



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“PARTICIPACIÓN DEL NERVIO VAGO Y LAS ADRENALES EN CADA ETAPA DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA ADULTA SOBRE LA OVULACIÓN”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
MARÍA GUADALUPE GUZMÁN BARCENAS

DIRECTORA DE TESIS
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT clave IN 209508-3.



FES
ZARAGOZA

MÉXICO, D.F.

Noviembre de 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
“ZARAGOZA”**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO VAGO Y LAS ADRENALES
EN CADA ETAPA DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA
ADULTA SOBRE LA OVULACIÓN”**

Tesis presentada por: **María Guadalupe Guzmán Barcenás**

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.



Agradecimientos

A la *Universidad Nacional Autónoma de México* por brindarme la oportunidad de cumplir un sueño y por el significado que ha marcado en mi corazón el ser UNAM.

A la M. en ISBH *Angélica Flores Ramírez*, por aceptar que formara parte del proyecto de investigación, por su apoyo durante la realización de este estudio y por creer que siempre puedo ser mejor.

A usted Dr. *Roberto*, que aunque sé que no le gusta que le diga “Gracias”, le diré Gracias por haber confiado en mi capacidad, por ayudarme y estar siempre dispuesto a trabajar para mejorar este proyecto de investigación. Por la pasión que muestra para formar gente orgullosa de ser UNAM. ¡Gracias!

A los miembros del Jurado:

Dr. Roberto Domínguez Cásala

M. en ISBH Angélica Flores Ramírez

M en C. Marisela Valdés Ruiz

Dra. Leticia Morales Ledesma

Biól. Pamela María Everardo Arévalo

Por el tiempo brindado, por sus conocimientos y sugerencias en la revisión y mejora de este estudio.

Especialmente a la Dra. *Leticia Morales Ledesma*

Al M.en C. *Martin Martínez Torres* por que en tiempos difíciles siempre conté con su sabio consejo, por ser ejemplo de pasión y entrega a la investigación y docencia. Gracias por su característico entusiasmo, que motiva a seguir adelante, más que por responsabilidad, por amor a lo que uno hace. Gracias, por ser más que mi maestro, mi amigo.

A los *maestros de la Carrera de Biología*, quienes siempre mostraron estar orgullosos de impartir docencia e inculcaron en mí el amor sincero por la carrera. A todos *mis amigos* que me acompañaron durante este camino.

A *Jacky, Pam y Ely* por haberme enseñado lo que necesitaba cuando ingrese al laboratorio. A *Keni* por formar parte indispensable para mí, por ser mi amiga y compañera durante este camino. A mis nuevos *amigos y compañeros* de la UIBIR por hacer cada día en el laboratorio divertido...recuerden que ante todo el compañerismo.

Por último, a las ratitas, que sin ellas este estudio jamás se hubiera realizado. A todos ustedes...¡GRACIAS!

Dedicatorias

A mis Padres

Gracias a mis padres, por ser el mejor ejemplo de vida para mí. Por apoyarme en cada una de mis decisiones, por estar a mi lado, por educarme y formarme como una persona de bien, siempre teniendo presente los valores que definen a un ser humano. Los amo y le agradezco a Dios el permitirme ser su hija. Yo siempre estaré orgullosa de ustedes. Este logro se los dedico con todo mi amor.

Mamá: Eres una magnífica mujer, ejemplo de valentía, de valor y de coraje para salir adelante. Gracias por ser una mujer fuerte, que ama sinceramente, siempre dispuesta a ayudar a los demás. Gracias por estar siempre a mi lado, por educarme, por ser mi confidente y por enseñarme a seguir adelante a pesar de los obstáculos. Te amo mamá.

Papá: Gracias por tu magnífica fortaleza y humildad para aceptar poder ser mejor cada día. Por todo el esmero y empeño para salir adelante a pesar de las adversidades, Por ser el pilar de nuestra familia. Te amo papá.

A mis hermanos

Mariana, Sergio y Luis por estar siempre a mi lado, por llenar mis días de alegrías. A los tres los amo. Espero ser siempre un buen ejemplo para ustedes hermanitos, saben que siempre pueden contar conmigo.

A Ángel Adrian

Por llegar a mi vida para iluminarla con tu sonrisa y con tu mirada. Gracias por todo lo que me das mi niño, Me falta paciencia para ver cómo vas creciendo. Te amo, siempre estaré a tu lado mi "Beautiful boy".



A mis Tíos...

Martha, Lolita, Arturo, Román y Joel: Por brindarme siempre su apoyo incondicional para culminar este logro, porque sé que siempre puedo contar con ustedes y ustedes saben que siempre pueden contar conmigo.

Gracias "Abe": porque sé que siempre estás a mi lado y que nunca me has abandonado, por siempre cumplir tus promesas, por tu amor, por tus sonrisas, tus abrazos. Siempre recordare la pregunta que me hace ser mejor cada día. "la vida puede tener un fin, pero el amor, no"
Te amo

A mis amigos

Vianey, Juan de Dios y Carlos por estar siempre a mi lado. Gracias por las risas, las alegrías, y por aquellos momentos en los que su mano me ha ayudado a levantarme y seguir adelante. Espero siempre tener el honor de tenerlos presentes en mi vida.



ÍNDICE

RESUMEN.....i

INTRODUCCIÓN..... 1

MARCO TEÓRICO

I. Ovarios.....2

 i. Compartimiento Follicular.....2

 ii. Compartimiento Luteal.....9

 iii. Compartimiento Intersticial..... 11

II. Glándulas Adrenales..... 15

 i. Corteza Adrenal.....15

 ii. Médula Adrenal.....15

III. Síntesis de Hormonas Esteroides.....16

IV. Regulación Endocrina de las Funciones Ováricas y Adrenales.....20

V. Inervación Ovárica22

VI. El Nervio vago en la Regulación de las Funciones Ováricas.....24

VII. Inervación de las Glándulas Adrenales.....26

VIII. Participación de la Inervación sobre la Regulación de las Funciones Adrenales.....28

IX. Participación de las Glándulas Adrenales sobre las Funciones Ováricas.....30

X. Asimetrías Funcionales en los Ovarios y en las Glándulas Adrenales.....31

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	35
HIPÓTESIS	36
OBJETIVO GENERAL	37
MATERIALES Y MÉTODOS	38
RESULTADOS	
Efectos de la Laparotomía.....	43
Efectos de la Sección uni o bilateral del Nervio vago.....	43
Efectos de la Adrenalectomía unilateral seguida de la sección unilateral del Nervio vago.....	45
Efectos de la Adrenalectomía unilateral seguida de la sección bilateral del Nervio vago	49
Efectos sobre el Ciclo Estral.....	52
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
CONCLUSIONES	61
ANEXO 1. Ciclo Estral de la Rata.....	62
ANEXO 2. Trayectoria del Nervio vago.....	66
ANEXO 3. Participación en Foros y Congresos.....	69
BIBLIOGRAFÍA	73

RESUMEN

Las funciones ováricas son reguladas por vías endocrinas y neurales que modulan la respuesta del ovario a las gonadotropinas. En la regulación de las funciones ováricas, también participan las glándulas adrenales.

Las adrenales y los ovarios reciben información neural a partir de los mismos centros nerviosos. El nervio vago puede ser una de las vías neurales de comunicación entre ambos órganos, y se ha sugerido que estos nervios modulan la respuesta del ovario a las gonadotropinas.

Dicha modulación varía en función de la edad del animal, del día del ciclo, de la hora del día y del ovario considerado. Por ello, el objetivo de este estudio fue analizar la participación del nervio vago como una de las vías de comunicación neural entre los ovarios y las adrenales sobre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en la rata adulta.

Para ello, ratas hembra adultas vírgenes de la cepa CIIZ-V que a las 13:00 h del día del Diestro-1, Diestro-2, Proestro o Estro, fueron sometidos a los siguientes tratamientos: Laparotomía, sección del nervio vago uni o bilateral o adrenalectomía unilateral seguida de la sección del nervio vago uni o bilateral. También se contó con un grupo testigo absoluto. Los animales fueron sacrificados en la etapa de Estro vaginal, para analizar la respuesta ovulatoria. Los resultados de las adrenalectomías unilaterales corresponden a los resultados de Pimentel (2011) de su tesis de licenciatura.

En comparación con el grupo testigo absoluto, la laparotomía no modificó la respuesta ovulatoria. En el día del Diestro-1, el nervio vago derecho modula de manera estimulante el desarrollo de los folículos ováricos y la ovulación del ovario izquierdo.

En el día del Diestro-2, ambos nervios vagos modulan de manera inhibitoria la respuesta del ovario izquierdo a las gonadotropinas, ya que la vagotomía bilateral resultó en un mayor número de ovocitos liberados.

En el día del Proestro, la sección unilateral no modificó los parámetros cuantificados, por lo que propongo que en este día del ciclo, los nervios vagos no participan en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.

En el día del Estro, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue mayor en los animales con sección unilateral izquierda, por lo que consideramos que posiblemente en este día del ciclo, el nervio vago izquierdo modula de manera inhibitoria el desarrollo de los folículos del ovario izquierdo.

De manera general, proponemos que la comunicación neural que aportan los nervios vago entre los ovarios y las adrenales, modula de manera estimulante la ovulación.

La adrenalectomía unilateral seguida de la sección del nervio vago contralateral realizada en el día del Proestro, resultó en un menor número de animales ovulantes, por lo que sugiero, que en este día del ciclo, entre los ovarios y las adrenales existen conexiones vagales contralaterales que estimulan la ovulación.

En el día del Proestro, la adrenalectomía izquierda seguida de la vagotomía ipsilateral, resultó en un número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo.

La adrenalectomía izquierda seguida de la vagotomía bilateral realizada en el día del día del Diestro-1, resulta en un menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo. Cuando es realizada en el Diestro-2, decrece el número de animales ovulantes del ovario izquierdo y en el día del Proestro, el número de animales ovulantes del ovario derecho.

En los días del Diestro-2 y Estro, se observó que la adrenal derecha y el nervio vago derecho modulan de manera estimulante el desarrollo de los folículos ováricos, lo que depende del ovario considerado.

La extirpación de la adrenal derecha seguida de la vagotomía bilateral en los días del Diestro y Proestro resultó en un menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo. En el día del Estro, esta cirugía se tradujo en un menor número de animales ovulantes.

La adrenalectomía unilateral seguida de la vagotomía uni o bilateral realizada en la primera mitad del ciclo estral (Estro y Diestro-1) retrasó la ovulación por 24 h.

Con base en estos resultados, sugerimos que: 1) Las adrenales y la inervación vagal estimulan la respuesta ovulatoria de cada ovario de manera asimétrica, 2) que la adrenal derecha se ve más comprometida con la regulación de la ovulación cuando los animales tienen ambos ovarios denervados y que 3) el nervio vago, modula de manera estimulante el desarrollo folicular, la ovulación y la duración del ciclo estral, por medio de la participación de las glándulas adrenales, de otras vías neurales (Nervio Ovárico superior y Plexo Ovárico) y de la interacción con los ganglios simpáticos y el sistema nervioso central (SNC), respuesta que varía en función del ciclo estral y del ovario considerado.

INTRODUCCIÓN

Las funciones de los ovarios son liberar células capaces de ser fecundadas (ovocitos) y secretar hormonas que regulen las funciones de los órganos reproductores y el metabolismo general del individuo. Estas funciones son reguladas por hormonas sintetizadas en el hipotálamo, la hipófisis (Yen, 2001), las adrenales (Barco y col., 2003; Chrousos y col., 1998; Flores, 2006; Flores y col., 2008; Pepler y Jacobs, 1976; Walker y col., 2001), el timo, la tiroides (Díaz-Yamal y Ruiz Wagner, 2009), el tejido adiposo (Siiteri, 1987) y el propio ovario (Yen, 2001).

Los efectos de las gonadotropinas sobre los compartimientos ováricos y de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) sobre la corteza adrenal, son modulados por la inervación que reciben ambos órganos (Burden y col., 1983; Domínguez, 1992; Gerendai y col., 2005; 2009; Ojeda y col., 1983; Vinson y col., 1994; Vizi y col., 1992). El Nervio vago es una de las vías neurales que modulan la acción de las hormonas hipofisarias en los ovarios y en las adrenales y puede ser una de las vías de comunicación nerviosa entre ambos órganos (Berthoud y Powley, 1993; Coupland y col., 1989; Tóth y col., 2008).

Las glándulas adrenales y el Nervio vago participan en la regulación de la secreción de gonadotropinas, 17β -estradiol y de progesterona (P_4), de manera diferencial durante cada uno de los días del ciclo estral (Alanís, 2009, López, 2009). Por ello, en el presente estudio se analizó la participación de las glándulas adrenales y la inervación vagal en cada uno de los días del ciclo estral de la rata hembra adulta intacta o con adrenalectomía, sobre la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados evaluados al primer estro vaginal post cirugía.

Los resultados mostraron que la comunicación neural que aportan los nervios vago entre los ovarios y las adrenales, modula de manera estimulante la ovulación, lo depende del día del ciclo y del ovario considerado.

MARCO TEÓRICO

I.- Ovarios

Los ovarios son los responsables de la producción de hormonas necesarias para la regulación de las funciones de los órganos reproductores y la liberación de ovocitos capaces de ser fecundados durante los años fértiles del organismo (Espey y Richards, 2006).

En la rata, los ovarios se encuentran localizados cerca de los riñones a lo largo del músculo lateral y están rodeados de grasa (Peluffo, 2002). En relación con la pared lateral de la pelvis, se localizan a cada lado del útero, y se encuentran suspendidos por un pliegue del peritoneo y por el ligamento suspensorio (Bergman y col., 1998).

En el ovario se distinguen tres zonas. 1) La corteza que se encuentra por debajo de la túnica albugínea y que contiene los folículos en diferentes estadios de maduración (Tórtora y Derrikson, 2006); 2) la médula, que se encuentra por debajo de la corteza ovárica y que contiene la red vascular y el tejido conectivo, y 3) el hilio, donde se encuentran la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos, las terminales nerviosas y las células intersticiales (Tresguerres, 1999).

El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir de él se originan los tres compartimientos de la gónada (Domínguez y col., 1991):

Compartimiento Folicular: Se encuentra representado por los folículos ováricos en sus diferentes estadios de desarrollo (Botella y Clavero, 1993).

En la rata, la maduración de los folículos ováricos es de aproximadamente 19 días. Las fases de maduración dependen del estadio de diferenciación del folículo y de su capacidad de respuesta hacia las gonadotropinas (Domínguez y col., 1991; Orisaka y col., 2006).

La foliculogénesis ocurre después de las 24 horas de vida posnatal, y se inicia en la región medular del ovario (Merchant, 1991), ya que es ahí donde se encuentra la irrigación e inervación ovárica (Mayerhofer y col., 1997).

Los *folículos primordiales*, son aquellos que poseen una capa sencilla de células de la granulosa planas, que al diferenciarse a cuboidales originan *folículos primarios*. Al dividirse estas células, forman un epitelio estratificado columnar y el complejo se convierte en un *folículo secundario*. En estos folículos, las células de la granulosa comienzan a secretar mucopolisacáridos alrededor del ovocito, para formar la zona pelúcida (Berne, 2002).

La primera fase de maduración (folículo primordial a primario y de este a secundario), es considerada una fase independiente a las gonadotropinas (Figura 1), ya que los folículos aun no poseen receptores a ellas (Orisaka y col., 2009). Esta primera fase de desarrollo depende de neurotransmisores y de hormonas proteicas localizadas en el ovario de la rata (Dissen y col., 1992; Mayerhofer y col., 1997; Ojeda y col., 2000).

El péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la noradrenalina (NA) son dos neurotransmisores relacionados con el inicio de la foliculogénesis. Inducen la formación de receptores específicos a la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) y a la Hormona luteinizante (LH), por medio de la formación del adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y la actividad de la enzima aromatasa (Mayerhofer y col., 1997).

La activina, modula de manera estimulante el desarrollo de receptores a FSH en las células de la granulosa, y en cooperación con el AMPc, induce la diferenciación de las células de la granulosa de los folículos primordiales (Mayerhofer y col., 1997).

La segunda fase de maduración (la transición del folículo preantral a estado antral temprano) es considerada de respuesta a las gonadotropinas, ya que los folículos han adquirido receptores a ellas (Figura 1) (Orisaka y col., 2006).

La diferenciación del estroma ovárico, da origen a las células tecales. Por lo que los *folículos secundarios* pasan a ser *folículos preantrales* (Hsueh y col., 1994). Los *folículos preantrales* comienzan a sintetizar andrógenos que serán aromatizados en las células de la granulosa a estrógenos (Orisaka y col., 2009).

En bovinos, la diferenciación de las células tecales depende de la interacción de las células de la granulosa y el estroma (Orisaka y col., 2009). El factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I) y el Factor de células Tallo o células “stem” (SCF), son factores sintetizados por las células de la granulosa, que inducen la diferenciación de las células de la teca y la producción de andrógenos (Huang y col., 2001).

La señalización del ovocito participa en la diferenciación de las células del estroma. El factor de diferenciación y crecimiento 9 (GDF-9), estimula el reclutamiento y la formación de la capa de células de la teca y de la granulosa y favorece el desarrollo del *folículo antral* (Orisaka y col., 2009).

En la tercera fase de desarrollo ocurre el reclutamiento folicular, la selección de los folículos y la ovulación. Es considerada como una fase dependiente de las gonadotropinas (Figura 1) (Orisaka y col., 2006).

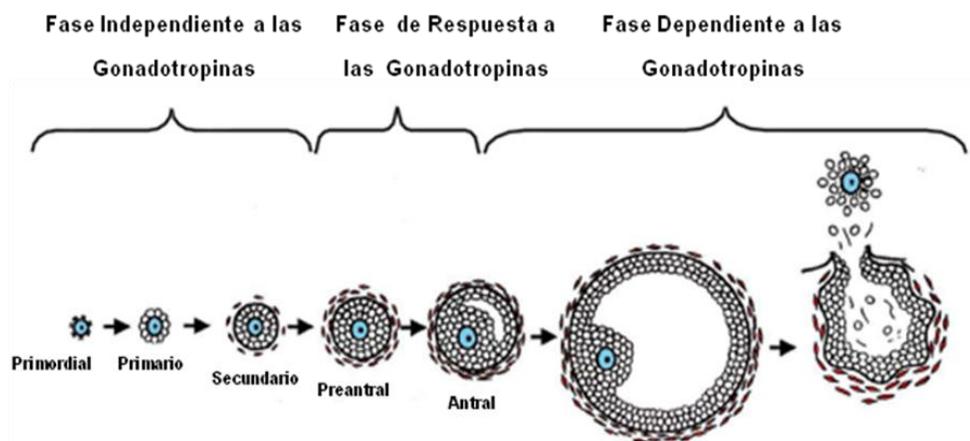


Figura 1. Imagen donde se observa los diferentes estadios de desarrollo del folículo ovárico, la dependencia del folículo ovárico a las gonadotropinas y la ovulación. Modelo: rata (Tomada de Orisaka y col., 2009).

En el *folículo antral*, las células de la granulosa han formado seis u ocho capas alrededor del ovocito y comienzan a expulsar pequeñas acumulaciones de líquido folicular que confluye en una única área denominada antro; donde se encuentran proteínas, polipéptidos, FSH, LH, prolactina (PRL), estrógenos, P_4 , NA y gonadocrininas cuyas concentraciones varían durante el ciclo estral (Ver Anexo 1) (Berne, 2002; Domínguez y col., 1991).

Las células de la granulosa que rodean el ovocito forman un anillo conocido como corona radiada. El licor folicular aumenta y se forma el *cumulus oóforus* (Figura 2) (Freeman, 2006; Zucker y col., 2000).

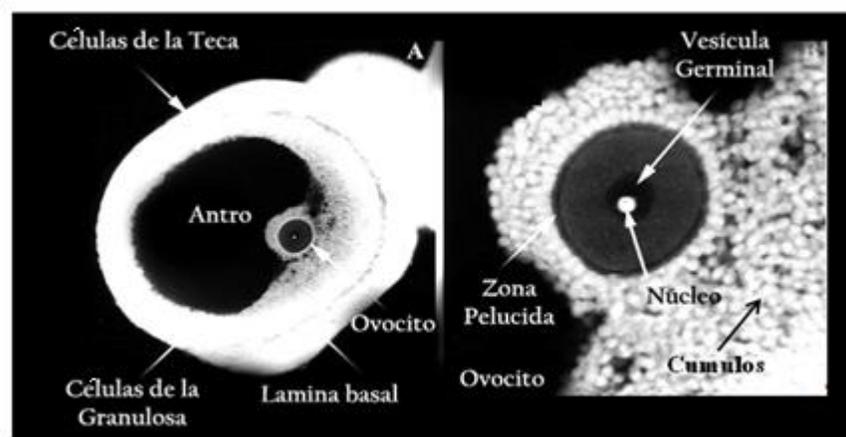


Figura 2. Sección transversal de un folículo ovárico antral. Modelo de estudio: Rata (Tomada de Zucker y col., 2000).

Atresia Folicular

La atresia folicular es un proceso selectivo e irreversible, en donde aquellos folículos en los que habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación, no liberan su ovocito (Orisaka y col., 2006). La atresia se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular (Domínguez y col., 1991). Sin embargo, los folículos que se encuentran en la primera etapa antral (folículos con diámetro de 400 μm) son más susceptibles a señales atretogénicas (Orisaka y col., 2006).

La transición de la primera etapa antral a la etapa antral completa, es la fase decisiva en el destino del folículo ovárico, ya sea supervivencia-crecimiento o atresia (Domínguez y col., 1991). Esta etapa de transición, es regulada por factores intrafoliculares (Orisaka y col., 2006) y depende de la capacidad que posea el ovocito para mantener el metabolismo correcto del folículo (Domínguez y col., 1991).

In vitro, el GDF-9 estimula el crecimiento sano de los folículos ováricos. La supresión de este factor, frena la proliferación de las células de la granulosa y del folículo ovárico, promueve el crecimiento anormal del ovocito y promueve la actividad de la caspasa-3 (Orisaka y col., 2006). Las caspasas son enzimas intracelulares que actúan como reguladores de la muerte celular programada (apoptosis) (Peluffo, 2002).

Los andrógenos, también participan en el desarrollo de los folículos, lo que depende de la etapa de desarrollo folicular. *In vitro*, los andrógenos estimulan el crecimiento de los folículos preantrales y la mitosis de las células de la granulosa provenientes de ratones, la transición de folículos primarios a secundarios en bovinos y la supervivencia folicular en humanos (Orisaka y col., 2006). En los folículos atrésicos disminuye considerablemente el número de receptores a FSH y LH, lo que implica disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos (Domínguez y col., 1991).

La disminución en la capacidad de aromatización se debe a la fragmentación del ADN, que disminuye la transcripción de genes de la enzima aromatasa (Tilly y col., 1992), por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo. Este fenómeno sería uno de los pasos fundamentales que llevan a un folículo a la atresia, dado que la capacidad del folículo para mantener la síntesis de estrógenos es primordial para evitarla (Domínguez y col., 1991).

Ovulación

La ovulación es el proceso donde ocurre la liberación del ovocito (tipo II) y solo se produce cuando este ha alcanzado el tamaño y el grado de diferenciación adecuado (Domínguez y col., 1991; Espey, 1999).

La ovulación comprende tres eventos fisiológicos importantes: 1) La división meiótica del ovocito, 2) cambios morfológicos graduales en las células que constituyen al folículo antral y 3) la transformación de las células tecaes y de la granulosa a células luteales (Tsafriri y col., 1972b).

En la rata, el proceso inflamatorio en el folículo antral comienza poco después de la secreción preovulatoria de LH. Esta hormona estimula en el tejido ovárico, la activación de enzimas proteolíticas (activador del plasminógeno o las metaloproteinasas) que degradan el tejido ovárico localizado entre el ovocito y la superficie del ovario para lograr la liberación del ovocito (Gaytán y col., 2002).

En el ovocito, cerca de las 16:00 h del Proestro, la vesícula germinal comienza a desaparecer y una hora después comienza la condensación de las tétradas (Tsafriri y Kraicer, 1972a), lo que indica que el ovocito se encuentra en Metafase I (Odor, 1955).

En estos folículos, las prostaglandinas (PGs) inducen la división meiótica del ovocito, estimulan la producción del AMPc y participan en la ruptura folicular (Tsafriri y col., 1972b). Cerca de las 22:00 h del día del Proestro, el *cumulus* es liberado junto con el ovocito (Telofase I) hacia la cavidad antral (Tsafriri y Kraicer, 1972a). Comienza la formación del primer cuerpo polar (Gaytán y col., 2002).

Antes de la ovulación, la capa de las células de la granulosa es removida hacia la base del estigma (Parr, 1974). La ruptura del folículo se produce en la parte apical, ya que morfológicamente es el punto más débil (Espey y Richards, 2006).

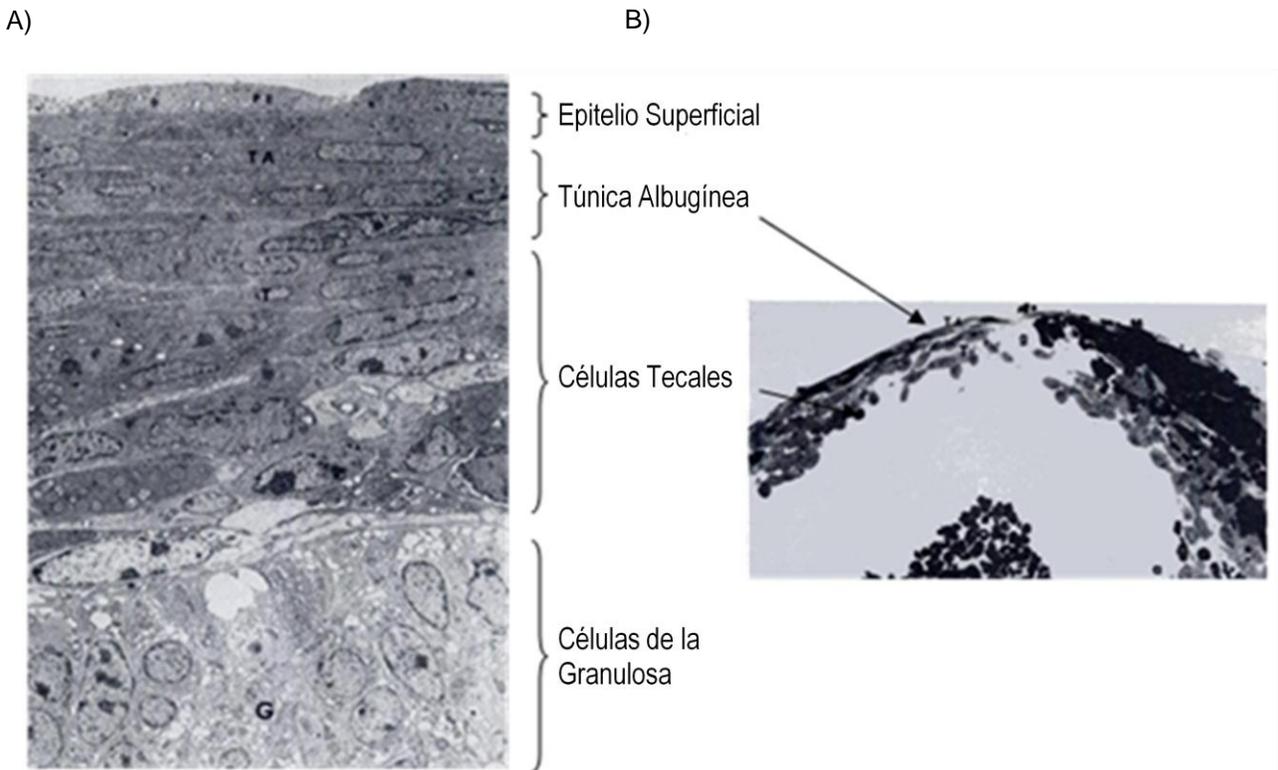


Figura 3.A) Ultraestructura en el ápice del folículo ovulatorio antes de que inicie el proceso ovulatorio, B) ultraestructura del ápice del folículo ovulatorio segundos antes de que ocurra la liberación del ovocito. Modelo de estudio: Rata (Modificada de Parr, 1974).

La presencia del primer cuerpo polar indica que la primera división meiótica se ha completado. Este proceso ocurre aproximadamente 4 horas antes de que ocurra la ovulación (Tsafriri y Kraicer, 1972a). La liberación del primer cuerpo polar se da a través de la zona pelúcida (Odor, 1955) y ocurre entre las 23:00 y 24:00 horas del Proestro (Tsafriri y Kraicer, 1972a).

Una hora antes de que ocurra la ruptura folicular, la túnica albugínea pierde su integridad. La capa de las células de la teca degenera. La ruptura de los capilares de la teca interna, torna a la superficie del ovario rojiza. En el líquido y en la pared folicular se observan numerosos restos celulares, fibrinas y plaquetas, que indica que se acerca la liberación del ovocito (Parr, 1974).

La degradación del tejido de colágeno en el ápice del folículo (Figura 3) permite liberar el *cumulus* que contiene al ovocito, gracias a la presión hidrostática intra-folicular (Gaytán y col., 2002) de aproximadamente 20 mm Hg (Espey, 1999).

La expulsión del *cumulus* junto con el ovocito dura aproximadamente 1 minuto con 15 segundos (Figura 4) (Löfman y col., 1989). Por la mañana del Estro, se observan los cuerpos lúteos recién formados y los ovocitos (Metafase II) se encuentran en lo oviductos (Gaytán y col., 2002, Odor, 1955).

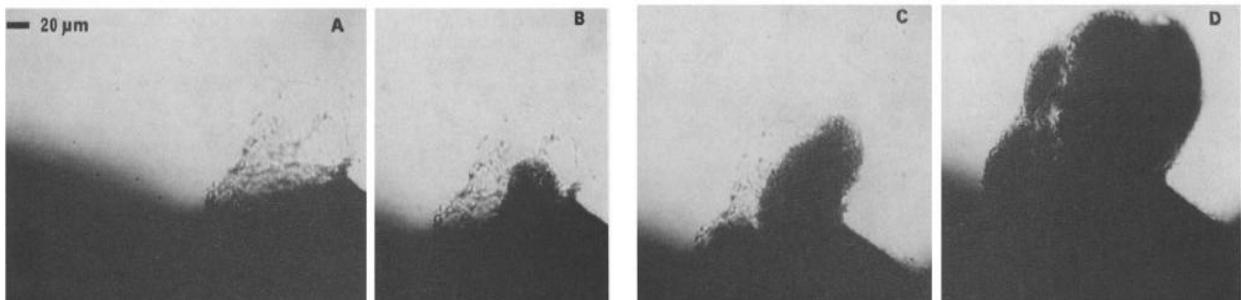


Figura 4. Imagen donde se observa A) el movimiento de algunas células hacia el estigma, B) el estigma, C y D) la ruptura de la pared folicular y la expulsión del ovocito junto con las células del *cumulus*. Modelo de estudio: Rata (Tomada de Löfman y col., 1989).

Compartimiento Luteal: El cuerpo lúteo es una glándula endocrina presente en el ovario maduro. La formación luteal (luteinización) comienza después de la ruptura del folículo (Stouffer, 2006).

Cuando el cuerpo lúteo comienza a desarrollarse, la invaginación de la pared folicular así como la invasión de células microvasculares hacia la capa de las células de la granulosa ayuda a la rápida migración de las células tecales (Stouffer, 2006), células endoteliales y fibroblastos hacia el centro de la cavidad folicular (Stocco y col., 2007).

Luteinización

La luteinización consta de dos procesos: 1) La hipertrofia y la diferenciación de las células esteroideogénicas del folículo postovulatorio a células luteales; y 2) el rápido crecimiento de los vasos sanguíneos (angiogénesis) (Zelevnik, 1999; Stouffer, 2006).

Diferenciación de las células esteroideogénicas: La transformación de las células esteroideogénicas a células luteales involucra cambios estructurales y genómicos. Las células luteales dejan de dividirse y expresan una determinada combinación de genes que codifican proteínas reguladoras, receptores, factores de transcripción y proteínas de señalización que garantizan la función celular luteal. Es un proceso irreversible y requiere en primer lugar la salida de las células esteroideogénicas, del ciclo celular (Stocco y col., 2006).

El decremento en la actividad de factores que promueven la mitosis (por ejemplo, las quinasas dependientes de ciclinas CDK) y la mayor expresión de los inhibidores CDK (por ejemplo, CKIp21 y CKIp27) (Stouffer, 2006) promueven la salida del ciclo celular (Stocco y col., 2006).

Angiogénesis: Antes de la ovulación, las células de la granulosa son avasculares. Después de la formación luteal cada célula esteroideogénica es adyacente a elementos microvasculares y cerca del 50% de la población luteal constituye estos elementos. La expansión de los capilares es inducida por la proliferación de células endoteliales, que es mayor durante el desarrollo temprano del cuerpo lúteo. En el cuerpo lúteo, el 95% de las células vasculares en división son endoteliales (Stouffer, 2006).

La vascularización de las células del cuerpo lúteo es estimulada por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que promueve específicamente la migración y la proliferación de células endoteliales, la formación de vasos y la permeabilidad de los mismos (Zelevnik, 1999; Stouffer, 2006).

Luteólisis

El cuerpo lúteo comúnmente deja de funcionar al final del ciclo ovárico cuando no se llevó a cabo la fecundación o cuando su función ya no es necesaria en cierta etapa de la gestación. Esta pérdida en la función y en la estructura luteal recibe el nombre de luteólisis (Stouffer, 2006).

La luteólisis es regulada por diferentes factores llamados luteolíticos. Entre estos factores se encuentran las PGs que modulan de manera inhibitoria la secreción de P_4 de origen luteal (Stocco y col., 2007).

La PRL que se libera por la tarde del Proestro; participa en la regresión del cuerpo lúteo del ciclo anterior (Bowen y col., 1996). Actúa, también como factor luteotrópico en ratas lactantes, por lo que se sigue que tiene un efecto dual sobre las células luteales (Goyeneche y col., 2003).

En roedores, la luteólisis ocurre en dos fases: 1) La síntesis de P_4 de origen luteal disminuye y 2) ocurre la regresión del cuerpo lúteo. En la regresión luteal ocurren cambios en la capacidad esteroidogénica del cuerpo lúteo, disminución en el tamaño, en el peso y en la vascularización de glándula. El evento principal que causa la regresión del cuerpo lúteo es la apoptosis, que es regulada por la PRL, la $PGF-2 \alpha$, el factor necrótico tumoral (TNF), entre otros (Stocco y col., 2007).

Compartimiento Intersticial: La glándula intersticial se localiza en la parte interna de la corteza y en la médula ovárica (Yao y Bahr, 1999). Se forma a partir de los folículos atresicos que poseen receptores a LH (Domínguez y col., 1991).

Las células intersticiales por sus características y posición en el ovario se clasifican en: 1) Células primarias; que se localizan en el ovario fetal, 2) tecales; proceden en bandas para formar, tras su diferenciación, la teca interna y externa, 3)

secundarias; se forman por células de la teca interna de los folículos antrales atrésicos que poseen receptores a LH y mantienen la actividad esteroidogénica (sintetizan andrógenos) y son inervadas por terminales nerviosas adrenérgicas y 4) las células hiliares que se localizan en el hilio y son similares a las células de Leydig del testículo (Domínguez y col., 1991; Tresguerres, 1999; Yen, 2001).

Los tres compartimientos ováricos están en constante transformación; así, mientras alguna de ellos involuciona, otros pueden formarse. El ovario también posee un estroma formado por tejido conectivo que ocupa el espacio entre los folículos, los cuerpos lúteos, la glándula intersticial, los vasos sanguíneos, los linfáticos y los nervios (Figura 5) (Tresguerres, 1999).

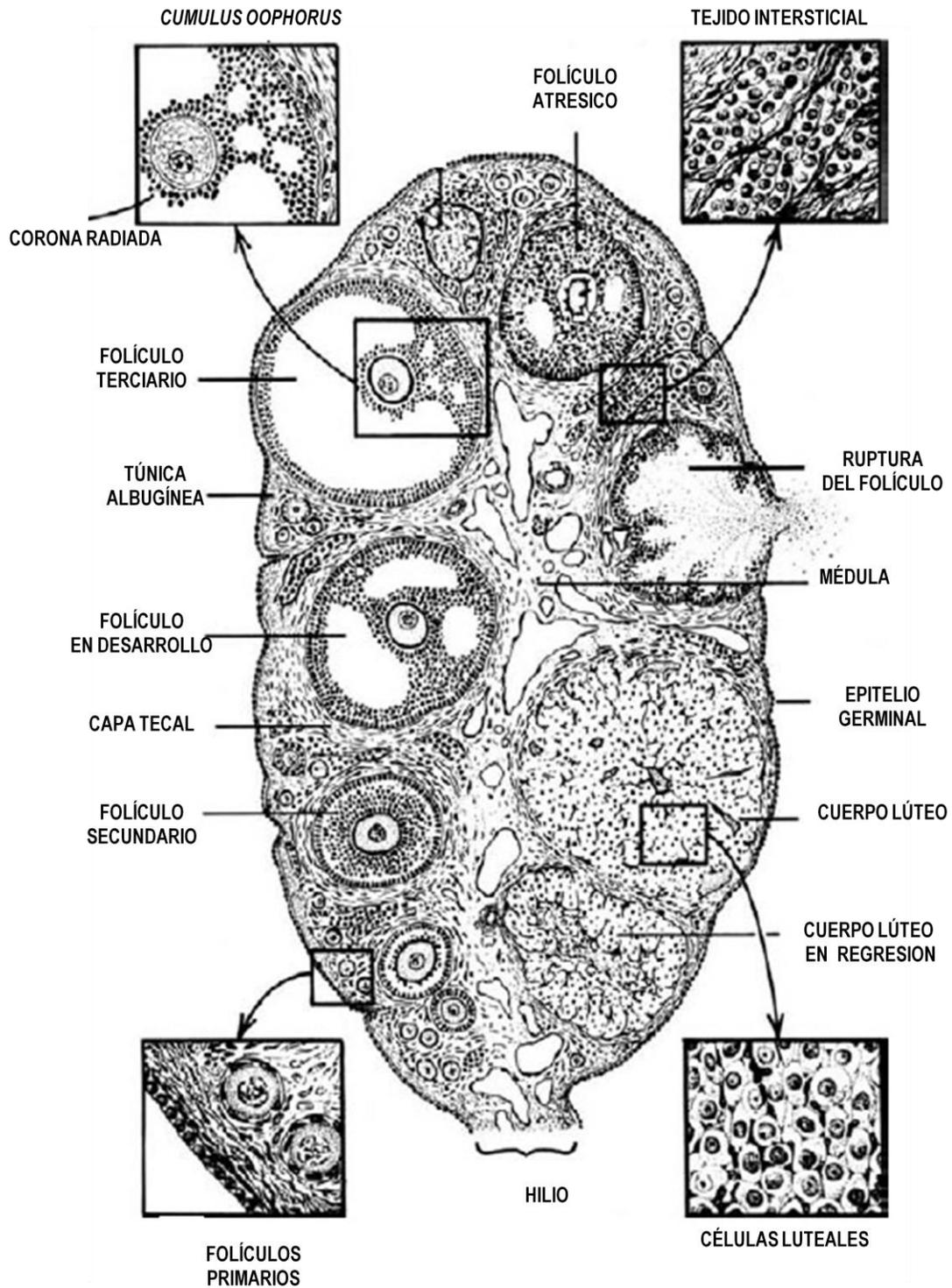


Figura 5. Esquema del ovario de los mamíferos, donde se observan los 3 compartimientos ováricos: Folicular, intersticial y luteal (Tomada de Freeman, 1994).

II.- Glándulas Adrenales

Las glándulas adrenales, están localizadas en la parte superior de los riñones (Figura 6), poseen forma piramidal y están recubiertas por una cápsula de tejido conjuntivo. Son órganos endocrinos pares multifuncionales que secretan diversas hormonas y desempeñan gran variedad de funciones fisiológicas (Berne, 2002; Drucker, 2005).

El aporte sanguíneo deriva de tres arterias: la suprarrenal superior, la suprarrenal media y la arteria suprarrenal inferior (Drucker, 2005).

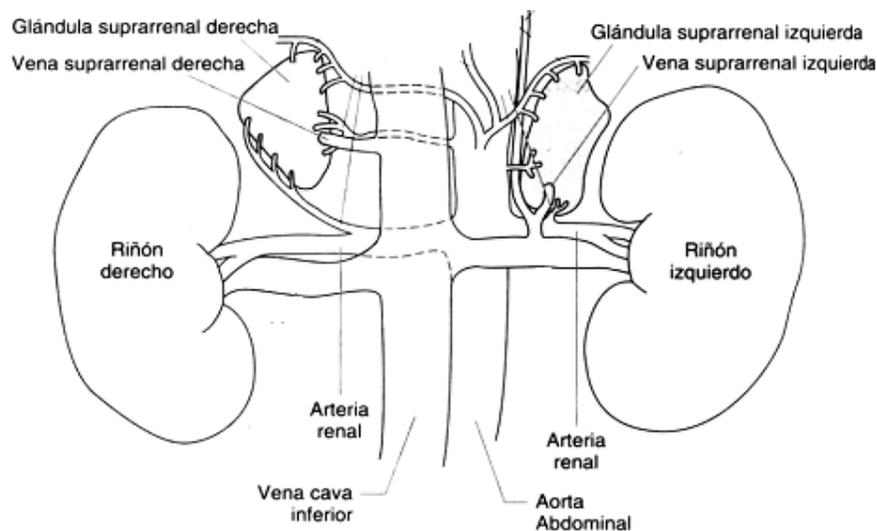


Figura 6. Localización de las glándulas adrenales (Modificada de Greenspan y Gordon, 1999).

Las glándulas adrenales secretan hormonas esteroides que están involucradas en la regulación metabólica de carbohidratos, de electrolitos, y en la capacidad de respuesta a situaciones estresantes que pueden ser fisiológicas o ambientales (Berne, 2002).

Cada glándula está formada por dos entidades funcionales (Berne, 2002):

Corteza Adrenal: La corteza adrenal representa aproximadamente el 80% del peso de la glándula. Deriva del tejido mesodérmico y sintetiza hormonas corticosteroides. Está dividida en tres zonas (Berne, 2002):

1.-*Zona Glomerular:* Es la zona más externa y constituye cerca del 15 % de la corteza. Se encarga de la producción de mineralocorticoides (aldosterona) (Córdova, 2003; Drucker, 2005; Ganong, 1996).

2.-*Zona Fascicular:* Es la zona central y constituye cerca del 75% de la corteza. Produce principalmente glucocorticoides (corticosterona) y también algo de andrógenos (DHEA). Las células que se encuentran en esta zona son grandes, ricas en lípidos y se denominan células claras (Córdova, 2003; Drucker, 2005; Ganong, 1996).

3.-*Zona Reticular:* Es la última zona de la corteza adrenal. Secreta fundamentalmente hormonas sexuales (andrógenos) y algo de corticosterona (Córdova, 2003; Drucker, 2005; Ganong, 1996).

Médula Adrenal: La médula adrenal constituye el 28% de la masa de la glándula adrenal. Deriva de células neuroectodérmicas de los ganglios simpáticos (Berne, 2002). Es un ganglio simpático especializado. La estimulación de los nervios simpáticos que la inervan, resulta en la liberación adrenalina y NA (Córdova, 2003) al torrente sanguíneo; por lo que actúa de forma auténticamente endocrina (Levy y col., 2006).

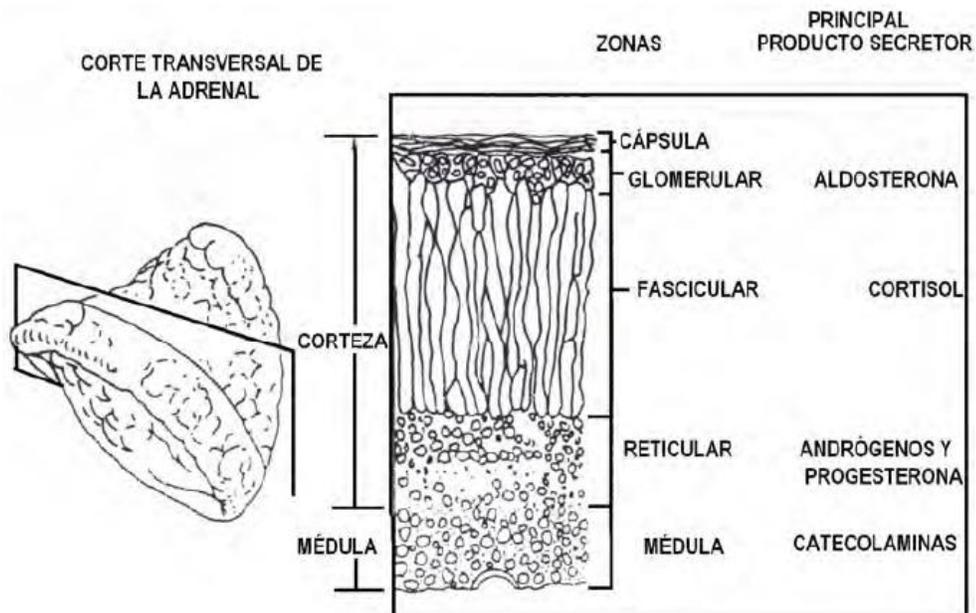


Figura 7. Imagen donde se observa la corteza y la médula adrenal, las zonas de cada una de ellas y sus secreciones principales (Tomada de Berne, 2002).

III.- Síntesis de Hormonas Esteroides

La esteroidogénesis es el proceso por el cual el colesterol es convertido en hormonas esteroideas por glándulas como los ovarios, las adrenales y la placenta (Levy y col., 2006; Ying y Zhang, 1999).

Las hormonas esteroideas son agrupadas en cinco clases: progestágenos, andrógenos, estrógenos, mineralocorticoides y glucocorticoides (Voet y Voet, 1995). El colesterol llega a las células esteroidogénicas de tres fuentes: 1) síntesis de *novo*; 2) a partir de fuentes exógenas, mediadas por receptores de lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés); e 3) hidrólisis de los ésteres de colesterol, los cuales son almacenados en gotas lipídicas (Stocco, 1999).

En las células de la teca, ocurre el paso inicial para la conversión de colesterol a los diferentes andrógenos, lo que implica la remoción de los seis átomos de carbono de

la cadena lateral del núcleo del colestano. Esta reacción se realiza en la mitocondria y requiere de la presencia de la enzima P450_{scc} (20, 22 desmolasa) y de la hidroxilación de los carbonos 20 y 22 (20, 22 hidroxilasa). Esta reacción da como productos finales la formación de la pregnelonona y ácido isocaproico (Figura 8) (Díaz, 2004; Larrea y col., 1991; Orrego, 2005; Yen, 2001).

A partir de la pregnelonona existen dos vías alternas para la síntesis de andrógenos, las que se conocen como vía $\Delta 4$ y la $\Delta 5$. En la vía $\Delta 4$ (vía utilizada en la rata, ratona y cerda), la pregnelonona es convertida a P₄ y posteriormente a 17 α -hidroxiprogesterona (Drucker, 2005; Larrea y col., 1991). Estas reacciones están mediadas por la enzima P450 c17 (Díaz, 2004; Orrego, 2005).

En la vía $\Delta 5$ (humanos, primates, vaca y borrega), la pregnelonona es convertida a 17 α -hidroxi-pregnelonona (Díaz, 2004). La 17-hidroxipregnelonona y la 17 α -hidroxiprogesterona son convertidas a dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona, respectivamente. Estas reacciones están mediadas por la enzima P450 c17. La conversión de DHEA a androstenediona es catalizada por la enzima 3 β -hidroxi-esteroide-deshidrogenasa (3 β -HSD) (Figura 8) (Orrejo, 2005).

La androstenediona es convertida en testosterona en el retículo endoplásmico y la enzima que participa en esta reacción es la 17 β -hidroxi-esteroide-deshidrogenasa (17 β -HSD) (Díaz, 2004).

La testosterona atraviesa la membrana basal y llega a las células de la granulosa donde es aromatizada por la enzima P450 c19 y es convertida a estradiol (Figura 8) (Díaz, 2004). La aromatización implica la pérdida del grupo metilo C19 y la eliminación de los hidrógenos 1 β y 2 β del anillo A del precursor androgénico, requiriéndose tres reacciones de hidroxilación por cada molécula de estrógeno formada (Yen, 2001).

En la glándula adrenal, la P₄ y la 17 α-hidroxiprogesterona son hidroxiladas en el carbono 21 para dar origen a desoxicorticosterona y 11-desoxicortisol. Estos últimos pasos están modulados por la enzima P450 c21. La enzima P450 c11, media la síntesis del 11-desoxicortisol a cortisol y las tres etapas finales en la síntesis aldosterona a partir de la desoxicorticosterona (Figura 8) (Orrejo, 2005).

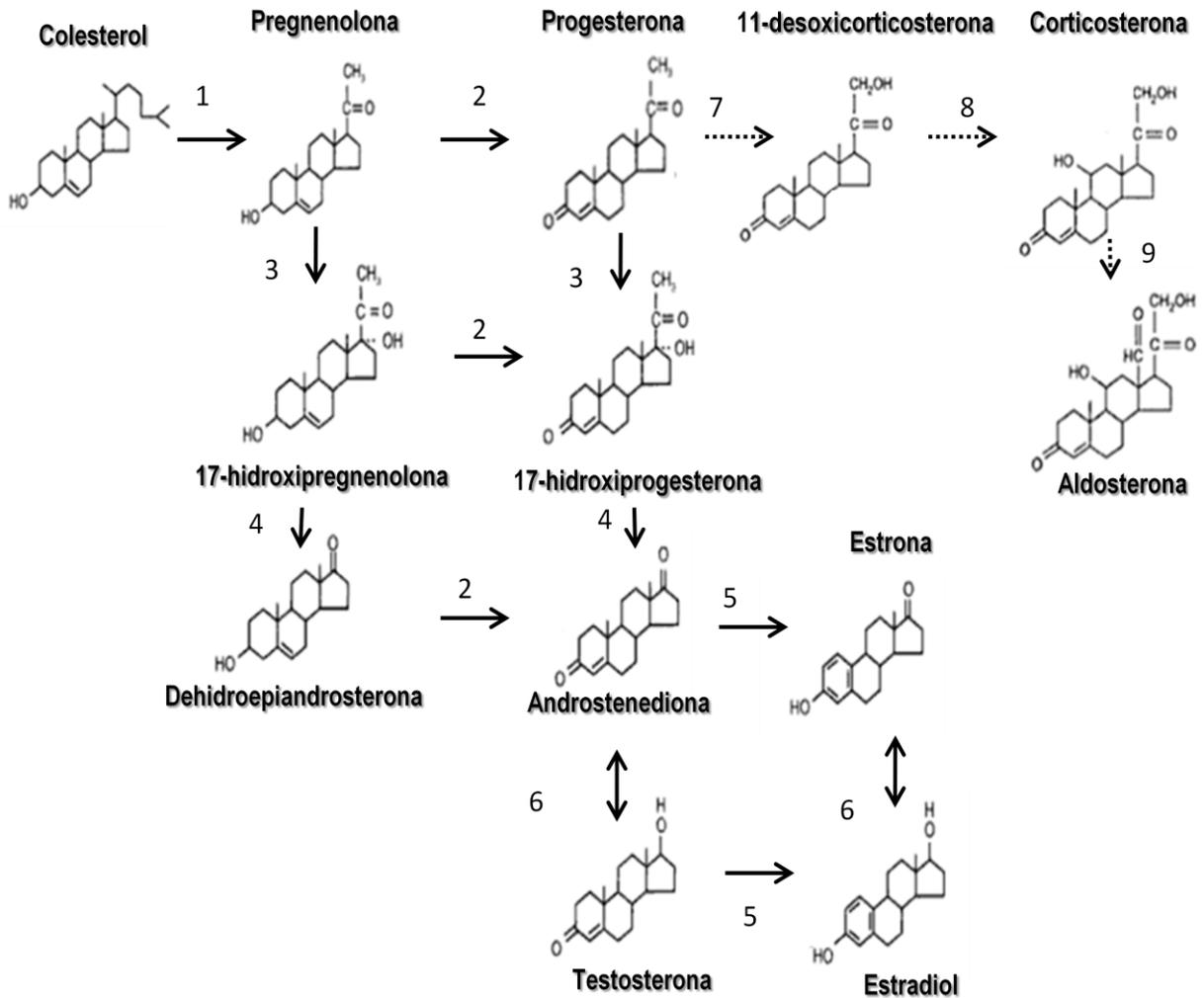


Figura 8. Ruta de síntesis de las hormonas esteroides ováricas y adrenales en la rata. La síntesis de mineralocorticoides y glucocorticoides por las adrenales se observa con flechas puntuadas. El colesterol es metabolizado y se reduce su número de carbonos dando lugar a las cinco clases de hormonas esteroides: 1) progestágenos, 2) andrógenos, 3) estrógenos, 4) mineralocorticoides y 5) glucocorticoides. De los cuales el ovario sintetiza las tres primeras clases de esteroides. Las glándulas adrenales, sintetizan todos, pero los estrógenos en mucho menor cantidad. Las enzimas que participan en la síntesis de esteroides son: 1(20, 22 desmolasa); P450scc, 2 (3β-HSD), 3 (P45017α), 4(17,20-esteroides liasa), 5(P450arom), 6(17β-HSD).7 (P450c21), 8(P450 c11), 9 (Aldosterona sintetasa P450 c11AS) (Modificada de Gore-Langton y Armstrong, 1998; Guyton y Hall, 2006).

Teoría de la Doble Célula-Doble Hormona

La síntesis de hormonas esteroides ováricas requiere de la participación de las células tecaes, células de la granulosa y de las gonadotropinas. La teoría de la doble célula doble hormona postula que los andrógenos, dependientes de la LH, atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa para su aromatización, inducida por la FSH (Figura 9) (Domínguez y col., 1991).

La FSH estimula la síntesis de estrógenos por las células de la granulosa cuando esta se une a su receptor en la membrana celular (Figura 9). Este complejo actúa sobre el sistema del adelnato ciclasa, lo que resulta en el aumento del AMPc, la síntesis y actividad de la enzima aromatasa (Domínguez y col., 1991).

La LH estimula de manera selectiva el complejo enzimático que separa la cadena lateral del colesterol, lo que resulta en la conversión de colesterol a pregnelonona, paso limitante en la síntesis de P_4 y por lo tanto de andrógenos (Figura 9) (Domínguez y col., 1991).

Para Hsueh y colaboradores (1983), la LH es la hormona más importante en la regulación de la producción de estrógenos, ya que estimula la síntesis de andrógenos, la de sus propios receptores y mantiene en cierto grado la producción de estrógenos por la estimulación de la síntesis y de la actividad de la enzima aromatasa en las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991).

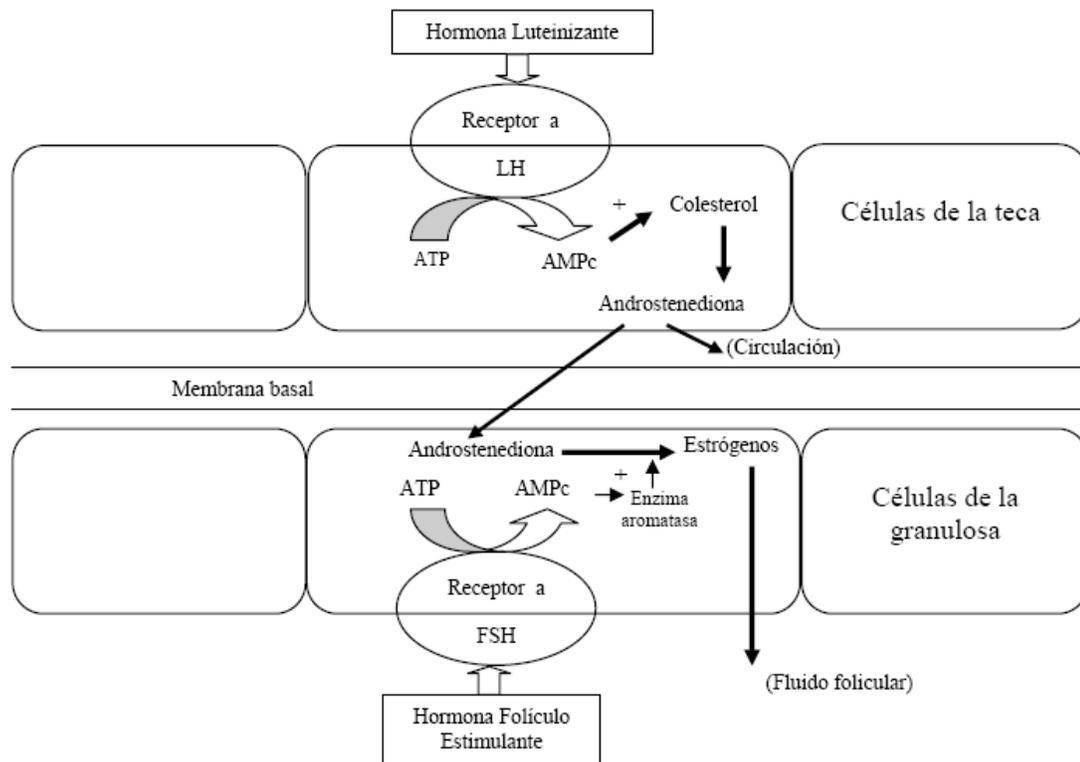


Figura 9. Teoría de la doble célula doble hormona. La LH estimula la producción de AMPc en las células tecales y la conversión de colesterol a andrógenos. Los andrógenos viajan a la circulación y atraviesan la membrana basal hasta las células de la granulosa. En las células de la granulosa, la FSH activa la producción del AMPc, lo que estimula el incremento de la enzima aromatasa y la conversión de andrógenos a estrógenos (Tomada de Yao y Barh, 1999).

IV.- Regulación Endocrina de las Funciones Ováricas y Adrenales

Las funciones ováricas y las funciones adrenales son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis (Yen, 2001). En el hipotálamo de la rata se libera la GnRH y la hormona liberadora de la corticotropina (CRH, por sus siglas en inglés). La GnRH es sintetizada en neuronas localizadas en el área preóptica o en su proximidad (séptum y en el núcleo hipotalámico anterior). Algunas neuronas se encuentran en el tubérculo olfatorio, en el lóbulo olfatorio principal y accesorio (Yen, 2001). La CRH es sintetizada en el núcleo paraventricular del hipotálamo, a partir de la prepro-CRH (Berne, 2002).

La GnRH y la CRH son transportadas por los axones dentro del tracto tuberoinfundibular hacia la eminencia media, donde son liberadas a la circulación del sistema portal que irriga a la adenohipófisis (Yen, 2001).

En la adenohipófisis, la GnRH estimula en los gonadotropos la secreción de las gonadotropinas. Los corticotropos sintetizan y liberan la ACTH, por estimulación de la CRH hipotalámica. Estas hormonas son liberadas a la circulación periférica para regular las funciones de sus órganos blanco; las gonadotropinas sobre las funciones ováricas y la ACTH, sobre la secreción de hormonas corticosteroides (Figura 10).

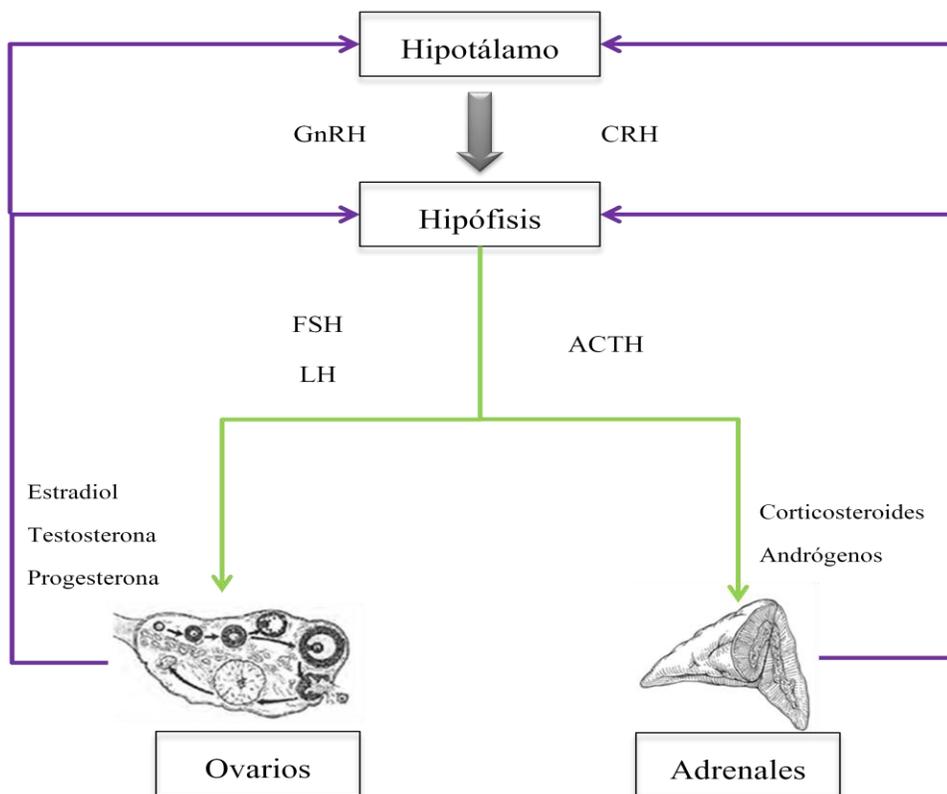


Figura 10. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario e hipotálamo-hipófisis-adrenal. El hipotálamo sintetiza la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y la hormona liberadora de la corticotropina (CRH). Estas hormonas son liberadas a la circulación del sistema porta y en la adenohipófisis, la GnRH estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de hormona luteinizante (LH) y la CRH la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). En el ovario estimulan la secreción de hormonas necesarias para la regulación de las funciones reproductivas y en las adrenales la secreción de corticosteroides. La secreción de estas glándulas ejerce retroalimentación negativa a nivel hipotálamo e hipofisario (Modificada de Levy y col., 2006).

V.- Inervación Ovárica

El ovario de la rata recibe inervación extrínseca e intrínseca. La presencia de fibras nerviosas intrínsecas proviene de neuronas catecolaminérgicas agrupadas en ganglios presentes en el mesoovario y el hilio. En la cepa Wistar, algunas neuronas se localizan en la corteza y la médula ovárica. Al parecer, la presencia de neuronas intraováricas depende la cepa de rata estudiada (D'Albora y col., 2002).

La inervación extrínseca proviene de fibras nerviosas simpáticas, parasimpáticas y sensoriales. La inervación simpática llega por el Nervio ovárico superior (NOS) y plexo ovárico (PO) (Lawrence y Burden, 1980). La comunicación entre los ovarios y las fibras nerviosas provenientes de estos nervios ocurre a nivel del ganglio celíaco (Baljet y Drukker, 1980).

La inervación parasimpática que recibe el ovario de la rata proviene del Nervio vago. El soma de las neuronas de los nervios vagos que inervan al ovario, se localizan en el 1) ganglio nodoso (ver anexo 2) y en las 2) células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T10-L2, lo que sugiere que aproximadamente el 85% de los nervios ováricos parasimpáticos son de naturaleza sensorial (Burden y col., 1983).

El nervio vago contiene diversos péptidos que incluyen la somatostatina (ST), sustancia P (SP), gastrina, VIP, neuropéptido Y (NPY), acetilcolina y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (Calka y col., 1988; Dissen y Ojeda, 1999; Gilbert y col., 1980; Luck, 1990).

En el ovario de la rata las fibras nerviosas inmunoreactivas para la SP y VIP se encuentran en las capas adventicias de las arterias pequeñas, en el tejido intersticial y en las células tecales del folículo en desarrollo (Papka y col., 1985).

Estos neuropéptidos también han sido localizados en el complejo del ganglio celíaco-mesentérico superior (CSMG) y se sabe que el nervio vago tiene numerosas sinapsis con él (Berthoud y Powley, 1996).

La enzima peroxidasa de rábano (Burden y col., 1983; Ortega-Villalobos, 1990), el virus de la pseudorabia y el fluorogold (Collins y col., 1999; Gerendai y col., 2000) son marcadores retrógrados utilizados para mostrar que el ovario, el útero y el cérvix de la rata son inervados por el nervio vago (Figura 11).

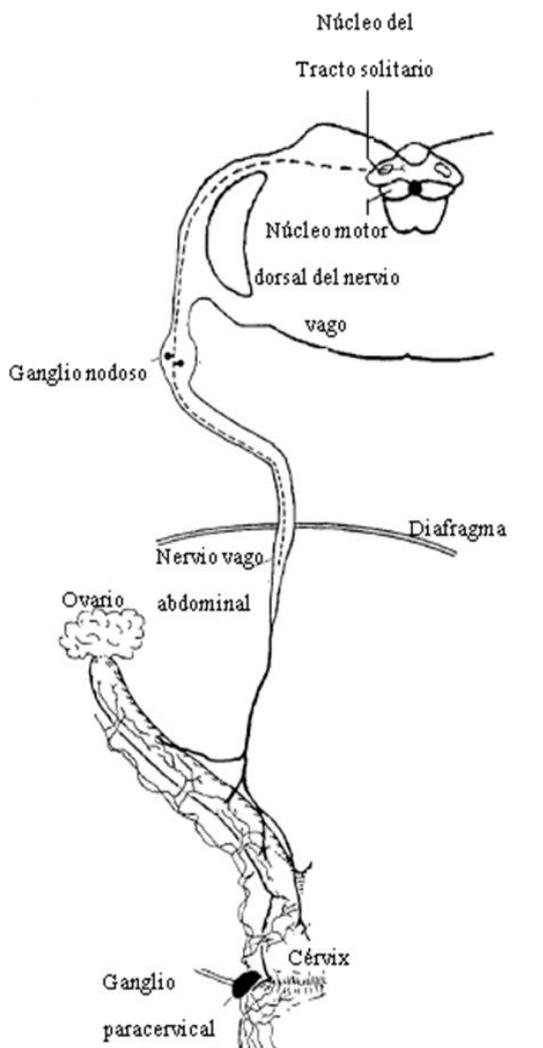


Figura 11. Relación morfológica entre las estructuras del sistema nervioso central (SNC), el ovario, útero y cérvix por medio del nervio vago (Modificada de Collins y col., 1999).

VI.- El Nervio vago y la Regulación de las Funciones Ováricas

Entre los ovarios y el SNC existe una conexión neural que participa en la regulación de las funciones ováricas (Barh y col., 1974; Burden, 1978; Domínguez y Riboni, 1971; Kawakami y col., 1981).

El sistema colinérgico modula de manera estimulante la secreción preovulatoria de LH, ya que la inyección subcutánea de 700 mg/Kg de sulfato de atropina en el día del Proestro, bloquea la ovulación (Everett y Sawyer, 1950).

In vitro, la acetilcolina estimula la liberación de las gonadotropinas cuando la hipófisis es coincubada con fragmentos del hipotálamo; efecto que es bloqueado por la atropina, por lo que se sugiere que la liberación de GnRH es estimulada por medio de los receptores muscarínicos (Fiorindo y Martini, 1975).

En animales con ovariectomía unilateral, la sección de ambos nervios vagos evaluada 15 días postcirugía, bloquea la hipertrofia compensatoria ovárica (HCO) y altera el ciclo estral. Resulta en una menor concentración sérica de gonadotropinas cuando estas son cuantificadas 5 y 24 horas después del tratamiento. Por ello, los autores sugieren que el nervio vago modula la actividad cíclica de los animales, la HCO y la secreción de gonadotropinas (Burden y Lawrence, 1977).

La vagotomía bilateral en ratas adultas bloquea la inducción de la pseudopreñez (Burden y col., 1981), resulta en menor concentración de sérica de LH; lo que se traduce en reabsorción fetal (Lawrence y col., 1978). En la rata pre-púber, la vagotomía bilateral retrasa el inicio de la pubertad y decrece la concentración de estrógenos ováricos (Ojeda y col., 1983).

En la rata con ovariectomía unilateral, en el ovario izquierdo *in situ*, se presenta un menor porcentaje de animales ovulantes que cuando se encuentra el ovario derecho *in situ*. Por lo que los autores sugieren que en la rata con ovariectomía unilateral, el ovario derecho parece ser más capaz de reaccionar a los sistemas regulatorios compensatorios (Chávez y col., 1987).

Los efectos de la sección del nervio vago izquierdo sobre la respuesta ovulatoria, dependen del ovario *in situ*. Cuando el ovario izquierdo se encuentra *in situ*, la tasa de animales ovulantes, la HCO y el número de ovocitos liberados incrementa; no así, cuando el ovario *in situ* es el derecho. La sección del nervio vago derecho, resulta en decremento de la HCO en animales con ovariectomía izquierda o derecha. Por ello, se sugiere que el carácter de la información neural que transcurre por el nervio vago izquierdo y derecho es diferente para cada ovario, ya que los efectos de la vagotomía unilateral sobre las funciones ováricas dependen del nervio vago y del ovario *in situ* (Chávez y col., 1987).

En el día del Proestro, ambos nervios vagos modulan de manera inhibitoria el reclutamiento folicular (Leonard y col., 1984) y la respuesta de los folículos ováricos a las gonadotropinas (Cruz y col., 1986), ya que la vagotomía bilateral resulta en incremento en la población folicular y en el número de ovocitos liberados.

El nervio vago participa en los mecanismos que regulan la duración del ciclo estral, lo que depende del día del ciclo en el que se evalué su participación. La sección unilateral del nervio vago realizada en el día del Estro o Diestro-1, resulta en cambios en la ciclicidad que cuando se realiza en el Diestro-2 o Proestro (Chávez y col., 1989).

La participación del nervio vago sobre la regulación de las funciones ováricas no solo varía en función del día del ciclo, sino también depende de la edad del animal utilizado como modelo de estudio. La vagotomía bilateral en animales de 28 días de edad, resulta en un mayor número de ovocitos liberados. En animales de 24 días de

edad la vagotomía uni o bilateral se traduce en incremento en el peso corporal, distensión estomacal y retraso en el día de apertura vaginal; sin cambios en la respuesta ovulatoria (Morales y col., 2004).

Con estos antecedentes, se sugiere que el nervio vago es una de las vías que comunican a las gónadas con el SNC; hipótesis que se apoya en el hecho de que las fibras sensoriales que forman la vía aferente visceral del nervio vago tienen sus cuerpos celulares en el núcleo del tracto solitario, el cual a su vez tiene conexiones con centros hipotalámicos que regulan la liberación de las gonadotropinas (Leslie, 1985; Powley y col., 1983; Ricardo y Koh, 1978).

VII.- Inervación de las Glándulas Adrenales

Las glándulas adrenales son inervadas por fibras nerviosas extrínsecas e intrínsecas que modulan la acción de la ACTH y la secreción de catecolaminas (Delarue y col., 2001; Vinson y col., 1994; Vizi y col., 1992).

La inervación intrínseca se origina en células ganglionares que se encuentran localizadas en la cápsula o dispersas entre las células corticales y medulares (Parker y col., 1993); aproximadamente de 12 a 16 células por cada adrenal (Tóth y col., 1997). Estas células sintetizan NA, VIP, NPY y la sintetasa del óxido nítrico. Las células cromafines de la glándula adrenal se encuentran reguladas por los nervios espláncnicos (Delarue y col., 2001; Vinson y col., 1994).

La inervación extrínseca proviene de fibras nerviosas postganglionares simpáticas. Se originan en el ganglio celíaco y adrenal e inervan la región subcapsular. Tienen contacto con las células adrenocorticales y los vasos sanguíneos (Delarue y col., 2001; Mohamed y col., 1988).

Las adrenales reciben axones simpáticos eferentes de las neuronas preganglionares de los plexos torácico inferior y lumbar superior, y axones eferentes parasimpáticos del nervio vago, los cuales entran a la glándula con las arterias, atraviesan la corteza y terminan en la médula (Figura 12) (Drucker, 2005).

La innervación colinérgica consiste en fibras preganglionares simpáticas que se originan de los nervios espláncnicos del cordón espinal a nivel torácico T7-T9 y se proyectan a la médula (Delareu y col., 2001).

El 86% de la innervación aferente que inerva a la médula adrenal se originan en neuronas del ganglio de la raíz dorsal. El 14% proviene del ganglio sensorial vagal (Tóth y col., 1997). Algunos nervios vagales adrenales eferentes vienen directamente del núcleo motor del vago. Otras terminales vagales han sido localizadas en los ganglios celíaco y suprarrenal (Gerendai y Halász, 1997).

El plexo suprarrenal está formado por ramos del ganglio celíaco, el plexo celíaco y el nervio espláncnico mayor. En comparación con su tamaño la innervación autónoma de la glándula adrenal es mayor que la de cualquier otro órgano. Sus fibras se describen generalmente como mielínicas y preganglionares, sin embargo, en la rata las fibras amielínicas son diez veces más numerosas y se consideran preganglionares (Coupland, 1965).

En el control neural de las glándulas adrenales, están involucrados neurotransmisores y péptidos, entre los que se encuentran las interleucinas-encefalinas, la ST, el VIP, CGRP, CRH, SP, NPY, la acetilcolina y las catecolaminas (dopamina, adrenalina y NA) (Holzwarth y col., 1987; Vinson y col., 1994; Wakade, 1981).

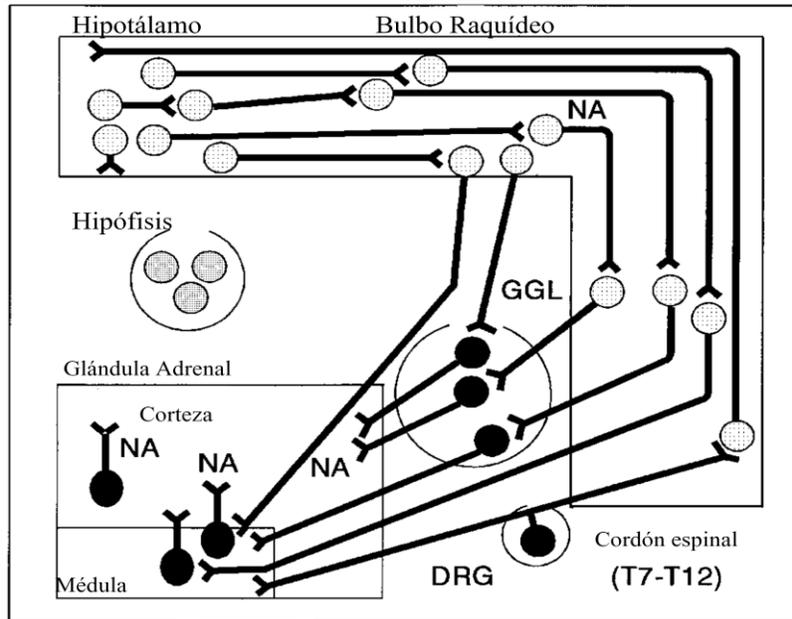


Figura 12. Esquema donde se observan las conexiones neurales en la glándula adrenal de la rata. La mayoría de la inervación extrínseca termina en la médula, pero en la corteza, la zona glomerulosa también es altamente inervada. Los nervios postganglionares provienen del ganglio autónomo. La mayoría de las neuronas preganglionares simpáticas se encuentran localizadas entre los segmentos T7-T12 del cordón espinal. Las fibras nerviosas intrínsecas son originadas en las células ganglionares de la médula y de la corteza. Las fibras nerviosas aferentes proceden de las neuronas de los ganglios de la raíz dorsal (86%) y de los ganglios sensoriales vagales (14%). NA: terminales nerviosas noradrenérgicas, GGL: ganglios autónomos (ganglio suprarrenal y celíaco), DRG: ganglio de la raíz dorsal (Tomado de Tóth y col., 1997).

VIII.-Participación de la Inervación sobre la Regulación de las Funciones Adrenales

La inervación de las glándulas adrenales juega un papel muy importante en la regulación de sus funciones (Vinson y col., 1994; Vizi y col., 1992).

La adrenalectomía unilateral, resulta en un mayor peso de la adrenal remanente y en aumento en los cuerpos celulares del núcleo ventromedial del hipotálamo de manera contralateral a la adrenal extirpada y decrecen del lado ipsilateral a la adrenalectomía (Gerendai y Halász, 2001).

El crecimiento adrenal compensatorio se presenta en las 72 horas postcirugía y es el resultado directo de la proliferación celular y la síntesis de ADN por lo que se existe incremento en el peso de adrenal remanente en un 20 ó 30%, sin cambios en la secreción de ACTH (Dallman y col., 1976). Por ello, los autores sugieren que el crecimiento adrenal compensatorio es mediado por vías neurales aferentes, la inervación que recibe la adrenal extirpada y la información que recibe el SNC proveniente del órgano.

En la regulación de la esteroidogénesis adrenal participa el VIP y la NA. Ambos, modulan de manera estimulante la secreción de aldosterona y corticosterona (Holzwarth, 1987). En la corteza adrenal, el VIP activa el sistema del adenilato ciclasa (Vinson y col., 1994).

En bovinos, la secreción de cortisol es estimulada por los nervios espláncnicos, ya que la sección de estos nervios decrece la respuesta de las glándulas a la ACTH. En el cerdo, la estimulación de estos nervios resulta en una mayor concentración sérica de cortisol y aldosterona, efecto que es reducido si se administra adrenalina y NA (Vinson y col., 1994). En ratas y conejos, el CGRP modula de manera estimulante la síntesis de aldosterona y corticosterona, ya que la administración de este péptido resulta en incremento en las concentraciones de esta hormona (Vinson y col., 1994).

En ratas, la administración de CRH resulta en mayor secreción de aldosterona y corticosterona, sin cambios en la secreción de ACTH. *In vitro*, la CRH estimula la secreción de esteroides adrenales y participa en la capacidad de respuesta de la adrenal a la ACTH (Vinson y col., 1994).

Los nervios espláncnicos estimulan la secreción de corticosterona, ya que al seccionar ambos nervios decrece la concentración sérica de esta hormona, acompañado de una mayor concentración de ACTH. Por lo tanto, se sugieren que los nervios espláncnicos regulan la secreción de corticosterona y modula la respuesta de la

adrenal a la ACTH (Ulrich y col., 2006).

IX.- Participación de las Glándulas Adrenales sobre las Funciones Ováricas

En la regulación de las funciones ováricas participan las glándulas adrenales por medio de las interrelaciones funcionales con el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Barco y col., 2003; Chrousos y col., 1998; Flores, 2006; Flores y col., 2008; Jacobs y Pepler, 1980; Walker y col., 2001).

La adrenalectomía resulta en retraso de la apertura vaginal, bloqueo en la respuesta ovulatoria y alteración de la duración del ciclo estral (Anderson y Turner, 1963).

La supresión de la actividad de la glándula adrenal por medio de la administración de fosfato de dexametasona, resultó en el bloqueo de la ovulación, el cual puede ser revertido por la administración de P_4 o ACTH. Por lo que se sigue que la P_4 de origen adrenal facilita la liberación de LH y la ovulación (Feder y col., 1971).

La adrenalectomía resulta en un menor número de crías, en comparación con animales intactos. Además, cambios en la secreción de la glándula adrenal (corticosterona, P_4) modifican los procesos reproductivos como la pubertad, la ovulación en animales adultos, alteración del ciclo estral, comportamiento de lordosis, la fertilidad, implantación, desarrollo en etapas fetales y la lactancia (Ramaley, 1974).

El número de folículos de 448 μm , es decir aquellos que serán liberados en el estro vaginal, es menor en animales con adrenalectomía bilateral realizada en el día del Diestro-1. En estos animales, existe un menor número de ovocitos liberados cuando los parámetros son evaluados a los 7, 30 ó 90 días después de cirugía. Por lo que los autores sugieren que las glándulas adrenales modulan de manera estimulante la ovulación y el desarrollo folicular (Pepler y Jacobs, 1976; Jacobs y Pepler, 1980).

La CRH y ACTH liberadas en una actividad o situación estresante, inhibe parcialmente la secreción de GnRH. El neuropéptido hipotalámico CRH y sus receptores han sido localizados en los ovarios, el útero y la placenta (Kalantaridou y col., 2004).

A las 13:00 h del día del Estro, ambas adrenales modulan de manera inhibitoria los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de testosterona y 17 β -estradiol, ya que la adrenalectomía bilateral, resultó en una mayor concentración sérica de estas hormonas, evaluadas una hora después del tratamiento (Barco y col., 2003). La modulación inhibitoria de las adrenales sobre la secreción de 17 β -estradiol y testosterona varía en función del día del ciclo estral y de la adrenal extirpada (Flores, 2006; Palafox, 2007; Rodríguez, 2006).

En ratas adultas, las adrenales son la fuente principal de P_4 . Esta secreción es constante durante el ciclo estral (Meléndez, 2005). En el día del Proestro, ambas adrenales modulan de manera estimulante los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación (Flores, 2006; Velasco, 2007).

En los días del Diestro, las glándulas adrenales y ambos nervios vagos modulan de manera estimulante la secreción de P_4 . En el día del Estro, la adrenal izquierda y ambos nervios vago modulan de manera estimulante la secreción de esta hormona; ya que en animales con adrenal derecha *in situ* y vagotomía bilateral la concentración sérica de P_4 , cuantificada una hora después la cirugía disminuye significativamente (Alanis, 2010).

X.- Asimetrías Funcionales en los Ovarios y en las Glándulas Adrenales

La *asimetría funcional* hace referencia a las diferencias en la respuesta que presenta el órgano derecho y el izquierdo ante el mismo estímulo. Estas diferencias pueden observarse en humanos y animales. La asimetría funcional se pone de manifiesto en

condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a algún tipo de experimento (Domínguez y col., 2003).

La primera evidencia de la presencia de asimetría en el cerebro proviene de Paul Broca (1861), quien reportó la perturbación de las funciones del lenguaje como resultado de la destrucción de las regiones que limitan el lado izquierdo del cerebro (Gerendai y Halász, 2001).

En ratas prepúber, la HCO es bloqueada cuando se realiza la lesión del lado izquierdo del hipotálamo en ratas con ovariectomía izquierda, pero no cuando la ovariectomía es contralateral al lado lesionado. Con base en esta evidencia, los autores sugieren que existen diferencias en el hipotálamo en términos de sensibilidad a los componentes endocrinos que regulan las funciones ováricas (Nance y col., 1983).

Las estructuras neurales del lado derecho del hipotálamo juegan un rol predominante sobre el control endocrino de la reproducción. En animales con ovariectomía unilateral, la lesión (por radio frecuencia) del lado derecho del hipotálamo anterior inhibe la HCO del ovario *in situ*, mientras que la lesión del lado izquierdo no la modifica (Fukuda y col., 1984). La lesión del área preóptica en el día del Estro, disminuye el número de animales ovulantes, mientras que la del lado izquierdo no la afecta (Morán y col., 1994). La lesión del lado derecho del área retroquiasmática con ácido kaínico, bloquea el desarrollo de la HCO, cuando se extirpa el ovario derecho (Nance y col., 1984).

Las diferencias significativas en el contenido de GnRH entre el lado izquierdo y derecho del hipotálamo muestran la presencia de asimetría en el sistema neuroendocrino (Borson y col., 1986).

En el humano existen altas concentraciones de la Hormona Liberadora de la Tirotropina (TRH, por sus siglas en inglés) en el hipotálamo izquierdo ventromedial, dorso medial y núcleo paraventricular (Borson y col., 1986).

El hipotálamo, en lo que respecta sus lados izquierdo y derecho, presenta diferencias bioquímicas vinculadas a los mecanismos que regulan el funcionamiento del ovario. La concentración de GnRH en el hipotálamo medio basal del lado derecho es el doble que en el izquierdo (Gerendai y Halász, 1997). La diferencia en el contenido de GnRH, parece ser el resultado de la diferencia en la síntesis de GnRH, ya que la expresión del gen que regula la expresión del RNAm de la GnRH es diferente en uno y otro lado del hipotálamo medio basal (área preóptica e hipotalámica anterior) (Arteaga-López y col., 2000).

Por lo tanto, se puede considerar que la asimetría funcional y bioquímica del hipotálamo es el resultado de diferencias bioquímicas y anatómicas relacionadas con las señales neuroendocrinas que regulan la secreción de diversas hormonas (Domínguez, 1992).

La lesión o el implante de atropina en el lado derecho del hipotálamo anterior en el día del Estro, resultan en decremento significativo de la ovulación y en la aparición de una conducta masculina reflejada en la atracción sexual por otras hembras. Si se realiza del lado izquierdo del hipotálamo anterior, todos los animales presentan ovulación pero se induce desfemenización (pérdida del ciclo estral) (Gerendai y Halász, 1997).

Los ovarios y las adrenales presentan asimetrías funcionales (Domínguez y col., 1998) que se deben principalmente a asimetrías presentes en el SNC y en la participación de la inervación sobre la modulación de sus funciones (Barh y col., 1974; Burden, 1978; Domínguez y Riboni, 1971; Gerendai y Halász, 2001; Vinson y col., 1994; Vizi y col., 1992).

En las glándulas adrenales, la adrenal izquierda pesa más que la adrenal derecha (Gerendai y col., 2001). La adrenalectomía induce cambios asimétricos en el hipotálamo, lo que resulta en el incremento de la actividad de la síntesis de proteínas en las neuronas del núcleo arcuato, cuando es extirpada la adrenal contralateral, ya que la adrenalectomía unilateral resultó en un incremento de los núcleos del hipotálamo ventromedial del lado contralateral a la adrenal extirpada, mientras que los núcleos se encontraban reducidos cuando la adrenalectomía era del lado ipsilateral a los núcleos de hipotálamo (Halász y Szentágothai, 1959).

La respuesta del ovario a las gonadotropinas también depende de la integridad de la información neural que recibe cada gónada y de la respuesta que genere cada órgano ante la falta de información neural. Se ha propuesto la hipótesis según la cual cada lado del hipotálamo recibiría información de la función ovárica por dos vías: una hormonal y otra neural. El nervio vago podría ser una de las vías portadoras de la información neural que sería diferente según cual fuera el ovario de origen (Domínguez, 1992).

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Entre los ovarios y las glándulas adrenales existe una interacción neuroendocrina que participa en los mecanismos que regulan sus funciones. La información parasimpática que inerva al ovario proviene del nervio vago. Este nervio modula la acción de las gonadotropinas en los compartimientos ováricos y es una de las vías de comunicación neural entre los ovarios, las adrenales y el SNC.

La modulación inhibitoria o estimulante que ejerce el nervio vago y las glándulas adrenales sobre la secreción de hormonas ováricas e hipofisarias varía en función del día del ciclo estral. Sin embargo, no existen estudios donde se analice su participación como puente de comunicación entre ambos órganos y el SNC sobre la ovulación de la rata hembra adulta. Por ello, en este estudio se propuso analizar la interacción endocrina y neural entre los ovarios y las adrenales por medio del nervio vago.

Para ello, se analizaron los efectos de la sección uni o bilateral del nervio vago o la adrenalectomía unilateral seguida de la sección uni o bilateral de este nervio en cada una de las etapas del ciclo estral de la rata hembra adulta sobre la ovulación.

HIPÓTESIS

Las funciones ováricas son reguladas por mecanismos neuroendocrinos en los que participan las glándulas adrenales y el nervio vago como una de las vías de comunicación neural entre los ovarios, las adrenales y el SNC. Entonces la extirpación de las adrenales y la sección del nervio vago, afectará la ovulación, lo que dependerá del día del ciclo en el que se realice la cirugía.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación de las glándulas adrenales y el nervio vago durante el ciclo estral de la rata hembra adulta intacta o con adrenalectomía, sobre la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados.

Objetivos Particulares

- Analizar la participación del nervio vago en cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación.

- Analizar en cada etapa del ciclo estral los efectos de la adrenalectomía unilateral seguida de la sección unilateral o bilateral del nervio vago sobre la ovulación.

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 alimento (Purina rat chow). A los animales se les realizó frotis vaginal diariamente y solo se utilizaron aquellos que presentaron, al menos, dos ciclos consecutivos de cuatro días.

Diseño Experimental

Grupo Testigo Absoluto: Se utilizaron ratas cíclicas intactas que en la etapa de Estro se sacrificaron por decapitación a las 13:00 h.

Grupo con Adrenalectomía: Los datos de los grupos con adrenalectomía unilateral que se utilizaron para realizar el análisis estadístico fueron tomados de la tesis de licenciatura de Pimentel (2011).

Grupos Experimentales

A las 13:00 h del día del Diestro-1, Diestro-2, Proestro o Estro, los animales fueron asignados al azar a alguno de los siguientes grupos experimentales (n=8). Para los tratamientos quirúrgicos, los animales fueron anestesiados con éter.

Grupo con Laparotomía: A los animales se les hizo una incisión ventral de piel y músculo, se abrió la cavidad abdominal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla), y sin tocar órganos se suturó la herida por planos.

Grupo con Sección del nervio vago: Para realizar la sección a nivel subdiafragmático del los troncos vagales, a un grupo de 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. Se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar el nervio vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D), o ambos nervios vago (Nv-B). Los órganos expuestos fueron colocados en su posición y finalmente se suturó la herida en planos (Figura 13).

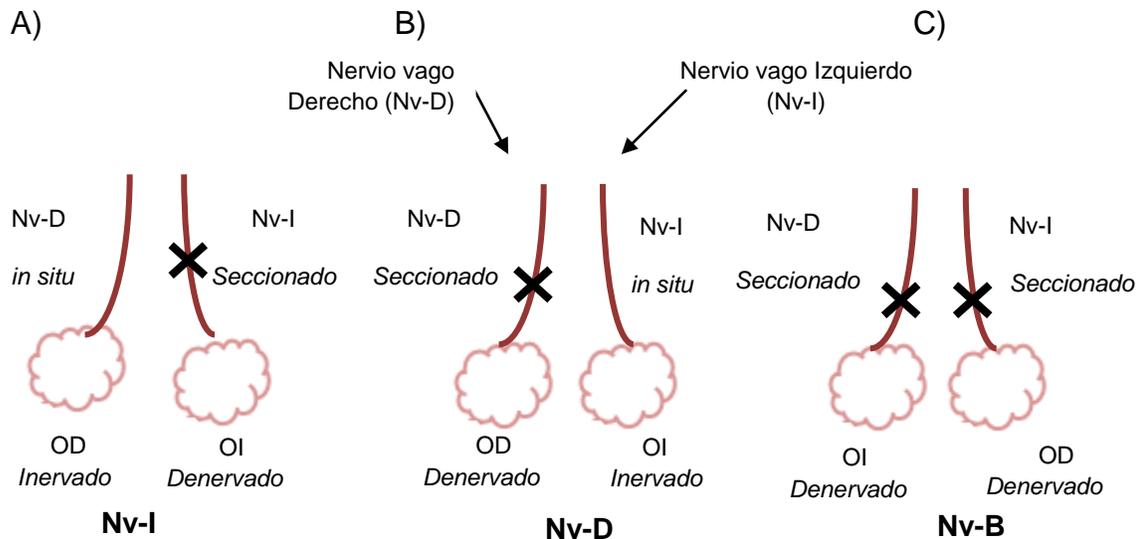


Figura 13. En el esquema A se observa la sección el nervio vago izquierdo (Nv-I). El esquema B muestra que el ovario izquierdo quedó inervado y el ovario derecho denervado ya que se realizó la sección del nervio vago derecho (Nv-D). En el esquema C se muestra que ambos ovarios están denervados puesto que se realizó la sección de ambos nervios (Nv-B).

Grupos con Adrenalectomía unilateral y sección unilateral del nervio vago:

Para analizar los efectos que tienen la adrenalectomía unilateral seguida de la sección unilateral del nervio vago sobre la ovulación, se procedió a extirpar la adrenal izquierda y en el mismo acto se seccionó el nervio vago ipsilateral (Adx-I+ Nv-I) o contralateral (Adx-I+ Nv-D) (Figura 14 A y B) o se extirpó la adrenal derecha y se seccionó el nervio vago izquierdo (Adx-D+ Nv-I) o derecho (Adx-D+ Nv-D) (Figura 14 C y D).

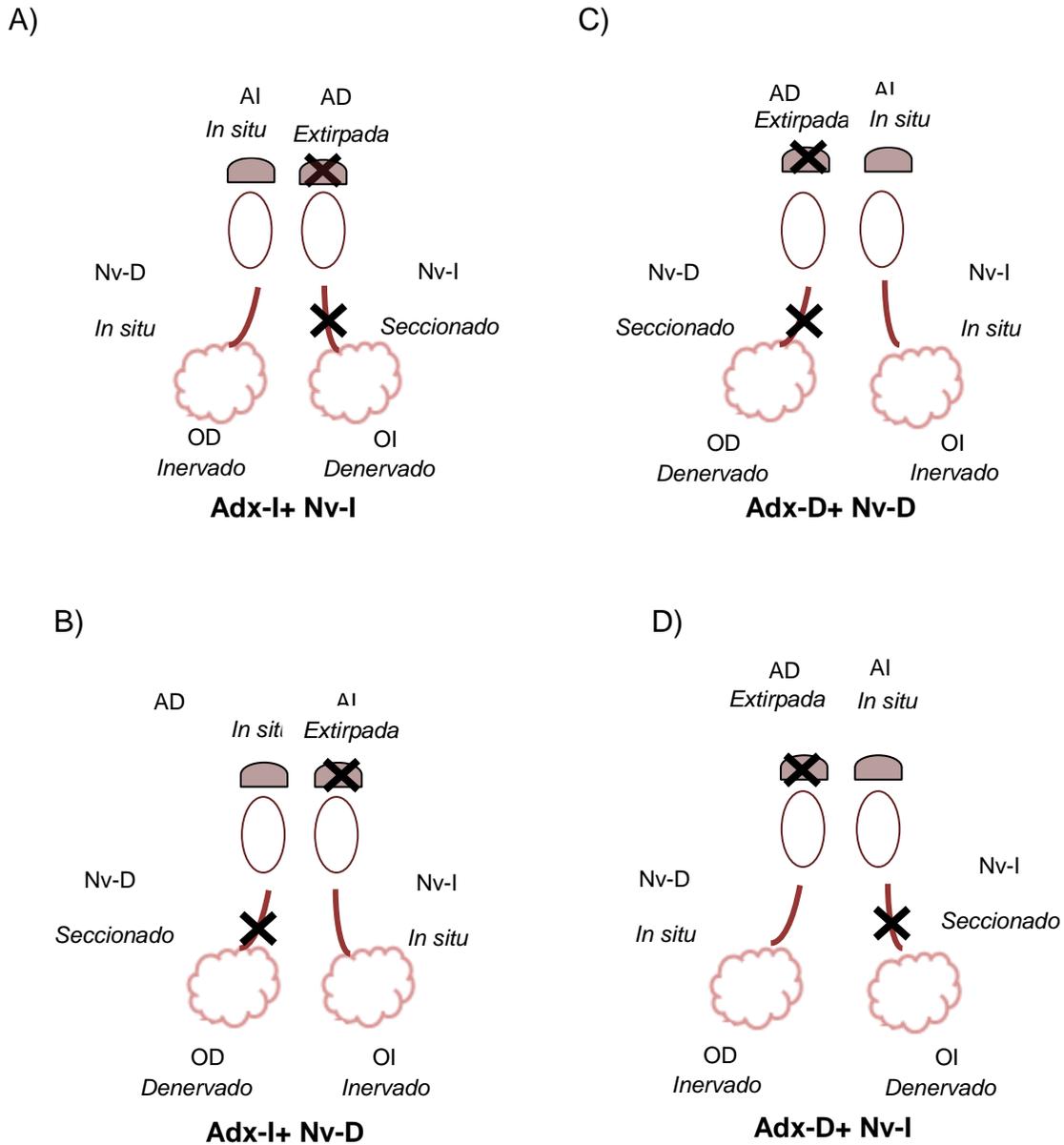


Figura 14. En el esquema A y B se muestra al animal al que se le realizó la adrenalectomía izquierda y la sección del nervio vago izquierdo (Adx-I+Nv-I) o derecho (Adx-I+Nv-D). En el esquema C y D se observa al animal con adrenal izquierda *in situ* pero con sección del nervio vago derecho (Adx-D+Nv-D) o izquierdo (Adx-D+Nv-I).

Grupos con Adrenalectomía unilateral y sección bilateral del nervio vago:

Con el fin de analizar la participación que tiene cada una de las glándulas adrenales y la de ambos nervios vago sobre la ovulación, se procedió a realizar la extirpación de la adrenal izquierda y en el mismo acto se seccionaron ambos nervios vagos (Adx-I+Nv-B) o se extirpó la adrenal derecha y se procedió a seccionar ambos nervios vago (Adx-D+Nv-B) (Figura 15).

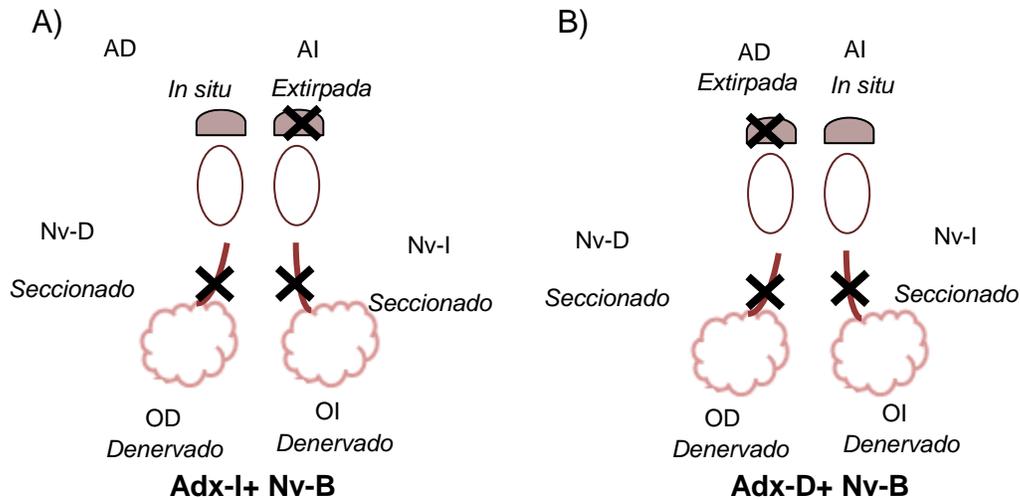


Figura 15. En el esquema A se muestra el modelo experimental con adrenalectomía izquierda y sección de ambos nervios vago (Adx-I+Nv-B); tiene la adrenal derecha *in situ* denervada y ambos ovarios *in situ* denervados por el nervio vago. En el esquema B permanece la adrenal izquierda *in situ* denervada y ambos ovarios *in situ* denervados por el nervio vago (Adx-D+Nv-B).

Procedimiento de autopsia

Después de haber realizado las cirugías, la toma de frotis vaginales se reinició un día después de la cirugía. Una vez que el animal presentó el estro vaginal, los animales fueron pesados y sacrificados por decapitación a las 13:00 h.

Con ayuda de un microscopio estereoscópico, en los oviductos (izquierdo y derecho) se verificó la presencia de ovocitos y se cuantificaron. Los resultados del número de ovocitos se expresaron como los correspondientes a cada ovario y

como totales (los liberados por ambos ovarios). Los resultados fueron expresados por la media \pm error estándar de la media (e.e.m.) de cada grupo experimental.

La tasa de animales ovulantes (TAO) fue definida como el número de animales que ovulan/número total de animales tratados.

Se disecaron los ovarios, el útero y las adrenales y se pesaron en una balanza de precisión. El peso de órganos se expresó en miligramos por cada 100 gramos de peso corporal (mg/100 g P.C.).

Análisis estadístico:

El número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney. La TAO fue analizada por la prueba de probabilidad exacta de Fisher, cuando se analizó el efecto de las cirugías considerando cada día del ciclo de manera independiente.

La prueba de Ji Cuadrada se utilizó para analizar el efecto de los tratamientos considerando las cuatro etapas del ciclo estral sobre la TAO.

El peso de los órganos (ovarios, útero y adrenales) y el peso corporal, fueron analizados por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. Cuando fue necesario comparar los resultados de dos grupos se utilizó la prueba t de Student. En todos los casos se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue menor o igual al 5%.

RESULTADOS

GRUPO TESTIGO INTACTO

Todos los animales del grupo testigo absoluto ovularon el día del Estro vaginal y liberaron 13.4 ± 0.8 ovocitos (7.3 ± 0.9 por el ovario izquierdo y 6.1 ± 0.6 por el ovario derecho).

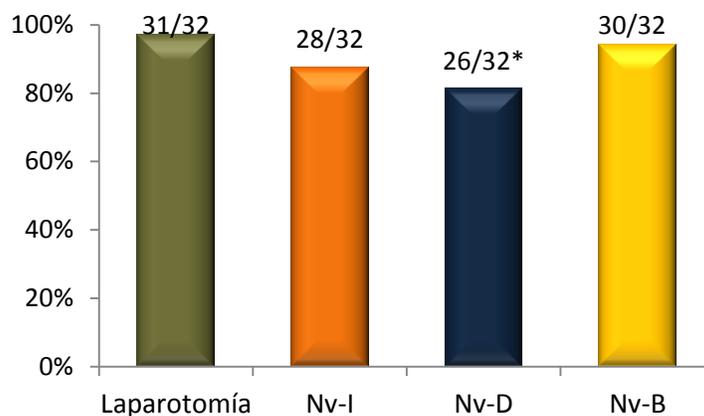
EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA

En comparación con el grupo testigo absoluto, la laparotomía no modificó la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados, el peso del útero, los ovarios y las adrenales (datos no mostrados).

EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVI VAGO

La Nv-I o Nv-B no modificó la tasa de animales ovulantes ni en el número de ovocitos liberados (Gráfica 1).

La tasa ovulatoria de los animales con Nv-D fue menor que en el grupo con laparotomía (Gráfica 1). En este grupo de animales, el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar al del grupo testigo (14.05 ± 1.1 vs. 13.6 ± 0.7 , n.s.).



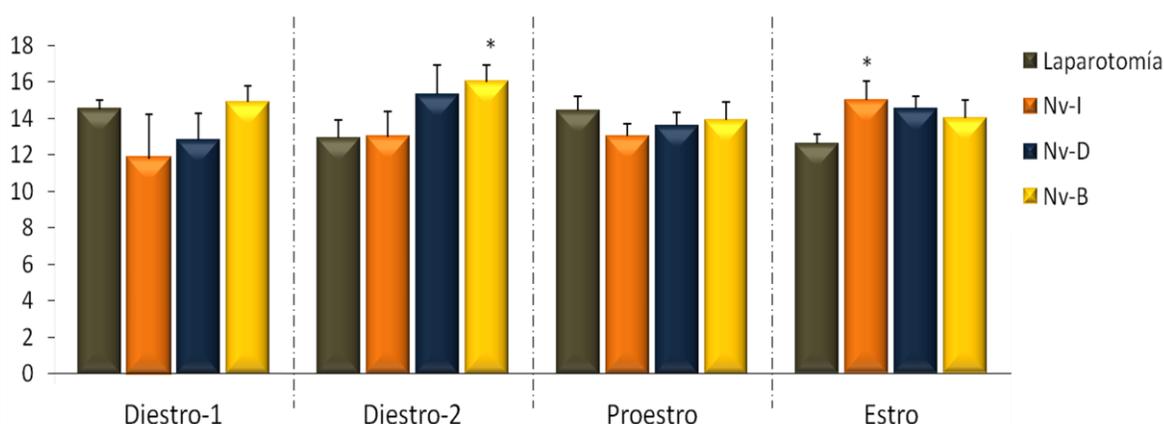
Gráfica 1. Porcentaje de animales ovulantes en animales con sección del Nervio vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D) o bilateral (Nv-B) realizada en el ciclo estral de la rata adulta, * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba Ji Cuadrada).

Cuando los resultados se analizaron en función del día del tratamiento, la tasa ovulatoria del ovario izquierdo de los animales con Nv-D realizada en el día del Diestro-1, fue menor que en los animales con laparotomía (3/8 vs. 8/8, $p < 0.05$). En estos animales el peso del útero fue mayor (137.5 ± 9.5 vs. 110.1 ± 6.3 , $p < 0.05$) y no se observaron cambios en el peso de los ovarios y las adrenales (datos no mostrados).

En el día del Diestro-2, la sección unilateral del Nervio vago no modificó el número de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados. La vagotomía bilateral resultó en un mayor número total de ovocitos liberados en comparación con el grupo laparotomía (Gráfica 2). El peso del ovario derecho fue menor en los animales con Nv-I que en los sometidos a laparotomía (9.1 ± 0.4 vs. 15.3 ± 2.2 , $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso del útero y las adrenales (datos no mostrados).

La sección uni o bilateral del Nervio vago realizada en el día del Proestro, no modificó la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados. El peso de los ovarios de los animales con vagotomía bilateral fue mayor que en el grupo con laparotomía (Izquierdo: 13.2 ± 0.9 vs. 9.9 ± 0.8 ; Derecho: 15.6 ± 1.4 vs. 11.6 ± 0.8 , $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso del útero y las adrenales (datos no mostrados).

El número total de ovocitos liberados por los animales con Nv-I realizada en el día del Estro, fue mayor que en el grupo con laparotomía (Gráfica 2). La diferencia se explica por el mayor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (8.6 ± 0.6 vs. 6.4 ± 0.5 , $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso del útero, los ovarios y las adrenales (datos no mostrados).



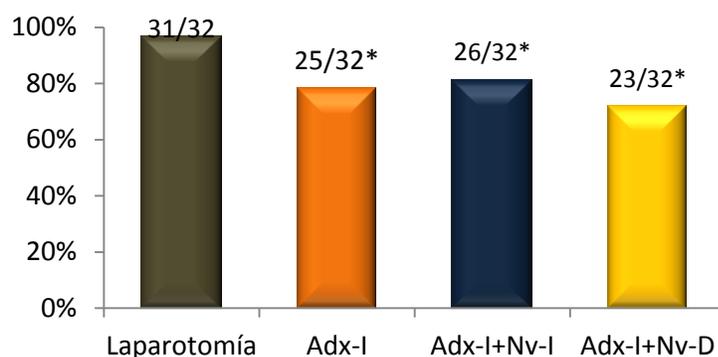
Gráfica 2. Media \pm e.e.m del número total de ovocitos liberados por los animales con laparotomía, con sección del Nervio vago izquierdo (Nv-I), derecho (Nv-D) o bilateral (Nv-B) en cada etapa del ciclo estral, * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba U de Mann-Whitney).

EFFECTOS DE LA ADRENALECTOMÍA UNILATERAL SEGUIDA DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVI VAGO

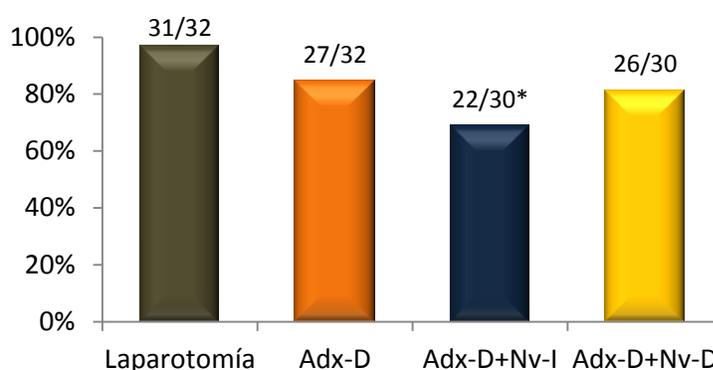
La tasa de animales ovulantes de los animales con Adx-I seguida de la sección unilateral del Nervio vago, fue menor que en el grupo con laparotomía (Gráfica 3 A). El número de ovocitos liberados por animal ovulante fue similar al del grupo testigo (+Nv-I: 13.0 ± 1.1 ; +Nv-D: 11.6 ± 1.3 vs. 13.6 ± 0.7 , n.s).

La tasa de animales ovulantes de los animales con Adx-D+Nv-I fue menor que en el grupo con laparotomía (Gráfica 3 B). El número de ovocitos liberados por animal ovulante fue igual al del grupo testigo (13.6 ± 0.7).

A)



B)

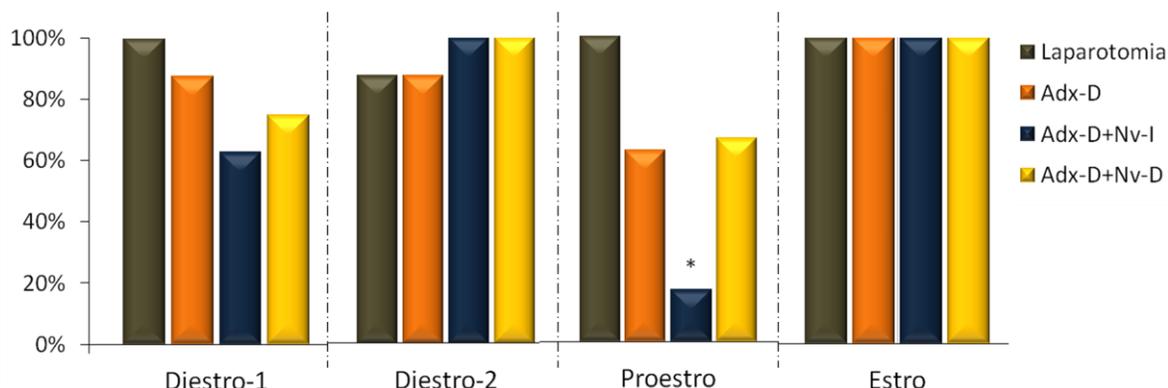


Gráfica 3. Porcentaje de animales ovulantes en animales con adrenalectomía izquierda (A) o derecha (B) seguida de la sección del Nervio vago izquierdo (Adx-I+Nv-I) o derecho (Adx-I+Nv-D) realizadas en el ciclo estral de la rata adulta, * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba Ji Cuadrada). Los resultados de la adrenalectomía izquierda (Adx-I) y derecha (Adx-D) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

Cuando los resultados se analizaron en función del día del tratamiento, en los días del Diestro y Estro, la adrenalectomía unilateral seguida de la sección unilateral del Nervio vago no modificó la tasa de animales ovulantes.

La TAO total (por el ovario izquierdo más el ovario derecho), en animales con Adx-D+Nv-I realizada en el día del Proestro, fue menor en comparación con los animales con laparotomía (Gráfica 4) (1/6 vs. 8/8, $p < 0.05$). En estos animales el peso de la adrenal izquierda fue mayor que los animales con Adx-D (14.8 ± 1.0 vs. 11.0 ± 1.2 , $p < 0.05$).

La Adx-D+Nv-D realizada en el día del Diestro-2, resultó en un menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo comparado con los animales con Adx-D (5.0 ± 0.4 vs. 8.9 ± 0.9 , $p < 0.05$).

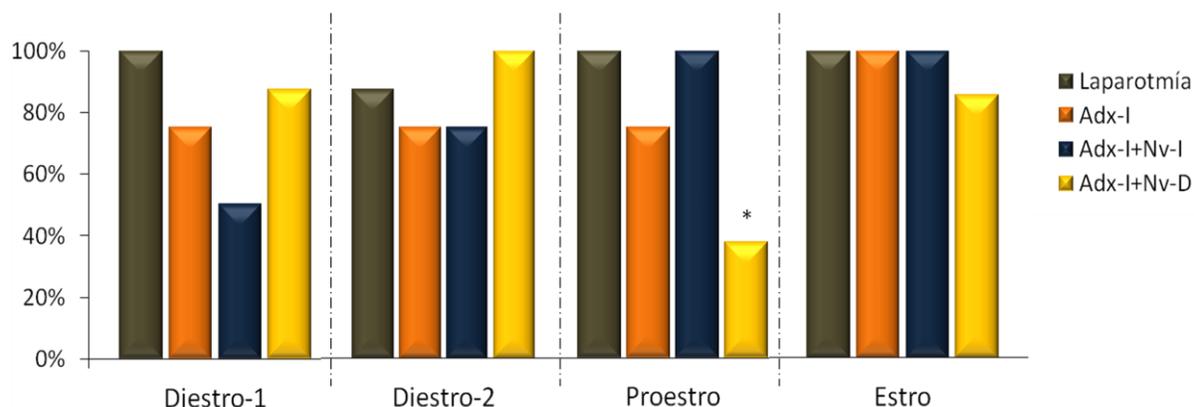


Gráfica 4. Porcentaje de animales ovulantes por ambos ovarios en animales con laparotomía, adrenalectomía derecha (Adx-D) o con adrenalectomía derecha seguida de la sección del nervio vago izquierdo (Adx-D+Nv-I) o derecho (Adx-D+Nv-D) realizadas en cada día del ciclo estral, * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher). Los resultados del grupo con adrenalectomía derecha (Adx-D) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

El número de ovocitos liberados por el ovario derecho en animales con Adx-D+Nv-D realizada en el día del Estro, fue menor que en el grupo con Adx-D (4.3 ± 0.4 vs. 6.8 ± 0.5 , $p < 0.05$). En estos animales, la masa ovárica fue menor (23.6 ± 1.5 vs. 33.4 ± 4.5 , $p < 0.05$). La diferencia se explica por el menor peso del ovario izquierdo (11.1 ± 0.7 vs. 16.3 ± 2.2 , $p < 0.05$).

En ningún día del ciclo, la Adx-I+Nv-I modificó la tasa de animales ovulantes. La Adx-I+Nv-I realizada en el día del Proestro, resultó en un menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho comparado con el de los animales con Adx-I (5.3 ± 0.7 vs. 8.4 ± 0.05 , $p < 0.05$).

La tasa total de animales ovulantes en animales con Adx-I+Nv-D realizada en el día del Proestro, fue menor comparada con el grupo con laparotomía (Gráfica 5). El resultado es el mismo si se compara la tasa de animales ovulantes de estos animales con la del grupo con Nv-D (3/8 vs. 8/8, $p < 0.05$). En estos animales el peso del útero fue mayor que en el grupo con Adx-I (135.4 ± 6.1 vs. 116.9 ± 5.5 , $p < 0.05$).



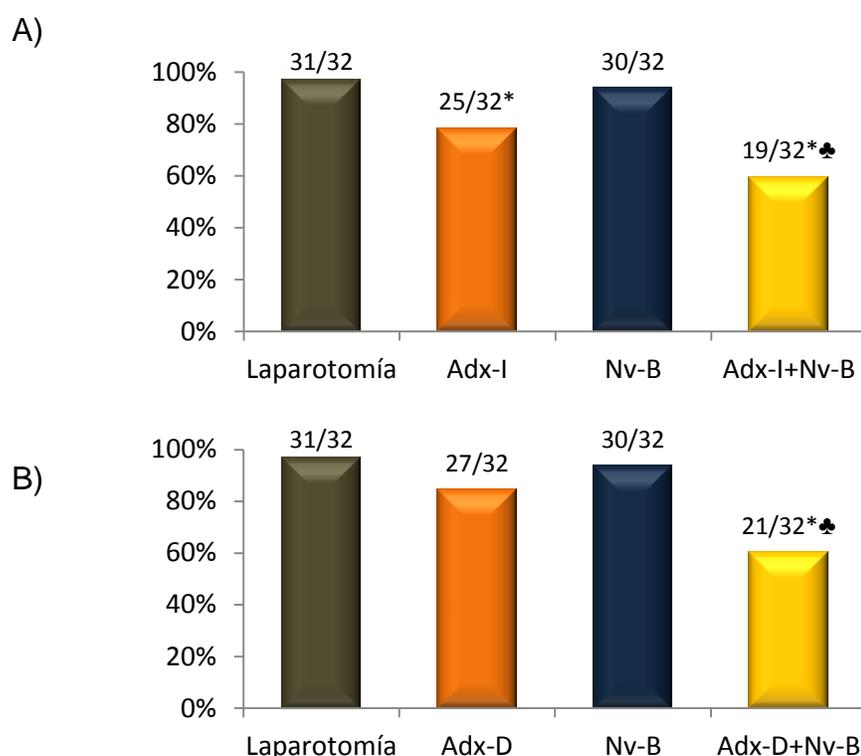
Gráfica 5. Porcentaje de animales ovulantes por ambos ovarios en animales con laparotomía, adrenalectomía izquierda (Adx-I) o con adrenalectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago izquierdo (Adx-I+Nv-I) o derecho (Adx-I+Nv-D), * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba de Probabilidad Exacta de Fisher). Los resultados de la adrenalectomía izquierda (Adx-I) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

La Adx-D+Nv-D realizada en el día del Diestro-1, resultó en mayor peso del ovario derecho comparado con el grupo con Adx-D (11.8 ± 0.7 vs. 9.1 ± 1.0 , $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso del útero y las adrenales (datos no mostrados).

El peso del útero y del ovario derecho en animales con Adx-I+Nv-I realizada en el día del Diestro-2, fue mayor comparado con el grupo con Adx-I (útero: 143.0 ± 9.2 vs. 114.6 ± 9.0 ; ovario derecho: 15.1 ± 0.7 vs. 11.1 ± 0.7 , $p < 0.05$). No se observaron cambios en el peso de las adrenales (datos no mostrados).

EFFECTOS DE LA ADRENALECTOMÍA UNILATERAL SEGUIDA DE LA SECCIÓN BILATERAL DEL NERVI VAGO

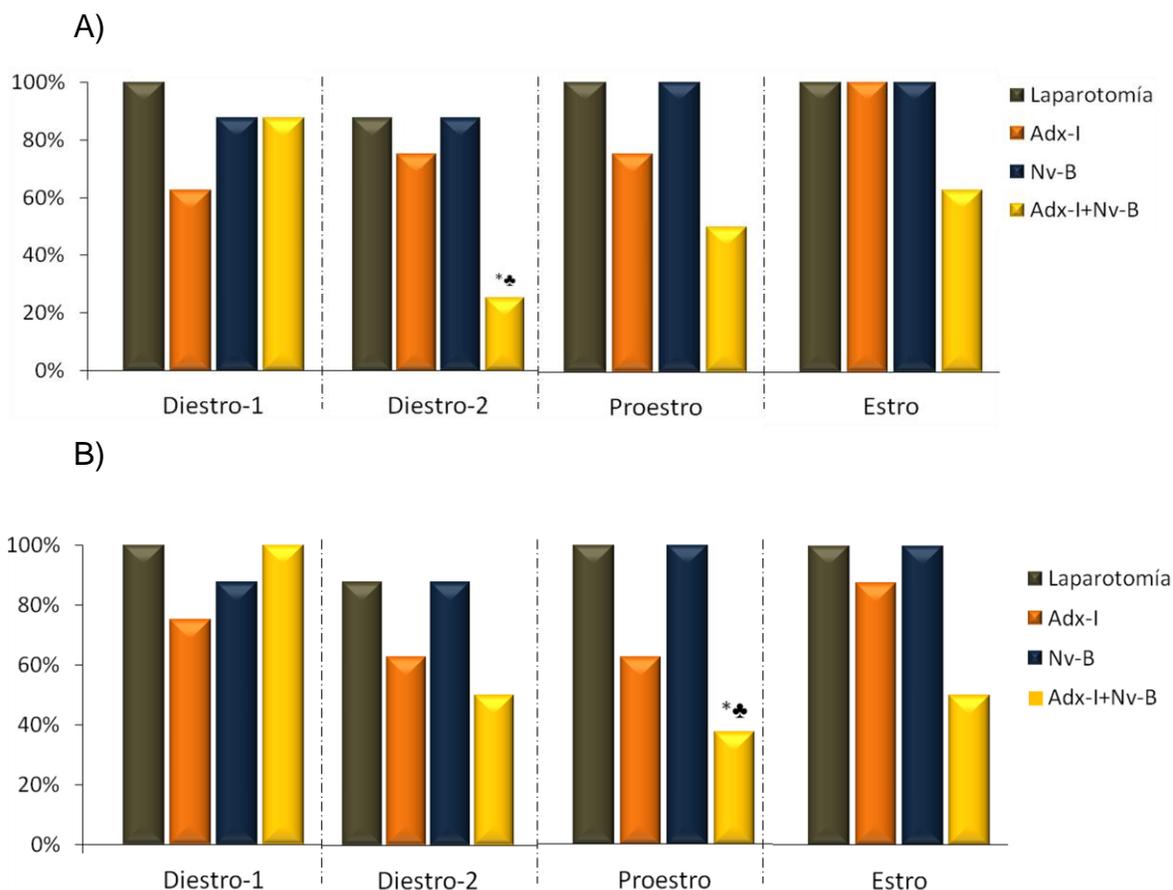
La tasa de animales ovulantes total de los animales con adrenalectomía unilateral seguida de la vagotomía bilateral fue menor en comparación con los grupos con laparotomía o con Nv-B (Gráfica 6). La Adx-D+Nv-B resultó en un menor número de ovocitos liberados por animal ovulante comparado con el grupo con laparotomía o con el grupo de animales con Nv-B (9.4 ± 0.9 vs. Laparotomía: 13.6 ± 0.7 ; Nv-B: 14.7 ± 1.0 , $p < 0.05$).



Gráfica 6. Porcentaje de animales ovulantes en animales con adrenalectomía izquierda (A) o derecha (B) seguida de la sección bilateral del nervio vago realizada en el ciclo estral de la rata adulta, * $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía (Prueba Ji Cuadrada), ♣ $p < 0.05$ vs. Grupo con sección bilateral del nervio vago (Nv-B). Los resultados de la adrenalectomía izquierda (Adx-I) y derecha (Adx-D) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

Cuando se analizaron los resultados en función del día del tratamiento, en el día del Diestro-1 y Estro, la Adx-I+Nv-B no modificó la tasa de animales ovulantes (Gráfica 7 A y B).

La tasa ovulatoria del ovario izquierdo de los animales con Adx-I+Nv-B realizada en el día del Diestro-2, fue menor que en los grupos con laparotomía o con Nv-B (Gráfica 7 A). En el día del Proestro, esta cirugía resultó en un menor número de animales ovulantes por el ovario derecho (Gráfica 7 B).



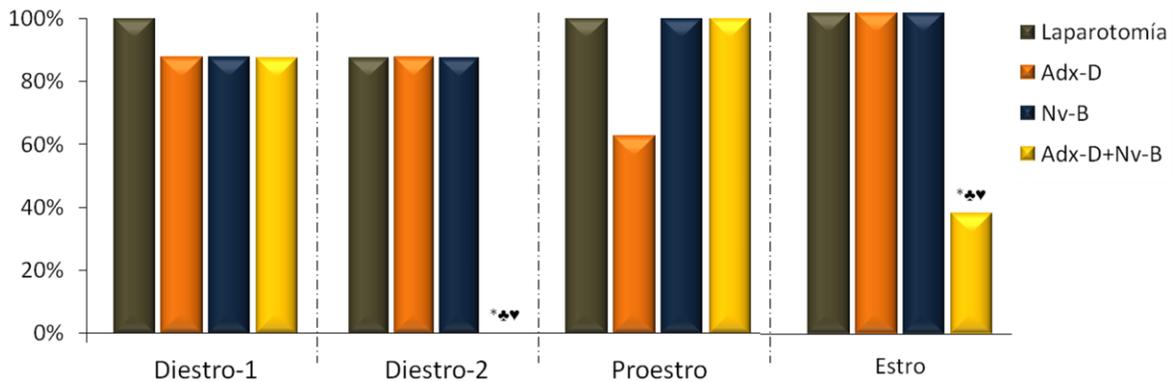
Gráfica 7. Porcentaje de animales ovulantes por el ovario izquierdo (A) y derecho (B) en animales con laparotomía, sección bilateral del nervio vago (Nv-B), adrenalectomía izquierda (Adx-I) o con adrenalectomía izquierda seguida de la sección del nervio vago bilateral (Adx-I+Nv-B) en cada etapa del ciclo estral, * $p < 0.05$ vs Grupo con Laparotomía, ♣ $p < 0.05$ vs. Grupo con sección bilateral del nervio vago (Nv-B) (Prueba de Probabilidad exacta de Fisher). Los resultados de la adrenalectomía izquierda (Adx-I) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

El número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en animales con Adx-I+Nv-B realizada en el día del Diestro-1, fue menor que en el grupo con vagotomía bilateral (6.0 ± 0.7 vs. 8.9 ± 0.8 , $p < 0.05$).

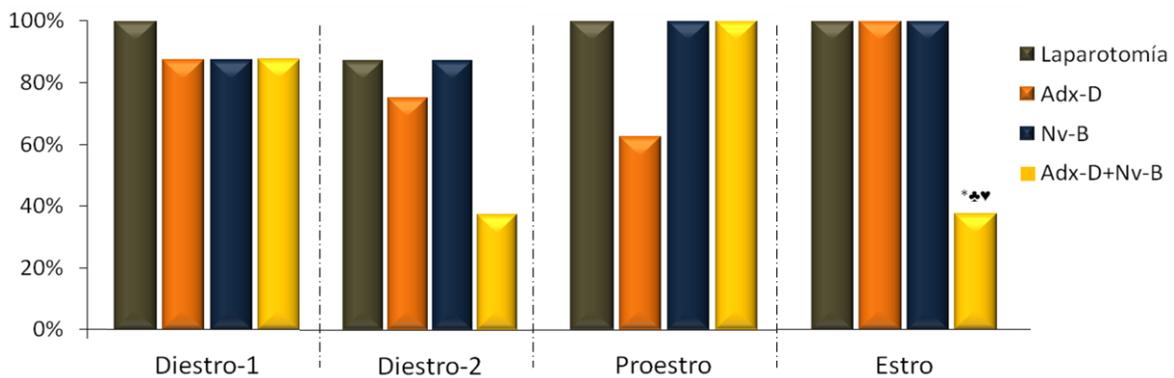
En los días del Diestro-1 y Proestro, Adx-D+Nv-B no modificó la tasa de animales ovulantes (Gráfica 8 A y B). En el día del Diestro-2, se bloqueó la ovulación en el ovario izquierdo (Gráfica 8 A y 9). En estos animales el peso de la adrenal izquierda fue mayor que en el grupo con adrenalectomía derecha (12.5 ± 0.5 vs. 7.6 ± 1.0 , $p < 0.05$).

La tasa ovulatoria de los animales con Adx-D+Nv-B realizada en el día del Estro, fue menor comparada con los grupos con laparotomía, Adx-D o con Nv-B (Gráfica 8 A y B).

A)



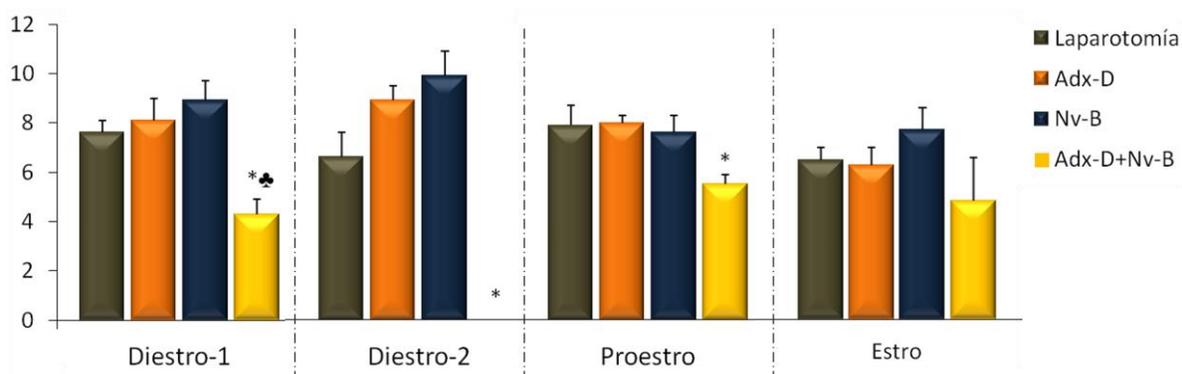
B)



Gráfica 8. Porcentaje de animales ovulantes por el ovario izquierdo (A) y derecho (B) en animal con laparotomía, adrenalectomía derecha (Adx-D) o con adrenalectomía derecha seguida de la sección del nervio vago bilateral (Adx-D+Nv-B) en cada etapa del ciclo estral, * $p < 0.05$ vs Grupo con Adx-D, ♣ $p < 0.05$ vs. Grupo con Laparotomía, ♥ $p < 0.05$ vs. Grupo con Nv-B (Prueba de Probabilidad exacta de Fisher). Los resultados del grupo con adrenalectomía derecha (Adx-D) corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

El número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en los animales con Adx-D+Nv-B realizada en el día del Diestro-1, fue menor que en los grupos con Adx-D o con Nv-B (Gráfica 9). En estos animales el peso de ambos ovarios fue mayor que en el grupo con Adx-D (24.6 ± 1.5 vs. 20.1 ± 1.1 , $p < 0.05$).

En el día del Proestro el ovario izquierdo liberó un menor número de ovocitos liberados comparado con los animales con Adx-D (Gráfica 9).



Gráfica 9. Media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en animales con laparotomía, con adrenalectomía derecha (Adx-D) o con adrenalectomía derecha seguida de la sección de ambos nervios vago (Adx-D+Nv-B), * $p < 0.05$ vs. Grupo con Adx-D (Prueba de Kruskal Wallis seguida de la U de Mann-Whitney), $\clubsuit p < 0.05$ vs. Grupo con Nv-B (Prueba de Kruskal Wallis seguida de la U de Mann-Whitney). Los resultados de la Adx-D corresponden a los publicados por Pimentel (2011).

EFFECTOS SOBRE EL CICLO ESTRAL

La duración del ciclo estral no presentó alteraciones en los animales con laparotomía o con sección del Nervio vago uni o bilateral.

En el día del Diestro-1 y Estro, la adrenalectomía unilateral seguida de la sección del Nervio vago uni o bilateral resultó en el retraso del estro vaginal por 24 h; periodo caracterizado por la presencia de leucocitos (Diestro).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la inervación vagal que reciben los ovarios participa en la regulación de la ovulación, lo que depende del día del ciclo estral y del ovario que sea considerado. Es posible que las adrenales participen en la regulación de las funciones ováricas por medio de las conexiones multisinápticas que establece el nervio vago con los ganglios prevertebrales, otros centros nerviosos y estructuras del SNC, lo que varía en función del ovario y del día del ciclo estral.

Similar a lo observado por Flores y colaboradores (1990), en el presente estudio se observó que la laparotomía no modificó la ovulación de los animales, por lo que consideramos que no es factor que altera los mecanismos que neuroendocrinos que regulan la ovulación.

Entre los ovarios y el SNC existe una conexión neural que participa en la regulación de las funciones ováricas (Domínguez y Riboni, 1971). En esta conexión neural participan los nervios vagos y el NOS (Burden y Lawrence, 1977; Burden y col., 1983; Collins y col., 1999; Gerendai y col., 2000).

El nervio vago modula de manera estimulante la ovulación, ya que la vagotomía unilateral resulta en un menor número de ovocitos liberados. Esta modulación varía en función del día del ciclo en el que se realice la cirugía y del tiempo de evolución de los animales, y son los días del Estro y Diestro las etapas más susceptibles a las manipulaciones neuroendocrinas (Chávez, 1989; Sánchez, 1986).

La sección del Nervio vago izquierdo evaluada 4 días después de la cirugía resulta en un menor número de ovocitos liberados, mientras que la vagotomía derecha evaluada 20 días después de la cirugía, disminuye la tasa de animales ovulantes y disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo. Con base en estos resultados, la autora sugiere que el ovario izquierdo parece ser más sensible a la falta de inervación vagal sobre todo cuando es evaluada 20 días

después de la cirugía y que la información que transcurre por el nervio vago izquierdo es diferente a la del derecho (Sánchez, 1986).

Cruz y colaboradores, en 1986, analizaron los efectos de la sección bilateral del nervio vago evaluada de 25 a 40 días después de la cirugía, y observaron que la vagotomía bilateral incrementa el número de ovocitos liberados y la población folicular (folículos de $500-999 \times 10^6 \mu^3$).

En los ovarios de animales vagotomizados y sacrificados 96 horas después de la cirugía, existe un incremento en el número de folículos atrésicos (Leonard y col., 1984). Por ello, los autores sugieren el nervio vago modula de manera inhibitoria el desarrollo de los folículos (Cruz y col., 1986; Leonard y col., 1984), la ovulación (Cruz y col., 1986) y los procesos de degeneración folicular (Leonard y col., 1984).

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la vagotomía bilateral realizada en el día del Diestro-2, resultó en un mayor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, cuando sus efectos son evaluados 48 horas después del tratamiento.

En animales con denervación catecolaminérgica por reserpina, la administración de FSH y LH resulta en aumento del número de ovocitos liberados. La sección bilateral del nervio vago, bloquea los efectos de la reserpina y de las gonadotropinas. Por lo que se sugiere que la información que llevan los nervios vagos es agonista a las catecolaminas (Chávez y col., 1987b). Con base en estos resultados, en el presente estudio se sugiere, que en el día del Diestro-2, ambos nervios vagos modulan de manera inhibitoria la respuesta del ovario izquierdo a las gonadotropinas.

Los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron que en el día del Diestro-1, el nervio vago derecho modula de manera estimulante la respuesta ovulatoria del ovario derecho, ya que la sección de este nervio resultó en un menor número de animales ovulantes por este ovario. Esta respuesta se podría

atribuir a alguno de los siguientes factores: 1) a la falta de información neural del ovario derecho (Powley y col., 1983), 2) a una probable disminución de la secreción de FSH; tal y como se ha reportado que ocurre 24 horas después de la vagotomía o 3) a la posible modificación en la secreción preovulatoria de LH; ya que se ha sugerido que la integridad de los nervios vagos facilita la liberación de esta hormona (Burden y Lawrence, 1977).

El desarrollo de los folículos ováricos también es estimulado por diversos péptidos que son transportados por medio de las fibras del nervio vago. Uno de estos péptidos es el VIP que estimula la adquisición de receptores a gonadotropinas en las células foliculares (Mayerhofer y col., 1997). Es posible, que en el día del Diestro-1, el ovario derecho dependa de la integridad del nervio vago derecho ya que este nervio participa de manera estimulante en el desarrollo de los folículos y sobre la ovulación.

En el día del Estro, la sección del nervio vago izquierdo resultó en un mayor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, por lo que sugerimos que el nervio vago izquierdo modula de manera inhibitoria el desarrollo de los folículos de este ovario. Nuestros resultados difieren de los reportados por Sánchez (1986) quien realiza esta cirugía y observa que existe un menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho.

La discrepancia entre nuestros resultados y los de Sánchez puede estar en función de la hora del día en el que se realizaron las intervenciones quirúrgicas ya que su estudio se realizó entre las 09:00 y las 11:00 h. Por ello, proponemos que la información nerviosa que arriba a los ovarios por medio del nervio vago, cambia en función de la hora del día, lo que puede estar vinculado con la expresión de osciladores temporales en el ovario y en el SNC (Everardo y col., 2011).

Las glándulas adrenales participan en la regulación de las funciones ováricas (Chrousos, 1995; Kalantariduo y col., 2004; Gerendai, 2004, Gerendai y col., 2009; Tóth y col., 2008), ya que estimulan el desarrollo de los folículos

ováricos al inicio del ciclo estral (Peppler y Jacobs, 1976) y contribuyen de manera significativa a la concentración sérica de P_4 que favorece la ovulación (Flores, 2006; Velasco, 2007).

La participación de las glándulas adrenales sobre la ovulación parece ser de tipo estimulante; lo que depende del día del ciclo estral. La adrenalectomía bilateral realizada en el día del Diestro-1, Proestro o Estro, disminuye la tasa de animales ovulantes, evaluados al estro vaginal. Con estos resultados la autora sugiere que en la primera mitad del ciclo estral (Diestro-1 o Estro) las adrenales a través de sus secreciones hormonales participan en la regulación del crecimiento y maduración folicular y estimulan el inicio del proceso ovulatorio en el día del Proestro (Pimentel, 2011).

En el día del Proestro, la adrenalectomía unilateral, resulta en un menor número de animales ovulantes, por lo que se sugiere que se requiere de la integridad de ambas glándulas adrenales para que se presente la ovulación normalmente (Velasco, 2007).

El nervio vago es una de las vías neurales de comunicación entre los ovarios y las adrenales. Ambas glándulas reciben información de los mismos centros nerviosos (núcleo dorsal del vago, núcleo del tracto solitario, células del grupo A5, núcleo paraventricular, médula ventrolateral y núcleo caudal de rafé), por lo que el nervio vago es una de las vías de comunicación entre ambos órganos (Gerendai y col., 2009; Tóth y col., 2008).

En el presente estudio se observó que la comunicación neural que establece el nervio vago entre los ovarios y las adrenales, presenta asimetrías y varía en función del día del ciclo estral.

En el día del Proestro, en animales con adrenalectomía unilateral, el nervio vago derecho modula de manera estimulante la tasa de animales ovulantes, ya que la sección de este nervio resulta en decremento de este parámetro. Mientras que, el nervio vago izquierdo modula de manera estimulante el número de

ovocitos liberados por el ovario derecho. En este día del ciclo, la secreción de P_4 por parte de las adrenales es simétrica (Alanis, 2010) y se ha sugerido que esta P_4 potencializa la secreción preovulatoria de la LH que favorece el inicio de la ovulación en el Proestro (Flores, 2006; Velasco, 2007).

La secreción de la LH es controlada por la GnRH, sintetizada por neuronas localizadas en el área preóptica y el núcleo arcuato. Se sabe que el área preóptica establece conexiones neurales con el núcleo de tracto solitario y el núcleo motor dorsal del vago (Chiba y Murata, 1985), por lo que se ha sugerido la participación del nervio vago sobre la secreción de gonadotropinas (Burden y Lawrence, 1977).

La inervación vagal que llega a los ganglios prevertebrales y que inerva a las glándulas adrenales (Berthoud y Powley, 1993; Coupland y col., 1989) establece sinapsis con las neuronas preganglionares simpáticas del cordón espinal (Schramm y col., 1975; Tóth y col., 1998), las que a su vez inervan al núcleo del tracto solitario, células catecolaminérgicas A5, entre otras áreas (Gerendai, 2009). Por lo que sugerimos que es posible que en el día del Proestro, la secreción de LH sea modulada de manera estimulante por los nervios vagos por medio de las conexiones neurales que establecen con las glándulas adrenales a nivel del ganglio celíaco (Berthoud y Powley, 1993; Coupland y col., 1989) y del cordón espinal (Schramm y col., 1975; Tóth y col., 1998) por medio de las interacciones a nivel del tronco cerebral y del hipotálamo (Gosden y col., 1976; Chiba y Murata, 1985; Burden y Lawrence, 1977).

No se descarta la posibilidad de que la modulación estimulante que ejerce el nervio vago sobre la liberación de gonadotropinas, también esté involucrada con el tiempo de exposición de los folículos ováricos a estas hormonas. Gosden y colaboradores (1976) mostraron que no solo se requiere de un mínimo de gonadotropinas en plasma para inducir la ruptura folicular y el reinicio de las fase meiótica en el ovocito, sino también del tiempo de exposición de los folículos a estas hormonas. Con base en esta evidencia, proponemos que posiblemente en el

animal con adrenalectomía, la sección del nervio vago izquierdo disminuye el tiempo de secreción de la LH, por lo que existe una disminución en el número de ovocitos liberados.

En animales con adrenalectomía derecha realizada en el día del Diestro-2 y Estro, el nervio vago derecho modula de manera estimulante la ovulación por medio de las señales nerviosas que envía a ambos ovarios y a la adrenal derecha principalmente. Ya que solo el nervio vago izquierdo establece comunicación directa con ambos ovarios, mientras que el Nervio vago derecho solo establece comunicación con el ovario ipsilateral (Powley y col., 1983), sugerimos que las modificaciones sobre la respuesta ovulatoria están en función de la interacción que ocurre a nivel del ganglio celíaco posiblemente con los nervios simpáticos que inervan al ovario (NOS y PO) (Gerendai y col., 2005), ya que se sabe que los nervios vagos marcan neuronas tanto en el ganglio celíaco izquierdo y derecho (Powley y col., 1993).

Estos resultados confirman las diferencias intrínsecas de cada ovario ante un estímulo y su capacidad de respuesta a los cambios neuroendocrinos (Chávez y col., 1989) y posiblemente la variación en la actividad de los ganglios donde el nervio vago hace sinapsis y comunica a los ovarios y a las adrenales. Esta idea se apoya en los resultados obtenidos por Morán y colaboradores (2005) quienes mostraron que la actividad del ganglio celíaco y la comunicación que establece con los ovarios, varía en función del día del ciclo estral y del ovario que sea considerado.

En los últimos años se ha sugerido que la participación de la inervación simpática que recibe el ovario se encuentra regulada por el nervio vago (Berthoud y Powley, 1996; Gerendai, 2004). Estudios realizados por Berthoud y Powley (1996) mostraron que en el sitio donde se origina la inervación simpática existen fibras vagales, por lo que se sugiere que la información que transcurre por los

nervio vago puede regular la actividad simpática a nivel de los ganglios prevertebrales y, probablemente de otros centros nerviosos (Gerendai, 2004).

En la regulación de las funciones adrenales participa la interacción entre los sistemas simpático y parasimpático (Mravec, 2011). Las neuronas sensoriales vagales que inervan a la médula adrenal y regulan la secreción de las catecolaminas poseen receptores β -adrenérgicos, por lo que se sugiere que las fibras sensoriales vagales regulan de manera inhibitoria la concentración en plasma de catecolaminas y participan en la actividad del sistema adenosimpático (Mravec, 2011). Por ello, es posible que la respuesta ovulatoria en los animales con sección del nervio vago y adrenalectomía no solo dependa de la integridad de la información parasimpática que inerva a ambas glándulas, sino también de las modificaciones que ejerce la vagotomía y la adrenalectomía sobre el sistema simpático.

En estos animales, la modulación estimulante del nervio vago derecho y la adrenal derecha sobre la regulación del desarrollo folicular, posiblemente esté en función de la secreción catecolaminas de origen adrenal y de la estimulación que ejerce la inervación colinérgica sobre esta secreción (Douglas y Rubin, 1961; Nijima y Winter, 1968; Parker y col., 1993; Patrick y Kirshner, 1971; Wakade, 1981), ya que las catecolaminas estimulan la esteroidogénesis por las células de los folículos en desarrollo (Dissen y Ojeda, 1999).

Los resultados del presente estudio muestran que en los días del Diestro y Proestro, el desarrollo de los folículos del ovario izquierdo y la ovulación dependen de la presencia de la adrenal derecha y de la integridad de ambos nervios vagos.

Las diferencias en la respuesta ovulatoria del ovario izquierdo y derecho están en función de las diferencias que existe en la densidad de fibras postganglionares provenientes del ganglio celíaco-mesentérico superior que inervan al ovario. En la rata adulta, la inyección del marcador retrogrado fluorescente True blue dentro del ovario izquierdo o derecho en el día del Proestro

o Estro, resultó en diferencias en el patrón de marcaje en ganglio. Cuando el marcador fue inyectado dentro del ovario derecho, el marcaje de las neuronas postganglionares se presentó exclusivamente en el ganglio ipsilateral, mientras que cuando fue inyectado en el ovario izquierdo el marcaje ocurre en al ganglio ipsilateral y contralateral. Por lo que se sugiere que existen asimetrías en la actividad neural entre los ovarios y el ganglio prevertebral (Morán y col., 2005).

El retraso del estro vaginal por 24 horas observado en los animales que fueron sometidos a adrenalectomía unilateral seguida de la sección uni o bilateral del nervio vago realizada en la primera mitad del ciclo estral (Diestro-1 y Estro) puede ser explicado por la posible alteración de la función del cuerpo lúteo y la secreción de P_4 .

En el día del Diestro-1, la inyección de P_4 en ratas con ciclos de 4 días de longitud, retrasa el estro vaginal por 24 horas (Everett, 1948; Brown-Grant, 1969). Nequin y colaboradores (1979) proponen que el incremento en la longitud del ciclo estral puede ser atribuido a la mayor actividad del cuerpo lúteo.

In vitro, en los días del Diestro a nivel del ganglio mesentérico, ganglio donde los nervios vago establecen sinapsis (Berthoud y Powley, 1993), la inervación colinérgica estimula la secreción de P_4 ovárica e incrementa la actividad de la enzima 3β -HSD, lo que resulta en decremento de la expresión de la enzima 20α -HSD (enzima clave que estimula el proceso de luteólisis). Por ello, se sugiere que los receptores colinérgicos ganglionares, participan en el mantenimiento del cuerpo lúteo durante el ciclo estral, por medio de la comunicación que estable el PO entre el cuerpo lúteo y el ganglio prevertebral (Vega-Orozco, 2010). Con estas evidencias, consideramos que al inicio del ciclo estral (Estro y Diestro-1), las adrenales y ambos nervios vagos participan en la regulación de la actividad del cuerpo lúteo por medio de la interacción entre las fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas a nivel del ganglio celíaco.

CONCLUSIONES

- La participación del nervio vago en los mecanismos que regulan la ovulación, varía durante el ciclo estral.
- El nervio vago es una de las vías nerviosas que comunica a los ovarios y a las adrenales y modula de manera estimulante la ovulación y la duración del ciclo estral, lo que depende de la etapa del ciclo estral estudiado.
- En el día del Proestro, el nervio vago derecho modula de manera estimulante la regulación de las funciones adrenales y estimula la ovulación.
- En animales con adrenalectomía, ambos nervios vago modulan de manera estimulante la ovulación independientemente del día del ciclo estral analizado.

Ciclo Estral de la Rata

En los mamíferos no primates, el ciclo sexual femenino se denomina ciclo estral y está regulado de manera semejante a la de los primates. El ciclo estral es una cascada de eventos hormonales y de comportamiento que son progresivos, altamente sincronizados y repetitivos. Los cambios periódicos (peso y distensión uterina, citología vaginal y comportamiento sexual) son utilizados como indicadores biológicos de las fluctuaciones en la liberación de hormonas ováricas como reflejo de las variaciones en la secreción de gonadotropinas (Kilen y Schwartz, 1999). El ciclo estral en la rata intacta es de 4 a 5 días de duración. En los animales de ciclos de 4 días de duración existen cuatro etapas:

En el día del *Diestro-1*, el frotis vaginal se caracteriza por la presencia de leucocitos y células nucleadas. En el ovario se observan folículos en crecimiento con antro pequeño. Las concentraciones circulantes de estrógenos, de LH y FSH se mantienen basales; no obstante, las concentraciones de P_4 se encuentran elevadas (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).

En el *Diestro-2* en el frotis vaginal se observa predominancia de leucocitos en relación a las células nucleadas. Los folículos ováricos continúan en desarrollo y aumenta el número de folículos con antro grande, por lo que la secreción de estrógenos aumenta conforme crecen los folículos ováricos. Las concentraciones plasmáticas de FSH y LH son semejantes a las que se observan en el *Diestro-1*, (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).

Las concentraciones séricas de P_4 disminuyen progresivamente hasta alcanzar una concentración relativamente basal. En este periodo, la secreción del cuerpo lúteo prepara al útero para la implantación del óvulo y este alcanza su máximo tamaño. Durante esta fase ocurre la luteólisis (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).

Durante la mañana del *Proestro* la concentración plasmática de estrógenos aumenta bruscamente, permanece elevada por algunas horas y declina rápidamente a partir de las 14:00 h. Dicho incremento resulta en el balonamiento máximo del útero. En este día, existen folículos preovulatorios que secretan grandes cantidades de estradiol. Esta hormona ejerce retroalimentación positiva sobre la secreción de gonadotropinas (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999; Marcondes, 2002).

La LH estimula la ovulación y la luteinización del folículo postovulatorio. La cópula solo es permitida por la noche del *Proestro* o por la madrugada del *Estro* (Marcondes, 2002). El útero incrementa de tamaño por acción del estradiol y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas. La secreción de FSH en la mañana del día de *Estro* se debe al decremento en la secreción ovárica de inhibina y parece estar involucrada con la selección de los folículos que se van a desarrollar en el siguiente ciclo (Freeman, 1994; Kilen y Schwartz, 1999).

La etapa de *Estro* es el periodo de celo en el que la hembra presenta los patrones de conducta sexual característicos (lordosis). Por ejemplo, presenta mayor actividad física, sacude las orejas, presenta incremento en la curvatura de la columna vertebral, frotamiento de cabeza y espalda, así como nerviosismo. Dura aproximadamente de 9-15 horas, el pH vaginal es de 4.2 y aparece un flujo vaginal abundante y frecuente. Los estrógenos circundantes traen cambios en el útero y aparece el deseo del apareamiento (Marcondes, 2002).

Como la ovulación ha sucedido pocas horas antes, los ovocitos se encuentran en el oviducto. El folículo postovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo, mientras que, una nueva serie de folículos primarios comienzan a desarrollarse. Las células de la mucosa vaginal comienzan a dividirse y desplazan a las capas más superficiales (epitelio escamoso y cornificado) y son exfoliadas a la luz de la vagina. La presencia de estas células

en el frotis vaginal es indicativa de Estro y señal probable de ovulación (Tresguerres, 1999).

Durante el ciclo estral, la PRL y las gonadotropinas presentan concentraciones basales que incrementan por la tarde del Proestro. Las concentraciones de estradiol comienzan a incrementar en la fase del Diestro-1, alcanza su secreción más alta durante el proestro y regresan a concentraciones basales durante el Estro. La secreción de P_4 incrementa durante los días del diestro y después se reduce (Figura 16) (Freeman, 1994; Marcondes, 2002).

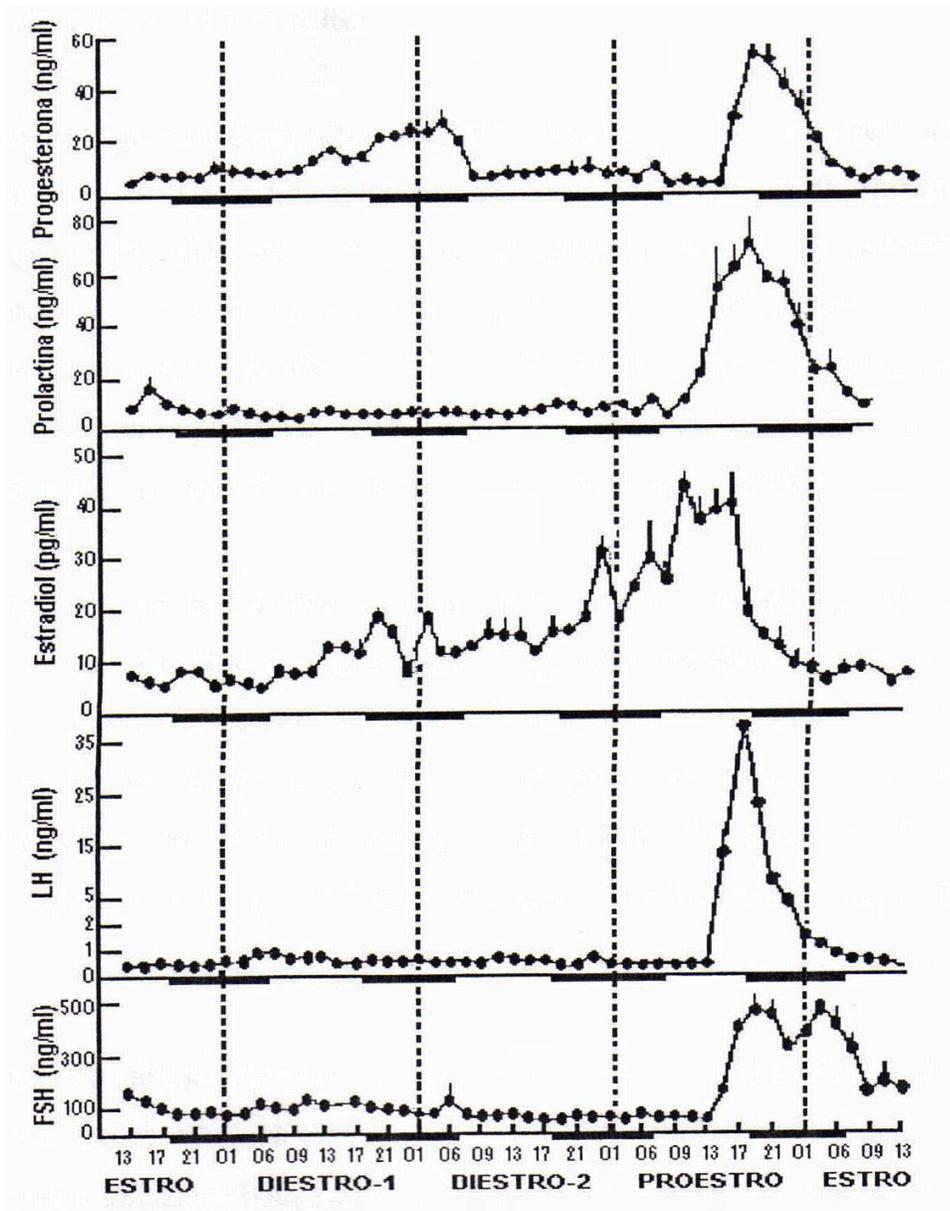


Figura 16. Concentraciones de progesterona, prolactina, estradiol, FSH y LH obtenido del plasma periférico en intervalos de 2 horas en cada día del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media de la concentración hormonal obtenida de 5 a 6 ratas. Las barras negras representan las horas de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00-06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

Trayectoria del nervio vago

El **nervio vago** (del latín *nervus vagus*) o nervio cardioneumogástrico es el décimo (X) par craneal. El nervio vago contiene fibras motoras, sensitivas y parasimpáticas de tipo colinérgico (Brown, 1994). Su curso y distribución es más amplio que los de cualquier otro nervio craneal puesto que atraviesa el cuello, el tórax y el abdomen (Martin y col., 2001).

Las fibras nerviosas vagales tiene sus orígenes en cuatro núcleos: el *Núcleo ambiguo* (motor branquial), *Núcleo motor dorsal del vago* (motor visceral parasimpático), *Núcleo del tracto solitario* (sensitivo visceral) y el *Núcleo espinal del Nervio Trigémino* (sensitivo general) (Martin y col., 2001; Norgren y Smith, 1988).

El nervio vago desciende verticalmente por el cuello junto con la vena yugular interna y la arteria carótida primitiva, hasta la raíz del cuello, donde su curso difiere a ambos lados. El nervio se ramifica en el cuello y tórax innervando a los músculos de la laringe. El nervio vago derecho desciende por detrás del bronquio principal derecho y se divide en los ramos posteriores (bronquiales), que se unen del segundo al quinto o sexto ganglios simpáticos torácicos, para formar el plexo pulmonar derecho. De la parte caudal de este plexo descienden dos o tres ramos sobre la cara dorsal del esófago, donde junto con el ramo del vago izquierdo, forman el plexo esofágico posterior (Martin y col., 2001).

El nervio vago izquierdo desciende por el mediastino superior y cruza el lado izquierdo del cayado aórtico para situarse detrás del hilio pulmonar izquierdo. Detrás del hilio se divide en ramas pulmonares posteriores (o bronquiales) que se unen con ramas de los ganglios simpáticos torácicos. Se forma así el plexo pulmonar posterior izquierdo, dos de cuyos ramos descienden anteriormente por el esófago, formando el plexo esofágico anterior con una rama del plexo pulmonar

derecho. Desde aquí, un tronco que contiene fibras de ambos vagos continúa por delante del esófago (Figura 17), y penetra en el abdomen por el orificio esofágico del diafragma (Martin y col., 2001).

En la rata, los nervios vagos subdiafragmáticos inervan a los órganos de la cavidad abdominal, estos nervios se dividen de la siguiente manera: en el abdomen, el tronco vagal posterior o derecho se divide en dos ramas, la rama gástrica y celíaca (Figura 17). La primera (rama gástrica) inerva la cara gástrica posteroinferior. La rama celíaca termina principalmente en el plexo celíaco, sin embargo, también envía ramas a los plexos esplénicos, hepático, suprarrenal y mesentérico superior (Martin y col., 2001; Norgren y Smith, 1988).

En el abdomen, el tronco vagal anterior o izquierdo inerva el antro cardial del estómago y luego se divide en dos ramas, derecha e izquierda. El grupo izquierdo sigue la curvatura gástrica menor para inervar la cara anterosuperior del estómago, el hígado, la parte superior del duodeno y la cabeza del páncreas (Martin y col., 2001).

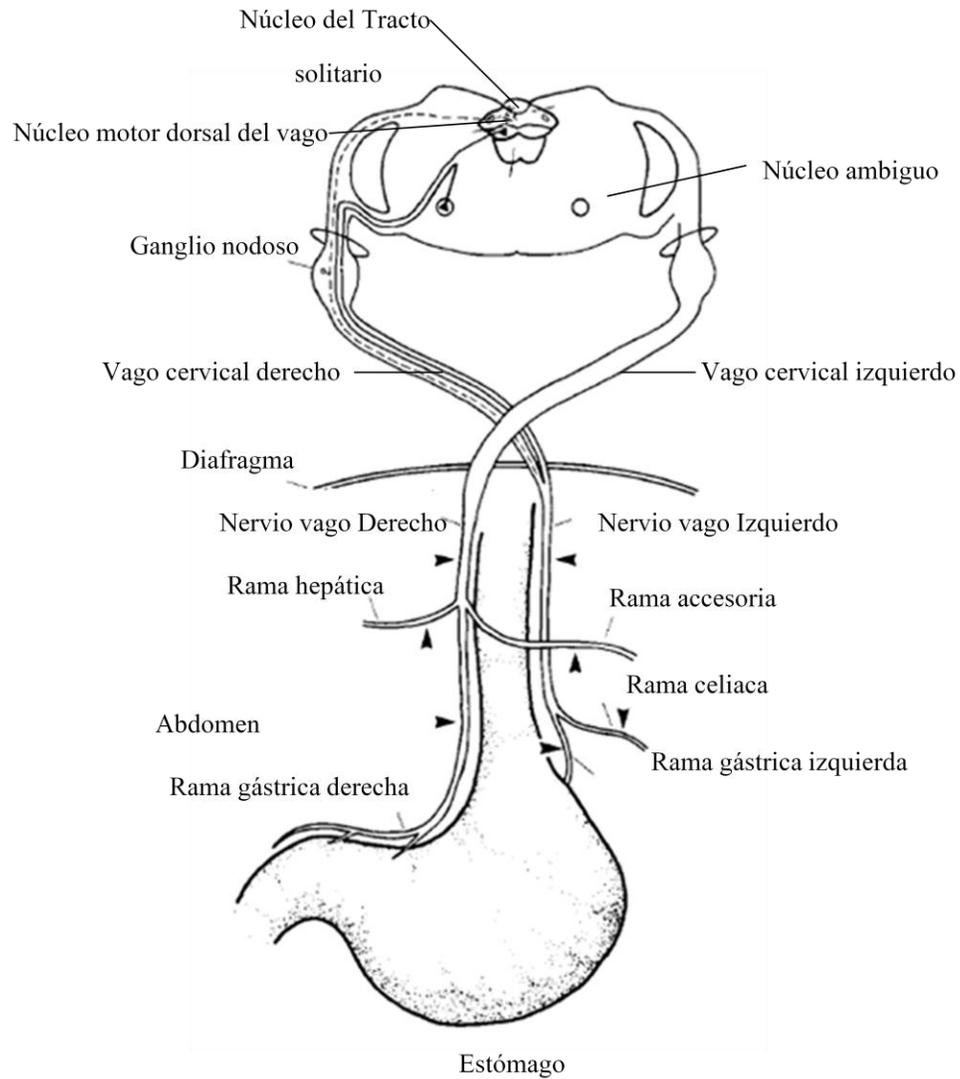


Figura 17. Esquema donde se observa el origen del nervio vago y la distribución que siguen los troncos vagales a nivel subdiafragmático en la rata (Tomada de Norgren y Smith, 1988).

PARTICIPACIÓN EN FOROS Y CONGRESOS





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
DIVISIÓN DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
CARRERA DE BIOLOGÍA



VII FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA

VIII FORO DE INVESTIGACIÓN FORMATIVA, XXXVI FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR, XL FORO DE SALIDAS TERMINALES

Otorgan la presente constancia a:

Kenia Aneida Pimentel¹, María Guadalupe Guzmán¹, Elizabeth Bonilla¹,
Angélica Flores², Roberto Domínguez².

por la presentación del trabajo:

**EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIO VAGO EN ANIMALES CON
ADRENALECTOMÍA UNILATERAL EN EL DÍA DEL ESTRO DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA ADULTA.**


M en C ELISEO CANTELLANO DE ROSAS
Jefe de la División de Ciencias Químico Biológicas

ATENEMENTE
"Por mi raza hablará el espíritu"
4 de febrero de 2011

¹ Alumno ² Docente


DR. CARLOS CASTILLEJOS CRUZ
Jefe de la Carrera de Biología



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.
Otorga la presente constancia a:

PIMENTEL-MARTÍNEZ K. A., GUZMÁN-BARCENAS M. G., RAMÍREZ-FLORES A.,
CRUZ-BELTRÁN M. E., DOMÍNGUEZ-CASALÁ R.

Por la presentación del trabajo:

**EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO VAGO Y LA ADRENALECTOMÍA EN EL DÍA
DEL DIESTRO-2 DE LA RATA ADULTA SOBRE LA OVULACIÓN**

**En el marco del LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
26-30 de Septiembre, 2010. Villahermosa, Tabasco México**



Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta





Dr. David Centurión Pacheco
Secretario



La Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.
Otorga la presente constancia a:

GUZMÁN-BARZENAS M. G., PIMENTEL-MARTÍNEZ K., FLORES-RAMÍREZ A.,
CRUZ-BELTRÁN M. E., DOMÍNGUEZ-CASALÁ R.

Por la presentación del trabajo:
PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO VAGO Y LAS GLÁNDULAS ADRENALES EN LA
DURACIÓN DEL CICLO ESTRAL Y LA OVULACIÓN EN LA RATA

**En el marco del LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas
26-30 de Septiembre, 2010. Villahermosa, Tabasco México**

C. Escobar
Dra. Carolina Escobar Briones
Presidenta



[Signature]
Dr. David Centurión Pacheco
Secretario



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
DIVISIÓN DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
CARRERA DE BIOLOGÍA



VI FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA
VII FORO DE INVESTIGACIÓN FORMATIVA, XXXV FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR, XXIX FORO DE SALIDAS TERMINALES

Otorgan la presente constancia a:

Kenia Aneida Pimentel¹, María Guadalupe Guzmán¹, Pamela María Everardo², Angélica Flores²

Por la presentación del trabajo:

EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIIO VAGO EN LOS DÍAS DEL DIESTRO-1, DIESTRO-
2 O PROESTRO SOBRE LA OVULACIÓN

ATENTAMENTE
"Por mi raza hablará el espíritu"
13 de agosto de 2010

[Signature]
O.F.B. Roberto Cruz González Meléndez
Jefe de la División de Ciencias Químico Biológicas

1 Alumno 2 Docente

[Signature]
Biol. Genaro Montaña Arias
Jefe de la Carrera de Biología



Biól. María Guadalupe Guzmán Bárcenas
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza
Presente

El Programa *Jóvenes hacia la Investigación* organiza año con año la realización de Estancias Cortas, donde los alumnos interesados en las ciencias llevan a cabo proyectos de investigación bajo la asesoría y supervisión de investigadores que, como usted, nos hacen el favor de apoyarlos.

Quisiéramos por ello, externarle nuestro agradecimiento al haber recibido a la alumna Claudia Gabriela Torres Jurado, durante el periodo establecido para tal evento, del 7 de junio al 2 de julio del presente.

Gracias por su dedicada y profesional participación, que reditúa en beneficio de los jóvenes participantes del Programa e incentiva de esta manera su interés en el ámbito de la ciencia.

Esperando seguir contando con su valiosa colaboración, reciba usted un cordial saludo.

Atentamente
"Por mi Raza Hablará el Espíritu"
Ciudad Universitaria, D.F. 19 de noviembre de 2010.



Biól. Guillermina de Francisco Salas
Jefa de Programas al Exterior de la DGDC/UNAM

BIBLIOGRAFÍA

Aguado, L. 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microscopy Research and Technique* 59:462-473.

Alanis, M.C. 2010. Participación de la Inervación vagal en la regulación de la secreción de progesterona por los ovarios y adrenales. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Anderson, R., C.W. Turner.1963. Maintenance of adrenalectomized rats through conception, pregnancy y lactation. *Am. Physiol.* 205:1077-1079.

Arteaga-López, P., M.E. Cruz, M.A. Cruz-Mederos, A. Mendoza-Rodríguez., R. Domínguez. 2000. GnRH mRNA expression presents asymmetrical changes in the right and left sides of POA-AHA during the estrous cycle. *Society for Neuroscience* 26(1): 922 (346.4).

Baldwin, M.D., C.H. Sawyer. 1979. Light synchronization of the preovulatory LH surge in adrenalectomized and rats. *Proc Soc Exp Biol Med.* 161:295-298.

Baljet, B., J. Drukker.1980. The extrinsic innervation of pelvic organ in the female rat. *Acta Anat.* 107: 241–267.

Barco, A. I., A. Flores, R. Chavira, P. Damian-Matsumura, R. Domínguez., M.E. Cruz. 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in situ* ovary. *Endocrine* 21(3):209-215.

Barh, J.M., L. Kao., A. Naldandou. 1974. The rol of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol. Reprod.* 10:273-290.

Bergman, R.A., A.K. Afifi., P.M. Heidger. 1998. Sistema reproductor femenino. *Histología.* McGraw-Hill Interamericana (Ed). México, pp. 307-320.

Berne, R. 2002. *Fisiología.* 3ª ed. Elsevier Science (Ed). España, pp. 558-581, 599-601.

Berthoud, H.R., T.L. Powley. 1993. Characterization of vagal innervation to the rat celiac, suprarenal and mesenteric ganglia. *Journal of the Autonomic Nervous System* 42:153-169.

Berthoud, H.R., T.L. Powley. 1996. Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia: Morphological evidence for vagal efferent innervation of ganglia cells in the rat. *Microscopy Research and Technique* 35:80-86.

Borson, C.F., D. Jordan., M. Fevre, N. Kopp, J. Tourniaire, M. Rouzioux, M. Veisseire., R. Mornex. 1986. TRH and LHRH distribution of discrete nuclei of the human hypothalamus: evidence for a left prominence of TRH. *Brain Res.* 382:433–436.

Botella, L.J., N.A. Clavero. 1993. El Ovario *Fisiología y Patología.* 14ª ed. Díaz de Santos (Ed). España, pp. 45.

Bowen, M.J., P.L. Keyes, F.S. Warren., D.H Townson. 1996. Prolactin-induced regression of the rat corpus luteum: Expression of monocyte chemoattractant Protein-1 and invasion of macrophages. *Biology of Reproduction* 54:1120-1127.

Brown, R.E. 1994. *In: Introduction to Neurobiology.* Cambridge University Press. Great Britain, pp.19-55.

- Brown-Grant, K.** 1969. The effects of progesterone and of pentobarbitone administered at the dioestrous stage on the ovarian cycle of the rat. *Journal of Endocrinology* 43: 539-552.
- Burden, H.W.** 1978. Ovarian innervations. *In: The vertebrate ovary. Comparative Biology.* New York. Jones RE. pp. 615-638.
- Burden, H.W., E. Jr. Lawrence, M.T. Louis, A.C. Hodson.** 1981. Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology* 33:218-222.
- Burden, H.W., E. Lawrence.** 1977. The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23:368-378.
- Burden, H.W., M. Leonard, P.C. Smith., E. Lawrence.** 1983. The sensory innervation of the ovary: A Horseradish peroxidase study in the rat. *Anat Rec.* 207:623-627.
- Calka, J., K.J. McDonald., S.R. Ojeda.** 1988. The innervations of the immature rat ovary by calcitonin gene-related peptide. *Biology of Reproduction* 39:1215-1223.
- Chávez, R., A. Sanchez, A. Ulloa., R. Domínguez.** 1989. Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrus cycle in the rat. *Journal of Endocrinology* 123:441-444.
- Chávez, R., M.E. Cruz., R. Domínguez.** 1987. Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi-and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113:397-401.
- Chávez, R., M.E. Cruz., R. Domínguez.** 1987b. Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats. *Rev Invest Clin.* 39(2):149-53.
- Chiba, T., Y. Murata.** 1985. Afferent and efferent connections of the medial preoptic area in the rat: A WGA-HRP study. *Brain Research Bulletin* 14(3):261-272.
- Chrousos, G.P., D.J. Torpy., P.W. Gold.** 1998. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann. Intern. Med.* 129:229-240.
- Chrousos, P.G.** 1995. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. Review Article. *Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston.* 20 (332):1351-1362.
- Collins, J.J., E.C. Lin, R.H. Berthound., E.R. Papka.** 1999. Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. *Cell Tissue Res.* 295:43-54.
- Córdova, A.** 2003. *Fisiología Dinámica.* Masson (Ed). España, pp. 132-133, 557, 605-608.
- Coupland, R.E.** 1965. Electron microscopic observations on the structure of the adrenal medulla. I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla. *Journal of Anatomy* 99: 31-254.
- Coupland, R.E., T.L. Parker, W.K. Kesse., A.A. Mohamed.** 1989. The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *J Anat.* 163:173-181.

- Cruz, M.E., R. Chávez., R. Domínguez.** 1986. Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Rev Invest Clín.* 38:167-171.
- D'Albora, H., G. Anesetti, P. Lombide, L. Dess., S.R. Ojeda.** 2002. Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microscopy Research and Technique* 59:484-489.
- Dallman, F.M., C.W. Engeland., H.M. McBride.** 1976. The neural regulation of compensatory adrenal growth. *Ann Acad Sci.* 297:373-392.
- Delarue, G.A., V. Contesse, S. Langlet, F. Sicard, V. Perraudin, H. Lefebvre, M. Kodjo, F. Lebourrnger, L. Yon, N. Gallo-Payet., H. Vaudry.** 2001. Role of the neurotransmitters and neuropéptidos in the regulation of the adrenal cortex. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2:253-267.
- Díaz, C.B.** 2004. Bioquímica básica de las hormonas esteroideas. *In: Biología y clínica del cáncer.* *Biocancer* 2:1-22.
- Díaz-Yamal, I., C. Ruiz-Wagner.** 2009. Papel de inmunología en la endocrinología ginecológica: Revisión de la literatura. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 6(4):348-356.
- Diseen, G.A., S.R. Ojeda.** 1999. Ovarian innervations. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Knobil E. Neil J.D. (Eds). Academic Press: USA, pp. 583-589.
- Dissen, G.A., S. Malamed, A.J. Gibney, N.A. Hirsfield, E.M. Costa., S.R. Ojeda.** 1992. Neurotrophins are required for follicular formation in the mammalian ovary. *Annual Meeting. Society for Neuroscience* 136 (10):4681.
- Domínguez, R., L. Riboni.** 1971. Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7: 64.
- Domínguez, R.** 1992. La derecha y la izquierda, ¿son también diferentes en el hipotálamo? *Ciencia Hoy* 4(19):41-46.
- Domínguez, R., M.E. Cruz., C. Morán.** 1998. Differential effects of ovarian local anesthesia during pro-oestrus on ovulation by the right or left ovary in normal and hemi-ovariectomized adult rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 113:185-190.
- Domínguez, R., R. Chávez., M.E. Cruz.** 1991. La regulación del crecimiento y el desarrollo del folículo ovárico. *In: Tópicos selectos de Biología de la Reproducción.* Miguel Ángel Porrúa (Ed). México. pp. 162-192.
- Domínguez, R., L. Morales., M.E. Cruz.** 2003. Ovarian Asymmetry. *Annu Rev Biomed Sci.* 5:95-104.
- Douglas, W.W., R.P. Rubin.** 1961. The role of calcium in the secretory response of the adrenal medulla to acetylcholine. *J Physiol.* 159:40-57.
- Drucker, C.R.** 2005. *Fisiología Médica. El Manual Moderno* (Ed). México. pp. 559-569.
- Espey L.L., J.S. Richards.** 2006. Ovulation. *In: Encyclopedia of Reproduction.* 3^a. ed., E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press (Ed). USA, pp. 425-430.
- Espey, L.L.** 1999. Ovulation. *In: Encyclopedia of Reproduction.* E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press. USA, pp. 605-614.

Everardo, P.M., A. Flores, C. García, M.E. Cruz., R. Domínguez. 2011. La participación del Nervio vago en la regulación neuroendocrina de la ovulación varía en función de la hora del día y del ciclo estral. Estudio comparativo en animales con y sin ovariectomía bilateral. XXXVI Reunión de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. Querétaro, Qro.

Everett, J.W. 1948. Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 43:389-405.

Everett, J.W., H. Sawyer. 1950. A 24-hour periodicity in the LH-release apparatus of female rats disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology* 47:198.

Feder, H.H., K. Brown-Grant., S.C. Corker. 1971. Pre-ovulatory progesterone, the adrenal cortex y the "critical period" for luteinizing hormone release in rats. *Journal of endocrinology* 50:29-39.

Fiorindo, R., L. Martini. 1975. Evidence for a cholinergic component in the neuroendocrine control of the luteinizing hormone (LH) secretion. *Neuroendocrinology* 18:322-332.

Flores, A., L. Morales, Aguirre-Ulloa., R. Domínguez. 1990. Acute changes in serum levels of luteinising hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation if the ovarian pedicle at different stages of the oestrus cycle of the rat. *Med Sci Res.* 18:819-821.

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

Flores, O.K. 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 para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Freeman, M. 1994. The Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. *In: The Physiology of Reproduction.* 2^a ed.. Raven Press (Ed). New York, pp. 613-647.

Fukuda, M., K. Yamanouchi, K. Nakano, H. Furuya., Y. Arai. 1984. Hypothalamic laterality in regulating gonadotropic function: Unilateral hypothalamic lesión and compensatory ovarian hypertrophy. *Neurosci Lett.* 53:367-370.

Ganong, W.F. 1996. Fisiología Médica. El Manual Moderno (Ed), México, pp. 255-277, 441-445. 482-484, 397-424.

Gaytán, F., E. Tarradas, C. Morales, C. Bellido., C. Sánchez. 2002. Morphological evidence for uncontrolled proteolytic activity during the ovulatorio process in indomethacin-treated rats. *Reproduction* 123:639-649.

Gerendai, I. 2004. Supraspinal connections of the reproductive organs: structural and functional aspects. *Acta Physiologica Hungarica* 91(1): 1-21.

Gerendai, I., B. Halász. 1997. Neuroendocrine Asymmetry. *Neuroendocrinology* 18: 354-381.

Gerendai, I., I.E. Tóth, Z. Boldogkoi., B. Halász. 2009. Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervations of endocrine glands and other

organs; observations obtained by the transneuronal viral double-labeling technique. *Endocrine* 36:179-188.

Gerendai, I., I.E. Tóth, Z. Boldogkői, I. Medveczky., B. Halász. 2000. CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal of the Autonomic Nervous System* 80:40-45.

Gerendai, I., P. Banczerowski., B. Halász. 2005. Functional significance of the innervation of the gonads. *Endocrine* 28(3): 309-318.

Gilbert, R., P.C. Emson, J. Fahrenkrug, C.M. Lee, E. Peenman., J. Wass. 1980. Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *Journal of Neurochemistry* 34:108-113.

Gore-Langton, R.E., D.T. Armstrong. 1994. Follicular steroidogenesis and its control. *In: The Physiology of Reproduction*. Edited by E Knobil and J.D Neil. 2^a ed., Raven Press (Ed), New York, pp. 572-609.

Gosden, G.R., J.W. Everett., L. Tyrey. 1976. Luteinizing hormone requirements for ovulation in the pentobarbital-treated proestrus rat. *Endocrinology* 99(4):1046-1053.

Goyeneche, A.A., I.L. Martinez, R.P. Deis, G. Gibori., C.M. Telleria. 2003. In Vivo hormonal environment leads to differential susceptibility of the corpus luteum to apoptosis in vitro. *Biology of Reproduction* 68:2322–2330.

Greenspan, F.S., J.S. Gordon. 1999. *Endocrinología básica y clínica*. 4^a ed., El manual Moderno (Ed). pp. 361-365.

Guyton C.A., J.E. Hall. 2006. *Tratado de Fisiología Médica*. 11^a ed., Ed. Elsevier (Ed). pp. 944-951.

Ham, W.A. 1975. *Tratado de Histología*. 7^a ed. Interamericana (Ed), México, pp. 397-399.

Holzwarth, M.A., L.A. Cunningham., N. Kleitman. 1987. The role of adrenal nerves in the regulation of adrenocortical functions. *Annals New York Academy of Sciences* 512:449-464.

Hsueh, W.J., H. Billig., A. Tsafiriri. 1994. Ovarian Follicle Atresia: A Hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine Reviews* 154:707-724.

Huang, C., S. Weitsman, B. Dykes., D. Magoffin. 2001. Stem cell factor and insulin-like growth factor-I stimulate luteinizing hormone-independent differentiation of rat ovarian theca cell. *Biology of Reproduction* 64:451-456.

Jacobs, J.J., R.D. Peppler. 1980. Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of two strains of rat. *J Endocrinol.* 87: 241-246.

Kalantaridou, S.N., A. Makrigiannakis, E. Zoumakis., G. Chrousos. 2004. Stress and the female reproductive system. *Journal of reproductive immunology* 62: 61-68.

Kawakami, M., K. Kubo, T. Uemura, M. Nagase., R. Hayashy. 1981. Involvement of ovarian innervation on steroid secretion. *Endocrinology* 109:136–145.

Kilen, S.M., N.B. Schwartz. 1999. Estrous Cycle. *In: Encyclopedia of Reproduction*. E. Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press (Ed). USA, pp. 127-135.

- Larrea, F., R.M. Oliart, A. Escorza, A. Ulloa-Aguirre., X. Valencia.** 1991. Fisiología y mecanismos de acción de las gonadotropinas hipofisarias. En: Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Miguel Ángel Porrúa (Ed). México, pp. 107-131.
- Lawrence, L.E., H.W. Burden.** 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. *Anat. Rec.* 196:51-59.
- Lawrence, L.E., H.W. Jr Burden., T.M. Louis.** 1978. Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. *J Reprod. Fert.* 53:131-136.
- Leonard, M.J., C.P. Smith, C.A. Hodson, T.M. Louis, L. Lawrence., H.W. Burden.** 1984. The effect of vagotomy on ovarian follicular development. *Anatomic Record* 208:471-472.
- Leslie, R.A.** 1985. Neuroactive substances in the dorsal vagal complex of the medulla oblongata: nucleus of the tractus solitarius, area postrema and dorsal motor nucleus of vagus. *Neurochemistry Interdisciplinary* 7:191-211.
- Levy, M., B. Stanton., B. Koeppen.** 2006. Berne y Levy Fisiología. 4ª ed., Elsevier (Ed). España, pp. 75-93, 676-679.
- Löfman, C., M. Brannstrom, P. Holmes., P. Janson.** 1989. Ovulation in the isolated perfused rat ovary as documented by intravital microscopy. *Steroids* 54(5):481-490.
- López, M.T.** 2009. Participación del Nervio Vago en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y 17 β -estradiol durante el ciclo estral de la rata. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza. UNAM.
- Luck, M.R.** 1990. Cholinergic stimulation, through muscarinic receptors, of oxytocin and progesterone secretion from bovine granulosa cell undergoing spontaneous luteinization in serum-free culture. *Endocrinology* 126:1256-1263.
- Marcondes, F.K., J.F. Bianchi., P.A. Tanno.** 2002. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Journal of Biology* 62(4):145-149.
- Martin, M.B., S. Standring., L. Bannister.** 2001. Sistema Nervioso. *In: Anatomía de Gray.* 38ª ed., España, Harcourt Brace (Eds), pp.1225-1312.
- Mayerhofer, A., G. Dissen, M.E. Costa., S.R. Ojeda.** 1997. A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology* 138:3320-3329.
- Meléndez, R.G.** 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 Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza. UNAM.
- Merchant, H.L.** 1991. Gametogénesis. *In: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción.* Domínguez R. (Eds). México. Miguel Ángel Porrúa, pp. 9-39.
- Mohamed, M.A., L.C. Lavell.** 1988. The innervations of the adrenal gland. II. The source of spinal afferent nerve fibres to the guinea pig adrenal gland. *J Anat.* 160:51-80.

- Morales, L., B. Garcia., R. Domínguez.** 2004. Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. *Archives of Medical Research* 35:279-283.
- Morán, C., A. Franco, J.L. Morán, A. Handal., L. Morales., R. Domínguez.** 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26(2):147-152.
- Morán, J.L., M.E. Cruz., R. Domínguez.** 1994. Differences in the ovulatory response to unilateral lesions in the preoptic and anterior hypothalamic area performed on each day of the oestrus cycle of adult rat. *Med Sci Res.* 21:15-17.
- Mravec, B.** 2011. Role of catecholamine-induced activation of vagal afferent pathways in regulation of sympathoadrenal system activity: negative feedback loop of stress response. *Endocrine Regulations* 45(1):37-41.
- Nance, D.M., J.P. White., W.H. Moger.** 1983. Neural regulation of the ovary: Evidence for Hypothalamic Asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10: 353-355.
- Nequin, G.L., J. Alvarez., B.N. Schwartz.** 1979. Measurement of serum steroid and gonadotropin levels and uterine and ovarian variables throughout 4 day and 5 day estrous cycles in the rat. *Biology of Reproduction* 20: 659-670.
- Nijima, A., D.L. Winter.** 1968. The effect of catecholamines on unit activity in afferent nerves from the adrenal glands. *J Physiol.* 195:647-656.
- Norgren, R., G.P. Smith.** 1988. Central Distribution of subdiaphragmatic vagal branches in the rat. *The Journal of comparative neurology* 273:207-223.
- Odor, L.D.** 1955. The temporal relationship of the first maturation division of rat ova to the onset of heat. *American Journal of Anatomy* 97:461-491.
- Ojeda, R.S., C. Romero, V. Tapia., G. Dissen.** 2000. Neurotrophic and cell-cell dependent control of early follicular development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163: 67-71.
- Ojeda, R.S., W. Smith, S. Aguado, L.I. Advis., J.P. Andersen.** 1983. Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36:261-267.
- Orisaka, M., K. Tajima, B. Tsang., F. Kotsuji.** 2009. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *Journal of Ovarian Research* 2:9.
- Orisaka, M., S. Orisaka, J.Y. Jiang, J. Craig, Y. Wang, F. Kotsuji., B. Tsang.** 2006. Growth differentiation Factor 9 Is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Molecular Endocrinology* 20(10):2456-2468.
- Orrejo, J.** 2005. Adrenales. *In: Fundamentos de Medicina. Endocrinología.* 6ª. ed., Fondo Editorial CIB, Colombia, pp. 156-170.
- Palafox, M.M.** 2007. Un estudio de las interacciones funcionales de las adrenales y la secreción de estrógenos por parte de los ovarios. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza. UNAM.

- Papka, R.E., J.P. Cotton., H.H. Trauring.** 1985. Comparative distribution of neuropeptide tyrosine, vasoactive intestinal polypeptide, substance P-immunoreactive, acetylcholinesterase-positive and noradrenergic nerves in the reproductive tract of the female rat. *Cell Tissue Res.* 242:475-490.
- Parker, T.L., W.K. Kesse, A.A. Mohamed., M. Afework.** 1993. The innervation of the mammalian adrenal gland. *J Anat.* 183:265-276.
- Parr, E.L.** 1974. Histological examination of the rat ovarian follicle wall prior to ovulation. *Biology of Reproduction* 11:483-503.
- Patrick, R.L., N. Kirshner.** 1971. Acetylcholine-induced stimulation of catecholamine recovery in denervated rat adrenals after reserpine-induced depletion. *Molecular Pharmacology* 7:389-396.
- Peluffo, M.** 2002. Efectos de gonadotropinas y un análogo de la hormona liberadora. Tesina de licenciatura en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Belgrano, Buenos Aires.
- Pepler, R.D., J.J. Jacobs.** 1976. The effect of adrenalectomy on ovulation and follicular development in the rat. *Biology of Reproduction* 15:173-178.
- Pimentel M.K.** 2011. La participación de las glándulas adrenales en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ovulación. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- Powley, T.L., J.C. Precht, E.A. Fox., H.R. Berthoud.** 1983. Anatomical considerations for surgery of the rat abdominal vagus: distribution, paraganglia and regeneration. *Journal Autonomic Nervous System* 9:79-97.
- Ramaley, J.A.** 1974. Adrenal-gonadal interactions at puberty. *Life Sciences* 14:1623-1633.
- Ricardo, J.A., E.T. Koh.** 1997. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in rat. *Brain Research* 153:1-26.
- Rodríguez, L.J.** 2006. Efectos de las hemiovariectomía y la adrenalectomía realizadas durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración sérica de testosterona. Tesis para obtener el título de Biólogo. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- Sánchez, E.S.** 1986. Laterización de la respuesta ovulatoria en ratas cíclicas con sección del tronco derecho o izquierdo del Nervio vago. Tesis para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- Schramm, P.L., J.R. Adair, J.M. Stribling., L.P Gray.** 1975. Preganglionic innervation of the adrenal gland of the rat: A study using horseradish peroxidase. *Experimental Neurology* 49(2): 540-553.
- Shaikh, A., S. Shaikh.** 1975. Adrenal and ovarian steroid secretion in the rat estrous cycle temporally related to gonadotropinas and steroid levels found in peripheral plasma. *Endocrinology* 96:37-44.
- Siiteri, K.** 1987. Adipose tissue as a source of hormones. *Am J Clin Nutr.* 45:277-82.
- Sridaran, R., C.A. Blake.** 1980. Effects of long-term adrenalectomy on periovulatory increases in serum gonadotrophins and ovulation in rats. *J Endocrinol.* 84:75-82.

- Stocco, C., C. Telleria., G. Gibori.** 2007. The molecular of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine Reviews* 28:117-149.
- Stouffer, L.R.** 2006. Structure, Function, and Regulation of the Corpus Luteum. *In: Knobil and Neills Physiology of Reproduction.* 3^a ed., Academic Press, USA, pp. 475-496.
- Tilly, J.L., I.K. Kowalski, W.D. Schomberg., J.A. Hsueh.** 1992. Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology* 131:1670-1676.
- Tórtora, J.G., B. Derrickson.** 2006. Principios de Anatomía y Fisiología. 11^a ed., Médica Panamericana (Ed). México, pp. 1078-1096.
- Tóth, E.I., P. Banczerowski, Z. Boldogkoi, S.J. Tóth, A. Szabó, B. Halász., I. Gerendai.** 2008. Cerebral neurons involved in the innervation of both the adrenal gland and the ovary: A double viral tracing study. *Brain Research Bulletin* 77:306-311.
- Tóth, I.E., E.S. Vizi, J.P. Hinson., G.P. Vinson.** 1997. Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. *Microsc Res Tech.* 36:534-545.
- Tresguerres, J.A.** 1999. Fisiología Humana. 2^a ed., Mc Graw-Hill Interamericana (Ed). España, pp. 145-153, 178-180, 1021-1032.
- Tsafiriri, A., P. Kraicer.** 1972a. The time sequence of ovum maturation in the rat. *J Reprod Fert.* 29:387-393.
- Tsafiriri, A., H.R. Linder, U. Zor., S.A Lamprecht.** 1972b. Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. *Prostaglandins* 2:1-10.
- Ulrich-Lai, Y.M., M.M. Arnhold., W.C. Engeland.** 2006. Adrenal splanchnic innervations contributes to the diurnal rhythm of plasma corticosterone in rats by modulating adrenal sensitivity to ACTH. *J Physiol.* 290:1128–1135.
- Vega-Orozco, A., Z. Sosa, S. Delgado, M. Casais., M. Rastrilla.** 2010. Involvement of ganglionic cholinergic receptors on the steroidogenesis in the luteal phase in rat. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 120:45-52.
- Velasco, M.J.** 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 para obtener el título de Bióloga. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- Vinson, G.P., J.P. Hinson., I.E. Tóth.** 1994. The Neuroendocrinology of the adrenal cortex. *J Neuroendocrinol.* 6:235–246.
- Vizi, E.S., I.E. Tóth, K.S. Szalay, K. Windish, E. Orso´, D. Szabo´., G.P. Vinson.** 1992. Catecholamines release from local adrenergic axon terminals are possibly involved in fine tuning of steroid secretion from zone glomerulosa cells: Functional and morphological evidence. *J Endocrinol.* 135:551–561.
- Voet, D., J. Voet.** 1995. Lipid metabolism. *In: Biochemistry.* John Wiley & Sons, Inc. 2^a ed., Argentina, pp. 663-726.

Wakade, R. A. 1981. Studies on secretion of catecholamines evoked by acetylcholine or transmural stimulation of the rat adrenal gland. *J Physiol.* 313: 463-480.

Walker, D., R. Francis, J. Cabassa., C. Kuhn. 2001. Effect of ovarian hormones and estrous cycle on stimulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis by cocaine. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 297:291-298.

Yao, H.C., J.M. Barh. 1999. Ovary, Overview. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Knobil E y Neill JD Eds. Academic Press, USA, pp. 590-596.

Yen, J. 2001. Endocrinología de la Reproducción, Fisiología y Fisiopatología y manejo clínico. 4^a ed., Médica Panamericana (Ed). Argentina, pp. 40-50,179-181.

Ying, S-H., Z. Zhang. 1999. Ovarian Hormones, Overview. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Knobil E and Neill JD Eds. Academic Press. USA, pp. 578-582.

Zeleznik, A.J. 1999. Luteinization. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press (Ed). University of Pittsburgh School of Medicine. Vol. 2. USA, pp. 1078-1079.

Zucker, R., A. Keshaviah, O. Price., J. Goldman. 2000. Confocal laser scanning microscopy of rat follicle development. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 48 (6):781-791.