



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Lab. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO DE LA UNIDAD DE  
INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“Efectos de la ovariectomía o la adrenalectomía en el día del diestro-2  
sobre la ovulación y la concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -  
estradiol.”

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:  
GLADYS MADRIGAL VILLASEÑOR

DIRECTORA 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,  
IN209508-3.

MÉXICO, D.F.

marzo de 2009





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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**Efectos de la ovariectomía o la adrenalectomía en el día del diestro-2 sobre la ovulación y la concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol."**

**Tesis presentada por: Gladys Madrigal Villaseñor**

**Directora de tesis: M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez**

**Realizada en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción**

**Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo financiero de CONACYT 40300Q; DGAPA-PAPIIT IN200405-3, IN209508-3.**

---

---

## DEDICATORIAS

### **A Dios Todopoderoso.**

El temor de Dios es el principio de la sabiduría, y la ciencia de los santos la inteligencia.

Proverbios 9:10

### A Sergio

Por ser el gran amor de mi vida, por el apoyo incondicional, en tiempo y espacio, por la confianza, compañerismo y por ser mi estímulo junto con nuestra hija Edna para seguir adelante, ya que juntos complementan los días de mí existir llenándolos de alegría y paz.

### A mis padres

A quienes doy muchas gracias con todo mi amor, mi respeto y mi entrega, por darme la vida, la educación, el apoyo incondicional y la sabiduría excepcional que me han brindado siempre. Porque sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida. Muchas Gracias.

### A mis hermanos

Carlos, Vicky, y en especial a Yazmín y Mariana porque sin su apoyo no hubiera podido hacer realidad este sueño. Ustedes que son parte importante en mi vida, con quienes comparto este logro y los suyos son míos también.

### A mi maestro Ernesto

Por escucharme siempre, y ser mi amigo.

### A mis amigas:

Lilía y a la memoria de Victoria.

## AGRADECIMIENTOS

Gracias eternamente a Dios que me ha ayudado en todo momento, que me da vida, y la oportunidad de haber realizado con su ayuda esta tesis, que me concede el privilegio de escudriñar el conocimiento y superarme día con día.

Mi Sincero agradecimiento a:

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Por ser una profesora incomparable. Maestra en toda la extensión de la palabra, pues me ha enseñado a ser mejor persona en los diferentes aspectos de una mujer y sobre todo porque me ha comprendido y ayudado a ser cada día mejor, asimismo ha sido la guía fundamental para la realización de este estudio y de mi carrera profesional.

Dr. Roberto Domínguez Casalá

Por su empeño y gran ayuda en la realización de esta tesis, por compartir conmigo su sabiduría, por su inmensa paciencia y comprensión.

Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán

Por ayudarme, por escucharme, por su disponibilidad en todo momento.

Muchas gracias a los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

M. C. Raúl Zavala Chavira

Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán

Dr. José Luis Morán Perales

Por la revisión de este estudio y sus apreciables sugerencias.

Agradezco a:

Esteban, Pamela y Jacqueline. Por su gran apoyo incondicional cuando lo necesite.

A mis compañeros de laboratorio: Eduardo, Karina, Edna, Gris, Teresa P, Jorge, Paola, Fernando, Teresa, Aiko, Claudia, Nandyeli, Alberto por compartir unidos el aprendizaje de la investigación colaborando juntos en experiencias irrepetibles.

<b>RESUMEN.</b>	.1
<b>INTRODUCCIÓN.</b>	.1
<b>MARCO TEÓRICO.</b>	.3
Hormonas esteroides.	.3
❖ Progesterona.	.10
❖ 17 $\beta$ -Estradiol.	.12
Ovarios.	.14
❖ Ovulación.	.18
❖ Regulación de la Secreción de las Hormonas Ováricas.	.21
❖ Inervación.	.22
Adrenales.	.24
❖ Funciones.	.25
❖ Esteroidogénesis en la Corteza Suprarrenal.	.26
❖ Inervación.	.29
❖ Regulación hipotalámica-hipofisaria de la secreción de CRH y ACTH.	30
Ciclo estral.	.33
Asimetrías.	.36
Relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales.	.38
<b>JUSTIFICACION DEL ESTUDIO.</b>	.43
<b>HIPÓTESIS.</b>	.44
<b>OBJETIVOS.</b>	.45
<b>METODOLOGÍA.</b>	.46
<b>RESULTADOS.</b>	.49
❖ Efecto de la perforación del peritoneo.	.49
❖ Efecto de la ovariectomía o la adrenalectomía bilateral.	.50
❖ Efecto de la ovariectomía o la adrenalectomía unilateral.	.51
❖ Efecto de la hemiovariectomía en animales con adrenalectomía.	.53

<b>DISCUSIÓN. . . . .</b>	<b>56</b>
<b>CONCLUSIONES. . . . .</b>	<b>.62</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS. . . . .</b>	<b>63</b>

---

## RESUMEN

La secreción de progesterona ( $P_4$ ) y  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) por parte de los ovarios es regulada por la interacción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH) sobre los folículos y los cuerpos lúteos. La secreción de FSH y LH es regulada por la hormona reguladora de las gonadotropinas (GnRH) secretada por neuronas hipotalámicas. Las adrenales secretan progesterona y su secreción es regulada por la hormona corticotropina (ACTH), cuya secreción es regulada por la hormona liberadora de corticotropina (CRH).

Los efectos agudos (una hora) de la anestesia, perforación uni o bilateral del peritoneo, ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral sobre las concentraciones plasmáticas de  $P_4$ , testosterona y  $E_2$  varían durante el ciclo estral de la rata. Los efectos dependen del lado en que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual muestra la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y las adrenales.

Este estudio se realizó con el fin de analizar si las relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales sobre la secreción de  $P_4$  o  $E_2$  se mantienen más allá de la hora y antes de que se hayan establecido todos los mecanismos de compensación que ocurren cuando los animales son estudiados después de 15 días de haber sido tratados. Por ello, se analizaron los cambios en las concentraciones hormonales 24 ó 48 horas después de realizados los diversos tratamientos experimentales, sólo en el día del diestro-2, ya que de esa manera se analizó no sólo lo que sucede con la secreción hormonal, sino también con la ovulación.

Se utilizaron ratas hembra adultas vírgenes de la cepa CIIZ-V, de tres meses de edad, mantenidas en condiciones controladas de fotoperiodo (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y al alimento. A las 13:00 horas del día del diestro-2 bajo anestesia con éter, los animales fueron sometidos a perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI), derecho (PPD) o ambos lados (PPB), ovariectomía uni o bilateral, adrenalectomía uni o bilateral o a

---

adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral. Grupos de animales fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la intervención quirúrgica.

En los animales sometidos a la PPB sacrificados a las 48 horas se observó menor concentración de  $E_2$  respecto a la del grupo de animales intactos. La perforación uni o bilateral del peritoneo no alteró la ovulación independientemente del lado en que se realizó la cirugía.

La falta de ambos ovarios se tradujo en menor concentración de  $E_2$  a las 24 horas después de la cirugía, pero en aumento de la concentración sérica de  $P_4$  a las 48 horas post-tratamiento respecto a la de los animales con PPB.

La adrenalectomía bilateral resultó en menor concentración de  $P_4$  y mayor concentración de  $E_2$  en los animales evaluados a las 24 horas, lo que no ocurrió en los sacrificados a las 48 horas. Este tratamiento experimental no resultó en cambios en la ovulación.

En los animales con ovario derecho *in situ* sacrificados a las 24 horas, se observó mayor concentración de  $P_4$ . La extirpación del ovario derecho, de la adrenal derecha o izquierda no resultó en modificaciones la concentración de  $P_4$ , independientemente del tiempo de evolución. A diferencia de ello, 24 horas después de la cirugía la extirpación unilateral del ovario o la adrenal resultó en menor concentración sérica de  $E_2$  respecto a la de animales con perforación unilateral del peritoneo. No se observaron diferencias significativas en los animales sacrificados a las 48 horas.

La ovariectomía unilateral se tradujo en menor tasa de animales ovulantes respecto a la de las ratas con perforación unilateral del peritoneo, sin cambios en el número de ovocitos liberados por animal ovulante. La adrenalectomía derecha (animales con la adrenal izquierda *in situ*) resultó en menor número de ovocitos liberados por ambos ovarios respecto a la de las ratas con perforación unilateral del peritoneo.

---

La falta de ambas adrenales en animales con ovariectomía unilateral resultó en disminución significativa en la concentración sérica de  $P_4$ , independientemente del tiempo de evolución, respecto a la de las ratas con ovariectomía unilateral. A diferencia de ello, la concentración de  $E_2$  a las 24 horas post-cirugía fue dependiente del ovario *in situ*; así en los animales con adrenalectomía bilateral y ovario derecho *in situ*, la concentración de la hormona fue menor y en aquellos con el ovario izquierdo *in situ* se observó mayor concentración del esteroide.

La ausencia de adrenales en animales con ovario derecho *in situ* no alteró la ovulación respecto a la de animales con ovario derecho *in situ* y ambas adrenales. La respuesta es diferente si a los animales se les extirpa las adrenales y permanece el ovario izquierdo *in situ*, ya que mientras la tasa de animales ovulantes no cambió, el número de ovocitos liberados por animal ovulante aumentó respecto a la de los animales con ovario izquierdo *in situ* y ambas adrenales.

Las adrenales contribuyen de manera significativa al mantenimiento de la concentración de  $P_4$  en sangre, mientras que los ovarios con la de  $E_2$ . Las adrenales modulan la secreción de las hormonas, la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados lo que depende del tiempo transcurrido entre la cirugía y el momento en que se cuantifica la concentración de las hormonas. Esta regulación también depende de la adrenal o el ovario que esté presente.

---

## INTRODUCCIÓN

Los sistemas nervioso y endocrino son parte de los sistemas de control de la homeostasis del organismo, ya que regulan y coordinan la mayoría de las actividades conscientes e inconscientes del cuerpo.

La endocrinología se ocupa del estudio de la secreción de las hormonas, sustancias que regulan los procesos metabólicos del organismo y en consecuencia son indispensables para el mantenimiento de la vida. Las hormonas se elaboran en las glándulas endocrinas o de secreción interna. Por medio de la sangre las hormonas llegan a sus órganos blanco (Guyton y Hall, 2001). La actividad de las glándulas endocrinas está regulada por la secreción de neurohormonas liberadoras o inhibidoras de procedencia hipotalámica, las cuáles llegan a la hipófisis por medio del sistema portal hipotalámico-hipofisario y estimulan o inhiben la síntesis y la secreción de sus respectivas hormonas. La respuesta de los órganos endocrinos a las hormonas reguladoras es modulada por la inervación que reciben los órganos.

Así, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), que al llegar a los gonadotropos de la adenohipófisis estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH). En el ovario, dichas hormonas hipofisarias estimulan la ovulación y secreción de sus hormonas (progesterona ( $P_4$ ),  $17\beta$ -estradiol ( $E_2$ ) y andrógenos) y péptidos (inhibina, activina, entre otros), estableciéndose mecanismos de retroalimentación estimulante e inhibitoria entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios (Guyton y Hall, 2001; Schwartz, 2000).

Las glándulas adrenales también sintetizan progesterona y testosterona, su secreción es regulada por la hormona corticotrópica (ACTH), que es regulada por la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) (Arimura, 2000).

Existen interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la concentración de hormonas esteroideas que varían a lo largo del ciclo estral (Barco y col., 2003, Cruz y col. 2001, Flores y Col. 2004). Los

---

resultados de la ovariectomía y adrenalectomía unilaterales evaluados una hora (cambios agudos) después de la cirugía muestran que hay asimetría en las capacidades secretoras hormonales por parte dichos órganos, la cual varía a lo largo del ciclo estral (Barco y col., 2003; Cruz y col., 2005; Domínguez y col., 2004; Flores y col., 2004, 2005; Meléndez, 2005; Palafox, 2003, 2007; Rodríguez, 2003).

En la rata también existe asimetría en la capacidad ovulatoria de los ovarios, ya que el número de ovocitos que libera el ovario izquierdo es mayor que el del derecho (Domínguez y col., 1988). Jacobs y Pepler (1980) mostraron que la adrenalectomía bilateral a ratas hembra resulta en disminución del número de ovocitos liberados, cuantificados 30 días después de la intervención quirúrgica (cambios crónicos). Este resultado pone de manifiesto que las adrenales tienen un papel de tipo estimulador sobre la liberación de los ovocitos. Sin embargo, los autores no especificaron la fase del ciclo estral en la cual se realizaron las operaciones quirúrgicas.

La mayoría de los estudios realizados sobre los mecanismos de adaptación de un animal a la falta de un ovario, se refieren a cambios agudos (una hora) o cambios crónicos (15-30 días). En estos últimos en general no se tomó en cuenta que los mecanismos involucrados en la regulación de la secreción de hormonas esteroides y la ovulación varían durante el ciclo estral.

Por ello, en el presente estudio se decidió analizar si los cambios observados en la concentración hormonal en animales con ovariectomía uni o bilateral, adrenalectomía uni o bilateral o a adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral, se mantienen más allá de una hora y antes de que se hayan establecido todos los mecanismos de compensación que ocurren cuando los animales son estudiados después de 15 días de haber sido tratados. Por ello, se analizaron los cambios en las concentraciones hormonales 24 ó 48 horas después de realizados los diversos tratamientos experimentales en el día del diestro-2, ya que de esa manera se podrá analizar no sólo lo que sucede con la secreción hormonal, sino también con la ovulación.

## MARCO TEÓRICO

### HORMONAS ESTEROIDES

Las hormonas son mensajeros químicos producidos por glándulas de secreción interna, que son transportadas por el torrente sanguíneo hacia las células blanco donde regulan procesos metabólicos (Ganong, 2000; Guyton y Hall, 2001). Desde el punto de vista bioquímico, las hormonas secretadas son de tres tipos: esteroides, proteínas y polipéptidos (Domínguez, 1997).

#### Síntesis y secreción

Los esteroides son derivados del colesterol. El colesterol está formado por el ciclo pentanoperhidrofenantreno y una cadena lateral (28 átomos de carbono en total) (Domínguez, 1997).

El ciclo pentanoperhidrofenantreno es un anillo complejo compuesto por tres ciclos hexanos (A, B y C) y un ciclo pentano (D) (Burriss, 1999). A este núcleo se agregan cadenas laterales que determinan las distintas clases de esteroides (Pedernera, 1993). Derivados del pregnano, con 21 átomos de carbono; derivados del androstano con 19 átomos de carbono; derivados de estrano, con 18 átomos de carbono (Fig.1) (Burriss, 1999; Domínguez, 1997).

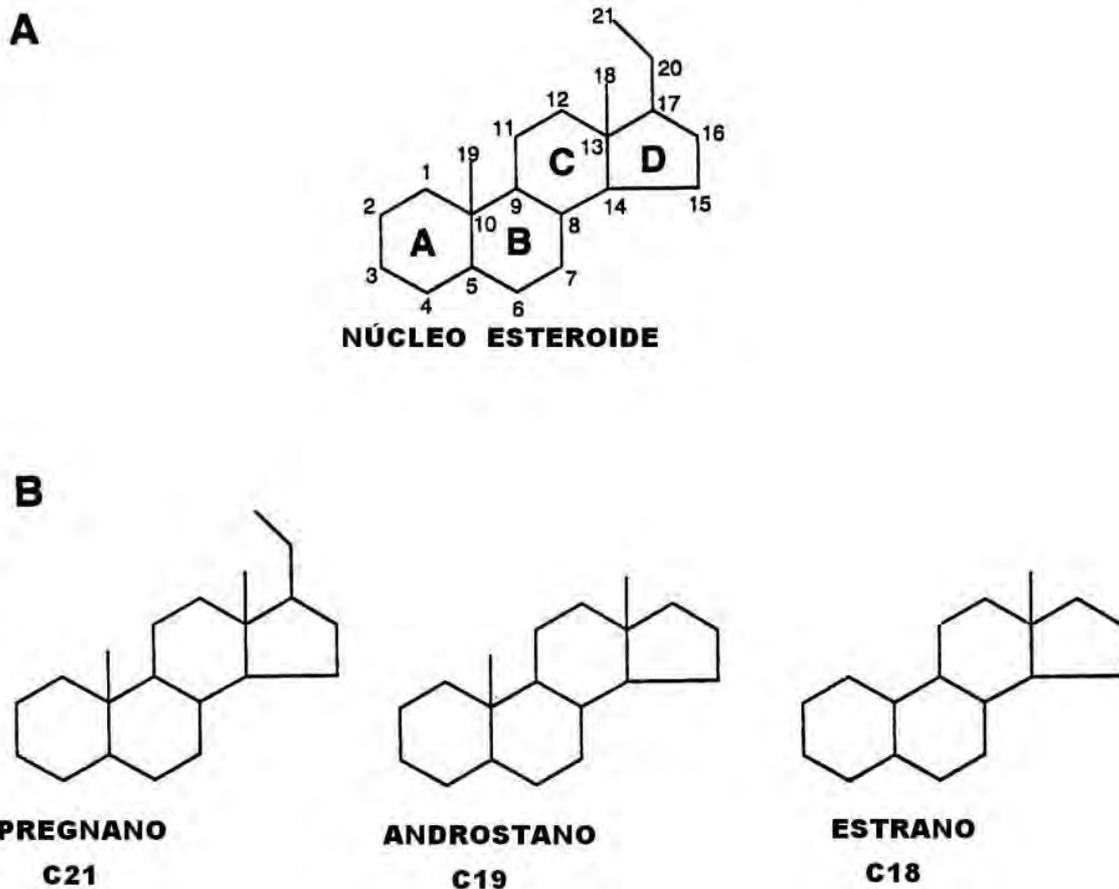
El paso limitante en la conversión de colesterol a esteroides es la ruptura de la ligadura entre C<sub>20</sub>-C<sub>22</sub> y la incorporación de una función cetona en el C<sub>20</sub>, lo que da como resultado a la pregnenolona (Brown, 1999; Burriss, 1999).

Los derivados pregnano dan origen a las progestinas, llamados así por su actividad biológica, por ejemplo pregnenolona, P<sub>4</sub>, 17-OH progesterona, 20 – dihidroprogesterona (Pedernera, 1993).

Las progestinas a su vez dan origen a los andrógenos por pérdida de la cadena C<sub>17</sub> lo que origina los compuestos con núcleo androstano (C<sub>19</sub>). En los

mamíferos la testosterona, androstenediona y 5-dihidroxitestosterona son los andrógenos más abundantes (Pedernera, 1993).

Los estrógenos derivan del estrano con 18 carbonos (C18), que se forma por la pérdida del grupo metilo del C10 del núcleo androstano. El anillo A es de tipo fenólico, con tres dobles enlaces (aromatizado). Los principales estrógenos son el 17  $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>), estriol y la estrona (Pedernera, 1993).



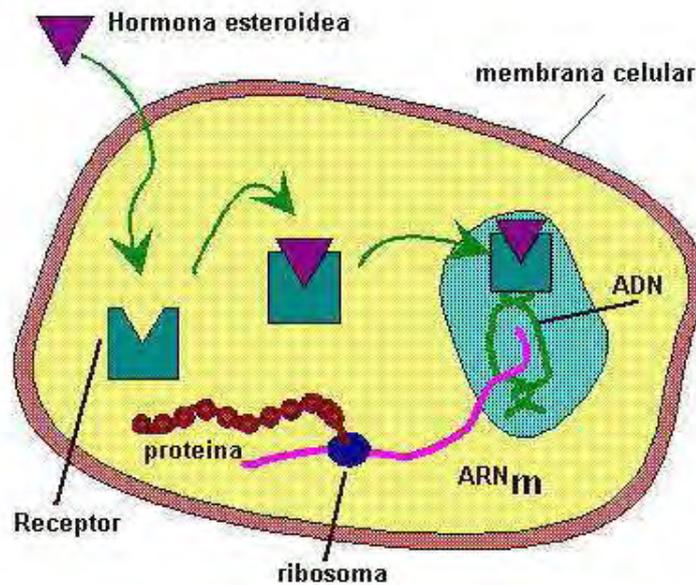
**Figura 1.** Núcleos básicos de las diferentes tipos de hormonas esteroideas. (A) núcleo de ciclo pentanoperhidrofenantreno o núcleo esteroide. Consta de tres anillos de ciclo hexano (A-C) y un anillo de ciclo pentano (D) con numeración para los átomos de carbono. (B) estructuras madre esteroideas para las tres hormonas esteroideas sexuales: pregnano (progestinas), androstano (andrógenos), y estrano (estrógenos). El número debajo del nombre del anillo se refiere al número de átomos de carbono de la estructura madre (Tomada y modificada de Burris, 1999; Brown, 1999; Pedernera, 1993).

Las células esteroideogénicas obtienen el colesterol a partir de tres fuentes: 1) la sangre, 2) el colesterol almacenado como ésteres en las inclusiones de lípidos del citoplasma y 3) por síntesis "de novo" a partir de acetato (Pedernera, 1993). Las hormonas esteroideas actúan sobre aquellas células que poseen receptores específicos para cada una de las hormonas. Los receptores de las hormonas esteroideas se encuentran en el citoplasma, núcleo y en la membrana plasmática cuya estimulación resulta en la síntesis de proteínas estructurales o de exportación (Domínguez, 1997).

Aunque las hormonas esteroideas están relacionadas estructuralmente, su papel fisiológico es muy diferente. Las hormonas esteroideas participan en la regulación del embarazo y el parto, la espermatogénesis, lactancia, el equilibrio mineral y metabolismo energético (aminoácidos, glúcidos y grasas), etc.

### **Receptores a Hormonas Esteroideas**

Las hormonas esteroideas son moléculas hidrofóbicas, por lo que para ser transportadas en la sangre necesitan unirse a proteínas acarreadoras que les confieren solubilidad. Una vez liberadas, pueden atravesar fácilmente por difusión la membrana plasmática de las células blanco. Desde el plasma entra a la célula sin requerir de un transportador de membrana, se une a una macromolécula proteica, en el citosol a la que se denomina receptor. El complejo hormona-receptor que se forma en el citosol, se transloca al núcleo celular donde estimula o inhibe la expresión del genoma, lo que se traduce por la síntesis de un ARNm, lo que provoca cambios en la síntesis proteica que da como resultado final la expresión del efecto celular de la hormona (Fig. 2) (Cerbón y col., 1991; Rodríguez- Manzo, 1993).

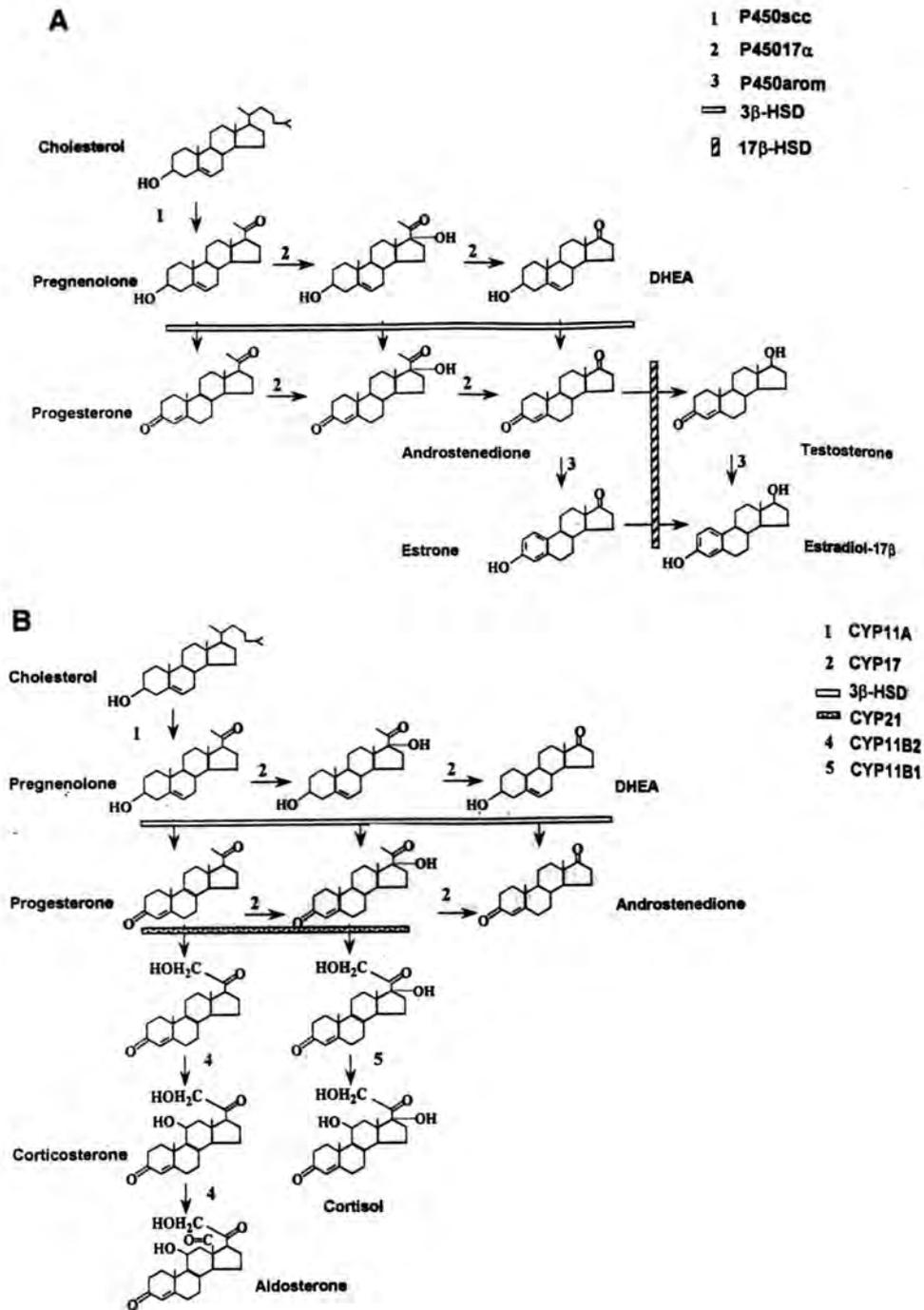


**Figura 2.** Los esteroides, gracias a su naturaleza lipídica, atraviesan fácilmente las membranas de las células blanco, y se unen a su receptor de tipo proteico, que se encuentran en el citoplasma. Se translocan al núcleo, donde son capaces de hacer cesar la inhibición a que están sometidos algunos genes y permitir que sean transcritos. Las moléculas de ARNm originadas se encargan de dirigir en el citoplasma la síntesis de unidades proteicas que son las que producirán los efectos fisiológicos hormonales.

Las hormonas esteroides se sintetizan en las adrenales, los ovarios y testículos, la placenta, el tejido adiposo, las neuronas, la piel, los huesos y el hígado fetal (Brown, 1999).

Los tipos de esteroides producidos y secretados dependerán de la naturaleza de la célula esteroideogénica y de la actividad de los sistemas enzimáticos intrínsecos (Yen y col., 2001).

En los ovarios el colesterol es metabolizado en progestinas, andrógenos y  $E_2$ ; y en las adrenales en glucocorticoides (corticosterona y cortisol), mineralocorticoides (aldosterona) y esteroides gonadales ( $P_4$  y testosterona) (Fig. 3) (Yao y Bahr, 1999).



**Figura 2. (A) Ruta esteroidogénica en los ovarios.** El producto principal de los ovarios es progesterona y 17 β-estradiol. **(B) Ruta esteroidogénica en la glándula adrenal.** Los mineralocorticoides (aldosterona) son producidos en la zona glomerular, los glucocorticoides son producidos en la zona fascicular (cortisol en muchas especies; corticosterona en la rata, no presenta CYP17 en la adrenal), y en la zona reticular en algunas especies esteroides C<sub>19</sub> (Tomado de Hinshelwood, 1999).

### **Síntesis y secreción de hormonas en el ovario**

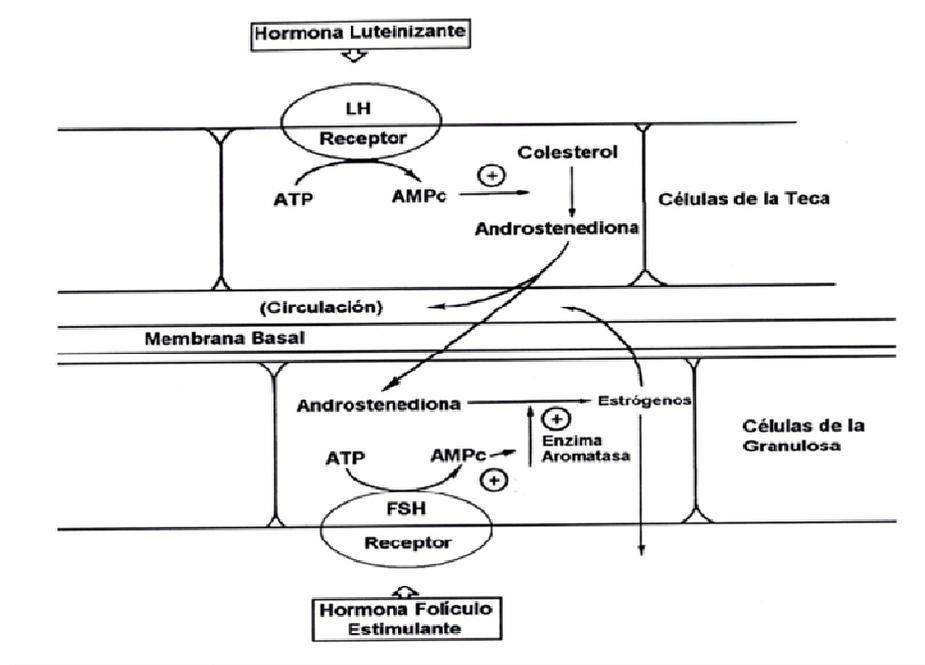
Los folículos en desarrollo, el cuerpo lúteo y el estroma son los tres compartimentos de la gónada responsables de la función hormonal (Larrea y col., 1991).

El ovario secreta  $E_2$ ,  $P_4$ , androstenediona, testosterona y  $17\text{-}\alpha$ -hidroxiprogesterona. La síntesis de estos esteroides se encuentra determinada por tres factores: 1) la estimulación del ovario por las gonadotrofinas hipofisarias, 2) la presencia de receptores para ambas gonadotrofinas y 3) la disponibilidad de sustratos adecuados para su síntesis. La síntesis de estradiol requiere de dos estirpes celulares diferentes, las células de teca y las células de la granulosa (Larrea y col., 1991).

Las células de la granulosa del ovario representan el sustrato anatómico principal para la síntesis de  $E_2$ . Los intermediarios en la biosíntesis de estradiol por las células de la granulosa lo constituyen los andrógenos (androstenediona, testosterona o ambos), producidos a nivel de las células de la teca interna, la cual es estimulada por la LH. La biotransformación de androstenediona a estrona y  $E_2$  en la granulosa, requiere de la acción de la FSH (Fig. 4). 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 (Larrea y col., 1991). Los estrógenos ejercen acciones directas sobre las células de la granulosa y el ovocito; y otros se difunden a la circulación en general (Domínguez y col., 1991).

La síntesis de  $P_4$  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  $P_4$  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  $P_4$  por enzimas microsomales (Larrea y col., 1991).



**Figura 4.** Teoría de la doble célula doble hormona en la esteroidogénesis folicular. La LH se une a receptores de membrana específicos sobre células de la teca interna y estimula la producción de AMPc y la conversión de colesterol a andrógenos, principalmente androstenediona y testosterona. Estos andrógenos se esparcen dentro de la circulación a través de la membrana basal dentro de las células de la granulosa. La FSH se une a receptores de membrana específicos sobre las células de la granulosa y estimula la producción de AMPc, que estimula el incremento de la enzima aromataza y la conversión de andrógenos a estrógenos (Modificado de Yao y Bahr, 1999).

En el folículo ovárico la FSH actúa primordialmente sobre las células de la granulosa, en las que estimula su crecimiento, multiplicación (de manera sinérgica con los estrógenos), la síntesis de receptores a la LH y la del complejo de aromatasas (Domínguez, 1997).

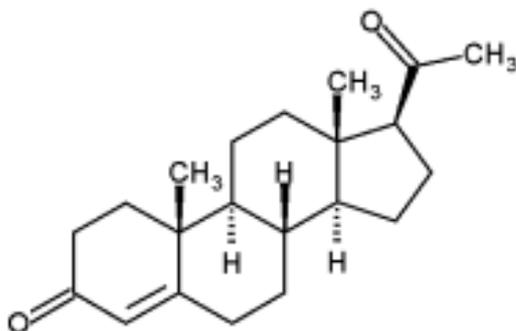
La LH actúa sobre las células teco-intersticiales donde estimula la conversión de colesterol a pregnenolona. En las células de la granulosa del folículo ovárico tiene un efecto dual: al inicio del crecimiento y la maduración folicular estimula el complejo de aromatasas y la síntesis de sus propios

receptores. Cuando el folículo alcanza la etapa preovulatoria, la LH inhibe la síntesis de sus propios receptores, lo cual resulta en la disminución de la actividad del complejo aromatasa y la síntesis y secreción de  $P_4$  por las mismas células (Domínguez, 1997).

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, 1991).

### PROGESTERONA

La progesterona (4-pregnen-3,20-diona) (Fig. 5), es la progestina natural más activa y es el principal esteroide progestacional en muchas especies. Es sintetizada en todos los tejidos esteroideogénicos, testículos, glándula adrenal, placenta y ovario (Burris, 1999). Su vida media es de 5 minutos (Porter y col., 2004).



**Figura 3.** Molécula de progesterona (Tomada de Garrido, 1991).

**Funciones:** (Burriss, 1999; Cerbón, 1991; Domínguez, 1997; Goodman y Gilman, 1991).

- Induce la diferenciación del epitelio endometrial, que se transforma en un epitelio secretor, lo cual es necesario para la implantación del embrión.
- Junto con los E<sub>2</sub> estimula el desarrollo alveolar y aumentan la capacidad de las glándulas para secretar leche.
- Regula de manera estimulante o inhibitoria la secreción de GnRH, lo que depende del momento del ciclo estral o menstrual.
- Durante la fase luteal disminuye la frecuencia de la secreción pulsátil de LH. Por el contrario, la secreción de FSH no se encuentra afectada.
- Estimula el desarrollo de las características sexuales secundarias y algunas características conductuales.
- La P<sub>4</sub> al contrario que el E<sub>2</sub>, disminuye la amplitud y frecuencia de las contracciones del oviducto.
- Retrasa el transporte del ovocito hacia el útero. Este atraso es necesario, ya que permite el desarrollo del medio uterino para la implantación.
- Regula el número de receptores a estrógenos en el endometrio. La P<sub>4</sub> actúa sobre el endometrio, previamente estimulado por el E<sub>2</sub> durante la primera fase del ciclo (fase proliferativa), para prepararlo para el embarazo. Así, el endometrio se hace secretor (fase secretora) por interacción de la P<sub>4</sub> con sus receptores endometriales.
- Disminuye la contractilidad del miometrio y su sensibilidad a la oxitocina.
- Aumenta la temperatura corporal en humanos a mitad del ciclo, y este aumento de 0.5°C, se correlaciona con la ovulación. Sus metabolitos tienen una ligera acción termogénica. Un incremento de la temperatura corporal basal en la

segunda mitad del ciclo ovárico es un índice de que la ovulación ha tenido lugar.

### Depuración metabólica

En el hígado la progesterona forma conjugados hidrosolubles con el sulfato y el ácido glucurónico, los cuales se eliminan por la orina (Porter y col., 2004; Burris, 1999).

### 17- $\beta$ ESTRADIOL

El 17  $\beta$ -estradiol [1,3,5(10)-estratrieno-3,17 $\beta$ -dio], es el estrógeno más activo producido por el ovario (Fig. 6). Es sintetizado principalmente por los ovarios pero también por los testículos, el tejido adiposo, la piel, el hueso, numerosos tejidos fetales y algunas regiones del cerebro (Brown, 1999; Hinshelwood, 1999; Paolucci y col., 1999; Yen y col. 2001).

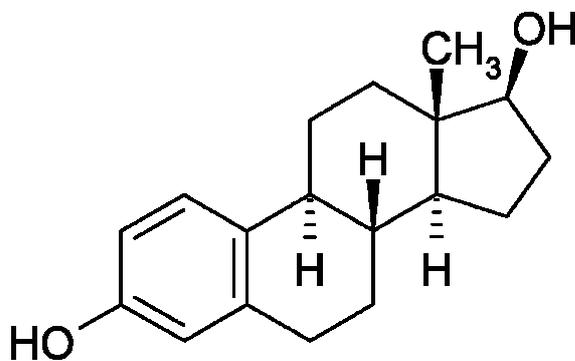


Figura 6. Molécula de 17  $\beta$ -estradiol (Tomada de Garrido, 1991).

**Funciones:** (Domínguez, 1993; Domínguez, 1997; Goodman y Gilman, 1991; Hinshelwood, 1999; Loza y col., 1995; Paolucci y col., 1999).

En el Folículo Ovárico:

- Estimula el crecimiento.
- Estimula la división celular de las células de la granulosa.
- Actúa de manera sinérgica con la FSH sobre las células de la granulosa.

En el útero:

- Incrementa la contractilidad del músculo liso uterino, así como el número de proteínas contráctiles (actina y miosina), con lo que favorece el transporte del huevo hacia el útero.
- Estimula la secreción de moco en las glándulas del cuello uterino.
- Estimula el crecimiento del endometrio y el miometrio. Se acompaña de un aumento del contenido de agua y del flujo sanguíneo.

En las mamas:

- Induce el aumento del tamaño de las mamas, el desarrollo del estroma, el sistema tubular y los acinos.

En la vagina:

- Regula los cambios citológicos típicos del ciclo vaginal.
- Aumenta el contenido de glucógeno que por acción bacteriana se transforma en ácido láctico, hecho que acidifica las secreciones y con ello evita las infecciones vaginales.
- Estimulan el desarrollo y la función de las glándulas de Bartolino, cuya secreción sirve de lubricante vaginal durante el coito.

En el cuerpo:

- Estimula el crecimiento y desarrollo de las características sexuales secundarias (estimula el comportamiento reproductivo; el crecimiento del vello axilar y pubiano; la pigmentación regional de la piel del pezón, la aréola y la región genital; estimula la síntesis proteica y determina el depósito de grasa característico de la figura femenina).
- Junto con la P<sub>4</sub>, regulan de manera estimulante o inhibitoria la secreción de GnRH.
- En la piel da una textura blanda y tersa.
- En los huesos: estimula la actividad osteoblástica, y producen fusión temprana de la epífisis con la diáfisis.
- Efecto anabólico estimula la secreción de angiotensinógeno y de la proteína fijadora de tiroxina que de algún modo reflejan el efecto anabólico proteico.
- Tienen efectos similares a los mineralocorticoides ya que estimulan la retención de sal y agua, por lo que incrementa el peso corporal durante el periodo premenstrual.

### **Depuración metabólica**

El E<sub>2</sub> circula en la sangre ligado a la albúmina y la globulina fijadora de hormonas sexuales. Una proporción circulante de E<sub>2</sub> se encuentra en forma de conjugados, en particular sulfato, que son excretados por el riñón (Goodman y Gilman, 1991).

### **OVARIOS**

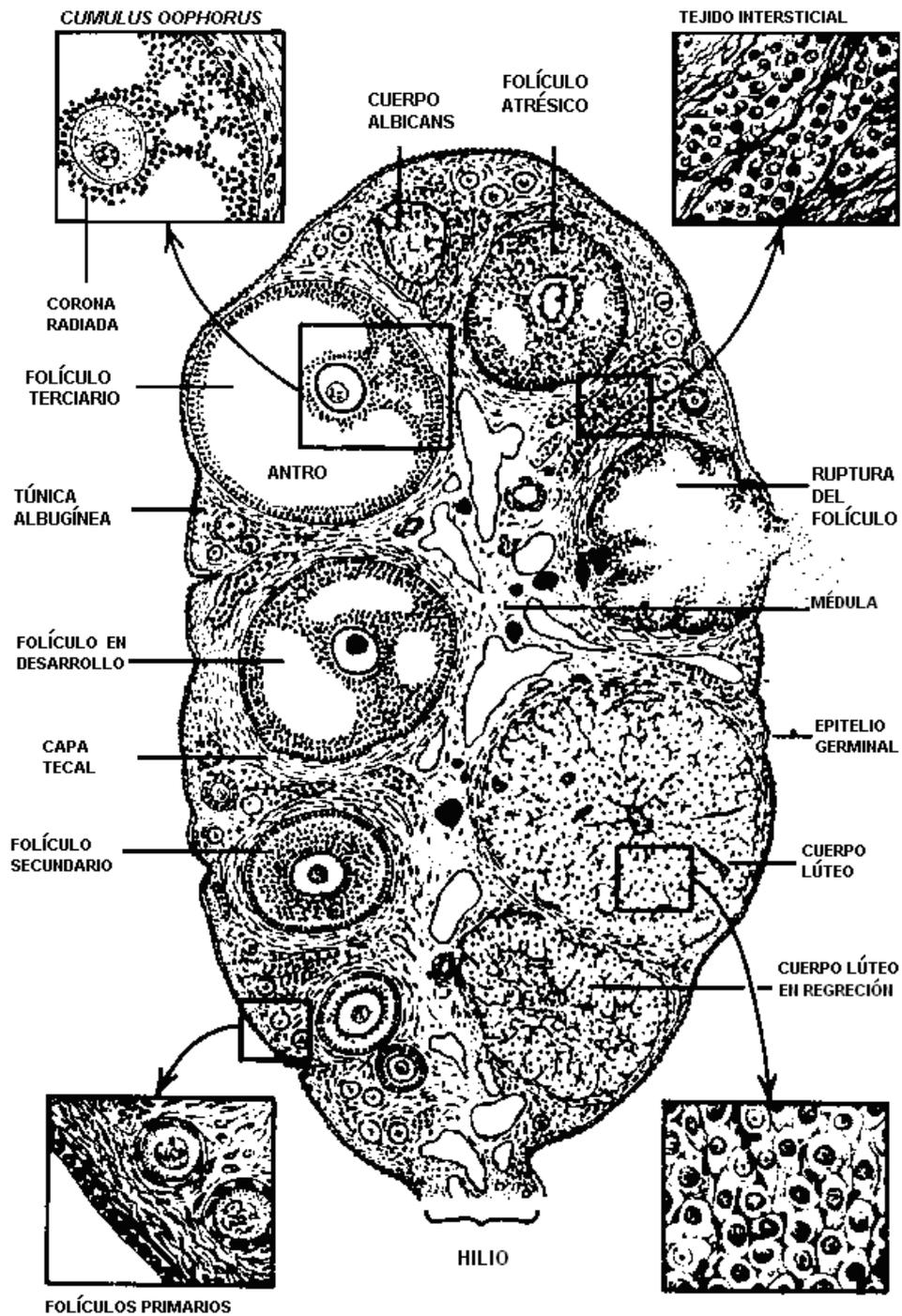
Los ovarios son órganos pares, de forma ovoide, situados en los extremos de las trompas uterinas, detrás del peritoneo (Fawcett, 1995; Greenspan y Gordon, 1999;). Están suspendidos del ligamento ancho uterino, en un pliegue del peritoneo llamado mesovario. La estructura del ovario es similar entre las especies de mamíferos aún cuando su tamaño varía (Yao y Bahr, 1999). Los ovarios son

órganos muy vascularizados. Su riego sanguíneo lo aportan la arteria útero-ovárica rama de la aorta abdominal y la arteria ovárica. Ambas penetran por el mesovario a través del hilio, donde también sale la vena ovárica (Killen y Schwartz, 1999).

El ovario está recubierto por una capa de células epiteliales llamada epitelio germinativo. Debajo del epitelio germinativo se sitúa la túnica albugínea, que es una capa pobremente delineada de tejido conectivo denso que da al ovario un color blanquecino (Yao y Bahr, 1999).

### **Compartimentos Funcionales del Ovario**

Para su estudio, en el ovario se distinguen tres compartimentos: el folicular, el luteal y la glándula intersticial (Fig. 7). El compartimento folicular es la unidad anatómica y funcional del ovario, en su interior se encuentra el gameto femenino u óvulo; dicho compartimento da origen a los otros dos. El luteal se forma después de la ovulación cuando el folículo se transforma en cuerpo lúteo. Y la glándula intersticial se origina a partir de las células de la teca interna de los folículos que van a la atresia y que ya tienen receptores a la LH (Domínguez, 1997).



**Figura 7.** 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 Yao y Bahr, 1999).

## Zonas del Ovario

En el ovario se distinguen tres zonas: 1) la corteza; donde se encuentran localizados los folículos en diferentes estadios de maduración, tejido conectivo de sostén y células intersticiales, 2) la médula; que contiene una rica red vascular, tejido conectivo y células de la glándula intersticial y 3) el hilio; donde se encuentran la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos, microganglios nerviosos, terminales nerviosas, células intersticiales (Sánchez, 1999).

El estroma está compuesto por células del tejido conectivo laxo, células del músculo liso localizadas alrededor de los folículos y células intersticiales que incluyen las células de la teca indiferenciada y células de degeneración folicular que provienen de los folículos atrésicos y cuerpos lúteos en regresión (Fig. 7) (Yao y Bahr, 1999).

Durante el crecimiento del folículo se distinguen diversas etapas: *folículo primordial*, que consiste de una célula germinal, ovocito, rodeada por una sola capa de células epiteliales aplanadas, *folículo en crecimiento* en el que hay proliferación de las células de la granulosa, folículos antrales en los que se acumula líquido entre las células de la granulosa formando una cavidad o antro y *folículo preovulatorio* o de *De Graafian* en el que el folículo alcanza su máximo tamaño y el ovocito rodeado por el *cúmulus* comienza a desprenderse de la capa de células de la granulosa (Kilen y Schwartz, 1999).

Desde el momento en que los folículos inician el proceso de crecimiento y fundamentalmente cuando nos encontramos en la presencia de un folículo antral, podemos distinguir dos capas celulares que forman la pared folicular. La capa granulosa en contacto con el ovocito primario y la teca que la envuelve, ambas, separadas por una membrana basal bien definida (Pedernera, 1993).

Una vez iniciado el crecimiento folicular no se detiene y culmina en la ovulación o en la atresia, proceso que puede presentarse en cualquier etapa del desarrollo folicular. En la rata, el crecimiento del folículo dura 19 días, desde que pasa del estado de reposo hasta que culmina con la ovulación. Éste cálculo indica

que durante la vida del folículo en crecimiento, se ve expuesto al menos a cuatro <<picos>> de concentraciones plasmáticas de gonadotropinas (Domínguez y col., 1991).

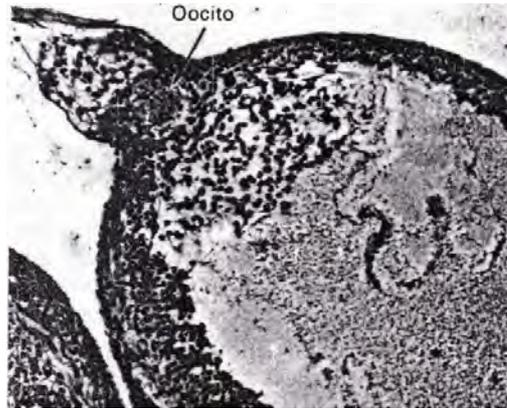
### **Funciones**

Las funciones del ovario son: 1) Sintetizar hormonas esteroideas ( $P_4$ , andrógenos y  $E_2$ ) y peptídicas (inhibina, activina, entre otros) y 2) liberar ovocitos capaces de ser fecundados (ovulación) (Fig. 7) (Killen y Schwartz, 1999).

### **Ovulación**

La ovulación es el proceso mediante el cual se rompe el folículo y libera el ovocito una vez que éste ha culminado el crecimiento y la diferenciación folicular, según la especie en estudio (Fig. 8) (Domínguez y col. 1991; Fawcett, 1995). La ovulación presenta características periódicas y se libera uno o varios ovocitos y su frecuencia varía de especie en especie (Domínguez, 1993).

La ovulación se considera como el resultado de un proceso inflamatorio localizado, ya que antes que se produzca la salida del ovocito hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento en la concentración de prostaglandinas en el área. Para que se produzca la ovulación son necesarios varios cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células de la granulosa y las tecaes. Se piensa que las células musculares de la teca juegan un papel en la expulsión del ovocito durante la ovulación. Durante la última etapa del crecimiento y la diferenciación folicular se producen la desaparición de los desmosomas que presentan las células de la granulosa, así como la degradación de las fibras colágenas, provocada por la fibrinolisis sintetizada por las células de la granulosa. Esta enzima es activada por el plasminógeno, producto de las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991).



**Figura 8.** Fotomicrografía de un folículo del ovario de una rata en el momento de la ovulación. Puede verse el cúmulo con el ovocito encerrado en él (flecha) en el momento de atravesar el estigma (Tomada de Fawcett, 2003).

La desaparición de los desmosomas y nexos entre las células de la granulosa es consecuencia de la disminución de la concentración de estrógenos en el licor folicular, ya que después del <<pico de LH>>, la capacidad de síntesis de estrógenos por las células de la granulosa disminuye rápidamente, mientras que aumenta la de progesterona (Domínguez y col., 1991).

La síntesis y liberación del plasminógeno es estimulada por la FSH, LH, y GnRH, las que también regulan la síntesis de un inhibidor de la fibrinólisis sintetizado por las células de la granulosa. La estimulación de la síntesis del plasminógeno por la LH parece estar mediado por las prostaglandinas, principalmente por la prostaglandina E (PGE), ya que si se inhibe su síntesis con indometacina, se bloquea la ovulación (Domínguez y col., 1991). La plasmina degrada la colágena de la pared folicular y en consecuencia disminuye su rigidez. La actividad de esta enzima es estimulada directamente por la LH y los efectos de esta hormona sobre el plasminógeno son incrementados por los estrógenos. La colagenasa es producida por los fibroblastos de la teca interna y su actividad es estimulada por el ácido ascórbico y la plasmina. La ovulación se produce 10 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas (Domínguez y col., 1991; Espey, 1999;).

Luego de la ovulación, la sangre de los vasos sanguíneos de la pared folicular infiltra a los folículos colapsados y resulta en la formación de un cuerpo hemorrágico, el cual se reorganiza y da origen al cuerpo lúteo. Las células luteinizadas de la granulosa y las células de la teca se dividen de manera acelerada e invaden la cavidad antral. Desde la teca interna los vasos sanguíneos crecen y penetran la masa de células luteales. Si la preñez no ocurre, el cuerpo lúteo degenera. (Yao y Bahr, 1999). Las células de la teca interna de aquellos folículos que van a la atresia y que ya tienen receptores a la LH forman la glándula intersticial (Domínguez, 1997).

El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Esta alteración es seguida por modificaciones de las células de la granulosa, ya que pierden gradualmente los receptores a las gonadotropinas, disminuye la capacidad de aromatización de los andrógenos y por lo tanto su concentración aumenta dentro y fuera del folículo. La atresia folicular puede ocurrir en cualquier momento del desarrollo folicular (Domínguez y col., 1991; Wong y Adashi, 1999).

### **Regulación de la Ovulación**

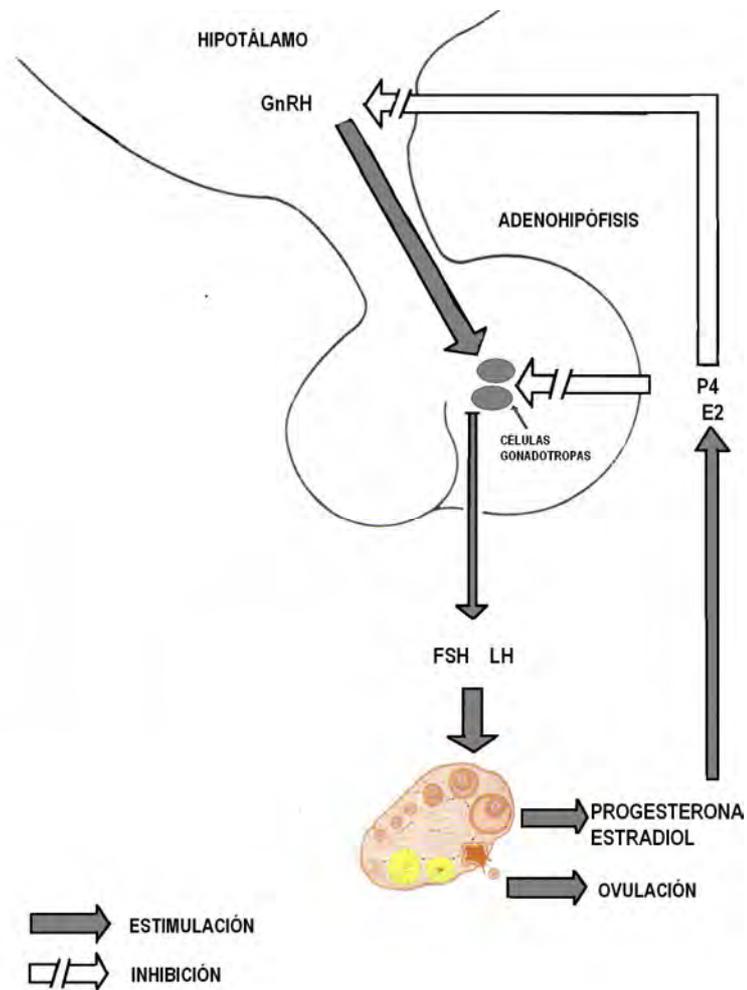
La ovulación es regulada por múltiples factores neuroendocrinos que modulan el crecimiento y la diferenciación de los folículos ováricos. En el que intervienen la FSH, la LH, la prolactina, las hormonas secretadas por el ovario en particular los estrógenos, hormonas de las adrenales, del timo, la tiroides y la hormona del crecimiento, los neurotransmisores clásicos y peptidérgicos que llegan al ovario por los nervios que son sintetizados en dicho órgano (Domínguez, 1993).

### **Regulación de la secreción de las hormonas ováricas**

La síntesis de  $P_4$  y andrógenos se realiza en las células de la teca interna y la de  $E_2$  por aromatización de los andrógenos, en la capa de la granulosa. Está regulada por neurohormonas de procedencia hipotalámica; por hormonas secretadas por la hipófisis (FSH, LH, prolactina), y por el propio ovario (hormonas esteroides, inhibina, relaxina, prolactina y activina), cada una de las cuales estimulan o inhibe algunos pasos específicos de la esteroidogénesis (Domínguez y col., 1991).

Estas neurohormonas llegan a la hipófisis por medio del sistema portal hipotalámico-hipofisario y estimulan o inhiben la síntesis y la secreción de sus respectivas hormonas. El hipotálamo secreta la GnRH, que al pasar por el sistema portal hipotalámico-hipofisario y llegar a las células gonadotropas de la adenohipófisis estimula la síntesis y secreción de las gonadotropinas la FSH y la LH. Estas gonadotropinas estimulan en el ovario la ovulación y secreción de sus hormonas (Schwartz, 2000).

Estas hormonas elaboradas inhiben la secreción de las hormonas de la hipófisis y la falta de éstas, estimula a la hipófisis para que secrete sus hormonas; estableciéndose mecanismos de retroalimentación estimuladora e inhibitoria entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios (Fig. 9) (Guyton y Hall, 2001).



**Figura 9.** 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 del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas llegan a los ovarios y estimulan la secreción de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T) y estradiol (E<sub>2</sub>) (Tomada de Berne y Levy, 1992).

## Inervación

Los ovarios de los mamíferos reciben inervación colinérgica y adrenérgica (Aguado y Ojeda 1984; Lawrence y Burden, 1980). La inervación noradrenérgica del ovario de rata se origina en el ganglio celíaco y renal, y llega al ovario por el “Nervio Ovárico Superior” (NOS) y el “Plexo Ovárico” (PO). El NOS llega al ovario en el borde libre del ligamento suspensorio, lleva fibras noradrenérgicas,

GABAérgicas y peptidérgicas {péptido intestinal vasoactivo (VIP), la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)} que inervan la teca interna de los folículos y la glándula intersticial, mientras que el PO regula el flujo de los vasos sanguíneos (Aguado, 2002). El PO tiene fibras noradrenérgicas y peptidérgicas (NPY). El NPY modula la respuesta de las células de la granulosa a las gonadotropinas (Dissen y Ojeda, 1999).

En el ovario de la rata existen neuronas distribuidas en grupos en la médula y en la corteza. La presencia de estas neuronas ováricas sugiere que el ovario está enviando información sobre su estado fisiológico al sistema nervioso central, principalmente al hipotálamo (Dissen y Ojeda, 1999).

### **Relación de la inervación ovárica con la regulación de la esteroidogénesis**

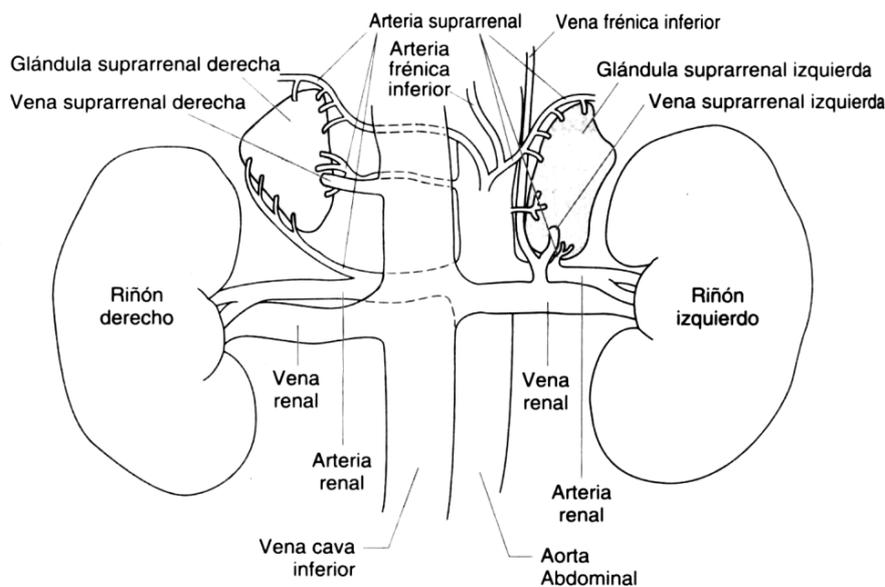
En los ovarios la noradrenalia (NA) estimula la producción de  $P_4$  y andrógenos, mientras que el VIP sólo estimula la producción de  $E_2$ . La NA también facilita el efecto estimulador de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica. El ovario de la rata recién nacida, el VIP y la NA estimulan la síntesis de receptores a la FSH, lo que posibilita que los folículos crecimiento respondan a la hormona (Dissen y Ojeda, 1999).

La NA estimula la secreción de  $P_4$  por las células de la granulosa y las células luteales y la de andrógenos de las células tecales, vía su unión a los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos. Las catecolaminas amplifican los efectos estimulantes de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

Los nervios colinérgicos llegan al ovario a través del nervio vago y también regulan la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999). El nervio vago izquierdo lleva información inhibitoria para el proceso ovulatorio, mientras que la que transcurre por el derecho es de tipo estimulante. Los neurotransmisores colinérgicos modulan la respuesta de las células del folículo a las gonadotropinas (Domínguez, 1991).

## Glándulas Adrenales

Las adrenales están situadas a los lados de la columna vertebral en íntima relación con la superficie supero-medial de cada riñón (Fig. 10). Son estructuras pares, de forma piramidal en las que se describe dos tipos distintos de tejido: la corteza y la médula (Fig. 11). Están recubiertas por una cápsula de tejido conectivo, con vasos sanguíneos, microganglios nerviosos y fibras nerviosas. La corteza tiene un color amarillo, debido a las sustancias lipídicas que contiene. La médula, que representa la décima parte de la glándula total, aparece como una banda oscura, de color pardo rojizo, que contrasta con la corteza amarilla. En el feto, las adrenales son proporcionalmente mayores que en el adulto. Presentan un tamaño desigual ya que la izquierda es a menudo mayor (Martínez y col., 1998). En la rata, la adrenal izquierda pesa más que la derecha (Gerendai y Halász, 1997).



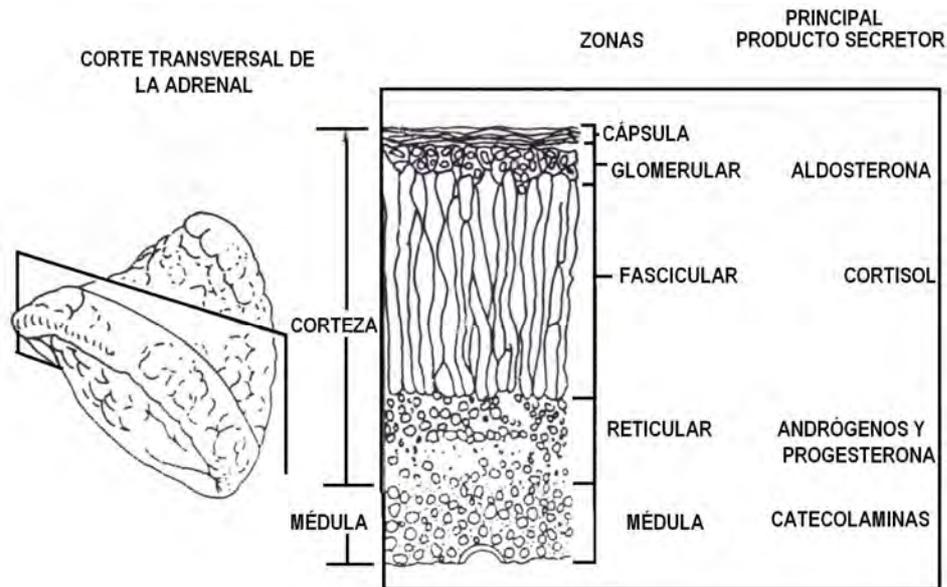
**Figura 10.** Localización y suministro sanguíneo de las glándulas suprarrenales (Tomada de Greenspan, 1999).

## **Funciones de las hormonas secretadas por las diferentes zonas de las adrenales**

En la corteza se distinguen tres capas y cada una segrega diferentes hormonas. La capa más externa o glomerular segrega los mineralocorticoides (aldosterona y deoxicorticosterona (DOCA), que regulan el metabolismo de los iones. Los mineralocorticoides estimulan la retención de agua y sodio y la eliminación de potasio por parte del riñón, lo que resulta en la elevación de la presión arterial. Mantienen el equilibrio osmótico en la orina e impiden la acidosis sérica (Berne y Levy, 1992). La secreción de aldosterona es estimulada por la disminución de sodio, la cual estimula la reabsorción de iones sodio en los riñones, glándulas salivales y sudoríparas (Brown, 1994).

La capa intermedia o fascicular secreta los glucocorticoides (cortisol y corticosterona). En la rata la cortisona es el glucocorticoide más abundante, mientras que en el humano lo es el cortisol. Los glucocorticoides estimulan la neoglucogénesis (síntesis de glucosa a partir de los lípidos y aminoácidos), la lipólisis y proteólisis. Disminuyen la concentración de linfocitos y eosinófilos en la sangre. Suprimen la respuesta inflamatoria y algunas reacciones alérgicas. Confieren resistencia al estrés (Berne y Levy, 1992).

La capa interna o reticular, segrega andrógenos y P<sub>4</sub>.



**Figura 11.** Compartimientos de la glándula suprarrenal y principales hormonas secretadas por ella (Tomada de Berne y Levy, 1992).

La médula sintetiza adrenalina y NA, las cuales estimulan la glucogenólisis. De esta forma, el organismo puede disponer en ese momento de una mayor cantidad de glucosa; elevan la presión arterial, aceleran la frecuencia cardíaca y respiratoria, reducen el flujo sanguíneo hacia las vísceras y la piel, aumentan la transpiración, inducen la dilatación bronquiolar, disminuyen la digestión, disminuyen la producción de enzimas por las glándulas del aparato digestivo, disminuyen la producción de orina (Berne y Levy, 1992).

A diferencia de las hormonas de la corteza, las hormonas de la médula adrenal no son indispensables para la vida (Ganong, 2000).

### **Esteroidogénesis en la corteza suprarrenal**

Al igual que en las hormonas esteroides, el precursor de todas las hormonas corticoadrenales es el colesterol. Éste es captado del plasma a través de un receptor lipoprotéico de baja densidad específico situado en la membrana

plasmática. Después de su paso a la célula, el colesterol es en gran parte esterificado y almacenado en vacuolas citoplasmáticas. En condiciones basales el colesterol captado del plasma es inmediatamente utilizado para la síntesis de hormonas. Sin embargo, el colesterol almacenado adquiere mayor importancia cuando se estimula la producción hormonal. También puede sintetizarse en la célula aunque esta fuente es menor (Berne y Levy, 1992).

La mayor parte de las reacciones que dan lugar a las hormonas corticosteroides a partir del colesterol están catalizadas por enzimas citocromo P450. Una sola enzima P450 puede catalizar más de una reacción, lo que depende de su localización en la corteza y de la disponibilidad de sustratos. Estas enzimas catalizan las hidroxilaciones de los núcleos esteroideos en una serie de reacciones que utilizan oxígeno molecular, NADPH, una flavoproteína y una proteína que contiene hierro llamada arenoxina (Berne y Levy, 1995).

La síntesis de hormonas esteroide es realizada por acción de dos familias de enzimas. La primera son las enzimas hidroxilasa, pertenecientes a la superfamilia de citocromo P450. La enzima P450 localizada en la mitocondria utiliza ferredoxina y ferredoxina reductasa como donadores de electrones, localizados en el retículo endoplásmico (microsomal). La segunda familia, las enzimas esteroideas deshidrogenasa, empiezan por uno de dos grupos distintos, la familia deshidrogenasa-reductasa o la superfamilia aldo-keto-reductasa. Ambas estas familias de esteroideas deshidrogenasas emplean  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  o  $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$  como cofactores. Juntamente, la P450 y las enzimas deshidrogenasas son necesarias para la esteroidogénesis en gónadas, placenta y adrenales (Hinshelwood, 1999).

### **Glucocorticoides**

La síntesis del cortisol se produce en su mayor parte en la zona fascicular. La reacción inicial que convierte el colesterol en pregnenolona es catalizada por el complejo de segmentación de la cadena lateral P450<sub>scc</sub> (conocido también como 20,22 desmolasa). Este es el paso limitante de la velocidad a la que ha sido transportado el colesterol tiene lugar en la mitocondria. El producto es convertido entonces en P<sub>4</sub>, después de lo cual se añaden sucesivamente hidroxilos en las posiciones 17 y 21. Estos pasos tienen lugar en el retículo endoplásmico. El 11-desoxicortisol resultante es trasladado a la mitocondria e hidroxilado en la posición 11, el paso fundamental en la creación de una molécula de glucocorticoide (Berne y Levy, 1992; Hinshelwood, 1999).

Ni el producto final, cortisol, ni sus precursores son almacenados en la célula corticoadrenal. Por tanto, una necesidad súbita de aumentar la secreción de cortisol requiere la rápida activación de la reacción inicial limitante de la velocidad, que controla su síntesis (Berne y Levy, 1992).

### **Mineralocorticoides**

La síntesis de aldosterona, el principal mineralocorticoide, se realiza exclusivamente en la zona glomerular. La secuencia de reacciones que transcurren desde el colesterol hasta la corticosterona es idéntica a la de la zona fascicular. Posteriormente, el grupo metilo C<sub>18</sub> de la corticosterona es oxidado (por la misma enzima mitocondrial que cataliza la 11-hidroxilación), lo que produce la aldosterona. La desoxicorticosterona y su derivado 18-hidroxi son otros esteroides que tienen actividad mineralocorticoide y son sintetizados en pequeñas cantidades en la zona fascicular (Berne y Levy, 1992). La aldosterona se regula primariamente por el sistema renina-angiotensina y por las concentraciones de sodio y potasio (Greenspan y Gordon, 1999).

## Andrógenos y Estrógenos

Las zonas fasciculada y reticular producen cortisol, andrógenos y pequeñas cantidades de estrógenos. Estas zonas son reguladas principalmente por la ACTH (López-Calderón, 1999). La testosterona y el E<sub>2</sub> son secretados en cantidades mínimas por la corteza suprarrenal, sin embargo, cantidades importantes de precursores esteroides con actividad androgénica débil son secretadas y convertidas en testosterona y E<sub>2</sub> por los tejidos periféricos. Estos precursores, androstenediona y dehidroepiandrosterona (DHEA), son sintetizados a partir de la 17-OH-progesterona o de la 17-OH-pregneneolona, respectivamente. En la mujer, los precursores adrenales aportan el 50% de las necesidades androgénicas. En el varón son poco importantes porque los testículos producen testosterona. Después de la menopausia, los estrógenos que proceden directa o indirectamente de la corteza adrenal se convierten en la única fuente de esta actividad biológica en la mujer. La secreción de aldosterona y DOCA es estimulada por la angiotensina II, mientras que la de corticosterona, el cortisol, la P<sub>4</sub> y testosterona es estimulada por la hormona adrenocorticotrófica o corticotropina (Berne y Levy, 1992).

## Inervación

Los nervios suprarrenales contienen fibras pre- y postganglionares. Las fibras del nervio adrenal se originan en la médula e inervan las capas externas de la corteza. Contienen VIP, CGRP, la sustancia P, catecolaminas y acetilcolina (Ehrhart-Bornstein, 1998). Entre las catecolaminas, la NA está primeramente presente en los nervios corticales (Tóth y col., 1997).

En la rata, el mayor efecto catecolaminérgico, es la regulación del fluido sanguíneo adrenal, y la regulación de la liberación de hormonas esteroides a través de la estimulación de receptores  $\beta_1$ , DA<sub>1</sub>, y DA<sub>2</sub>. La NA y A también estimulan la secreción de aldosterona y corticosterona por la zona glomerular. La DA inhibe la secreción de esteroides a través de receptores DA<sub>2</sub> y la estimula a través de la interacción de adrenoreceptor DA<sub>1</sub> (Tóth y col., 1997).

El NY y el VIP modulan la acción noradrenérgica vía adrenoreceptores- $\beta$ 1 en las células de la zona glomerulosa (Tóth et al, 1997). En la rata, el 88.2% de las fibras del nervio esplácnico son preganglionares. Una pequeña proporción de nervios adrenales es postganglionar y pueden identificarse en el ganglio autonómico (T4 - T12), el 2.6% en el ganglio suprarrenal, pero no en el ganglio celiaco (Tóth et al., 1997). El nervio esplácnico regula la sensibilidad de la adrenal a la ACTH (Ehrhart-Bornstein, 1998).

Existen fibras nerviosas aferentes o sensoriales originadas en la medula adrenal, y han sido observadas en el ganglio de la raíz dorsal. Una pequeña cantidad de nervios aferentes se originan en el ganglio sensorial vagal. Otras terminales vagales han sido observadas en el ganglio celiaco y suprarrenal (Tóth y col., 1997).

La hipertrofia suprarrenal compensatoria que se observa en respuesta a la adrenalectomía unilateral es mediada por la inervación adrenal; vía el hipotálamo (Ehrhart-Bornstein, 1998).

### **Regulación hipotalámica-hipofisaria de la secreción de CRH y ACTH**

La síntesis de andrógenos y glucocorticoides suprarrenales es controlada primeramente por el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal, mientras que, la síntesis de aldosterona es modulada multifactorialmente por el sistema renina-angiotensina, iones Na y K, y otros péptidos. EL estrés inicia una cascada de eventos, que resulta en aumento de la secreción de glucocorticoides a partir de la corteza adrenal con liberación simultánea de catecolaminas y péptidos del tejido cromafino, principalmente en la médula. El sistema renina-angiotensina, el cual regula la homeostasis de la resistencia vascular periférica y el volumen y composición de los fluidos del cuerpo, es considerado como un sistema coordinador separado (Tóth y col., 1997).

La CRH es un péptido de 41 aminoácidos: Ser-Glu-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Ala-Arg-Ala-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH<sub>2</sub> (MW 4757.5), que es idéntica en el hombre y en la rata (Arimura, 2000; Yen y col., 2001). La CRH es el principal factor hipotalámico que estimula la secreción de ACTH en respuesta a factores “estresantes” (Yen y col., 2001). La síntesis de CRH se lleva a cabo principalmente en los núcleos paraventricular y periventricular de la parte parvocelular del hipotálamo. Otros núcleos del hipotálamo como el supraóptico, el preóptico, el premamilar, el dorsomedial y el ventromedial también sintetizan CRH el cual es liberado de las terminales axónicas a la eminencia media en respuesta al estrés. La secreción de CRH es regulada por neurotransmisores y neuropéptidos que incluyen la acetilcolina, serotonina, histamina y los opioides (Arimura, 2000; Brown, 1994).

La interacción de la CRH con sus receptores de la membrana plasmática de los corticotropos activan la adenilciclase e incrementa la concentración de AMPc y el flujo transmembranal de Ca<sup>2+</sup>, lo que resulta en la estimulación de la secreción de la ACTH (Arimura, 2000).

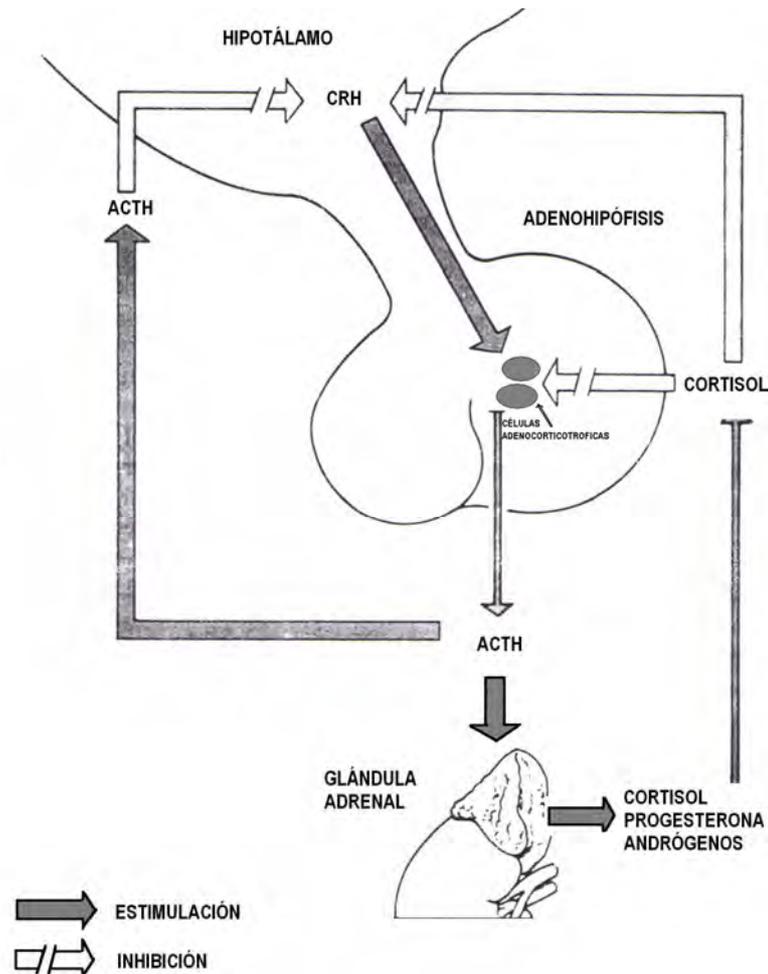
La ACTH es un péptido de 39 aminoácidos, que mantiene la estructura y el desarrollo de las adrenales. Es el estimulante inmediato de la secreción de hormonas suprarrenales de acuerdo a sus compartimentos (Fox, 2003). Su síntesis y secreción se lleva a cabo en los corticotropos de la adenohipófisis. Ésta hormona modula la secreción de cortisol y estimula la secreción de andrógenos suprarrenales (Tóth y col., 1997).

La ACTH llega a las suprarrenales donde estimula la síntesis y secreción de los esteroides suprarrenales, con excepción de la aldosterona. Los corticosteroides ejercen un mecanismo de retroalimentación inhibitoria sobre el hipotálamo y la hipófisis (Fig. 12) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Halász, 2000).

El principal efecto de la ACTH sobre las células de la corteza suprarrenal es la activación de la adenilciclase de la membrana celular, lo que a su vez induce la

formación de AMPc en el citoplasma celular. El AMPc activa las enzimas intracelulares necesarias para la síntesis de las hormonas corticosuprarrenales (Guyton, 2001).

La CRH estimula su propia secreción e inhibe la liberación de la hormona del crecimiento (GH) y de GnRH (Arimura, 2000).



**Figura 12.** Eje hipotálamo –hipófisis – adrenales. Control de la secreción de cortisol y otros glucocorticoides. Las flechas indican efectos estimulatorios o inhibidores (Tomada de Berne y Levy, 1992).

El contenido de la CRH en la eminencia media de la rata, presenta un ritmo diurno que se caracteriza por ser bajo en la mañana, incrementa gradualmente

hacia la tarde y alcanza su máximo en la noche. Este ritmo se correlaciona con el ritmo diurno de la concentración plasmática de corticosterona (Arimura, 2000; Halász, 2000).

### **Ciclo Estral**

Se denomina ciclo estral a una cascada de eventos hormonales y de comportamiento que son progresivos, altamente sincronizados y repetitivos (Kilen y Schwartz, 1999). El comportamiento de una hembra "en calor" o "en celo" coincide con el evento de la ovulación, lo que asegura la oportunidad para la fertilización y la preñez (Kilen y Schwartz, 1999).

El ciclo estral de la rata es un modelo útil para estudios de reproducción. La rata es un animal de ovulación espontánea, poliéstrica, no estacional que ovula cada 4 ó 5 días todo el año; a menos que se interrumpa por preñez o pseudo preñez (Kilen y Schwartz, 1999).

El ciclo estral de la rata es influenciado por factores exteroceptivos como la luz, la temperatura y sustancias químicas odoríferas. Para su estudio, se le divide en cuatro fases con base en parámetros neuroendocrinos y conductuales: estro, metaestro, diestro y proestro (Kilen y Schwartz, 1999).

La palabra "proestro" significa periodo folicular en crecimiento, este día es anterior al estro (Kilen y Schwartz, 1999). Es un período de preparación en el cual los folículos aumentan de tamaño, la pared vaginal se hace más gruesa y las del útero están irrigadas con mayor intensidad. En la vagina aparecen células epiteliales nucleadas. Hay aumento de actividad motora (correr, sacudirse, movimiento de las orejas) (Tresguerres, 1999).

La fase de estro es el período de "celo", se describe como el tiempo en que la hembra está dispuesta a recibir al macho. La ovulación se da en las primeras horas de la madrugada y los óvulos se encuentran en el oviducto. En la mucosa

vaginal se encuentran células epiteliales cornificadas y sin núcleo (Kilen y Schwartz, 1999).

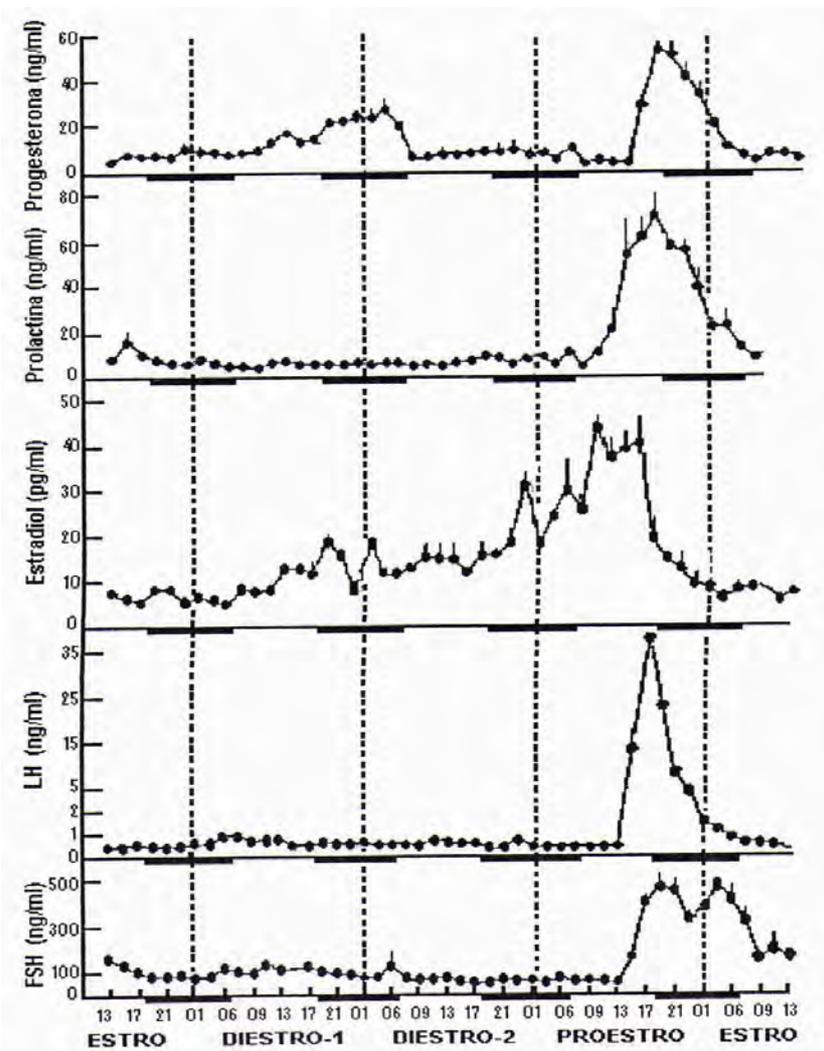
La etapa de diestro-1 o (metaestro) es un periodo de recuperación (Freeman, 1994). La fase de metaestro tiene aproximadamente la misma duración que la fase de estro. La monta y la cópula ya no son permitidas por la hembra. La secreción de  $P_4$  por el cuerpo lúteo y la de  $E_2$  por los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas (Kilen y Schwartz, 1999; Schwartz 2000). La citología vaginal se caracteriza por presentar leucocitos. El cuerpo lúteo secreta  $P_4$  por varias horas. La vascularización y la motilidad del útero están disminuidas (Tresguerres, 1999).

Diestro-2: Igual que en diestro-1, no hay aceptación hacia el macho (Tresguerres, 1999). Durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis). En este periodo, la secreción ovárica del cuerpo lúteo prepara al útero para la implantación y éste alcanza su máximo tamaño. Las células son de diferentes tipos; en su mayoría leucocitos mezclados con un moco pegajoso (Kilen y Schwartz, 1999; Schwartz 2000).

La liberación de las gonadotropinas varía durante el ciclo estral en respuesta a variaciones en la secreción de la GnRH, de las modificaciones que presentan los gonadotropos por efectos de la propia GnRH y de las hormonas ováricas, en particular los estrógenos (Domínguez, 1993).

La secreción de la GnRH es pulsátil, su frecuencia es diferente entre las especies. En la rata durante los días de estro, diestro-1, diestro-2 y la mañana de proestro, las concentraciones plasmáticas de las gonadotropinas se mantienen en concentraciones basales, principalmente por las acciones de retroalimentación inhibitoria que ejercen los estrógenos y la inhibina. Las cantidades de LH y FSH circulantes, son bajas, pero suficientes para estimular el crecimiento folicular y la secreción de estrógenos, los cuales aumentan conforme crecen y maduran los folículos en desarrollo (Fig. 13) (Domínguez, 1993; Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).

Durante la tarde del proestro se observan las mayores concentraciones plasmáticas de LH y FSH, que pueden observarse en el ciclo estral de la rata, lo que resulta en el llamado pico “preovulatorio de la LH y FSH”. El “pico de LH” es estimulado por un aumento previo en las concentraciones plasmáticas de E<sub>2</sub>; que ocurre ocho horas antes. 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 (Domínguez, 1993; Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).



**Figura 13.** 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).

Los cambios que ocurren en el ovario durante el ciclo estral son el sucesivo crecimiento y maduración de los folículos, la ovulación, y la subsecuente luteinización de los folículos que liberaron al ovocito y forman los cuerpos lúteos; en ausencia de preñez el mismo ciclo se repite. Los eventos que ocurren pueden ser descritos como siguen: **1)** La etapa inicial de ovogénesis y folículogénesis son independientes de las hormonas hipofisarias. En contraste, la etapa final del crecimiento y la maduración folicular son dependientes de las gonadotropinas, **2)** los folículos que inician su crecimiento tienen dos destinos: liberan su ovocito o sufren atresia, **3)** durante el crecimiento folicular, los estrógenos son secretados desde los folículos en maduración, **4)** los estrógenos estimulan la secreción de la GnRH hipotalámica, **5)** el aumento brusco en la concentración preovulatoria de LH y FSH desencadenan la ovulación, **6)** el óvulo aparece en el oviducto, **7)** la secreción de esteroides ováricos estimulan cambios estructurales cíclicos en el útero, preparándose ese para la implantación si ocurre la fertilización y **8)** la secuencia de los eventos es cíclicos (Kilen y Schwartz, 1999).

### **Asimetrías**

La mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. Tales diferencias entre los órganos derecho e izquierdo, pueden observarse en humanos y animales silvestres. También se ponen de manifiesto en condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a algún tipo de experimento (Domínguez y col., 2003).

En la mayoría de las aves sólo el oviducto y ovario izquierdo son funcionales. La gónada derecha está reducida a una cuerda celular estrecha localizada en contra de la vena cava inferior. La extirpación del ovario izquierdo resulta en la activación de la gónada derecha (Gerendai y Halász, 1997).

En el murciélago *Taphozous melanopogon melanopogon* la ovulación ocurre predominantemente en el ovario derecho. El ovario contralateral tiene

capacidad funcional sólo si el ovario dominante es removido. En la musaraña (*Crocidura russula monacha*), el ovario izquierdo juega un papel dominante sobre el ovario derecho (Domínguez y col., 2003; Gerendai y Halász, 1997).

El riego sanguíneo que reciben los ovarios es diferente entre uno y otro; las venas sanguíneas del ovario derecho drenan directamente dentro de la vena cava inferior, mientras que las venas del ovario izquierdo usualmente lo hacen dentro de la vena renal izquierda. Asimismo, el ovario derecho se desarrolla antes que el ovario izquierdo (Gerendai y Halász, 1997).

La extirpación de un ovario es una herramienta experimental que se usa frecuentemente para analizar la existencia de asimetría entre los ovarios. En la rata, el ovario izquierdo libera más ovocitos que el ovario derecho. Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovula en el día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Domínguez y col., 1988).

La extirpación del ovario izquierdo (ratas con el ovario derecho *in situ*) realizada a las 13:00 h del día del estro no resulta en cambios en la concentración de  $P_4$  o  $E_2$ . En cambio, la concentración plasmática de testosterona incrementa. Por otro lado, la extirpación del ovario derecho (ovario izquierdo *in situ*) no resulta en cambios sobre la concentración sérica de  $P_4$ , testosterona o  $E_2$  (Barco y col., 2003).

Cuando las concentraciones séricas de las hormonas esteroideas se evalúan 24 horas después de que se realizaron las cirugías, se observa que en las ratas con el ovario derecho *in situ* (ratas con ovariectomía izquierda) se presenta menor concentración de  $P_4$  y testosterona, sin cambios en la de  $E_2$ ; mientras que en las ratas con el ovario izquierdo *in situ* (ratas con ovariectomía derecha) hay disminución de la concentración sérica de  $P_4$ , sin cambios en la de testosterona o  $E_2$ . Estos resultados muestran que en el día del estro los ovarios secretan

testosterona en forma asimétrica, mientras que la secreción de P<sub>4</sub> o E<sub>2</sub> es simétrica (Barco y col., 2003).

Los resultados observados en el día del estro son diferentes a los obtenidos cuando se realiza la ovariectomía unilateral a las 13:00 h en el día del proestro y se evalúa la concentración de las hormonas una hora después de la cirugía. Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*) se observa disminución en la concentración de testosterona y E<sub>2</sub>, sin modificaciones en la de P<sub>4</sub>; mientras que, la extirpación del ovario derecho (ovario izquierdo *in situ*), resulta en aumento en la concentración sérica de P<sub>4</sub> y E<sub>2</sub>, sin cambios en la de testosterona (Cruz y col., 2005; Flores y col., 2005, 2006).

La existencia de asimetría en las adrenales es bien conocida. En la rata, la glándula izquierda pesa más que la derecha (Gerendai y Halász, 1997). Lo mismo ocurre en el cobayo. Algunos estudios clínicos en humanos indican que la presencia de alteraciones morfofuncionales es diferente en las adrenales derecha e izquierda. Así, los tumores que se acompañan de hiperaldosteronismo son más frecuentes en la adrenal izquierda que en la derecha, mientras que los tumores adrenales que resultan en la aparición del síndrome de Cushing son más frecuentes en la adrenal derecha. La inervación de las adrenales participa en la regulación de sus funciones (Gerendai y Halász, 1997).

### **Relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales**

Jacobs y Pepler (1980) mostraron que la adrenalectomía bilateral a ratas hembra resulta en disminución del número de ovocitos liberados, cuantificados 30 días después de la intervención quirúrgica. Este resultado pone de manifiesto que las adrenales tienen un papel de tipo estimulador sobre la liberación de los ovocitos por parte de los ovarios. Sin embargo, los autores no especificaron la fase del ciclo estral en la cual se realizaron las operaciones quirúrgicas.

En estudios previos, donde se realizaron manipulaciones experimentales donde se tomó en cuenta el día del ciclo estral en que se realizaron dichas manipulaciones se observó que los efectos agudos (una hora postoperación) de la anestesia, perforación uni o bilateral del peritoneo, así como los de la ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral sobre la ovulación y las concentraciones plasmáticas de  $P_4$ , testosterona y  $E_2$  varían durante el ciclo estral. Además, que los efectos dependen del lado en que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual muestra la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y las adrenales (Barco y col., 2003; Flores y col., 2005; Cruz y col., 2006; Flores y col., 2006).

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 llevó a plantear que éstas glándulas secretan  $P_4$  en todos los días del ciclo estral de la rata. En cambio, la falta de ambos ovarios en diestro-1 resultó en disminución de la concentración de la hormona, en diestro-2 no tiene efectos y en proestro la aumenta, resultados que llevaron a sugerir que los ovarios regulan la secreción de  $P_4$  por parte de las adrenales. Esta regulación varía durante el ciclo estral ya que es estimulante en diestro-1 e inhibitoria en proestro (Meléndez, 2005).

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 llevaron a plantear que la adrenal izquierda secreta más  $P_4$  que la derecha (Meléndez, 2005).

Solamente la extirpación del ovario derecho, realizada en diestro-2 o proestro resultó en aumento de la concentración de la hormona; resultados que permitieron 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<sub>4</sub> que el derecho (Meléndez, 2005).

Los resultados de los efectos de la ovariectomía uni o bilateral sobre la concentración de testosterona muestran que varían según el día del ciclo estral de la rata en que se realiza el tratamiento. La extirpación de ambos ovarios en los días de diestro-2 y proestro resultó en disminución de la concentración sérica de testosterona, mientras que, no se observaron diferencias significativas cuando el tratamiento se realizó en el día del diestro-1. En cambio, la adrenalectomía bilateral no resultó en cambios en la concentración sérica de la hormona (Rodríguez, 2006).

El análisis individual de la contribución de cada glándula en la concentración sérica de la hormona mostró que en las ratas con ovariectomía izquierda (animales con el ovario derecho *in situ*), realizada en los días de diestro no se modificó la concentración de la hormona; mientras que, en la llevada a cabo en el día del proestro, disminuyó la concentración de la testosterona. A diferencia de ello, la ovariectomía derecha (animales con el ovario izquierdo *in situ*) no resultó en cambios en la concentración sérica de la hormona; independientemente del día del ciclo estral en que se realizó la cirugía. Estos resultados mostraron que en el día del proestro de la rata, el ovario izquierdo secreta más testosterona que el ovario derecho (respuesta asimétrica). Los resultados de este estudio permitieron sugerir que en los días de diestro-2 y proestro los ovarios son la fuente principal de testosterona, que su capacidad para secretar la hormona varía a lo largo del ciclo estral y depende de la gónada *in situ* (Rodríguez, 2006).

La extirpación de la adrenal izquierda (animales con adrenal derecha *in situ*), realizada en el diestro-1 resultó en un discreto aumento significativo en la concentración sérica de testosterona; en cambio, cuando se extirpó la adrenal derecha (adrenal izquierda *in situ*) no se observó ningún cambio. El análisis individual de la contribución de cada glándula en la concentración sérica de la hormona mostró que en los grupos de ratas con adrenalectomía unilateral realizada en el día del diestro-1, los animales con la adrenal izquierda *in situ*

secretan más testosterona que la adrenal derecha *in situ*. Así, en el día del diestro-1, las adrenales participan en los mecanismos de regulación de la secreción de la testosterona (Rodríguez, 2006).

En los animales con ovariectomía unilateral que mantuvieron el ovario derecho *in situ* la concentración de E<sub>2</sub> en el día del proestro fue menor respecto a la de los animales con perforación del peritoneo del mismo lado. En los que permaneció el ovario izquierdo *in situ* el resultado dependió del día del ciclo estral en el que se realizó la cirugía; en el día del diestro-1 no se observaron diferencias significativas en la concentración de la hormona, en el día del diestro-2 se observó menor concentración de E<sub>2</sub>, mientras que en el día del proestro resultó en mayor concentración de la hormona. Cuando a los animales se les extirparon ambos ovarios se observó menor concentración de E<sub>2</sub> independientemente del día del ciclo en que se realizó la cirugía; en comparación con los resultados obtenidos en el grupo con perforación bilateral del peritoneo. Con base en los resultados, se propuso que la capacidad de síntesis de E<sub>2</sub> por los ovarios derecho e izquierdo es diferente y varía durante el ciclo estral; el ovario izquierdo secreta más estradiol que el derecho (Palafox, 2006).

La eliminación de la adrenal izquierda (adrenal derecha *in situ*) no modificó las concentraciones de E<sub>2</sub>, en cambio, la extirpación de la adrenal derecha (adrenal izquierda *in situ*) resultó en menor concentración de la hormona cuando la cirugía se realizó en el día del diestro-2. Cuando a los animales adrenalectomizados se les realizó la ovariectomía izquierda en el día del diestro-2 se observó mayor concentración de E<sub>2</sub> que en el grupo al que se le realizó la ovariectomía izquierda en el mismo día del ciclo estral. En los animales adrenalectomizados a los que se les realizó la ovariectomía derecha en el día del proestro, la concentración de la hormona fue menor que en el grupo de animales al que se le realizó exclusivamente la ovariectomía derecha. Con base en estos resultados, la autora propone que la capacidad de secreción de E<sub>2</sub> por parte de los ovarios es regulada por las adrenales y dichas regulaciones varían durante el ciclo estral y es diferente para cada ovario: en diestro-2 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 (Palafox, 2006).

## JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La mayoría de los estudios realizados sobre los mecanismos de adaptación de un animal a la falta de un ovario, se refieren a cambios agudos (una hora) o cambios crónicos (15-30 días). En estos últimos, la mayoría de los autores no toman en cuenta que los mecanismos de regulación de la secreción de hormonas esteroides y la ovulación, varían durante el ciclo estral. En general, los estudios realizados sobre las interacciones de los ovarios y las adrenales sobre la secreción de hormonas esteroides también se han realizado en experimentos a largo plazo.

Por ello, en el presente estudio se decidió analizar si los cambios observados en la concentración hormonal en animales con ovariectomía o adrenalectomía unilateral, o con adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral descritas anteriormente, se mantienen más allá de la hora y antes de que se hayan establecido todos los mecanismos de compensación que ocurren cuando los animales son estudiados después de 15 días de haber sido tratados. Por ello, en animales con ovariectomía o adrenalectomía unilateral, o con adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral realizadas en el día del diestro-2, se analizaron los cambios en las concentraciones hormonales 24 ó 48 horas después de realizados los tratamientos experimentales; lo que permitió analizar lo que sucede con la secreción hormonal y la ovulación espontánea.

## **HIPÓTESIS**

Dado que existe una relación funcional entre los ovarios y las adrenales, que la capacidad ovulatoria de los ovarios es asimétrica, que la regulación de las funciones del ovario es asimétrica y varía durante el ciclo estral, entonces las relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales en los animales con extirpación de una gónada o una adrenal dependerán del ovario o adrenal remanente, tanto en la secreción hormonal como en la capacidad ovulatoria.

## OBJETIVO GENERAL

Estudiar los efectos de la extirpación uni o bilateral de los ovarios o las adrenales realizadas en el día del diestro-2 sobre la ovulación y la concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar las concentraciones séricas de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en el día del proestro y el estro esperado, en ratas con ovariectomía uni o bilateral realizadas en el día del diestro-2.
- Analizar las concentraciones séricas de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol en el día del proestro y el estro esperado, en ratas con adrenalectomía uni o bilateral realizadas en el día del diestro-2.
- Analizar la ovulación espontánea en ratas con ovariectomía o adrenalectomía unilateral realizada en el día del diestro-2.
- Analizar los efectos de la ovariectomía unilateral en ratas adrenalectomizadas en el día del diestro-2, sobre la ovulación y las concentraciones séricas de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol.

## METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas hembra adultas vírgenes de tres meses de edad, 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-2 los animales fueron destinados a alguno de los siguientes grupos experimentales y fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

*Grupos experimentales (10 animales en cada grupo):*

*Grupo de animales intactos:* Ratas cíclicas intactas serán sacrificadas a las 13:00 h. del día del estro.

*Perforación del peritoneo:* 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), derecho (PPD) o de ambos lados (PPB) atravesando la piel, el músculo y el peritoneo (sin tocar el ovario). Una vez terminada la operación, se cerró la piel con una grapa.

*Ovariectomía:* A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les ligó el pedículo ovárico y extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I, ovario derecho *in situ*), el ovario derecho (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*) o ambos ovarios (CAS).

*Adrenalectomía:* A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les extirpó la adrenal izquierda (Adx-I, adrenal derecha *in situ*), la adrenal derecha (Adx-D, adrenal izquierda *in situ*) o ambas adrenales (ADX-B).

*Ovariectomía unilateral en animales con adrenalectomía bilateral:* A ratas con adrenalectomía bilateral, en el mismo acto quirúrgico, se les extirpó el ovario

izquierdo (ADX-B + Ovx-I, ovario derecho *in situ*) o el derecho (ADX-B + Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*).

#### *Procedimiento de autopsia*

Los animales fueron sacrificados por decapitación, se colectó la sangre del tronco y se mantuvo a temperatura ambiente por 30 minutos. Posteriormente fue centrifugada a 3000 rpm durante 15 minutos y se separó el suero del botón celular. Los sueros fueron almacenados a  $-20^{\circ}$  C, hasta la cuantificación de la concentración de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol.

En los oviductos (izquierdo y derecho) de los animales sacrificados a las 48 horas (día del estro esperado) se verificó la presencia de ovocitos y se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Los resultados del número de ovocitos se expresaron como los correspondientes a cada ovario o como totales (los liberados por el ovario izquierdo más los del derecho).

#### *Cuantificación de hormonas esteroideas en suero.*

La cuantificación de progesterona o 17  $\beta$ -estradiol se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida, (Coat-A-Count, USA). El estuche consiste de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales de hormona marcada ( $^{125}$ I-Progesterona,  $^{125}$ I-Estradiol) y calibradores para la realización de la curva patrón (Progesterona: 0.05, 0.1, 0.5, 2, 10, 20 y 40 *ng/ml*; Estradiol: 2.5, 5, 10, 20, 50, 150, 250, 500, 900 *pg/ml*). A cada tubo se le adicionaron 100  $\mu$ l de suero problema, mas 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 la progesterona se expresó en *ng/ml* y la de estradiol en *pg/ml* de suero.

### *Análisis Estadístico*

El número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba “U” de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes, definida como el número de animales que ovulan/número total de animales tratados, fue analizada por la prueba de probabilidad exacta de Fisher.

Los resultados de las concentraciones de progesterona y estradiol en suero se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando fue necesario comparar 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**

**Efectos de la perforación del peritoneo**

En los animales sacrificados a las 48 horas del tratamiento, la perforación bilateral del peritoneo resultó en una menor concentración de progesterona y estradiol que en el grupo control. La perforación unilateral no modificó las concentraciones hormonales (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y de 17  $\beta$ -estradiol (pg/ml) en animales que fueron sometidos a Perforación del Peritoneo del lado Izquierdo (PPI), Derecho (PPD) o de ambos lados (PPB) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

GRUPOS	n	24 horas	n	48 horas
<b>Progesterona</b>				
<b>INTACTO</b>	10	9.9 $\pm$ 1.2	8	10.6 $\pm$ 0.9
<b>PPI</b>	10	7.3 $\pm$ 1.4	11	10.3 $\pm$ 1.0
<b>PPD</b>	9	7.9 $\pm$ 2.7	8	11.1 $\pm$ 1.9
<b>PPB</b>	10	7.0 $\pm$ 0.5	8	6.1 $\pm$ 0.4
<b>17 <math>\beta</math>-Estradiol</b>				
<b>INTACTO</b>	8	69.9 $\pm$ 9.1	8	67.5 $\pm$ 6.9
<b>PPI</b>	9	76.2 $\pm$ 3.6	9	50.8 $\pm$ 6.8
<b>PPD</b>	10	74.6 $\pm$ 8.4	6	50.2 $\pm$ 3.8
<b>PPB</b>	11	61.5 $\pm$ 4.6	8	39.3 $\pm$ 6.3*

\* $p < 0.05$  vs. INTACTO (ANDEVA-Tukey)

En los animales que fueron sacrificados a las 48 horas (día del estro esperado), la perforación del peritoneo no modificó la tasa de animales ovulantes (PPI: 11/11 vs. 10/10; n.s.), (PPD: 8/8 vs. 10/10; n.s.), (PPB: 10/10 vs. 10/10; n.s.); ni el número de ovocitos liberados por animal ovulante (PPI: 13.5 $\pm$ 1.1 vs. 12.6 $\pm$ 0.9; n.s.), (PPD: 12.5 $\pm$ 0.8 vs. 12.6 $\pm$ 0.9; n.s.), (PPB: 11.7 $\pm$ 0.9 vs. 14.0 $\pm$ 0.9; n.s.) respecto a la de los animales intactos.

**Efectos de la ovariectomía o la adrenalectomía bilateral**

En comparación con los animales con perforación bilateral, la ovariectomía bilateral resultó en una menor concentración de estradiol en los animales sacrificados a las 24 horas, pero no en los autopsiados a las 48 horas después del tratamiento. La concentración de progesterona fue mayor en los animales sacrificados a las 48 horas que en el grupo testigo (Cuadro 2).

La adrenalectomía bilateral resultó en menor concentración de progesterona y mayor concentración de estradiol en los animales evaluados a las 24 horas, lo que no ocurrió en los sacrificados a las 48 horas (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y de 17  $\beta$ -Estradiol (pg/ml) en animales con extirpación de ambos ovarios (CAS) o ambas adrenales (ADX-B) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

GRUPOS	n	24 horas	n	48 horas
<b>Progesterona</b>				
PPB	10	7.0 $\pm$ 0.5	8	6.1 $\pm$ 0.4
CAS	10	5.2 $\pm$ 1.1	10	12.4 $\pm$ 3.0#
ADX-B	11	1.8 $\pm$ 0.2*&	8	5.4 $\pm$ 0.7♣
<b>17 <math>\beta</math>-Estradiol</b>				
PPB	11	61.5 $\pm$ 4.6	8	39.3 $\pm$ 6.3
CAS	9	25.3 $\pm$ 3.3*	8	44.3 $\pm$ 6.0
ADX-B	12	88.0 $\pm$ 7.8*&	8	52.6 $\pm$ 5.4

\* $p < 0.05$  vs. PPB; & $p < 0.05$  vs. CAS (ANDEVA -Tukey)

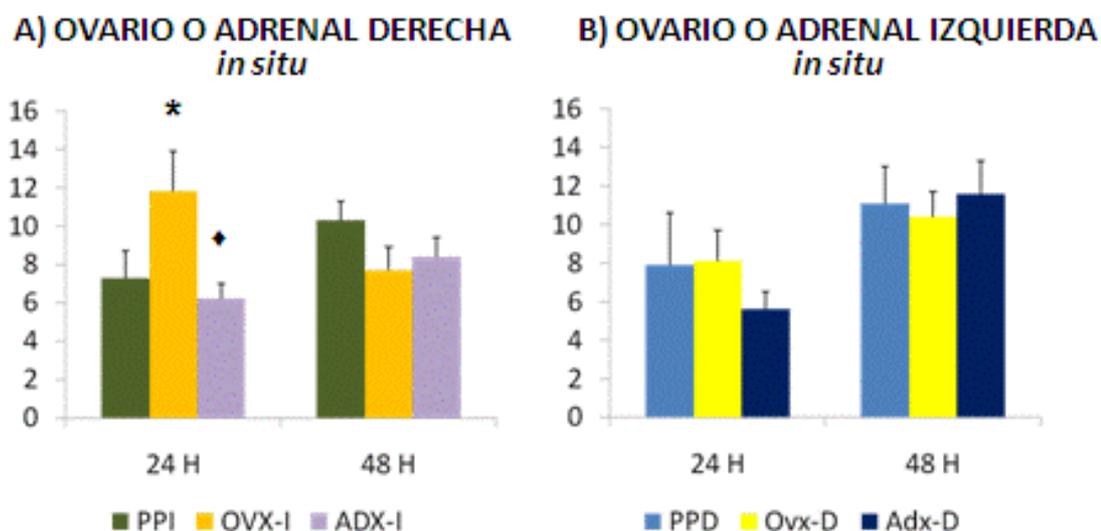
# $p < 0.05$  vs. PPB; ♣ $p < 0.05$  vs. CAS (“t” de Student).

En los animales con adrenalectomía bilateral no se observaron diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes (7/8 vs. 10/10, n.s.); ni del número de ovocitos liberados por animal ovulante (11.9 $\pm$ 1.6 vs. 11.7 $\pm$ 0.9, n.s.) respecto a la de los animales con perforación bilateral del peritoneo.

**Efectos de la Ovariectomía o la Adrenalectomía unilateral**

En comparación con los animales con perforación unilateral del peritoneo, a las 24 horas la extirpación del ovario izquierdo resultó en una mayor concentración de progesterona, lo que no se observó en los sacrificados a las 48 horas del tratamiento. La extirpación del ovario derecho o de la adrenal derecha o izquierda no modificó la concentración de la hormona (Gráfica 1).

**PROGESTERONA**



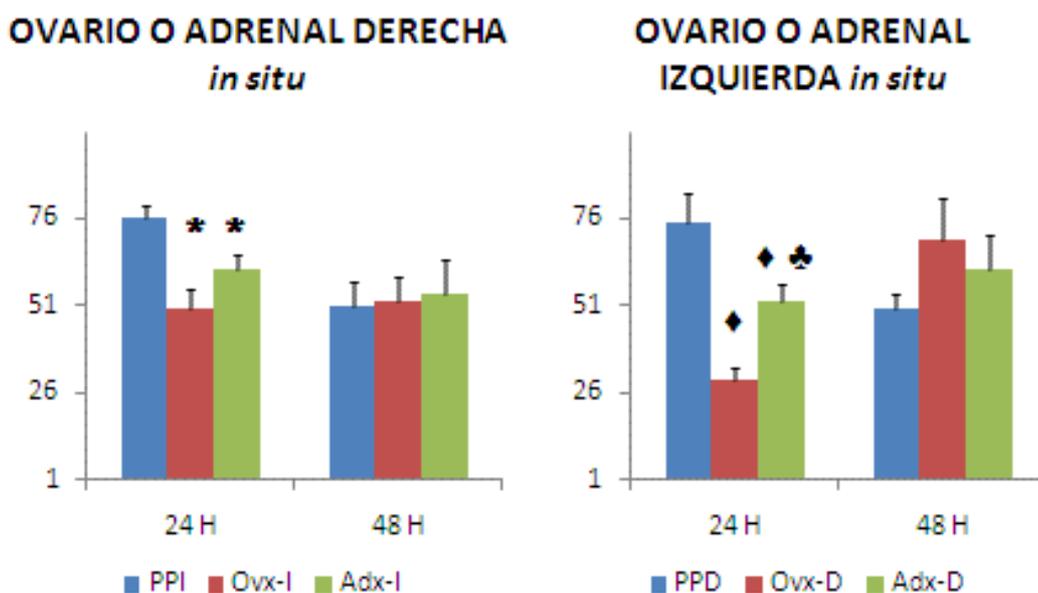
\*p<0.05 vs. PPI ("t" de Student); ♦p< 0.05 vs. Ovx-I (ANDEVA-TUKEY)

**Gráfica 1.** Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (pg/ml) en animales que fueron sometidos a A) Ovariectomía Izquierda (Ovx-I) o Adrenalectomía Izquierda; B) Ovariectomía Derecha (Ovx-D) o Adrenalectomía Derecha (Adx-D) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

A las 24 horas del tratamiento, la extirpación del ovario o la adrenal derecha o izquierda resultó en una menor concentración de 17 β-estradiol. Estas

diferencias no se observaron en los animales sacrificados a las 48 horas después de la cirugía (Gráfica 2).

## Estradiol



\* $p < 0.05$  vs PPI; † $p < 0.05$  vs PPD; ‡ $p < 0.05$  vs. OVX-D (ANDEVA-TUKEY)

**Gráfica 2.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17- $\beta$  estradiol (ng/ml) en animales que fueron sometidos a A) Ovariectomía Izquierda (Ovx-I) o Adrenalectomía Izquierda (Adx-I); B) Ovariectomía Derecha (Ovx-D) o Adrenalectomía Derecha (Adx-D) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

En los animales con ovariectomía unilateral, la tasa de animales ovulantes fue menor que en los grupos testigo. No se observaron diferencias en el número de ovocitos liberados por animal ovulante (Cuadros 3 y 4).

La adrenalectomía unilateral no modificó la tasa de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados por animal ovulante (Cuadros 3 y 4).

**Cuadro 3.** Tasa de animales ovulantes (TAO) y media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados

por el Ovario Izquierdo (O.I.), el Ovario Derecho (O.D.) o ambos (O.I. + O.D.) en animales sometidos a Ovariectomía Izquierda (Ovx-I) o Adrenalectomía Izquierda (Adx-I) a las 13:00 h del Diestro-2 y sacrificados 48 horas después de la cirugía.

GRUPO	O.I.		O.D.		O.I. + O.D.	
	T.A.O.	Ovocitos	T.A.O.	Ovocitos	T.A.O.	Ovocitos
PPI	11/11	7.0 ± 0.6	11/11	6.5 ± 0.6	11/11	13.5 ± 1.1
Ovx-I	---	---	6/10*	7.8 ± 1.2	---	---
Adx-I	9/9	5.9 ± 0.5	9/9	7.1 ± 0.4	---	---

\*  $p < 0.05$  vs PPI (Prueba exacta de "Fisher").

**Cuadro 4.** Tasa de animales ovulantes (TAO) y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el Ovario Izquierdo (O.I.), el Ovario Derecho (O.D.) o ambos (O.I. + O.D.) en animales sometidos a Ovariectomía Derecha (Ovx-D) o Adrenalectomía Derecha (Adx-D) a las 13:00 h del Diestro-2 y sacrificados 48 horas después de la cirugía.

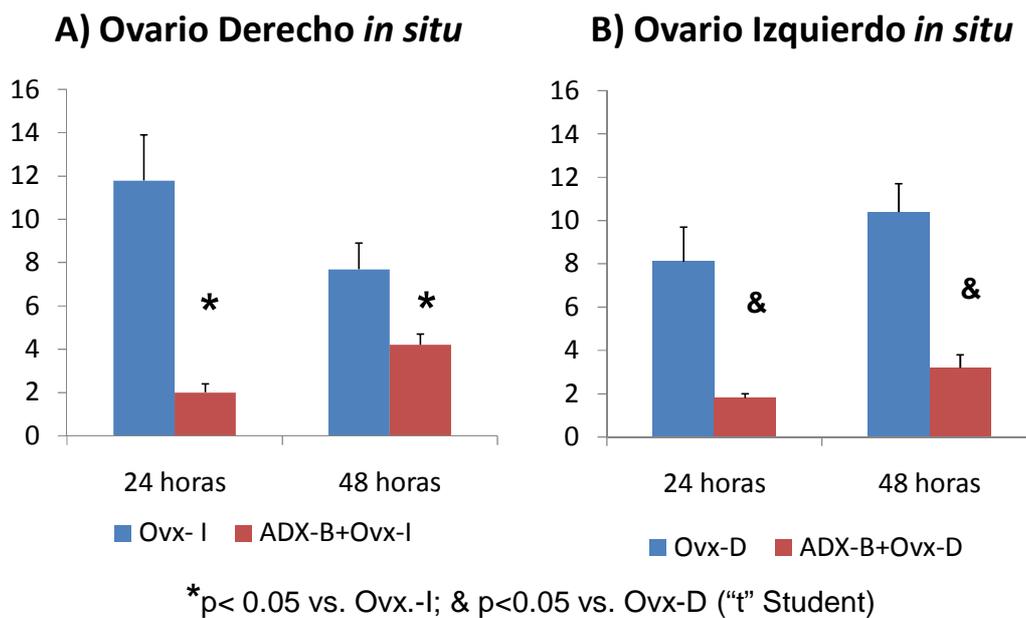
GRUPO	O.I.		O.D.		O.I. + O.D.	
	T.A.O.	Ovocitos	T.A.O.	Ovocitos	T.A.O.	Ovocitos
PPD	8/8	7.3 ± 0.5	7/8	6.0 ± 1.2	8/8	12.5 ± 0.8
Ovx-D	4/9*	5.8 ± 1.3	---	---	---	---
Adx-D	9/10	5.9 ± 0.6	8/10	4.5 ± 0.6	9/10	9.9 ± 0.9*

\*  $p < 0.05$  vs PPI (Prueba exacta de "Fisher"); &  $p < 0.05$  vs PPI (Prueba de "U" Mann-Whitney).

#### **Efectos de la adrenalectomía bilateral en animales con ovariectomía unilateral sobre la concentración sérica de progesterona y estradiol**

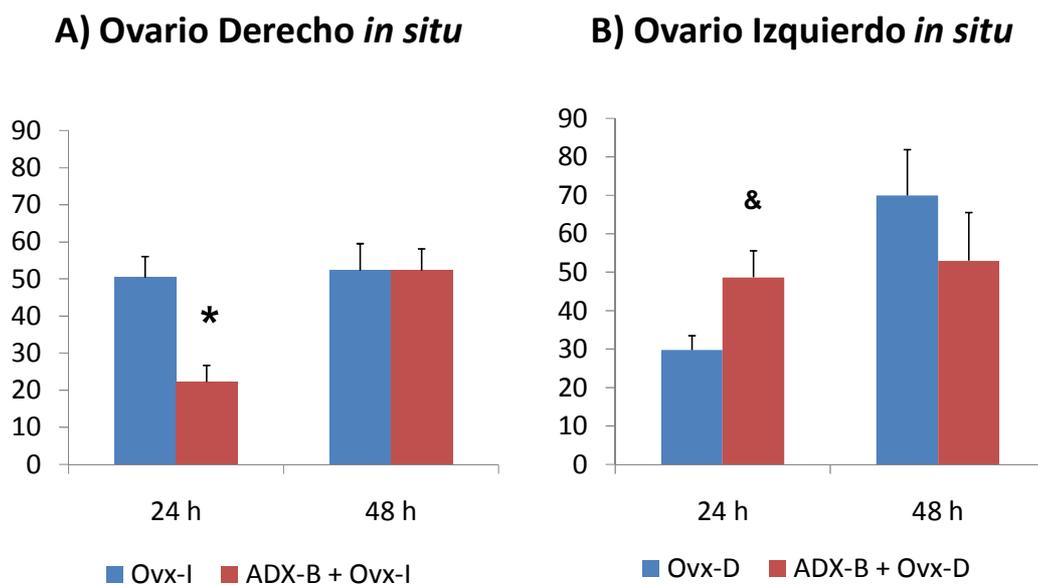
La adrenalectomía bilateral a los animales con ovariectomía unilateral, resultó en una menor concentración de progesterona tanto a las 24 como a las 48 horas post tratamiento (Gráfica 3). A las 24 horas de la cirugía la concentración de estradiol en los animales con el ovario derecho *in situ*, sometidos a adrenalectomía bilateral fue menor que en los animales con ovariectomía unilateral, mientras que cuando el ovario izquierdo estuvo *in situ* la concentración fue mayor. No se observaron diferencias cuando los animales fueron sacrificados a las 48 horas post cirugía (Gráfica 4).

## Progesterona



**Gráfica 3.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con A) Adrenalectomía Bilateral y Ovariectomía Izquierda (ADX-B + Ovx-I); B) Adrenalectomía Bilateral y Ovariectomía Derecha (ADX-B + Ovx-D) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

## Estradiol



\* $p < 0.05$  vs. Ovx-I; & $p < 0.05$  vs. Ovx-D ("t" Student)

**Gráfica 4.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol (pg/ml) en animales con A) Adrenalectomía Bilateral y Ovariectomía Izquierda (ADX-B + Ovx-I); B) Adrenalectomía Bilateral y Ovariectomía Derecha (ADX-B + Ovx-D) a las 13:00 h del diestro-2 y que fueron sacrificados 24 ó 48 horas después de la cirugía.

La adrenalectomía bilateral en los animales con el ovario derecho *in situ* no modificó la tasa de animales ovulantes (4/9 vs. 6/10, n.s.), ni el número de ovocitos liberados por animal ovulante ( $8.3 \pm 0.8$  vs.  $7.8 \pm 1.2$ , n.s.). En los animales con el ovario izquierdo *in situ* la tasa de animales ovulantes fue similar, pero el número de ovocitos liberados fue mayor (5/7 vs. 4/9, n.s;  $9.6 \pm 0.5$  vs.  $5.8 \pm 1.3$ ,  $p < 0.05$ ).

## DISCUSIÓN

Los resultados presentes en este estudio confirman resultados previos (Flores y col. 2008) que las adrenales son la principal fuente de  $P_4$  y los ovarios de  $E_2$ . Las adrenales modulan las funciones de los ovarios (secreción de las hormonas, la tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados) de manera asimétrica y dependiente del ciclo estral.

Meléndez (2005), mostró que la perforación uni o bilateral del peritoneo por vía dorsal no modifica de manera aguda la concentración de  $P_4$ . Los resultados obtenidos en este estudio indican que a las 24 ó 48 horas de la cirugía, tampoco se modifica la concentración de la hormona. Esto nos lleva a sugerir que dicha operación quirúrgica no representa un factor estresante que envíe información al SNC, a través de la inervación que transcurre por el peritoneo dorsal, que se traduzca en alteraciones en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de  $P_4$  y la ovulación.

Palafox (2007) mostró que la perforación del peritoneo del lado izquierdo en los días del diestro o proestro resulta en menor concentración de  $E_2$ . A diferencia de ello, la misma cirugía del lado derecho en el diestro-2 resulta en mayor concentración del esteroide, pero en proestro resultó en menor concentración de la misma. Cuando la perforación del peritoneo se realizó en los días del diestro en el lado izquierdo y derecho no se observaron diferencias significativas en la concentración del esteroide mientras que en el día del proestro se observó disminución. Con base en sus resultados, la autora concluye que la perforación del peritoneo es un factor estresante que provoca una respuesta inmediata del sistema, ya que la concentración de  $E_2$  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.

En el presente estudio no se observaron alteraciones en las concentraciones del esteroide transcurridas 24 horas, lo que nos podría sugerir que la perforación del peritoneo es un factor estresante que provoca una respuesta inmediata del sistema (una hora postcirugía), pero que bastan 24 horas para que se restablezca el sistema neuroendocrino que regula la secreción de E<sub>2</sub>. Sin embargo, los resultados obtenidos en los animales con perforación de ambos lados del peritoneo que fueron sacrificados después de 48 horas de la cirugía nos indican que la inervación que transcurre por el peritoneo dorsal participa en forma estimulante en la regulación de la secreción de este esteroide.

Cruz y col., (2006) sugieren la existencia de una vía neural que se origina en el peritoneo y participa en la regulación de la secreción de E<sub>2</sub>. 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 espinal y el nervio vago. Al igual que otras glándulas, los ovarios de los mamíferos son inervados por el sistema nervioso periférico, mismo que participa directamente en la regulación del flujo sanguíneo, el control de la esteroidogénesis y en el desarrollo folicular (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999).

La inervación sensorial del ovario es aportada por el Plexo Ovárico, cuyas fibras nerviosas contienen sustancia P (SP), el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés) y somatostatina. En algunos casos se ha observado que tanto SP como CGRP pueden coexistir en una misma fibra nerviosa. Asimismo se ha reportado que las fibras sensoriales también pueden presentar péptido intestinal vasoactivo y el polipéptido activador de la adenilato ciclasa hipofisaria (VIP y PACAP, respectivamente por sus siglas en inglés).

El PO es una extensión del plexo aórtico y renal (Lawrence y Burden, 1980; Burden, 1978) que se localiza a lo largo de la arteria ovárica (Dissen y Ojeda, 1999), asociado principalmente al sistema vascular y el transporte de la información que se genera en el ovario hacia el SNC (Aguado, 2002).

Los resultados obtenidos en animales castrados o con adrenalectomía bilateral en el presente estudio, son una evidencia más de que las adrenales son la fuente principal de  $P_4$  a la circulación y que los ovarios de estradiol; resultados similares a los obtenidos por Meléndez (2005) y por Palafox (2007), respectivamente. Sin embargo, en este estudio se muestra que cuando faltan las adrenales, los ovarios requieren de 48 horas para poder secretar concentraciones de  $P_4$  semejantes a las del grupo testigo; mientras que en ausencia de los ovarios, las adrenales responden en forma inmediata (24 horas) con concentraciones de  $P_4$  que son aún mayores que la de los animales testigo cuando han transcurrido 48 horas de la cirugía. A partir de estos resultados sugiero que existe comunicación hormonal y neural entre ambas glándulas, de tal forma que los ovarios modulan de forma inhibitoria la secreción de  $P_4$  por parte de las adrenales a mediano y largo plazo. Asimismo, que esta forma de adaptación que tiene el organismo ante la falta de ovarios o adrenales es la necesaria para que no se vean inhibidos los mecanismos neuroendocrinos que culminan con la ovulación.

Las adrenales modulan en forma inhibitoria los mecanismos neuroendocrinos que regulan la concentración sérica de  $E_2$ , ya que en los animales con adrenalectomía bilateral se observó aumento en la concentración de la hormona a las 24 y 48 horas de realizada la cirugía. Este resultado es diferente al observado por Palafox (2007) ya que mostró que la adrenalectomía bilateral en el diestro-2 no resultó en cambios en la concentración sérica de la hormona cuando la evaluó una hora después del tratamiento experimental. La diferencia puede deberse al periodo de evolución al que se dejaron los animales después de la cirugía y a la comunicación entre los ovarios y las adrenales, a través de la inervación que reciben.

Madrigal (2004) mostró que en los animales con adrenalectomía bilateral en el día del diestro-2 que fueron sacrificados 24 horas después de la cirugía, se observó similar concentración sérica de testosterona por parte de los ovarios respecto a la de los animales testigo; a diferencia de ello, si se eliminan los ovarios, la concentración de la hormona disminuye. Este resultado nos hace

pensar que en los animales castrados el estradiol se origina en la periferia por la aromatización de andrógenos secretados por las adrenales. La aromatización de andrógenos ocurre en cerebro, músculo, piel, adipocitos y células epiteliales del estroma mamario (Yen y col., 2001).

Los resultados obtenidos en los animales con ovariectomía unilateral en este estudio difieren de lo reportado por Meléndez (2005), ya que mostró que la ovariectomía izquierda no resultó en cambios en la concentración sérica de  $P_4$ , pero la ovariectomía derecha resultó en aumento de la concentración del esteroide cuando los animales son sacrificados una hora después de la cirugía. Estos resultados los interpretamos como indicación de que en el diestro-2 el ovario izquierdo aporta la mayor cantidad de la hormona, mientras que en la etapa del proestro el ovario derecho toma el comando de dicha secreción.

En el día de proestro, el ovario derecho aporta más estradiol que el ovario izquierdo. Esta respuesta asimétrica se explica con base a la inervación extrínseca de los ovarios. Klein y Burden (1988) mostraron que el ovario derecho recibe más fibras simpáticas que el ovario izquierdo. Sin embargo, dado que las adrenales juegan un papel inhibitor sobre la secreción de, para explicar esa asimetría es necesario conocer más sobre las relaciones adrenal-ovario.

En animales con adrenalectomía unilateral se puede observar que la adrenal *in situ* compensa la función del órgano par faltante independientemente del tiempo que transcurra entre la cirugía y la evaluación de la concentración de la  $P_4$  (Meléndez, 2005 y este estudio).

En los animales que permanecen con la adrenal izquierda *in situ* se observó disminución de la concentración de estradiol al ser evaluado una (Palafox, 2007) ó 24 horas después de la cirugía (el presente estudio). A partir de este resultado sugiero que durante el diestro-2 y proestro la adrenal derecha modula en forma estimulante la secreción de estradiol por parte de los ovarios, pero que dicha regulación desaparece en el día del estro. En cambio, la adrenal izquierda sólo modula la secreción de estradiol en forma estimulante en el día del proestro.

Estos resultados nos muestran que la regulación de la secreción de estradiol por parte de las adrenales es asimétrica sólo en la etapa del diestro-2.

En los animales con adrenalectomía bilateral no se modificó la tasa de animales ovulantes, lo que indicaría que la disminución aguda de las hormonas adrenales no modifica la liberación de las gonadotropinas, ni el crecimiento y la diferenciación folicular. Sin embargo, en los animales con extirpación de adrenal derecha resultó en disminución del número de ovocitos liberados. Por lo cual sugiero que dicha adrenal modula en forma estimulante los mecanismos neuroendocrinos que regulan la liberación de ovocitos. Es posible que en los animales que carecen de la adrenal derecha, disminuya el crecimiento folicular que se traduce en menor liberación de estradiol a la circulación y del número de ovocitos que pueden ser liberados.

En los animales con ovariectomía unilateral, la disminución de la tasa de animales ovulantes, pero no del número de ovocitos liberados. Esta diferencia puede indicar que los mecanismos neuroendocrinos que regulan la tasa de animales que ovulan son diferentes a los mecanismos que regulan el número de ovocitos que se liberan.

Nuestros resultados mostraron que la falta de adrenales en el animal con ovariectomía unilateral se tradujo en disminución de la concentración de la  $P_4$  en las horas estudiadas. Sin embargo, Meléndez (2005) no encontró diferencias cuando evaluó una hora después de la cirugía. Esta diferencia puede deberse a que en una hora de evolución sólo se puede evaluar lo que las glándulas han secretado, pero a mayor tiempo transcurrido entre la cirugía y la cuantificación de la hormona, lo que se evalúa es la síntesis de las hormonas.

En animales con adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral se muestra que los ovarios presentan respuesta asimétrica respecto a la liberación de estradiol, que se presenta en el día del diestro-2 y proestro y desaparece en el día del estro. Además de ello, cuando permanece el ovario izquierdo *in situ* se observó mayor número de ovocitos liberados en el día del estro. Esto puede ser

interpretado como que la inervación y las adrenales regulan en forma inhibitoria la secreción de estradiol y el número de ovocitos liberados, al modular en forma inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre el ovario *in situ*.

Tomados en conjunto, los resultados del presente estudio muestran que la relación funcional entre las adrenales y los ovarios presenta asimetría, la cual depende del ciclo estral.

## CONCLUSIONES

- ◆ Los ovarios son la principal fuente de 17  $\beta$ -estradiol.
- ◆ La capacidad de los ovarios de secretar 17  $\beta$ -estradiol es asimétrica.
- ◆ Las adrenales son la principal fuente de progesterona.
- ◆ Las adrenales participan en forma estimulante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la tasa de animales ovulantes.
- ◆ Las adrenales participan de manera asimétrica en la regulación de las funciones ováricas.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

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

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

**Arimura A. (2000).** Hypothalamic hormones. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 41-58.

**Barco AI, Flores A, Chavira R, Damian-Matsumura 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 RM, Levy MN. (1992).** La corteza suprarrenal. En: *Fisiología*. Editorial Mosby/Doyma libros. España, capítulo 42: 558-571.

**Berne RM, Levy MN. (1992).** Revisión de la función reproductora. En: *Fisiología*. Editorial Mosby/Doyma libros. España, capítulo 43: 571-589.

**Brown RE. (1994).** Introduction to Neuroendocrinology. Cambridge University Press, pp. 19-55.

**Brown TR. (1999).** Steroid hormones, overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, pp. 634-644.

**Burden HW. (1985).** The adrenergic innervation on mammalian ovaries. En: *Catecholamines as hormone regulator*. N Ben-Jonathan, JM Bahr, RI Weiner (Eds). Raven Pres. New York, pp. 261-278.

**Burden HW, Lawrence IE. (1980).** The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat Recor* 196: 51-59.

**Burden HW. (1978).** Ovarian innervation. En: *The vertebrate ovary*. RE Jones. (Ed.) Plenum Press. New York, pp. 615-638.

**Burris TP. (1999).** Progestins. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, 1: 23-30.

**Cerbón MA, Gutiérrez R, Pasapera A, Hernández A. (1991).** El receptor de la progesterona en el útero de la coneja: biosíntesis, estructura y propiedades de la unión al ADN. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Editor: Domínguez R. Ed. UNAM-Porrúa. México, capítulo 2: 44.

**Cruz ME, Flores A, Palafox MT, Meléndez G, Rodríguez JO, Chavira R, Domínguez R. (2006).** The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 4:43.

**Cruz ME, Palafox MT, Rodríguez JO, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Flores A, Domínguez R. (2005).** Papel del sistema muscarínico en la regulación de la secreción de estradiol durante el ciclo estral de la rata. XXX Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, pp. 1-11. Guanajuato, Gto.

**Cruz ME, Sánchez MA, Domínguez R. (2001).** Asimetrías funcionales del sistema reproductor. En: Biología de la Reproducción II. Editor: Velásquez Moctezuma J. UAM-PUIS. México, pp. 75-91.

**Dissen GA, Ojeda SR. (1999).** Ovarian innervation. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, 3: 583-589.

**Domínguez R, Cruz ME, Chavéz R. (1988).** Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. In: Growth Factors and the Ovary: Editor: Hirshfield AN. Plenum Press. New York, 39: 321-325.

**Domínguez R. (1993).** Las secreciones periódicas y la regulación de la ovulación, En: Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares. Domínguez R. (Ed.) Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México, pp. 251-258.

**Domínguez R. (1997).** Endocrinología de las gónadas, En: actualización en fisiología, curso internacional precongreso. XL Congreso Nacional en Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. (Ed.). Morelia, Mich., pp. 271-279.

**Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. (1991).** La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Miguel Ángel, Porrúa (Ed.). México, pp. 161-192.

**Domínguez R, Cruz ME, Palafox MT, Meléndez G, Rodríguez J, Flores A, Barco AI. (2004).** Differential effects of unilateral hemiovariectomy (Hovx) performed at the day of proestrus, on progesterone (P<sub>4</sub>), testosterone (T) or estradiol (E<sub>2</sub>) serum levels. Thirty-Seventh annual meeting of the Society for the Study of Reproduction. Publicado en las memorias de la sociedad, pp. 119 (No.117). Vancouver, Canadá.

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

**Ehrhart-Bornstein. (1998).** Innervation of the adrenal cortex. En: Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. Endocrine Reviews 19(2): 117-123.

**Espey LL. (1999).** Ovulation. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, pp. 605-614.

**Fawcett DW. (1995).** Sistema Reproductor Femenino. En: Tratado de Histología. 12ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid, capítulo 32: 885-893.

**Flores A, Gallegos AI, Velasco J, Mendoza FD, Montiel C, Everardo PM, Cruz ME, Domínguez R. (2008).** The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2008, 6:48

**Flores A, Meléndez G, Rodríguez J, Palafox MT, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2004).** Efectos de la hemiovariectomía realizada durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración plasmática de hormonas esteroides. XXIX Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. y IV Reunión de la Sociedad Mexicana de Biología de la Reproducción Humana, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, pp. 121-137. Oaxaca, Oaxaca.

**Flores A, Meléndez G, Palafox MT, Rodríguez JO, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2005b).** The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine* 2: 145-151.

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

**Fox SI. (2003).** Fisiología humana. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España, pp. 678-688.

**Freeman ME. (1994).** The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. 2ª ed. Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, vol. 2, 46: 613-658.

**Ganong WF. (2000).** Fisiología médica. 17ª ed. Editorial el Manual Moderno. México, pp. 482, 591- 599.

**Garrido A (1991).** Fundamentos de química biológica. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España, pp. 627-629.

**Gerendai I, Halász B. (1997).** Neuroendocrine asymmetry. *Front Neuroendocrinol* 18: 354-381.

**Goodman A, Gilman. (1991).** Las bases farmacológicas de la terapéutica. 8ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México, pp. 1340, 1342 y 1347, 1518 – 1541.

**Greenspan FS. Gordon JS. (1999).** Endocrinología básica y clínica. 4ª Ed. Editorial El Manual Moderno. México, pp. 361–365, 497-501.

**Guyton AC, Hall JE. (2001).** Tratado de Fisiología Médica. 10ª ed. Interamericana McGraw-Hill. México, pp. 100-110.

**Halász B. (2000).** The hypothalamus as an endocrine organ. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc. Totowa, N.J., pp. 3-21.

**Hinshelwood MM. (1999).** Steroidogenesis, overview. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, pp. 644-653.

**Jacobs JJ, Pepler RD. (1980).** Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of two strains of rat. J Endocrinol 87: 241-246.

**Kilen SM, Schwartz NB. (1999).** Estrous cycle. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, pp. 127-135.

**Klein CM, Burden HW. (1988).** Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. Neurosc lett. 85: 217-222.

**Larrea F, Oliart RM, Escorza A, Ulloa-Aguirre A, Valencia X. (1991).** Fisiología y mecanismos de acción de las gonadotropinas hipofisarias. Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Editorial Miguel Ángel, Porrúa. México, pp. 107-131.

**López-Calderón BA. (1999).** Glándulas Suprarrenales. En: Fisiología Humana. Editor: Tresguerres JAF. 2ª Ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España, pp. 947-967.

**Loza MC, Lemus AE, Pérez GP. (1995).** Metabolismo de hormonas esteroides. En: Bioquímica, 2ª Ed. Editores: Diaz JC, Hicks JJ, Editorial McGraw-Hill Interamericana. México, capítulo 32: 605-660.

**Madrigal (2004).** Papel de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la secreción de hormonas ováricas esteroides en el día del diestro-2 Servicio Social. FES Zaragoza, UNAM. SS-Biol.-06-41.

**Martínez SM, Martínez JL, Ezquivel RI. (1998).** Hígado y sistema endocrino su participación en el metabolismo. Editor: Valdivieso JJ, UNAM. México, pp. 184-194.

**Meléndez RG. (2005).** Papel de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la secreción de progesterona durante el ciclo estral de la rata. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza, UNAM. México D.F. 50 pp.

**O'Malley BW, Strott CA. (2001).** Hormonas esteroides: metabolismo y mecanismo de acción. En: Endocrinología de la reproducción. 4ª ed., Editores: Yen SSC, Jaffé RB, Barbieri RL. Ed. Medica-Panamericana. Argentina, capítulo 4: 122-141.

**Palafox T. (2003).** Papel de las glándulas suprarrenales en la secreción de hormonas ováricas esteroides en el día del proestro. Servicio Social. FES Zaragoza, UNAM.

**Palafox T. (2007).** Un estudio de las interacciones funcionales de las adrenales y la secreción de estrógenos por parte de los ovarios. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza, UNAM. México D.F. 58 pp.

**Paolucci M, Custodia N, Ian PC. (1999).** Estrogen effects and receptors, subavian species En: Encyclopedia of Reproduction, E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 590-597.

**Pedernera E. (1993).** Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides En: Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares. Domínguez R. (Ed.) Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México, pp. 33-43.

**Porter SC, Marriott JL, Nation RL. (2004).** Diccionario de especialidades farmacéuticas. PLM. 50ª ed. Ediciones PLM, México, capítulo: 26-27.

**Rodríguez JO. (2006).** Efectos de la hemiovariectomía y la adrenalectomía realizados durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de testosterona. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza, UNAM. México D.F. 57 pp.

**Rodriguez- Manzo G. (1993).** Receptores Intracelulares y mecanismo de acción de hormonas esteroides. En: Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares. Editor: Domínguez R. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México, pp. 99-105.

**Ross MH, kaye GI. Pawlina W. (1997).** Aparato genital femenino. En: Histología. Texto y atlas a color con biología celular y molecular. 4ª ed. Editorial Médica Panamericana, México, capítulo 22: 730-744.

**Sánchez JE. (1999).** Fisiología del ovario. En: Fisiología humana. 2ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana, Madrid, pp. 1036-1048.

**Schwartz N. (2000).** Neuroendocrine regulation of reproductive ciclity. En: Neuroendocrinology in physiology and medicine. M Conn y M Freeman (Eds.). Humana Press. USA. pp. 135-145.

**Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. (2002).**The origin of sensory innervations of the peritoneum in the rat. Anat Embryol 4: 307-313.

**Tóth IE, Vizi ES, Hinson JP, Vinson GP. (1997).** Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, whit primary focus on the noradrenergic transmission. Microsc. Res. Tech. 36: 534-545.

**Wong KHH, Adashi EY. (1999).** Granulosa cells. En: Enciclopedia of Reproduction, E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 569-571.

**Yao HHC y Bahr J M. (1999).** Ovary overview. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 590-597.

**Yen SS, Jaffe RB, Barbieri RL. (2001).** Neuroendocrinología de la reproducción. En: Endocrinología de la reproducción. Editores: Yen SS, Jaffé RB, Barbieri RL. Editorial Medica-Panamericana. Argentina, pp. 31-85.