UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

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

"PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN VAGAL EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA POR LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES"

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:

ERIKA CLAUDIA ALANIS MANRIQUEZ

DIRECTORA DE TESIS
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT IN209508-3.

MÉXICO, D.F. Octubre de 2010

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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

PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN VAGAL EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA POR LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES

Tesis presentada por**: Erika Claudia Alanis Manriquez**

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 esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT convenio IN209508-3.

DEDICATORIA

A mis padres

Felipe de Jesus Alanis y Ana Bertha Manriquez por enseñarme que no hay imposibles en la vida y que con esfuerzo se logran muchas metas. Por sus innumerables consejos, su apoyo incondicional, su lealtad, su paciencia y sobre todo por el amor que siempre me brindan. Por el simple hecho de ser mis padres y que me han dado más que la vida misma les dedico este gran logro.

A mis hermanos

Erik, Jesus y Rosa Isela, quienes son parte de todos mis logros. Todos sus momentos a mi lado han enriquecido mi experiencia de vida. Su apoyo siempre tan cercano y desinteresado me motiva a seguir siempre adelante.

A mis sobrinos

Erik y David por que sus sonrisas le dan más alegría a mi vida y me motivan a dar lo mejor de mi. Siempre estaré para ustedes.

A mi Tío Arturo "chino"

Por que la amistad y el cariño que nos tenemos es invaluable, por escucharme y por que tu apoyo ha sido siempre incondicional y desinteresado.

A mis abuelos, tíos y primos

Quienes son parte de mi vida y sus momentos a mi lado me enseñan lo maravilloso de tener una familia.

A *Héctor Eduardo B. A.*

Por que la convivencia contigo me enseño las cosas lindas y sencillas de la vida. Y por todos los momentos vividos durante la carrera.

A mis amigas y amigos

Paulina, Rosario, Yolotzin, Maritza, Yutzil, Nandyeli, Gladys, Diana R., Elid, Enrique "Quique" y Roberto con quienes compartí momentos y experiencias inolvidables.

AGRADECIMIENTOS.

A la M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez por su apoyo durante la realización de este trabajo, le agradezco el haber guiado mi vocación por la ciencia y su confianza al permitirme formar parte de su equipo de trabajo.

A los miembros del jurado.

Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán
Dra. Bertha Peña Mendoza
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez
M. C. Raúl Zavala Chavero
Biol. Carlos Martínez Montoya

Por su tiempo y conocimientos brindados en la revisión de este trabajo.

A la Dr. Adriana, Dr. Román y Sr. Abelardo G., por las facilidades que me brindaron en la realización de mi trabajo en el bioterio.

A mis compañeras del laboratorio Nandy, Ayko, Jaqueline, Gladys y Pamela por su colaboración durante la fase experimental. Le agradezco de corazón toda su ayuda y colaboración en este trabajo.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	i
MARCO TEÓRICO	1
I. PROGESTERONA	1
A. Estructura y biosíntesis	1
B. Depuración metabólica	3
C. Efectos biológicos de la progesterona	5
II. OVARIOS	6
A. Estructura	6
• **Compartimiento folicular**	8
• **Compartimiento Luteal**	11
• **Compartimiento Intersticial**	12
B. Esteroidogénesis ovárica	13
C. Ciclo estral	15
D. Regulación endocrina de la función ovárica	19
E. Asimetrías morfológicas y funcionales de los ovarios	20
III. GLÁNDULAS ADRENALES	23
A. Estructura	23
B. Corteza	24
C. Médula	25
D. Regulación endocrina de la función adrenal	26
E. Asimetrías morfológicas y funcionales de las adrenales	28
IV. RELACIONES FUNCIONALES ENTRE LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES	30
V. REGULACIÓN NEURAL DE LAS FUNCIONES DE LAS GLÁNDULAS	32
A. Inervación de los ovarios	32
B. Nervio Vago	36
C. Participación del Nervio Vago en la regulación de las funciones ováricas	40
D. Inervación de las adrenales	52
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	55
HIPÓTESIS	56

OBJETIVOS 57

MATERIALES Y MÉTODOS 59

RESULTADOS 62

- **Concentración sérica de progesterona en el animal intacto** 62
- **Efectos de la anestesia** 63
- **Efectos de la laparotomía ventral** 64
- **Efectos de la ovariectomía o la adrenalectomía bilateral** 65
- **Efectos de la ovariectomía unilateral** 67
- **Efectos de la adrenalectomía unilateral** 67
- **Efectos de la adrenalectomía bilateral en animales sometidos a ovariectomía unilateral o bilateral** 69
- **Efectos de la sección unilateral o bilateral del Nervio vago** 70
- **Efectos de la ovariectomía unilateral o bilateral seguida de la sección de ambos Nervios vago** 71
- **Efectos de la adrenalectomía unilateral o bilateral seguida de la sección de ambos Nervios vago** 72

ANÁLISIS DE RESULTADOS 73

CONCLUSIONES 85

BIBLIOGRAFÍA 86

RESUMEN

La progesterona (P_4) es una hormona esteroide que ejerce sus efectos biológicos en órganos asociados generalmente a la reproducción. Esta hormona es sintetizada por los ovarios y las adrenales, entre otros órganos.

Un punto que ha recibido muy poca atención es que las adrenales y los ovarios tienen conexiones nerviosas periféricas que las vinculan entre sí. Esta conexión nerviosa parecería que se realiza a nivel del ganglio celíaco, entre otras regiones nerviosas, centrales y periféricas. Otro aspecto que hace pocos años se ha puesto de manifiesto es la existencia de asimetría en la regulación de las funciones de los ovarios y las adrenales. Por ello, se propuso analizar las interacciones neuroendocrinas entre las adrenales y los ovarios, partiendo del supuesto de que los nervios vago son una de las vías principales por intermedio de los cuales las adrenales y los ovarios envían información nerviosa sobre su funcionamiento hacia los centros superiores hipotalámicos y extrahipotalámicos.

El análisis experimental de este problema se realizó por el estudio de los efectos de la adrenalectomía uni o bilateral, la sección uni o bilateral de los nervios vago, la sección de ambos nervios después de realizar las ovariectomías o adrenalectomías a las 13:00 h en cada día del ciclo estral de rata adulta, sobre la secreción de P_4 evaluada una hora después de la cirugías por radioinmunoanálisis.

La perforación ventral del peritoneo en los días del Diestro-2, Proestro y Estro resultó en aumento de la concentración del esteroide, lo que pudo ser producto de la activación conjunta del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, la activación del sistema nervioso simpático central y periférico y la activación de la inervación del peritoneo a causa del estrés que representó dicha cirugía.

Los resultados de la ovariectomía o adrenalectomía bilateral muestran que las adrenales son las glándulas que aportan la mayor concentración de P_4 a la circulación a lo largo del ciclo estral y que los ovarios también contribuyen con concentraciones séricas de la hormona, pero en menor proporción que la adrenales. Cabe aclarar que los ovarios en la etapa de Diestro-1 secretan mayor concentración del esteroide que en las otras etapas del ciclo estral, mientras que las adrenales secretan concentraciones similares de progesterona durante el ciclo estral.

La extirpación unilateral de los ovarios mostró que la gónada derecha secreta concentraciones séricas de P_4 a la circulación equivalentes al as que secreta la gónada izquierda en cada etapa del ciclo estral. En el caso de las adrenales también se observó esta secreción simétrica de la hormona.

El extirpar ambas adrenales y dejar sólo un ovario *in situ* demostró que las adrenales regulan de manera estimulante la secreción de la P_4 ovárica. En animales sin adrenales y sin ovarios, se pone de manifiesto que no sólo estas dos glándulas que aportan P_4 a la circulación.

La sección de uno o ambos nervios vago evidenció que en animales con animales con ambos ovarios y ambas adrenales la inervación vagal no forma parte de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la concentración sérica del esteroide a lo largo del ciclo estral. Sin embargo, en los animales con ovariectomía derecha en el día del Diestro-2 y Proestro seguida de la sección bilateral de los Nervios Vago reflejó que la inervación vagal estimula la secreción del esteroide por parte del ovario izquierdo *in situ*.

Y en los animales con ovariectomía bilateral y sección bilateral de los nervios vago en el día del Diestro-2 mostró que la inervación vagal regula de manera estimulante la secreción de de P4 que proviene de las adrenales en esta etapa del ciclo estral.

Los resultados de llevar a cabo primero la adrenalectomía izquierda y luego la sección de ambos Nervios Vago en el día del Estro, pone de manifiesto que la información parasimpática y sensorial que llega a través del Nervio Vago regula de manera estimulante la secreción del esteroide en el animal con la adrenal derecha *in situ*.

Por último, en los animales sin adrenales y con vagotomía bilateral, las concentraciones séricas de P_4 observadas en los días del diestro, apoyan lo que previamente se había mencionado; que los ovarios aportan concentraciones de la hormona a la circulación, pero además pone de manifiesto que requieren de la información que proviene de las adrenales y de los Nervios Vago para estimular dicha secreción.

En este estudio se presentan evidencias de la interacción funcional entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la secreción de P_4, la cual es diferente para los animales intactos, con ovariectomía, o adrenalectomía y dependen de la etapa del ciclo estral. También muestra la importancia de la inervación parasimpática y sensitiva, aportada por el Nervio Vago, en la regulación de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Y finalmente aporta pruebas que apoyan la hipótesis sobre la existencia de la comunicación neural entre los ovarios y las adrenales, y que los Nervios Vago son una de las vías principales por intermedio de los cuales las adrenales y los ovarios envían información nerviosa sobre su funcionamiento hacia los centros superiores hipotalámicos y extra-hipotalámicos. De tal forma que se puede sugerir que el ajuste de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de P_4 depende del ovario, adrenal y/o nervio vago que estén presentes en los animales, y del día del ciclo estral en que se estudian dichos mecanismos neuroendocrinos.

MARCO TEÓRICO

I. PROGESTERONA

La progesterona (P_4) es una hormona esteroide, producida por los ovarios, las adrenales, la placenta y los testículos (Burris, 1999; Frandson, 1988; Houssay, 1976). Es la progestina más activa y es el principal esteroide progestacional de muchas especies (Burris, 1999; Frandson, 1988).

A. Estructura y Biosíntesis

El punto clave en la biosíntesis de P_4 es la biodisponibilidad de colesterol, que puede provenir de la absorción intestinal (dieta) o de la biosíntesis hepática. Una pequeña fracción de colesterol es producida de *novo* a partir del acetato en las células esteroidogénicas (Burris, 1999; Yen y col., 2001). En la mitocondria, las lipopoteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) se unen a receptores específicos de la membrana y los complejos LDL-receptor ingresan a la célula por endocitosis. Las vesículas endocíticas se fusionan con los lisosomas, en los que se hidrolizan los ésteres de colesterol para transformarse en colesterol libre, el cual es reesterificado y almacenado en el citoplasma en gotas lipídicas. Cuando se necesita colesterol, los ésteres son hidrolizados, y posteriormente, con transporte ulterior el colesterol libre es transportado a las mitocondrias para la síntesis de esteroides (Fig.1) (Yen y col., 2001).

Dentro de la mitocondria, el colesterol sufre el clivaje de su cadena lateral por la enzima P450ssc (que elimina un fragmento de seis carbonos) y lo convierte en pregnenolona (Δ5-P) (Burris, 1999; Yen y col., 2001). Esta reacción o grupo de reacciones es el paso limitante en el proceso de biosíntesis y está regulado por la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés) (Greespan y Strewler, 1998).

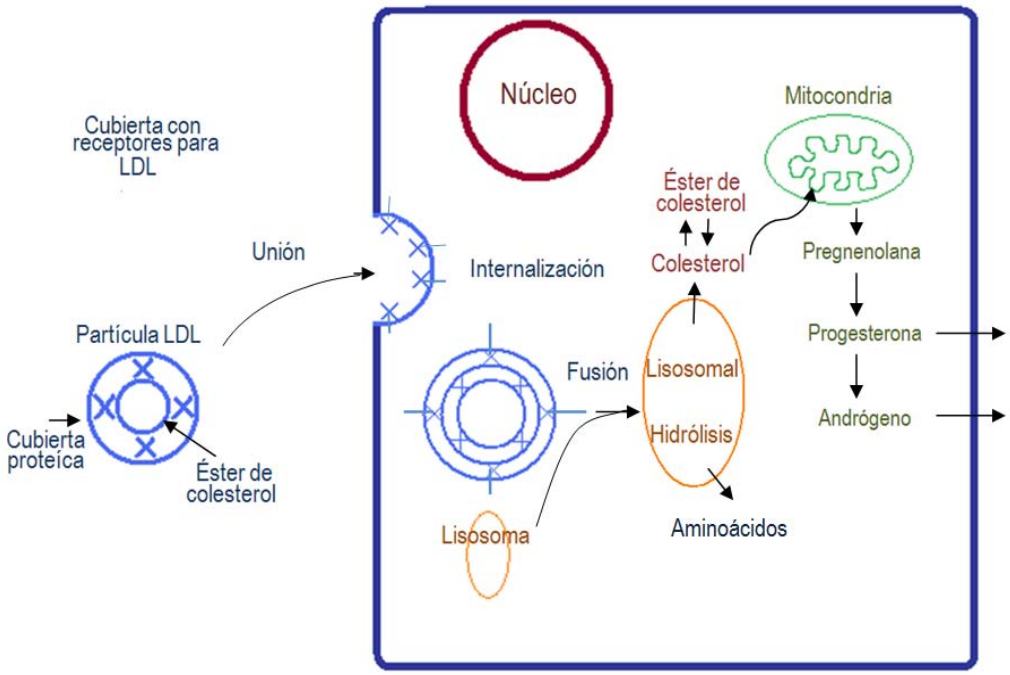


Figura 1. Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) circulantes constituyen la mayor fuente de colesterol, sustrato para la esteroidogénesis. Las partículas LDL circulantes, que contienen un núcleo de éster de colesterol rodeado por una cubierta proteica, se unen a receptores de membrana específicos. El complejo LDL-receptor internalizado se fusiona con los lisosomas. El éster de colesterol es transformado por hidrólisis en colesterol y la cubierta proteica deriva en aminoácidos (Tomada de Yen y col., 2001).

La Δ5-P puede sintetizarse a P_4 por acción de la 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β-HSD) y la $\Delta^{4,5}$-cetoesteroide isomeresa; o puede sintetizarse en 17α-hidroxipregnenolona por acción de la enzima P450c17 (17α-hidroxilasa) (Greespan y Strewler, 1998; Yen y col., 2001). La 17-hidroxipregnenolona y progesterona por medio de las enzimas P45017 α y 3β-HSD, se transforma a 17-hidroxiprogesterona (17-OH) (Fig. 2) (Burris, 1999).

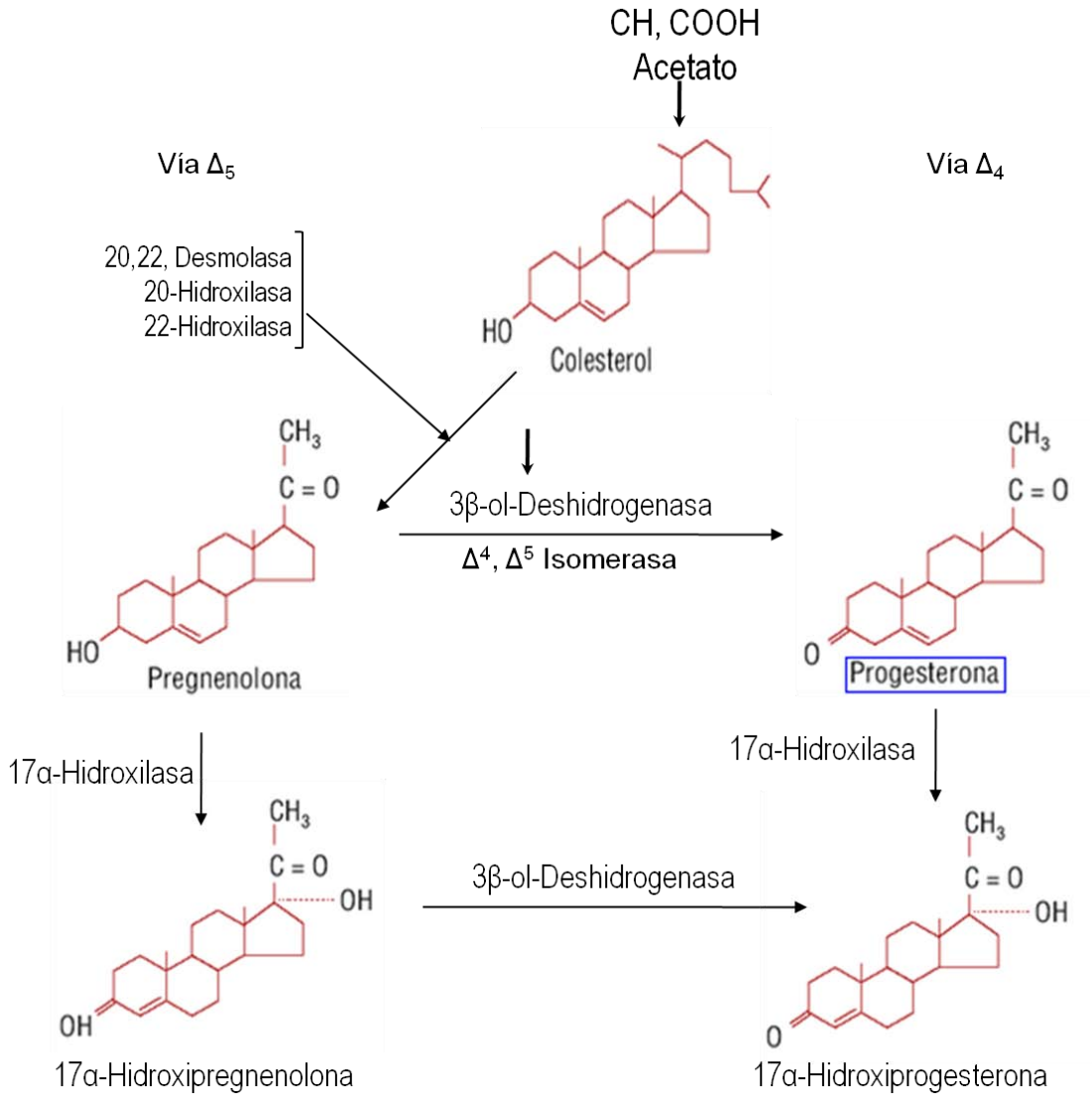


Figura 2. Biosíntesis de la progesterona (Tomada de González y col., 2006).

B. Depuración metabólica

Una vez que la P_4 es secretada al torrente sanguíneo tiene una vida media de 5 minutos (Greespan y Strewler, 1998). Su degradación tiene dos vías: 1) es degradada a otros esteroides que carecen de efecto progestágeno ó 2) al ser vertida a la circulación se une a una proteína plasmática denominada globulina fijadora de los glucocorticoides (CBG, por sus siglas en inglés; o transcortina) y ocurre la hidrogenación simple del anillo A (pérdida del doble enlace entre C-4

y C-5). Luego sufre una hidroxilación en el carbono 3 y finalmente una hidroxilación en el carbono 20, formándose así en el hígado, el pregnanodiol (pregnano-3,20 α-diol), que es su principal catabolito de excreción; cuando se degrada la 17-OH el metabolito se denomina pregnanotriol (Burris, 1999; González y col., 2006).

La mayor parte de la P_4 se destruye en el hígado sin formar pregnanodiol, pero se excreta lentamente por la bilis (20%). Sólo el 40% se transforma en pregnanodiol (pregneno-3,20-diol). La inactivación se completa cuando los metabolitos se conjugan a sulfatos y glucurónidos; el mayor metabolito (glucuronato) en orina es el 5 β-glucurónido-pregnanodiol (Fig. 3) (Botero y col., 2004; González y col., 2006).

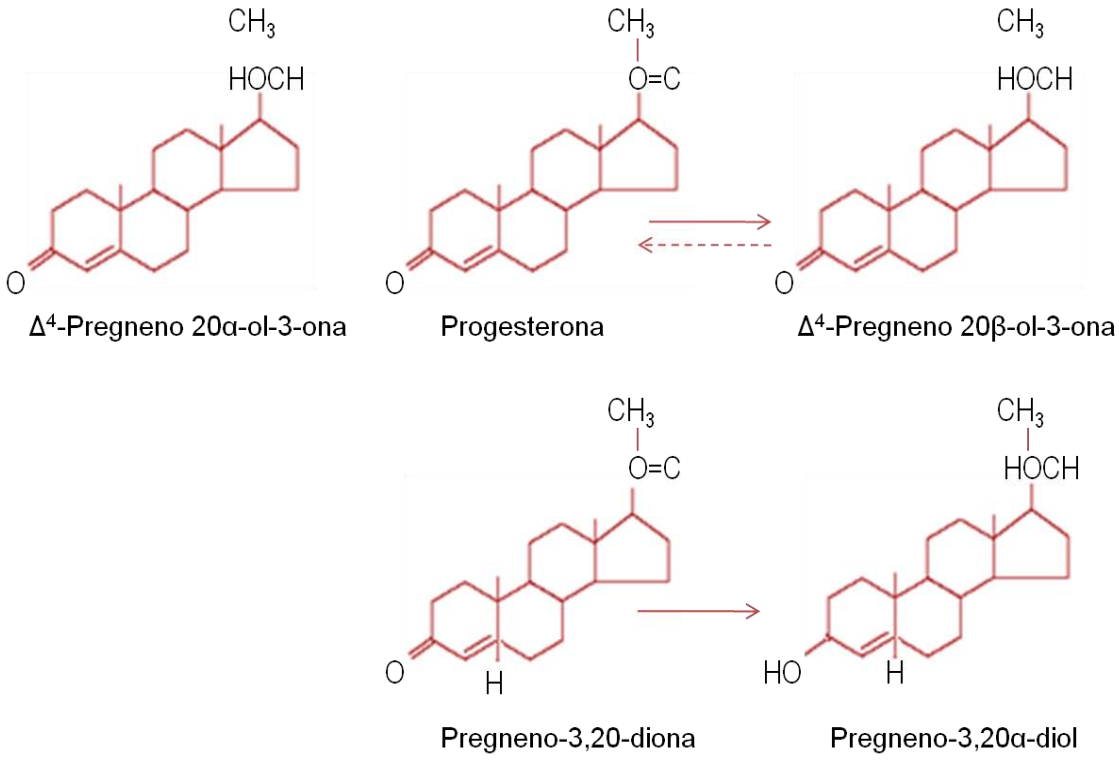


Figura 3. Metabolismo de la Progesterona (Tomada de González y col., 2006).

C. Efectos biológicos de la P_4

Es una hormona versátil que ejerce una variedad de efectos biológicos sobre diversos órganos blanco asociados generalmente a la reproducción (Paolucci y col., 1999). En el organismo de algunas especies induce la receptividad sexual (Hadley, 2000).

Fradson (1988) y Houssay (1976) correlacionan el aumento de la temperatura con la ovulación y la liberación de P_4 por el cuerpo lúteo y este hecho se usa en la mujer como indicador para determinar el momento de la ovulación.

La P_4 estimula el relajamiento de la musculatura lisa en todo el cuerpo, incluyendo la de la vesícula y la del tubo gastrointestinal (Austin y Short, 1982).

En el útero se conoce como la hormona de la gestación, ya que después de las acciones de proliferación del estradiol, induce la diferenciación endometrial. Disminuye la sensibilidad a la oxitocina al disminuir el número de receptores a estrógenos, lo que induce el engrosamiento del endometrio y la proliferación de las glándulas uterinas antes de la implantación del óvulo fecundado. Inhibe el exceso de movilidad uterina durante el periodo de implantación y en el de la gestación (Burris, 1999; Fradson ,1988).

Inhibe la ovulación durante la gestación, por su acción inhibitoria sobre la liberación de la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) y la LH (Dean, 2003; Fradson, 1988; Funk y De Mayo, 1999).

En la glándula mamaria, junto con una acción previa de los estrógenos, favorece el completo desarrollo del sistema lóbulo-alveolar (Dean, 2003; Hadley, 2000).

La P_4 que proveniente del cuerpo lúteo estimula, en los oviductos, el acarreo lento del óvulo, esto es, que provoca un cierto efecto de parálisis tubárica (Botella, 1982).

En los oviductos estimula su crecimiento y desarrollo para el transporte de gametos (Hadley, 2000; Paolucci y col., 1999).

En los ovarios estimula el desarrollo de las células de la granulosa. También inhibe la ovulación porque provoca inhibición en el crecimiento y ruptura de los folículos (Botella, 1982; Dean, 2003).

En la glándula adrenal estimula aumento en su espesor (Botella, 1982).

II. OVARIO

A. Estructura

Los ovarios son órganos pares cuyas funciones son: la síntesis y secreción de hormonas y la gametogénesis (Hadley, 2000). Se ubican detrás del peritoneo unidos a la parte posterior del ligamento ancho por un pliegue del peritoneo llamado mesovario (Greespan y Strewler, 1998).

Están cubiertos por una capa de células cilíndricas que constituye el epitelio germinal. La capa densa de tejido conjuntivo, bajo el epitelio, se denomina túnica albugínea. El resto de la glándula está divida en las porciones cortical externa (corteza) y la médula; la mayor de las cuales es la corteza. La médula consiste en un estroma de tejido conjuntivo que contiene fibras elásticas, vasos sanguíneos, nervios, linfáticos y fibras de músculo liso. La corteza contiene folículos en todas las etapas de desarrollo, rodeadas por elementos de tejido conjuntivo del estroma y células hiliares (Fig. 4) (Greespan y Strewler, 1998; Yao y Bahr, 1999).

El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir del cual se originan tres compartimientos endocrinos: el folicular, el luteal y el intersticial (Fig. 4) (Domínguez y col., 1991; Yen y col., 2001).

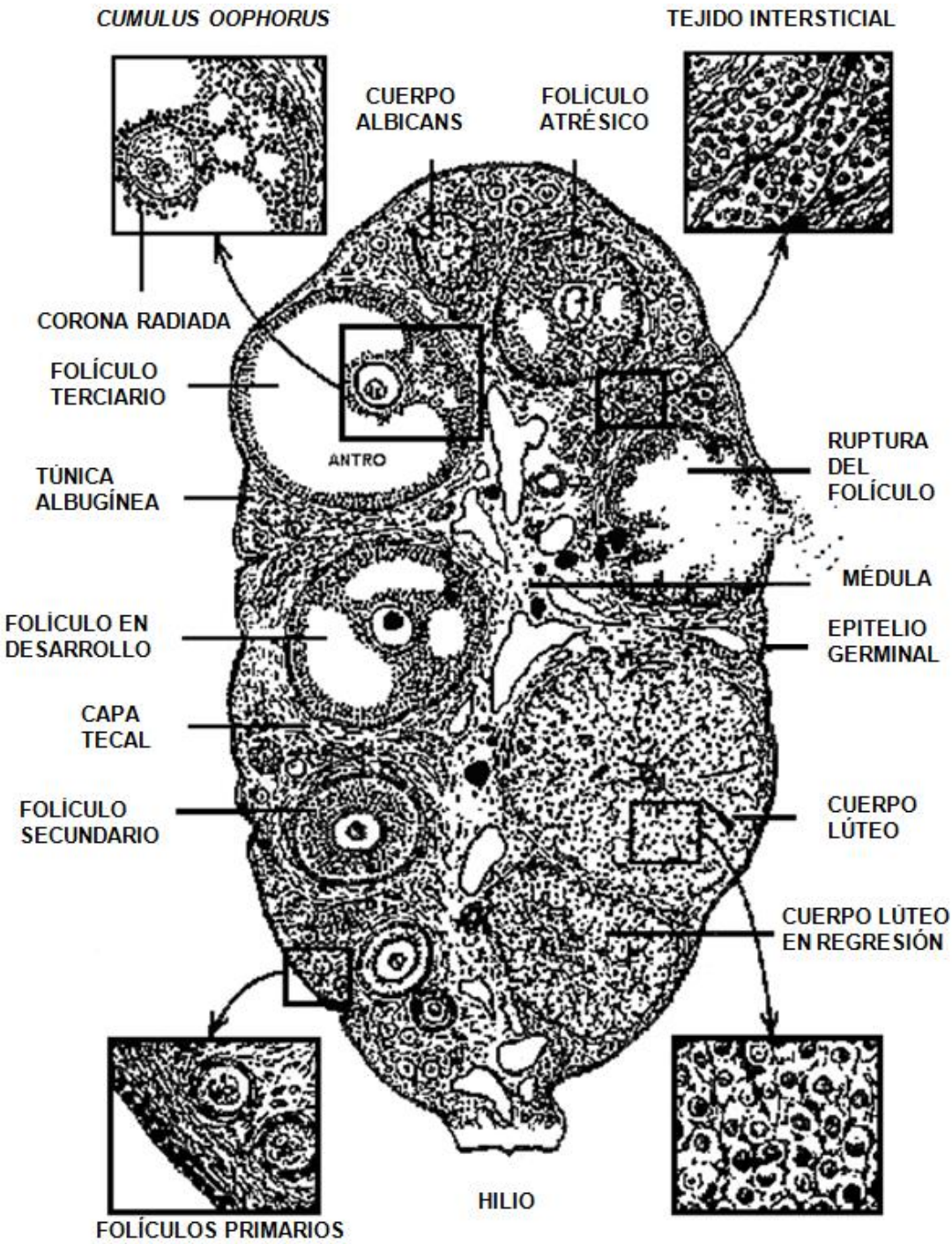


Figura 4. Esquema de la morfología del ovario de la rata durante el periodo de desarrollo folicular, formación del cuerpo lúteo y su regresión (Tomada de Yao y Bahr, 1999).

Compartimento folicular

Se encuentra formado por los folículos en diferentes estados de desarrollo.

Folículo primordial: está formado por un gran ovocito I esférico rodeado por una única capa de células planas, las cuales son precursoras de las células de la granulosa, y no presenta receptores a las gonadotropinas (Fawcet, 1995). Se encuentran generalmente en la periferia de la corteza y están separados unos de otros por el estroma y el tejido interticial (Hadley, 2000).

La transición de folículo primordial a folículo primario implica una serie de cambios en el ovocito, en las células foliculares y en las células del estroma adyacente (Fawcet, 1995; Hadley, 2000).

Folículo primario: El ovocito aumenta su tamaño y a su vez ocurren cambios en sus organelos. Las células foliculares gradualmente se transforman en una capa cúbica plana hasta formar dos o tres capas; las que se les denomina *células de la granulosa*. Esta capa de células se encuentra rodeada por una lámina basal excepcionalmente gruesa denominada *membrana basal*. El ovocito I y las células de la granulosa adyacentes, quedan separados por una estrecha hendidura en la que se proyectan microvellosidades y grandes prolongaciones desde ambos tipos celulares. En dicha hendidura se acumula material amorfo que se condensa gradualmente formando la *zona pelúcida*. Durante todo el desarrollo folicular posterior, el ovocito I y las células de la granulosa se comunican a través de uniones de fisura entre las prolongaciones que atraviesan la zona pelúcida (Fawcet, 1995; Yao y Bahr, 1999).

El folículo continúa creciendo hasta que las células de la granulosa, por división mitótica, formen de dos a seis capas; cabe mencionar que la proliferación celular es estimulada por la FSH y el estradiol (E_2) (Yao y Bahr, 1999). Las células de la granulosa, bajo la influencia hormonal, desarrollan receptores para FSH y activan la enzima *aromatasa*, que es esencial para la producción de las hormonas esteroides por parte de estas células (Fawcet, 1995; Yen y col., 2001).

Las células del estroma adyacente al folículo se agrupan más estrechamente alrededor del folículo y forman una capa de límite externa llamada teca folicular (Fawcet, 1995). El folículo en vías de diferenciación migra hacia la médula donde completa la adquisición del componente tecal (Yen y col., 2001).

Folículo secundario o antral: Este folículo tiene una membrana granulosa de más de seis capas de células y la capa tecal se diferencia en teca interna y teca externa (Yao y Bahr, 1999).

La teca interna presenta gran cantidad de capilares, terminaciones nerviosas (tanto colinérgicas como adrenérgicas, algunas directamente relacionadas con los capilares) y células epitelioides que más tarde adquieren características típicas de células secretoras de esteroides (Domínguez y col., 1991; Fawcet, 1995); esto es, abundante retículo endoplásmico liso y mitocondrias con crestas tubulares (Domínguez y col., 1991).

La teca externa está formada por fibras colágenas, células de tejido conectivo, sustancia fundamental y fibras musculares (Domínguez y col., 1991). Es por ello, que simultáneamente con el desarrollo de la teca, el folículo adquiere arteriolas que terminan en una red de capilares espirados adyacentes a la membrana basal y al mismo tiempo aparecen los vasos linfáticos (Yen y col., 2001).

A medida que se forman los capilares, las células tecointerticiales comienzan a diferenciarse con la adquisición de receptores a LH, prolactina

(PRL), la hormona adrenocorticotrópica, la noradrelanina, la GnRH y los estrógenos. Con ello, inicia la capacidad de biosíntesis de esteroides (Domínguez y col., 1991; Yen y col., 2001).

La gruesa capa de células de la granulosa se mantiene sin vascularización durante el desarrollo folicular y está alimentada por difusión procedente de los capilares de la teca interna (Fawcet, 1995).

En el folículo en crecimiento, las células teco-intersticiales ya diferenciadas sintetizan andrógenos, los que sirven de sustrato a las células de la granulosa en la síntesis de estrógenos (Domínguez y col., 1991; Fawcet, 1995).

Durante la formación del folículo antral, las células de la granulosa secretan un líquido, denominado líquido folicular, que se acumula entre ellas. Representa un trasudado del plasma sanguíneo, que proviene de los vasos sanguíneos de la teca y de productos de secreción de las células de la granulosa. Los lugares donde hay acumulación de este líquido entre las células de la granulosa se denominan *cuerpos de Call-Exner*, los cuales contienen factores de crecimiento, hormonas esteroides (P_4, andrógenos, estrógenos), proteicas (FSH, LH, inhibina, activina, relaxina, PRL, etc,), polipéptidos, gonadocrininas, noradrenalina, anticoagulantes, enzimas y electrolitos (Domínguez y col., 1991; Fawcet, 1995; Yao y Bahr, 1999; Yen y col., 2001).

A medida que el líquido folicular aumenta su volumen, los espacios que ocupan confluyen y forman una cavidad antral o "*antro*" (Fawcet, 1995; Yen y col., 2001).

Folículo preovulatorio: Al final del desarrollo del folículo, el ovocito se encuentra suspendido en el líquido folicular por medio de un tallo de células de la granulosa, el *cumulus oophorus,* que está rodeado por un anillo de células de la granulosa llamado *corona radiata* (Yao y Bahr, 1999). Todos estos elementos forman una vaina fibrosa, la que al disgregarse en un punto cercano

a la superficie del ovario forma un orificio por el cual saldrá el ovocito (Domínguez y col., 1991).

En la rata, durante la mayor parte del desarrollo del folículo, los receptores a FSH son constantes en número durante el ciclo estral, mientras que los receptores a LH aparecen en Diestro-1, aumentan en la tarde del Diestro-2 y alcanzan su máximo número antes del "pico preovulatorio de LH" y no a consecuencia de este (Domínguez y col., 1991). Después de la secreción preovulatoria de la LH, las células de la granulosa disminuyen su capacidad de síntesis de estrógenos y por tanto la concentración de estos en el licor folicular, pero adquieren receptores a LH y con ello aumenta la síntesis de P_4 (Domínguez y col., 1991; Fawcett, 1995). Cabe mencionar que en el folículo preovulatorio, las células de la teca pierden la capacidad de síntesis de andrógenos y secretan P_4 (Domínguez y col., 1991).

Una vez iniciado el crecimiento folicular, éste no se detiene y culmina con la atresia o con la ovulación. La mayoría de los folículos terminan en la atresia, proceso que puede presentarse en cualquier etapa del desarrollo folicular (Domínguez y col., 1991).

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 tecales (Domínguez y col., 1991). La salida del óvulo y la elevación en la concentración de la LH inician la transformación de las células de la granulosa del folículo en la células luteínicas del cuerpo lúteo (Fawcet, 1995).

Compartimento luteal

Después de la ovulación y la eliminación del líquido folicular, las paredes del folículo se colapsan y presentan profundos pliegues. Se fragmenta la lámina basal, que anteriormente separaba la capa de las células de la granulosa de la

teca interna, y se produce una hemorragia procedente de los capilares de la teca interna y se forma un coágulo central, denominado “cuerpo hemorrágico”. A las células de la granulosa y de la teca interna ahora se les denomina células luteales (del tipo I y II, respectivamente), las cuales comienzan a dividirse e invaden la vieja cavidad antral, que se llena de inclusiones lipídicas que le dan un aspecto amarillento; este proceso recibe el nombre de “luteinización” y la estructura formada recibe el nombre de cuerpo lúteo o cuerpo amarillo; que es un órgano endócrino temporal cuando no hay gestación (Fawcett, 1995; McDonald, 1983; Yao y Bahr, 1999).

Las células lúteas del tipo I son pequeñas e irregulares, contienen ribosomas unidos al retículo endoplásmico y no presentan gránulos de secreción; y las células lúteas de tipo II son grandes y poliédricas, contienen todos los elementos de las células secretoras de esteroides (mitocondrias, retículo endoplásmico liso y gránulos de secreción); ya que secretan grandes cantidades de hormona P_4 y menos estrógenos (Guyton y Hall, 2001; Tresguerres, 1999). Este proceso es estimulado por la LH. En algunos roedores, la PRL y la LH participan en la regulación de la función luteal y si no ocurre la preñez, el cuerpo lúteo degenera (Tresguerres, 1999; Yao y Bahr, 1999).

Compartimento Intersticial

También llamado glándula intersticial, se localiza en el tejido laxo, tanto en la parte interna de la corteza como en la médula, y es la unidad productora de andrógenos (Yao y Bahr, 1999; Yen y col., 2000).

Las células intersticiales por sus características y posición en el ovario se clasifican en células primarias, tecales, secundarias e hiliares. Las células intersticiales *primarias* se encuentran en el ovario fetal, las tecales proceden del estroma y migran hacia la membrana basal del folículo donde se disponen en bandas para formar, tras su diferenciación, las tecas interna y externa. Las *secundarias* se forman por las células de la teca interna de los folículos antrales que presentaron receptores a LH y que experimentan el proceso de

atresia, mantienen la actividad esteroidogénica y son inervadas por terminales adrenérgicas. Finalmente las células interticiales hiliares, como su nombre lo dice, se localizan en el hilio y son muy similares a las células del Leydig del testículo (Domínguez y col., 1991; Tresguerres, 1999; Yen y col., 2000).

B. Esteroidogénesis ovárica

La biosíntesis de estrógenos requiere la participación de las células tecales, las células de la granulosa y de las gonadotropinas, FSH y LH. La "*teoría de la doble célula doble hormona*" postula que los andrógenos dependientes de la LH derivados de las células tecales (principalmente androstenediona y en menor grado testosterona), atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa para su aromatización, inducida por la FSH, y posterior transformación a E_2 (Fig. 5) (Domínguez y col., 1991; Greespan y Strewler, 1998; Hourvitz y Adashi, 2003).

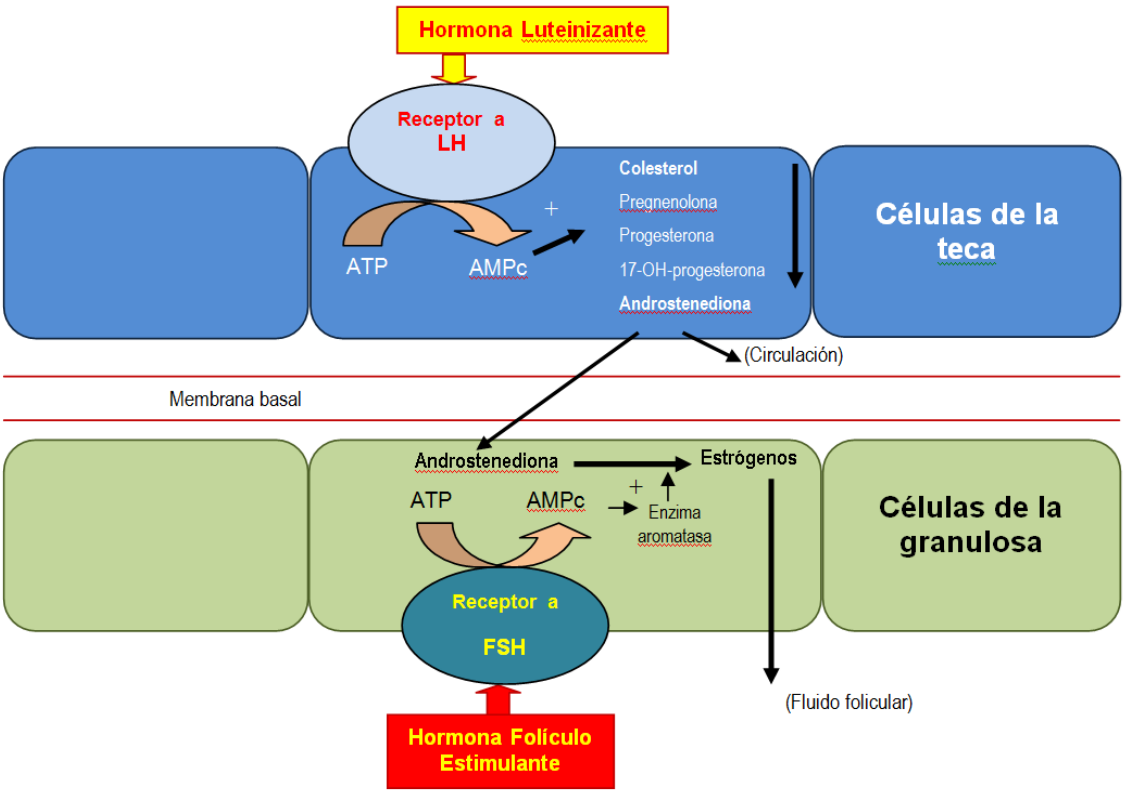


Figura 5. Teoría de la doble célula-doble hormona en la esteroidogénesis folicular. La LH se une a receptores de membrana específicos sobre las células de la teca interna y estimula la producción de AMPc y la conversión de colesterol a andrógenos, principalmente androstenediona y testosterona. Estos andrógenos se difunden a la circulación y a través de la membrana basal hasta llegar al interior 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 el cual permite que se incremente la actividad de la enzima aromatasa y la conversión de andrógenos a estrógenos (Tomada de Yao y Bahr, 1999).

Uno de los pasos importantes para que las gonadotropinas puedan llevar a cabo sus acciones sobre las células blanco es la formación del complejo hormona-receptor (Larrea y col., 1991). Este complejo hormona-receptor actúa sobre el sistema de la adenilato-ciclasa, que resulta en la conversión de adenosintrifosfato intracelular (ATP) en adenosinmonofosfato cíclico (AMPc) (Larrea y col., 1991; Hourvitz y Adashi, 2003). La generación y el incremento de las concentraciones intra-celulares de AMPc estimulan la síntesis y la actividad de la enzima aromatasa ($P450_{arom}$); lo que explica que los efectos de la FSH y la LH sobre la síntesis de sus respectivos esteroides sean mimetizados por el AMPc (Domínguez y col., 1991).

La LH en las células tecointerticiales estimula selectivamente el complejo enzimático que separa la cadena colateral de colesterol y las actividades de la 17 α-hidroxilasa y la C17-20desmolasa, paso limitante en la síntesis de P_4 y por lo tanto de andrógenos (principalmente androstenediona y en menor grado testosterona). Cierta cantidad de andrógenos penetra al líquido antral, mientras que el resto es incorporado al citoplasma de las células de la granulosa para su aromatización y posterior transformación a E_2 (Domínguez y col., 1991; Greespan y Strewler, 1998). La LH también estimula la actividad de la enzima aromatasa en aquellas células de la granulosa que fueron previamente estimuladas por la FSH (Domínguez y col., 1991).

La síntesis de P_4 es llevada a cabo por las células de la teca, como ya se ha mencionado anteriormente, sin embargo, las células de la granulosa de los folículos antrales medianos y preovulatorios también pueden sintetizarla, aunque esto depende del momento del ciclo estral en que la hormona es estudiada (Domínguez y col., 1991).

En la rata, las células de la granulosa carecen de la enzima P450c17 (17α-hidroxilasa y 17,20-liasa), y por tanto, no son capaces de sintetizar de modo directo andrógenos o estrógenos a partir de precursores C_{21}; es decir, pregnenolona o P_4. Por ello, la producción de E_2 por parte de las células de la granulosa depende de la disponibilidad de precursores androgénicos $C_{19,}$ (testosterona y androstenediona), que pueden aromatizarse a estrógenos

(Greespan y Strewler, 1998). Cabe recordar que las células de la granulosa dependen de la androstenediona que proviene de las células de la teca como sustrato debido a que las células de la granulosa no tienen una conexión directa con la circulación (Larsen y col., 2004).

A partir de las interacciones anteriormente mencionadas (el complejo hormona-receptor que induce el aumento de AMPc), el complejo proceso de aromatización implica la pérdida del grupo metilo C_{19} y la eliminación estero específica de los átomos de hidrógeno 10 y 20 del anillo A del precursor androgénico. Se requiere de un total de tres reacciones de hidroxilación por cada molécula de estrógeno formada (Hourvitz y Adashi, 2003; Yen y col., 2001).

C. Ciclo estral

La actividad hormonal cíclica del ovario durante el crecimiento folicular, la ovulación, formación del cuerpo lúteo y su regresión se reflejan en todos los órganos que presentan receptores a las hormonas ováricas. Esta actividad cíclica recibe el nombre de “ciclo ovárico” y los cambios cíclicos celulares que se producen en la vagina y en la receptibilidad de las hembras reciben el nombre de ciclo estral (Kilen y Shwartz, 1999; Schwartz, 2000).

El ciclo estral es una cascada de eventos conductuales y hormonales que son progresivos, sincronizados y repetitivos que depende de la liberación cíclica de las gonadotropinas y las hormonas ováricas (Domínguez, 1993; Kilen y Schwartz, 1999).

El ciclo estral de la rata se encuentra bajo la influencia de factores exteroceptivos como la luz, la temperatura y las sustancias químicas que se perciben por el sistema nervioso central (SNC) (Kilen y Shwartz, 1999; Tresguerres, 1999). El ciclo estral se divide en cuatro etapas con base en los cambios que se producen en el epitelio vaginal: Estro, Diestro-1, Diestro-2 y Proestro (Freeman, 1994).

En la etapa del estro, el frotis vaginal se caracteriza por numerosas células escamosas y cornificadas. Se presenta la ovulación y los ovocitos se encuentran en el oviducto. El folículo postovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo. En este día se alcanza el umbral de los estrógenos que al actuar sobre el hipotálamo estimulan la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés). Esta etapa dura aproximadamente de 25 a 27 horas (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999; Tresguerres, 1999).

En la etapa del Diestro-1, la secreción de P_4 por el cuerpo lúteo y la de E_2 por los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas. Su duración es de seis a ocho horas (Tresguerres, 1999).

Durante el Diestro-2 tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo, siempre y cuando no haya habido cópula, que en algunos roedores estimula la liberación de PRL. Mientras tanto, la secreción de estradiol por los folículos en crecimiento sigue aumentando; su duración es de 55 a 57 horas (Freeman, 1994; Tresguerres, 1999). En el Diestro-1 y en el Diestro-2 el frotis vaginal presenta gran cantidad de leucocitos y escasas células epiteliales nucleadas (Kilen y Schwartz, 1999).

En el Proestro, la hembra permite el acercamiento, la monta por el macho y la cópula. Los folículos se han desarrollado hasta alcanzar el estado de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de E_2 que ejercen un efecto estimulante sobre la secreción de gonadotropinas. La LH estimula la ovulación y la luteinización del folículo postovulatorio. El útero, por acción del E_2, se hace extremadamente contráctil y en la vagina predominan células epiteliales nucleadas. Esta etapa dura de 12 a 14 horas (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999; Tresguerres, 1999).

Freeman (1994) mostró el perfil de las concentraciones plasmáticas de P_4, E_2, PRL y gonadotropinas durante los cuatro días del ciclo estral de la rata (Fig. 6). La concentración de E_2 aumenta de manera gradual desde la tarde del día del estro hasta la mañana del día del proestro, donde se observa el “pico

preovulatorio de estradiol" que antecede al "pico preovulatorio de las gonadotropinas". A partir de este momento, la concentración de la hormona disminuye hasta la tarde del estro. El promedio de la concentración plasmática periférica de E_2 refleja el modelo encontrado en la vena ovárica.

La concentración de P_4 incrementa en la tarde del Diestro-1 hasta alcanzar su máxima concentración en la madrugada del Diestro-2; momento en el que disminuye. Cuando se observa que la concentración de E_2 disminuye en la tarde del proestro, la de P_4 nuevamente incrementa "segundo incremento en la concentración de la hormona", todavía más que en la madrugada del Diestro-2; el cual proviene de las células de la granulosa del folículo preovulatorio. La concentración sérica de PRL se mantiene baja durante los días del diestro y la mañana del proestro, aumenta en la tarde del proestro y disminuye en las horas de la madrugada del estro (Fig. 6) (Feeman, 1994).

Las concentraciones séricas de LH se mantienen basales desde la mañana del estro, poco después de la ovulación, hasta el mediodía del proestro. A partir de este momento, incrementa bruscamente su concentración, la cual induce la ruptura folicular y la ovulación. Las concentraciones séricas de FSH, son similares a las de la LH, ya que a la media tarde del proestro aumenta su concentración simultáneamente con la de la LH, excepto que durante la madrugada del estro se presenta el segundo aumento en la concentración de esta hormona (Fig. 6) (Freeman, 1994).

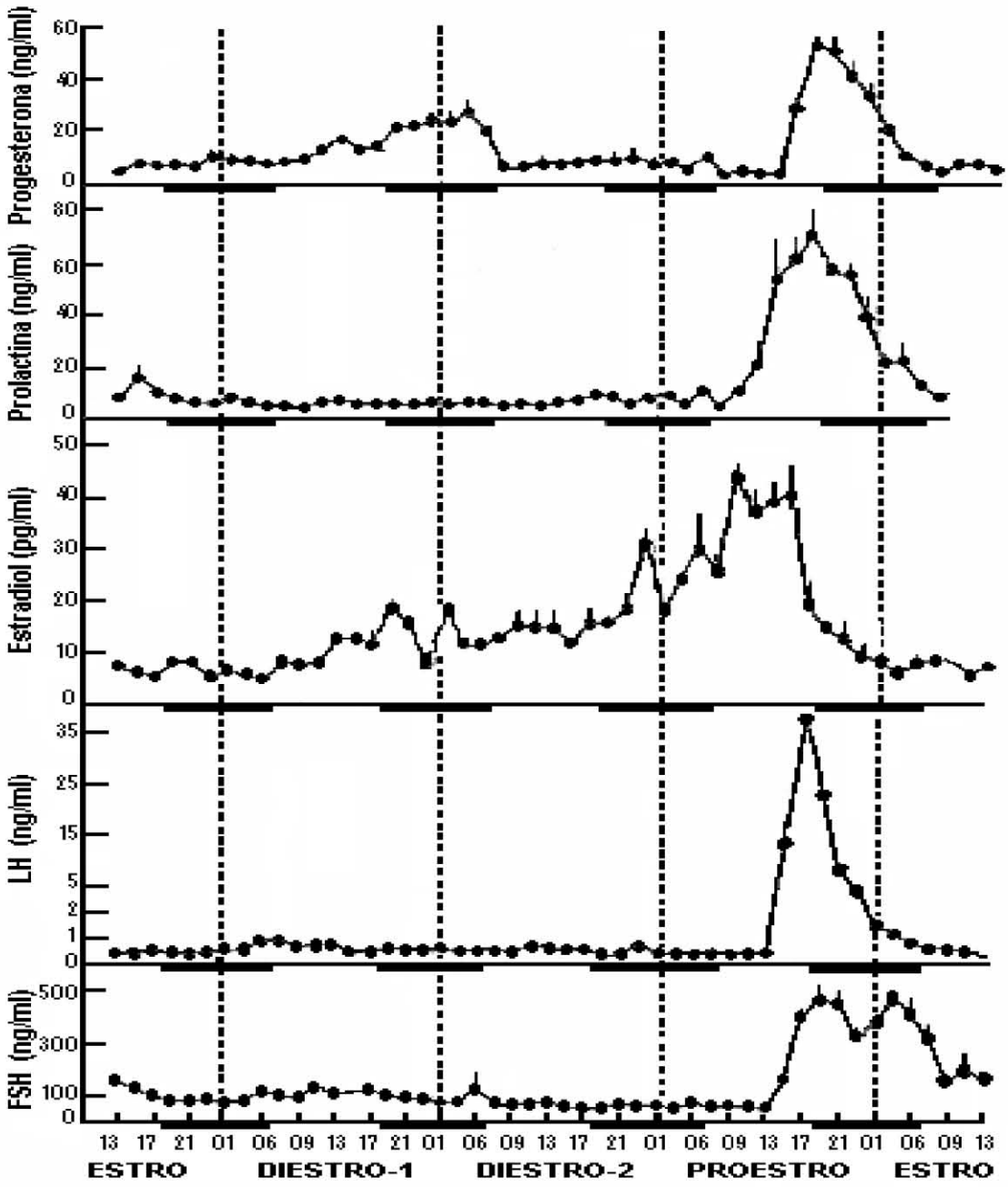


Figura 6. Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH y FSH durante los cuatro días del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el periodo de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 - 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

D. Regulación endocrina de la función ovárica

La síntesis de esteroides ováricos está regulada por las señales químicas que provienen del hipotálamo y la hipófisis (Fawcett, 1995; Ganong, 2004; Kilen y Schwartz, 1999). El hipotálamo es el lugar de control e integración de todas las señales (nerviosas y humorales) procedentes del SNC, hipófisis, ovario y útero (Tresguerres, 1999). Estas señales se procesan y se transmiten al hipotálamo, en donde se integran y posteriormente se traducen a una señal de secreción pulsátil de la GnRH, en las terminales nerviosas de la eminencia media. Este decapéptido (Glp-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH2 (MW 1182.4)) viaja a través de los vasos portales hipotálamo-hipofisiarios hasta llegar a las células gonadotropas de la adenohipófisis (Freeman, 1994; Kilen y Shwartz, 1999; Tresguerres, 1999). La señal de salida de la hipófisis es la síntesis y secreción de las gonadotropinas que se liberan en el torrente sanguíneo para llegar al ovario donde inducen la foliculogénesis ovárica, la esteroidogénesis, la ovulación, y formación del cuerpo lúteo (Fig. 7) (Fawcett, 1995; Kilen y Shwartz, 1999; Tresguerres, 1999).

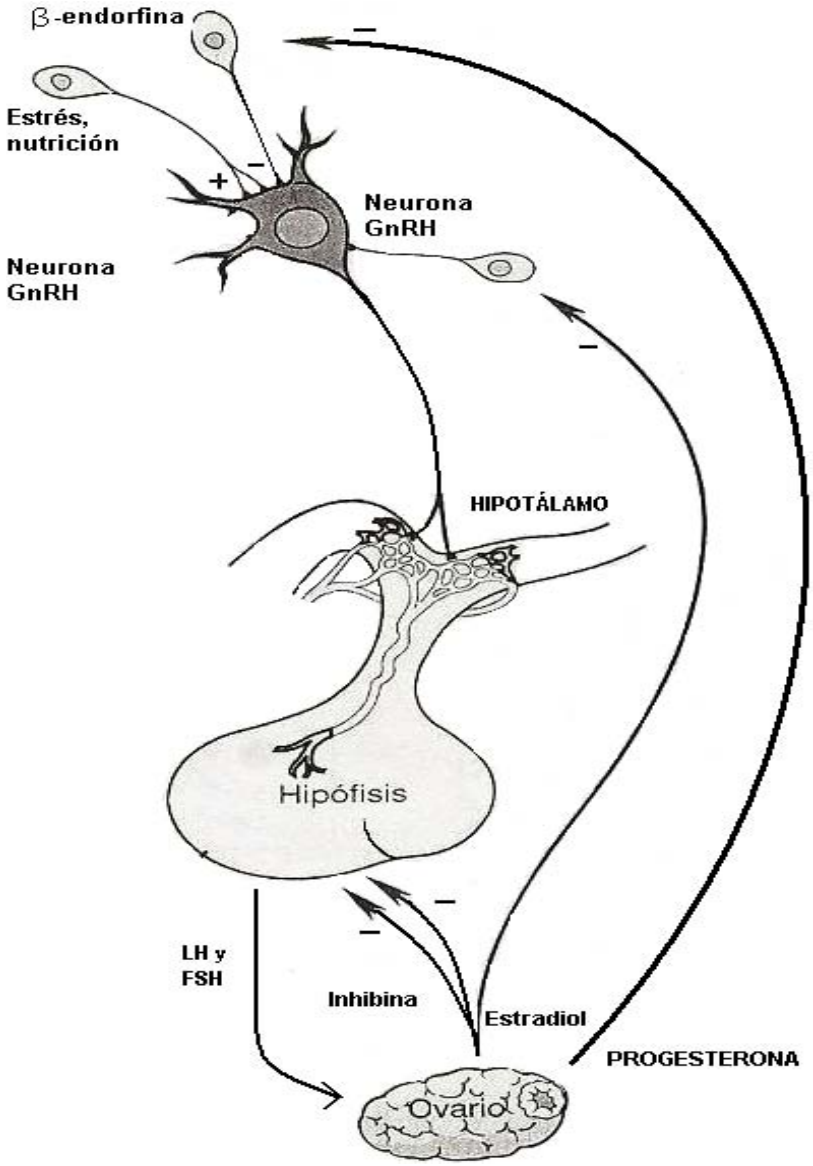


Figura 7. Esquema del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, en el que se muestra el sistema nervioso que regulan la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y la retroalimentación de las hormonas esteroides gonadales en el hipotálamo y la hipófisis. FSH: hormona estimulante del folículo; LH: hormona luteinizante (Tomada y modificada de de Larsen y col., 2004).

E. Asimetrías morfofuncionales de los ovarios

Existen evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. El término asimetría funcional hace referencia a las diferentes respuestas que presentan el órgano derecho y el izquierdo ante el mismo estímulo. Dichas diferencias pueden observarse en humanos y animales silvestres y se ponen de manifiesto en condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a algún tipo de experimento (Domínguez y col., 2003).

La existencia de asimetrías en los ovarios se conoce a partir de la observación de que en las aves sólo el ovario y el oviducto izquierdo son funcionales, mientras que, la gónada derecha se reduce a una capa de tejido localizado por debajo de la vena cava inferior. Sin embargo, se ha mostrado que la extirpación del ovario funcional resulta en la activación de la gónada derecha (Domínguez y col., 2003; 2004; Gerendai y Halász, 1997).

Existen datos que muestran que 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).

Marut y Hodgen, en 1982, estudiaron el grado de asimetría de la secreción de esteroides ováricos a inicios, mediados y finales de la fase lútea del ciclo menstrual en monos rhesus y macacos cynomolus. Observaron que el ovario que representa el cuerpo lúteo contribuye prácticamente con toda la P_4 que se encuentra en la circulación periférica en la fase lútea, 2) el ovario ipsilateral secreta más 17-hidroxiprogesterona que el ovario contralateral, a pesar de que ambos ovarios sean activos en la fase lútea, y 3) la secreción de estradiol fue asimétrica sólo a inicios y mediados de la fase lútea y se restableció la simetría a finales de la fase.

La extirpación de un ovario (conocida como ovariectomía unilateral (Ovx)) se utiliza frecuentemente como herramienta experimental para analizar la existencia de asimetría entre los ovarios.

Se ha observado que en ratas cíclicas, en el día del estro, el ovario izquierdo libera en promedio seis ovocitos, mientras que el ovario derecho solo libera cuatro (Domínguez y col, 2003).

Barco y colaboradores (2003) observaron que la Ovx izquierda (ratas con el ovario derecho *in situ*) realizada a las 13:00 h del día del estro resultó en

incremento en la concentración sérica de testosterona evaluada una hora después de la cirugía, sin que se observen cambios en la concentración sérica de P_4 o E_2; mientras que, la Ovx derecha (ratas con el ovario izquierdo *in situ*) no resultó en cambios en la concentración sérica de las hormonas.

Cuando las concentraciones séricas de las hormonas esteroides se evalúan 24 horas después de que se realizaron las cirugías, se observó que en las ratas con el ovario derecho *in situ* (ratas con Ovx izquierda) se presentó reducción de la 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 Ovx derecha) resultó en disminución de la concentración sérica de P_4, sin cambios en la de testosterona o E_2 (Barco y col., 2003).

Palafox (2007) realizó en ratas adultas Ovx a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y una hora después cuantificó la concentración sérica de E_2. Observó que la Ovx izquierda en el día del Proestro (permaneció el ovario derecho *in situ)* resultó en menor concentración sérica de E_2 respecto a la de los animales testigo. En aquellos animales que permaneció el ovario izquierdo *in situ,* el resultado dependió del día del ciclo estral en el que se llevó a cabo 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_2, mientras que en el día del proestro resultó en mayor concentración de la hormona. Por tanto, la autora sugirió que la secreción de E_2 a lo largo del ciclo estral en el animal con Ovx depende del ovario *in situ*.

Los resultados también están relacionados con el tiempo que se deja transcurrir entre la operación y la cirugía, ya que se ha mostrado que en ratas con Ovx izquierda en el día del diestro-1 aumentó la concentración sérica de P_4 cuando han transcurrido 24 horas entre la cirugía y la cuantificación de la hormona. A diferencia de ello, la Ovx derecha no resultó en cambios en la concentración de la hormona. Por tanto, los autores sugieren que en el diestro-1 la secreción de P_4 es asimétrica y es el ovario derecho el que aporta a la circulación la hormona (Orozco y col., 2005; Serrano, 2009).

Rodríguez (2006) llevó a cabo el análisis de la contribución de cada gónada en la concentración sérica de la testosterona y mostró que en las ratas con Ovx 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 hormona. A diferencia de ello, la Ovx 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. Con base en sus resultados, el autor sugirió que en el día del proestro de la rata, el ovario izquierdo secreta más testosterona que el ovario derecho (respuesta asimétrica).

III. GLÁNDULAS ADRENALES

A. Estructura

Son un par de glándulas piramidales localizadas en el retroperitoneo, inmediatamente por encima del riñón (Gardner y Shoback, 2008; Levy y col., 2006; Tresguerres, 1999). Poseen dos tipos distintos de tejido desde el punto de vista embriológico y funcional: la corteza procede del mesodermo y presenta un color amarillo y la médula que constituye el 20% de la glándula deriva del neuroectodermo de los ganglios simpáticos y tiene coloración marrón. Ambas están recubiertas por una cápsula de tejido conectivo (Fig. 8). (Guyton, 1997; Horrobin, 1976; Levy y col., 2006; McDonald, 1983; Tresguerres, 1999).

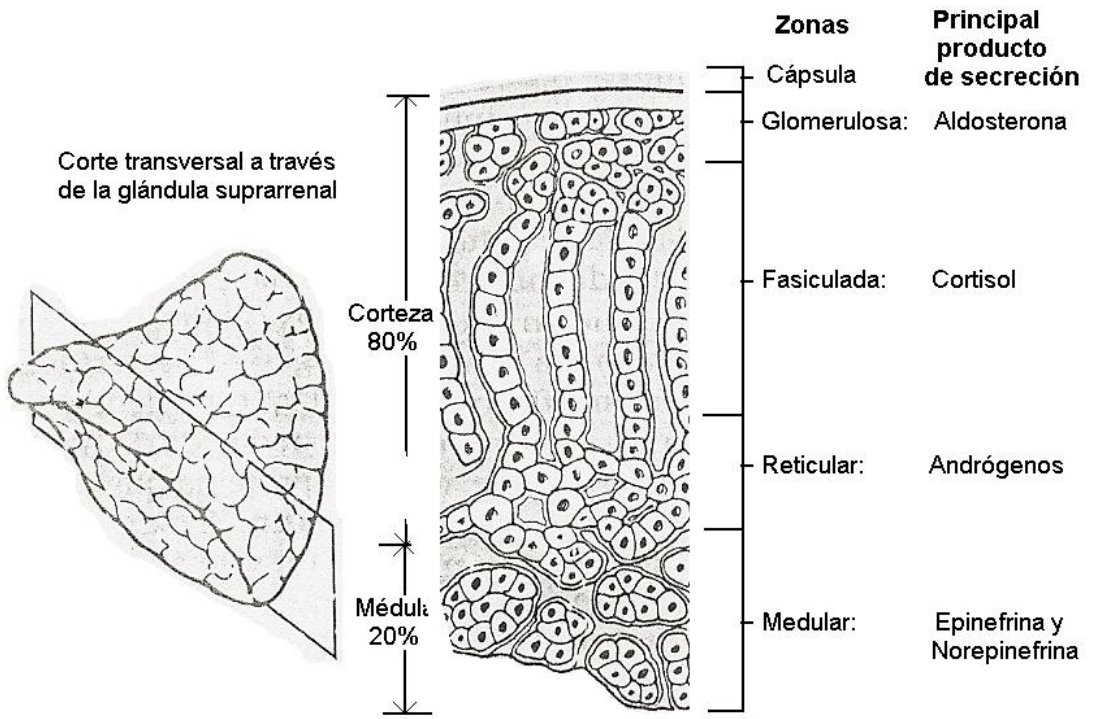


Figura 8. Estructura y principales productos de secreción de la glándula adrenal (Tomada de Levy y col., 2006).

B. Corteza

La corteza es esencial para la vida ya que interviene en muchos procesos fisiológicos, es la fuente de hormonas corticoides y está formada por láminas de células separadas por vasos sinusoides; por la disposición de estos dos elementos estructurales se reconocen tres zonas distintas (Guyton, 1997; Horrobin, 1976; Levy y col., 2006; McDonald, 1983):

a) Zona glomerular (externa y delgada): sólo tiene un grosor de una pocas células pequeñas con escasos lípidos y numerosas mitocondrias elongadas (Berne y Levy, 1987; Horrobin, 1976; Levy y col., 2006). Secreta mineralocorticoides que contribuyen a controlar la homeostasis electrolítica y tiene la función de mantener el equilibrio osmótico en la orina e impedir la acidosis sérica (Ross y col., 2005). La aldosterona produce aproximadamente el 90% de la actividad mineralocorticoide y su secreción depende fundamentalmente del sistema renina-

angiotensina y de las concentraciones plasmáticas de potasio (Gardner y Shoback, 2008; Guyton, 1997; Tresguerres, 1999).

b) Zona fascicular (o media): es la zona más ancha y espesa de la corteza, formada por abundantes y largos cordones de células cilíndricas cargadas de lípidos (Levy y col., 2006; Horrobin, 1976). Secreta principalmente glucocorticoides que poseen acciones fundamentales sobre el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos y en la adaptación al estrés ya que confieren resistencia al estrés, suprimen la respuesta inflamatoria y algunas reacciones alérgicas (Guyton, 1997; Levy y col., 2006; Ross y col., 2005). El cortisol produce cerca del 95% de la actividad glucocorticoide (Guyton, 1997).

c) Zona reticular (o interna): rodea a la médula, contiene redes de pequeñas células interconectadas con escasos lípidos y que adoptan aquí una disposición alveolar en lugar de laminar (Gardner y Shoback, 2008; Horrobin, 1976; Levy y col., 2006).

La corteza adrenal está muy vascularizada y recibe su irrigación arterial principal a partir de ramas de las arterias frénica inferior, renales y aorta, las que forman un plexo arterial (capilares) por debajo de la cápsula y después penetran al sistema sinusoidal que entra a la corteza y médula. El drenaje venoso se efectúa a través de la médula. La vena adrenal derecha drena directamente hacia la porción posterior de la vena cava; la vena adrenal izquierda entra a la vena renal izquierda (Gardner y Shoback, 2008; Levy y col., 2006).

C. Médula

La médula es la porción central de la glándula y no presenta divisiones. Está compuesta por un parénquima de células grandes y pálidas, de aspecto epitelial (llamadas células cromafines), tejido conectivo, capilares sinusoides abundantes y nervios (Ross y col., 2005). Sus principales secreciones son las catecolaminas: adrenalina y noradrenalina (Ganong, 1994).

D. Regulación endocrina de la función adrenal

Las funciones de las adrenales están reguladas por las señales químicas que provienen del hipotálamo y la hipófisis (Fig. 9). En el hipotálamo se sintetiza la hormona liberadora de la corticotropina (CRH, por sus siglas en inglés), neuropéptido de 41 aminoácidos, que es secretada en el plexo capilar del sistema portal hipotalámico-hipofisiario para llegar a la parte distal de la adenohipófisis. Allí, se une a los receptores de la membrana de los corticotropos para estimular la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, por sus siglas en inglés) (Arimura, 2000; Berne y Levy, 1995). Este péptido de 39 aminoácidos (Levy y col., 2006), es liberado en el torrente sanguíneo y llega a los receptores de la membrana de las células de cada una de las zonas de la corteza adrenal para estimular la inmediata captación de colesterol por la célula para propiciar la secreción de sus respectivas hormonas (Arimura, 2000; Hadley, 2000; Toth y col., 1997).

La CRH es un neuropéptido hipotalámico de 41 aminoácidos (Ser-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-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH_2), que es sintetizado por el grupo de neuronas localizadas en el núcleo paraventricular (PVN, por sus siglas en inglés); principalmente en el grupo de neuronas del sistema neurosecretorio parvicelular. Las fibras del PVN que contienen CRH se proyectan a la eminencia media, formando una vía media, intermedia y lateral. También se han localizado cuerpos celulares que contienen CRH en otras áreas del hipotálamo tales como los núcleos supraóptico, medial, preóptico y periventricular y en regiones extrahipotalámicas tales como en los núcleos de la estria terminalis, comisura anterior, núcleo del rafe, locus ceroleus, y complejo dorsal vagal, entre otras regiones (Arimura, 2000).

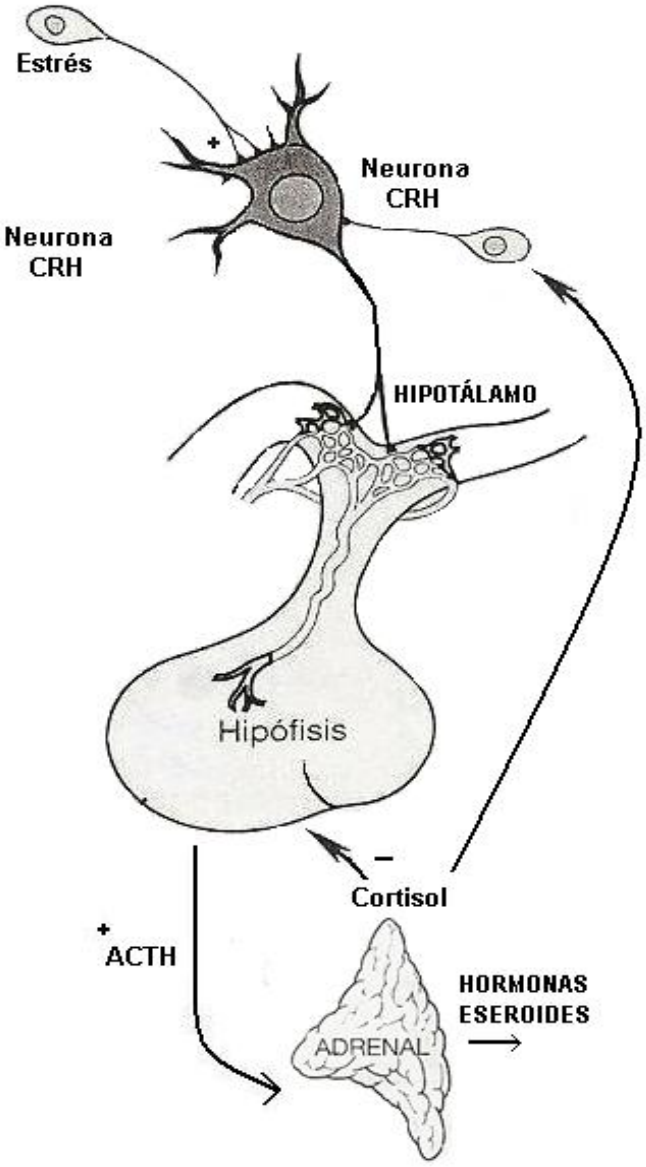


Figura 9. Esquema del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. ACTH: Corticotropina (hormona corticotrópica); CRH: hormona liberadora de la corticotropina (Tomada y modificada de de Larsen y col., 2004).

La CRH en los corticotropos activa la enzima adenilato ciclasa que incrementa la concentración de AMPc y el flujo transmenbranal de Ca^{2+}, para estimular la síntesis de ACTH. Asimismo, la ACTH activa a la adenilato ciclasa que, a su vez, induce la formación de AMPc en el citoplasma celular. El AMPc activa la enzima *proteincinasa A* intracelular, la cual produce la conversión de colesterol en pregnenolona; de esta forma la ACTH es causante de la formación de las hormonas corticosuprarrenales, tales como el cortisol (Fig. 10). Los corticosteroides ejercen un mecanismo de retroalimentación inhibitoria sobre el hipotálamo y la hipófisis (Arimura, 2000; Levy y col., 2006; Gardner y Shoback, 2008; Guyton, 1997; Tresquerres, 1999).

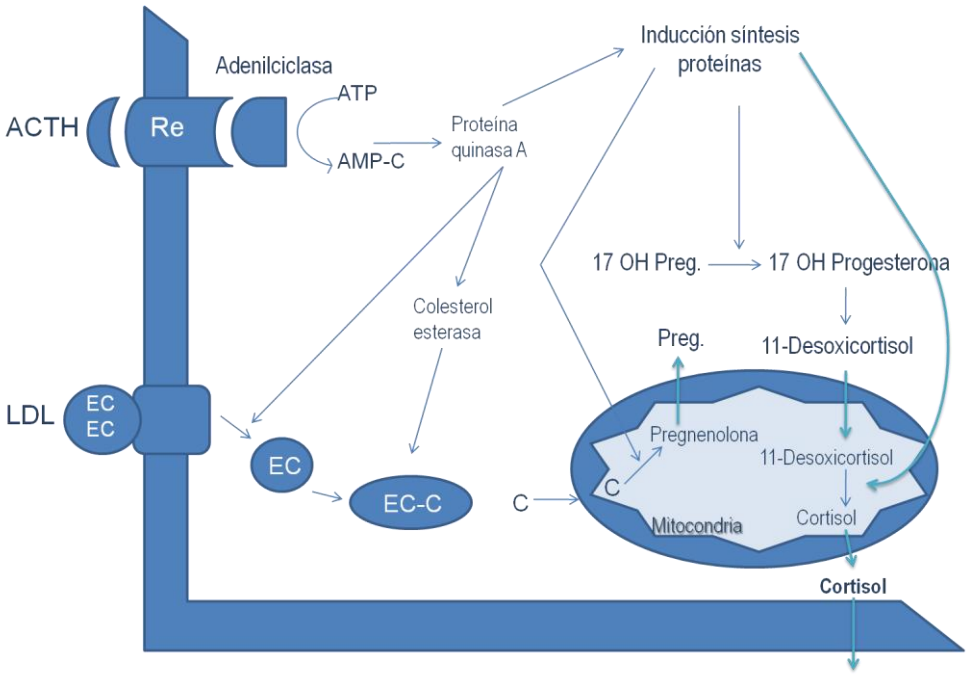


Figura 10. Acciones de la ACTH sobre la biosíntesis adrenal. La unión de la ACTH al receptor (RE) activa el sistema adenilciclasa lo que produce un aumento de AMPc. Este a su vez activa la proteína quinasa A, que cataliza la fosforilación de proteínas que transforman los ésteres de colesterol (EC) en colesterol libre (E) (Tomada de Tresguerres, 1999).

E. Asimetrías morfológicas y funcionales de las adrenales

Como se ha mencionado antes, existen evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría y las adrenales no son la excepción.

Del Paine y Brush (1990) mostraron que la adrenalectomía (Adx) unilateral en ratas evaluada 14 días después de la cirugía, produjo crecimiento compensatorio significativo en la glándula contralateral, y que dicho crecimiento fue el resultado del aumento en el tamaño absoluto de la zona fasciculada y la zona reticular y disminución del tamaño absoluto de la zona glomerular de la glándula.

Gerendai y Halász, (1997) evidenciaron la existencia de asimetría entre las glándulas adrenales; en humanos, la adrenal izquierda es ligeramente más grande en volumen que la derecha y en la rata, la glándula izquierda pesa más que la derecha.

En el humano, los tumores adrenales causados por el hiperaldosteronismo primario ocurren con, dos o tres veces, más probabilidad en la adrenal izquierda que en la derecha, y sin embargo, los carcinomas causados por el síndrome de Cushing son encontrados más frecuentemente en la adrenal derecha (Gerendai y Halász, 1997).

Barco y colaboradores (en 2003) y Meléndez (en 2005) mostraron que la concentración sérica de P_4 disminuye una hora después de extirpar ambas adrenales (Adx bilateral) en cualquiera de los días del ciclo estral de la rata, lo que conlleva a plantear que las glándulas contribuyen con concentraciones de P_4 a la circulación en todos los días del ciclo.

Meléndez (en 2005), realizó Adx unilateral a ratas hembra a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y después de una hora (14:00 h) observó que en los días del diestro, la adrenal izquierda aportó las mismas concentraciones de P_4 a la circulación que la adrenal derecha. En contraste, en el día del proestro se presentó asimetría en dicha respuesta, ya que la adrenal izquierda contribuyó con más concentraciones de P_4 a la circulación que la adrenal derecha.

Serrano (2009) mostró que la Adx unilateral realizada en el día del diestro-1 resultó en mayor concentración de P_4, en animales que fueron sacrificados 24 horas después de la cirugía (etapa de diestro-2), mientras que la Adx del lado izquierdo o derecho realizada en el día del diestro-2 resultó en mayor o menor concentración del esteroide respectivamente.

IV. RELACIONES FUNCIONALES ENTRE LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES

A inicios de los años 70´s, Feder y colaboradores mostraron que el incremento gradual en la concentración plasmática de P_4 que se observa antes del "período crítico" de la secreción de la LH preovulatoria es de origen adrenal y participa modulando de manera estimulante dicha secreción y por tanto, la ovulación. Esto se basa en los resultados obtenidos en ratas hembra a las que se les inhibió la actividad adrenal por la administración de sulfato de dexametasona en el día del proestro, lo que resultó en el bloqueo de la ovulación; que además podía ser revertido por la administración de P_4 o ACTH. Estos efectos no fueron observados cuando la administración de ACTH se realizó en el día del metaestro o en los animales que fueron adrenalectomizados en el metaestro o diestro, ya que sólo ovularon el 50% de ellos en el momento esperado. Con base en estos resultados, los autores sugirieron que podría haber una relación funcional entre las adrenales y los ovarios, lo que podría variar a lo largo del ciclo estral.

Jacobs y Peppler (1980) mostraron que la Adx bilateral en el día del metaestro de la rata resultó en la disminución del número de ovocitos liberados; cuantificados 30 días después de la intervención quirúrgica. Asimismo, observaron que en animales con Ovx unilateral, la Adx bilateral resultó en ovulación compensadora por parte del ovario *in situ*; por lo que los autores plantearon que las adrenales tienen un papel de tipo estimulante sobre la liberación de los ovocitos por parte de los ovarios.

Mahesh y Brann, en 1992, administraron ACTH a ratas inmaduras ovariectomizadas y tratadas con estrógenos y observaron, después de seis horas, que aumentó la secreción de gonadotropinas. Con estos resultados los autores propusieron que bajo el estímulo adecuado las adrenales podían inducir la secreción de gonadotropinas.

En el 2003, Barco y colaboradores publicaron que en ratas hembra adultas la Adx bilateral en el día del estro evaluada después de una hora, resultó en

disminución de la concentración sérica de P_4, pero en aumento de la concentración sérica de testosterona y la de E_2. En ratas con Ovx izquierda (ovario derecho in situ), la Adx bilateral resultó en disminución de la concentración sérica de P_4 y testosterona. En contraste, en ratas con Ovx derecha (ovario izquierdo in situ), la Adx bilateral resultó en disminución de la concentración sérica de P_4 y aumento en la concentración sérica de testosterona. En los animales con Ovx unilateral, la Adx bilateral no alteró las concentraciones séricas de E_2.

Meléndez (2005) sugirió que los ovarios regulan la secreción de P_4 por parte de las adrenales ya que la falta de ambos ovarios en Diestro-1 resultó en disminución de la concentración de la hormona, en Diestro-2 no tuvo efectos y en proestro la aumenta, de tal forma que en el animal intacto (con ambos ovarios y adrenales *in situ*) los ovarios actuarían de forma estimulante en diestro-1 e inhibitoria en proestro.

La extirpación de la adrenal izquierda (animales con adrenal derecha *in situ*), realizada en el Diestro-1 resultó una hora después, 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 (Rodríguez, 2005).

Flores-Ocampo (2006) también mostró que la Adx unilateral en el día del proestro, después de 24 horas de la cirugía, se tradujo en disminución de la concentración sérica de P_4 y la de E_2, pero no alteró la tasa de animales ovulantes o el número de ovocitos liberados por animal ovulante. En contraste con lo mencionado, en animales con Adx bilateral y Ovx unilateral en el día del proestro, transcurridas 24 horas después del tratamiento quirúrgico, se observó disminución de la concentración sérica de P_4 y E_2, lo que se acompañó de disminución en la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por ellos. Con base en ello, se propone que existen relaciones neuroendocrinas entre las adrenales y los ovarios en el día del proestro que regulan la secreción de P_4, E_2, la tasa de animales ovulantes y la ovulación y que dependen de las glándulas que estén presentes en el animal.

La eliminación de la adrenal izquierda (permaneció la adrenal derecha *in situ*) no modificó las concentraciones de E_2. una hora después de realizada la cirugía. En cambio, la extirpación de la adrenal derecha (permaneció la adrenal izquierda *in situ*) resultó en menor concentración de la hormona cuando la cirugía se realizó en el día del Diestro-2 respecto a la observada en los animales testigo. Cuando a los animales adrenalectomizados se les realizó la Ovx izquierda en el día del Diestro-2 se observó mayor concentración de E_2 que en el grupo al que se le realizó la Ovx izquierda en el mismo día del ciclo estral. En los animales adrenalectomizados a los que se les realizó la Ovx derecha en el día del proestro, la concentración de la hormona fue menor que en el grupo de animales al que se les realizó la Ovx derecha (Palafox, 2007).

V. REGULACIÓN NEURAL DE LAS FUNCIONES DE LAS GLÁNDULAS

Adicional al sistema de regulación endocrina del eje hipotálamo-hipófisis-glándula, existe una vía neural entre el ovario o la glándula adrenal y el Sistema Nervioso Central. Esta vía también puede contribuir al control de la función ovárica o adrenal (Gerendai y col., 1995).

La gametogénesis y la secreción de hormonas por los ovarios no es regulada solamente por el sistema hipotálamo-hipófisis-ovario y los mecanismos autocrinos y paracrinos del órgano, sino que también son controlados parcial o totalmente por impulsos nerviosos (Burden y col., 1983; Gerendai y col., 2002). De forma tal, que es importante conocer cómo es que se encuentra inervado el ovario.

A. Inervación de los ovarios

Los nervios del ovario derivan de los ganglios celíaco y mesentérico y de los nervios lumbar esplácnico, que se originan en los ganglios situados a lo largo del plexo aórtico en las proximidades de las arterias renales (Dissen y Ojeda, 1999). A partir de estos ganglios se originan dos nervios principales en el

ovario 1) el plexo ovárico y 2) el nervio ovárico superior (Aguado 2002; Dissen y Ojeda, 1999)

1) El plexo ovárico (PO), en la rata corre a lo largo de la arteria ovárica y forma parte del plexo celiaco, el cual es un complejo nervioso organizado alrededor de la aorta abdominal (Alarcón, 2005; Dissen y Ojeda, 1999).

Los nervios de este plexo viajan con la arteria ovárica y se distribuyen en el ovario. Hacen sinapsis en la parte superior con el plexo aórtico-renal y en la parte inferior con los plexos hipogástricos superior e inferior (Alarcón, 2005; Lawrence y col., 1980). De las fibras inferiores del plexo aórtico-renal salen otras que se unen y forman el plexo ovárico (Alarcón, 2005).

La parte inferior del PO se ve reforzado por los plexos hipogástrico superior e inferior. Este plexo tiene fibras simpáticas aferentes y eferentes, las fibras eferentes son de naturaleza vasomotora y proceden de los segmentos torácicos décimo y undécimo de la médula espinal. Las fibras parasimpáticas derivadas de los plexos hipogástricos mencionados son probablemente de naturaleza vasodilatadora (Alarcón, 2005).

2) El nervio ovárico superior (NOS), está asociado con el ligamento suspensorio el cual se inserta a el ovario, oviducto y útero (Aguado 2002; Dissen y Ojeda, 1999). El NOS surge del ganglio celíaco, el ganglio mesentérico y el nervio esplácnico lumbar (Dissen y Ojeda, 1999).

La mayoría de las fibras nerviosas convergen alrededor de los vasos del hilio y la médula y una porción de estos pasa a la corteza del ovario (Gerendai y col., 1997). Así que, la inervación intrínseca del ovario se da por fibras que acompañan a el ligamento suspensorio y penetran en el hilio ovárico (Aguado, 2002). La mayoría de estos nervios son perivasculares (Lawrence y col., 1980) e inervan el tejido intersticial formando un plexo alrededor de los folículos primordiales y en desarrollo, cerca de las células esteroidogénicas (en la teca externa e interna del folículo) (Aguado, 2002; Burden, 1978; Gerendai y col., 1997). La glándula intersticial recibe fibras adrenérgicas terminales y pre-

terminales, pero no entran en la capa de las células de la granulosa o el cuerpo lúteo (Burden, 1978).

De esta forma, la inervación extrínseca de la gónada femenina es proporcionada por fibras nerviosas simpáticas, sensoriales y parasimpáticas (Alarcón, 2005: Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y col., 1980) (Fig. 11) cuyas fibras llegan a la mayoría de los componentes de la glándula (Dissen y Ojeda, 1999).

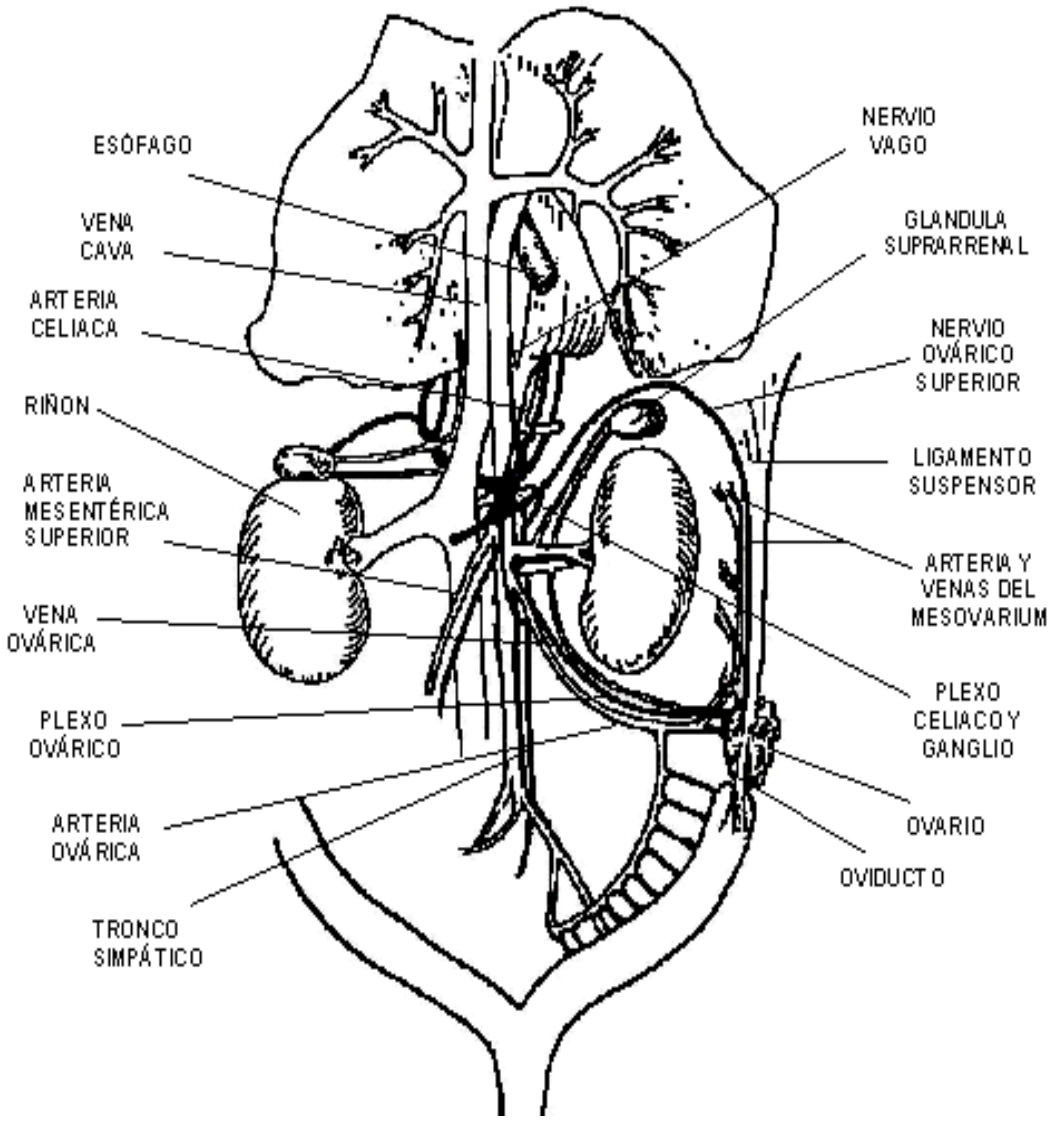


Figura 11. Origen de la inervación extrínseca del ovario (Tomada de Lawrence y Burden, 1980).

Inervación simpática del ovario: la más importante es la de los nervios esplácnico mayor y menor del plexo celíaco. Se complementa con algunos axones del plexo hipogástrico superior (Alarcón, 2005). Los cuerpos celulares de las fibras preganglionares simpáticas están situados en los segmentos T_{10}-T_{11} y L4 del cordón espinal (en los ganglios de la cadena simpática) y de la sinapsis del ganglio celíaco y mesentérico (Burden, 1978; Dissen y Ojeda, 1999).

Klein y Burden (en 1988) mostraron que tanto el PO como el NOS contienen neuronas posganglionares aferentes y simpáticas, y que el soma de estas últimas está localizado en el ganglio paraventral, específicamente en el complejo del ganglio mesentérico y celíaco superior.

La inervación simpática esta compuesta de neuronas catecolaminérgicas y neuronas que contienen el neuropéptido Y (NPY) (Dissen y Ojeda, 1999).

Inervación sensorial del ovario: deriva del ganglio nodoso y de la raíz del ganglio dorsal localizado entre los segmentos torácico-caudales (T_9-T_{11}) y los segmentos cráneo-lumbares (L_2-L_4) de la espina dorsal, la proyección de las fibras llegan al ovario a través del NPO (Dissen y Ojeda, 1999). La inervación sensorial es proporcionada por fibras que contienen Sustancia P (SP), el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés) (Dissen y Ojeda, 1999).

El ovario también es inervado por fibras de naturaleza sensorial y simpática que contienen Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP) (Dissen y Ojeda, 1999).

Inervación parasimpática del ovario: la más importante proviene del Nervio Vago (Alarcón, 2005; Burden, 1978; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y col., 2000). Se complementa con algunos aportes del plexo sacro (S_2, S_3 y S_4) que forma parte del plexo hipogástrico inferior (Alarcón, 2005) y también llega

al ovario por medio del hilio, junto con los vasos sanguíneos ováricos (Burden y col., 1978; Gerendai y col., 1998).

B. Nervio vago

El Nervio Vago (del latín *vagus* (divagante o ambulante), es el X par craneal. Dentro del encéfalo se encuentra conectado a dos núcleos sensitivos: el núcleo espinal del nervio trigémino, el núcleo del tracto solitario; y dos núcleos motores: el núcleo ambiguo y núcleo motor dorsal del vago (Afifif y Begman, 1998; Wilson y col., 2003) (Fig 12):

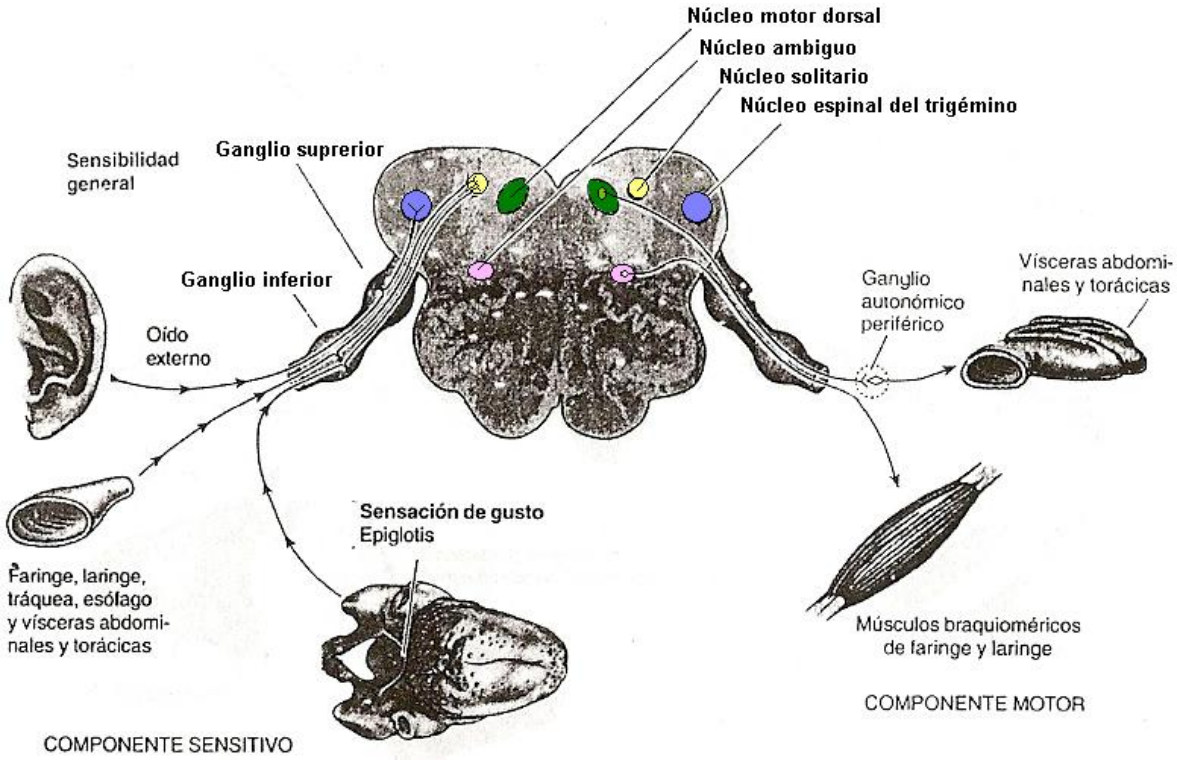


Figura 12. Representación esquemática de los componentes del nervio vago y las áreas que inerva. (Tomada de Afifi y Begman, 1998).

1) Núcleo ambiguo sus fibras inervan los músculos constrictores de la faringe y los músculos intrínsecos de la laringe (Afifi y Begman, 1998; Sell, 2007).

2) Núcleo parasimpático que forma el núcleo motor dorsal del vago que recibe fibras aferentes del hipotálamo a través de vías autónomas descendentes. Las fibras eferentes están distribuidas en la musculatura involuntaria de los bronquios, el corazón, esófago, estómago, intestino delgado y grueso, hasta el colon distal del colon transverso (Afifi y Begman, 1998; Sell, 2007).

3) Núcleo solitario. Las sensaciones gustativas viajan a través de los axones periféricos de las fibras aferentes de las células nerviosas ubicadas en el ganglio inferior del nervio vago. Las prolongaciones centrales de esas células establecen sinapsis en las células nerviosas del núcleo (Afifi y Bergman, 1998; Sell, 2007).

4) Núcleo espinal del nervio trigémino. La información aferente vinculada con la sensibilidad común entra en el tronco del encéfalo a través del ganglio superior del Nervio Vago, pero termina en este núcleo (Afifi y Bergman, 1998; Sell, 2007).

El Nervio Vago lleva la mayoría de las fibras nerviosas parasimpáticas que ayudan a controlar los órganos internos del cuerpo. También conduce las fibras nerviosas sensitivas al bulbo, desde las mismas áreas viscerales que reciben fibras simpáticas vágales (Guyton, 1997).

El Nervio Vago nace del borde externo del bulbo y su ingreso a la región cervical es a través del agujero yugular (Guyton, 1997). Abandona la superficie anterolateral de la parte superior del bulbo raquídeo como una serie de raicillas en un surco situado entre la oliva y el pedúnculo cerebeloso inferior, estas raicillas convergen en un cordón plano que abandona el cráneo a través del foramen yugular pasando por la fosa craneal posterior. (Guyton, 1997; Sell, 2007; Wilson y col., 2003).

El Nervio Vago posee dos ganglios sensitivos, un ganglio superior (yugular), redondeado, ubicado sobre él dentro de foramen yugular y un ganglio inferior (nodoso), cilíndrico, que también se encuentra sobre él pero inmediatamente por debajo del foramen (Sell, 2007; Wilson y col., 2003) (Fig. 13).

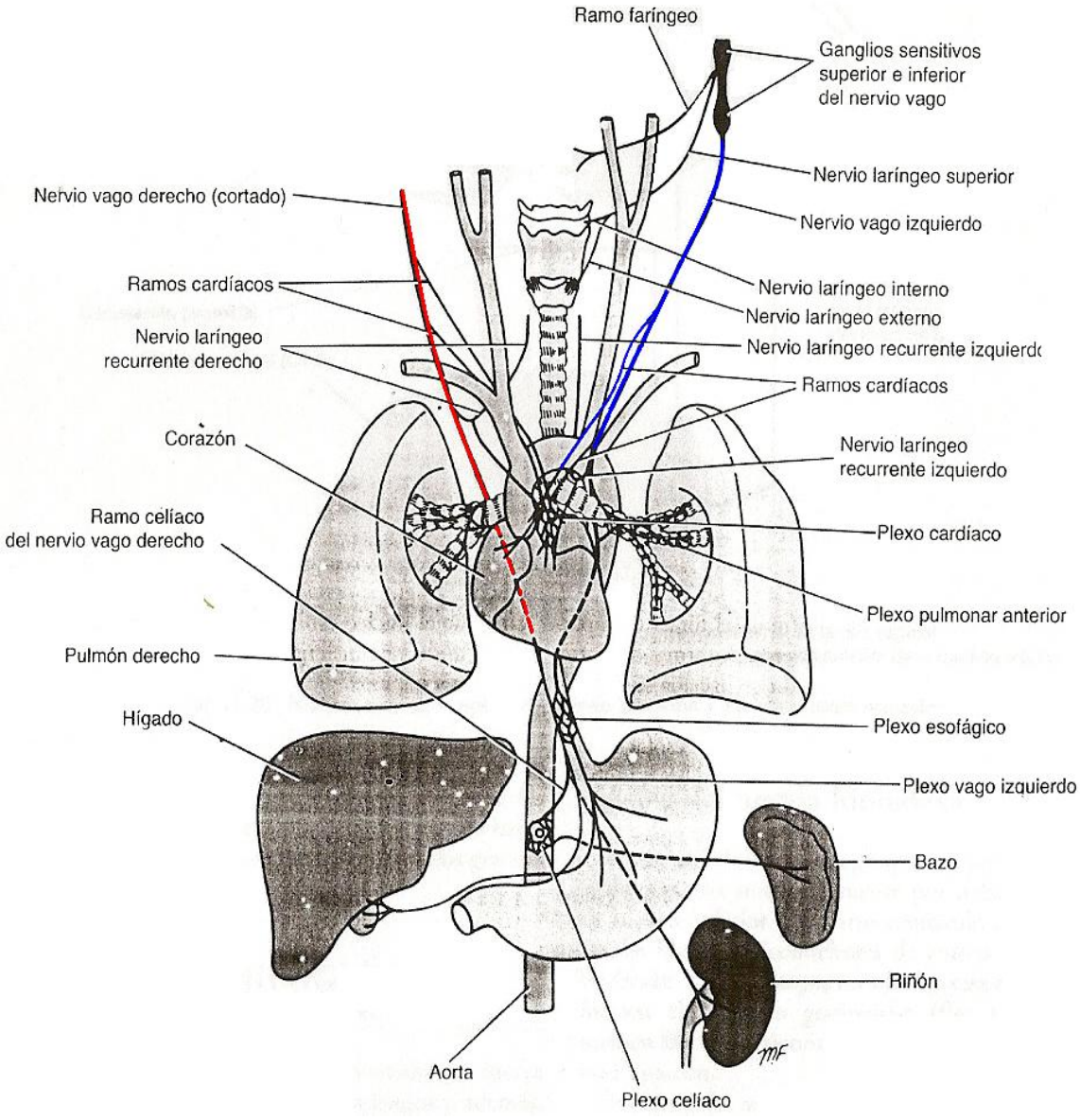


Figura 13. Distribución del nervio vago (Tomada de Sell, 2007).

A continuación el nervio vago desciende verticalmente del cuello hacia el tórax (Fig. 13), a lo largo de la arteria carótida común y la vena yugular interna. El nervio se ramifica en el cuello y tórax, que inervan a músculos de la laringe para el control del habla. Las porciones distales de los nervios vagos continúan hacia abajo del tórax al lado del esófago y pasan por el diafragma para formar los nervios gástricos anterior (izquierdo) y posterior (derecho) (Guyton, 1997; Sell, 2007) (Fig. 14).

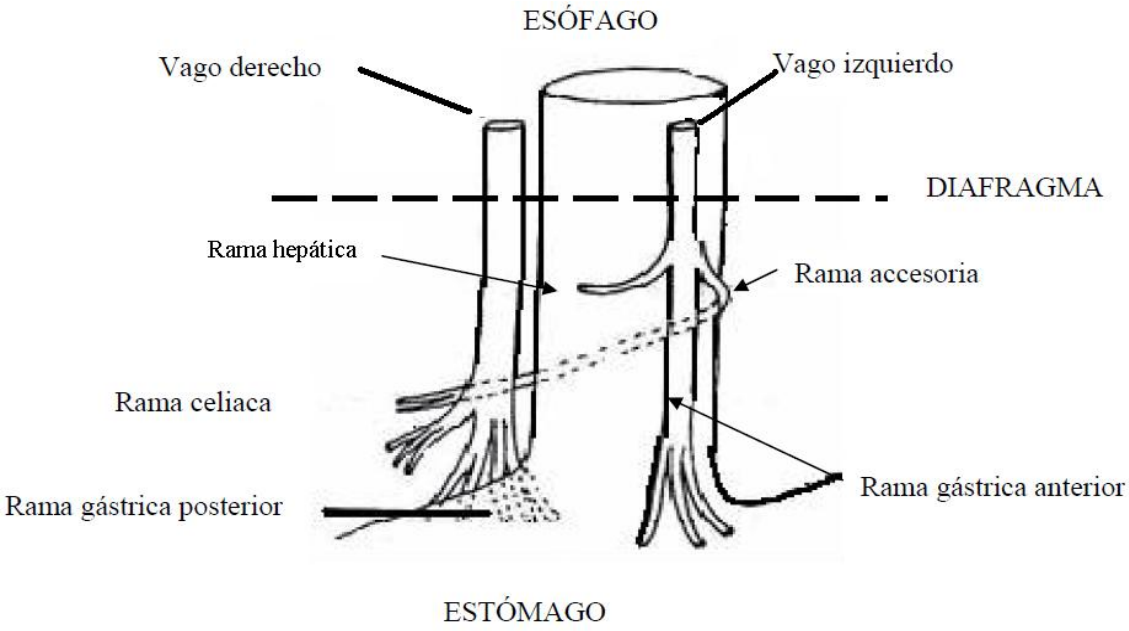


Figura14. Esquema de la distribución que siguen los troncos vagales a nivel subdiafragmático en la rata. (Tomada de Powley y col; 1983).

C. Participación del Nervio vago en la regulación de las funciones ováricas

Desde 1962 estudios realizados por Hill sugieren que el nervio vago inerva al ovario, ya que observó que la vagotomía trastorácica causa disturbios en el ciclo estral.

Burden y colaboradores (1983), utilizaron ratas hembra vírgenes de la cepa Sprague-Dawley con ciclos estrales regulares (4-5 días) para localizar el soma de los nervios sensoriales que inervan al ovario. Ellos pusieron énfasis en determinar las bases anatómicas de la posible entrada sensorial vagal al ovario. Para ello, inicialmente practicaron la vagotomía bilateral en cada animal y después inyectaron un trazador retrógrado (peróxido de rábano HRP, por sus siglas en inglés) en ambos ovarios, dejándolo actuar por un periodo de 72 horas y observaron el número de células marcadas en el ganglio nodoso y en ganglio de la raíz dorsal. Sus resultados mostraron que las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T_{10} a L_2 y células del ganglio nodoso presentaron marcas en el grupo sin vagotomía, pero que en aquellos animales a los cuales se les practicó la vagotomía, esta impidió en marcaje de las células de ganglio nodoso. Por lo que proponen que en general las fibras aferentes viscerales del ovario, contenidas en los troncos vagales anterior y posterior, modulan los reflejos viscerales que pueden ayudar modular o afinar ciertas funciones pre-escritas en el ovario de la rata. Además de que ya que el ganglio nodoso se proyecta al núcleo del tracto solitario y que este último se conecta núcleo hipotalámico que es el que controla la función reproductiva, el nervio vago puede constituir una ruta anatómica por la cual las funciones ováricas podrían ser afinadas.

Usando otro método para el marcaje neural, Gerendai y col. (1998) inyectaron el virus de la pseudorabia en el ovario de ratas adultas con la finalidad de determinar que sitios del SNC están relacionados con el ovario y que estos presuntamente puedan estar involucrados en el control de las funciones ováricas. El análisis de la médula espinal y el cerebro por inmunocitoquímica mostró que en la médula espinal se observaron células

macadas en la columna intermediolateral, en el cuerno dorsal cerca de la zona marginal y en el núcleo autonómico central. En el bulbo raquídeo y la protuberancia se marcaron las neuronas de varios núcleos y grupos celulares (área postrema, el núcleo del tracto solitario, complejo vagal dorsal, núcleo ambiguo, núcleo paragigantocelular, núcleo parapiramidal, grupos celulares A1, A5 y A7, los núcleos del rafe caudal, locus coerelus, núcleo subcoerelus, núcleo de Barrington, núcleo-Kolliker del fusible). En el mesencéfalo se marcó la parte ventrolateral de la sustancia gris periacueductal. En el diencéfalo, se marco el núcleo paraventricular del hipotálamo y se detectaron algunas neuronas infectadas por el virus en el hipotálamo lateral y dorsal, el núcleo arcuato, zona incerta, zona perifornical y en el hipotálamo anterior. En el telencéfalo se encontraron células marcadas por el virus en el núcleo de la estría terminal y en el núcleo central de la amígdala. Por lo que interpretaron estos resultados como la primera evidencia neuromorfológica de la existencia de una vía neural multisináptica entre el ovario y el SNC.

Al observar los datos anteriores, Gerendai y colaboradores (2000) llevaron a cabo un estudio para determinar si el Nervio Vago participa en el control parasimpático de la función ovárica. Para ello, utilizaron ratas hembra adultas de la cepa Sprague–Dawley que pesaban entre 180-220 gr, a las cuales se les seccionó, nivel cervical, el Nervio Vago izquierdo un día antes de inyectar el virus neurotrófico (virus de la pseurorabia) en el ovario ipsilateral a la vagotomía. Los animales fueron sacrificados 92-96 h después de la inoculación del virus y las neuronas infectadas por el virus se visualizaron mediante inmunocitoquímica. A diferencia de los resultados obtenidos en un trabajo previo (Gerendai y col., 1998), en este estudio se observó que la sección del Nervio Vago indujo que en la médula y la protuberancia sólo se marquen células del núcleo parapiramidal, los grupos células A1 y A5 y los núcleos del rafe caudal. En el diencéfalo: el núcleo paravenricular y el hipotálamo lateral. Y en la espina cordal encontraron células macadas en la columna intermediolateral, en el cuerno dorsal cerca de la zona marginal y en el núcleo autonómico central De tal manera, propusieron que la vagotomía interfiere con el marcaje de varias estructuras del SNC, tales como los núcleos vagales. Lo

cual los llevó a sugerir que existe una ruta de comunicación entre en SNC y el ovario que transcurre por el Nervio Vago (Fig. 15).

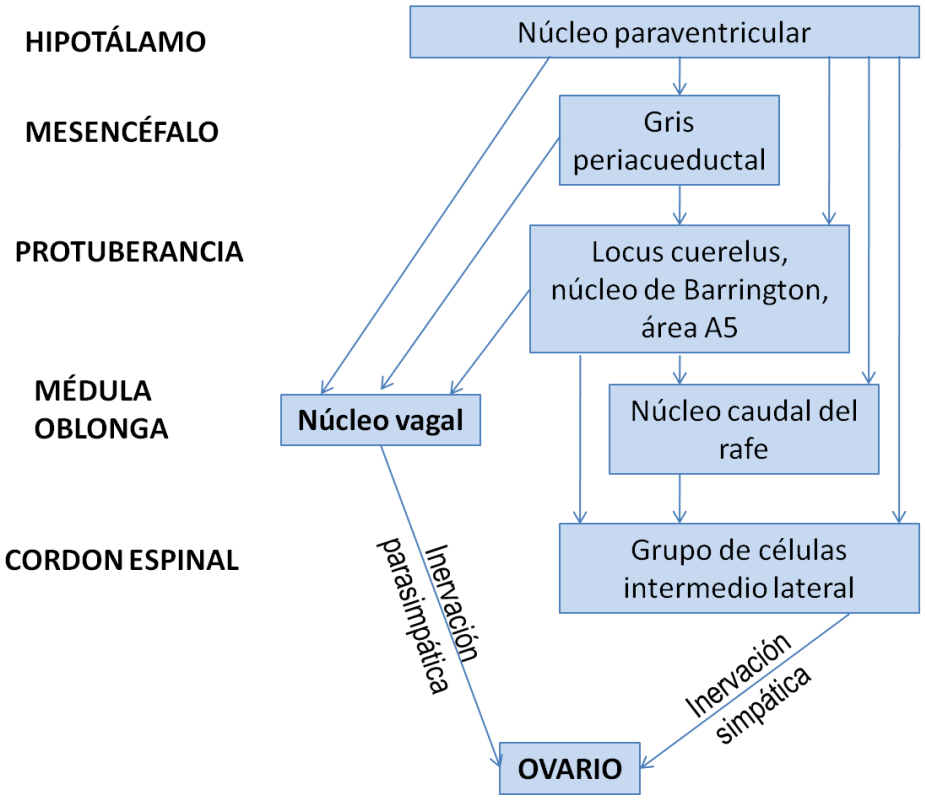


Figura 15. Conocimiento de las conexiones neurales descendentes entre las estructuras del SNC marcadas desde el ovario por la técnica de rastreo viral transneural (Tomada de Gerendai y col., 2002).

En 1977, Burden y Lawrence estudiaron el efecto de la vagotomía abdominal a largo plazo (15 días pos-cirugía) en ratas adultas vírgenes, de la cepa Sprague–Dawley a las cuales antes de cualquier tratamiento se les extirpó un ovario. Encontraron que en los animales con ovariectomía unilateral (Ovx) la vagotomía abdominal altera el ciclo estral y disminuye la hipertrofia ovárica compensatoria (HOC) respecto al grupo con Ovx. Para correlacionar el efecto de la HOC con el incremento en la concentración de gonadotropinas en animales con Ovx, los investigadores cuantificaron las concentraciones séricas de gonadotropinas en los animales a los cuales se les practicó primero la vagotomía y enseguida la Ovx o sólo la vagotomía. A las 5 h poscirugía disminuyó la concentración de gonadotropinas en cualquiera de los tratamientos respecto al grupo con sólo Ovx. Lo mismo sucede a las 24 h

poscirugía en el grupo con sólo vagotomía y en el grupo con vagotomía más Ovx sólo aumenta la concentración de FSH respecto al grupo con sólo vagotomía. Con estos resultados, los autores sugieren que los Nervios Vago modulan el aumento en suero de FSH y LH después de la Ovx; y que este incremento en las gonadotropinas, particularmente en el pulso largo de FSH, programa las condiciones ováricas para aumentar la tasa de proliferación de pequeños folículos a folículos más grandes y por lo tanto modula la HOC. De esta forma, concluyen que el Nervio Vago estimula la liberación de las gonadotropinas y que la HOC es dependiente de la integridad de conexiones neurales específicas que monitorean y regulan el tamaño del órgano.

Al observar que la vagotomía tiene efectos sobre el ovario, Burden y col., (1981) se propusieron estudiar el efecto que tiene la vagotomía abdominal entre las 9-11 h., en cada uno de los días del ciclo estral de la rata Sprague–Dawley; las que pesaron entre 175-210 g. Sus resultados fueron que el ciclo fue afectado cuando la cirugía se realizó en los días de Proestro o Estro ya que se caracterizó por períodos prolongados de diestro (10-12 días de duración). Y que en los días del Metaestro (Diestro-1) o Diestro (Diestro-2) el ciclo no se alteró.

Posteriormente, Domínguez y colaboradores (1987) estudiaron los efectos de la vagotomía unilateral en cada etapa del ciclo estral de ratas hembra, adultas, vírgenes de la cepa CII-ZV sobre la ovulación al ser cuantificada un ciclo después, o bien, durante un ciclo después de 20 días pos-cirugía. Ellos obtuvieron que después de un periodo de 20 días la vagotomía unilateral modificó el ciclo estral cuando la cirugía se realizó en los días del Estro o Diestro-1, además de que estos animales autopsiados en el día del Estro, obtuvieron una menor tasa de ovulación que los animales tratados en Diestro-2 o Proestro.

Con base en dichos hallazgos, se investigó si la vagotomía interrumpe el ciclo estral por actividad del cuerpo lúteo, ya que en ratas la PRL es el estímulo luteotrópico que activa al cuerpo lúteo y estimula el incremento de P_4 por 2 días. Como indicador de la actividad del cuerpo lúteo, Burden y col.,

(1983) examinaron particularmente la histología luteal del ovario y la actividad del 3β-HSD y determinaron las concentraciones de PRL y P_4, por radioinmunoanálisis, en ratas hembras vírgenes de la cepa Sprague–Dawley con ciclos de 4 días de duración. Los grupos experimentales consistieron en un grupo con vagotomía abdominal simulada, esto es, que sólo se expusieron los dos troncos vagales sin tocarlos ni cortarlos y el otro grupo fue con vagotomía abdominal. Las cirugías se llevaron a cabo entre las 9-11 hrs en el día del Proestro y se sacrificaron por decapitación 4 días después a las 6, 12 y 18 hrs. La determinación de 3β-HSD fue por histoquímica de los ovarios. Los resultaron mostraron que los parámetros evaluados en ambos grupos no obtuvieron diferencias significativas, por los que este grupo de investigadores propone que la vagotomía no altera el ciclo estral por actividad del tejido luteal.

Ya que se había mostrado que la vagotomía inhibe la HOC y que la Ovx en ratas duplica el número de folículos que liberan a su ovocito en el ovario remanente (y que como consecuencia aumenta el número de cuerpos lúteos), como resultado del incremento del reclutamiento folicular que a su vez se refleja en aumento del peso de la masa ovárica, el grupo de Leonard y colaboradores (1984) se propusieron analizar como participa el nervio vago en la inhibición de la HOC a nivel folicular. Para ello, estudiaron el comportamiento de los folículos, las concentraciones séricas de testosterona y LH en ratas adultas con Ovx a las que se les realizó la vagotomía abdominal o la vagotomía simulada en la mañana del Proestro (9-11 hrs). Los animales fueron sacrificados a las 24, 48, y 96 hrs o a los 8 días pos-cirugía. Ellos obtuvieron que la vagotomía en el día del Proestro aumenta la cantidad de folículos saludables pequeños (151-394 μm) a las 24 y 48 horas, aumenta la cantidad de folículos atrésicos (151-394 μm) a las 96 hrs y a los 8 días y (395-570 μm) a las 48 hrs y disminuye la cantidad de folículos antrales grandes y saludables (395-570 μm) a las 24 hrs y (>570 μm) a los 8 días. Además de que no hubo modificaciones en las concentraciones de testosterona en ningún grupo, no siendo así para las concentraciones de LH que disminuyeron a las 48, 94 hrs y a los 8 días. Estos resultados llevaron a pensar que en la rata los nervios vago participan en el control de la secreción de LH, el reclutamiento folicular, la atresia folicular y la formación de la glándula intersticial.

Parte de estos resultados concuerdan con los de los estudios llevados a cabo por Nakamura y colaboradores (1992) en donde demostraron que en el hámster cíclico la vagotomía abdominal realizada en la mañana del Estro da como resultado la disminución del número de ovocitos liberados, de la concentración sérica de P_4 y aumento del número de folículos atrésicos. Todo ello, les llevó a sugerir que la vagotomía abdominal regula el proceso de la ovulación.

Años más, tarde Burden y colaboradores (1986) investigaron la participación del nervio vago en la HOC en el día del Estro, en ratas de la cepa Sprague–Dawley, de entre 8-9 semanas de edad que pesaron entre 180-200 gr. Y con ciclo sde 4-5 días de duración. Ellos inicialmente examinaron la HOC en los siguientes grupos 1) operación simulada la cual consistió en exponer los nervios vago cervicales y los ovarios sin cortar a ninguno, 2) vagotomía cervical unilateral izquierda o derecha y 3) vagotomía abdominal. En un segundo experimento analizaron la activación folicular (incremento de folículos antrales) y la HOC de los siguientes grupos experimentales 1) ratas con Ovx izquierda o derecha, 2) ratas con sección unilateral del nervio vago cervical y Ovx y 3) ratas con vagotomía abdominal y Ovx. Los animales fueron sacrificados por decapitación a los 15 días después de la operación. Los resultados mostraron que la vagotomía cervical unilateral no afecta la HOC pero que la vagotomía abdominal la disminuye en el ovario remanente. La vagotomía cervical izquierda no afectó la activación folicular pero la vagotomía cervical derecha la inhibió sólo el ovario derecho *in situ*. También la vagotomía abdominal inhibe la activación folicular del ovario derecho *in situ* pero no del ovario izquierdo *in situ*. En las ratas con ambos ovarios y cualquiera de los dos tipos de vagotomía observaron que la activación folicular era similar. Los autores sugieren que el conjunto de sus resultados muestran que los nervios vago participan en la activación folicular después de la Ovx unilateral. Y que el ovario derecho es más dependiente de la influencia vagal para la activación folicular que el ovario izquierdo.

Estudios realizados por Trkulja y Lackovic (2001) se enfocaron en determinar el efecto de la vagotomía en la HOC a diferentes tiempos entre la vagotomía y la Ovx o viceversa en ratas adultas, Wistar, con ciclos estrales regulares de 4-5 días cada uno y que pesaron entre 140-200 gr. Para la Ovx ellos siempre extirparon el ovario derecho de cada animal entre las 9-12 hrs del día del Estro y evaluaron a los 10 días pos-cirugía. Sus grupos experimentales consistieron en llevar a cabo la Ovx y enseguida la vagotomía abdominal o llevar a cabo la Ovx y 4.5 hrs después la vagotomía abdominal y como grupo testigo utilizaron animales con Ovx simulada más vagotomía simulada. Otros grupos consistieron en inyectar lidocaína a los nervios vago y 30 minutos después llevar a cabo la Ovx, o en lugar de la lidocaína inyectar solución salina (grupo testigo). Los resultados mostraron que la vagotomía abdominal realizada inmediatamente después de la Ovx inhibió la HOC, ya que los parámetros evaluados no difieren de los animales testigo. En contraste, la vagotomía fue inefectiva cuando se realizó 4.5 hrs después de la Ovx ya que los datos eran semejantes a los de los animales con sólo Ovx. El tratamiento con lidocaína en los nervios vago más 30 minutos después la Ovx, también inhibió la HOC. De forma tal que se sugiere que la influencia vagal en la HOC es importante sólo durante un periodo de tiempo corto después de la Ovx; aparentemente menos de 4.5 horas.

Ya que los estudio anteriores ayudaron a comprender mejor la participación del nervio vago en la HOC y que Burden y colaboradores (1977) mostraron que la vagotomía estimula la liberación de gonadotropinas, el grupo de trabajo de Allen (1985) se enfocó a investigar de forma más minuciosa el efecto de la vagotomía en las concentraciones de LH, en ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley con ciclos estrales de 4 días. A un primer grupo de animales se les practicó la vagotomía a nivel subdiafragmático en la mañana del Proestro. Otro grupo fue sometido a Ovx 4 semanas antes de la vagotomía (día 0) y al día 5 fueron tratadas con benzoato de estradiol (5 µg), en el día 7 (a las 10 h) se les tomó una muestra de sangre y enseguida se les administró 1.5 mg de P_4. Se les tomó otra muestra de sangre a las 16 h y se les sacrificó a las 18 h. Otro grupo de animales que cumplió con 2 ciclos estrales consecutivos de 4 días c/u fue utilizado en la mañana del día del Diestro. Inicialmente a los

animales se les tomó una muestra de sangre y en seguida se les practicó la vagotomía seguida de la Ovx bilateral. A este último grupo de animales se les tomaron muestras de sangre para la cuantificación de LH por radioinmunoanálisis 1, 4, 7, 14, 21 ó 28 días después de la cirugía. Los resultados de estos grupos fueron los siguientes: en el día del Proestro la vagotomía abdominal alteró el ciclo estral y después de 20 días este volvió a la normalidad. Al estudiar su efecto en las concentraciones séricas de LH, obtuvieron que la vagotomía no alteró la concentración sérica de la hormona característico de la tarde del Proestro. En los animales a los que se les extirpó sólo un ovario no hubo cambios en las concentraciones séricas de LH. Sin embargo, en las ratas con ovariectomía bilateral la vagotomía resultó en disminución de la liberación de LH a los 7 y 21 días post cirugía. Estos resultados llevaron a proponer que los nervios vago regulan de alguna manera la liberación de LH en el día del Proestro.

Con la finalidad de estudiar la participación de los nervios vago izquierdo, derecho o ambos en la ovulación, el crecimiento folicular y la reactividad ovárica a las gonadotropinas exógenas Cruz y colaboradores (1986), llevaron a cabo estos análisis en ratas hembras vírgenes de la cepa CIIZ-V con ciclo de 4 días y todos fueron autopsiados al estro esperado después de tres ciclos consecutivos de 4 días cada uno. Los animales fueron sometidos a vagotomía bilateral y como grupos testigo se utilizaron ratas con operación simulada que consistió en exponer los nervios vago, izquierdo y derecho, sin tocarlos. Otro grupo testigo que fue tomado en cuenta consistió en animales que permanecieron sin ningún tipo de cirugías (intactos). Como segundo grupo experimental, utilizaron ratas a las cuales sólo se les seccionó un sólo nervio vago (izquierdo o derecho) y nuevamente tomaron el grupo de ratas intactas como grupo testigo. A los animales con vagotomía uni o bilateral se les dejó en reposo por 5 días, a partir de entonces se les volvió a realizar el frotis vaginal diariamente. El intervalo entre la vagotomía y la autopsia fue entre los 25-40 días en todos los grupos. Y para poner a prueba la capacidad de los ovarios a la respuesta a las gonadotropinas exógenas, utilizaron ratas intactas o con vagotomía izquierda o bilateral en el día del Diestro, a las que se les

inyectó FSH-ovino y 56 horas después LH-GC. Estos animales fueron autopsiados 20 horas después.

Los resultados mostraron que en la rata adulta la sección bilateral del nervio vago incrementa tanto el número de ovocitos liberados como el número de folículos grandes. Y que estos folículos pueden liberar a su ovocito por acción de gonadotropinas exógenas, lo que sugiere la existencia del incremento en la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas, inducida por la vagotomía. De esta manera, en una rata con los nervios vago intactos, estos pudieran estar actuando como moduladores de tipo inhibitorio a la reactividad de los folículos a las gonadotropinas endógenas. Por otra parte, en los animales a los que se les administraron gonadotropinas no hubo diferencias significativas en la ovulación en los animales de los tres grupos estudiados. Aunque las ratas con vagotomía bilateral liberaron pocos ovocitos y el peso sus ovarios fue menor respecto al grupo testigo o con sección del nervio vago izquierdo. Estos resultados llevaron a sugerir a este grupo de investigadores que tal vez la reactividad del ovario a las gonadotropinas exógenas depende de la integración de esta inervación y que la diferencia entre el número de ovocitos liberado por el ovario izquierdo y derecho de animales con vagotomía bilateral pueda deberse al hecho de que ambos ovarios tienen diferentes respuestas a la denervación vagal; afirmación que es sustentada por el hecho de que en los animales con sección del nervio vago izquierdo se observaron cambios en la población folicular entre los ovarios enervados y los denervados. De forma tal que la información que corre por el nervio vago izquierdo está más relacionada con la regulación del proceso de crecimiento folicular que el nervio vago derecho. Por lo que se concluye que la sección unilateral de los nervios vago sugiere que la información que corre por cada uno de los nervios vago desde el ovario hacia el hipotálamo y viceversa es diferente. Y que es posible especular que la información neural que corre por el nervio vago izquierdo está más relacionada con el proceso ovulatorio que la que corre por el lado izquierdo.

Al respecto estudios realizados por Chávez y colaboradores (1986) fueron enfocados a analizar las diferencias en la tasa de ovulación (TO), la ovulación compensatoria y la HOC, en el ovario derecho o izquierdo en ratas con Ovx a las cuales se les practicó la sección del nervio vago bilateral (SNVB), izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) de forma ipsi- o contra-lateral al ovario *in situ*. Para ello utilizaron ratas hembras con las mismas características que el grupo Cruz y col., (1986). Sus resultados indicaron que en las ratas con Ovx, la sección bilateral del nervio vago no modifica la TO. Pero cuando el nervio vago fue seccionado de forma ipsi-lateral al ovario izquierdo *in situ* se obtuvo incremento en la TO, número de ovocitos liberados y la HOC. Estos resultados fueron interpretados como una demostración de que el nervio vago puede tener un efecto de tipo inhibitorio. Sin embargo, es posible que el nervio vago derecho también lleve información que module al ovario izquierdo ya que la sección contra-lateral del nervio vago inhibió parcialmente la HOC, sin ninguna modificación en la TO y la ovulación compensatoria. En animales con el ovario derecho *in situ* la sección ipsi-lateral del nervio vago (vagotomía derecha) indujo la inhibición parcial de la HOC, lo que sugiere que el nervio vago derecho puede llevar información moduladora al ovario derecho. Y ya que la sección contra-lateral reduce la TO y la HOC, es posible que el nervio vago izquierdo también lleve información de tipo estimulatoria al ovario derecho. De manera general, este grupo de colaboradores concluye que posiblemente en ratas con Ovx, el ovario derecho es capaz de mantener una ovulación normal a diferemcia del ovario izquierdo. Y que el nervio vago es una de las vías entre el ovario y el sistema nervioso central y que el tipo de información que lleva cada uno de los nervios vago (izquierdo o derecho) puede llegar a ser diferente.

Burden y colaboradores (1981) se interesaron en estudiar cómo participa el nervio vago en la inducción de la pseudopreñez (por la estimulación del cuello uterino en la mañana del estro) en ratas vírgenes de la cepa Sprague–Dawley, de entre 8-9 semanas de edad que pesaron entre 180-200 gr. y de ciclos regulares de 4 días de duración. Y obtuvieron que la sección de los nervios vago interrumpe la pseudopreñez. Y que los niveles nocturnos y diurnos de la liberación de PRL y las elevaciones de P_4 sérica, característico de la pseudopreñez, fueron evitados por la vagotomía.

Al estudiar la participación de la información vagal durante la preñez, se observó que en ratas Sprague-Dawley con 16 días de preñez, la vagotomía abdominal disminuye el número de fetos vivos y aumenta la reabsorción fetal. La explicación de este resultado fue que al determinar las concentraciones de LH, 3β-HSD y P_4 en estos animales se obtuvo disminución en la concentración de estas. Y puesto que las concentraciones de LH pueden mantener la preñez hasta el día 12 del embarazo y que la LH estimula directamente la actividad de la 3β-HSD y esta enzima participa en la síntesis de P_4 que es importante durante el embarazo, se sugiere que, en esta etapa de preñez, los nervios vagos podrían participar de forma estimulatoria sobre las concentraciones de LH (Lawrence y col., 1978).

Burden y colaboradores (1980) se propusieron estudiar la participación de la inervación vagal sobre las funciones del eje hipotálamo-hipófisis –ovario, a través del análisis de las concentraciones de gonadotropinas y PRL en la hipófisis de ratas Sprague-Dawley de entre 8 y 10 días de preñez a las cuales se les practicó una operación simulada o la vagotomía y que fueron sacrificadas 16 días después. Ellos observaron que la vagotomía disminuyó el número de fetos vivos y aumentó el número de reabsorciones fetales, lo que se acompañó de disminución de las concentraciones de LH (en la hipófisis) pero no las de FSH y PRL. Por lo que los autores afirman que la vagotomía afecta la síntesis y/o liberación de LH y sugieren que por tanto el nervio vago es parte de los componentes del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

En ratas prepúber se ha mostrado que la sección de los nervios vago retrasa el inicio de la pubertad en ratas de la cepa Holtzman de 24 días de edad (Ojeda y col., 1983); o en ratas de la cepa CIIZ-V de 24 o 28 días de edad (Morales y col., 2004). Además de que los efectos de la vagotomía son diferentes en ratas de 24 o 28 días ya que en ratas de 24 días no se modificó la TO o el número de óvulos liberados. La vagotomía unilateral no modificó las concentraciones séricas de P_4, mientras que la vagotomía bilateral resultó en aumento significativo de las concentraciones séricas de la hormona; y en ratas de 28 días de edad con vagotomía bilateral el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue mayor que el de ratas sin tratamiento. Aunado a ello, la

vagotomía bilateral o unilateral derecha resultó en concentraciones más bajas de E_2, mientras que la vagotomía unilateral izquierda no causó los mismos efectos. Estos resultados se interpretaron como indicadores de que en la rata pre-púber la inervación que llega al ovario a través del nervio vago regula de manera inhibitoria el inicio de la pubertad y que este efecto pudiera ser a consecuencia de la disminución de la función ovárica inducida por la vagotomía (Ojeda y col., 1983) y que la interrupción de la función ovárica tiene un efecto en la regulación de la función ovárica por el SNC y que estos efectos varían de acuerdo a la edad en la que se lleva a cabo la cirugía (Morales y col, 2004).

Una vez que se estableció que en ratas prepúber hay diferencias de la función ovárica en respuesta a la sección de uno o ambos nervios vago, se evaluó la participación de este nervio en el inicio de la pubertad, la ovulación compensatoria (OC), la HOC y la concentración sérica de hormonas ováricas en ratas prepúber de 28 ó 32 días de edad con Ovx. Estos parámetros se avaluaron en el día de la apertura vaginal (pubertad). Morales y colaboradores (2007) obtuvieron que la sección unilateral del vago no modificó el inicio de la pubertad, la TO sólo fue menor en las ratas con la sección del nervio vago izquierdo y Ovx derecha respecto a la de los animales con solo Ovx derecha, en los animales de 28 ó 32 días de edad. Sin embargo, la OC fue mayor en animales con la sección de nervio vago derecho y el ovario derecho *in situ* respecto a los animales con solo la Ovx izquierda. Las concentraciones séricas de P_4 fueron mayores en aquellos animales de 28 ó 32 días de edad con SNVI + Ovx derecha y en aquellos de 32 días de edad con SNVD+ Ovx izquierda, respecto a los animales con sólo Ovx. La concentración sérica de testosterona en animales con SNVI+ Ovx derecha aumentó en los animales de 28 días de edad y disminuyó en aquellos de 32 días de edad y en animales con NVD+ Ovx izquierda de 28 días de edad. La concentración de E_2 disminuye en animales de 28 días de edad con SNVI+ Ovx derecha y aumenta en animales de 32 días con SNVD+ Ovx izquierda. Basados en estos resultados los investigadores proponen que en ratas prepúber la participación de los nervios vago es asimétrica en cuanto a la regulación de la secreción de hormonas esteroides, que esta depende de la inervación vagal y que varía con la edad de los animales y el tratamiento que se realice.

C. Inervación de las adrenales.

La glándula adrenal se encuentra inervada por fibras de origen extrínseco e intrínseco.

La inervación extrínseca de la glándula suprarrenal, viaja a través de los nervios esplácnicos y tras penetrar en la cápsula se ramifican para formar una red extensa subcapsular, desde aquí las fibras se extienden hacia la corteza y la médula para formar redes que rodean a las células de estas regiones. La inervación intrínseca surge de las células ganglionares esparcidas por toda la glándula en las regiones subcapsulares, cortical y medular (Parker y col., 1993).

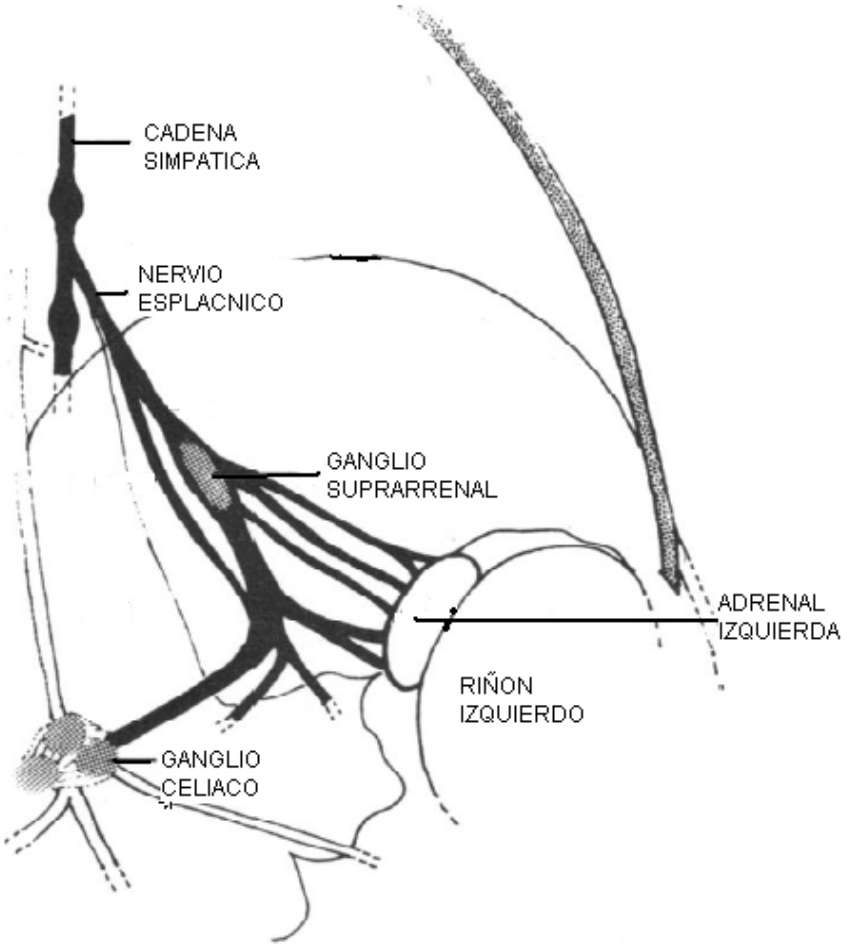


Figura 16. Curso del nervio esplácnico que inerva la glándula adrenal izquierda (Tomada y modificada de Kesse y col., 1988).

La médula adrenal tiene una red tridimensional de fibras nerviosas que provienen del nervio esplácnico (50-70%) y que llegan hasta las células cromafines, las terminaciones nerviosas de estas células son de tipo simpático (Coupland, 1965; Tóth y col., 1997). Una gran parte de las fibras del nervio esplácnico son preganglionares (88.2 % en la rata): la médula espinal intermediolateral en los segmentos T1, L1 y T9, cuerpos celulares preganglionares en los ganglios simpáticos en los niveles T4 y T12; y una pequeña proporción de los nervios son postganglionares: cuerpos celulares en los ganglios autónomos T4-T12 (9.2% en la rata) incluyendo el ganglio suprarrenal (2.6% en la rata) (Couplnad, 1965; Gerendai, 1997; Kesse y col.,1988; Parker y col., 1993; Tóth, y col., 1997).

Se cree que la mayoría de las fibras nerviosas de la médula son simpáticas de tipo colinérgico y liberan norepinefrina y epinefrina en respuesta a estímulos agotadores (Kemppainen, 1997; Parker y col., 1993).

La corteza adrenal tiene una compleja inervación autonóma; una parte inerva sólo a la corteza y es independiente del nervio esplácnico, y la otra parte parece originarse en la médula adrenal; la que es regulada por la actividad del nervio esplácnico (Gerendai y Halász, 1997), esto se deduce ya que se ha mostrado que las células ganglionares intrínsecas localizadas en la médula se proyectan hacia la corteza (Parker y col.,, 1993).

Dentro de la corteza se encuentran neuronas adrenérgicas en asociación con células corticales y los vasos sanguíneos (Parker y col., 1993), una gran proporción de fibras nerviosas son noradrenérgicas y contienen NPY y VIP (Gerendai y Halász, 1997).

Kesse y col., (1988) observaron delgadas fibras parasimpáticas post-ganglionares que se originan del plexo subcapsular que inervan principalmente estructuras dentro de la corteza, sin embargo, estudios han comprobado que existen cuerpos celulares aferentes, tanto en el ganglio de la raíz dorsal como en los ganglios sensoriales del nervio vago se proyectan hacia la médula adrenal (Coulpland, 1989; Parker y col., 1993).

Hay datos que sugieren la presencia de fibras nerviosas aferentes (sensoriales) tanto en la corteza suprarrenal como el la médula suprarrenal, que tienen su soma en los ganglios de la raíz dorsal (Gerendai y Halász, 1997).

De esta forma se deduce que La inervación parasimpática proviene de fibras localizadas en el núcleo motor vagal que se originan en el ganglio sensorial vagal (Coupland y col.,, 1989). Algunos nervios vagales adrenales eferentes provienen directamente del núcleo motor del nervio vago; otras terminales vagales han sido observadas en los ganglios suprarrenal y celiaco (Gerendai y Halász, 1997; Tóth y col., 1997).

Se han observado una gran porción de axones terminales catecolaminérgicos cercanos a las células de la zona glomerular que están generalmente asociados con los vasos sanguíneos y que regulan la producción de esteroides, el flujo sanguíneo de la glándula, o ambos (Kesse y col., 1988). Al respecto Delarue y col., (2001) sugieren que hay axones varicosos de fibras nerviosas parasimpáticas postganglionares que terminan en la capsula-zona glomerulosa, y que estas fibras son sensibles a participar en la regulación colinérgica de la secreción de corticoesteroides.

Las sustancias transmisoras identificadas en la corteza adrenal son: Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP), Factor liberador de la corticotropina (CRF), Sustancia P (SP), Neuropéptido Y (NPY) (Whitworth y col., 2003).

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Existen pruebas fisiológicas de la interacción endócrina entre los ovarios y las adrenales.

Un punto que ha recibido muy poca atención es que las adrenales y los ovarios tienen conexiones nerviosas periféricas que las vinculan entre sí. Esta conexión nerviosa parecería que se realiza a nivel del ganglio celíaco, entre otras regiones nerviosas, centrales y periféricas. Otro aspecto que hace pocos años se ha puesto de manifiesto es la existencia de asimetría en la regulación de las funciones de los ovarios y las adrenales. Por ello, se propuso analizar las interacciones neuroendocrinas entre las adrenales y los ovarios, partiendo del supuesto de que los nervios vago son una de las vías principales por intermedio de los cuales las adrenales y los ovarios envían información nerviosa sobre su funcionamiento hacia los centros superiores hipotalámicos y extrahipotalámicos.

El análisis experimental de este problema se realizó por el estudio de los efectos de la adrenalectomía uni o bilateral, la sección uni o bilateral de los nervios vago, la sección de ambos nervios después de realizar las ovariectomías o adrenalectomías uni o bilaterales realizadas en cada día del ciclo estral, sobre la secreción de progesterona. Como animal experimental se utilizó la rata hembra.

HIPÓTESIS

Dado que existe una relación funcional entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la secreción de progesterona y que en el animal con extirpación de un ovario o una adrenal se producen cambios en los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones de las glándulas, entonces las relaciones funcionales entre los ovarios, las adrenales y los Nervios Vago en los animales con extirpación de una gónada, una adrenal o Nervio Vago, dependerán del ovario, de la adrenal ó del Nervio Vago remanente, y del día del ciclo estral en que se realicen las intervenciones quirúrgicas.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación de la inervación vagal en la regulación de la secreción de progesterona por los ovarios y las adrenales durante el ciclo estral de la rata hembra.

Objetivos particulares

Para cumplir con el objetivo general de este estudio se llevaron a cabo los siguientes objetivos:

1. Analizar los efectos de la ovariectomía o la adrenalectomía uni o bilateral realizadas en cada día del ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de la P_4.

2. Analizar los efectos de la ovariectomía uni o bilateral en animales con adrenalectomía bilateral realizadas en cada día del ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de la P_4.

3. Comparar los efectos de la sección uni o bilateral de los Nervios Vagos realizadas en cada día del ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de la P_4.

4. Estudiar los efectos de la ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral en los animales con sección bilateral del Nervio Vago en cada día del ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de la P_4.

5. Estudiar los efectos de la sección bilateral del Nervio Vago en los animales con ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral en cada día del ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de la P_4.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra, adultas, vírgenes de tres meses de edad, de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19.00 h), con libre acceso al agua y al alimento (Purina rat chow). A los animales se les realizó frotis vaginal diariamente y sólo se utilizaron aquellos que presentaron, al menos, dos ciclos consecutivos de cuatro días.

Diseño experimental

Testigo absoluto: Ratas cíclicas intactas fueron sacrificadas a las 14:00 hrs. en cada etapa del ciclo estral de la rata.

Tratamientos experimentales:

A las 13:00 horas de cada día del ciclo estral de la rata, los animales fueron destinados a alguno de los siguientes grupos experimentales:

Anestesia: Con el fin de analizar los efectos provocados por la anestesia sobre la concentración sérica de P_4, un grupo de animales fue anestesiado con éter durante 3 a 4 minutos que es el tiempo que se necesitó para realizar cualquiera de las cirugías de los diversos grupos experimentales.

Laparotomía: Para estudiar el efecto de la anestesia seguida de la laparotomía sobre la concentración sérica de P_4, un grupo de ratas fueron anestesiadas con éter y se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) atravesando la piel, el músculo y el peritoneo, sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía se procedió a suturar la herida por planos.

Ovariectomía uni o bilateral: Ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D) para analizar la capacidad secretora de cada ovario durante el ciclo estral. A otro grupo de animales se les quitó ambos (Ovx-B) para conocer la concentración de hormona que aportan las adrenales a la circulación.

Adrenalectomía uni o bilateral: A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirpó la adrenal izquierda (Adx-I) o derecha (Adx-D) para analizar la capacidad secretora de cada adrenal en cada etapa del ciclo estral. En otro grupo de animales se extirparon ambas adrenales (Adx-B) para conocer la concentración de hormona que aportan los ovarios a la circulación.

Ovariectomía uni o bilateral en animales con Adrenalectomía bilateral: A un grupo de ratas se les sometió a adrenalectomía bilateral e inmediatamente después se le extirpó el ovario izquierdo (Adx-B+Ovx-I), derecho (Adx-B+Ovx-D)**,** o ambos ovarios (Adx-B+Ovx-B).

Vagotomía uni o bilateral: Para conocer si el Nervio Vago es una de las vías neurales que modulan la secreción sérica de P_4, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les exteriorizó el estómago, se desplazó el hígado y se expuso el esófago. A nivel subdiafragmático se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar, el Nervio Vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D), o ambos Nervio Vago (Nv-B). Los órganos expuestos fueron colocados en su posición y finalmente se suturó la herida.

Ovariectomía uni o bilateral en animales con Vagotomía bilateral: Con el fin de analizar si el Nervio Vago es una de las vías neurales que modulan la secreción sérica de P_4 en el animal con ovariectomía uni o bilateral, se procedió a realizar la vagotomía bilateral y en el mismo acto, se extirpó el ovario izquierdo (Nv-B+Ovx-I), el derecho (Nv-B+Ovx-D) o ambos ovarios (Nv-B+Ovx-B).

Vagotomía bilateral en animales con Ovariectomía uni o bilateral: Se procedió a realizar la extirpación del ovario izquierdo y en el mismo acto se seccionaron ambos Nervios Vago (Ovx-I+Nv-B). Este procedimiento quirúrgico se realizó con el ovario derecho (Ovx-D+Nv-B) o con ambos ovarios (Ovx-B+Nv-B). El objetivo de realizar estos grupos fue para conocer si los efectos del tratamiento anterior (Ovariectomía uni o bilateral en animales con Vagotomía bilateral) son iguales o diferentes a los resultados de este grupo (Vagotomía bilateral en animales con Ovariectomía uni o bilateral); ya que la diferencia radica en que en el grupo anterior primero se eliminó la información neural y luego la hormonal y en este grupo primero se eliminó la información hormonal y luego la neural.

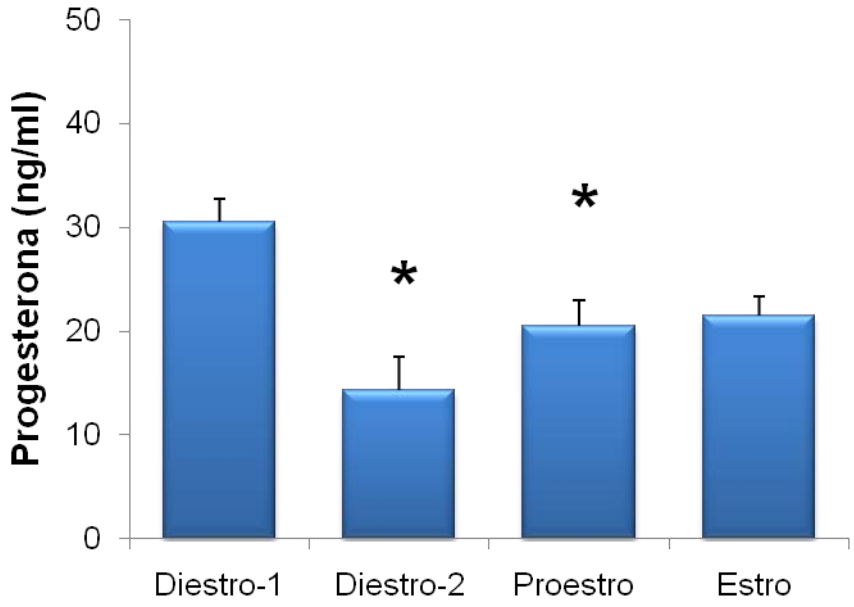
Adrenalectomía uni o bilateral en animales con vagotomía bilateral: Con el fin de analizar si el Nervio Vago es una de las vías neurales que modulan la secreción sérica de P_4 en el animal con adrenalectomía uni o bilateral, se procedió a realizar la vagotomía bilateral (Nv-B) y en el mismo acto, se extirpó la adrenal izquierda (Nv-B+Adx-I), derecha (Nv-B+Adx-D) o ambas adrenales (Nv-B+Adx-B).

Vagotomía bilateral en animales con adrenalectomía uni o bilateral: Se procedió a realizar la extirpación de la adrenal izquierda y en el mismo acto se seccionaron ambos lados del nervio vago (Adx-I+Nv-B). Este procedimiento quirúrgico se realizó con la adrenal derecha (Adx-D+Nv-B) o con ambas adrenales (Adx-B+Nv-B).

RESULTADOS

CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROGESTERONA EN EL ANIMAL INTACTO

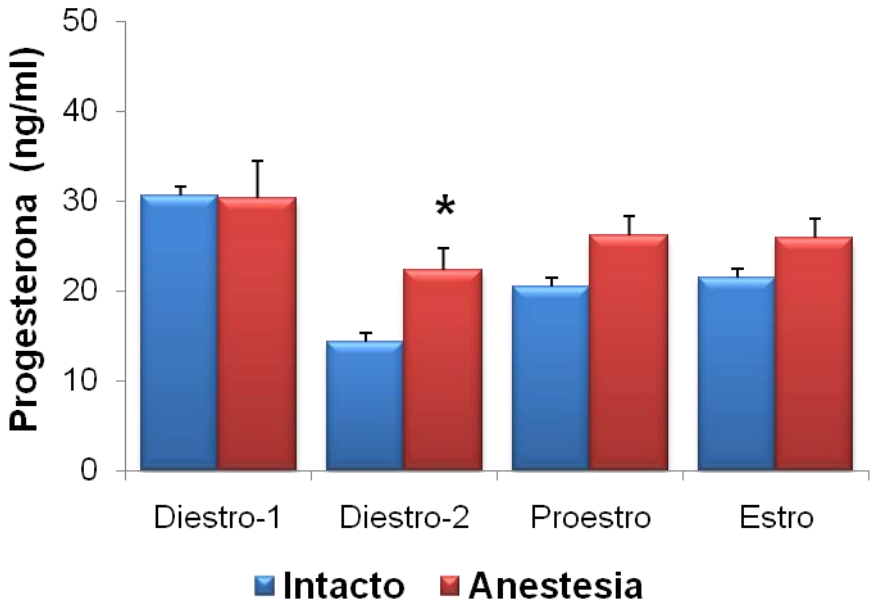
En los animales intactos la concentración sérica de P_4 fue mayor en la etapa del Diestro-1 comparada con las etapas de Diestro-2 y Proestro. Cabe mencionar que la concentración más baja de esta hormona se observó en el día del Diestro-2 (Gráfica 1).



Gráfica 1. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales intactos evaluada a las 14:00 h en cada día del ciclo estral de la rata. *p<0.05 vs. Diestro-1 (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

EFECTOS DE LA ANESTESIA

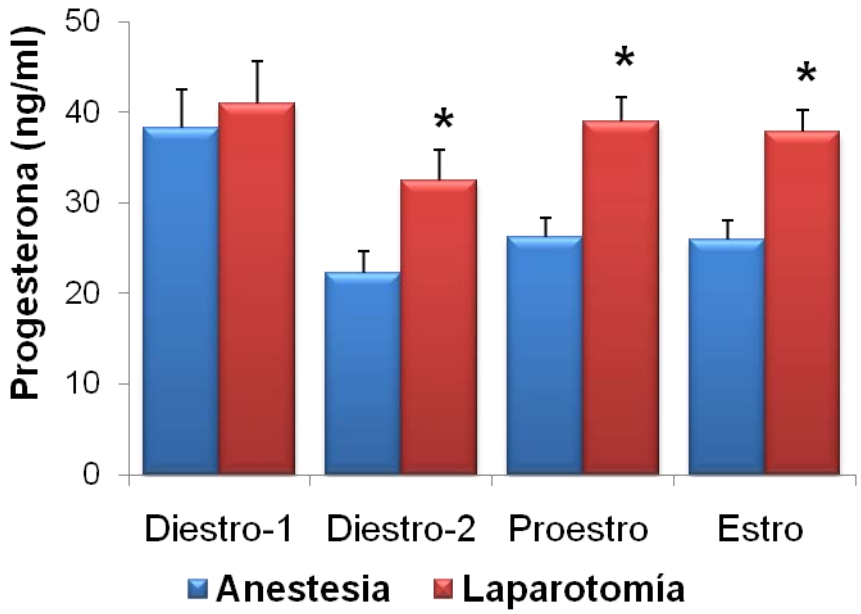
La inhalación de éter en los diferentes días del ciclo estral resultó en aumento significativo de la concentración sérica de la P_4 sólo en el día del Diestro-2 respecto al grupo Intacto (Gráfica 2).



Gráfica 2. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales intactos o anestesiados. *p<0.05 respecto al grupo intacto (prueba "t" de Student).

EFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA VENTRAL

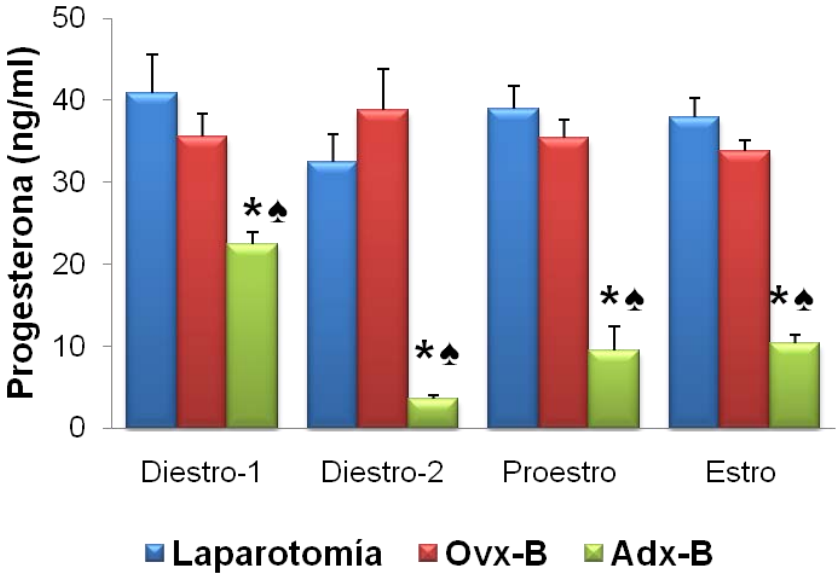
La perforación del peritoneo aumentó la concentración del esteroide en los días del Diestro-2, Proestro y Estro respecto a los animales con sólo anestesia (Gráfica 3).



Gráfica 3. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales anestesiados o sometidos a laparotomía ventral. *p<0.0005 respecto al grupo anestesiado (prueba "t" de Student).

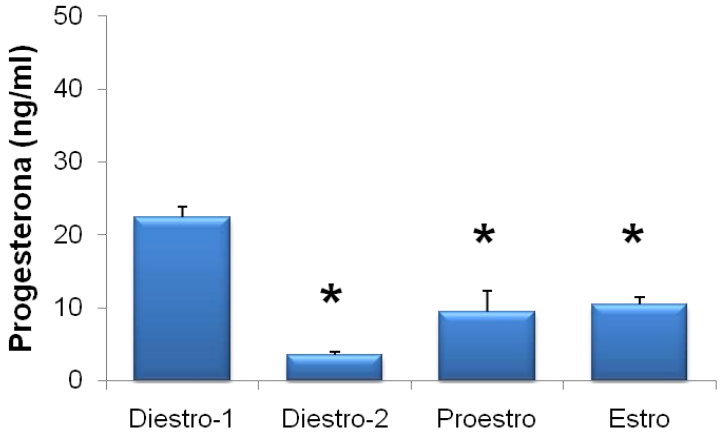
EFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA O LA ADRENALECTOMÍA BILATERAL

La extirpación de ambos ovarios en cada fase del ciclo estral no resultó en cambios en la concentración de la P_4 respecto a la del grupo con laparotomía. En cambio, la extirpación de ambas adrenales trajo consigo la disminución de la hormona respecto a la de los animales con perforación de peritoneo y a la de los animales con Ovx-B (Gráfica 4).



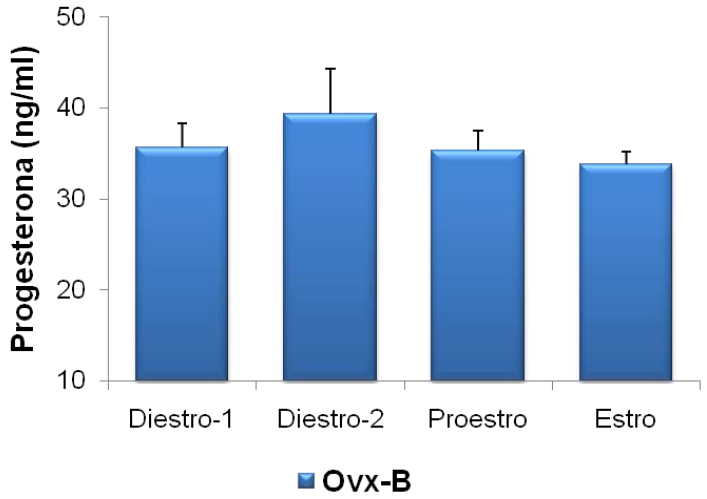
Gráfica 4. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales con laparotomía, sin ovarios (Ovx-B) o sin adrenales (Adx-B).*p<0.01 respecto al grupo con laparotomía; ♠ p<0.001 respecto al grupo con Ovx-B (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Se observó que las concentraciones séricas de P_4 de los animales sin ambas adrenales resultaron ser muy bajas en el día del Diestro-2, aumentan en los días del Proestro y Estro y llegan a su concentración más alta en el día del Diestro-1 (Gráfica 5).



Gráfica 5. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00. *p<0.001 vs. Diestro-1 (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

En el grupo sin ambos ovarios se observó que las concentraciones séricas de P_4 no son similares a lo largo del ciclo estral (Gráfica 6).



Gráfica 6. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con ovariectomía bilateral (Ovx-B) a las 13:00. *p<0.001 vs. Diestro-1 (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

EFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL

Eliminar el ovario izquierdo o el derecho no resultó en alteraciones de la concentración sérica de P_4 respecto a la de los animales con laparotomía. Asimismo, se puede observar que el ovario derecho *in situ* o el ovario izquierdo *in situ* contribuye con similares concentraciones séricas de la hormona a lo largo del ciclo estral (Tabla 1).

GRUPO	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
Laparotomía	9	40.9 ± 4.7	7	32.5 ± 3.4	8	38.9 ± 2.8	7	37.9 ± 2.4
Ovx-I	7	36.8 ± 2.0	7	31.1 ± 2.4	7	36.4 ± 3.14	7	36.1 ± 1.1
Ovx-D	7	41.1 ± 2.8	7	39.2± 3.2	5	44.0 ± 4.6	7	34.0 ± 1.3

Tabla 1. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con laparotomía, sin ovario izquierdo (Ovx-I, ovario derecho *in situ*), o sin ovario derecho (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*).

EFECTOS DE LA ADRENALECTOMÍA UNILATERAL

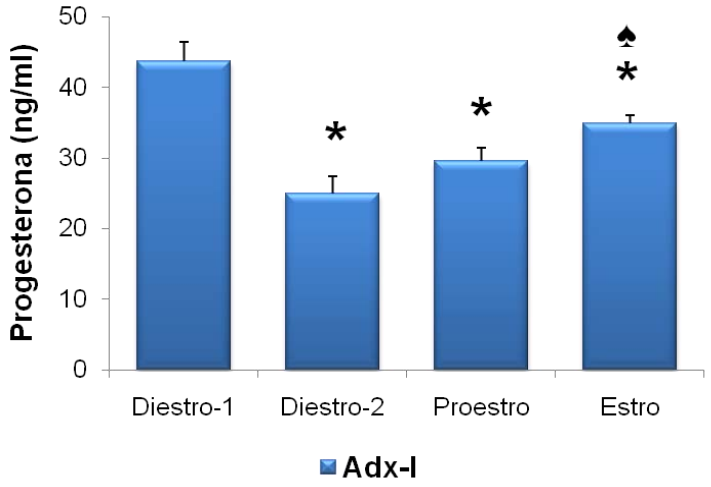
La falta de la adrenal izquierda o derecha en cada etapa del ciclo estral no resultó en alteraciones de la concentración sérica de P_4 respecto a la de los animales con laparotomía (Tabla 2).

GRUPO	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
Laparotomía	9	40.9 ± 4.7	7	32.5 ± 3.4	8	38.9 ± 2.8	7	37.9 ± 2.4
Adx-I	7	43.7 ± 2.8	5	25.0 ± 2.5	7	29.6 ± 1.9	6	34.9 ± 1.2
Adx-D	7	43.5 ± 3.7	5	26.2 ± 2.6	8	28.0 ± 2.3	6	34.7 ± 1.7

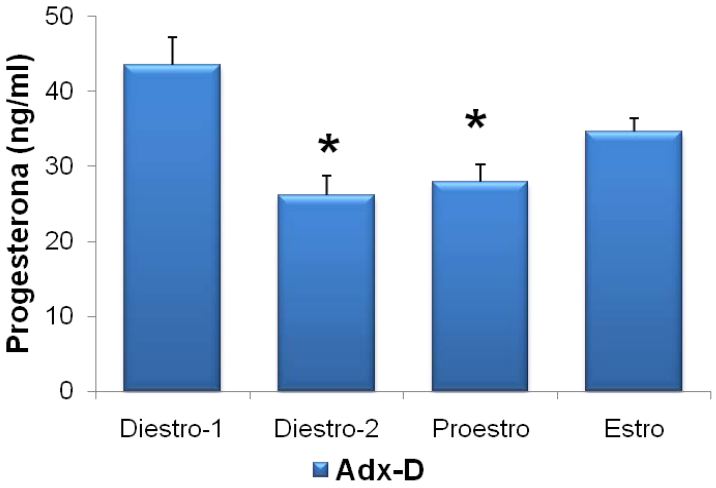
Tabla 2. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con laparotomía, sin adrenal izquierda (Adx-I, adrenal derecha *in situ*), o sin adrenal derecha (Adx-D, adrenal izquierda *in situ*).

Los cambios en la concentración sérica de P_4 en animales con Adx-I (Gráfica 7) o la Adx-D (Gráfica 8) dependieron de la etapa del ciclo en que se realizo la cirugía.

En los animales con la adrenal derecha *in situ* se observó menor concentración de la hormona en los días del Diestro-2 y Proestro respecto al Diestro-1 y en el día del Estro respecto a los días del diestro. En los animales con la adrenal izquierda *in situ* la concentración sérica sólo fue significativamente menor en los días del Diestro-2 y Proestro.



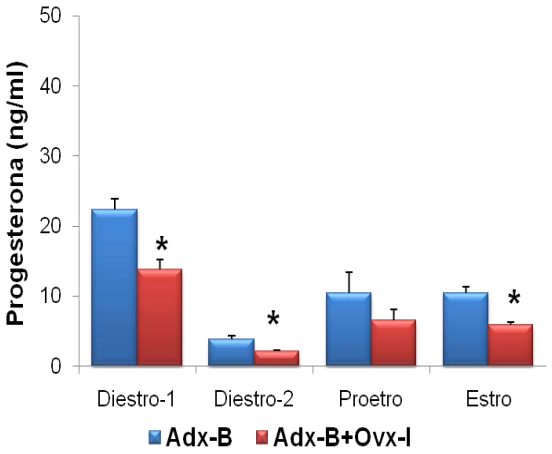
Gráfica 7. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales con adrenalectomía izquierda (Adx-I). *p<0.05 vs. Diestro-1; ♠p<0.05 vs. Diestro-2 (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).



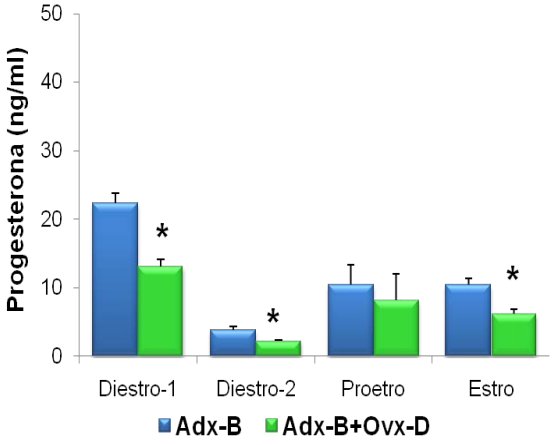
Gráfica 8. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en animales con adrenalectomía derecha (Adx-D). *p<0.01 vs. Diestro-1 (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

EFECTOS DE LA ADRENALECTOMÍA BILATERAL EN ANIMALES SOMETIDOS A OVARIECTOMÍA UNI O BILATERAL

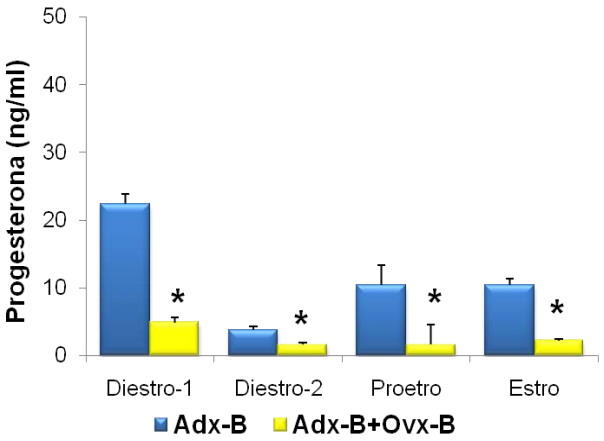
En los grupos de animales que se eliminaron ambas adrenales y el ovario izquierdo o derecho, se observó disminución de las concentraciones séricas del esteroide respecto a las del grupo con Adx bilateral en los días del diestro y Estro. En los animales sin ambas adrenales y sin las dos gónadas la concentración sérica de la hormona disminuyó en todos los días del ciclo estral respecto a la registrada en animales exclusivamente adrenalectomizados (Gráfica 9).



* p<0.005 vs Adx-B (prueba de "t" de Student).



* p<0.005 vs Adx-B (prueba de "t" de Student).



* p<0.005 vs Adx-B (prueba de "t" de Student).

Gráfica 9. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con adrenalectomía bilateral (Adx-B), adrenalectomía bilateral con ovariectomía izquierda (Adx-B+Ovx-I), ovariectomía derecha (Ovx-D), adrenalectomía bilateral con ovariectomía derecha (Adx-B+Ovx-D), ovariectomía bilateral (Ovx-B), o adrenalectomía bilateral con ovariectomía bilateral (Adx-B+Ovx-B).

EFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIO VAGO

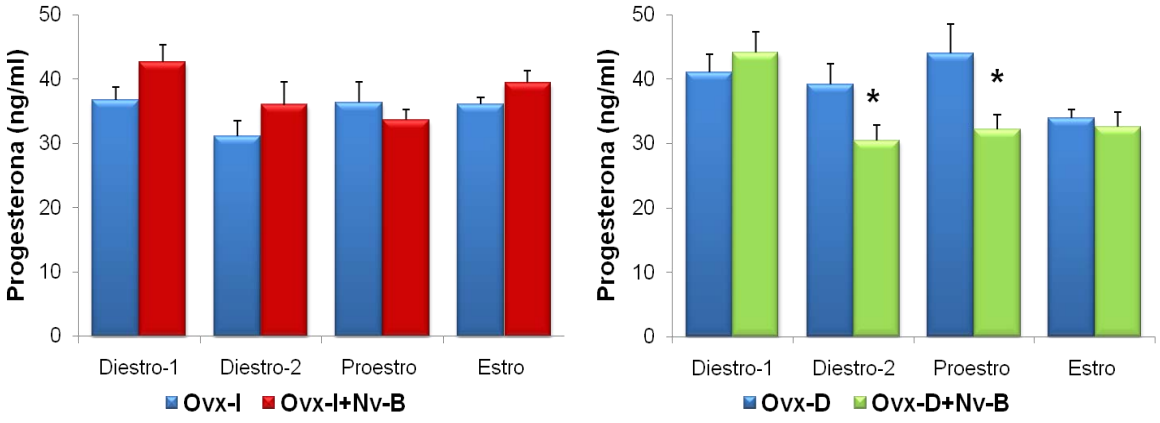
La sección unilateral o bilateral del nervio vago en las diferentes etapas del ciclo estral no resultó en cambios en las concentraciones séricas de P_4 respecto a las observadas en el grupo con laparotomía (Tabla 3).

GRUPO	n	Diestro-1	n	Diestro-2	n	Proestro	n	Estro
Laparotomía	9	40.9 ± 4.7	7	32.5 ± 3.4	8	38.9 ± 2.8	7	37.9 ± 2.4
Nv-I	7	49.6 ± 2.8	5	36.8 ± 3.5	7	37.4 ± 2.3	7	33.9 ± 1.9
Nv-D	7	49.1 ± 4.8	7	33.0 ± 1.8	7	37.4 ± 0.8	6	31.9 ± 2.7
Nv-B	7	49.2 ± 3.3	7	35.1 ± 3.6	5	34.6 ± 1.8	7	38.1 ± 3.8

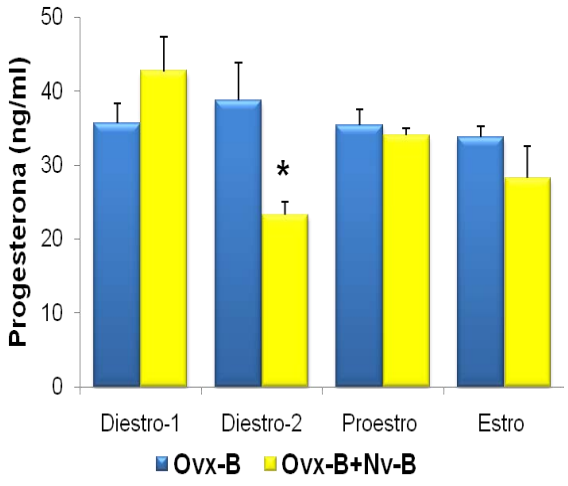
Tabla 3. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales con sección del Nervio Vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D) o de ambos Nervios Vago (Nv-B).

EFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA UNI O BILATERAL SEGUIDA DE LA SECCIÓN DE AMBOS NERVIOS VAGO

En los animales con sección bilateral de Nervio Vago a los cuales previamente se les extirpó el ovario derecho se observó disminución de la concentración sérica de P_4 en los días del Diestro-2 y Proestro respecto a la de los animales que tenían el ovario izquierdo *in situ inervado*. La extirpación ambos ovarios seguida de la sección bilateral de ambos Nervios Vago resultó en disminución de las concentraciones séricas de la hormona sólo en el día del Diestro-2, respecto a la de los animales a los cuales sólo se les extirparon los dos ovarios (Gráfica 10).



* p<0.01 vs Ovx-B (prueba de "t" de Student).

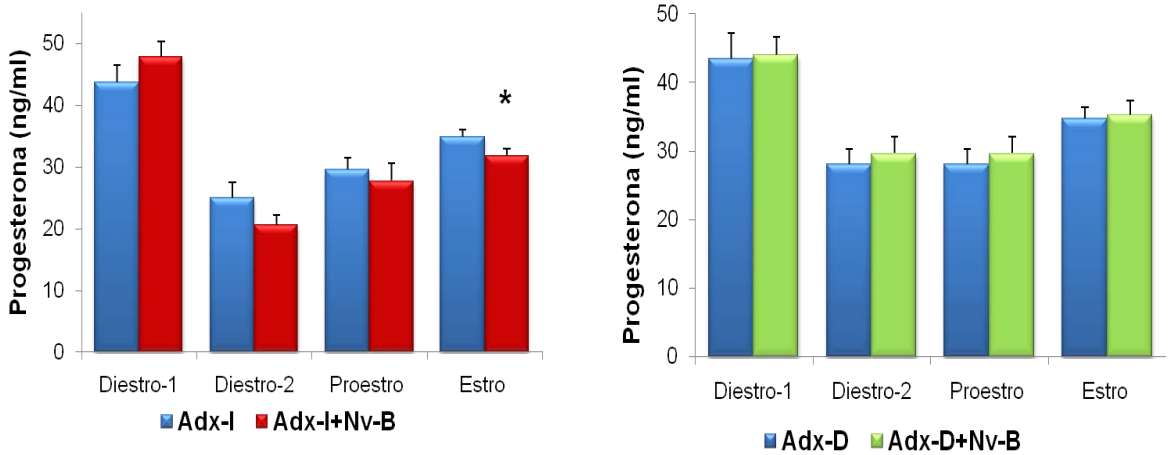


* p<0.05 vs Adx-B (prueba de "t" de Student).

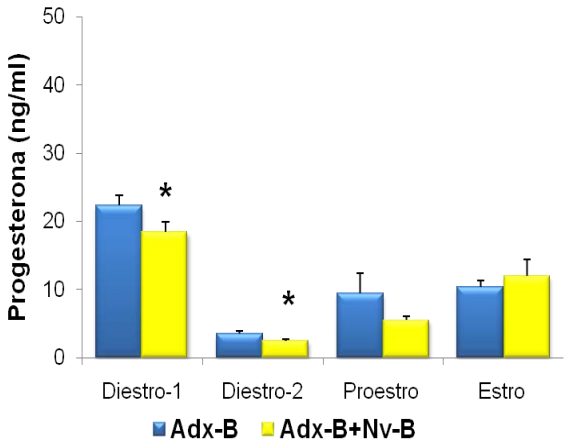
Gráfica 10. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales sometidos a vagotomía bilateral inmediatamente después de extirpar el ovario izquierdo (Ovx-I+Nv-B), derecho (Ovx-D+Nv-B) o ambos ovarios (Ovx-B+Nv-B).

EFECTOS DE LA ADRENALECTOMÍA UNI O BILATERAL SEGUIDA DE LA SECCIÓN DE AMBOS NERVIOS VAGO

En el día del Estro, la sección de ambos Nervios Vago en animales que sólo tenían la adrenal derecha *in situ* resultó en disminución de la concentración sérica de P_4 respecto a la del grupo sometido sólo a la Adx izquierda, mientras que, la adrenalectomía y vagotomía bilaterales en los días del diestro resultó en menor concentración sérica del esteroide respecto a la del grupo sometido solamente a Adx bilateral (Gráfica 11).



* p<0.05 vs Adx-I (prueba de "t" de Student).



* p<0.05 vs Adx-B (prueba de "t" de Student).

Gráfica 11. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) en animales sometidos a vagotomía bilateral inmediatamente después de extirpar la adrenal izquierda (Adx-I+Nv-B), o derecha (Adx-D+Nv-B) o ambas adrenales (Adx-B+Nv-B).

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este estudio se presentan evidencias de la interacción funcional entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la secreción de P_4, la cual es diferente para los animales intactos, con ovariectomía, o adrenalectomía y dependen de la etapa del ciclo estral. También muestra la importancia de la inervación parasimpática y sensitiva, aportada por el Nervio Vago, en la regulación de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-ovario y del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Y finalmente aporta pruebas que apoyan la hipótesis sobre la existencia de la comunicación neural entre los ovarios y las adrenales, y que los Nervios Vago son una de las vías principales por intermedio de los cuales las adrenales y los ovarios envían información nerviosa sobre su funcionamiento hacia los centros superiores hipotalámicos y extra-hipotalámicos. De tal forma que se puede sugerir que el ajuste de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de P_4 depende del ovario, adrenal y/o nervio vago que estén presentes en los animales, y del día del ciclo estral en que se estudian dichos mecanismos neuroendocrinos.

Los resultados obtenidos por la inhalación del éter en el Diestro-2 aunada a la perforación del peritoneo y la pared abdominal en Diestro-2, Proestro o Estro del ciclo estral muestran claramente que ambos estímulos actuaron como “factores estresantes” ya que los animales presentaron aumento de la concentración sérica de P_4. Un avance fundamental en la exploración científica del estrés ocurrió hace 150 años cuando Claude Bernard estableció el principio de que el equilibrio fisiológico interno dinámico es esencial para mantener al organismo en un entorno externo, caracterizado por su variabilidad. En la década de 1930, Cannon definió este equilibrio interno como "homeostasis" y utilizó los términos “físicos de tensión” y “estrés” para describir cualquier modificación en el estado inicial que desafía el estado homeostático. Asimismo, sugirió que la respuesta aguda de "lucha o vuelo" a un desafío de estrés activaba mecanismos necesarios para mantener la homeostasis; como por ejemplo al sistema nervioso autónomo a través de la liberación de catecolaminas (Ferin, 2006).

Más tarde, Hans Selye en 1936 nombró a los estímulos que causaban estrés como “factores estresantes” y sugirió que el eje endocrino hipotálamo-hipófisis-adrenal estaba involucrado en la respuesta global al factor estresante, para realizar funciones de adaptación y restablecer la normalidad. Definió el “síndrome del estrés”, que actualmente se conoce como “síndrome de adaptación general”, y lo caracterizó en varias etapas: la primera es la reacción de alarma, en la que el factor estresante altera el proceso homeostático y rápidamente es contrarrestado por la respuesta del eje simpático–adrenomedular a través de la liberación de catecolaminas. La segunda, es un estado de resistencia que involucra la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y la liberación de corticosteroides de la corteza adrenal. Y finalmente, si el estrés persiste puede presentarse agotamiento y muerte eventual (Ferin, 2006).

Actualmente se acepta que el equilibrio dinámico interno, conocido como homeostasis, constantemente es desafiado por las fuerzas adversas intrínsecas o extrínsecas o factores estresantes. Este estado de homeostasis impugnada es identificado como estrés. El equilibrio se restablece por una serie de respuestas de adaptación fisiológicas y conductuales que son el resultado de la integración de una diversidad de señales que activan distintas vías neurales centrales. La capacidad del cerebro para movilizar la respuesta da como resultado la activación de la secreción de la vasopresina, CRH y del sistema noradrenérgico en el locus coeruleus. Estos sistemas interactúan con varias rutas de transmisores en el cerebro y activan directamente el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y el sistema nervioso autónomo. Los cambios resultantes mejoran la respuesta adaptativa y la supervivencia (Ferin, 2006).

Las situaciones estresantes que producen la activación del eje adrenal, se traducen en incremento en la expresión del mRNA de la CRH en el núcleo paraventricular hipotalámico y del mRNA de la proopiomelanocortina (POMC) en los corticotropos de la adenohipófisis; el precursor proteico del cual deriva la ACTH (Höllts y col., 1986; Shiomi y col., 1986; Harbuz y Lightman, 1989; Lightman y Harbuz, 1993).

En la adenohipófisis, la CRH estimula la secreción de la ACTH, por la activación de receptores R1 (Ferin, 2006) y dicha hormona al ser secretada a la circulación estimula la secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal (Keller-Wood y col., 1984). A este respecto se ha observado que tanto en animales adrenalectomizados, como en los tratados crónicamente con glucocorticoides, el estrés agudo es capaz de evocar aumento del mRNA de la CRH (Lightman y Young, 1989; Harbuz y col., 1990).

Con base en dicha información, los resultados obtenidos en este estudio por la inhalación del éter aunada a la perforación del peritoneo y la pared abdominal fueron "factores estresantes" que activaron el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal con aumento en la secreción de CRH, ACTH y glucocorticoides. En apoyo a esta idea, también están los resultados obtenidos por Engeland y colaboradores, que en 1977, quienes mostraron que el estrés inducido por la cirugía resultó en aumento de las concentraciones plasmáticas ACTH y de glucocorticoides.

La activación neuroendocrina del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal por factores estresantes no sólo implica la liberación de la CRH del núcleo paraventricular, ya que con la disponibilidad de la CRH se evidenció que en la mayoría de las situaciones experimentales se potencia la secreción de CRH y de vasopresina (Antoni y col., 1983). Asimismo, se ha mostrado que la utilización simultánea de un antagonista de la vasopresina y un anticuerpo anti-CRH abole la secreción de ACTH inducida por el estrés por inhalación de éter (Rivier y Vale, 1983). Esto se debe a que en los humanos como en los roedores, la vasopresina está co-localizada con la CRH dentro de los somas de las neuronas núcleo paraventricular (Ferin, 2006).

Igualmente se ha sugerido un papel a la oxitocina en la respuesta del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal al estrés (Antoni y col., 1983), ya que se ha evidenciado incremento del neuropéptido en situaciones de estrés; como por ejemplo la inhalación de éter (Gibbs, 1984).

Se ha evidenciado que la inhalación del éter activa al sistema noradrenérgico central (Hedge y col., Mermet y Gonon, 1988). Como se mencionó anteriormente, el sistema nervioso simpático también responde a los factores estresantes y es una parte integral de la respuesta al estrés y de la reacción de "lucha o vuelo". Un área especialmente relevante que se estimula ante los factores estresantes es el locus coeruleus que da lugar a vías eferentes que proporcionan una fuente importante de noradrenalina en el cerebro, incluyendo el hipotálamo y el núcleo paraventricular, el cual se encuentra densamente inervado por fibras adrenérgicas y noradrenérgicas medulares y contiene receptores adrenérgicos. Palkovits y colaboradores, en 1975, describieron que ante factores estresantes se reduce el contenido hipotalámico de noradrenalina, reflejo de un aumento en su liberación. En condiciones de estrés llegan estímulos adrenérgicos al núcleo paraventricular a través de vías ascendentes del tronco del encéfalo y estimula la secreción de CRH (Ferin, 2006; Palkovits y col., 1974).

Las catecolaminas liberadas de la médula en respuesta a la activación del sistema nervioso simpático actúan en turno y en concierto con los glucocorticoides para aumentar la glucosa mediante la activación de la glucogenólisis y elevar el gasto cardíaco, facilitando así la entrega de los sustratos a tejidos que son críticos para la defensa inmediata del organismo (Gilbery y col., 1993). Las neuronas simpáticas ricamente inervan la vasculatura, el corazón, los músculos esqueléticos y otros órganos. Estudios en ratones knockout sugieren que el eje CRH puede también desempeñar un papel importante en controlar la expresión génica de enzimas involucradas en la síntesis de las catecolaminas en la médula adrenal (Ferin, 2006).

Existen evidencias que muestran que la corticosterona y los estresores crónicos también parecen influir en la actividad adrenérgica ovárica (Aguado y Ojeda, 1986; Paredes y col., 1998). Para investigar la acción de CRH en el ovario, se identificó, caracterizó y localizó los receptores a CRH en el ovario de la rata por estudios inmunohistoquímicos y se demostró la presencia de CRH inmunoreactiva en el citoplasma de las células del estroma, independientemente de su tamaño o la madurez de los folículos ováricos, en la

teca, así como en los ovocitos de folículos antrales, pero no los ovocitos primarios de folículos primordiales. Una pequeña cantidad de inmunotinción a CRH también se observó en algunas células de la granulosa, en células epiteliales y en el citoplasma de una subpoblación de células dentro de los cuerpos lúteos; esas células se encuentran a través de todas las etapas de maduración de los cuerpos lúteos y en todas las fases del ciclo estral. Con base en estos hallazgos, los autores concluyeron que los receptores a CRH están presentes en los ovarios de rata, por lo que sugieren que este neuropéptido puede desempeñar un papel regulador en esta gónada, quizás a través de sus propiedades proinflamatorias y/o participando en la regulación automática/paracrinas de la biosíntesis de esteroides (Mastorakos y col., 1993).

Al respecto, se ha demostrado en estudios *in vitro*, que en células de la granulosa de la rata estimuladas con FSH, la CRH inhibe la producción de estrógenos de una manera dosis-dependiente (Ferin, 2006).

En los roedores, la CRH ovárica fluctúa con el ciclo estral, y en el proestro es donde hay mayor contenido de CRH. Se ha observado que el ovario puede ser localmente sensible a factores estresantes, ya que el estrés agudo, como la exposición al agua fría, induce aumento significativo en el contenido de CRH ovárica, aunque esto ocurre sólo en el proestro lo cual puede constituir una señal de que el neuropéptido participa en el ciclo reproductivo gonadal (Nappi y col., 1996).

Una fuente potencial de CRH ovárica podrían ser las terminales postganglionares simpáticas y principalmente las neuronas sensoriales. CRH está presente en altas concentraciones en la cadena simpática y en los ganglios de la raíz dorsal, donde residen los cuerpos celulares de esas neuronas (Merchenthaler y col., 1983) y se depleta en la médula espinal y en los ganglios de la raíz dorsal de la rata en respuesta a la capsaicina, que es tóxica para las fibras aferentes sensoriales (Ferin, 2006). Los resultados sugirieron a los autores que la CRH no es meramente un factor de liberación de ACTH, sino también un péptido que puede estar involucrado en varias respuestas neuronales relacionadas con el estrés (Merchenthaler y col., 1983).

Por otro lado, se ha evidenciado que existe un circuito neural entre el SNC y el ovario en la regulación de la función ovárica por influencia neural directa (Gerendai y Halasz, 1981; Nance y col., 1984).

Con el uso de la técnica del trazado viral transneuronal se identificó los sitios en el SNC que se conectan con el ovario. Para ello, el virus de la seudorabia se inyectó en el ovario y después de la inoculación, la médula espinal y el cerebro se examinaron para identificar las neuronas infectadas por el virus a través de inmunocitoquímica. Esas neuronas se detectaron en grupos bien definidos de la médula espinal (columna de células intermediolaterales), tallo cerebral (núcleos vagales, área postrema, núcleo de parapiramidal, núcleo rafe caudal, grupos de células noradrenérgicas A1, A5, A7, locus coeruleus, núcleo de Barrington, periacueductal gris), hipotálamo (núcleo paraventricular, hipotálamo anterior, núcleo arcuato, zona incerta) y en algunas estructuras telencefálicas (amígdala, núcleo de la cama de la estría terminalis). Estos hallazgos proporcionaron la primera evidencia neuromorfológica de la existencia de una vía neuronal multisináptica entre el cerebro y el ovario que nace en el hipotálamo, pasa por el ganglio celíaco y finalmente llega al ovario mediante el NOS (Gerendai y col., 2002).

Estudios más recientes han mostrado que la inervación extrínseca del ovario, compuesta por fibras simpáticas, sensoriales, colinérgicas y parasimpáticas, participan modulando la acción de las gonadotropinas en el ovario (Aguado y Ojeda, 1984; Adashi y Hsueh, 1981; Barco y col., 2003; Burden, 1978; Dees y col. 1986; Cruz y col., 2006; Dissen y Ojeda, 1999; Domínguez y Riboni, 1971; Domínguez y col., 2003; Flores y col., 2006; Gerendai y Halász, 1997; Gerendai y col., 1998; Gilbert y col., 1980; Kannisto y col., 1986; Klein y Burden, 1980, 1988, 1988; Lawrence y Burden, 1980; Mitchel, 1988).

La sección uni o bilateral del (Nervio Ovárico Superior) NOS resulta en cambios en la capacidad ovulatoria del ovario denervado y de su capacidad de secreción hormonal. Según Aguado y Ojeda (1984), en ratas adultas la sección bilateral del NOS, realizada en la mañana del proestro, resulta en menor

secreción de P_4, mientras que, el mismo tratamiento realizado en la tarde resulta en disminución transitoria (8 min) en la concentración de la hormona, seguida de aumento significativo de la misma. En el mismo estudio, la sección bilateral del NOS en la mañana o las 16.00 horas del día del proestro de ratas adultas resultó en menor capacidad de secreción de estradiol a los 4 minutos después de realizada la sección. En cambio, la sección del NOS durante el día del estro no alteró las concentraciones de esteroides, ni el flujo sanguíneo.

Erskine y Weaver (1988) mostraron que la sección del NOS a las 11:00 h del proestro resulta en disminución en la concentración de P_4 evaluada a los 30 min. después de la cirugía, sin cambios a las 4.5 h después de la cirugía. Estos tratamientos experimentales no tienen efectos sobre las concentraciones séricas de estradiol.

La estimulación eléctrica del NOS realizada en los días del diestro, estimula la liberación de P_4 desde el ovario. Inversamente, cuando se realiza la sección del NOS en el día del proestro, disminuyen repentinamente las concentraciones de P_4 y estradiol en la vena ovárica (Aguado, 2002).

Se ha demostrado que la activación simpática, específicamente la activación de los receptores β2, cuya densidad varía durante el ciclo estral, se asocia con la liberación de P_4 (Adashi y Hsueh, 1981; Kannisto y col., 1985).

Aunada a la activación del eje hipotálamo-hipófisis adrenal, hipotálamo-hipófisis-ovario y la activación del sistema nervioso simpático central y periférico, el aumento en la secreción de P_4 en los animales con laparotomía también pudo ser el resultado de la activación de la inervación del peritoneo; como se ha evidenciado en otros trabajos (Flores y col., 2008). Esta idea se apoya en los resultados obtenidos por Tanaka y colaboradores (2002), quienes mostraron que la mayor parte del peritoneo parietal recibe nervios sensoriales desde la raíz del ganglio dorsal y el peritoneo visceral recibe inervación por parte de los nervios espinales y del nervio vago. Con base en los resultados se sugiere que existe una vía neural entre el peritoneo ventral y los ovarios, y las adrenales, que parece ser muy específico en el control de secreción de P_4.

La inervación parasimpática y sensorial que recibe el ovario proviene del nervio vago. Burden y colaboradores, en 1983, utilizaron la técnica de trazado retrógrado, e inyectaron peroxidasa de rábano en el ovario derecho o izquierdo de la rata y, observaron que el soma de las neuronas de los nervios que inervan al ovario y que provienen del nervio vago, se localizan en el ganglio nodoso y en los ganglios de la raíz dorsal ipsilateral desde los segmentos T10 a L2 de la médula espinal; la mayor concentración de células con marcaje fue en T13 y L1. Con base en estos resultados, los autores concluyeron que las fibras aferentes viscerales desde el ovario pueden mediar reflejos viscerales que modulan la función ovárica.

En este estudio también se mostró que en animales intactos y en los que fueron sometieron a Ovx uni o bilateral, son las glándulas adrenales las que contribuyen con mayor concentración de P_4 a la circulación en cada etapa del ciclo estral de la rata, lo cual ya había sido previamente reportado por el grupo de trabajo (Flores y col., 2008). La contribución de esta hormona a la circulación por los ovarios es mucho menor comparada con la que aportan las adrenales en cada etapa del ciclo; sobre todo en las etapas del diestro. Por tanto, se podría sugerir que la P_4 que es liberada a la circulación proviene de las adrenales y en menor proporción de los ovarios. Así, la secreción de P_4 por las adrenales es similar en cada etapa del ciclo estral, mientras que la de los ovarios es menor en el día del Diestro-2, aumenta en los días del Proestro y Estro y libera su máxima secreción en el Diestro-1.

Los resultados obtenidos en los animales con Ovx o Adx unilateral evidenciaron que la secreción de la P_4 por parte del lado derecho o izquierdo de los ovarios o de las adrenales es simétrica en cada etapa del ciclo estral. En los animales con adrenalectomía unilateral se observa que el patrón de secreción de la hormona es mayor en el día del Diestro-1, lo cual puede deberse a la presencia de la P4 liberada por los cuerpos lúteos recién formados en los ovarios.

Sin embargo, es interesante la respuesta que se da en los animales sin adrenales y con un sólo ovario *in situ* o bien sin ovarios, ya que la secreción de P_4 por el ovario *in situ* disminuye comparado con el animal sin adrenales en los días del diestro y Estro, lo que siguiere que los ovarios sí aportan una cantidad significativamente importante de la hormona a la circulación en dichos días. También pone de manifiesto y corrobora que la secreción de P_4 por parte de los ovarios es simétrica a lo largo del ciclo estral.

Por otra parte al realizar la extirpación tanto de ambas adrenales como de ambas gónadas se observó que la concentración de sérica de la hormona P_4 disminuyó considerablemente respecto al grupo con sólo Adx-B, lo que pone de manifiesto que no sólo las adrenales y los ovarios liberan P_4 a la circulación. Al respecto, se han llevado acabo estudios que demuestran que el tejido adiposo, las neuronas, la piel y los huesos también sintetizan esta hormona (Brown, 1999).

Por otro lado, se sabe que los ovarios reciben información de varios neurotransmisores y péptidos que pueden estar modulando su reactividad a las gonadotropinas. En este estudio se hizo evidente que el Nervio Vago no participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de P_4 en las diferentes etapas del ciclo estral de los animales que tenían ambos ovarios y ambas adrenales. Con base en ello, se sugiere que en el horario en el que se realizó el estudio, puede estar participando otro sistema neuronal en la regulación de las funciones ováricas.

Al respecto, se tienen evidencias de que el NOS es un nervio que lleva información de tipo simpático y peptidérgico; la mayor parte de sus fibras son de tipo noradrenérgico y en menor proporción son fibras vipérgicas (Dissen y Ojeda, 1999). Se origina en neuronas del ganglio celíaco, cuyos axones constituyen el NOS (Sosa y col., 2004). Está en el borde libre del “ligamento suspensorio”, desciende por el límite inferior de la caja torácica hasta el ovario (Burden y Lawrence, 1980). Entra por el hilio, asociado con los vasos sanguíneos, formando una red estrechamente relacionada con los folículos

primordiales y en desarrollo, termina en las células de la teca interna, sin tener contacto con células de la granulosa o del cuerpo lúteo (Burden, 1978).

En estudios previos se ha mostrado que en ratas hembra adultas a las que se les seccionó el NOS izquierdo, derecho o ambos a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificadas una hora después, el NOS participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de P_4 lo cual depende de la etapa del ciclo estral en estudio.

Así, en el Diestro-1 es necesaria la información noradrenérgica y Vipérgica que transcurre por el NOS del lado izquierdo ya que modula de manera estimulante la secreción de P_4; asimismo requiere la presencia de ambos lados del NOS para que dicha respuesta se presente (Montiel y col., 2005), en el Diestro-2 sólo el NOS del lado derecho modula en forma inhibitoria la secreción de la hormona (Mendoza, 2007), en el Proestro se requieren ambos lados del NOS para que modulen de manera inhibitoria la secreción del esteroide (Gallegos y col., 2005) y en el Estro el NOS del lado izquierdo, derecho o ambos lados modulan en forma inhibitoria la secreción del progestágeno (Flores y col., 2007).

Con base en dicha información, se podría sugerir que en el animal que tiene ambos ovarios y adrenales, la información de tipo simpático que transcurre por el NOS es la que modula la secreción de P_4, por lo menos a las horas en que se realiza este estudio. Y se propone que el Nervio vago también participa en la regulación de la secreción de P_4, pero en otro horario en cada etapa del ciclo estral de la rata.

Al respecto, muchos procesos fisiológicos y del comportamiento presentan ritmicidad circádica, la cual es controlada por relojes endógenos presentes en neuronas del núcleo supraquiasmático (NSQ), en otras regiones del hipotálamo y el sistema límbico y en células de los tejidos periféricos. Los relojes celulares son dirigidos por un oscilador molecular que genera un ritmo de expresión génica con una periodicidad de alrededor de 24 horas (Antle y

Silver, 2005; Chappell, 2005; Guo y col., 2005; Kalsbeek y col., 2006; Kennaway, 2005; Okamura, 2007).

El reloj biológico está formado por dos osciladores circádicos que se presentan en antifase uno con relación al otro. Para el caso del criceto, corresponde al lado izquierdo y derecho del NSQ (De la Iglesia y col., 1995) y la activación de las neuronas GnRHérgicas de la región POA-AHA por parte de los núcleos supraquiasmáticos es asimétrica (De la Iglesia y Schwartz, 2006).

En los mamíferos, las células "reloj" en el NSQ generan señales temporales por intermedio de un sistema "feedback" autoregulador de transcripción-postranscripción génica. La actividad "reloj" en las neuronas del NSQ se expresa como señales eléctricas dependientes de su actividad, las cuales están acopladas a neuronas localizadas en otras regiones del SNC. El NSQ disemina sus señales de tiempo en forma de impulsos nerviosos sincronizados hacia el núcleo dorsal del vago, células de la columna intermedio lateral de la médula espinal, núcleos hipotalámicos, etc. La señal de tiempo generada por genes específicos localizados en el NSQ es convertida en señales nerviosas y hormonales, las cuales sincronizan los relojes de todo el organismo (Okamura, 2007).

Los resultados de la Ovx-I seguida de la sección bilateral de ambos Nervios Vago mostró que el ovario derecho *in situ* no requiere de la información neural que llega a través del Nervio Vago, ya que la concentración de la hormona en circulación fue semejante a la del animal con el ovario derecho *in situ* inervado. Mientras que, la disminución en la concentración de P_4 en los días del Diestro-2 y Proestro en el modelo experimental con Ovx-D+Nv-B muestran que, la información que proviene de los Nervios Vago estimula la secreción de P_4 en el animal con el ovario izquierdo *in situ* en estos días del ciclo estral.

En animales que carecen de ambos ovarios y de ambos Nervios Vago, la disminución de la concentración sérica de la hormona en el Diestro-2, podría estar relacionada con la denervación de las adrenales, lo cual nos sugiere que los Nervios Vago modulan de manera estimulante la secreción del esteroide por parte de las adrenales.

Cuando se analizaron los efectos de llevar a cabo la Adx-I+Nv-B se mostró que la concentración sérica de P_4 disminuyó en el día del Estro, esto pone de manifiesto que en el animal con la adrenal derecha *in situ* los Nervios Vago estimulan la secreción de P_4 en este día del ciclo estral. Sin embargo, cuando se encuentra la adrenal izquierda *in situ* los Nervios Vago no modulan la concentración de la hormona.

Por último, en los animales sin adrenales y con vagotomía bilateral, las concentraciones séricas de P_4 observadas en los días del diestro, apoyan lo que previamente se había mencionado; que los ovarios aportan concentraciones de la hormona a la circulación, pero además pone de manifiesto que requieren de la información que proviene de las adrenales y de los Nervios Vago para estimular dicha secreción.

CONCLUSIONES

- ✓ Las adrenales son las glándulas que aportan mayor concentración de progesterona a la circulación a lo largo del ciclo estral.

- ✓ Los ovarios secretan P4 a la circulación en menor proporción que las adrenales y esta secreción es mayor en el día del Diestro-1.

- ✓ La secreción de P_4 es simétrica por parte del ovario izquierdo o derecho en cada uno de los días del ciclo estral.

- ✓ La secreción de P_4 por cada una de las adrenales es simétrica a lo largo del ciclo estral.

- ✓ La inervación vagal no forma parte de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de P_4 a la circulación en animales que tienen ambas gónadas y ambas adrenales.

- ✓ La inervación vagal modula de manera estimulante la secreción de P4 en animales que tienen el ovario izquierdo *in situ.*

- ✓ En los animales que no tienen ambos ovarios, la información parasimpática y sensorial que llega a las adrenales en el día del Diestro-2 modula de manera estimulante la secreción de P_4.

- ✓ Los nervios vago modulan la de forma estimulatoria la concentración sérica de P_4 en animales con la adrenal derecha *in situ* en el día del Estro.

- ✓ En los animales que no tienen ambas adrenales, la información parasimpática y sensorial que llega a los ovarios en los días del diestro modula de manera estimulante la secreción de P_4.

BIBLIOGRAFÍA

Adashi EY, Hsueh AJ. (1981). Stimulation of beta 2-adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. Endocrinology 108:2170-2178.

Afifi A, Begman R. (1998) Neuroanatomía funcional. Texto y atlas. Edit. McGraw-Hill Interamericana. México. pp. 131-132.

Aguado L, Ojeda SR. (1986). Prepubertal rat ovary: hormonal modulation of beta-adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. Biol. Reprod. 34, 45–50.

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

Aguado LI. (2002). Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. Microsc Res Tech. Dec 15 59(6):462-73.

Alarcón MA. (2005). Anotomía clínica del aparato genital femenino. Edit. El Manual Moderno. Bogotá, Colombia. pp 298-299.

Allen LG, Lawrence Jr, Burden HW, Hodson CA (1985). Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. J. Reprod. Fert. 74: 87-94.

Antle MC, Silver R. (2005). Orchestrating time: arrangements of the brain circadian clock. Trends Neurosci. Mar 28(3):145-51.

Antoni FA, Holmes MC, Jones MT. (1983). Oxytocin as well as vasopressin potentiate ovine CRF in vitro. Peptides. Jul-Aug;4(4):411-5.

Arimura A. (2000). Hypothalamic hormones. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Editores: Conn PM, Freeman ME. Edit. Humana Press inc. Totowa, New Jersey. USA. pp. 41-58.

Austin CR, Short RV. (1982). Hormonas reproductoras. En: Hormonas en la reproducción. Edit. La Prensa Médica Mexicana. México. pp. 11-13.

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. pp. 21: 209-215.

Berne RM, Levy MN. (1987). Las glándulas suprarrenales. En: Fisiología. Edit. Medica Panamericana. pp. 1040-1050.

Berne RM, Levy MN. (1995). La corteza suprarrenal. En: Fisiología. Edición: 1ª. Editorial: Mosby/Doyma. España. pp. 558-571.

Botella LJ. (1982). Gestágenos. En: endocrinología de la mujer. 6a Ed. Edit. Editorial Científico-médica. Barcelona, España. pp. 43.

Botero UJ; Jubiz HA; Henao G. (2004). Obstetricia y ginecología: Texto integrado. Ed. 7ª, Edit. Corporación para Investigaciones Biológicas, Colombia. pp. 601-603.

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

Burden H.W, Lawrence I.E, Louis T.M, Hodson C.A. (1981). Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. Neuroendocrinology. 33: 218-222.

Burden HW, Lawrence IE, Hodson C. (1980). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on pituitary content of prolactin and gonadotropins. Medical Science; 8: 809.

Burden HW, Lawrence IE, Louis TM, Hodson C. (1983). Abdominal vagotomy does not activate the corpus luteum in rats. Neuroendocrinology, 37: 288-290.

Burden HW, Lawrence IE, Smith CP, Hoffman J, Leonard M, Fletcher DJ, Hodson CA. (1986). The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. The Anatomical Record 214: 61-66.

Burden HW, Lawrence IE. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. Neuroendocrinology, 23: 368-378.

Burden HW, Leonard M, Smith CP, Lawrence IE Jr. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. Anat Rec. Dec 207(4):623-7.

Burden HW. (1978). Ovarian innervation. En: The Vertebrate Ovary Comparative Biology, Jones RE (Ed). New York: Plenum Press. pp. 615-638.

Burden HW., Lawrence IE. (1978). Experimental studies on the Acetylcholinesterase-positive nerves in the ovary of the rat. Anat. Rec. 190: 233-242.

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

Chappell PE. (2005). Clocks and the black box: circadian influences on gonadotropin-releasing hormone secretion. J Neuroendocrinol. Feb 17(2):119-30.

Chávez R, Cruz, Ma.E, Domínguez R. (1986). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsiand contralateral vagus nerves on the remaining ovary. Endocrinology, 113, 397-401.

Coupland RE. (1965). Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. II. Normal innervation. J. Anat. 99, 2: 255-272.

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

Cruz, Ma. E., Chávez, R., Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. La Revista Investigación Clínica, 38: 167-171.

De la Iglesia HO, Blaustein JD, Bittman EL. (1995). The suprachiasmatic area in the female hamster projects to neurons containing estrogen receptors and GnRH. Neuroreport. Sep 11;6(13):1715-22.

De la Iglesia HO, Schwartz WJ. (2006). Minireview: timely ovulation: circadian regulation of the female hypothalamo-pituitary-gonadal axis. Endocrinology. Mar;147(3):1148-53. Epub 2005 Dec 22.

Dean PE. (2003). Progesterone Receptor Structure/Function and Crosstalk with Cellular Signaling Pathways. En: Encyclopedia of Hormones. Editores: Henry HL, Norman AW. Edit. Academic Press. Chief, USA. Vol. 3: 249-257.

Dees WL, Ahmed CE, Ojeda SR. (1986). Substance P- and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. Endocrinology. pp. 119 (2): 638-641.

Del Paine SN, Robert Brush FR. (1990). Adrenal morphometry in unilateral and sham adrenalectomized syracuse high and low avoidance rats. Physiology & Behavior (48)2, August, 299-306.

Delarue GA, Contesse V, Langlet S, Sicard F, Perraudin V, Lefebvre H, Kodjo M, Leboulenger F, Yon L, Gallo-Payet N, Vaudry H. (2001). Role of neurotransmitters and neuropeptides in the regulation of the adrenal cortex. Rev Endocr Metab Disord. 2: 253-267.

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

Domínguez R y Riboni L. (1971). Failure of ovulation in autograffed ovary of hemispayed rat. Neuroendocrinology, 7: 164-170.

Domínguez R, Sánchez S, Chávez R. (1987). The effects of unilateral vagotomy (UV) on the estrous cycle (EC) and ovulation depend on the day of the cycle when vagotomy is performed. Society for the study of reproduction. Supplement Number 1. Biology of reproduction. Vol. 36 July 20-23. USA. pp 115.

Domínguez R., Chávez R, y Cruz Ma.E (1991) La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Tópicos selectos de biología. Autor: Domínguez CR. Edit. Miguel Ángel Porrua. México, D.F. pp 162-183.

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

Domínguez R, Morales L, Cruz ME, Flores A. (2004). Asimetrías Ováricas. 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, AC. Publicado en Memorias de la Sociedad, Oaxaca, Oax. pp. 62-63.

Engeland WC, Shinsako J, Winget CM, Vernikos-Danellis J, Dallman MF. (1977). Circadian patterns of stress-induced ACTH secretion are modified by corticosterone responses. Endocrinology. Jan;100(1):138-47.

Erskine MS y Weaver CE Jr. (1988). The role ovrian symphatetic innervation in the control of estrous responsiveness in the rat. Horm Behav. pp. 22: 1-11.

Fawcett DW. (1995). Tratado de histología. Ed. 12a McGraw-Hill Interamericana. España. pp. 886-907.

Feder HH, Brown-GranT K, Corker CS. (1971). Pre-ovulatory progesterone, the adrenal cortex and the 'critical period' for luteinizing hormone release in rats. Journal of Endocrinology 50, 29-39.

Ferin M. (2006). Stress and the Reproductive System. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Ed. 3ª. pp 2627-2696.

Flores OK. (2006). Participación de las glándulas suprarrenales y los ovarios en la regulación de la ovulación y la concentración sérica de progesterona, testosterona y 17-β estradiol. Tesis de licenciatura para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

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. Reprod Biol Endocrinol. pp. 6 (1): 48-52.

Flores A, Velazco J, Gallegos AI, Mendoza FD, Chavira R, Cruz Ma.-E, Domínguez R. (2007). Efectos de la sección del nervio ovárico superior contralateral al ovario in situ sobre la secreción de progesterona y estradiol durante el ciclo estral de la rata con ovariectomía unilateral. XXXII Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, Guadalajara, Jal. pp: 98-109.

Fradson RD. (1988). Aspectos fisiológicos dela reproducción dela hembre. En: Anatomía y fisiología de los animales domésticos. Ed. 4ª, Edit. Interamericana McGraw-Hill. USA. pp. 390-392.

Freeman M.E. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: The physiology of reproduction. Second edition. Raven Press. New York, USA. pp 613-620.

Funk CR., DeMayo F. (1999). Progesterone Actions on Reproductive Tract. En: Encyclopedia of reproduction. Academic Press. USA, 4: 6-16.

Gallegos AI, Montiel C, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R. (2005). Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro previo a la ovariectomía unilateral (ULO) sobre la concentración de estradiol (E2), progesterona (P4). XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-214. Guadalajara, Jal.

Ganong WF. (2004). Sistema reproductor femenino. En: Fisiología Médica. 19a Ed. Edit. El Manual Moderno. México. pp.472-485.

Gardner DG, Shoback D. (2008). Endocrinología básica y clínica de Greenspan. 7ª Ed. Edit. Manual Moderno. México. pp. 360-367.

Gerendai I, Csaba ZS, Vokó Z, Csernus V. (1995). Involved of a direct neuralmechanism in the control of gonadal functions. J. Steroid Biochem. Molec. Biol. (53:1-6) 299-305.

Gerendai I, Halasz B. (1981). Participation of a pure neuronal mechanism in the control of gonadal functions. Andrologia. Jul-Aug 13(4):275-82.

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

Gerendai I, Tóth IE, Boldogkoi Z, Medveezky I, Halász B. (1998). Neural labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. Neuroendocrinology. 68: 244-256.

Gerendai I., Kocsis K., Halász B. (2002). Supraspinal connections of the ovary: structural and functional aspects. Microsc. Res. Tech. 59: 474-483.

Gerendai, I. and Halasz, B. (2000). Central nervous system structures connected with the endocrine glands: findings obtained with the viral transneuronal tracing technique. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 108, 389–395.

Gerendai, I., Toth, I. E., Boldogkoi, Z., Medveczky, I., and Halasz, B. (2000). Central nervous system structures labelled from the testis using the transsynaptic viral tracing technique. J. Neuroendocrinol. 12, 1087–1095.

Gibbs DM. (1984). Dissociation of oxytocin, vasopressin and corticotropin secretion during different types of stress. Life Sci. Jul 30;35(5):487-91.

Gilbert RFT, Mesón PC, Fahrenkring J, Lee CM, Penman E, Wass J. (1980). Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. Journal Neurochemistry 34: 108-113.

Gilbey MP, Spyer KM. (1993). Essential organization of the sympathetic nervous system. Baillieres Clin Endocrinol Metab. Apr;7(2):259-78.

González MJ, Lailla VJM, Fabre GE, Gonzáles BE. (2006) Obstetricia. Ed. 5ª, Edit. Masson. Barcelona, España. pp. 42-51.

Greespan FS y Strewler GJ, (1998). Endocrinología básica y clínica. Ed. 4ª, Edit. El Manual Moderno. México. pp. 497-502.

Guo H, Brewer JM, Champhekar A, Harris RB, Bittman EL. (2005). Differential control of peripheral circadian rhythms by suprachiasmatic-dependent neural signals. Proc Natl Acad Sci U S A. Feb 22;102(8):3111-6.

Guyton AC y Hall JE. (2001). Tratado de Fisiología Médica. 10ª Ed. Edit. Interamericana MacGraw-Hill. México. pp: 1117 -1129.

Guyton AC. (1997). Anatomía macroscópica del sistema nervioso. En: Anatomía y fisiología del sistema nervioso. Neurociencia básica. Ed. 2ª. Edit. Medica Panamericana. Buenos Aires. pp. 53-54.

Guyton AC. (1997). Hormonas corticosuprarrenales. En: Tratado de Fisiología. 9A de. Edit. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid, España. pp: 1047-1062.

Hadley ME. (2000). Hormone and Female Reproductive Phisiology. En: Endocrynology. Ed. 5a, Edit. Price Hall. E.U. pp. 445-463.

Hans Selye (1936). Acute phlegmonous appendicitis produced by intravenous administration of histamine. The Lancet. Vol. 22: 5908 (21). pp 1210-1211.

Harbuz MS, Lightman SL. (1989). Responses of hypothalamic and pituitary mRNA to physical and psychological stress in the rat. J Endocrinol. Sep;122 (3):705-11.

Harbuz MS, Nicholson SA, Gillham B, Lightman SL. (1990). Stress responsiveness of hypothalamic corticotrophin-releasing factor and pituitary pro-opiomelanocortin mRNAs following high-dose glucocorticoid treatment and withdrawal in the rat. J Endocrinol. Dec;127(3):407-15.

Hedge GA, van Ree JM, Versteeg DH. (1976). Correlation between hypothalamic catecholamine synthesis and ether stress-induced ACTH secretion. Neuroendocrinology. 21(3):236-46.

Hill TR. (1962). Paradoxical effects of ovarian secretion. En: *The Ovary*, vol. 2, Editor. Zuckerman S. Edit. Academic Press. New York. pp. 231-261.

Höllt V, Przewłocki R, Haarmann I, Almeida OF, Kley N, Millan MJ, Herz A. (1986). Stress-induced alterations in the levels of messenger RNA coding for proopiomelanocortin and prolactin in rat pituitary. Neuroendocrinology. 43(3):277-82.

Horrobin DF. (1976). Corteza suprarrenal. En: Fisiología y bioquímica medicas. Edit. Savat Editores S.A. Barcelona, España. pp. 260-265.

Hourvitz A and Adashi E. (2003). Ovulation. En: Encyclopedia of Hormones. Editores: Henry HL. and Norman AW., Vol. 3. Academic Press. Chief USA. pp 249-257.

Houssay BA. (1976). Reproducción. En: Fisiología Humana Ed. 4ª. Edit. Ateneo. México. pp. 816-818.

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

Kalsbeek A, Perreau-Lenz S, Buijs RM. (2006). A network of (autonomic) clock outputs. Chronobiol Int. 23(3):521-35.

Kannisto P, Owman C, Walles B. (1985). Involvement of local adrenergic receptors in the process of ovulation in gonadotrophin-primed immature rats. J Reprod Fertil. Nov 75(2):357-62.

Kannisto P, Owman C, Schmidt G, Walles B. (1986). Evidence for prejunctional $GABA_B$ receptors mediating inhibition of ovarian follicle contraction induced by nerve stimulation. European Journal of Pharmacology. Vol. 122-1(11) pp 123-129.

Keller-Wood M, Shinsako J, Dallman MF. (1984). Interaction between stimulus intensity and corticosteroid feedback in control of ACTH. Am J Physiol. Oct; 247(4 Pt 1):E489-94.

Kemppainen RJ, Behrend EN. (1997). Adrenal physiology. Vet Clin North Am Small Anim Pract. Mar;27(2):173-86.

Kennaway DJ. (2005). The role of circadian rhythmicity in reproduction. Hum Reprod Update. Jan-Feb;11(1):91-101.

Kesse WK, Parker TL, Coupland RE. (1988). The innervation of the adrenal gland. I. The source of pre- and postganglionic nerve fibres to the rat adrenal gland. J Anat. 157: 33-41.

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

Klein CM y Burden HW. (1980). The origin of the extrinsec adrenergic innervation to the rat ovary. Anat Rec 196: 51-59.

Klein CM y Burden HW. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. Neurocience Letters. 85: 217-222.

Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS. (2004). Williams Tratado de endocrinología. Vol.1. Edit. Elsevier. Madrid, España. pp.125, 145.

Larrea F, Oliart RM, Escorza A, Ulloa-Aguirre A, Valencia X. (1991) Fisiología y mecanismos de acción de la gonadotropinas hiofisiarias. En: Tópicos selectos de biología. Autor: Domínguez CR. Edit. Miguel Ángel Porrua. México, D.F. pp 107-131.

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

Lawrence IE, Burden HW, Louis TM. (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentration and fetal resorption. Journal of Reproduction and Fertility, 33: 131-136.

Leonard MJ. Smith CP, Hodson CA, Louis TM, Lawrence IE, Allen LG, Burden HW. (1984) The effect of vagotomy on ovarian follicular development. Anat. Rec. 208:471-472.

Levy MN, Stanton BA; Koeppen BM. (2006). Corteza suprarrenal. En: Berne y Levy Fisiología. 4a Ed. Edit. Elsevier. Madrid, España. pp. 678.

Lightman SL, Young WS 3rd. (1989). Influence of steroids on the hypothalamic corticotropin-releasing factor and preproenkephalin mRNA responses to stress. Proc Natl Acad Sci U S A. Jun;86(11):4306-10.

Lightman SL y Harbuz MS. (1993). Expression of corticotropin-releasing factor mRNA in response to stress. Ciba Found Symp. 172:173-87; discussion 187-98.

Mahesh VB, Brann DW. (1992). Interaction between ovarian and adrenal steroids in the regulation of gonadotropin secretion.. J Steroid Biochem Mol Biol 41 (3-8): 495-513.

Marut EL, Hodgen GD. (1982). Asymmetric secretion of principal ovarian venous steroids in the primate luteal phase. Steroids 39: 4. pp. 461-469.

Mastorakos G, Webster EL, Friedman TC, Chrousos GP. (1993). Immunoreactive corticotropin-releasing hormone and its binding sites in the rat ovary. J Clin Invest. Aug;92(2):961-8.

McDonald LE. (1983). Reproducción y endocrinología veterinarias. Ed. 2ª. Edit. Interamericana. México. pp. 137-172, 228-260.

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.

Mendoza AFD. (2007). Estudio de la participación de la inervación del ovario por el nervio ovárico superior en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol. Interacciones entre los ovarios y las adrenales en el día del diestro-2 de la rata. Tesis de licenciatura para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Merchenthaler I, Hynes MA, Vigh S, Shally AV, Petrusz P. (1983). Immunocytochemical localization of corticotropin releasing factor (CRF) in the rat spinal cord. Brain Res. Sep 26;275(2):373-7.

Mermet CC y Gonon FG. (1988). Ether stress stimulates noradrenaline release in the hypothalamic paraventricular nucleus. Neuroendocrinology. Jan;47(1):75-82.

Mitchel GAG (1988). The innervation of the ovary, uterine tube, testis and epididimus. Journal Anatomical 72: 508-517.

Montiel C, Gallegos AI, Mendoza F, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R. (2005). Efectos de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior (NOS) en diestro1 (D1) sobre la concentración sérica de estradiol (E_2) y progesterona (P_4) en la rata adulta. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-204, p.169. Guadalajara, Jal.

Morales L, Betanzos R, Domínguez R. (2004) Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. Arch Med Res, 35:279–283.

Morales L, Ricardo B, Bolaños A, Chavira R, Domínguez R. (2007) Ipsilateral vagotomy to unilateral ovariectomized pre-pubertal rats modifies compensatory ovarian responses. Reprod Biol Endocrinol, 5: 24.

Nakamura Y, Kato H, Terranova PF. (1992). Abdominal vagotomy decreased the number of ova shed and serum progesterone levels on estrus in the cyclic hamster. Endocrinol Jpn. Feb; 39(1):141-5.

Nance DM, Bhargava M, Myatt GA. (1984). Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. Brain Res Bull. Nov;13(5):651-5.

Nappi RE, Petraglia F, Guo AL, Criscuolo M, Trentini GP, Genazzani AR. (1996). Estrous cycle- and acute stress-related changes of rat ovarian immunoreactive corticotropin-releasing factor. Gynecol Endocrinol. Apr;10(2):75-82.

Ojeda SR, White SS, Aguado LI, Advis JP, Andersen JM. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. Neuroendocrinology, 36:261-267.

Okamura H. (2007). Suprachiasmatic nucleus clock time in the mammalian circadian system. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 72:551-6.

Orozco HE, Flores OK, Chavira R, Cruz BME, Flores RA, Domínguez CR (2005). Diferentes aportes de las adrenales y los ovarios a la concentración sérica de progesterona (P4) En el día del Diestro-1. XLVIII Congreso nacional de Ciencias Fisiológicas. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en Memorias de la Sociedad, Guadalajara, Jal. p. 161.

Palafox MMT. (2007). Papel de las glándulas suprarrenales en la secreción de hormonas ováricas esteroides en el día del Proestro. Servicio Social. FES Zaragoza, UNAM. México D.F. pp. 1, 18-20.

Palkovits M, de Jong W, de Wied D. (1974). Hypothalamic control of aldosterone production in sodium-deficient rats. Neuroendocrinology. 14(5):297-309.

Palkovits M, Kobayashi RM, Kizer JS, Jacobowitz DM, Kopin IJ. (1975). Effects of stress on catecholamines and tyrosine hydroxylase activity of individual hypothalamic nuclei. Neuroendocrinology. 18(2):144-53.

Paolucci M, Custodia N, Callard IP. (1999). Progesterone effects and receptors, subavian species. En: Encyclopedia of Reproduction. Editores: Knobil E, Neill JD. Edit. Academic Press. USA. 4: 16-23.

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

Parker TL, Kesse WK, Mohamed AA, Afework M. (1993). The innervation of the mammalian adrenal gland. J Anat. 183: 265-276.

Powley TL, Prechtl JC, Fox EA, Berthoud HR. (1983): Anatomical considerations for surgery of the rat abdominal vagus: distribution, paraganglia and regeneration. Journal Autonomic Nervous System. 9: 79-97.

Rivier C, y Vale W. (1983). Interaction of corticotropinreleasing factor and arginine vasopressin on adrenocorticotropin secretion in vivo. Endocrinology 113, 939–942.

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. pp. 57.

Ross MH; Kaye GI; Pawlina W. (2005). Sistema endócrino. En: Histología: Texto y Atlas color con Biología celular y molecular. 4º Ed. Edit. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. pp 663-671.

Schwartz, N. (2000). Neuroendocrine regulation of reproductive ciclicity. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Editores: Conn M, Freeman M.. Humana Press. U.S.A., pp: 135-145.

Sell RS. (2007). Neuroanatomía clínica. Ed. 6ª Edit. Medica Panamericana. Buenos Aires. pp. 380-383.

Serrano CAM. (2009). Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior sobre la concentración sérica de progesterona en animales. Tesis de licenciatura para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Shiomi H, Watson SJ, Kelsey JE, Akil H. (1986). Pretranslational and posttranslational mechanisms for regulating beta-endorphin-adrenocorticotropin of the anterior pituitary lobe.Endocrinology. Oct;119(4):1793-9.

Sosa Z, Delgado M, Casais M, Aguado L, Rastrilla AM. (2004). Release of ovarian progesterone during the rat oestrous cycle by ganglionic cholinergic influence: the role of norepinephrine. J of Steroid Biochemistry y Molecular Biology. 91: 179-184.

Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. (2002). The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat. Anat Embryol (Berl). pp. 205 (4): 307-13.

Tóth IE, Vizi ES, Hinson JP, Vinson GP. (1997). Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. Microsc Res Tech. Mar 15;36(6):534-45.

Tresguerres JA. (1999). Fisiología Humana. Ed. 2a. Edit. McGraw Hill Interamericana. Madrid, España. pp: 932-946, 1021-1032, 1070-1075.

Trkulja V y Lackovic Z. (2001). Vagal influence on compensatory ovarian grown is important only briefly alter hemicastration. Experimental Biological. Medical. 8: 776-781.

Vázquez GAI. (2005). Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social de la carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Velasco MJ. (2007). Efectos agudos de la sección del Nervio Ovárico Superior en el día del proestro de ratas con ovariectomía, adrenalectomía o ambas, sobre la ovulación y la secreción de progesterona y 17-β estradiol. Tesis de licenciatura para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Whitworth EJ, Kosti O, Renshaw D, Hinson JP. (2003). Adrenal neuropeptides: Regulation and interaction with ACTH and other adrenal regulators. Micros Res Tech. 61: 259-567.

Wilson PL, Akesson E, Stewart P, Spacey S. (2003) X Nervio vago. En: Nervios craneales. Ed. 2ª. Edit. Medica Panamericana. Buenos Aires. pp. 182-189.

Yao HHV; Bahr JM. (1999). Ovary, overview. En: Encyclopedia of Reproduction. Editores: E Knobil, JD Neill, Edit. Academic Press, USA, 3: 590-597.

Yen SS, Jaffe RB, Barbieri RL. (2001). Endocrinología de la reproducción: Fisiología, Patología y Manejo clínico. 4ª Ed. Edit. Panamericana. pp. 165-193.

(http://www.herrera.unt.edu.ar/bioingenieria/Temas_inves/sist_nervioso/pagina1.htm).