuvo a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente ésta fue centrifugada a 3000 rpm durante 15 minutos, una vez terminada la centrifugación se separó el suero del botón celular. Los sueros fueron almacenados a -20°C , hasta la cuantificación de la concentración de 17β -estradiol.

Cuantificación de 17β -estradiol.

La cuantificación de 17β -estradiol se realizó por radio inmunoanálisis de fase sólida, para lo cual se utilizó un estuche (Coat-A-Count, USA), que contiene tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales con la hormona marcada (^{125}I -Estradiol) y calibradores para la realización de la curva patrón (2.5, 5,

10, 20, 50, 150, 250, 500, 900 pg/ml). A cada tubo se le adicionaron 100 μ l de suero problema, mas 1000 μ 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 estradiol se expresó en *pg/ml* de suero.

Análisis Estadístico

Los resultados de las concentraciones de estradiol se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando se compararon los resultados de dos grupos se utilizó la prueba “t” de Student. En todos los casos, se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue menor o igual al 5%.

RESULTADOS

Grupo de animales intactos

En el grupo de animales intactos, la concentración sérica de estradiol en el día del proestro fue mayor que en los días del diestro 1 (D1) y diestro 2 (D2) (Figura 1).

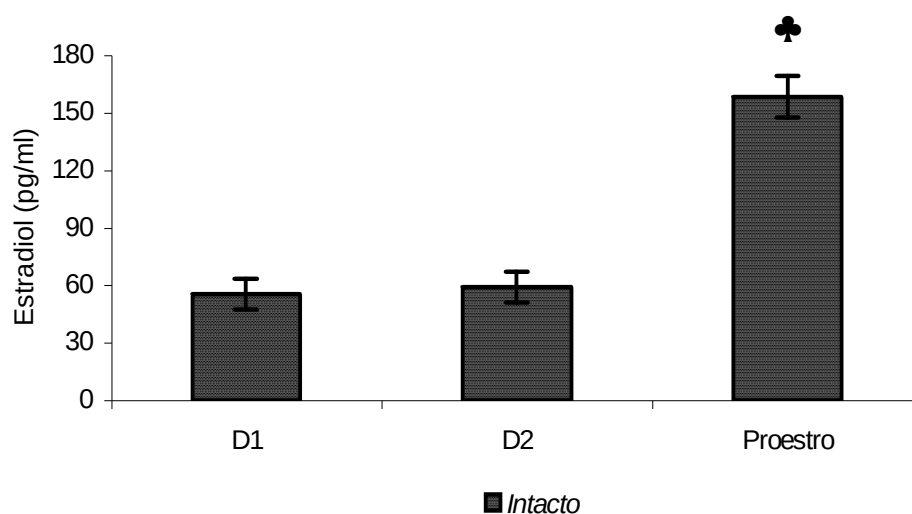


Figura 1. Concentración sérica de estradiol (media $\pm$ e.e.m.) en los días del D1, D2 o proestro en animales intactos. ♣ $P < 0.05$ respecto a los animales en diestro (prueba de ANDEVA seguida de Tukey).

Efectos de la anestesia

La anestesia con éter en los diferentes días del ciclo estral no alteró la concentración sérica de estradiol respecto a la del grupo intacto (Figura 2).

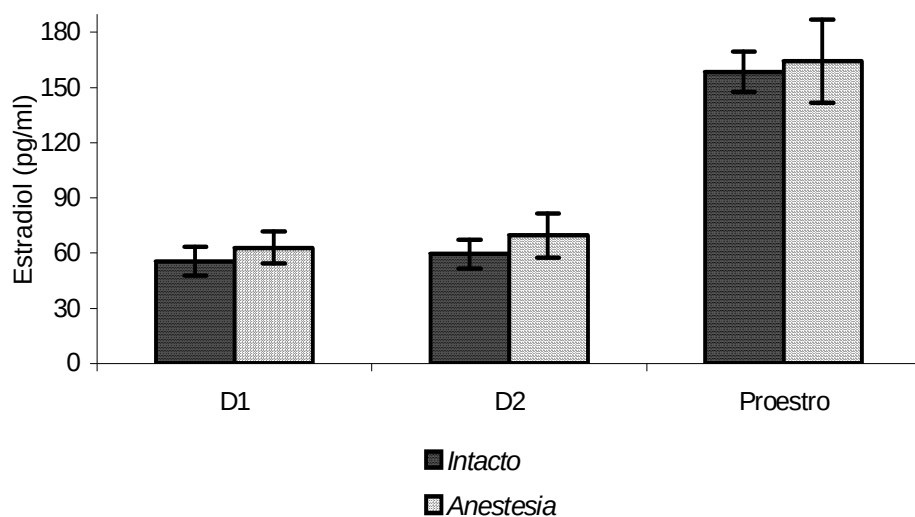


Figura 2. Media $\pm$ e.e.m de la concentración sérica de estradiol en animales sometidos a anestesia con éter respecto al grupo de animales intactos.

Efectos de la Perforación del peritoneo

La perforación del peritoneo del lado izquierdo resultó en menor concentración sérica de estradiol cuando se realizó en el día del D1, D2 o proestro respecto a la del grupo sometido a anestesia con éter (Figura 3).

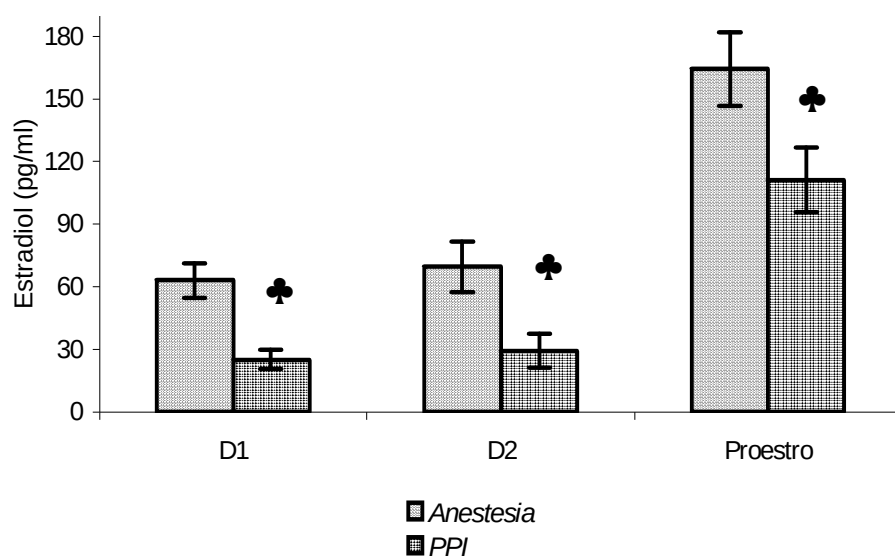


Figura 3. Concentración sérica de estradiol media $\pm$ e.e.m. en animales con perforación del peritoneo izquierdo en los días de D1, D2 o proestro respecto al grupo de animales anestesiados con éter.
♣ P<0.05.

Cuando la perforación del peritoneo se realizó del lado derecho en el día del D2, se observó incremento en la concentración de estradiol, mientras que en el día del proestro se observó disminución significativa en la concentración de la hormona (Figura 4).

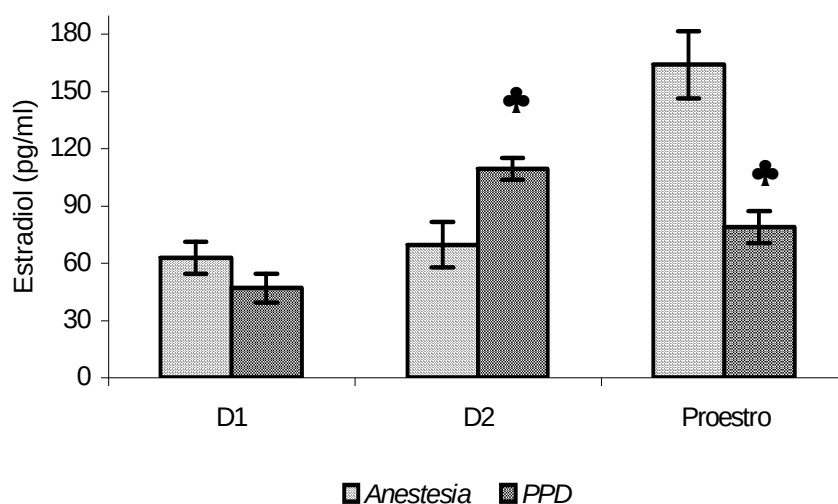


Figura 4. Concentración sérica de E₂ media ± e. e. m. En animales con perforación del peritoneo derecho durante el ciclo estral.

♣ P < 0.05 vs animales con anestesia.

La perforación de ambos lados del peritoneo en el día del proestro resultó en disminución de la concentración de estradiol respecto a la del grupo con anestesia (Figura 5).

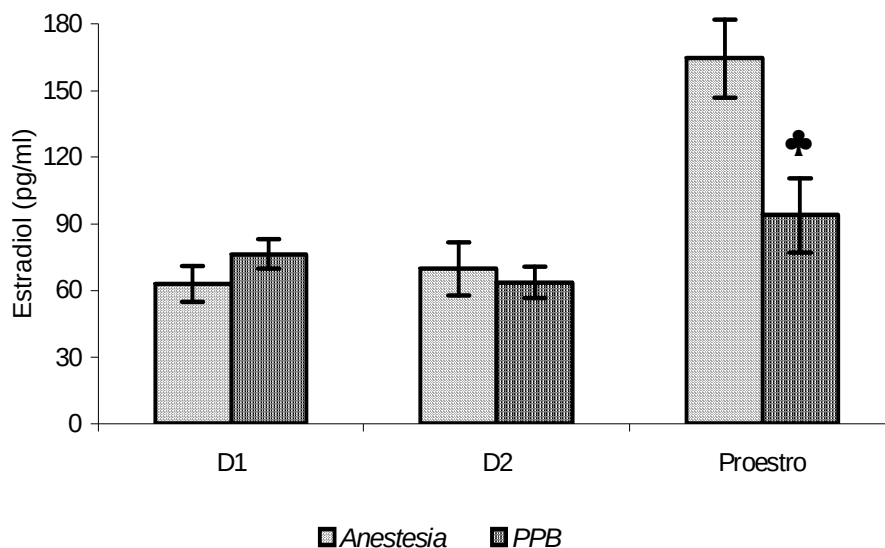


Figura 5. Media $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de E₂ en animales con perforación del peritoneo bilateral respecto al grupo de animales sometidos a anestesia con éter ♣ P<0.05 vs. PPI

Efectos de la Ovariectomía unilateral

Respecto a la de los animales con PPI, en el día del proestro la extirpación del ovario izquierdo (animales con ovario derecho *in situ*) resultó en menor concentración de estradiol (Figura 6).

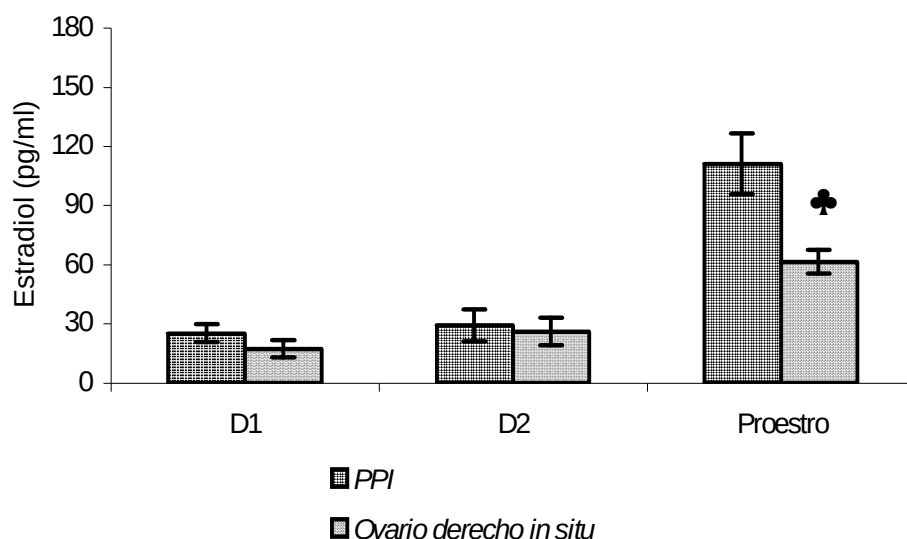


Figura 6. Media $\pm$ e.e.m. de la concentración de estradiol en animales con ovariectomía izquierda (ovario derecho *in situ*) durante el ciclo estral ♣ P<0.05 vs. PPI

La extirpación del ovario derecho (animales con ovario izquierdo *in situ*), produjo resultados que dependieron del día del ciclo estral en el que se realizó la cirugía. Cuando la extirpación se realizó en el día del D1, no se modificó la concentración de la hormona; en el día del D2 la concentración de estradiol fue menor que en los animales con PPD, mientras que, cuando la cirugía se realizó en el día del proestro la concentración de la hormona fue mayor (Figura 7).

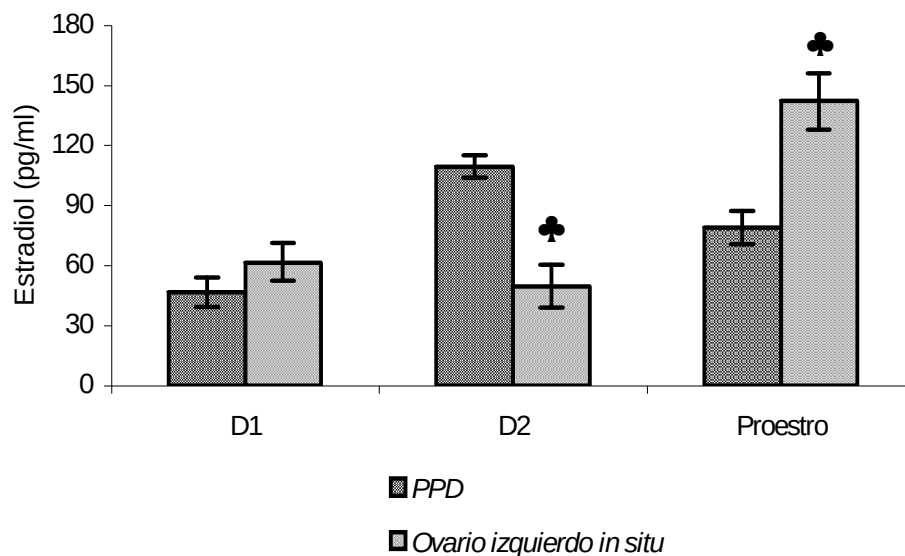


Figura 7. Media $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de E_2 en animales con ovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*) durante el ciclo estral ♣ $P < 0.05$ vs. PPD.

Efectos de la Ovariectomía Bilateral

En los animales a los que se les extirpó ambos ovarios se observó disminución de la concentración sérica de la hormona respecto a la de los animales con PPB, independientemente del día en el que se realizó la intervención quirúrgica (Figura 8).

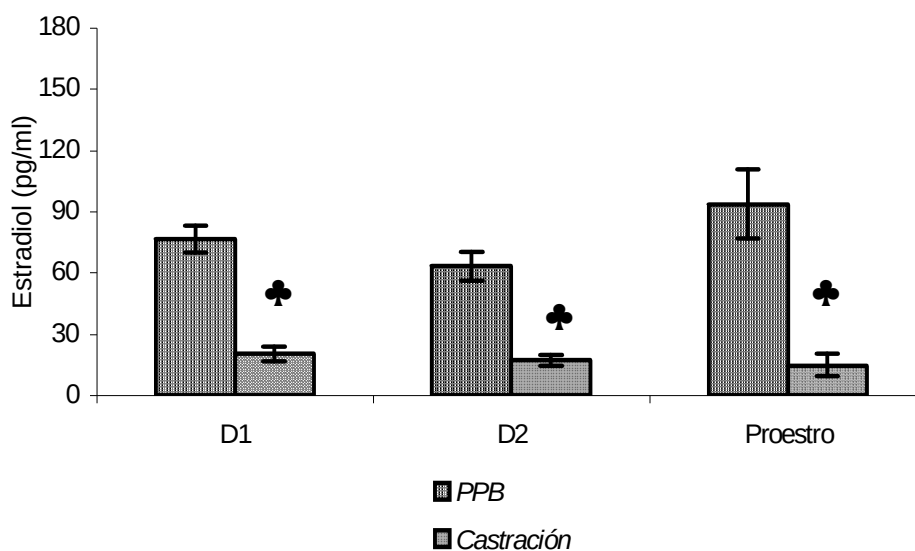


Figura 8. Concentración sérica media $\pm$ e.e.m. de estradiol en animales con castración en D1, D2 o proestro ♣ $P < 0.05$ vs. PPB

Efecto de la Adrenalectomía

En los animales a los que se les extirpó la adrenal izquierda (adrenal derecha *in situ*), en el día del proestro presentaron disminución significativa en la concentración de la hormona (Figura 9).

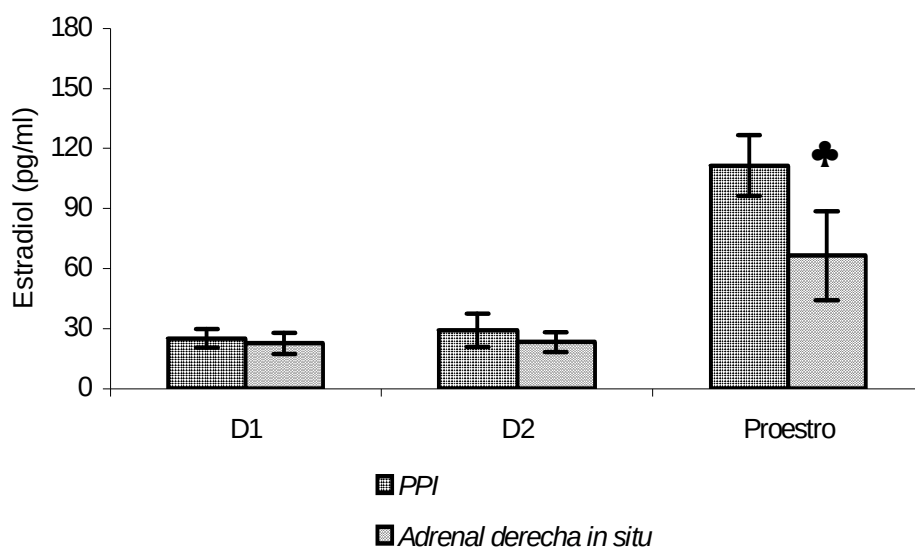


Figura 9. Concentración sérica media $\pm$ e.e.m. de estradiol en animales con adrenal derecha *in situ* en D1, D2 o proestro, respecto a los animales con PPI ♣ $P < 0.05$.

La extirpación de la adrenal derecha (adrenal izquierda *in situ*) en el día del D1 resultó en mayor concentración de estradiol, mientras que en el día del D2 se presentó menor concentración de la hormona (Figura 10).

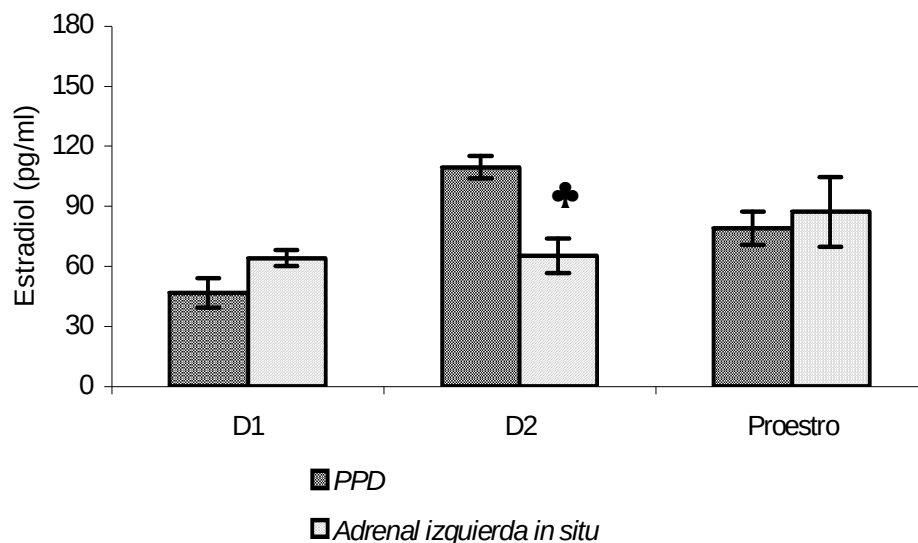


Figura 10. Media $\pm$ e.e.m. de la concentración de E_2 durante el ciclo estral en animales con adrenal izquierda *in situ* ♣ $P < 0.5$ vs. PPI.

Cuando se extirparon ambas adrenales en el día del proestro la concentración de estradiol fue menor que en el grupo PPB (Figura 11).

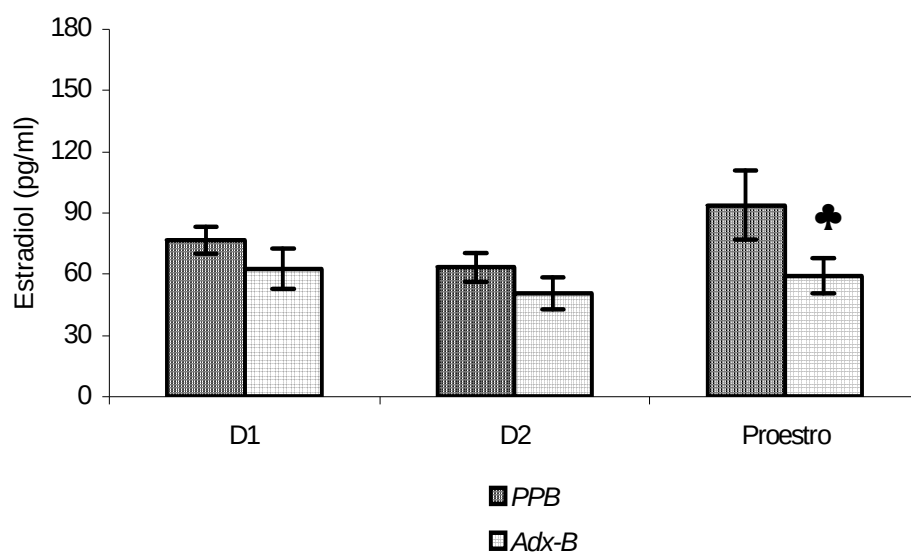


Figura 11. Media $\pm$ e.e.m. de la concentración de E_2 durante el ciclo estral en animales con adrenalectomía bilateral vs. PPB, ♣ $P < 0.05$.

Efectos de la ovariectomía unilateral en los animales con adrenalectomía bilateral

Cuando a los animales adrenalectomizados se les realizó la ovariectomía izquierda (y sólo quedan con el ovario derecho *in situ*), en día del D2 se observó aumento en la concentración de estradiol, comparada con el grupo con ovariectomía izquierda (ovario derecho *in situ*) en el mismo día del ciclo estral (Figura 12).

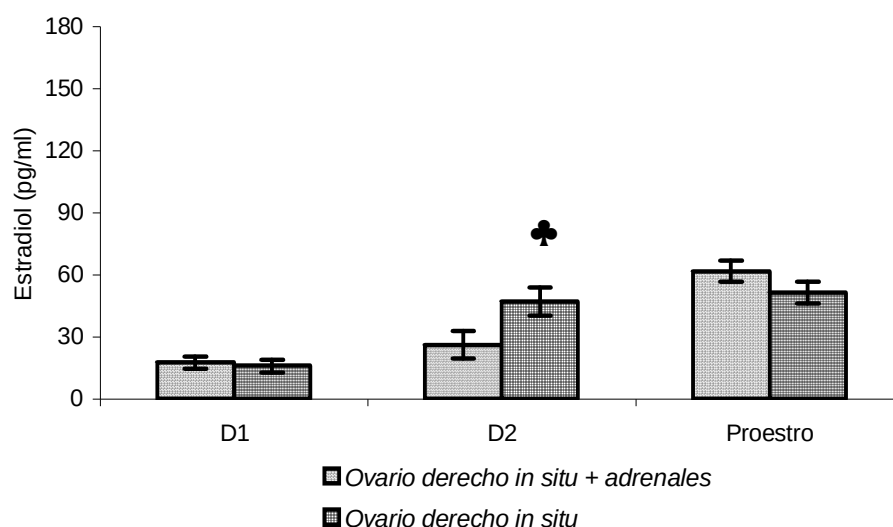


Figura 12. Concentración media $\pm$ e.e.m de estradiol en animales con adrenalectomía bilateral + ovario derecho *in situ*) ♣ $P < 0.5$ vs. ovariectomía izquierda (ovario derecho *in situ*).

Cuando a los animales adrenalectomizados se les realizó la ovariectomía del lado derecho (ovario izquierdo *in situ*) en el día del proestro se observó menor concentración de la hormona comparada con el grupo con ovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*) (Figura13).

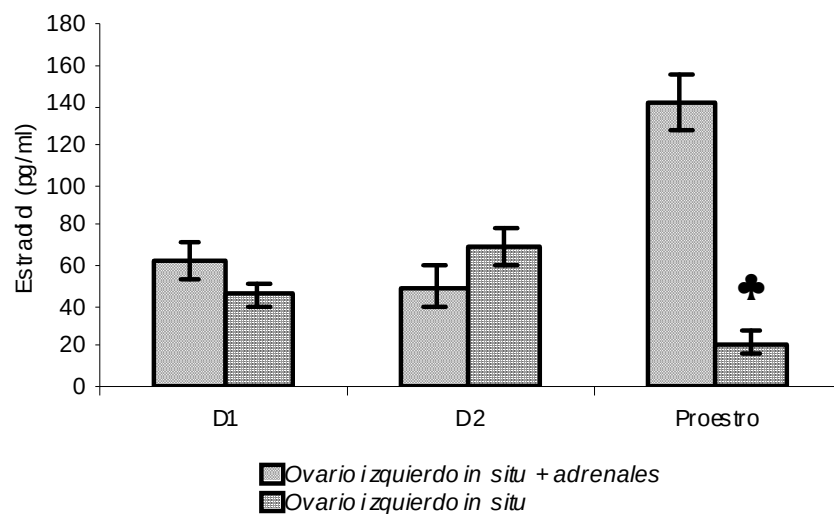


Figura 13. Concentración media $\pm$ e.e.m de E_2 en animales adrenalectomizados + ovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*)

♣ P<0.5 vs. ovariectomía derecha.

DISCUSION

A partir de los resultados obtenidos en este estudio concluimos que la perforación del peritoneo es un factor estresante que provoca una respuesta inmediata del sistema, modificando la concentración plasmática de estradiol, a la hora de esta manipulación experimental, y esta variación en la concentración de la hormona depende del lado del peritoneo y del día del ciclo estral en que se realice la cirugía. Dichos resultados son congruentes con lo observado por Shors y col. (1999), quienes describen que hay factores estresantes que resultan en alteraciones en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de las hormonas sólo a corto plazo.

Previamente se sugirió la existencia de una vía neural que se origina en el peritoneo y participa en la regulación y secreción de P_4 (Flores y col., 2005), testosterona (Flores y col., 2006) y E_2 (Cruz y col., 2006). En la rata la información sensorial originada en el peritoneo, es enviada al núcleo del tracto solitario y estimula receptores a neurokinina -B. Con base en estos resultados se sugiere que cada lado del peritoneo conduce diferente información neural que va desde el nervio ovárico superior hasta el ovario y el sistema nervioso central y probablemente este relacionado con el nervio vago.

Tanaka y col. (2002) analizaron la distribución de neuronas sensoriales que inervan el peritoneo y con base en sus resultados propusieron que la mayor parte del peritoneo parietal recibe nervios sensoriales desde la raíz del ganglio dorsal y el peritoneo visceral de la médula y el nervio vago.

Stener-Victorin y col. (2000) mostraron que el tratamiento con electroacupuntura en ratas con síndrome de ovario poliquístico, inducido por una inyección de valerato de estradiol, resultó en la disminución de la concentración del factor del crecimiento del nervio en el ovario.

Los resultados muestran que la capacidad de síntesis de estradiol por parte de los ovarios es asimétrica y varía durante el ciclo estral, el ovario izquierdo secreta mayor concentración de estradiol que el ovario derecho.

Dichos resultados coinciden con lo reportado previamente (Cruz y col., 2006; Flores y col., 2005-2006) quienes observaron que una hora después de la cirugía, la ovariectomía izquierda resulta en disminución de la concentración de testosterona y estradiol, sin modificaciones en la concentración de progesterona y cuando se extirpó el ovario derecho se observó aumento en la concentración de progesterona y estradiol, sin alteraciones en la concentración de testosterona. Por lo tanto la respuesta que presenta la gónada remanente es de tipo asimétrico

A partir de otros estudios similares se sugiere que el sistema colinérgico participa en la regulación de la secreción de E_2 por el ovario y tal participación varía dependiendo de el ovario remanente *in situ* y del día del ciclo estral en el que se lleve a cabo la cirugía. (Cruz y col., 2006).

La asimetría observada en las funciones de los ovarios ha sido explicada como una muestra de la participación de la innervación del órgano en los mecanismos de regulación fina en respuesta a las gonadotropinas. El ovario de los mamíferos está innervado por fibras simpáticas y parasimpáticas, así como por aferentes sensoriales cuyo cuerpo se localiza en la raíz dorsal de la médula espinal a nivel torácico y lumbar superior, así como en el ganglio nodoso del nervio vago (Cruz y col., 2006).

La sección del nervio ovárico superior (SON) a ratas en proestro resultó en una repentina caída de la concentración de progesterona y estradiol (Aguado y Ojeda, 1984). Este mismo procedimiento en ratas en estro no modificó la concentración de estradiol (Aguado, 2002). Sin embargo, es posible que la perforación del peritoneo modifique el tipo o la cantidad de información que arriva al

ovario vía SON. Otra posibilidad es que la perforación del lado izquierdo del peritoneo resulte en un incremento en la liberación de ácido gamma amino butírico (GABA) y un subsecuente incremento en la concentración de estradiol.

De acuerdo a Erdö y col., 1985 y Laszlo y col., 1989, la inyección de GABA a ratas pseudo-preñadas incrementa la concentración de E_2 en la sangre. Estudios realizados por Cruz y col., 2006, indican que la inyección de atropina (ATR) antes de la perforación del peritoneo uni o bilateral a ratas en D1 o proestro resulta en disminución en la concentración sérica de estradiol, por lo que se sugiere que algunas de las fibras presentes en el peritoneo son muscarínicas. También es posible que el bloqueo de la inervación colinérgica por el tratamiento con ATR resulte en una disminución de la liberación de adrenalina y norepinefrina por la médula adrenal.

Otro estudio muestra que la inyección con ATR a ratas en D2 resultó en un incremento en la concentración sérica de progesterona originada por las adrenales, sin un efecto claro en la concentración de testosterona. Dado que la progesterona y los andrógenos son precursores en la síntesis de estradiol se sugiere que éste es el mecanismo que mejor explica el incremento de la concentración sérica de estradiol observado en ratas con perforación del peritoneo previamente inyectadas con ATR (Cruz y col. 2006).

La disminución en la concentración sérica de estradiol en los animales a los que se les extirparon las adrenales, puede ser explicada por la existencia de una regulación estimuladora entre las adrenales y los ovarios en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de estradiol. Es posible que en tal comunicación esté implícita la inervación que reciben los ovarios y las adrenales y por ende, modulen la respuesta de las glándulas

Así, la capacidad de secreción de E_2 por parte de los ovarios es regulada por las adrenales, regulación que varía durante el ciclo estral y es diferente para cada ovario: en D2 sería de tipo inhibitorio sobre el ovario derecho, en cambio, en el día del proestro la regulación sería de tipo estimulante sobre el ovario izquierdo. Esta regulación asimétrica de los ovarios por parte de las adrenales podría depender en parte, de la inervación de las adrenales, en particular la que recibe del nervio vago, y su vinculación con el sistema nervioso central.

CONCLUSIONES

- ❖ La capacidad de síntesis de estradiol por parte de los ovarios es asimétrica y varía durante el ciclo estral.

- ❖ El ovario izquierdo contribuye con una mayor liberación de estradiol que el ovario derecho.

- ❖ La capacidad de secreción de estradiol por parte de los ovarios es regulada por las adrenales, regulación que varía durante el ciclo estral.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguado LI, Ojeda SR. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining revelatory steroid secretion. *Endocrinology*. 114:1944-1946

Aguado LI. (2002). Role of the central and peripheral nevous system in the ovarian function. *Microsc Res Tech*. 59:462-473.

Arimura AM. (2000). Hypothalamic hormones. En *Neurondocrinology in Physiology and Medicine*. Editores: Conn PM y Freeman ME. Ed. Humana press. Totowa, New Jersey. pp 41-58.

Barco AI, Flores A, Chavira R, Damian-Mutsumura P, Domínguez R, Cruz ME. (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine* 21:209-215.

Berne MD, Matthew NL. (1992). *Fisiología*. 1ª edición. Ed. Mosby/Doyma. España. pp: 155-168.

Brown RE. (1994). The hypothalamic hormones. En: *Introduction to neuroendocrinology*. Cambrige University Press. Great Britain. Pp: 40-55.

Chávez R, Cruz ME, Domínguez R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi – and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol*. 113(3): 397-401.

Constanzo LS. (1998). *Fisiología*. 1ª. Edición. Ed. Mc-Graw-Hill-Interamericana. México. pp: 402-447.

Cruz ME, Sánchez MA, Domínguez R. (2001). Asimetrías funcionales del sistema reproductor. En: Biología de la reproducción. 1ª edición. Editor: Velázquez MJ. Ed. UAM-PUIS. México. pp: 75-91.

Cruz ME, Flores A, Palafox MT, Meléndez G, Rodríguez JO, Chavira R, Domínguez R. (2006). The role of muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4:43.

Dissen GA, Ojeda SR. (1999). Ovarian innervation. En: Encyclopedia of reproduction. Editores: Knobil E and Neil JD. Ed. Academic press. USA. vol. pp: 583-589.

Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos selectos en Biología de la Reproducción. Editor: Domínguez R. Ed. UNAM-Porrúa. México. pp: 163-193.

Domínguez R, Morales L, Cruz ME (2003). Ovarian Asymmetry. *Ann, Rev Biomed Sci* 5:95-104.

Erdö SL, Varga B, HorvathE. (1985). Effects of local GABA administration on rat ovarian blood flow, and on progesterone and estradiol secretion. *Eur. J Pharmacol.* 111:397-404.

Espey LL. (1999). Ovulation. En: Encyclopedia of reproduction. Editores: Knobil E and Nelly JD. Ed. Academic press. USA. vol. 3 pp: 605-614.

Flores OK. (2004). Participación de las glándulas suprarrenales en la ovulación de la rata. XIX Foro de Salidas Terminales, FES Zaragoza, UNAM.

Flores A, Meléndez G, Palafox MT, Rodríguez JO, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2005). The participation of the cholinergic system

inregulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine* 28:2: 145-152.

Flores A, Rodríguez JO, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Cruz ME, Domínguez R. (2006). The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on the testosterone secretion vary along the estrous cycle. Participation of the cholinergic system. *Reproductive Biology & Endocrinol.* 4: 11

Freeman ME. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of reproduction*, 2ª. Ed. Editores: Knobil E, Neill JD. Raven Press. New York. USA. vol 2. cap. 46: 613-358.

Galvez A, Paredes A, Fiedler JL, Venegas M, Lara HE. (1999). Effects of adrenalectomy on the stress-induced changes in ovarian sympathetic tone in the rat. *Endocrine* 10:131-135.

Gerendai I, Halász B. (1997). Neuroendocrine Asymmetry. *Frontiers in neuroendocrinology* 18:354-381.

Gore-Langton RE, Armstrong DT. (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: *The physiology of Reproduction*. 2ª edición Editores: Knobil E and Neill JD. Ed. Raven Press. New York. vol 1, pp: 571-627.

Halász BM. (2000). The Hypothalamus as an Endocrine Organ. En *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Editores: Conn PM y Freeman ME. Ed. Humana press. Totowa, New Jersey. pp 3-21.

Humphrey H, Yao C, Bahr JM. (1999). Ovary overview. En: *Encyclopedia of reproduction*. Editores: Knobil E and Neill JD. Ed. Academic press. USA. Vol. 3 pp 590-596.

Jacobs JJ, Peppler RD. (1980). Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of two strains of rat. *Endocrinology* 2:241-246.

Kilen SM, Schwartz NB. (1999). Estrous Cycle. En: *Encyclopedia of reproduction*. Editores: Knobil E and Neill JD. Ed. Academic press. USA. vol. 2, pp: 127-135.

Klein CM, Ray RH, Burden HW. (1989). Direct electrical stimulation of the superior ovarian in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. *Brain Res.*479:194-200.

Laguna J, Garza EP. (1995). Bioquímica de las hormonas. En: *Bioquímica*. 4ª edición. Ed. Ciencia y cultura latinoamericana. México. pp: 504-553.

Lazlo A, Villanyi P, Zolnai B, Erdö SL. (1989). Gamma-aminobutyric acid, is related enzymes and receptor-binding sites in the human ovary and fallopian tube. *Gynecol Obstet Invest.* 28:97-27.

Loza AMC, Lemus AE, Pérez GP. (1995). Metabolismo de hormonas esteroides. En: *bioquímica*. 2ª edición. Editores: Díaz SJC y Hicks GJJ. Ed. Interamericana. Mc Graw-Hill. México. pp: 605-660.

Murad F, Kuret JA. (1990). Estrógenos y progestágenos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8ª edición. Editores: Goodman GA, Rall TW, Nies AS y Taylor P. Ed. Panamericana. México. pp: 1385-1390.

Ninomiya JG, Coronado I, Aguilar R. (1995). Aparato reproductor femenino. En: *Fisiología humana Endocrinología y Metabolismo*. 1ª edición. Ed. Manual Moderno. México. pp: 89-96.

Noback ChR (1981). Sistema nervioso humano. 2ª edición. Ed. McGraw-Hill. México. pp: 254-261.

Paredes A, Galvez A, Leyton V, Aravena G, Fiedler JL, Bustamante D, Lara HE (1998). Stress promotes development of ovarian cysts in rats: The possible role of sympathetic nerve activation. *Endocrine* 8:309-315.

Pedernera AE (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. En: Comunicación Neuroendócrina. Bases celulares y moleculares. 1ª edición. Ed. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas. México. pp: 33-40.

Rissman EF. (1996). Behavioral Regulation of Gonadotropin- Releasing Hormone. En: *Biology of reproduction* 54: 413-419.

Rodríguez MG (1993). Receptores intracelulares y mecanismo de acción de hormonas esteroides. En: Comunicación neuroendócrina. Bases celulares y moleculares. 1ª edición. Ed. Sociedad mexicana de Ciencias Fisiológicas. pp: 99-109.

Shors TJ, Word G, Paczynski M. (1999). Acute stress persistently enhances estrogen levels in the female rat. *Stress* 3: 162-171.

Schwartz NB (2000). Neuroendocrine Regulation of Reproductive Cyclicity. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Editores: Conn PM y Freeman ME. Ed. Humana Press. Totowa New Jersey. pp 135-145.

Stener – Victorin E, Lunderberg T, Waldeström U, Aloe L, Grunnarsson S, Janson PO. (2000). Effects of electroacupuncture on nerve growth factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycystic ovarios. *Biology of Reproduction* 63: 1497-1503.

Tanaka K, Mutsugami T, Chiba T. (2002). The origin of sensory innervations of the peritoneum in Anat Embriol. 205:307-313.

Tresguerres JAE (1999). Fisiología del ovario. En: Fisiología humana. 2ª edición. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. España. pp: 170-175.

Tinnikov AA, Bazhan NM, Yakovleva TV (1992). The study of properties of immunoreactive estradiol secreted by adrenals and ovaries of immature female rats. Steroids 4:174-177.

Villegas MG (1998). Efectos de la administración de sulfato de atropina en el día del diestro 1 sobre la concentración de gonadotropinas y hormonas ováricas en sangre. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza UNAM.

Yeh J, Adashi EY. (2001). Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4ª edición. Ed. Méd. Panamericana. México. pp: 164-193.

HORMONAS ESTEROIDES

Los esteroides son lípidos insolubles en agua (hidrofóbicos), solubles en disolventes orgánicos, que tienen en común el poseer como núcleo químico básico el ciclopentanoperhidrofenantreno. Este hidrocarburo cíclico está constituido por diecisiete átomos de carbono dispuestos en tres anillos de seis átomos de dicho elemento (ciclohexanos) y un anillo de cinco átomos (ciclopentano) (Loza, 1995).

El compuesto de 27 átomos de carbono (C27) con núcleo colestano y grupos metilos en posición C10 y C13 y una cadena de 8 carbonos en C17, corresponde al colesterol, compuesto básico a partir del cual se forman todas las hormonas esteroides. Partiendo del colesterol se forman los compuestos de 21 átomos de carbono (C21) correspondientes al núcleo pregnano (Figura 1), por pérdida de un segmento de la cadena lateral entre C20 y C22. Estos compuestos por su actividad biológica se llaman progestinas, por ejemplo pregnenolona, progesterona, 17-OH progesterona, 20-dihidroprogesterona. La pregnenolona es importante porque es el primer paso de la biosíntesis de las hormonas esteroides. La progesterona, si bien también es un paso biosintético, es el producto terminal en el folículo ovárico en la etapa previa a la ovulación y es el principal producto durante la presencia del cuerpo lúteo (Pedernera, 1993).

Las progestinas dan origen a los andrógenos por pérdida de la cadena en C17 lo que origina los compuestos con núcleo androstano (C19). Los andrógenos son producidos por el folículo ovárico y son precursores biosintéticos de los estrógenos porque pueden ser aromatizados (Pedernera, 1993).

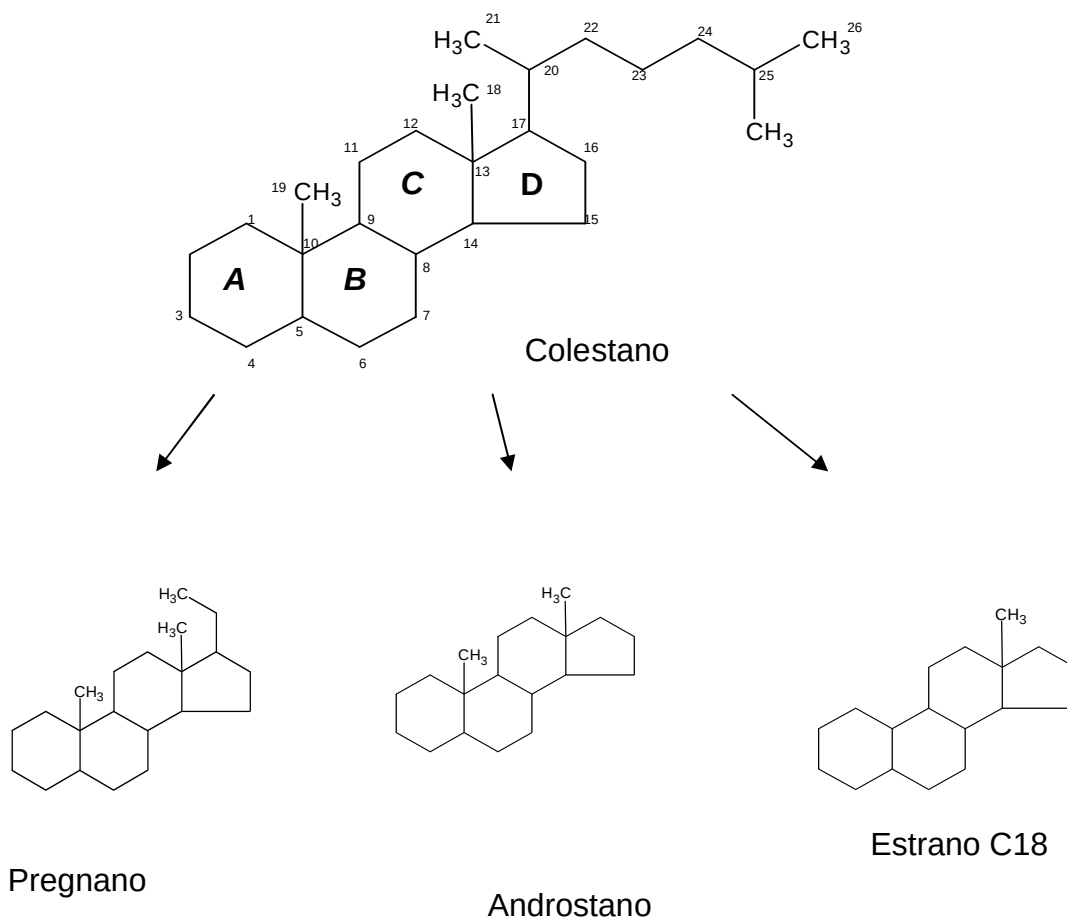


Figura 1. Núcleos básicos de los diferentes tipos de hormonas esteroides (Pedernera, 1993).

Biosíntesis de hormonas esteroides

El colesterol es el precursor de las hormonas esteroides. Las células con función esteroidogénica lo pueden obtener de tres formas: a) incorporarlo de la sangre a partir de las lipoproteínas circulantes, b) utilizar el colesterol almacenado bajo la forma de ésteres en las inclusiones de lípidos de citoplasma, y c) sintetizarlo <<de novo>> a partir del acetato. Cada tipo celular puede usar en forma preferencial una de estas fuentes, pero en general, las células esteroidogénicas del ovario obtienen el colesterol de las lipoproteínas circulantes (Pedernera, 1993).

Hay evidencias de que las lipoproteínas, tanto de baja densidad (LDL) como de alta densidad (HDL) se unen a un receptor en la membrana celular, el complejo lipoproteína-receptor es internalizado y degradado en los complejos lisosómicos, liberándose colesterol libre. El colesterol obtenido de la sangre se almacena en el citoplasma como ésteres de colesterol. El equilibrio entre los ésteres de colesterol de las inclusiones citoplasmáticas y el colesterol libre, depende del balance entre dos enzimas, la colesterol éster sintetasa (ACAT, acetil coenzima A colesterol acetil transferasa) y la colesterol esterasa. El paso limitante de la biosíntesis de colesterol a partir de acetato es la 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A reductasa (HMG Coenzima A reductasa). A partir de las tres fuentes mencionadas la cantidad de colesterol libre depende de la regulación hormonal y de su propia cantidad (Pedernera, 1993).

La conversión colesterol – pregnenolona a nivel mitocondrial es electivamente activada mediante hormonas tróficas de naturaleza peptídica: hormona luteinizante (LH) en ovario y testículo, gonadotropina coriónica (hCG) en placenta y hormona adrenocorticotrófica (ACTH) en corteza suprarrenal (Loza, 1995).

Biosíntesis de la pregnenolona

La formación de pregnenolona marca el inicio de la biosíntesis de las hormonas esteroides. El colesterol es hidroxilado en posición 22 y 20, lo que permite el corte de la cadena lateral formando un compuesto C21 y libera aldehído isocaproico. Este proceso implica la participación de tres componentes: a) una citocromo P-450, proteína de tipo hemo que hidroxila y puede cortar las uniones C-C (P-450 scc), b) una flavoproteína, flavina adenina dinucleótido (FAD) como transportadora de electrones, y c) una proteína de tipo hemo conocida como adrenoxina en la suprarrenal, que actúa como intermediario entre a y b. Se necesitan tres moles de O₂ y de NADPH para formar un mol de pregnenolona. Todo este proceso se produce en la membrana interna de las crestas mitocondriales. Se considera que el colesterol se

une a la P-450 scc y sufre las dos hidroxilaciones sin que se liberen los compuestos intermedios hasta formar pregnenolona. Si se agrega pregnenolona a la enzima purificada se produce una inhibición de la transformación del colesterol (Pedernera, 1993).

Metabolismo de la pregnenolona

La pregnenolona puede transformarse en dos compuestos por diferentes vías de biosíntesis. Una alternativa es ser transformada a progesterona, este paso requiere la participación de un complejo enzimático microsomal, la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa (3β -HSD). La actividad de deshidrogenasa y la de isomerasa no han podido ser separadas en células de mamíferos, por lo que se considera que una sola proteína tiene ambas funciones. La reacción es irreversible en condiciones fisiológicas y requiere NAD^+ como aceptor de electrones (Pedernera, 1993).

La otra alternativa es ser metabolizada por el complejo 17α hidroxilasa, C17-20 liasa. Esta es una citocromo P-450 (P-450 C17) que tiene la función de hidroxilar y cortar la unión C-C, tal como se describe para el caso del colesterol, pero en este caso la hidroxilación es en posición C17 y el corte en la unión 17-20. La enzima es microsomal y requiere NADP y sólo FAD como transportador de electrones. Los substratos de esta enzima pueden ser pregnenolona y progesterona y los productos serán dehidroepiandrosterona (DHEA) o androstenediona respectivamente, ambos andrógenos C19. En este proceso se produce la liberación de acetaldehído. La DHEA puede ser transformada a androstenediona por acción de la 3β -HSD. La vía metabólica que va desde pregnenolona a DHEA se le conoce como 5-ene, mientras que la secuencia que pasa por progesterona para terminar en androstenediona se le conoce como 4-ene (Pedernera, 1993).

Biosíntesis de los estrógenos

Los andrógenos (4-ene-C19) son susceptibles de ser aromatizados y transformados a estrógenos (C18). La glándula mamaria, el tejido adiposo y el diencéfalo, poseen los sistemas enzimáticos que se requieren para la conversión de un anillo A neutro (andrógenos) a un anillo A fenólico (estrógenos). Este proceso conocido como aromatización tiene como “paso limitante” la hidroxilación del carbono-19 (Loza, 1995). El complejo enzimático aromatasa es una citocromo P-450 microsomal, que tiene la función de hidroxilar en C19, eliminar el grupo metilo en C10 y darle estructura aromática al anillo A. La reacción requiere tres moles de NADPH y de O₂. La actividad de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, enzima microsomal requiere de NAD como cofactor. Esta enzima es reversible y su sentido depende de la presencia de sustrato o de la acumulación de producto. Puede interconvertir androstenediona en testosterona o estrona en 17 β -estradiol (Murad y Kuret, 1990; Pedernera, 1993).

Transporte de hormonas esteroides

Una vez que las hormonas son secretadas a la sangre, circulan por el plasma, bien como moléculas libres o unidas a proteínas transportadoras específicas. Los esteroides circulan unidos principalmente a globulinas específicas que se sintetizan en el hígado o a la albúmina. Estas proteínas transportadoras cumplen dos misiones fundamentales. Por un lado, permiten la solubilización en el plasma de sustancias lipídicas y por el otro permiten la creación de una especie de reserva circulante de las correspondientes hormonas, ya que las hormonas unidas a una proteína transportadora no son biológicamente activas, pero tampoco son metabolizadas (Tresguerres, 1999).

Mecanismos de acción de las hormonas esteroideas

El mecanismo de acción de las hormonas esteroideas quedaría integrado de la siguiente manera: a) la hormona viaja en el torrente sanguíneo unida a una proteína acarreadora. Se libera de ésta y penetra a la célula blanco por difusión pasiva, b) en el citosol o en el núcleo se encuentra el receptor formando un complejo con proteínas de choque térmico “heat shock proteins” (hsp), inhibidoras que le confieren estabilidad a la molécula, evitando su desnaturalización e impiden su unión al ADN, c) La hormona se une al receptor y forma el complejo esteroide-receptor (CER), lo que provoca la disociación de las proteínas hsp. El CER sufre cambios fisicoquímicos que dan por resultado su activación. Cuando este CER se encuentra en el citoplasma, después de su activación, es traslocado al núcleo a través de los poros de la membrana nuclear. Este proceso depende totalmente de la presencia de la proteína receptora. El CER activado se une al ADN, d) En el ADN se han aislado los genes específicos blanco de las hormonas esteroideas, cerca de ellos se encuentran los elementos de respuesta, que al ser ocupados por los CER, dejan a los genes blanco bajo el control del esteroide. El CER unido al elemento de respuesta a hormona (ERH) incrementa el ensamblaje de los factores de transcripción en el elemento TATA (región conocida como caja, que alinea a la ARN en un sitio específico) y de esta manera aumenta la formación de un complejo de iniciación rápida. Una vez que se alcanza el equilibrio, en cuanto hay ribonucleótidos disponibles se inicia la transcripción con la ARN polimerasa (Rodríguez, 1993).

Metabolismo hormonal:

La desaparición de una hormona del torrente circulatorio ocurre tras su captación por la célula diana o su degradación metabólica a nivel sanguíneo, hepático o renal, así como su eliminación por heces u orina. La degradación metabólica ocurre por medio de enzimas que determinan proteólisis, procesos de oxidación-reducción y/o introducción de grupos funcionales adicionales. El hígado es el lugar donde se va a

llevar a cabo el metabolismo degradativo de prácticamente todas las hormonas. Allí se conjugan con el ácido glucorónico y los productos resultantes se eliminan por la bilis o la orina. Muchas hormonas peptídicas y parte de las hormonas esteroides libres se filtran a nivel del glomérulo y se eliminan directamente por la orina, después de reabsorberse en parte por los túbulos y sufrir una degradación local (Rodríguez, 1993).

Antes de ser excretados a través de la orina y, en menor proporción, en las heces (circulación enterohepática), los estrógenos se degradan catabólicamente a compuestos de menor potencia biológica o conjugados como glucurónidos y sulfatos, o ambos, con lo cual se incrementa su solubilidad en agua. El 17 β -estradiol puede convertirse periféricamente a estrona y a estriol, los cuales son excretados en forma predominante como glucurónidos, y en menor proporción como ésteres de sulfato (Loza, 1995).

INERVACION DE LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES

Inervación de los ovarios.

Aunque existen variaciones considerables entre las especies, los ovarios de los mamíferos están inervados por fibras simpáticas y parasimpáticas y por neuronas sensoriales aferentes cuyos somas están localizados por debajo de los ganglios de la raíz dorsal torácica y por arriba de la lumbar y en el ganglio nodoso del nervio vago (Gerendai y Halász, 1997).

Las fibras llegan al ovario vía el nervio ovárico superior que viaja a lo largo del ligamento suspensorio y el plexo nervioso ovárico acompañando a las arterias ováricas. Los nervios simpáticos se originan por debajo de la raíz torácica de la columna vertebral (Gerendai y Halász, 1997).

Los somas de las eferencias simpáticas postganglionares están localizados en el ganglio prevertebral y el ganglio torocolumbar paravertebral. Los nervios pasan a través del plexo celíaco y del ganglio ovárico antes de entrar a la región del hilio del ovario. Las fibras parasimpáticas, del vago, también entran al hilio a lo largo de los vasos sanguíneos. Estos nervios autónomos convergen con la mayor parte de la vasculatura ovárica, especialmente alrededor de los vasos en el hilio y la médula. Una porción de los nervios pasa a la corteza del ovario, innervando el tejido intersticial ovárico y forma un plexo alrededor de los folículos ováricos. Dentro de los folículos, los nervios se pueden encontrar en las tecas externa e interna, pero no en las células de la granulosa. Las fibras nerviosas que innervan al ovario son catecolaminérgicas, colinérgicas, y peptidérgicas, que contienen péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P, neuropeptido Y, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) o somatostatina (Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y Halász, 1997).

La noradrenalina y el VIP, dos neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos, estimulan la producción de esteroides ováricos. Ambos aumentan la secreción de progesterona y andrógenos, pero el VIP estimula la producción de estradiol. La noradrenalina también facilita el efecto estimulador de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica. Recientes experimentos han mostrado que VIP y noradrenalina contribuyen a la diferenciación bioquímica de los nuevos folículos al inducir la formación de receptores a FSH, de tal forma que el folículo adquiere la capacidad de responder a las gonadotropinas (Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y Halász, 1997).

La importancia de los nervios ováricos intrínsecos sobre la regulación del desarrollo folicular ha sido mostrada por experimentos en los que la innervación simpática del ovario neonatal se elimina por inmunoneutralización del factor del crecimiento neural (NGF). En esos animales se retrasó el desarrollo folicular y la pubertad y disminuyó la concentración de estradiol. Así el sistema nervioso regula procesos específicos de la función ovárica, facilitando la acción estimuladora de las

gonadotropinas sobre el desarrollo folicular y la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

Por estudios histológicos se ha mostrado que el ovario derecho es más rico en innervación simpática que el izquierdo (Klein y col., 1989). La innervación ovárica tiene un papel en la regulación de la ovulación compensadora y la hipertrofia ovárica. 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; la sección del nervio vago en ratas con extirpación del ovario izquierdo disminuye los parámetros antes mencionados. En ratas hemiovariectomizadas, la hipertrofia compensadora ovárica se reduce por la sección bilateral del nervio vago (Chávez y col., 1987).

Inervación de las glándulas adrenales.

En la rata, la glándula adrenal izquierda pesa más que la derecha. La glándula adrenal recibe innervación tanto preganglionar como postganglionar. En la médula una mayor proporción de fibras nerviosas esplácnicas son preganglionares y una pequeña proporción de nervios adrenales son postganglionares: los cuerpos celulares postganglionares pueden estar en los ganglios autonómicos T4-T12; incluyendo el ganglio suprarrenal. Estos datos sugieren la presencia de fibras nerviosas (sensoriales) aferentes desde la corteza adrenal y la médula de la adrenal; el soma puede estar en la raíz del ganglio dorsal (Gerendai y Halász, 1997).

Una pequeña proporción de los nervios aferentes tienen sus cuerpos celulares en el ganglio sensorial vagal. Algunos nervios vagales adrenales eferentes vienen directamente del núcleo motor del nervio vago: otras terminales vagales han sido mostradas en los ganglios celíaco y suprarrenal. (Gerendai y Halász, 1997).