



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EFFECTO DE LA ADRENALECTOMÍA POR LA MAÑANA DE
CADA DÍA 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 A

P R E S E N T A:

NAYELI MARTÍNEZ MUÑOZ

DIRECTORA DE TESIS

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez



Investigación realizada gracias al programa

UNAM-DGAPA-PAPIIT IN215513

México, D.F. diciembre, 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES “ZARAGOZA”

CARRERA DE BIOLOGÍA

**EFFECTO DE LA ADRENALECTOMÍA POR LA MAÑANA
DE CADA DÍA DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA
ADULTA SOBRE LA OVULACIÓN**

Tesis presentada por: Nayeli Martínez Muñoz

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**

**Investigación realizada gracias al
programa**

**UNAM-DGAPA-PAPIIT
IN215513**

Dedicatorias:

A mi hija Lina Alexía

Porque eres tu quien ha sufrido mi ausencia, pero te juro que juntas vamos a disfrutar los logros, porque todo lo que he hecho, ha sido pensando en tí, por tí y para tí mi pequeña Alexía, porque eres y serás el motor de mi vida, por quien quiero ser una mejor persona en todos los sentidos.

A mi madre

Porque me has dado la fortaleza de seguir siempre hacia adelante y ha sido gracias a tí que he llegado hasta donde estoy, porque eres mi apoyo incondicional y este título es tan tuyo como mío.

A mi padre

Por haber forjado un carácter fuerte y decidido en mí, porque jamás olvidaré tus palabras "sí todo fuera fácil cualquiera lo haría" entre otras tantas, porque me has enseñado a nunca darme por vencida.

A mi abuelita Lina

Por siempre brindarme tu amor y tu tiempo, por cuidarme y aconsejarme sin esperar nada a cambio.

Agradecimientos:

A la maestra Angélica

Por confiar en mí e integrarme en su equipo de trabajo pese a mi situación familiar, por comprender cada ausencia, por cada plática, por cada regaño ya que detrás de cada llamada de atención había un "puedes hacerlo mejor", gracias por todo maestra.

A los sinodales:

Por su valiosa aportación en la realización de mi tesis, en especial a la Dra. Elena Ayala, por haberse tomado el tiempo de leer puntos y comas, pero sobre todo por eliminar la barrera Doctora-alumna al permitirme bromear con usted.

A Julio y Camilo

Porque gracias a que me regalaron un poco de su tiempo pude aprender a realizar cada actividad en el laboratorio.

A mi amigo y compañero Ascary

Por hacer mi estancia en el laboratorio más amena, por haberme apoyado con mi trabajo experimental aunque eso me causara conflictos con mi bolsillo.

A mis amigos de la universidad

Porque siempre estuvieron ahí para apoyarme, escuchándome, visitándome e incluso saliendo conmigo para distraerme, gracias por los consejos y por siempre tener alguna palabra de aliento Mariana, César y últimamente Lilia y Angeles que han estado al pendiente de mí.

A mi mejor amigo Eduardo León

Por estar conmigo en las buenas, en las malas y en las peores, por respetar siempre mis decisiones, por tener siempre tiempo para escucharme, por siempre procurar mi felicidad y la de mi hija, eres y serás por siempre una persona muy importante en mi vida, gracias por recordarme siempre lo que soy, lo que valgo y lo que merezco en la vida.

A Francisco Hernández

Porque de no ser por ti tal vez seguiría viajando por toda la república sin haber concluido este ciclo con mi universidad, porque de alguna manera estuviste ahí para mí, porque me motivaste a seguir para dar otro paso importante en mi vida, porque me hiciste sentir tanto y hay muy pocas cosas que te "estrujan el corazón" gracias por recordarme que estoy viva y que puedo sentir.



Contenido

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	8
MARCO TEÓRICO.....	9
1. EJE HIPOTÁLAMO HIPÓFISIS OVARIO.....	9
2. OVARIO.....	15
2.1. Desarrollo folicular	17
2.2. Atresia folicular	24
2.3. Ovulación.....	26
2.4. Luteinización	27
2.5. Síntesis de hormonas esteroides	28
2.6. Efectos biológicos de las hormonas ováricas.....	30
3. CICLO ESTRAL.....	34
4. ASIMETRÍA OVÁRICA	41
5. GLÁNDULAS ADRENALES.....	42
5.1. Corteza adrenal	43
5.2. La médula adrenal.....	50
6. INERVACIÓN DE LA GLÁNDULA ADRENAL.....	51
7. REGULACIÓN ENDOCRINA DE LAS FUNCIONES DE LOS OVARIOS Y DE LAS ADRENALES.....	54
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	57
HIPÓTESIS.....	57
OBJETIVO GENERAL.....	58
Objetivos particulares	58
MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
RESULTADOS	62
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	104
CONCLUSIONES	112
BIBLIOGRAFÍA.....	113



RESUMEN

La ovulación no sólo es regulada por la información que proviene del hipotálamo y la hipófisis, ya que existen evidencias de que en la rata, la ausencia de una o ambas adrenales por la tarde y noche durante el ciclo estral resulta en alteraciones de la ovulación. En el presente estudio se analizó si dicho efecto también ocurre por la mañana de cada etapa del ciclo estral.

Para ello, a ratas hembra adultas y cíclicas mantenidas en condiciones controladas de bioterio, se les extirpó la adrenal izquierda (Adx-I), derecha (Adx-D) o ambas (Adx-B); y como grupos de comparación se utilizaron animales intactos o con laparotomía ventral. Las cirugías se realizaron a las 07:00, 09:00 u 11:00 horas de cada etapa del ciclo estral. Todos los animales fueron sacrificados al siguiente Estro vaginal y se cuantificó el número de ovocitos liberados por cada ovario (con lo que se determinó el Porcentaje de Animales Ovulantes [PAO]), y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales (mg/100 g peso corporal). También se analizó la ciclicidad posterior a la cirugía.

En comparación con el grupo intacto, la laparotomía a las 7:00, 9:00 u 11:00 h, no alteró la respuesta ovulatoria. En la etapa del Diestro-1 la extirpación de ambas adrenales resultó en disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo con respecto a la adrenalectomía izquierda (Adx-I).

A las 9:00 h, la Adx-B en D-1 disminuyó el PAO del ovario izquierdo con respecto a la del grupo con laparotomía, mientras que dicha respuesta se presentó en el ovario derecho cuando la cirugía se realizó en P.

La Adx-B en D-1 resultó en disminución del PAO por el ovario izquierdo, lo mismo que el PAO del ovario derecho cuando la extirpación de ambas adrenales se realizó en D-1 o P, respecto a la del grupo con laparotomía.



Con base en estos resultados, sugerimos que por lo menos en estos horarios:

- ✚ Ambas adrenales estimulan el proceso de ovulación y los ovarios son más sensibles en las etapas del D-1 y P, ante la ausencia de la información proveniente de dichas glándulas.

- ✚ La información que proviene de una sola adrenal en la mañana del ciclo estral provee el ambiente hormonal necesario para culminar correctamente el proceso de ovulación y mantiene la ciclicidad de los animales.

- ✚ La adrenal izquierda como la derecha, tienen la misma capacidad de hipertrofia compensatoria y dicha regulación se puede dar a partir de las 72 hrs después de la adrenalectomía.



INTRODUCCIÓN

Los ovarios tienen las funciones de producir y desarrollar ovocitos y secretar las hormonas necesarias para preparar el aparato reproductor para la fertilización y la implantación del embrión. Dichas funciones están reguladas por señales químicas provenientes del hipotálamo y la hipófisis: el hipotálamo sintetiza la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y la libera en la eminencia media, donde es transportada por el sistema portal hipotalámico-hipofisiario a la pars distal de la adenohipófisis. Ahí se une a los receptores de membrana en los gonadotropos y estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas son liberadas hacia el torrente sanguíneo y llegan a los ovarios estimulando sus funciones (Cheng y Fernald, 2008; Domínguez y Cruz, 2011; Palermo, 2007).

Además de la regulación neuroendócrina a través del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, las glándulas adrenales tienen influencia sobre la regulación de la ovulación (Peppler y Jacobs, 1976; Peppler y Jacobs, 1980). Se ha mostrado que por la tarde del ciclo estral dicha influencia puede ser diferente y depende de la hora y día del ciclo estral analizado (Cortés et al., 2014; Gutiérrez et al., 2015; Pimentel, 2011; Silva et al., 2013).

Ya que no se tienen evidencias de la participación de una o ambas adrenales en el proceso de la ovulación por la mañana del ciclo estral, el presente estudio se realizó con el objetivo de analizar la respuesta ovulatoria, la ciclicidad y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales en animales a los que se les extirpó una o ambas adrenales a las 7:00, 9:00 u 11:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata.



MARCO TEÓRICO

1. EJE HIPOTÁLAMO HIPÓFISIS OVARIO

El **hipotálamo** es un componente filogenéticamente antiguo y estable del sistema nervioso central (SNC) y durante la evolución de los mamíferos presenta pocos cambios en su organización general o sus conexiones con otras áreas encefálicas (Yen, 2001).

Las neuronas hipotalámicas se forman a partir de la porción ventral del diencéfalo embrionario durante la segunda semana de la embriogénesis de los roedores (Yen, 2001).

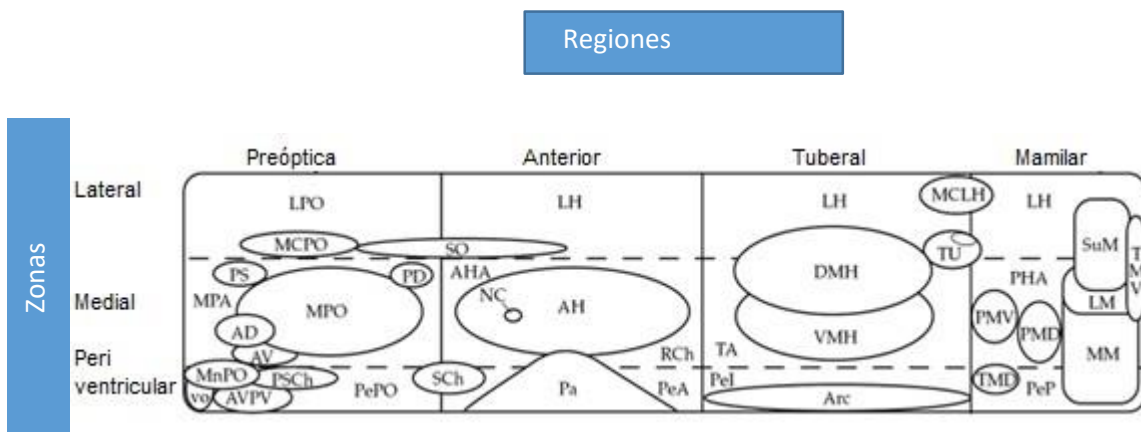
El hipotálamo está situado ventralmente en relación con los tálamos derecho e izquierdo, formando el suelo y la porción inferior de las paredes laterales del tercer ventrículo (Dorantes et al., 2012). Hacia adelante está delimitado por el quiasma óptico, hacia atrás por los cuerpos mamilares, a los lados por los surcos formados con los lóbulos temporales y hacia arriba se separa del tálamo por el surco hipotalámico (Jácome, 2005).

Para su estudio se describen tres zonas hipotalámicas: periventricular, medial y lateral. La zona periventricular contiene la mayor parte de las neuronas que se proyectan a la hipófisis y está involucrada en la regulación de la secreción de hormonas de la reproducción y la ovulación; la zona medial consiste en una serie de grupos celulares organizados rostrocaudalmente que reciben información de la región límbica del telencéfalo; y las neuronas localizadas en la zona lateral están dispersas

entre diversas fibras de la zona medial; ésta a su vez se divide en 4 regiones: preóptica, anterior, tuberal y mamilar (Cuadro1) (Simerly, 2004).

El hipotálamo coordina el conjunto de respuestas fisiológicas de los órganos que mantienen la homeostasis. Para lograrlo, integra señales que provienen del ambiente, de otras regiones cerebrales y aferentes viscerales, para luego estimular las respuestas apropiadas. Al llevar a cabo esta actividad influye sobre funciones cotidianas como: la ingesta de alimentos, el gasto de energía, el peso corporal, la ingesta y equilibrio de líquidos, la presión sanguínea, la sed, la temperatura corporal, el ciclo del sueño y vigilia y las funciones neuroendocrinas (Molina, 2008).

Cuadro 1. Organización del hipotálamo (modificado de Simerly, 2004)



Zona periventricular	Zona Periventricular	Zona Periventricular	Zona periventricular
Núcleo Preóptico periventricular (PePo)	Núcleo periventricular Anterior (PeA)	Núcleo tuberal periventricular (Pel) Núcleo arcuato (Arc)	Núcleo periventricular posterior (PeP)
Órgano vascular de la lámina terminal (vo)	Núcleo supraquiasmático (SCh)		Núcleo tuberomamilar dorsal
Núcleo preóptico medial (MnPO)	Núcleo paraventricular (Pa)		



Zona medial	Zona medial	Zona medial	Zona medial
Área preóptica medial (MPA) Núcleo preóptico medial (MPO) Núcleo anterodorsal preóptico (AD) Núcleo preóptico anteroventral (AV) Núcleo Parastrial (PS) Núcleo preóptico posterodorsal (PD)	Área hipotalámica anterior (AHA) Núcleo hipotalámico anterior (AH) Área retroquiasmática (RCh) Núcleo circular (NC)	Área tuberal (TA) Núcleo ventromedial (VMH) Núcleo dorsomedial (DMH)	Núcleo premamilar dorsal (PMD) Núcleo ventral premamilar (PMV) Núcleo mamilar medial (MM) Núcleo mamilar lateral (LM)
Zona lateral	Zona lateral	Zona Lateral	Zona lateral
Área preóptica lateral (LPO) Núcleo preóptico magnocelular (MCPO)	Área hipotalámica lateral (LH) Núcleo supraóptico (SO)	Núcleo tuberal (TU)	Núcleo tuberomamilar ventral (TMV)

Las células neurosecretoras que forman el hipotálamo sintetizan neurohormonas a las que se les denomina hormonas liberadoras o inhibidoras. Éstas se transportan por los axones de las neuronas hasta sus terminales nerviosas localizadas en la eminencia media, donde son liberadas y trasladadas por vasos portales hasta la pars distal de la adenohipófisis (Hill y Wise, 2006; Tresguerres, 2010).

En ratas, la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), es expresada por neuronas que se localizan principalmente en el área preóptica (POA), aunque algunas neuronas también se hallan en el hipotálamo medio basal (MBH), pero no en el núcleo arqueado sino en el área hipotalámica lateral, cerca de la superficie dorso-medial del tracto óptico y la base del hipotálamo (Funabashi *et al.*, 2002).

Dicha neurohormona es un decapeptido (piroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) (Velázquez *et al.*, 2014) el cual es vertido a la altura de la eminencia media.



La eminencia media, una prominencia de la línea media formada progresivamente por una invaginación lateral y ventral en el tallo infundibular (Yen, 2001), tiene gran importancia fisiológica, ya que es donde las neurohormonas segregadas por el hipotálamo son liberadas en el lecho capilar portal, para ser transportadas por el tallo hipofisario a la parte distal de la adenohipófisis. Se localiza en el centro del tuber cinereum y está formada por una extensa serie de vasos sanguíneos y terminaciones nerviosas. Su extremadamente rico aporte sanguíneo surge de la arteria hipofisaria superior, que envía muchas pequeñas ramas que forman bucles capilares que se producen predominantemente en dirección hipotálamo-hipófisis (Kronenberg, 2009).

La **hipófisis** es el eslabón humoral entre el sistema nervioso y el endocrino (McDonald, 1983). Se localiza en la silla turca, cavidad ósea en la base del cráneo, y está conectada con el hipotálamo por el tallo hipofisario. Para su estudio se divide en dos porciones distintas: hipófisis anterior, también denominada adenohipófisis o lóbulo hormonal, que es el tejido epitelial glandular y la hipófisis posterior, llamada también neurohipófisis o lóbulo neural que es el tejido nervioso secretor (Guyton y Hall, 2001; Ross y Pawlina, 2007).

Entre ambas porciones existe una zona pequeña y avascular denominada pars intermedia (Guyton y Hall, 2001) (Figura 1); la cual puede faltar o estar reducida en los animales de vida acuática, inclusive en los mamíferos, y también puede faltar o estar disminuida en los vertebrados carentes de cromatóforos funcionales. Parece existir una relación entre la tolerancia a la deshidratación y el tamaño de esta porción. Es la responsable de la producción de la hormona estimulante de los melanocitos (MSH) la cual estimula la producción de melanina en los vertebrados poiquiloterms (Estrada y Uribe, 2002).

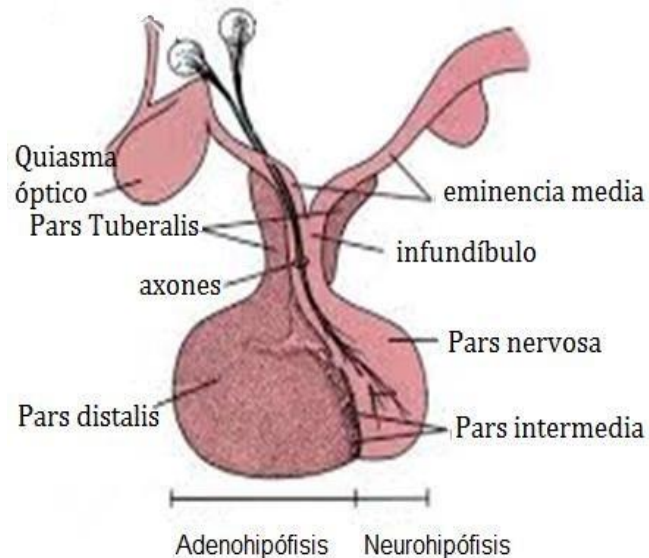


Figura 1. Estructura de la hipófisis (modificada de http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/capitulo_11.htm; consultada el 2 de enero de 2015).

Una vez que la GnRH llega a la parte distal de la adenohipófisis se une a sus receptores de membrana localizados en las células gonadotropas y estimula la secreción de la Hormona Estimulante del Folículo (FSH) y la Hormona luteinizante (LH). Dichas hormonas, conocidas como gonadotropinas, están formadas por la subunidad α ; que es idéntica en las tres glucoproteínas de la hipófisis (FSH, LH y hormona estimulante de la tiroides [TSH]), y la subunidad β ; que le confiere la especificidad y actividad biológica a cada una de ellas. Las gonadotropinas son secretadas a la circulación sistémica y al llegar a los ovarios estimulan sus funciones (Jeong y Kaiser, 2006; Palermo, 2007).

Las gonadotropinas ejercen sus efectos a través de la activación de sus receptores (Yen, 2001); los de la LH se localizan en la membrana plasmática de las células de la teca interna y en las células luteínicas de los cuerpos lúteos, mientras que los de FSH se sitúan en la membrana plasmática de las células de la granulosa



(Palermo, 2007). El proceso de post-receptor que transmite la acción de las gonadotropinas en el núcleo de la célula se basa principalmente en la adenilato

ciclase, la producción del adenosín monofosfato cíclico (AMPC), y la activación de la proteína quinasa (PKA) (Palermo, 2007).

Cuando la FSH se une a su receptor activa señales celulares que conducen a la maduración de las células germinales y el crecimiento folicular (Freeman, 2006), ya que en las células de la granulosa promueve la mitosis. Actúa de manera sinérgica con los estrógenos para incrementar e inducir el número de receptores a LH, y refuerza la capacidad de aromatización de los andrógenos a estrógenos (Yen, 2001). En conjunto con la FSH y factores de crecimiento: como el factor de diferenciación de crecimiento 9 (GDF-9) el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor de crecimiento parecido a la insulina (IGF) y el factor de crecimiento epidermal (EGF) (Freeman, 2006; Rajkovic *et al.*, 2006), los estrógenos estimulan la proliferación de las células de la granulosa (Hill y Wyse, 2006).

Las células de la granulosa de los folículos en vías de desarrollo no tienen receptores a la LH (Hill y Wyse, 2006) y la FSH estimula la síntesis de los receptores a LH en las células de la teca y de la granulosa de los folículos antrales (Cuenca, 2006; Kronenberg 2009; Rajkovic *et al.*, 2006).

En la rata, la FSH estimula la producción de IGF-I por las células de la granulosa, el cual participa en la regulación de la síntesis de andrógenos tecales (Hillier, 2001), y estimula la actividad de la enzima aromatasa; responsable de la conversión de andrógenos en estrógenos (Hill y Wyse, 2006; Hillier *et al.*, 1980), y junto con la activina, la maduración del ovocito (Thomas y Vanderhyden, 2006).



La LH induce a la proteína de regulación aguda esteroideogénica (StAR), que media el suministro de colesterol a la membrana interna; igualmente potencia la actividad enzimática relacionada con el citocromo P450 para la síntesis de

pregnenolona y también induce la síntesis de 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, 17 α -hidroxilasa y 17, 20-ilasa (Kronenberg, 2009). Además estimula la expresión de los receptores a progesterona en las células de la granulosa (Yen, 2001).

Los pequeños, pero constantes incrementos en la concentración de LH, son necesarios y suficientes para estimular, junto con FSH, el crecimiento y diferenciación de los folículos antrales hasta el estado preovulatorio. La LH también estimula la maduración meiótica del oocito, la formación del estigma, la ruptura folicular (Arce *et al.*, 2006), el mantenimiento de la función lútea y la síntesis de andrógenos en las células tecointersticiales (Yen, 2001).

2. OVARIO

En la rata, los ovarios se localizan 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 están suspendidos por un pliegue del peritoneo y por el ligamento suspensorio (Bergman *et al.*, 1998).

Los ovarios son órganos pares recubiertos por mesotelio cúbico simple; que en ocasiones se denomina epitelio germinal y una túnica albugínea formada por tejido conjuntivo. Se divide en una corteza y una médula; la corteza tiene folículos en distintas

fases, así como estructuras posteriores a la ovulación; la médula tiene tejido conjuntivo con vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas (Cui, 2011).

En la corteza del ovario se distinguen tres compartimientos funcionales: el folicular compuesto por los folículos en diferentes grados de desarrollo y diferenciación, el luteal formado por cuerpos lúteos en desarrollo, y el tejido intersticial formado por los folículos atrésicos que tienen receptores a LH (Botella, 1995; Ross y Pawlina, 2007).

La médula (continuación de la corteza) se localiza en el centro del ovario y está formada por tejido conectivo laxo con una gran cantidad de vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas que entran por el hilio del ovario, el cual se continúa con el mesoovario) (Figura 2) (Cui, 2011).

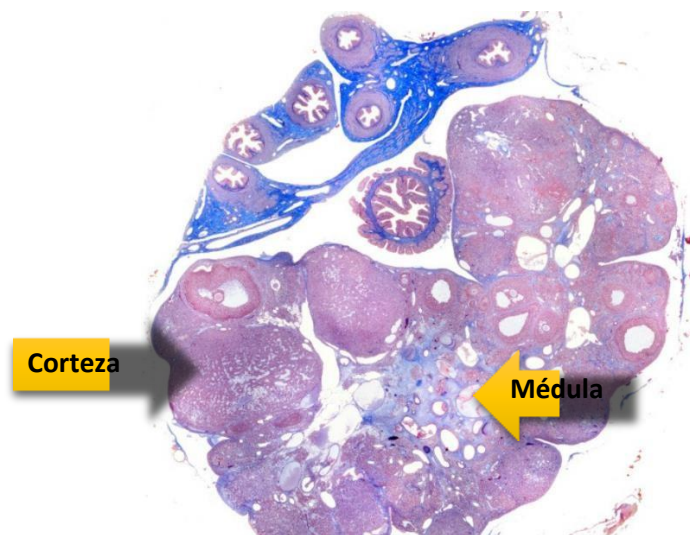


Figura 2. Sección transversal de ovario de rata teñido con tricrómico de Masson. Estructura general de un ovario de rata donde se muestra la corteza, la cual contiene folículos en diferentes etapas de desarrollo, y la médula formada por tejido conectivo que es altamente vascular (modificada de <http://www.wesapiens.org/es/file/1093003/Estructura+general+del+ovario>; consultada el 3 de marzo de 2015).



Las funciones de los ovarios son la liberación de células germinales (ovulación) y la producción de hormonas esteroideas (progesterona [P₄], testosterona y 17 β-estradiol [E₂]) y proteicas (inhibina, activina y folistatina) (Botella, 1995).

2.1. Desarrollo folicular

La foliculogénesis de la rata se inicia cerca de la médula de la glándula; región que contiene más, si no es que toda, la innervación (Dissen y Ojeda, 1999).

Por inmunohistoquímica en el ovario en la etapa fetal (día 19) o en el recién nacido (menos de 15 horas después del nacimiento), se mostró la presencia de nervios catecolaminérgicos, debido a que expresan la enzima tirosina hidroxilasa (TH); limitante en la síntesis de las catecolaminas. Tales fibras inervan los vasos sanguíneos, mientras que otras se asocian con las células de los folículos primordiales, lo que sugiere que estas fibras regulan la función vascular, sin descartar su participación en la diferenciación y desarrollo de los folículos primordiales (Malamed *et al.*, 1992).

El desarrollo de la innervación del ovario precede a la aparición de la foliculogénesis antes de que los folículos adquieran la capacidad de respuesta a las gonadotropinas. Mayerhofer y colaboradores en 1997 mostraron que el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la noradrenalina (NA) llegan a los ovarios, acoplados al sistema de generación de AMPc, y contribuyen al proceso de diferenciación mediante el cual folículos primarios recién formados adquieren receptores a FSH y la capacidad de respuesta a ella.



Malamed y colaboradores, en 1992, mostraron que en la rata durante las primeras 24 horas de vida postnatal se observan muy pocos folículos primordiales. Doce horas más tarde hay alrededor de 500 folículos por ovario; una cifra que se duplicó hasta cerca de 1,300 durante las 12 horas posteriores. Estos resultados evidencian que un periodo explosivo de diferenciación folicular se produce entre el final de los días uno y dos después del parto.

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

El NGF el cual es una neurotrofina se expresan en el ovario en desarrollo al igual que sus dos receptores anclados a la membrana, antes de la organización de los primeros folículos primordiales; una de las funciones de NGF en el ovario en desarrollo es la de facilitar el proceso de diferenciación mediante el cual los folículos en crecimiento temprano se vuelven dependientes de gonadotropina durante la vida postnatal y que lo hace mediante el aumento de la síntesis de receptores a FSH (FSHRs) (Romero, 2002).

Pedersen y Peters (Rajkovic *et al.*, 2006), han clasificado a los folículos con base en el tamaño de los ovocitos, el número de células de la granulosa y la morfología folicular (Figura 3):

- ✓ Quistes de células germinales (Tipo I)

- ✓ Folículos primordiales (Tipo II)

- ✓ Primarios (Tipo III)
- ✓ Secundarios (Tipo IV)
- ✓ Preantrales (Tipo V)
- ✓ Antrales (Tipo VI)

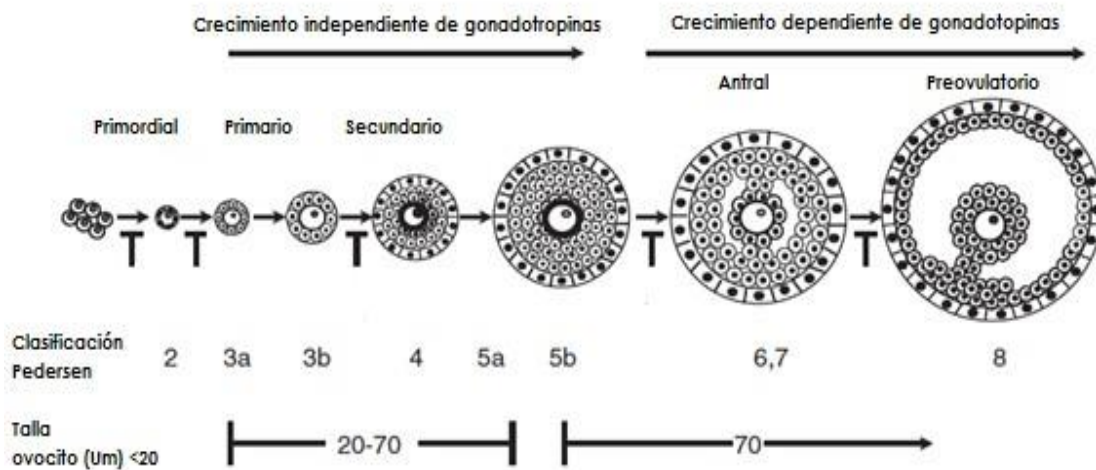


Figura 3. Clasificación de los folículos del roedor. De izquierda a derecha, el desarrollo folicular postnatal comienza en la etapa primordial a la etapa antral. Antes de la formación de antro, el crecimiento del folículo es independiente de gonadotropinas hipofisiarias. Clasificación Pedersen (tipos 2-8) se muestra para cada etapa. También se indican correspondientes diámetros de ovocitos para cada tipo (modificada de [Rajkovic et al., 2006](#)).

Los ovarios de ratones recién nacidos están densamente poblados de ovocitos; la mayoría de ellos sin evidencia de células de la granulosa circundante. Han sido llamados ovocitos “desnudos”, quistes de células germinales, clusters, nidos o sincitios y corresponden al tipo I de la clasificación de Pedersen y Peters. El tamaño de los ovocitos es menor de 20 μm ([Rajkovic et al., 2006](#)).

Los folículos primordiales se localizan en posición más céntrica y presentan un ovocito que ha sido rodeado por las células escamosas pre-granulosas planas



(Figura 4) (Rajkovic *et al.*, 2006). Los primeros folículos que inician su maduración son los que están situados más cerca del hilio en la zona medular del ovario, debido a que es la primera región en ser inervada durante la etapa feto-neonatal (Mayerhofer *et al.*, 1997; Dissen y Ojeda, 1999).

En el día tres postnatal son visibles los folículos primarios con células de granulosa en forma cúbica y con ovocitos que superan las 20 μm . Estos folículos corresponden al tipo III en la clasificación de Pedersen y Peters (Figura 5) (Rajkovic *et al.*, 2006).

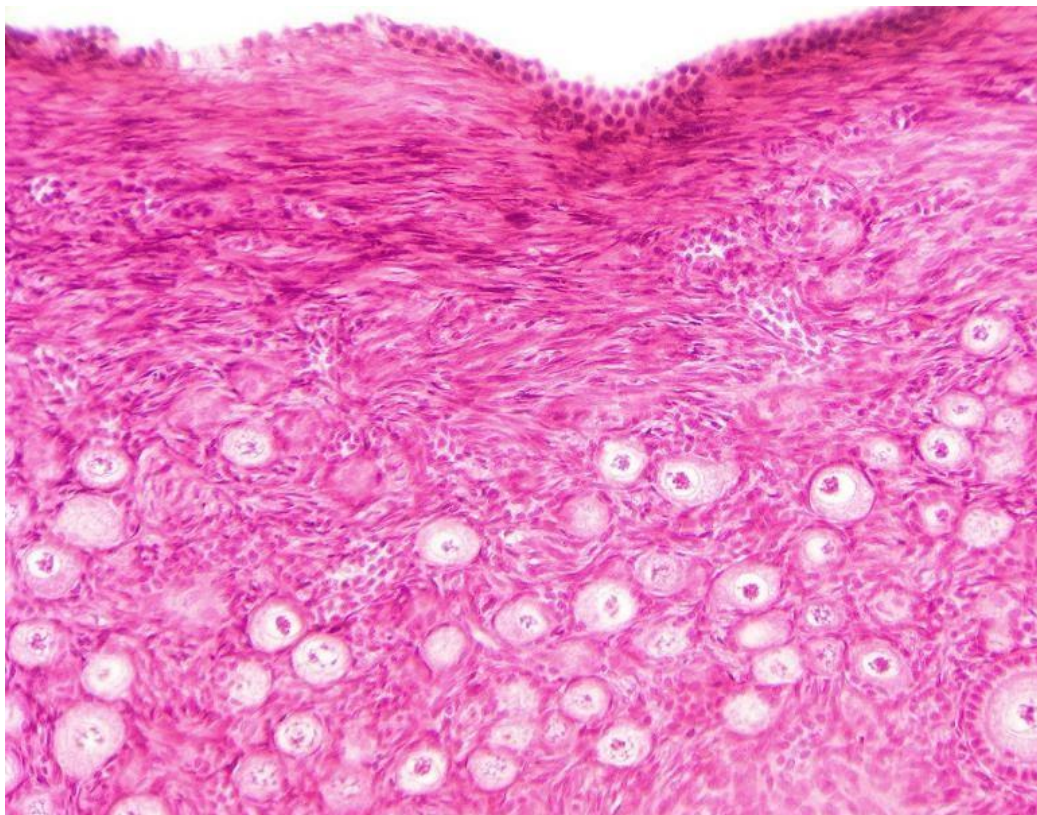


Figura 4. Folículos primordiales en ovario de rata teñidos con Hematoxilina y Eosina (tomada de <http://www.wesapiens.org/es/class/1359766/file/3/Ovario%2C+fol%C3%ADculos+primordiales>; consultada el 3 de marzo de 2015).



Numerosos folículos primordiales ahora han reemplazado un número sustancial de quistes de células germinales en la periferia del ovario. En el día 7 postnatal, la mayoría de los quistes de células germinales han desaparecido y los folículos primordiales son el tipo folicular más abundante; folículos primarios y secundarios están presentes en la región medular (Rajkovic *et al.*, 2006).

Los folículos secundarios corresponden al tipo IV (Figura 6). Se distinguen de los folículos primarios porque tienen más de una capa de células de la granulosa y han adquirido una capa de células somáticas adicional, la teca. La capa de células tecales se forma alrededor de la membrana basal y se diferencia en teca interna y teca externa (Rajkovic *et al.*, 2006).

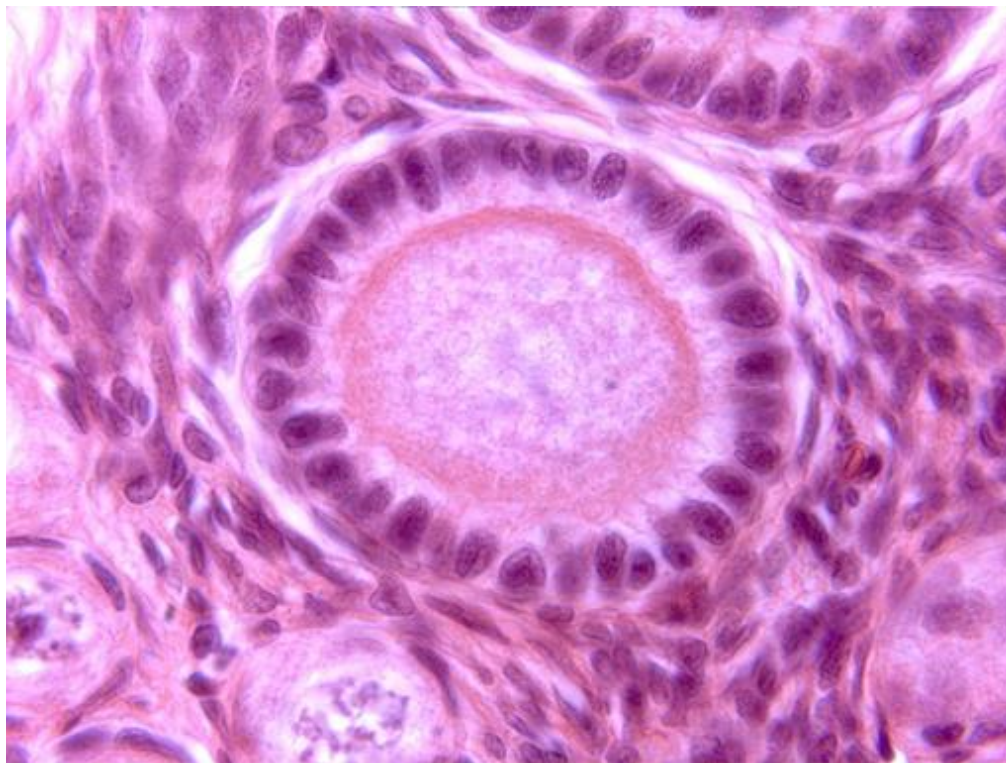


Figura 5. Folículo primario en ovario de rata, aumento a 100 x, teñido mediante la técnica de hematoxilina y eosina (tomada de <http://www.ujaen.es/investiga/atlas/ovario/ovario100x1.htm>; consultada el 11 de noviembre de 2015).

La teca interna es la capa vascular y tiene células secretoras de andrógenos que se difunden hacia las células de la granulosa, donde se convierten en estrógenos en respuesta a la FSH. La teca externa es una capa de tejido conjuntivo externo que tiene colágeno y algunas células escamosas pequeñas, junto con algunas células de músculo liso (Cui, 2011). El desarrollo de la teca también coincide con el desarrollo de numerosos vasos sanguíneos pequeños presumiblemente a través de la angiogénesis (Rajkovic *et al.*, 2006).

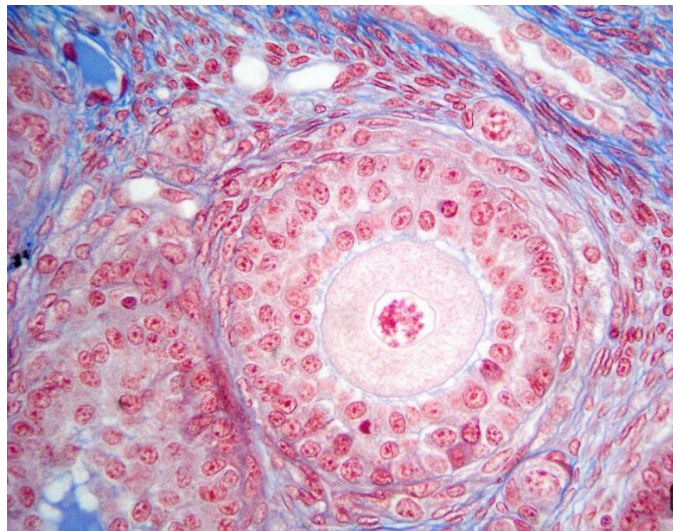


Figura 6. Folículo secundario teñido con tricrómico de Masson. Se observa teca interna y externa, también la presencia de los cuerpos de Call exner (tomada de

[http://www.wesapiens.org/es/class/1359766/file/8/full_screen_media/0/Ovario%2C+fol%3%ADcul_o+secundario+\(tard%C3%ADo](http://www.wesapiens.org/es/class/1359766/file/8/full_screen_media/0/Ovario%2C+fol%3%ADcul_o+secundario+(tard%C3%ADo); consultada el 3 de marzo de 2015).

El ovario de 14 días postnatal tiene una apariencia similar a un ovario en el día 7 con múltiples folículos secundarios. Los folículos también involucionan en esta etapa debido a que no completan el desarrollo folicular por la falta de FSH en concentraciones preovulatorias (Rajkovic *et al.*, 2006).



En los folículos tipo V, el ovocito alcanza el diámetro final, aproximadamente de 70 μm , y están rodeados por varias capas de células de la granulosa que contienen áreas dispersas de líquido folicular. Con el tiempo dichas áreas se unen para formar la cavidad antral, en la que el líquido folicular contiene agua, hormonas esteroides y proteicas, mucopolisacáridos (Wong y Adashi, 1999), anticoagulantes, gonadotropinas, factores de crecimiento, enzimas y electrolitos (Yao y Bahr, 1999). Esto también divide las células de la granulosa en dos poblaciones: mural y cúmulus; las células de la granulosa que rodean el ovocito se llaman células de la granulosa del cúmulus, mientras que las células de la granulosa que recubren la membrana basal se llaman células de la granulosa mural (Rajkovic *et al.*, 2006).

Los folículos antrales están altamente diferenciados por sus estructuras endocrinas y corresponden a los tipos VI-VIII en la clasificación de Pedersen (Figura 7). Estos folículos responden a las gonadotropinas y la secreción preovulatoria de LH desencadena la liberación del ovocito que se encuentra en detención meiótica, la ruptura de la pared del folículo y expulsión de los complejos cúmulus-ovocito (Rajkovic *et al.*, 2006). En la última fase de desarrollo, el folículo aumenta su tamaño y se seleccionan los folículos que van a ovular (Orisaka *et al.*, 2006).

En roedores, el proceso de maduración y diferenciación del folículo primordial hasta el folículo preovulatorio toma alrededor de 3 semanas (Rajkovic *et al.*, 2006).

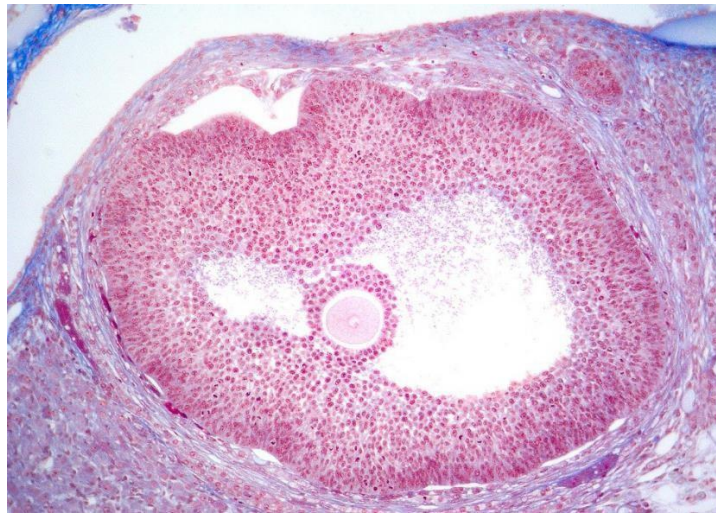


Figura 7. Folículo preovulatorio teñido con tricrómico de Masson (tomada de [http://www.wesapiens.org/es/class/1359766/file/9/full_screen_media/0/Ovario%2C+fol%3%ADcul_o+de+Graaf+\(fol%3%ADculo+maduro](http://www.wesapiens.org/es/class/1359766/file/9/full_screen_media/0/Ovario%2C+fol%3%ADcul_o+de+Graaf+(fol%3%ADculo+maduro); consultada el 3 de marzo de 2015).

2.2. Atresia folicular

Durante la vida reproductiva, en el ovario se produce una alta tasa de apoptosis de las células de la granulosa lo que conduce a la atresia del folículo (Figura 8) (Kaipia y Hsueh, 1997).

La atresia folicular representa un proceso de selección de folículos que asegura la liberación de ovocitos sanos y viables durante la ovulación. Se puede presentar en cualquier etapa del desarrollo folicular, sin embargo, los folículos que se encuentran en la primera etapa antral (folículos con diámetro de 400 μm) son más susceptibles a las señales apoptóticas (Kaipia y Hsueh, 1997; Orisaka *et al.*, 2006).

Para mantenerse con vida, las células probablemente dependen de señales de supervivencia que actúan sobre receptores celulares; la suficiente exposición de los folículos antrales a FSH es el estímulo más importante para evitar la atresia y alcanzar



la etapa preovulatoria. La hormona del crecimiento (GH), también afecta el crecimiento y diferenciación del folículo y a menudo estimula la acción de las gonadotropinas (Kaipia y Hsueh, 1997).

Además de las hormonas secretadas por la hipófisis, hay factores de crecimiento producidos localmente tales como el IGF-I, el cual regula la foliculogénesis; el EGF y el factor de crecimiento fibroblástico-básico (bFGF), ambos producidos por las células foliculares, que inhiben la fragmentación espontánea del ADN en folículos preovulatorios (Kaipia y Hsueh, 1997). El GDF-9 in vitro estimula el crecimiento 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, que es la activa a las DNAasas cuya función es fragmentar al ácido desoxirribonucleico (DNA) en aproximadamente 250 pares de bases, característico de la apoptosis (Orisaka *et al.*, 2006).

En los folículos atrésicos hay una menor producción de estrógenos y como consecuencia la concentración del esteroide es baja en el líquido folicular, lo que indica la importancia de los estrógenos locales para el mantenimiento de los folículos sanos. La P₄, también puede inhibir la atresia ya que se ha mostrado que en cultivo disminuye la apoptosis en células de la granulosa (Kaipia y Hsueh, 1997). Los andrógenos derivados de las células tecointersticiales participan en el desarrollo de los folículos, lo que depende de la etapa de desarrollo folicular. Se tienen evidencias de que in vitro, estimulan el crecimiento de los folículos preantrales y la mitosis de las células de la granulosa provenientes de ratones (Orisaka *et al.*, 2006; Yen, 2001).

Fas es un receptor que contiene el dominio de muerte, se ha identificado en las células de la granulosa durante las primeras etapas de atresia y Fas ligando se ha detectado en el ovocito de los folículos atrésicos (Kaipia y Hsueh, 1997).

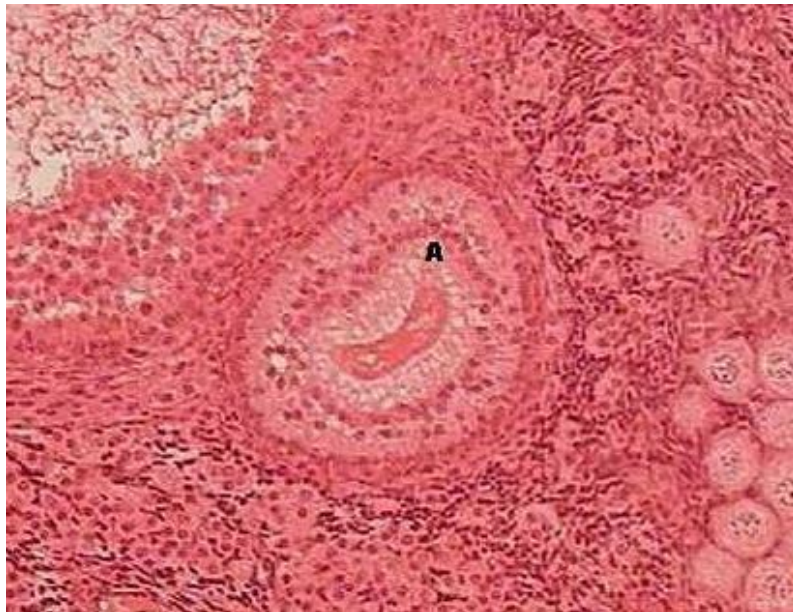


Figura 8. Se muestra un folículo sin nucléolo (folículo atrésico). Aumento de 100x (tomada de http://minerva.ufpel.edu.br/~mgrheing/cd_histologia/especial/ovario.htm; consultada el 3 de marzo de 2015).

2.3. Ovulación

La ovulación es un proceso biológico que comienza cuando las hormonas gonadotrópicas estimulan a los folículos ováricos maduros y termina cuando los folículos se rompen y liberan los ovocitos en el oviducto (Lawrence y JoAnne, 2006).

Antiguamente se explicaba la ruptura del folículo como una simple consecuencia del aumento de la presión interior, y que el ovocito era proyectado hacia afuera a manera de explosión (De Alba, 1964); sin embargo, actualmente se sabe que es una compleja red de interacciones entre el ovocito, las células de la granulosa, de la teca, la hipófisis y el hipotálamo (Rajkovic *et al.*, 2006).



La ovulación comprende tres procesos fisiológicos: la finalización de la división de maduración del ovocito; cambios en la pared del folículo que lleva a su ruptura; y los cambios en el modo de contacto entre las células de la granulosa seguido por su transformación en células luteales (Tsafriri y Kraicer, 1972).

El pico preovulatorio de gonadotropinas induce una reacción inflamatoria aguda que implica el estrato granuloso y las capas tecales de los folículos maduros; dicho proceso inflamatorio genera la actividad de proteasas en la granulosa y / o capas tecales de los folículos, y esta actividad proteolítica degrada matrices extracelulares en el tejido conjuntivo en el ovario. Los elementos degradados disocian y rompen la pared del folículo bajo la fuerza de una presión intrafolicular constante, lo que resulta en la liberación del complejo ovocito celular cerrado cumulus (Lawrence y JoAnne, 2006).

2.4. Luteinización

Tras la ovulación, la parte restante del folículo preovulatorio se transforma en cuerpo lúteo (Figura 9), que es una estructura endocrina transitoria altamente vascularizada que secreta P_4 ; esencial para la preparación y mantenimiento del embarazo (Rajkovic et al., 2006). La pared del cuerpo lúteo presenta pliegues y tiene células luteínicas de la granulosa y de la teca. Las células luteínicas de la granulosa son de mayor tamaño y producen principalmente P_4 , mientras que las células luteínicas de la teca son más pequeñas, pero también presentan características de las células secretoras de hormonas esteroideas; estas células secretan sobre todo P_4 y andrógenos (Cui, 2011).

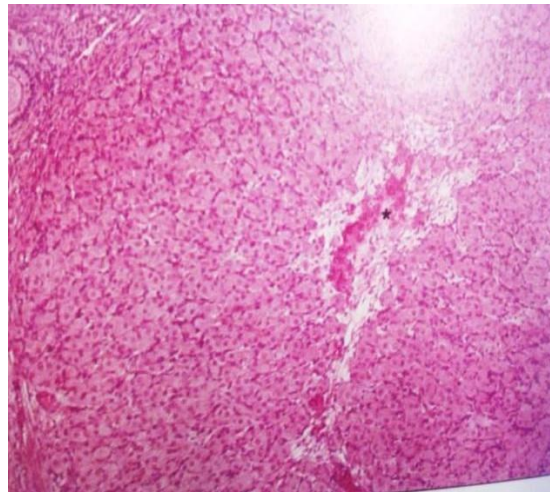


Figura 9. Cuerpo lúteo en un ovario de rata teñido con Hematoxilina-Eosina (tomada de [Boya, 1996](#)).

2.5. Síntesis de hormonas esteroides

Las hormonas esteroides producidas en el ovario son la P_4 , la testosterona y el E_2 , pero también produce pequeñas cantidades de estrona, androstendiona, 17α -hidroxiprogesterona. Estas hormonas derivan del colesterol, que se obtiene a partir de tres fuentes principales: el colesterol que circula en la sangre en forma de lipoproteínas, el que se sintetiza de novo dentro del ovario a partir de acetilcoenzima A y el que se libera de los ésteres del colesterol almacenados en las gotas lipídicas ([Tresguerres, 2010](#)).

La fuente principal de colesterol utilizado por el ovario deriva de la captación del colesterol lipoproteico, concretamente de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Existen receptores para las LDL en las células ováricas y también hay sistemas enzimáticos capaces de sintetizar el colesterol, el cual se transporta a las membranas mitocondriales donde comienza la biosíntesis de esteroides. Este proceso tiene como factor limitante la producción de pregnenolona catalizada por el enzima



desramificante del colesterol (citocromo P450 CYP desramificante), que utiliza como cofactores a la adrenoxina y flavoproteínas (Tresguerres, 2010).

En el cuerpo lúteo, la biosíntesis de esteroides sigue la vía Δ -4, que lleva aparejada la conversión de pregnenolona en P_4 gracias a la enzima 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD), mientras que en los folículos es preferente la vía Δ -5, ya que las células tecales son capaces de metabolizar más eficientemente la 17-hidroxipregnenolona que a la 17-hidroxiprogesterona (Tresguerres, 2010).

La producción de esteroides durante el ciclo estral está en función del contenido de cuatro enzimas clave, que son el CYP desramificante, la 3 β -HSD (3 beta-HSD), la CYP 17-hidroxilasa (P450 17) y la CYP 19 (P450 aromatasa) (Jácome, 2005); estas enzimas catalizan la conversión de colesterol a pregnenolona, de pregnenolona a P_4 , de P_4 a andrógenos y finalmente de andrógenos a estrógenos (Tresguerres, 2010).

El último paso en la biosíntesis de los estrógenos es la aromatización del anillo A de los andrógenos estimulado por la enzima CYP 19 (P450 aromatasa), que se localiza en grandes cantidades en las células granulosas; por lo que éstas son capaces de transformar los andrógenos en estrógenos (Tresguerres, 2010) (Figura 10).

Los estrógenos son compuestos de 18 átomos de carbono caracterizado por la presencia de un anillo A aromatizado y un grupo hidroxilo en el carbono 3, además de un grupo hidroxilo adicional o cetónico. El más importante de los estrógenos secretados por el ovario es el 17 β -Estradiol. También secreta la estrona, ésta procede fundamentalmente de la conversión extraglandular de la androstendiona



en tejidos periféricos. El estrógeno más importante en la orina es el estriol (16-hidroxiestradiol), y resulta del metabolismo de la estrona y del estradiol (Tresguerres, 2010).

Los esteroides ováricos ejercen sus acciones en los órganos diana mediante su unión a receptores específicos intracelulares, ya que gracias a su naturaleza lipofílica, penetran libremente a través de la membrana plasmática y difunden con facilidad dentro de la célula. El complejo estrógenos-receptor modifica la transcripción genética y da lugar a toda una serie de procesos bioquímicos que conducirán al efecto biológico (Tresguerres, 2010).

Se han descrito dos subtipos de receptores a estrógenos (ER), denominados ER α y ER β . En cuanto a su distribución en el organismo, el ER α se expresa en forma alta o moderada en hipófisis, riñón, epidídimo y glándulas adrenales, mientras que la expresión de ER β es alta o moderada en cerebro, próstata, pulmón y vejiga. Existe una co-expresión tanto de ER α como de ER β en hueso, testículo, ovario, útero y mama (Tresguerres, 2010).

2.6. Efectos biológicos de las hormonas ováricas

La P₄ tiene receptores fundamentalmente en el útero y en la glándula mamaria. Actúa principalmente sobre un endometrio, previamente estimulado por el E₂, durante la primera fase del ciclo (fase proliferativa), para prepararlo para la nidación. Disminuye la amplitud y la frecuencia de las contracciones uterinas, y el útero reduce su sensibilidad al estímulo contráctil de la oxitocina. Disminuye la frecuencia de la pulsatilidad de la LH, sin afectar a la FSH. Estimula el desarrollo final de los



lobulillos y alvéolos de la glándula mamaria durante el embarazo (Tresguerres, 2010). A nivel de hipotalámico estimula la liberación de la GnRH (Yen, 2001).

Los estrógenos ejercen sus funciones al unirse a receptores intracelulares y regular la transcripción de genes específicos (Yen, 2001).

Se ha demostrado que el área preóptica y la región ventromedial del hipotálamo son zonas cerebrales con mayor concentración de receptores de estrógenos; así como en zonas cerebrales dotadas de potentes conexiones con éste: como la amígdala, los núcleos septales, el lecho nuclear de la estría terminal, la parte medial del núcleo del tracto solitario y la porción lateral del núcleo parabrancial. En las regiones hipotalámicas del cerebro, los estrógenos inducen a receptores específicos de la progesterona, como el área preóptica, los núcleos ventromedial y ventrolateral y el núcleo infundíbulo-arcuato (Kronenberg, 2009).

Los estrógenos en el ovario ejercen una variedad de acciones fundamentales, tanto en las células de la granulosa, como en las células tecointersticiales; en las primeras promueven la división celular y desencadenan el efecto antiatrésico; además desempeña un papel clave en la inducción de la formación del antro y en el aumento del contenido de receptores de estrógenos; promueven el crecimiento ovárico, la formación de los receptores de la LH y la FSH y el incremento de la actividad de la aromatasa; la capacidad de los estrógenos de aumentar la actividad de la enzima aromatasa responsable de su propia formación explica el aumento preovulatorio exponencial de las concentraciones circulantes de estradiol. (Yen, 2001).

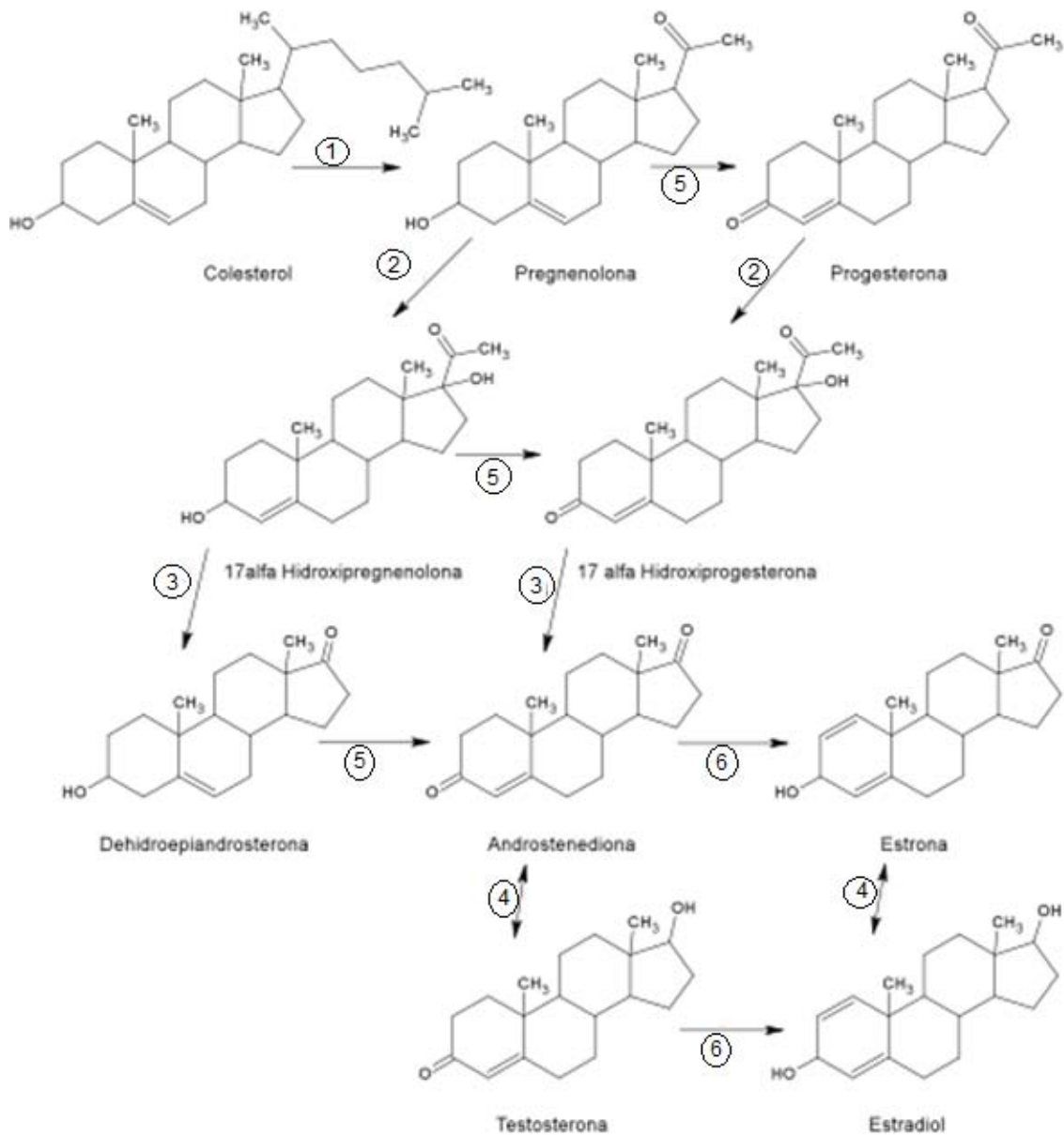


Figura 10. Síntesis de hormonas esteroides gonadales. (1) CYP11A1, (2) CYP17-hidroxilasa, (3) 17,20-liasa, (4) 17- β -OH-esteroide-deshidrogenasa, (5) 3 β -ol-deshidrogenasa y δ 4-5 isomerasa, (6) CYP19-aromatasa; (tomada de <https://cientificosas.files.wordpress.com/2011/10/colesterol.png> consultada el 18 de Noviembre del 2015).



También incrementan el flujo uterino, hipertrofian las fibras uterinas por incremento de las proteínas contráctiles e incrementan la excitabilidad uterina aumentando la frecuencia de los potenciales de acción de las fibras musculares individuales. Los estrógenos estimulan la secreción de angiotensinógeno y de la proteína fijadora de tiroxina que de algún modo reflejan el efecto anabólico de proteínas que caracteriza a los estrógenos. Estimulan la conducta sexual en los animales en la etapa de estro y la libido en el varón, a través de un efecto estimulante directo sobre las neuronas hipotalámicas (Loza *et al.*, 1995).

Además estimulan las células endometriales para que produzcan moléculas receptoras para otra hormona, la P_4 , como preparación para los acontecimientos que tienen lugar después de la ovulación; en el parto estimulan las células musculares lisas del miometrio para que secreten conexinas y receptores para la hormona oxitocina, éstas permiten que la actividad eléctrica generada en el músculo liso se propague para que todo el miometrio se contraiga en forma coordinada (Hill y Wyse, 2006).

La Inhibina es una sustancia peptídica heterodimérica, constituida por las cadenas α y β unidas por puentes de disulfuro. En el ovario se produce fundamentalmente en las células de la granulosa, por lo que los folículos más grandes producen más, pero también se sintetiza en las células luteínicas (Tresguerres, 2010).

Existen dos clases de inhibina: la A y la B. En los folículos ováricos predomina la inhibina A, que estimula la producción de andrógenos por las células tecales y pueden también ser un potente inhibidor de la proliferación celular ovárica (Tresguerres, 2010). La inhibina B se observa predominante en el suero durante el Diestro-1 del ciclo estral de la rata y su función es la inhibición selectiva de la expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de la subunidad β de la FSH (Andreone *et al.*, 2009).



La activina, hormona de naturaleza proteica, estimula la secreción de FSH por las células gonadotropas de la adenohipófisis. En las primeras fases del desarrollo folicular, las concentraciones de activina son mayores y van disminuyendo conforme avanza la foliculogénesis, a la vez que se incrementa la secreción de la inhibina y folistatina (Tresguerres, 2010).

La Folistatina es una proteína monocatenaria que actúa de la misma manera que la inhibina, ligando la activina, con lo cual disminuye la acción biológica de esta última (Tresguerres, 2010).

Las concentraciones de las gonadotropinas y las de las hormonas esteroides en suero, cambian con base en la hora y la etapa del ciclo estral. Por tanto, a continuación se describe su perfil de secreción y los cambios que se presentan en el epitelio vaginal de la rata a lo largo del ciclo.

3. CICLO ESTRAL

El término ciclo estral se refiere al evento fisiológico rítmico que se observa en todos los mamíferos (excepto en algunos primates) en el cual existen periodos regulares, pero limitados de receptividad sexual (llamados estro); y son característicos de cada especie. Un intervalo cíclico se define como el tiempo a partir del inicio de un periodo de receptividad sexual al siguiente o como el intervalo entre ovulaciones sucesivas (Swenson y Reece, 1999).



Los términos que se utilizan para la descripción del ciclo estral se crearon originalmente para describir las distintas fases del ciclo observadas en animales como cobayos, ratas y ratones (Swenson y Reece, 1999).

La duración del ciclo difiere notablemente de una especie a otra en los animales domésticos y suele ser constante dentro de cada especie y raza, aunque con oscilaciones entre cada individuo (Caravaca, 2005).

En la mayoría de las especies, la ovulación tiene lugar de manera espontánea, sin que sea necesario el apareamiento, mientras que en otras (como la coneja y gata), la ovulación es inducida o provocada, es decir, es necesario que sean cubiertas por el macho para que se produzca la ovulación (Caravaca, 2005).

En el ciclo estral se distinguen dos fases, una fase folicular o estrogénica y una fase luteínica; que constituye dos tercios de la duración total del ciclo estral. La fase folicular consta a su vez de dos fases: Proestro y Estro; y la fase luteínica de otras dos: Metaestro (o Diestro-1) y Diestro (o Diestro-2) (Caravaca, 2005).

Con respecto a la ciclicidad de las ratas, se sabe que aquellos animales que muestran un solo ciclo consecutivo de cuatro días de duración, la probabilidad de que el ciclo subsecuente tenga una duración de cuatro días es de un 70%; la probabilidad después de dos ciclos es de 94% y la probabilidad después de tres ciclos es de 92% (Tsafri y Kraicer, 1972).

La fase de **Estro** es el periodo de celo en el que la hembra presenta los patrones de conducta sexual característicos (lordosis). La hembra permite el acercamiento, la monta por el macho y la cópula con él. Como la ovulación ha

sucedido pocas horas antes, los óvulos se encuentran en el oviducto y el folículo que ha liberado el ovocito comienza a estructurarse como cuerpo lúteo, mientras tanto, una nueva serie de folículos primarios comienzan a desarrollarse. En la mucosa vaginal se encuentran numerosas mitosis que desplazan a las capas más superficiales (epitelio escamoso y cornificado) que son exfoliadas a la luz de la vagina (Figura 11). La presencia de estas células en el frotis vaginal es indicativa de Estro y señal probable de ovulación (Tresguerres, 2003).

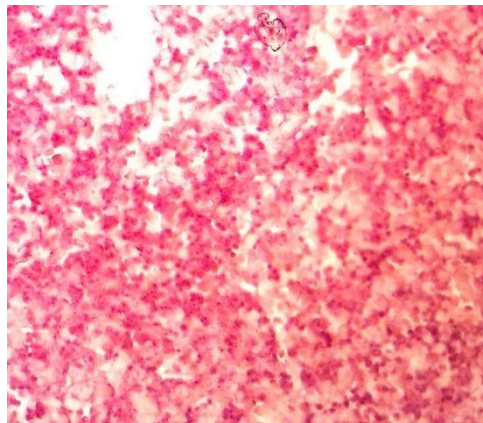


Figura 11. Células epiteliales de la vagina de la rata, donde se muestra la estructura cornificada. Células teñidas con Hematoxilina Eosina; aumento a 10X.

Las horas en la que la hembra presenta la etapa de Estro se encuentran bajo la influencia de los estrógenos y la P_4 (Thornton y Finn, 1999). La P_4 y el E_2 se secretan en concentraciones basales. En la madrugada del Estro se observa una elevación en la concentración de la FSH (Figura 12), que se debe a la disminución de la secreción de inhibina. Dicho aumento estimula el crecimiento folicular de un nuevo grupo de folículos (Freeman, 2006).

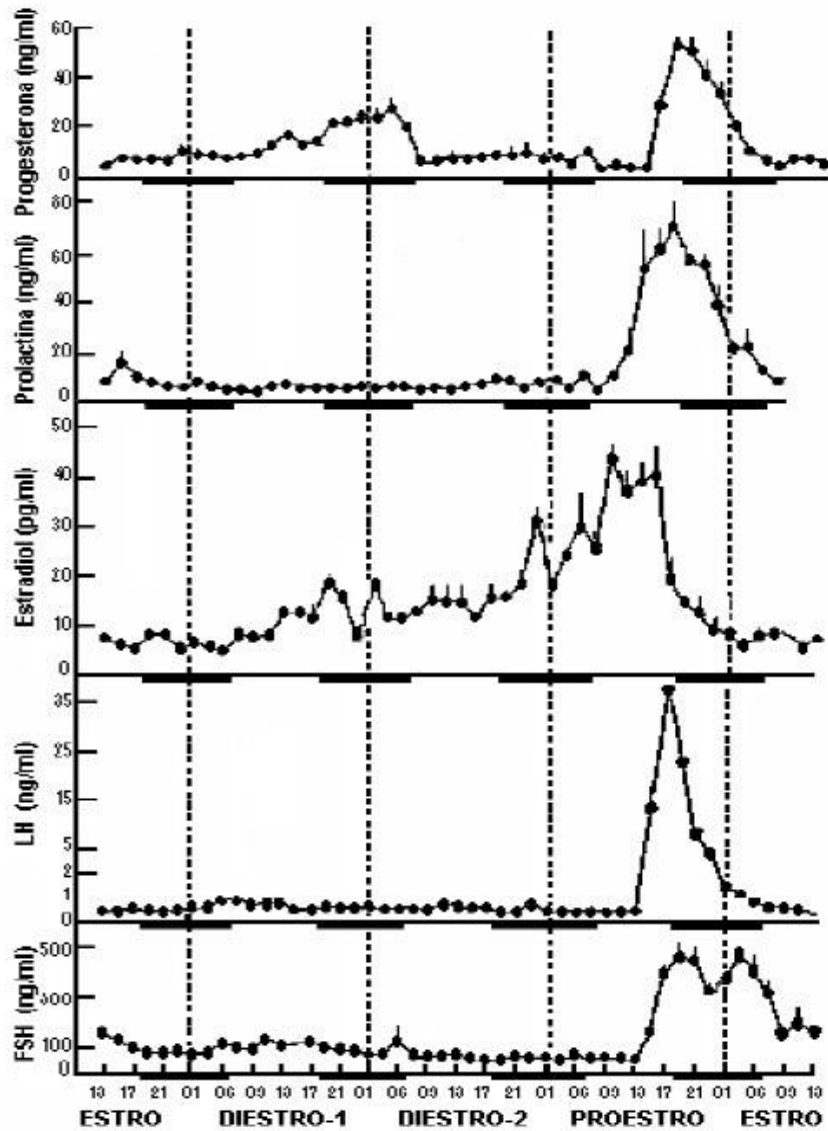


Figura 12. Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH) durante los 4 días del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el periodo de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 – 6:00 h) (tomada de [Freeman, 2006](#)).

En **Diestro-1**, la mucosa vaginal entra en regresión y es invadida por leucocitos; en el frotis del epitelio vaginal también se observan células queratinizadas (Figura 13) (Caravaca, 2005).

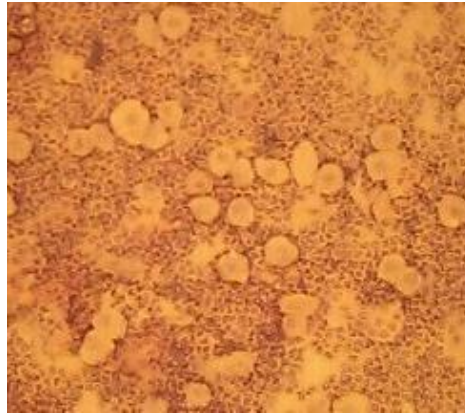


Figura 13. Células epiteliales de la vagina de la rata donde se muestra la presencia de abundantes leucocitos. Citología teñida mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina; aumento a 10X.

Las concentraciones de E₂ comienzan a elevarse en las últimas horas del Diestro-1. Se presentan dos picos de secreción de la 20 α - hidroxiprogesterona (20 α -OH-progesterona) y de la P₄ en la vena ovárica durante el ciclo; el primer pico de P₄ ocurre durante la tarde y ambos esteroides probablemente se elevan durante formación del cuerpo lúteo. En este día, las gonadotropinas se secretan en concentraciones basales (Figura 12) (Freeman, 2006).

En **Diestro-2**, la mucosa vaginal es muy delgada y los leucocitos que emigran a través de ella constituyen la mayor parte de las células del frotis vaginal; también se encuentran células epiteliales nucleadas (Figura 14) (Caravaca, 2005). En este día predomina la influencia de la P₄ luteínica sobre las estructuras sexuales accesorias. El Diestro-2 se califica a menudo como la fase del cuerpo amarillo (McDonald, 1983).



Siempre y cuando no haya fecundación, durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo Lúteo (luteólisis), que se produce por la insensibilidad del cuerpo lúteo a la LH secretada por la adenohipófisis. Cuando hay fecundación, el cuerpo lúteo estimula la secreción de prolactina (PRL) (fase luteotrófica) (Hoar y Hickman, 1978). Las concentraciones de E_2 se elevan en las primeras horas de esta etapa (Figura 12) (Freeman, 2006).

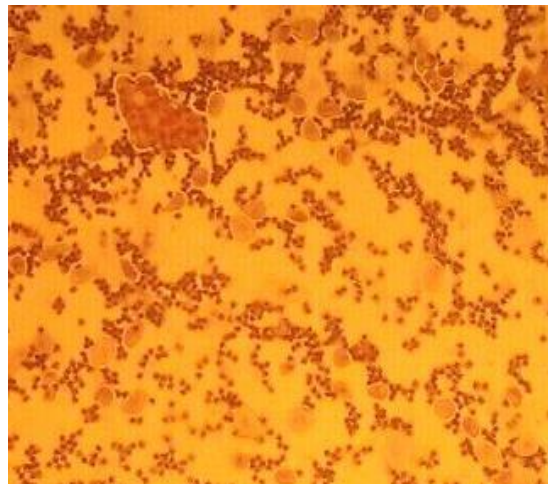


Figura 14. Células epiteliales de la vagina de la rata, donde se muestra la presencia de leucocitos. Citología teñida mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina; aumento a 10X.

En el Proestro, la células de la mucosa vaginal se dividen repetidamente por numerosas mitosis y en el epitelio vaginal aparecen células epiteliales nucleadas (Figura 15) (Rodríguez, 1993).

Los folículos han adquirido el tamaño preovulatorio y secretan grandes cantidades de E_2 . Este esteroide ejerce un efecto estimulante (retroalimentación positiva) sobre la secreción de gonadotropinas. La LH estimula la ovulación y la luteinización del folículo postovulatorio. El útero, por acción del E_2 , se hace



extremadamente contráctil. La cópula sólo es permitida en el Proestro tardío con el comienzo de la fase de oscuridad. En esta etapa involucre el cuerpo lúteo y por lo tanto disminuyen las concentraciones de P_4 en suero. La FSH estimula el crecimiento del folículo y aumentan las concentraciones de E_2 que conducen al Estro (Mc Donald, 1983).

Las concentraciones de E_2 aumentan desde el Proestro temprano, alcanzan su máxima concentración en la tarde de esta etapa y después llegan a concentraciones basales por la noche. Las concentraciones de ambas gonadotropinas presentan su máxima secreción alrededor de las 17:00 h y disminuyen en la noche de la misma etapa. Las concentraciones de P_4 se encuentran basales en la mañana del Proestro, pero alrededor de las 13:00 h aumentan hasta alcanzar un máximo en la noche del Proestro y disminuyen hacia la madrugada del Estro (Figura 11) (Freeman, 2006).

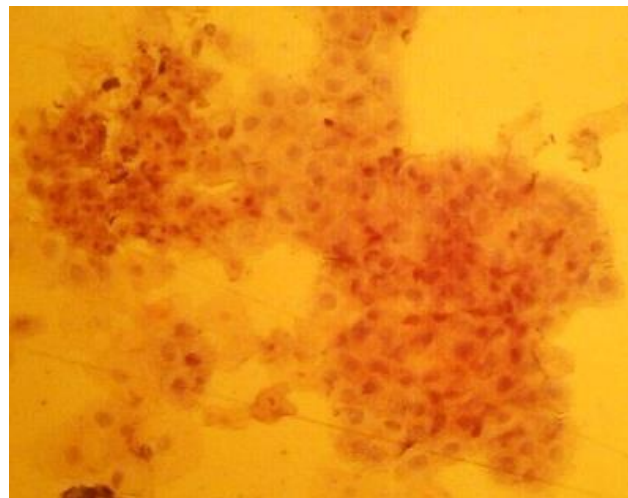


Figura 15. Células epiteliales de la vagina de la rata donde se muestra la presencia de células nucleadas características de la etapa del Proestro. Citología teñida mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina; aumento a 10X.

La testosterona (17- β -hidroxi-4-androsteno-3-ona) es secretada por los testículos, los ovarios y la corteza adrenal. Su nombre se deriva del griego andros, varón, y gennao,



producir; ya que la gónada masculina fue el sitio donde por primera vez se identificaron estos compuestos. En las ratas con ciclo estral de 4 días, la concentración de testosterona y androstenediona en el plasma periférico es similar a la de estradiol (Loza *et al.*, 1995).

4. ASIMETRÍA OVÁRICA

Existen evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. El término asimetría funcional hace referencia a las diferentes respuestas que presentan el órgano derecho y el izquierdo ante el mismo estímulo.

Las diferencias entre los órganos derecho e izquierdo pueden observarse en humanos y en los animales silvestres. También se ponen de manifiesto en condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a ciertos procedimientos experimentales (Domínguez *et al.*, 2003).

La información disponible en la actualidad claramente indica que la asimetría es un rasgo de la naturaleza y existe desde el nivel de las partículas elementales hasta en las complejas funciones de los organismos; tal es el caso de las gónadas en las que el ovario derecho se desarrolla antes que el de la izquierda (Gerendai y Halász, 1977).

Existen estudios que sugieren una contribución neural directa al control endocrino y además una diferencia funcional en las dos mitades del hipotálamo en la regulación neuroendocrina (Nance *et al.*, 1984).



El ovario derecho se desarrolla más temprano que el izquierdo (Domínguez *et al.*, 2003).

En los mamíferos poliovulantes también se observan diferencias en la capacidad ovulatoria por el ovario izquierdo y derecho; el ovario derecho de los ratones produce más ovocitos que el izquierdo, mientras que el ovario izquierdo de las ratas libera en promedio seis ovocitos y el ovario derecho libera sólo cuatro (Domínguez *et al.*, 2003).

Los tumores que se acompañan de hiperaldosterismo son más frecuentes en la adrenal izquierda que en la derecha, mientras que los tumores adrenales que resultan de la aparición del síndrome de Cushing son más frecuentes en la adrenal derecha (Gerendai y Halász, 1997).

5. GLÁNDULAS ADRENALES

Las funciones de los ovarios no sólo son reguladas por la información que proviene del hipotálamo y la hipófisis, ya que se tienen evidencias de que la información que proviene de las adrenales también modula la acción de las gonadotropinas en los diferentes compartimientos de las gónadas.

Las glándulas adrenales son órganos pares que están situadas inmediatamente por encima de los riñones (Fox, 2011) y están constituidas por dos tejidos: esteroideogénico y cromafín (Estrada y Uribe, 2002). Cada adrenal consta de corteza (localizada en la parte externa) y médula (en la parte interna) recubiertas por una cápsula de tejido conectivo. Las diferencias de la función de la corteza y la médula



adrenal se relacionan con las disimilitudes en su origen embrionario. La médula adrenal se deriva del ectodermo de la cresta neural embrionaria, mientras que la corteza adrenal se deriva del mesodermo (Fox, 2011).

5.1. Corteza adrenal

La corteza se divide de tres zonas: zona glomerular, zona fascicular, y zona reticular (Figuras 16 y 17). La corteza adrenal secreta hormonas esteroideas llamadas corticosteroides, o corticoides; como una contracción de la palabra. Hay tres categorías funcionales de corticosteroides: los mineralocorticoides, los glucocorticoides y los esteroideas sexuales como la progesterona y la testosterona (Fox, 2011).

Los mineralocorticoides se producen en la zona glomerular y estimulan a los riñones para que retengan Na^+ y agua, mientras que excretan K^+ en la orina. La aldosterona es el mineralocorticoide más potente. Estas acciones ayudan a incrementar el volumen sanguíneo y la presión arterial, y a regular el equilibrio de electrolitos en la sangre (Fox, 2011).

Los glucocorticoides tienen efectos sobre el metabolismo de la glucosa; estimulan la gluconeogénesis, inhiben la utilización de glucosa en sangre, promueven la lipólisis y la liberación consiguiente de ácidos grasos libres hacia la sangre. El glucocorticoide que predomina es el cortisol (hidrocortisona), que se secreta en la zona fascicular y quizá también en la zona reticular (Fox, 2011).

Las funciones de las adrenales son reguladas por el hipotálamo y la hipófisis (Figura 18). El estrés activa al eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, lo que supone el aumento en la secreción de la hormona liberadora de la corticotropina (CRH), la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) y los corticoides. La CRH inhibe la secreción de la GnRH y los glucocorticoides inhiben la secreción de la LH hipofisaria y la secreción de la progesterona y los estrógenos ováricos (Kalantaridou *et al.*, 2004).

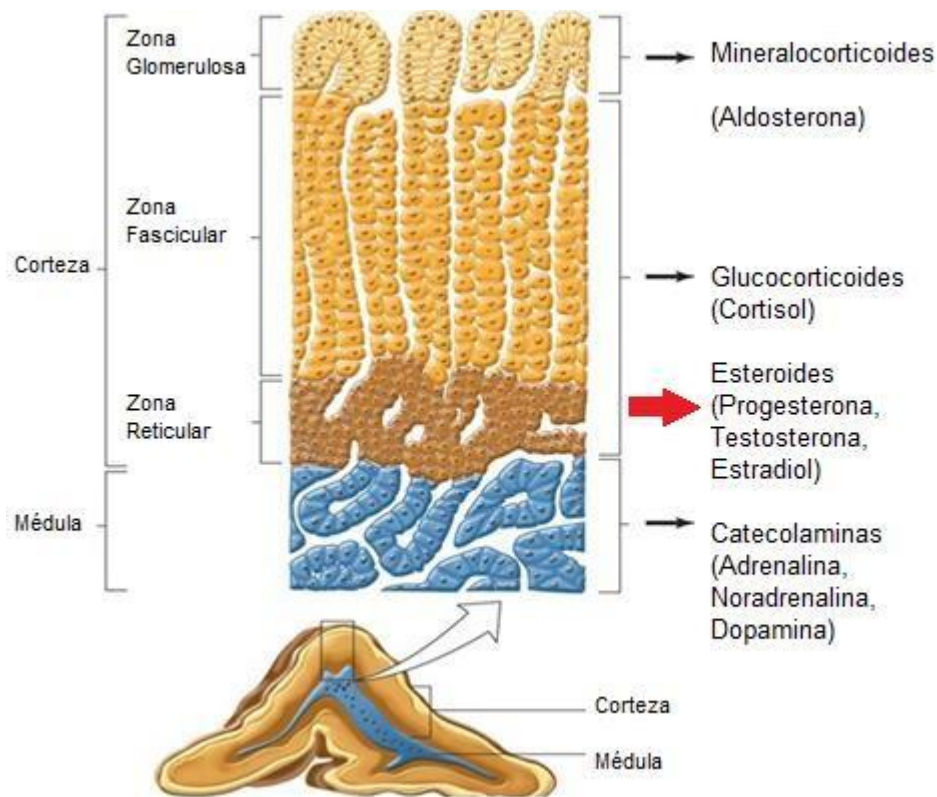


Figura 16. Corte longitudinal de una glándula adrenal donde se muestran sus diferentes secciones, corteza y médula, y las hormonas que sintetizan (modificada de Barret *et al.*, 2013).

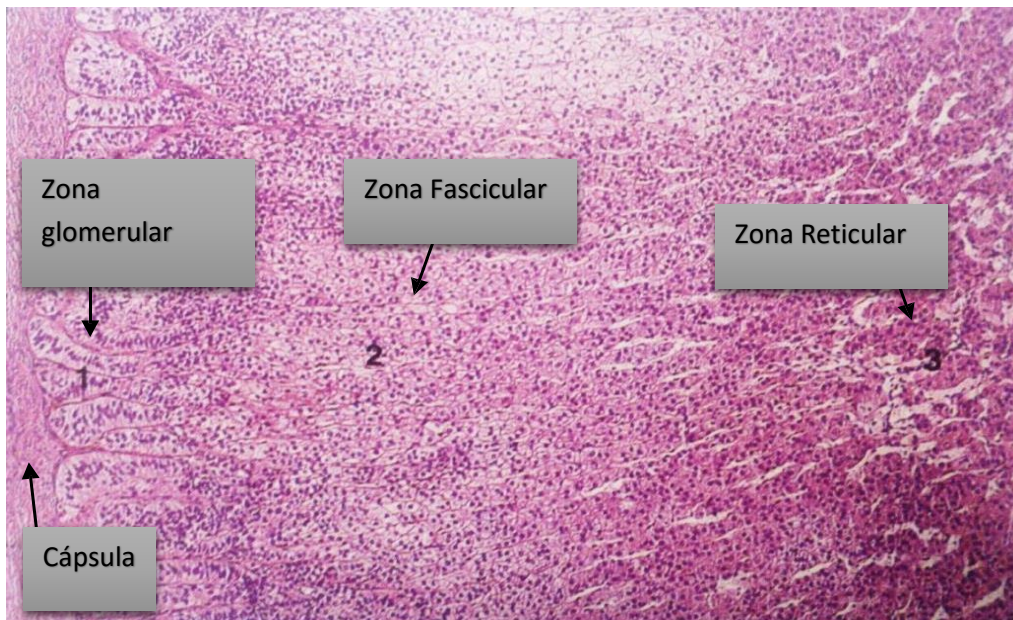


Figura 17. Corte histológico longitudinal de una glándula adrenal donde se muestran las diferentes secciones y las zonas de la corteza (tomada de [Boya, 1996](#)).

Con base en estudios clínicos y experimentales se sabe que la CRH es un mediador de las respuestas endocrinas, autonómicas, conductuales e inmunológicas relacionadas con el estrés ([Yen et al., 2001](#)). Se trata de un péptido de 41 aminoácidos: Ser-Glu-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Ala-Arg-Ala-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH₂ (MW 4757.5) y es idéntica en el hombre y en la rata ([Arimura, 2000](#); [Yen et al., 2001](#)). La mayor parte de las terminales nerviosas que contienen CRH en la eminencia media y el tallo hipofisiario provienen de las neuronas de la porción parvocelular del núcleo paraventricular ([Arimura, 2000](#); [Halász, 2000](#)). Otros núcleos que tienen células que secretan CRH se localizan en los núcleos supraóptico, medial, preóptico periventricular y premamilar del hipotálamo. Los somas celulares que contienen CRH en algunas regiones extrahipotalámicas están en el núcleo de la estría terminal y la comisura anterior, el núcleo acumbens, el núcleo del rafé, el locus coeruleus, el complejo vagal dorsal, entre otras ([Arimura, 2000](#); [Halász, 2000](#)).

La interacción de la CRH con sus receptores sobre la membrana plasmática de los corticotropos, localizados en la pars distal de la adenohipófisis, activan la adenilciclase e incrementa la concentración de AMPc y el flujo transmembranal de Ca^{2+} , lo que resulta en la estimulación de la secreción de la ACTH (Arimura, 2000). El contenido de la CRH en la eminencia media de la rata, presenta un ritmo diurno que se caracteriza por ser bajo en la mañana, incrementa gradualmente hacia la tarde y alcanza su máximo en la noche. Este ritmo se correlaciona con el ritmo diurno de la concentración de corticosterona en plasma (Arimura, 2000; Halász, 2000).

Hasta el momento se han identificado dos receptores de CRH denominados CRH-R1 y CRH-R2 (Arce *et al.*, 2006). La ACTH es un péptido de 39 aminoácidos que mantiene la estructura y el desarrollo de las adrenales, y es el estimulante inmediato de la secreción de las hormonas de las glándulas adrenales (Fox, 2011).

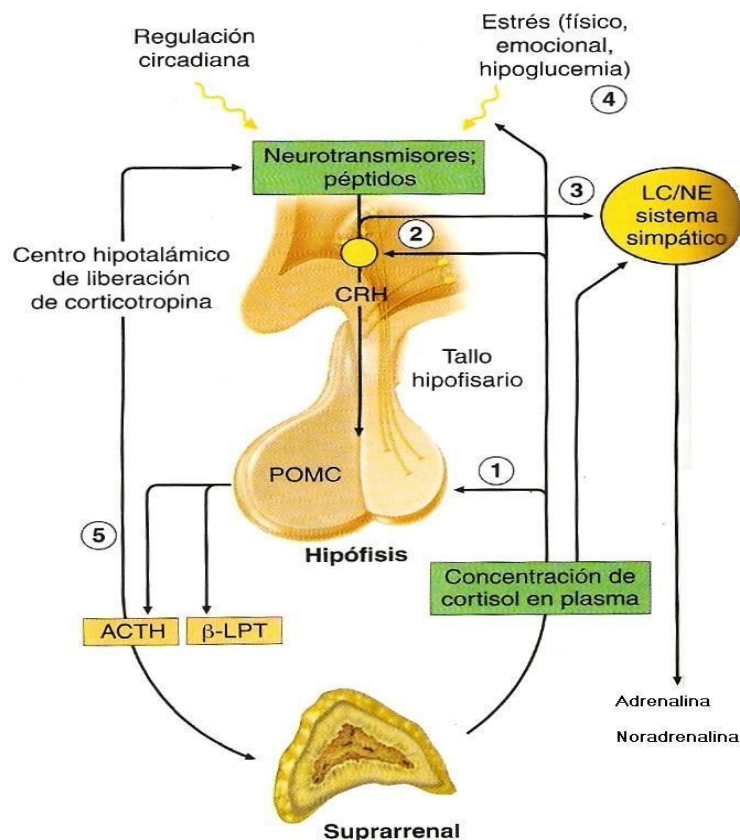


Figura 18. Eje hipotálamo – hipófisis – adrenal (tomada de Williams *et al.*, 2006).



5.1.1. Síntesis de corticosteroides

Las tres categorías de hormonas esteroides se derivan del mismo precursor, el colesterol (Figura 19). Las vías biosintéticas del colesterol divergen en las diferentes zonas de la corteza adrenal, de modo que se produce una categoría particular de corticosteroide en una zona particular de la corteza adrenal (Fox, 2011).

La corteza adrenal secreta de manera predominante esteroides C21 y C19 y la mayor parte de estos últimos tiene un grupo ceto en posición 17, por lo cual han sido llamado 17-cetoesteroides. Los esteroides C21, poseedores de un grupo hidroxilo en posición 17 además de la cadena lateral, han sido denominados 17-hidroxicorticoides o 17-hidroxicorticoesteroides (Barret *et al.*, 2013).

Los esteroides C21 tienen actividad tanto mineralocorticoide como glucocorticoide por igual, mientras que los esteroides C19 muestran actividad androgénica (Barret *et al.*, 2013).

El colesterol es el precursor de todos los esteroides. Se sintetiza a partir del acetato, pero mucho de él se capta de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la circulación. El colesterol se esterifica y almacena en gotitas lipídicas. La hidrolasa del éster de colesterol cataliza la formación de colesterol libre en las gotitas del lípido (Barret *et al.*, 2013).

El colesterol se transporta a las mitocondrias por una proteína portadora de esteroides; en ese sitio, se transforma en pregnenolona en una reacción catalizada por una enzima conocida como colesterol desmolasa o enzima de separación de la cadena lateral. Esta enzima, a semejanza de muchas que intervienen en la biosíntesis de



esteroides, es miembro de la superfamilia del citocromo P450 y también se le conoce como P450_{scc} o CYP11A1 (Barret et al., 2013).

La pregnenolona se desplaza al retículo endoplásmico liso, en el que parte de la misma es deshidrogenada para formar progesterona en una reacción catalizada por hidroxisteroide 3 β deshidrogenasa. En el retículo endoplásmico liso, también cataliza la conversión de hidroxipregnenolona 17 α y la hidroxiprogestero 17 α y de dehidroepiandrosterona en androstenediona (Figura 19). La hidroxipregnenolona 17 α y la hidroxiprogestero 17 α se forman a partir de la pregnenolona y la progesterona, respectivamente (Figura 19) por acción de la hidroxilasa 17 α ; se trata de otra enzima de P450 mitocondrial y también se conoce como P450_{c17} o CYP17. En otra parte de la misma enzima, se localiza la actividad de liasa 17,20 la cual rompe el enlace 17,20 y convierte la pregnenolona 17 α hasta formar 11-desoxicortisol; en el retículo endoplasmático liso. Tales reacciones se catalizan por la hidroxilasa 21 β , una enzima del citocromo P450, conocida también como P450_{c21} o CYP21A2 (Barret et al., 2013).

La 11-desoxicorticoesterona y el 11-desoxicortisol retornan a la mitocondria, donde son 11-hidroxilados para formar corticoesterona y cortisol; ambas reacciones se producen en las zonas fascicular y reticulada, y se catalizan por la hidroxilasa 11 β , pero si tiene otra muy similar llamada aldosterona sintasa; es una enzima del citocromo P450 y es conocida como P450_{c11AS} o CYP11B2 (Barret et al., 2013).

La zona fascicular tiene mayor actividad de hidroxisteroide 3 β deshidrogenasa, en comparación con la zona reticular y esta última posee un número mayor de los cofactores necesarios para la expresión de la actividad de 17,20-liasa de la hidroxilasa

17α. Como consecuencia, la zona fascicular produce más cortisol y corticosterona y la reticular más andrógenos (Barret *et al.*, 2013).

Gran parte de la dehidroepiandrosterona formada se convierte en su derivado sulfatado (DHEAS, dehidroepiandrosterona sulfato), por acción de la sulfocinasa adrenal, enzima hallada en la zona reticulada (Barret *et al.*, 2013).

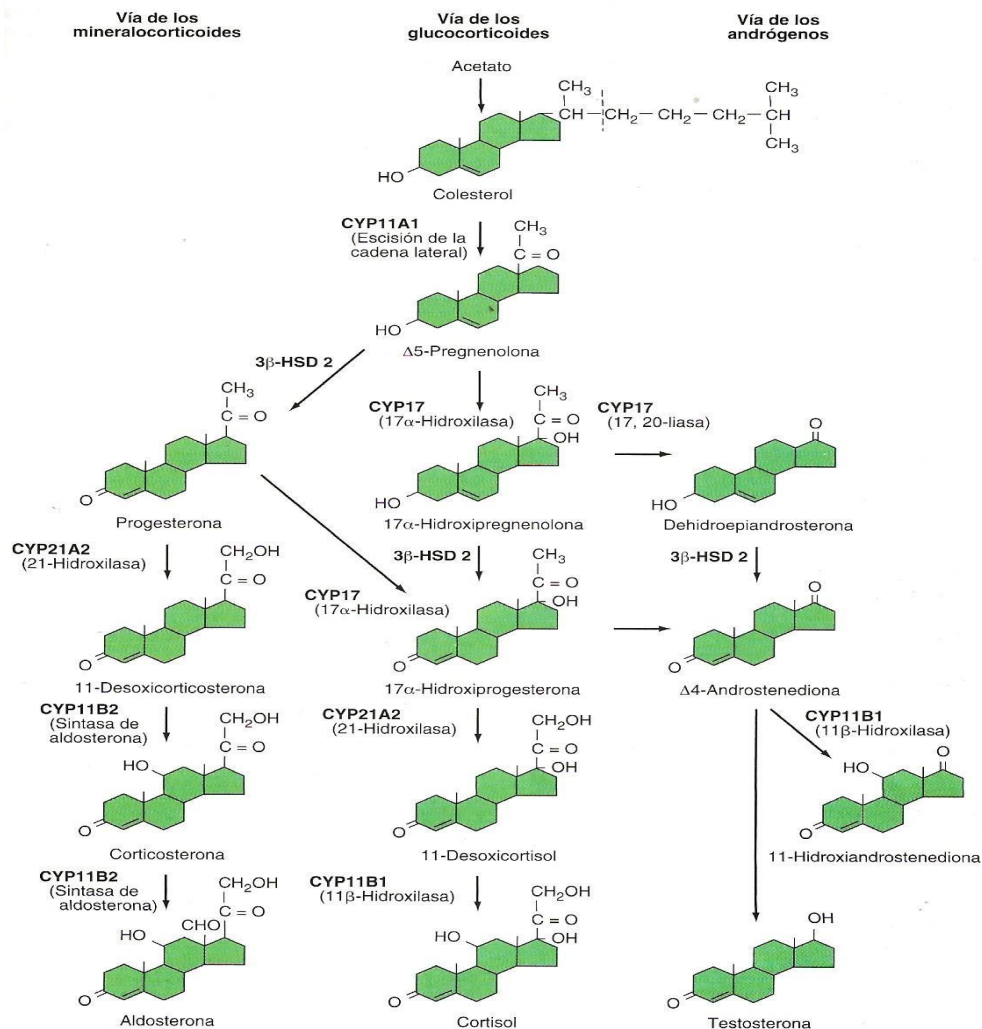


Figura 19. Biosíntesis de corticosteroides: mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos. 3β- HSD, deshidrogenasa de 3β-hidroxiesteroide (tomada de Williams *et al.*, 2006).



5.2. La médula adrenal

La médula es la porción central de la glándula adrenal y no presenta divisiones. Está compuesta por un parénquima de células grandes y pálidas, de aspecto epitelial (llamadas células cromafines), tejido conectivo, capilares sinusoides abundantes y nervios (Ross y Pawlina, 2007).

La médula adrenal de rata se compone principalmente de 2 tipos de células cromafines que se caracterizan por el tipo de almacenamiento de gránulos contenida dentro del citoplasma; los gránulos de núcleo denso contiene adrenalina y los gránulos esféricos más difusos contienen adrenalina (Parker *et al.*, 1993).

El aporte sanguíneo a la médula procede de las arterias adrenales, que irrigan también la corteza. La circulación de retorno tiene lugar por la vena adrenal del lado derecho, que drena a la cava, y la del lado izquierdo, que desemboca en la vena renal (Álvarez *et al.*, 2009).

La médula adrenal secreta las catecolaminas: dopamina, noradrenalina (o norepinefrina) y adrenalina (o epinefrina) (Figura 20) (Barret *et al.*, 2013). Dichas hormonas actúan como elementos de control metabólico para el individuo, en situaciones de emergencia como el ayuno, la excitación nerviosa y el ejercicio físico intenso (Álvarez *et al.*, 2009).

La secreción de adrenalina depende principalmente de la médula adrenal, mientras que el de la noradrenalina se produce en mayor proporción por las neuronas simpáticas posganglionares (Álvarez *et al.*, 2006).

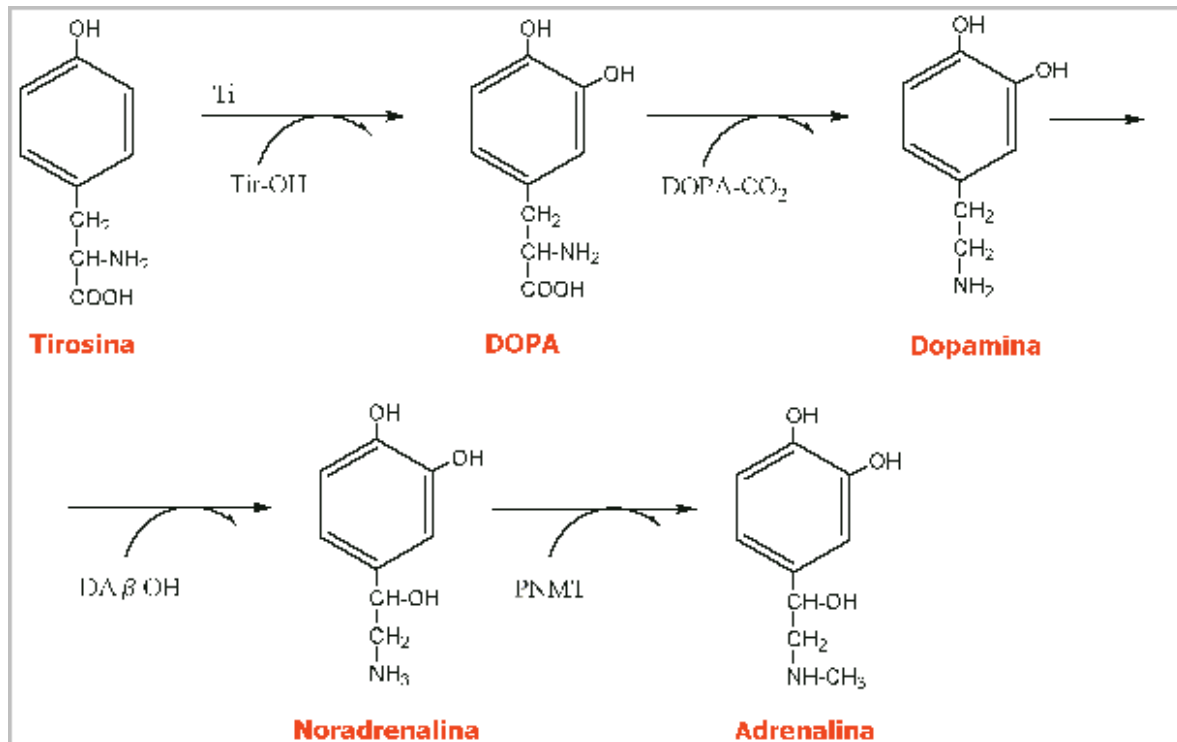


Figura 20. Síntesis de las catecolaminas (tomado de <http://www.psicofarmacos.info/?contenido=varios&farma=fentermina>; consultada el 20 de abril de 2015).

6. INERVACIÓN DE LA GLÁNDULA ADRENAL

Se ha considerado generalmente que la ACTH es el único factor que controla la secreción de las hormonas de la glándula adrenal, sin embargo existe evidencia que sugiere que los nervios también tiene un papel importante en la modulación del eje hipotálamo – hipófisis – adrenal.

En la glándula adrenal de rata se ha mostrado inervación preganglionar, posganglionar, simpática, parasimpática y sensorial (Kesse *et al.*, 1988; Mohamed *et al.*, 1988; Coupland *et al.*, 1989).



En dicha glándula la inervación surge de dos fuentes: si el conjunto de nervios tiene cuerpos celulares fuera de la glándula se define como extrínseca y el otro conjunto de nervios que tiene cuerpos celulares en la médula se define como inervación intrínseca (Vinson *et al.*, 1994).

La inervación intrínseca se compone de células ganglionares situadas ya sea bajo la cápsula o dispersas entre las células corticales y medulares. Se considera que surgen de las neuronas simpáticas que se han diferenciado de las células de la cresta neural que han emigrado al primordio cortical durante el desarrollo. Estas células ganglionares, además de ser positivas a acetilcolina (AChE), también contienen met- y leuencefalina; neuropéptidos como neuropéptido Y (NPY) y VIP inmunorreactivas y Óxido Nitroso sintasa (NO sintasa). Por tanto, estas células ganglionares pueden ser tanto la fuente de fibras postganglionares simpáticas y parasimpáticas intrínsecas de la glándula (Delarue *et al.*, 2001; Parker *et al.*, 1993; Tóth *et al.*, 1997 Vinson *et al.*, 1994).

Se ha mostrado que la mayor parte de las fibras que se proyectan a la médula son fibras colinérgicas simpáticas preganglionares que surgen predominantemente de los segmentos espinales T7-T9 (Parker *et al.*, 1993).

La generalidad de las fibras externas que se proyectan hacia la adrenal es través de los nervios espláncnicos. Después de penetrar la cápsula se ramifican para formar una amplia red subcapsular; de aquí fibras pasan a la corteza y a la médula para formar nuevas redes que rodean las células de estas regiones. La inervación intrínseca surge de las células ganglionares distribuidas por toda la glándula en regiones subcapsular, cortical y medular (Parker *et al.*, 1993).



Se ha esclarecido el tema sobre la presencia de inervación en la corteza adrenal a partir de estudios fisiológicos y bioquímicos tanto in vivo como in vitro (Holzwarth *et al.*, 1987); fibras noradrenérgicas simpáticas inervan principalmente la región subcapsular donde entran en contacto con las células adrenocorticales y los vasos sanguíneos, a su vez es atravesada por fibras simpáticas preganglionares en el camino a la médula, también axones parasimpáticos postganglionares terminan en la zona glomerular (Delarue *et al.*, 2001; Mohamed *et al.*, 2008).

Una gama de péptidos y aminas han sido identificados en los nervios que “inervan” la corteza adrenal; estos incluyen al VIP, péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), encefalina metionina, encefalina leucina, Sustancia P (SP), NPY, Galanina, catecolaminas, NO-sintasa. La mayoría de las sustancias se producen en la parte externa de la corteza y sólo rara vez son visibles en la zona fascicular o reticular, es decir que se encuentran principalmente en la región de la glándula que contiene los componentes reguladores del sistema vascular (Delarue *et al.*, 2001; Vinson *et al.*, 1994).

El 86% de la inervación aferente que inerva a la médula adrenal se originan en neuronas del ganglio de la raíz dorsal, mientras que el 14% proviene del ganglio sensorial vagal (Tóth *et al.*, 1997). Algunos nervios vagales adrenales eferentes vienen directamente del núcleo motor del vago. Otras terminales vagales han sido localizadas en los ganglios celiaco y suprarrenal (Gerendai y Halász, 1997; Tóth *et al.*, 2008).

Los cuerpos celulares aferentes tanto del ganglio de la raíz dorsal y los ganglios sensorial vagales que se proyectan hacia la médula adrenal, son fibras que contienen SP y sensibles a la capsaicina (Parker *et al.*, 1993; Ulrich *et al.*, 2002). Esto nos indicaría que la glándula adrenal también posee información sensorial.



Aunado a esto, Tóth y colaboradores en 2008 realizaron estudios utilizando la técnica del doble etiquetado del virus de la pseudorabia en los que mostraron neuronas marcadas en los núcleos caudales del rafe, el grupo celular noradrenérgico A5, el núcleo paraventricular del hipotálamo, el hipotálamo lateral, además de núcleos vagales como el núcleo del tracto solitario y el núcleo motor dorsal del vago, lo que nos indica una vía de comunicación directa de la glándula adrenal con el SNC.

7. REGULACIÓN ENDOCRINA DE LAS FUNCIONES DE LOS OVARIOS Y DE LAS ADRENALES

La información que proviene de las adrenales también forma parte de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, lo que depende del día del ciclo estral y la hora en la cual se realiza el estudio.

Peppler y Jacobs en 1976 y 1980, mostraron que la adrenalectomía bilateral realizada entre las 8:00 y 12:00 h del Diestro-1 a hembras adultas de la cepa Holtzman o Sprague-Dawley resulta en disminución del número de ovocitos liberados, cuantificados un ciclo o 30 días después de la cirugía. Con base en los resultados, los autores propusieron que la información que proviene de las adrenales participa de manera estimulante sobre la liberación de ovocitos.

En nuestro equipo de trabajo, nos propusimos analizar si los resultados obtenidos por Peppler y Jacobs son semejantes a lo observado en los animales que sólo mantuviesen una de las adrenales *in situ*, y si los resultados eran dependientes o no de la hora del día y de la etapa del ciclo estral en que se estudiaron.



Pimentel en 2011, mostró que en ratas de la cepa CIIZV la adrenalectomía bilateral realizada a las 13:00 h en las etapas del Diestro-1, Proestro o Estro resulta en la disminución de la tasa de animales ovulantes (TAO); sin alteraciones en el número de ovocitos liberados. En contraste, los animales con adrenalectomía unilateral realizada en cualquier etapa del ciclo estral no presentaron cambios en la TAO o la cuota ovulatoria. La adrenalectomía derecha realizada en el día de Estro resultó en el aumento del peso de la adrenal izquierda en comparación a la del grupo con laparotomía. Aunado a ello, en los animales con adrenalectomía bilateral realizada en el día de Diestro-1, el peso del útero fue mayor que el del grupo de animales con laparotomía; la adrenalectomía uni o bilateral, no modificó el peso corporal, de los ovarios y las adrenales en comparación con lo registrado en los animales con laparotomía.

Con base en esos resultados, la autora sugirió que: 1) las adrenales estimulan el proceso de la ovulación, 2) que es suficiente la presencia de una adrenal para que el proceso de ovulación se produzca de manera normal y, 3) que la capacidad compensatoria de la adrenal izquierda es mayor que la de la derecha.

Gutiérrez y colaboradores (2015) mostraron que a las 15:00 h la adrenalectomía izquierda (Adx-I) realizada en Diestro-2 resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho sin afectar la TAO, mientras que cuando la cirugía se realizó en la etapa del Proestro se observó la disminución de la TAO por el ovario ipsilateral y del número de ovocitos liberados por ambos ovarios. Por lo que los autores concluyeron que la adrenal izquierda está más comprometida con la regulación de la ovulación durante las 15:00 h que la derecha.

Cortés y colaboradores (2014), mostraron que en ratas con adrenalectomía izquierda (Adx-I) a las 17:00 h en Estro se presentó menor porcentaje de animales



ovulantes por el ovario ipsilateral (izquierdo), lo que también sucedió cuando la adrenalectomía derecha (Adx-D) se realizó en Diestro-1. La Adx-I en la etapa de

Proestro trajo consigo menor número de ovocitos liberados por el ovario ipsilateral. Con base en ello, los autores propusieron que en la tarde, ambas adrenales participan de manera estimulante en el proceso ovulatorio del ovario izquierdo, lo que depende de la etapa del ciclo estral.

Cuando se realizó la adrenalectomía unilateral a las 19:00 h, independientemente de la glándula extirpada, se observa un decremento en el número de ovocitos liberados por los animales tratados en Estro o Diestro-1. Además de ello, cuando se realiza la Adx-I en Diestro-1 se observa bloqueo total de la ovulación. Con base en ello, los autores propusieron que por la noche, la participación de ambas adrenales sobre la regulación de la ovulación es simétrica y estimulante, que se modifica conforme progresa el ciclo estral y que en la etapa del Diestro-1 su presencia es fundamental para la regulación del desarrollo folicular (Silva *et al.*, 2013).

Con base en los antecedentes, el presente estudio tiene el objetivo de analizar la participación de una o ambas glándulas adrenales en la mañana de cada día del ciclo estral en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, ya que a la fecha se desconoce dicha información.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La falta de adrenales resulta en disminución del número de ovocitos liberados cuando este parámetro se evalúa un ciclo estral o 30 días después de la cirugía, y también se ha mostrado que la ausencia de una o ambas adrenales en la tarde del ciclo estral resulta en cambios en la ovulación; lo que depende de la adrenal *in situ*, la hora del día y día del ciclo estral en la que se realiza el estudio.

Ya que no se tiene información de la interacción de las adrenales y los ovarios en la mañana de cada etapa del ciclo estral sobre la ciclicidad y la ovulación, si estas interacciones dependen de la adrenal en estudio o si presentan un ritmo de actividad, se analizarán los efectos de la adrenalectomía unilateral o bilateral en diferentes horas de la mañana de cada día del ciclo estral de la rata adulta, sobre la ciclicidad, el porcentaje de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales.

HIPÓTESIS

Dado que la ciclicidad, la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales es regulada por las hormonas que provienen del hipotálamo, la hipófisis y las adrenales, y que la ovulación se modifica cuando se extirpan una o ambas adrenales en la tarde del ciclo estral, entonces, la extirpación de una o ambas adrenales en la mañana de cada día del ciclo estral de la rata afectará la ovulación en el Estro inmediato al día de la cirugía, lo que variará en función de la adrenal *in situ*, la hora y la etapa del ciclo estral en que se lleve a cabo el estudio.



OBJETIVO GENERAL

- Analizar la participación de las glándulas adrenales en la mañana de cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ciclicidad, la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales.

Objetivos particulares

- Analizar si las interacciones entre los ovarios y las adrenales sobre la ciclicidad, la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales dependen de la adrenal *in situ* y de la etapa del ciclo estral en estudio.
- Analizar si las interacciones entre los ovarios y las adrenales varían con base en la hora del día.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra, adultas, vírgenes de tres meses de edad, de la cepa CIIZ-V, mantenida en condiciones controladas de luz-obscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y al alimento.

Con el fin de monitorear su ciclo estral se les realizó frotis vaginal diariamente, y sólo se utilizaron aquellos que presentaron, al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días: Estro, Diestro-1, Diestro-2 y Proestro.



DISEÑO EXPERIMENTAL (n=7)

Analizar si las interacciones entre los ovarios y las adrenales sobre la ciclicidad, la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales dependen de la adrenal *in situ*, la hora del día y la etapa del ciclo estral en estudio.

Con el fin de analizar si la ciclicidad, la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y la adrenal *in situ* dependen de la adrenal en estudio, en cada una de las etapas del ciclo estral un grupo de ratas fue anestesiado con éter y posteriormente se realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal, aproximadamente 1 cm por debajo de la última costilla, para cortar piel, músculo y peritoneo (laparotomía ventral). Posterior a ello, se procedió a mover hígado, estómago y bazo para localizar la glándula adrenal izquierda y extirparla (Adrenalectomía Izquierda = Adx-I); en otro grupo de ratas con laparotomía ventral se movió el hígado para localizar la glándula adrenal derecha y enseguida fue extirpada (Adrenalectomía Derecha = Adx-D); y en un tercer grupo de ratas se extirpó primero la adrenal izquierda y enseguida la adrenal derecha (Adrenalectomía Bilateral = Adx-B).

Como grupos control se utilizaron:

- ✓ **Grupo de Intactos (I):** ratas cíclicas intactas fueron sacrificadas en el día del estro vaginal a las 7:00, 9:00 u 11:00 h para conocer el porcentaje de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados por cada ovario, y la masa de los ovarios, el útero y las adrenales.

- ✓ **Grupo de animales con Laparotomía (L):** en cada una de las etapas del ciclo estral un grupo de ratas fue anestesiado con éter y se realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal, aproximadamente 1 cm por debajo de la última costilla, para cortar piel, músculo y peritoneo; sin tocar los órganos. Una vez



Realizada la laparotomía se procedió a suturar la herida por planos. Se utilizó alcohol yodado como antiséptico.

Analizar si las interacciones entre los ovarios y las adrenales varían con base en la hora del día.

Para llevar a cabo el segundo objetivo, las operaciones mencionadas en el objetivo particular anterior, se llevaron a cabo a las 7:00, 9:00 u 11:00 h.

Procedimiento en autopsia

Después de haber realizado las diferentes cirugías, la toma de frotis vaginales se reinició un día después de la cirugía, con el fin de conocer si se presentan alteraciones en la ciclicidad. Cuando los animales estuvieron en estro vaginal fueron pesados y sacrificados por decapitación en la misma hora en que fueron operados.

En los oviductos (izquierdo y derecho) se verificó la presencia de ovocitos con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Los resultados del número de ovocitos se expresaron como los correspondientes a cada ovario o como totales (los liberados por el ovario izquierdo [OI] más los del derecho [OD]). Con este resultado se calculó el porcentaje de animales ovulantes (PAO).

Se disecaron los ovarios, el útero y las adrenales, y se pesaron en balanza de precisión (0.0001 mg). El peso de los órganos se expresó en miligramos por 100 gramos de masa corporal (mg/100 g M.C.).



Los resultados del número de ovocitos liberados y la masa de los órganos fueron expresados como la media más menos el error estándar de la media (Media \pm e.e.m.).

La hipertrofia compensadora fue calculada con el valor promedio de la adrenal en estudio del grupo de animales con laparotomía, menos el valor promedio de la adrenal *in situ* del grupo de animales en estudio, entre el valor promedio de la adrenal en estudio del grupo de animales con laparotomía por 100.

Análisis estadístico

El número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn, el número de animales ovulantes y la ciclicidad por la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Los resultados de la masa corporal y de los órganos se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando fue necesario comparar los resultados de dos grupos se utilizó la prueba “t” de Student. En todos los casos, se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad sea menor o igual al 5%.



RESULTADOS

RESULTADOS DE LAS 7:00 h



CIRUGÍAS REALIZADAS A LAS 7:00 h

Animales Intactos

En los animales intactos, el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue similar al del ovario derecho (Cuadro 1). De igual forma, la masa de los ovarios y las adrenales del lado izquierdo es semejante a la del lado derecho (Cuadro 2).

Cuadro 1. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos a las 7:00 h en el día del estro vaginal.

Grupo	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	100	6.1 \pm 0.8	100	5.0 \pm 0.5	100	11.1 \pm 0.9

PAO: Porcentaje de animales ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho.

Cuadro 2.- Media \pm e.e.m. de la masa corporal y la de los órganos en animales intactos a las 7:00 h del estro vaginal.

Grupo Intacto	n	MC	OI	OD	OI+OD
		(g)	mg/100g M.C.		
	7	252.9 \pm 12.5	15.0 \pm 0.9	14.0 \pm 1.1	29.0 \pm 1.7
U		AI	AD	AI+AD	
mg/100g M.C.					
		128.6 \pm 7.8	12.2 \pm 0.5	11.9 \pm 0.6	24.1 \pm 1.1

MC: Masa corporal, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, U: Útero, AI: Adrenal izquierda, AD: Adrenal derecha.



Animales con Laparotomía

La laparotomía ventral realizada en cada etapa del ciclo estral no alteró el porcentaje de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados respecto a la del grupo de animales intactos (Cuadro 3).

Cuadro 3.- Porcentaje de animales y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos o con laparotomía ventral a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	E	100	6.1 \pm 0.8	100	5.0 \pm 0.5	100	11.1 \pm 0.9
Laparotomía		100	3.4 \pm 1.1	100	6.1 \pm 1.2	100	9.6 \pm 1.3
Laparotomía	D1	100	4.7 \pm 0.9	100	4.0 \pm 0.6	100	7.6 \pm 1.4
Laparotomía	D2	100	4.4 \pm 0.6	100	5.9 \pm 1.0	100	10.3 \pm 1.2
Laparotomía	P	100	7.4 \pm 0.9	100	5.3 \pm 1.2	100	12.0 \pm 1.1

PAO: Porcentaje de Animales Ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, E: Estro, D1: Diestro-1, D2: Diestro-2, P: Proestro.

La laparotomía ventral en los diferentes días del ciclo estral no afectó la masa corporal, ni la ciclicidad respecto a la de los animales intactos (Cuadro 4).



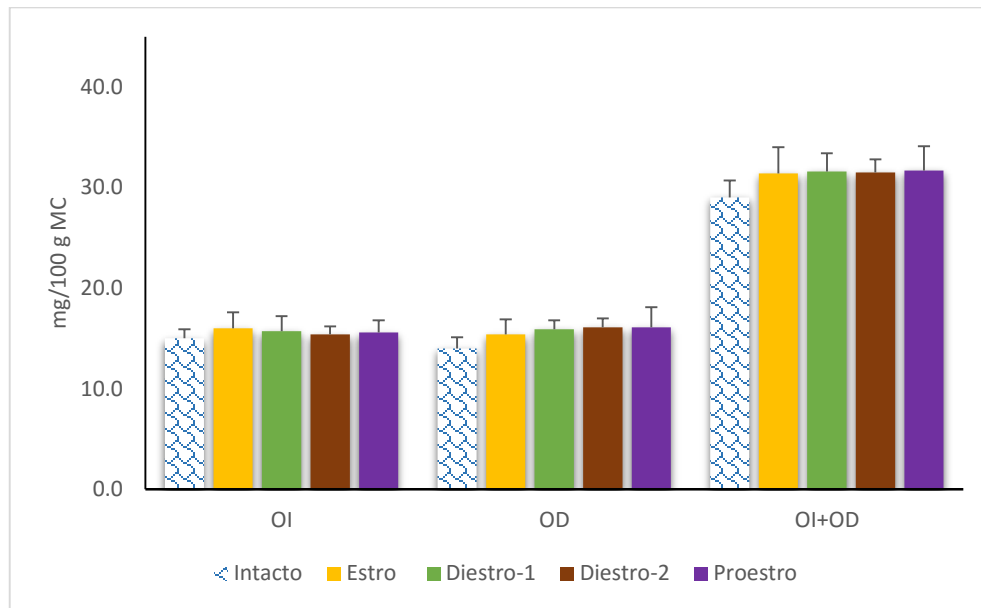
Cuadro 4.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal intactos o con laparotomía ventral a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el día del estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	n	MC	AC
			(g)	
Intacto	E	7	252.9 \pm 12.5	7/7
Laparotomía		7	235.1 \pm 6.2	7/7
Laparotomía	D1	7	242.7 \pm 7.2	7/7
Laparotomía	D2	7	237.9 \pm 5.8	7/7
Laparotomía	P	7	238 \pm 6.7	7/7

MC: Masa corporal, AC: animales cíclicos, E: Estro, D1: Diestro-1, D2: Diestro 2, P: Proestro.

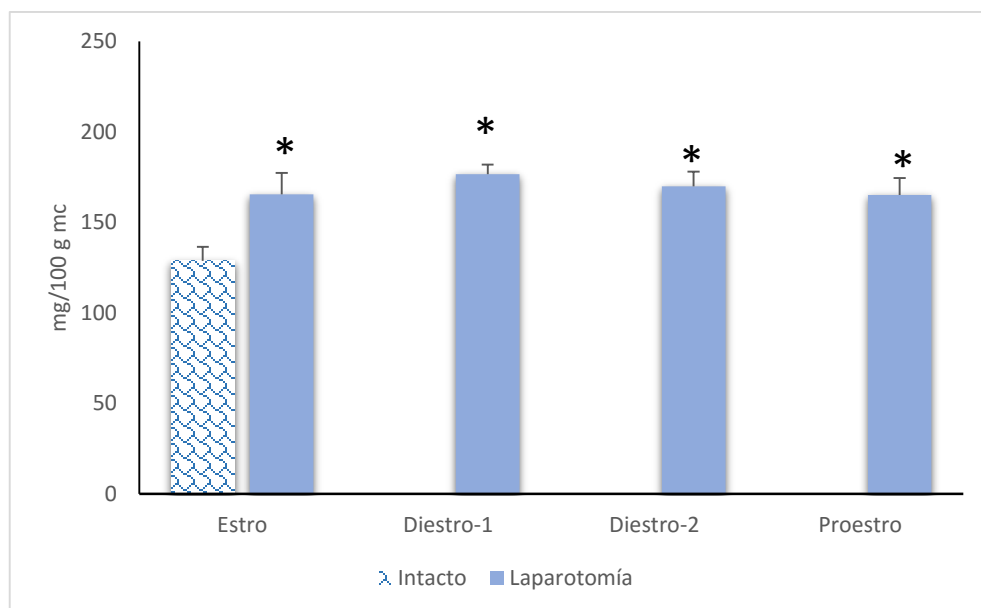
La laparotomía ventral no modificó la masa ovárica en ninguna de las etapas en que fue realizada la cirugía (Gráfica 1); sin embargo resultó en el aumento de la masa del útero, independientemente de la etapa del ciclo estral (Gráfica 2). Esta respuesta se acompañó de aumento en la masa de la adrenal izquierda cuando la laparotomía se realizó en Diestro-2, lo que conllevó a un aumento en la masa adrenal; respecto a la del grupo de animales intactos (Gráfica 3).

Masa de los ovarios



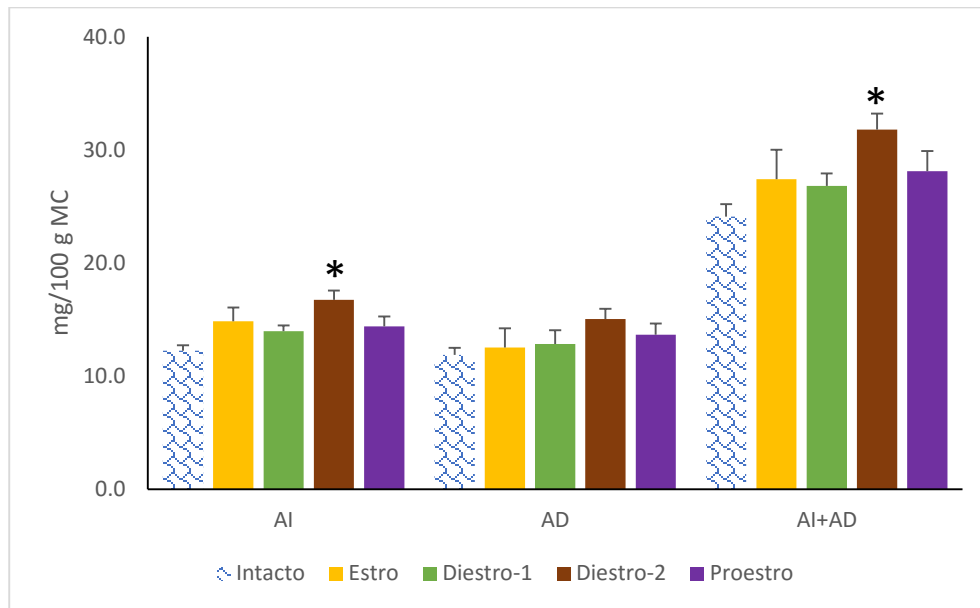
Gráfica 1. Media \pm e.e.m. de la masa de los ovarios en animales con laparotomía a las 7:00 h durante el ciclo estral. OI: ovario izquierdo, OD: ovario derecho.

Masa del útero



Gráfica 2. Media \pm e.e.m. de la masa del útero en animales con laparotomía a las 7:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Intacto (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa de Adrenales

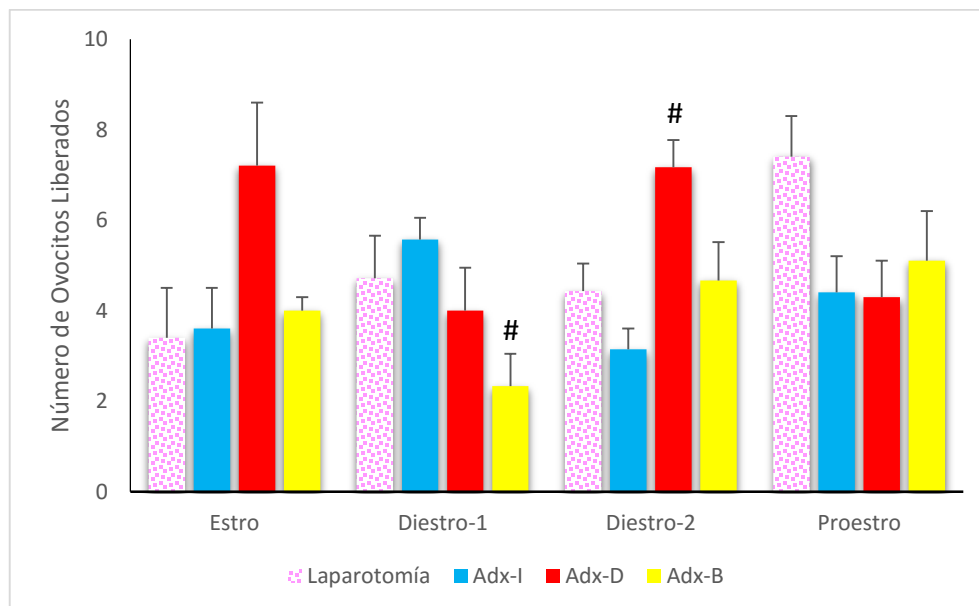
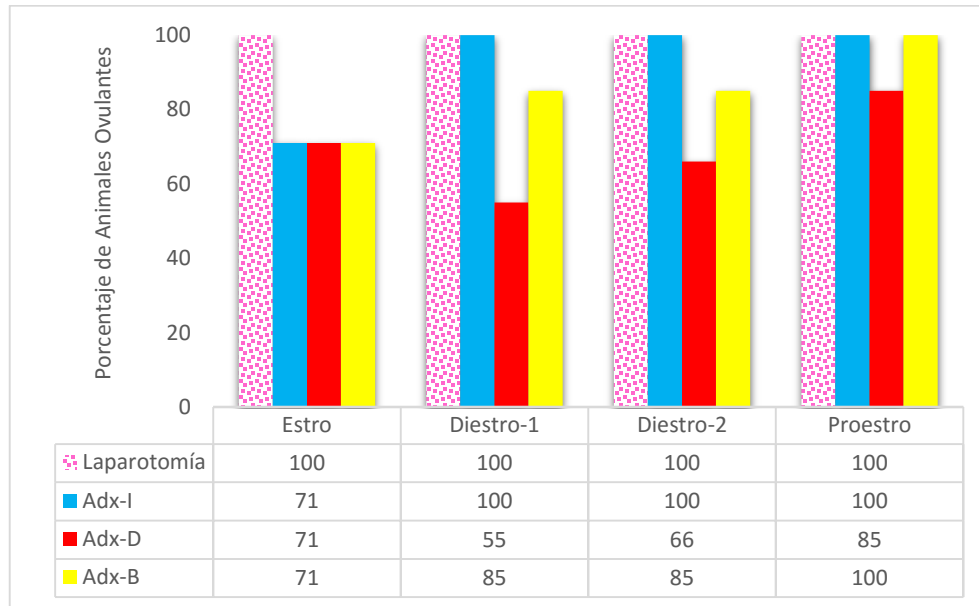


Gráfica 3. Media \pm e.e.m. de la masa de adrenales en animales con laparotomía a las 7:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Intacto (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). AI: Adrenal Izquierda, AD: Adrenal Derecha.

Animales con adrenalectomía unilateral o bilateral

En los animales que se les extirpó la adrenal izquierda (adrenal derecha *in situ*) no se alteró el PAO, ni el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (Gráfica 4), derecho (Gráfica 5) o de ambos ovarios (Gráfica 6). En contraste, en aquellos que se les extirpó la adrenal derecha en el día de Diestro-2 se observó aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo al ser comparada con la del grupo con adrenalectomía izquierda (Gráfica 4). La adrenalectomía bilateral en la etapa del Diestro-1 resultó en la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo con respecto al tratamiento de adrenalectomía izquierda (Gráfica 4).

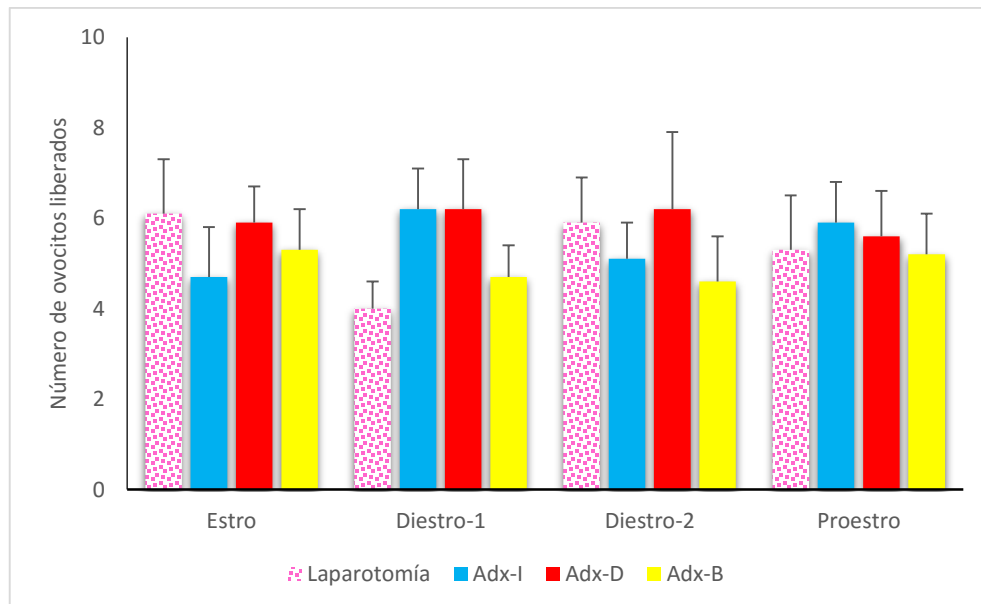
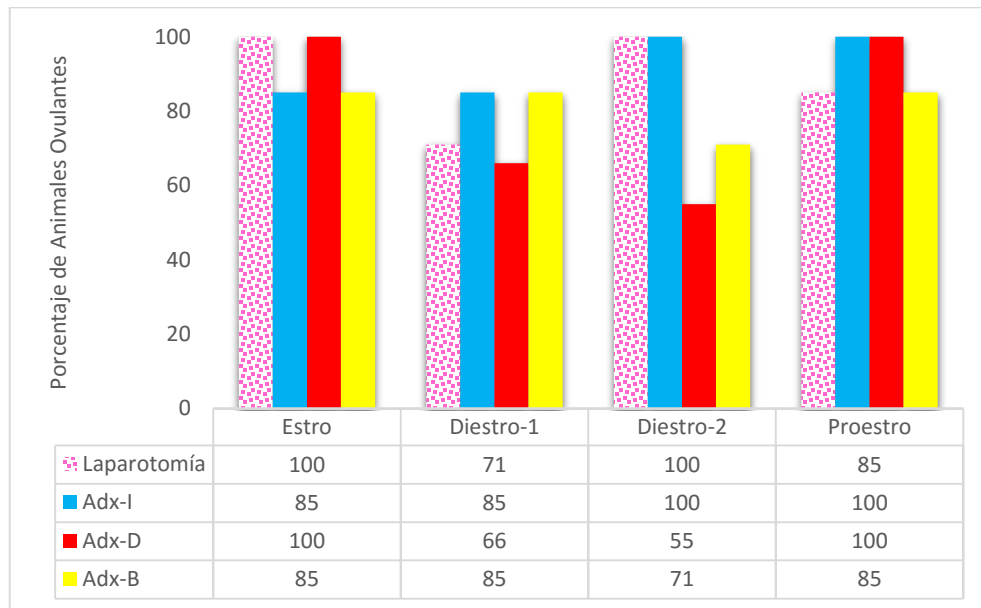
Ovario izquierdo



Gráfica 4. Porcentaje de animales ovulantes y Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el **ovario izquierdo** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral. # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).



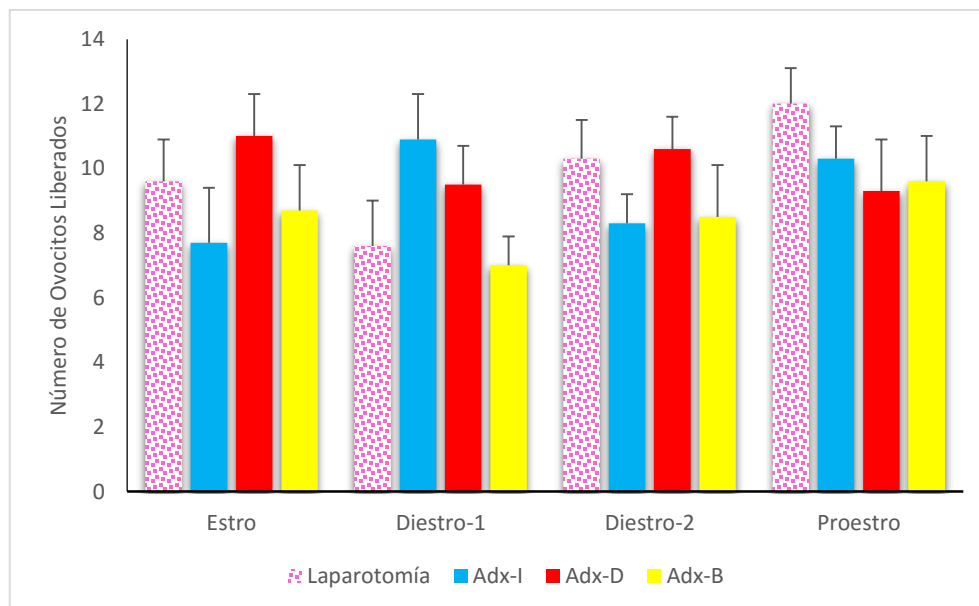
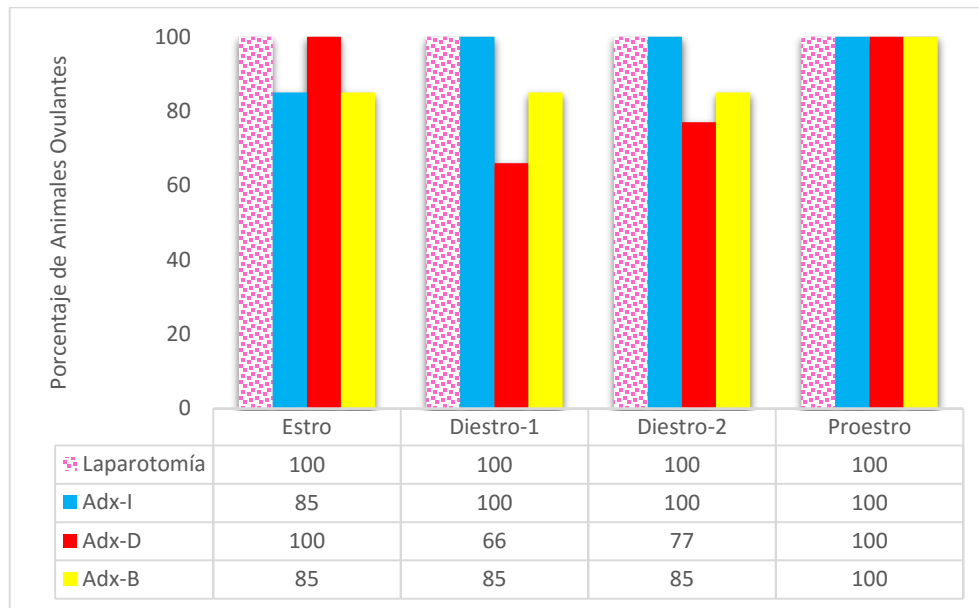
Ovario derecho



Gráfica 5. Porcentaje de animales ovulantes y Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario derecho en animales con adrenalectomía a las 7:00 h durante el ciclo estral.



Ambos ovarios



Gráfica 6. Porcentaje de animales ovulantes y Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por **ambos ovarios** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral.



La masa corporal y la ciclicidad de los animales tratados no se vieron afectadas en ninguna de las etapas del ciclo estral por ninguno de las cirugías (Cuadro 5).

Cuadro 5.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal en animales con Laparotomía o adrenalectomía a las 7:00 n en cada etapa del ciclo estral.

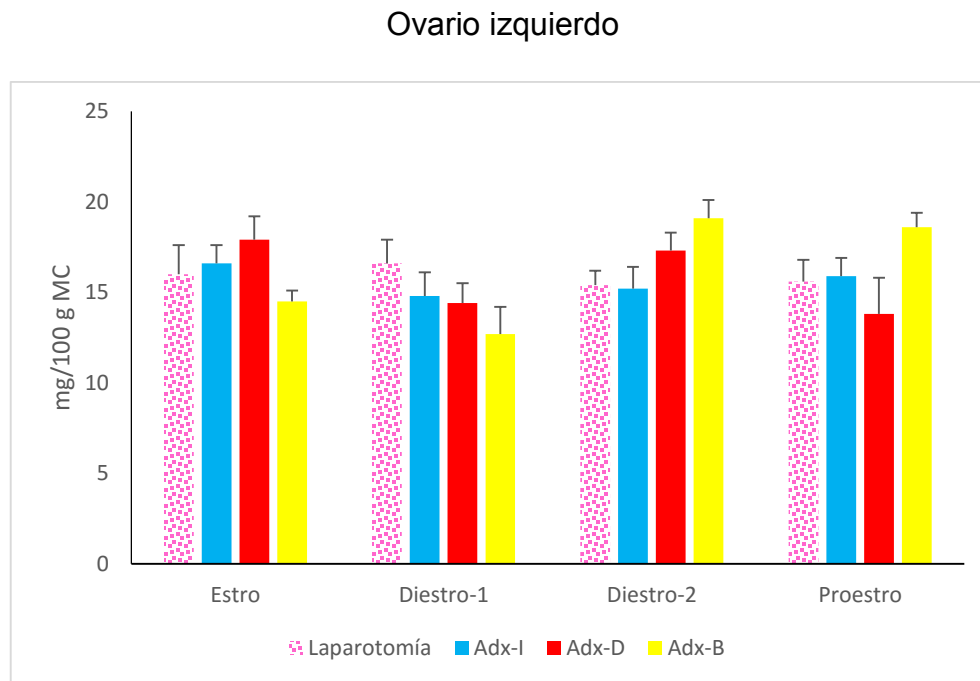
TRATAMIENTO	ETAPA	n	MC	AC
Laparotomía	E	7	235.1 \pm 6.2	7/7
Adx-I		7	249.9 \pm 7.1	7/7
Adx-D		7	257.6 \pm 8.4	5/7
Adx-B		7	241.6 \pm 9.5	7/7
Laparotomía	D1	7	242.7 \pm 7.2	7/7
Adx-I		7	237.3 \pm 6.4	5/7
Adx-D		9	244.6 \pm 7.3	8/9
Adx-B		7	233.1 \pm 5.0	6/7
Laparotomía	D2	7	237.9 \pm 5.8	7/7
Adx-I		7	234.1 \pm 7.6	7/7
Adx-D		9	234.6 \pm 2.7	9/9
Adx-B		7	222.7 \pm 6.4	7/7
Laparotomía	P	7	238 \pm 6.7	7/7
Adx-I		7	237.4 \pm 8.5	7/7
Adx-D		7	258 \pm 4.5	7/7
Adx-B		7	213.9 \pm 6.4	7/7

MC: masa corporal, AC: animales cíclicos, Adx-I: Adrenalectomía Izquierda, Adx-D: Adrenalectomía Derecha, Adx-B: Adrenalectomía Bilateral, E: Estro, D1: Diestro 1, D2: Diestro 2, P: Proestro.

Las ratas con adrenalectomía bilateral en Diestro-2 presentaron aumento en la masa del ovario derecho lo que se acompañó de aumento en la masa ovárica, respecto a la del grupo con adrenalectomía izquierda o derecha. La extirpación de ambas adrenales en Proestro resultó en aumento en la masa del ovario derecho y la masa ovárica con respecto al grupo con adrenalectomía derecha (Gráfica 8 y 9).

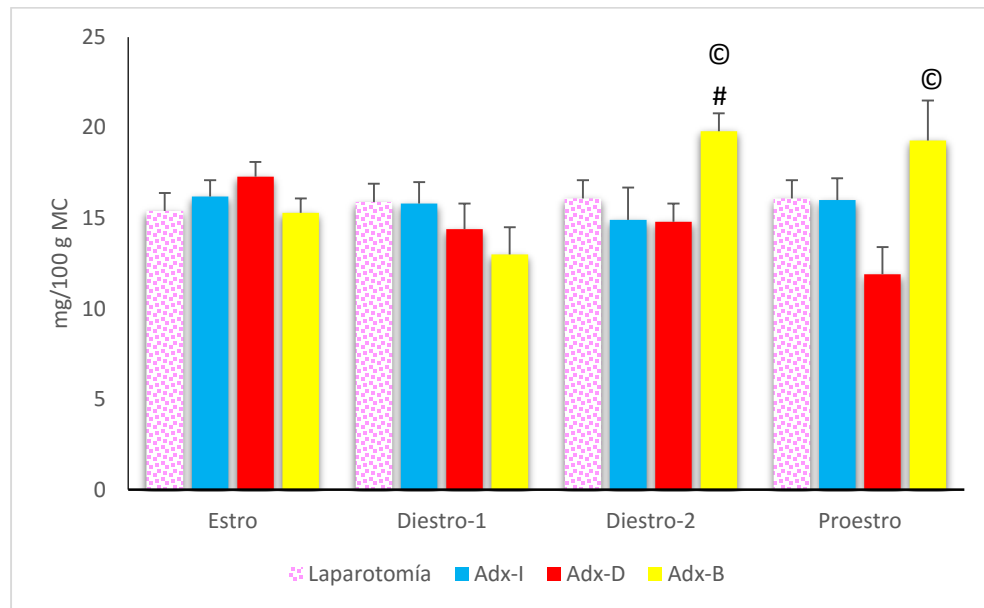
Estas cirugías no resultaron en alteraciones en la masa del útero respecto al de la laparotomía (Gráfica 10).

En los animales con adrenalectomía derecha en Estro se observó aumento de la masa de la adrenal derecha *in situ*; con una hipertrofia del 54% respecto a la del grupo con laparotomía (Gráfica 11). La adrenalectomía izquierda en la etapa de D-1 resultó en un aumento de la adrenal remanente comparado contra la laparotomía; con una hipertrofia del 39% (Gráfica 12).



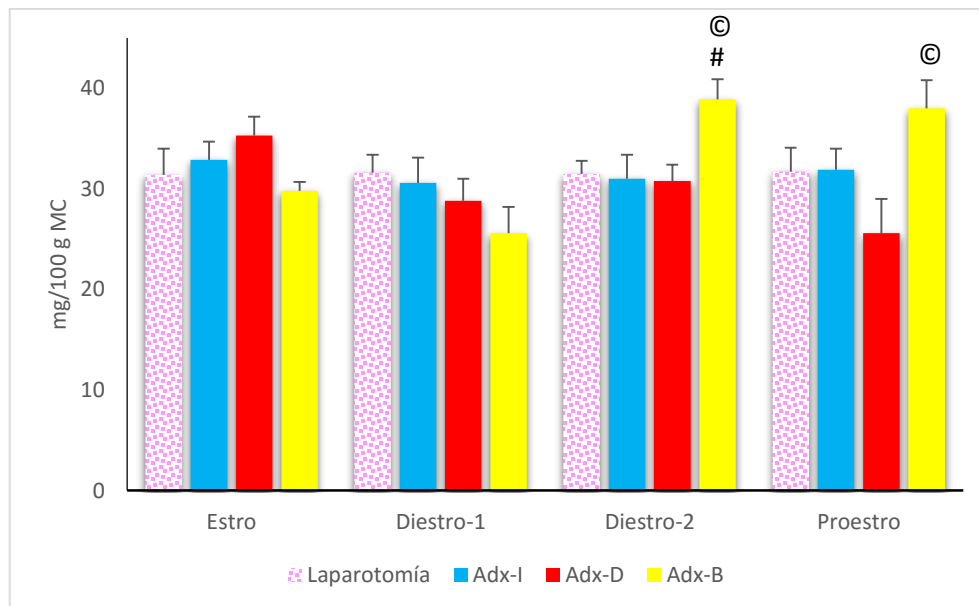
Gráfica 7. Media \pm e.e.m. de la masa del **ovario izquierdo** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral.

Ovario derecho

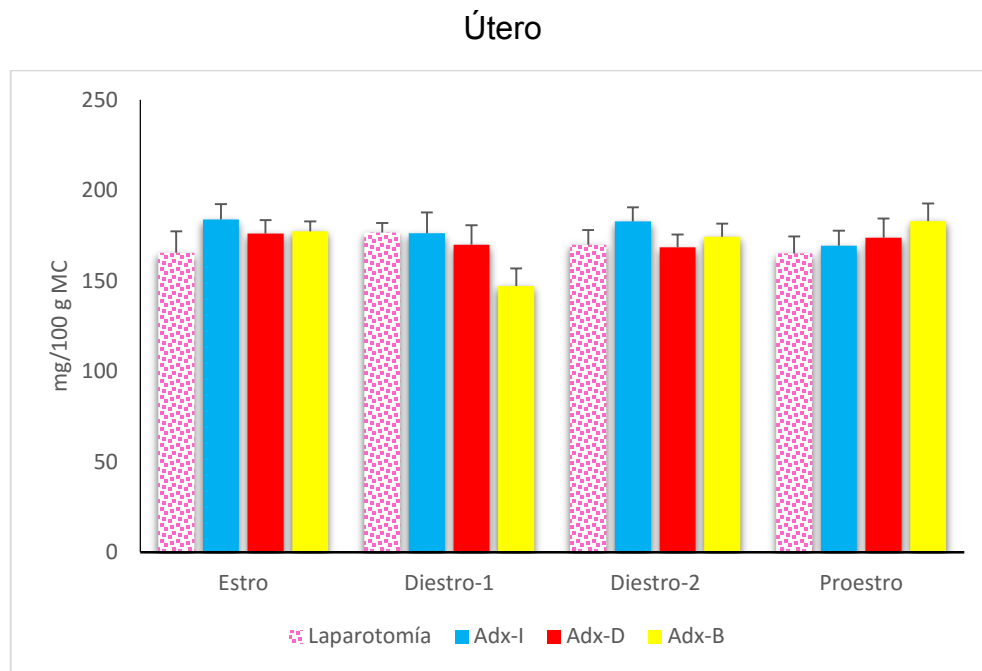


Gráfica 8. Media \pm e.e.m. de la masa del **ovario derecho** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral. . # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey), © $p \leq 0.05$ vs. Adx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

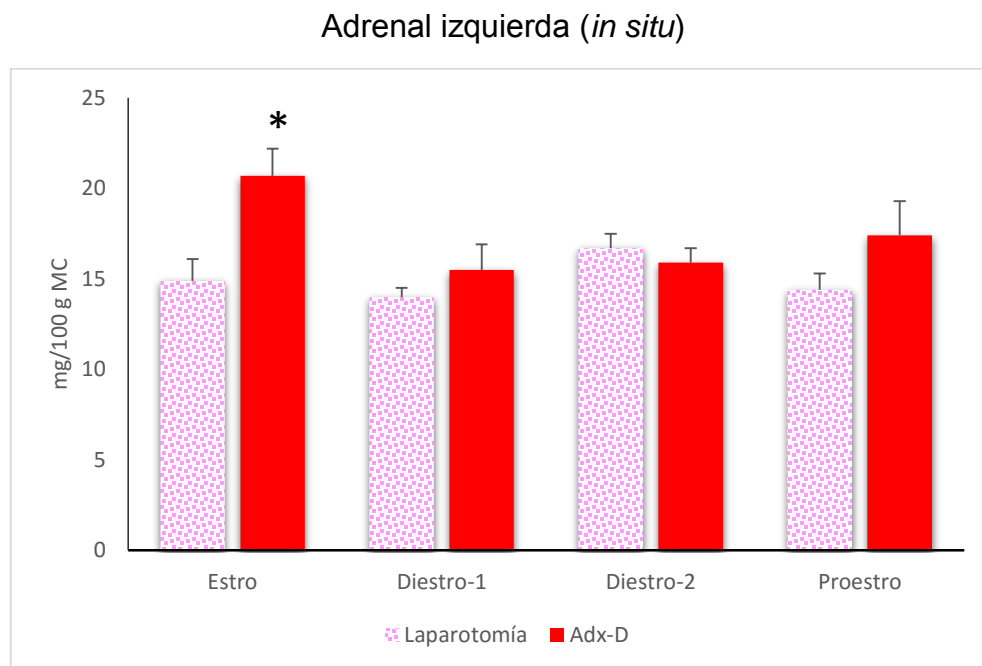
Ambos ovarios



Gráfica 9. Media \pm e.e.m. de la masa de **ambos ovarios** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral. . # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey) © $p \leq 0.05$ vs. Adx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).



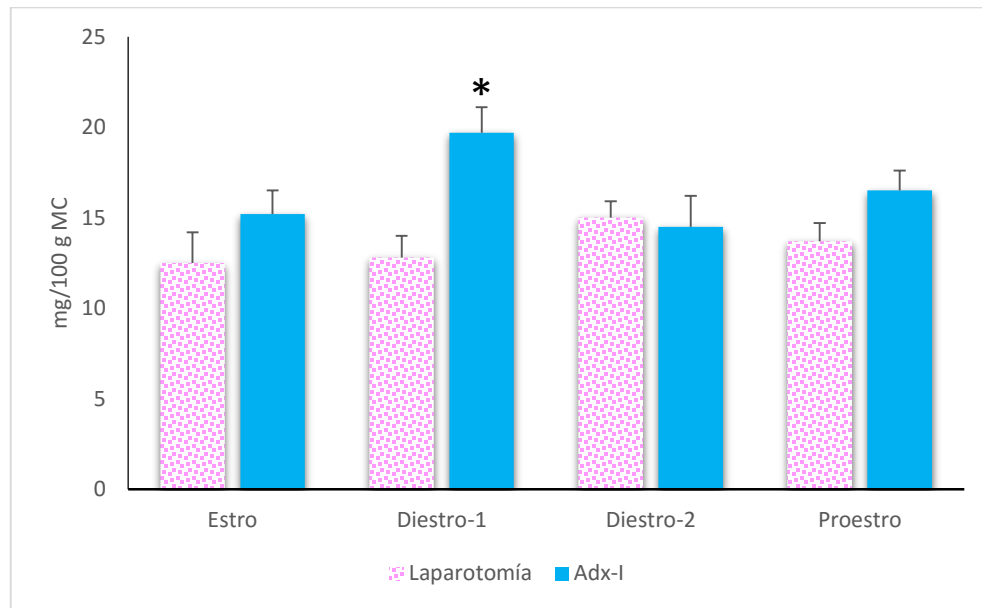
Gráfica 10. Media \pm e.e.m. de la **masa del útero** en animales con **adrenalectomía** a las 7:00 h durante el ciclo estral.



Gráfica 11. Media \pm e.e.m. de la **masa adrenal izquierda** en animales con **adrenalectomía derecha** a las 7:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba "t" de Student).



Adrenal derecha (*in situ*)



Gráfica 12. Media \pm e.e.m. de la masa adrenal derecha en animales con adrenalectomía izquierda a las 7:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba “t” de Student).



RESULTADOS DE LAS 9:00 h



CIRUGÍAS REALIZADAS A LAS 9:00 h

Animales Intactos

En los animales intactos, el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue similar al del ovario derecho (Cuadro 6). De igual forma, la masa de los ovarios y las adrenales del lado izquierdo es semejante a la del lado derecho (Cuadro 7).

Cuadro 6. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos a las 9:00 h en el día del estro vaginal.

Grupo	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	100	4.5 \pm 1.0	100	5.0 \pm 1.0	100	8.1 \pm 9.3

PAO: Porcentaje de animales ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho.

Cuadro 7.- Media \pm e.e.m. de la masa corporal y la de los órganos en animales intactos a las 9:00 h del estro vaginal.

Grupo	N	MC	OI	OD	OI+OD	
Intacto	7	(g)	mg/100g M.C.			
		268.3 \pm 6.3	11.0 \pm 0.6	11.3 \pm 0.6	22.3 \pm 0.6	
		U	AI	AD	AI+AD	
		mg/100g M.C.				
		150.5 \pm 6.0	10.5 \pm 0.7	11.0 \pm 0.9	21.5 \pm 1.6	

MC: Masa corporal, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, U: Útero, AI: adrenal izquierda, AD: adrenal derecha.



Animales con Laparotomía

La laparotomía ventral realizada en cada etapa del ciclo estral no alteró el porcentaje de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados respecto a la del grupo de animales intactos (Cuadro 8).

Cuadro 8.- Porcentaje de animales y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos o con laparotomía ventral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	E	85	4.5 \pm 1.0	85	5.0 \pm 1.0	100	8.1 \pm 1.4
Laparotomía		85	5.0 \pm 1.1	85	5.8 \pm 0.7	100	9.3 \pm 1.1
Laparotomía	D1	71	6.4 \pm 1.5	57	3.0 \pm 0.9	71	8.8 \pm 2.1
Laparotomía	D2	100	5.3 \pm 1.3	100	3.7 \pm 0.7	100	9.0 \pm 1.8
Laparotomía	P	100	6.4 \pm 1.0	100	4.6 \pm 0.8	100	11.0 \pm 0.8

PAO: Porcentaje de animales ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, E: Estro, D1: Diestro-1, D2: Diestro-2, P: Proestro.

La laparotomía ventral realizada durante el ciclo estral no modificó la masa corporal o la cicicidad (Cuadro 9).



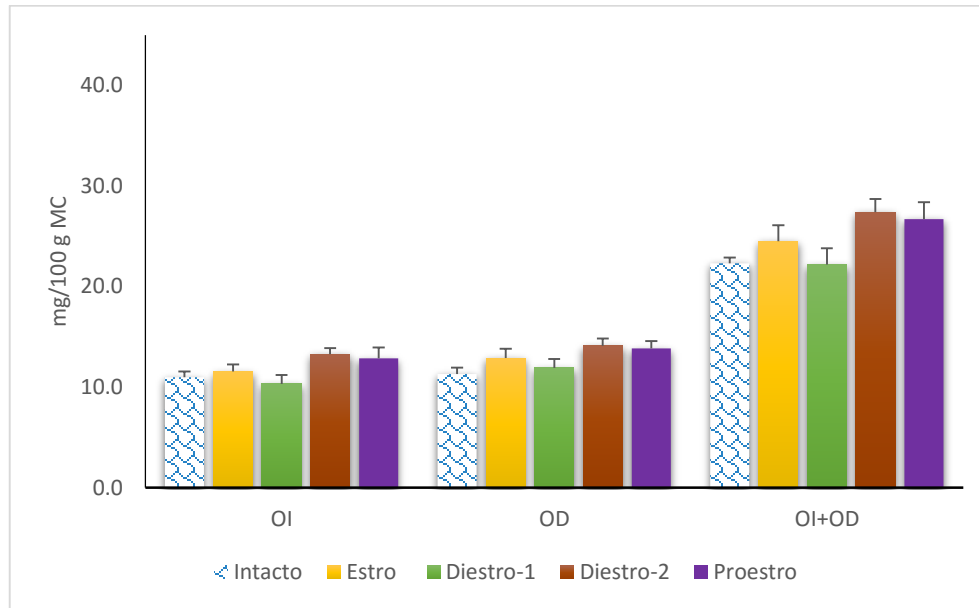
Cuadro 9.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal en animales intactos o con laparotomía ventral a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el día del Estro vaginal.

GRUPO	ETAPA	MC (g)	AC
Intacto	E	268.3 \pm 6.3	7/7
Laparotomía		261.4 \pm 5.7	7/7
Laparotomía	D1	263.4 \pm 7.4	7/7
Laparotomía	D2	267.1 \pm 7.7	7/7
Laparotomía	P	255.0 \pm 6.1	7/7

MC: Masa corporal, AC: animales cíclicos. E: Estro; D1: Diestro-1; D2: Diestro 2; P: Proestro.

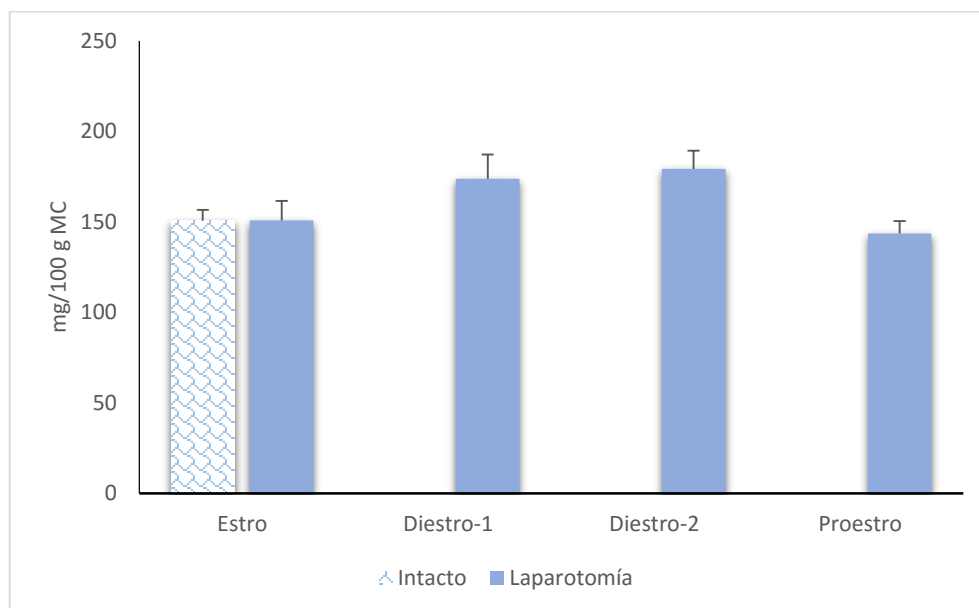
La laparotomía ventral no modificó la masa de los ovarios (Gráfica 13) la masa del útero (Gráfica 14) y tampoco la masa de las adrenales en cualquiera de las etapas en que fue realizada la cirugía (Gráfica 15).

Masa de los ovarios



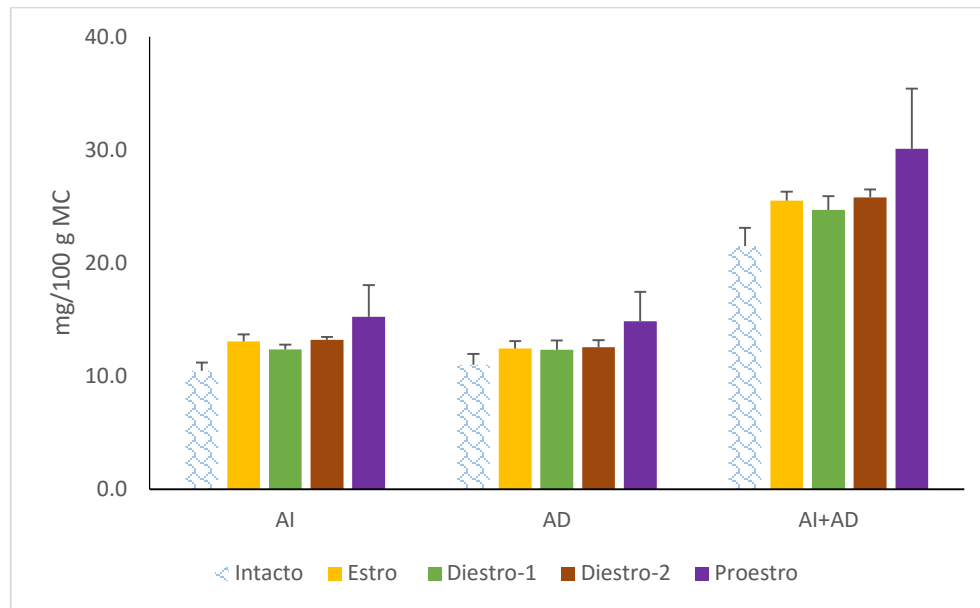
Gráfica 13. Media \pm e.e.m. de la **masa los ovarios** en animales con laparotomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Intacto (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho.

Masa del útero



Gráfica 14. Media \pm e.e.m. de la **masa del útero** en animales con laparotomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Intacto (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa de las adrenales



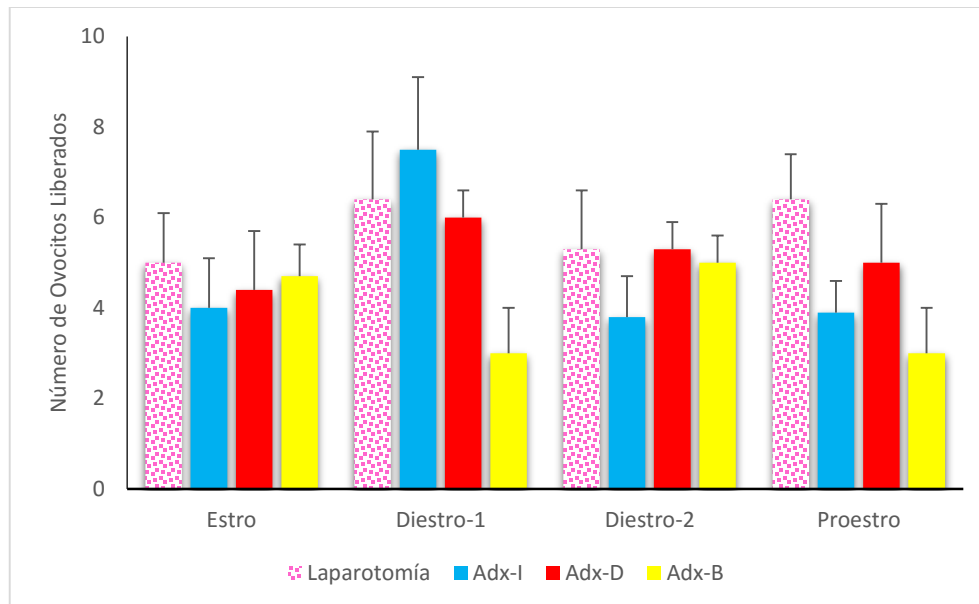
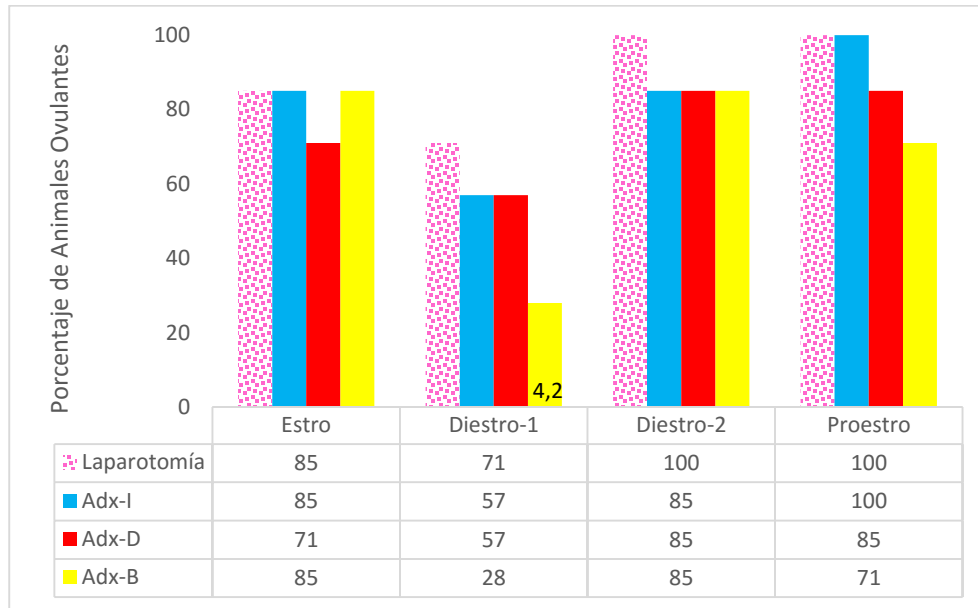
Gráfica 15. Media \pm e.e.m. de la **masa de las adrenales** en animales con laparotomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Intacto (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). AI: adrenal izquierda, AD: adrenal derecha.

Animales con adrenalectomía unilateral o bilateral

La falta de la adrenal izquierda o derecha durante el ciclo estral no modificó el porcentaje de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho (Gráficas 16 a 18). Sin embargo, la extirpación de ambas adrenales en Diestro-1 trajo consigo disminución del porcentaje de animales ovulantes por el ovario izquierdo (Gráfica 16), o por el ovario derecho cuando dicha cirugía se realizó en Proestro (Gráfica 17); en relación a la de los animales con laparotomía.



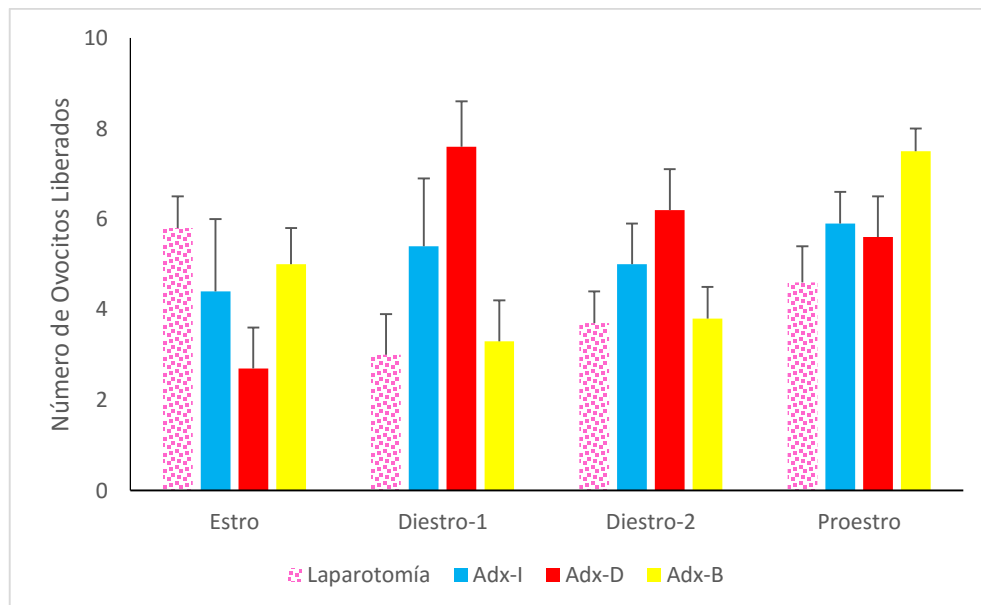
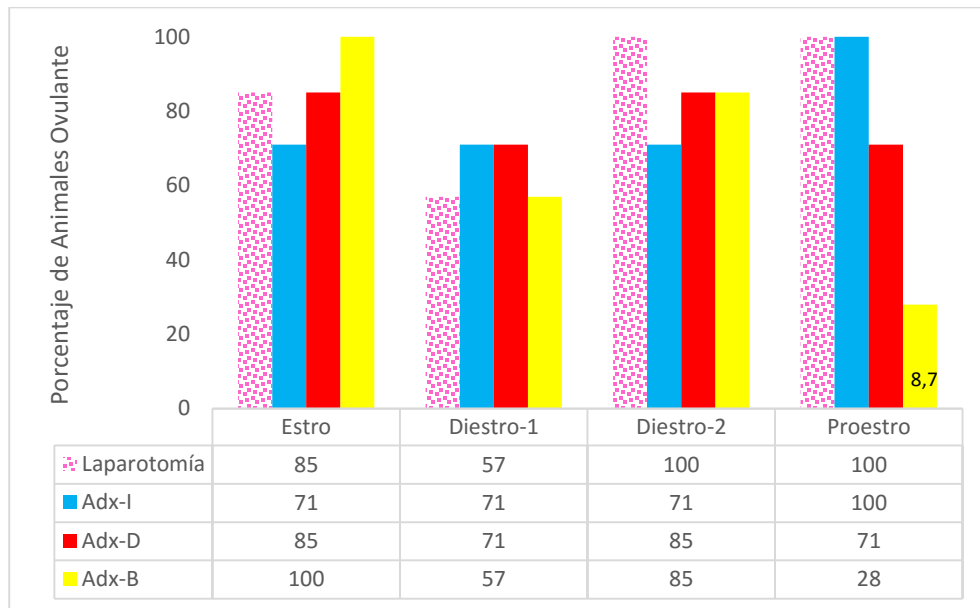
Ovario izquierdo



Gráfica 16. Porcentaje de animales ovulantes y Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en animales con adrenalectomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.005$ vs. Laparotomía (Prueba exacta de Fisher).



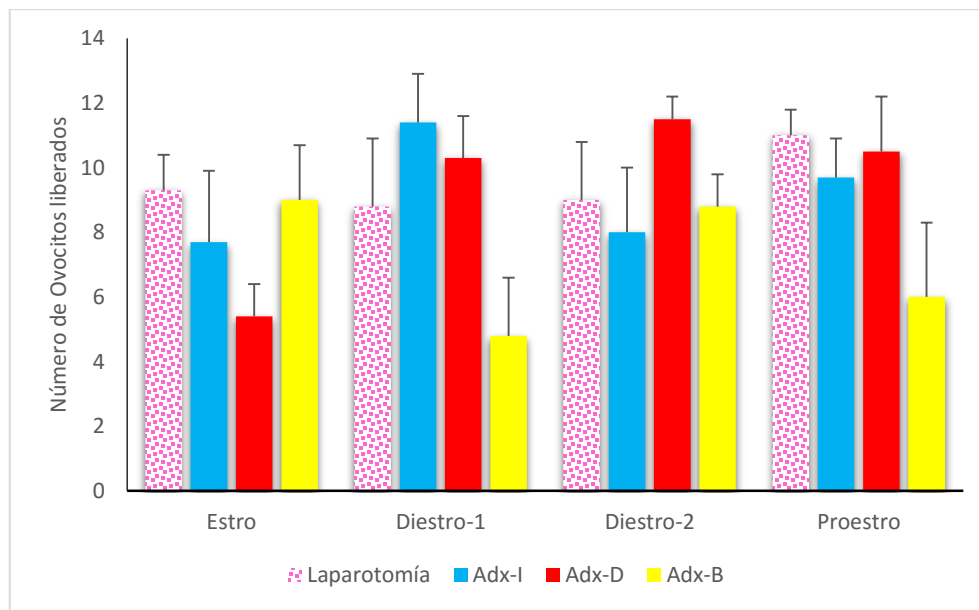
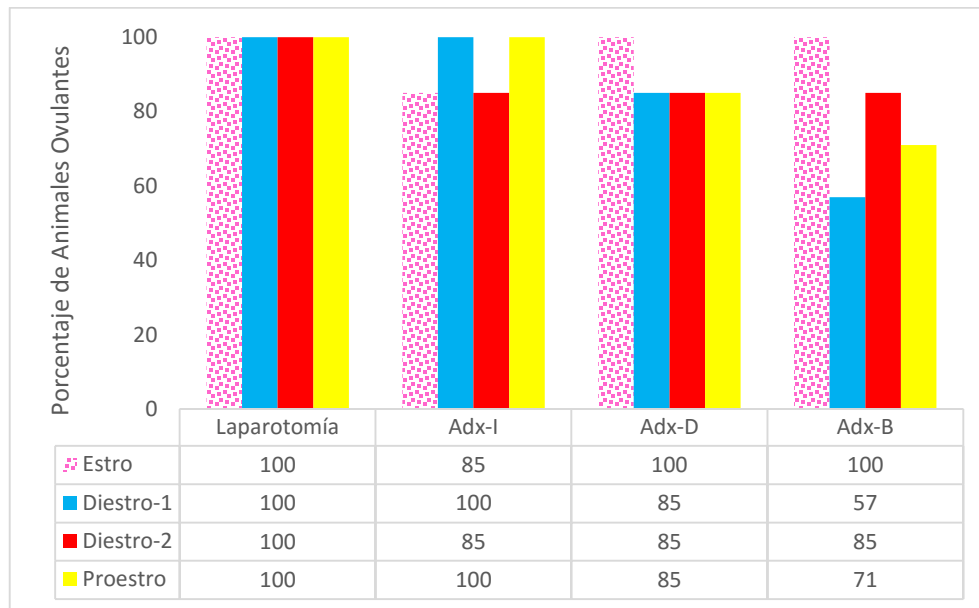
Ovario derecho



Gráfica 17. Porcentaje de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el **ovario derecho** en animales con **adrenalectomía** a las 9:00 h durante el ciclo estral. *p<0.005 vs. Laparotomía (Prueba exacta de Fisher).



Ambos ovarios



Gráfica 18. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por ambos **ovarios** en animales con **adrenalectomía** a las 9:00 h durante el ciclo estral.



La falta de una o ambas adrenales durante el ciclo estral no alteró la masa corporal o la ciclicidad de los animales (Cuadro 10).

Cuadro 10.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal en animales con Laparotomía o laparotomía en cada etapas del ciclo estral a las 9:00 h y sacrificados al estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	n	MC	AC
Laparotomía	E	7	262.9 \pm 5.5	7/7
Adx-I		7	246.1 \pm 12.3	7/7
Adx-D		7	263.7 \pm 13.7	7/7
Adx-B		7	249.3 \pm 7.3	6/7
Laparotomía	D1	7	268.1 \pm 8.2	7/7
Adx-I		7	252.6 \pm 7.8	6/7
Adx-D		7	257.4 \pm 8.8	7/7
Adx-B		7	269.4 \pm 7.9	4/7
Laparotomía	D2	7	284.0 \pm 7.6	7/7
Adx-I		7	265.7 \pm 6.0	6/7
Adx-D		7	244.6 \pm 11.6	7/7
Adx-B		7	255.7 \pm 3.7	7/7
Laparotomía	P	7	256.4 \pm 5.7	7/7
Adx-I		7	259.1 \pm 5.8	7/7
Adx-D		7	268.1 \pm 6.9	7/7
Adx-B		7	249.7 \pm 3.5	7/7

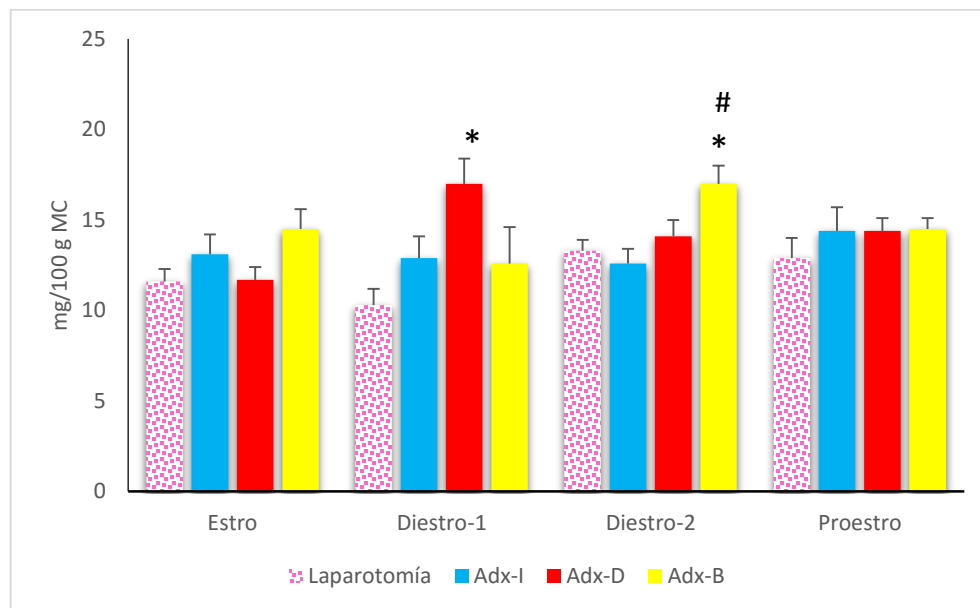
MC: masa corporal, AC: animales cíclicos, Adx-I: Adrenalectomía Izquierda, Adx-D: Adrenalectomía Derecha, Adx-B: Adrenalectomía Bilateral, E: Estro, D1: Diestro 1, D2: Diestro 2, P: Proestro.

La falta de la adrenal izquierda no se tradujo en cambios en la masa del ovario izquierdo o derecho respecto a la del grupo con laparotomía (Gráficas 19 y 20). A diferencia de ello, la falta de la adrenal derecha realizada en la etapa del Diestro-1 resultó en aumento del ovario izquierdo (Gráfica 19), derecho (Gráfica 20), lo que conllevó a un aumento a la masa ovárica (Gráfica 21) comparada contra la laparotomía. La respuesta de los animales es diferente cuando se eliminan ambas adrenales, ya que cuando ésta se realiza en Diestro-2 se traduce en aumento de la masa del ovario izquierdo (Gráfica 19); lo que conllevó a un aumento en la masa ovárica (Gráfica 21) comparado tanto contra la laparotomía como contra la

Adrenalectomía izquierda. Cabe mencionar que la masa del útero no se alteró por ninguna de las cirugías (Gráfica 22).

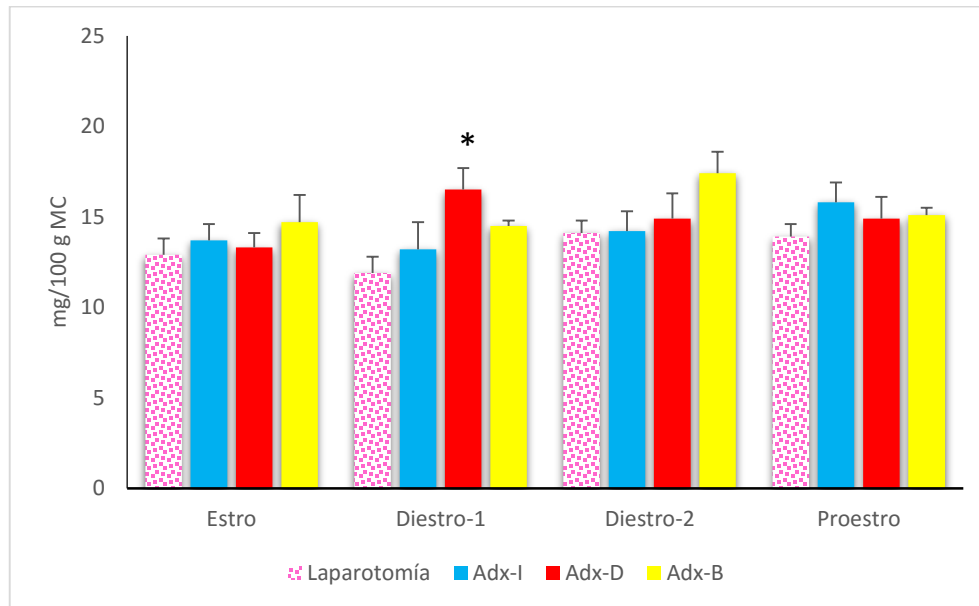
En los animales que mantuvieron la adrenal izquierda *in situ* (adrenalectomía derecha) en el día de Diestro-1, se presentó aumento de la masa de la adrenal; con una hipertrofia del 31% (Gráfica 23). La adrenalectomía izquierda en la etapa del Estro resultó en aumento de la masa de la adrenal *in situ* del 23% comparado contra la laparotomía (Gráfica 24).

Masa del ovario izquierdo



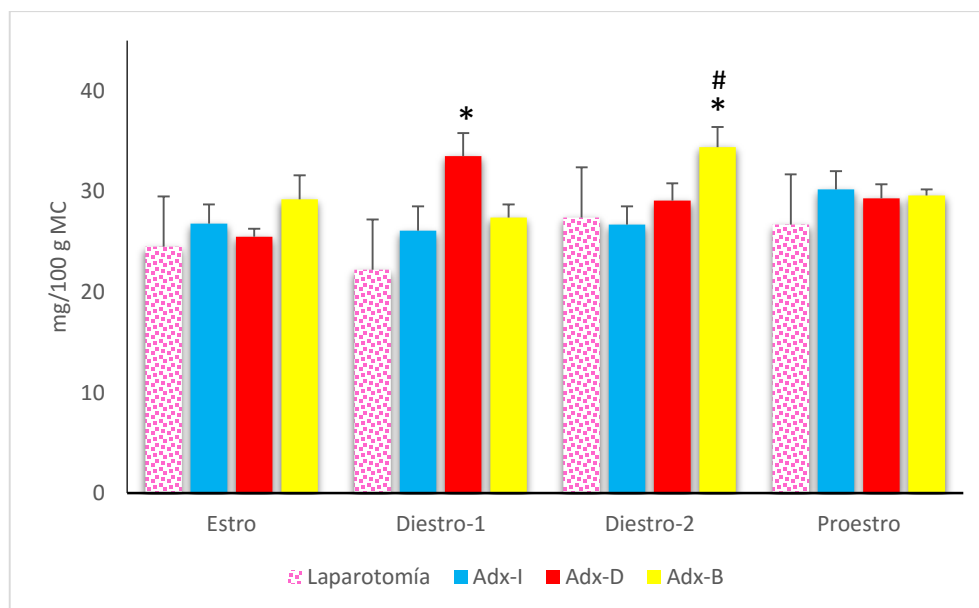
Gráfica 19. Media \pm e.e.m. de la masa del **ovario izquierdo** en animales con **adrenalectomía** a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía; # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa del ovario derecho

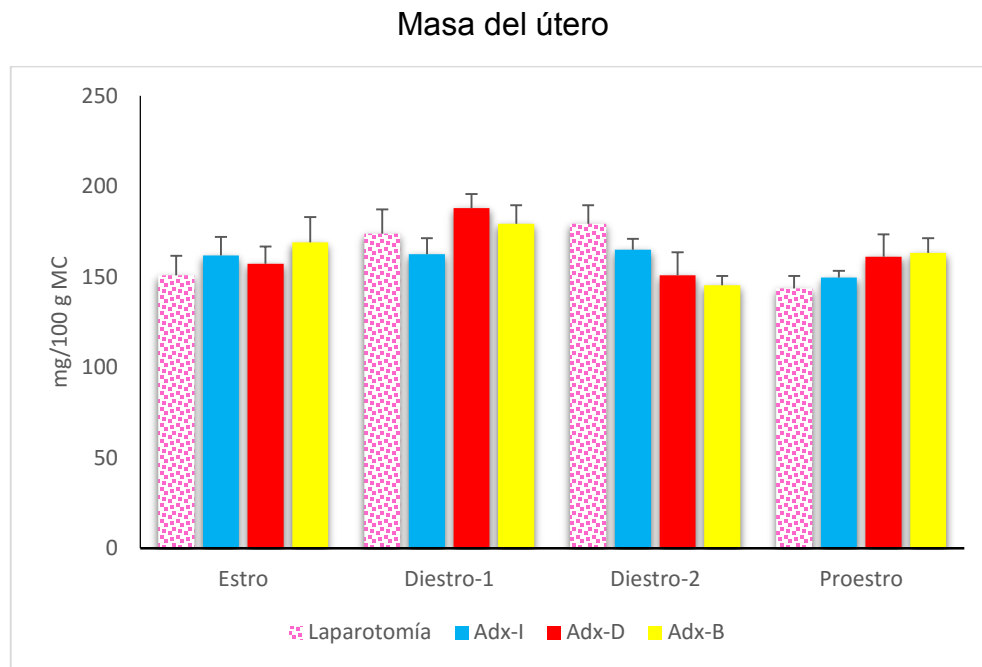


Gráfica 20. Media \pm e.e.m. de la masa del **ovario derecho** en animales con adrenalectomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

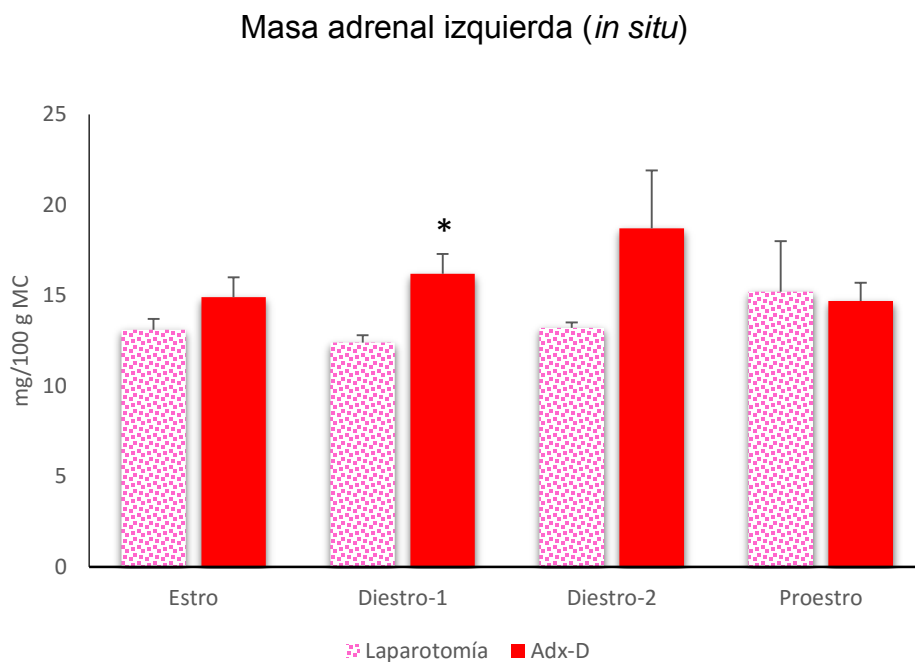
Masa de los ovarios



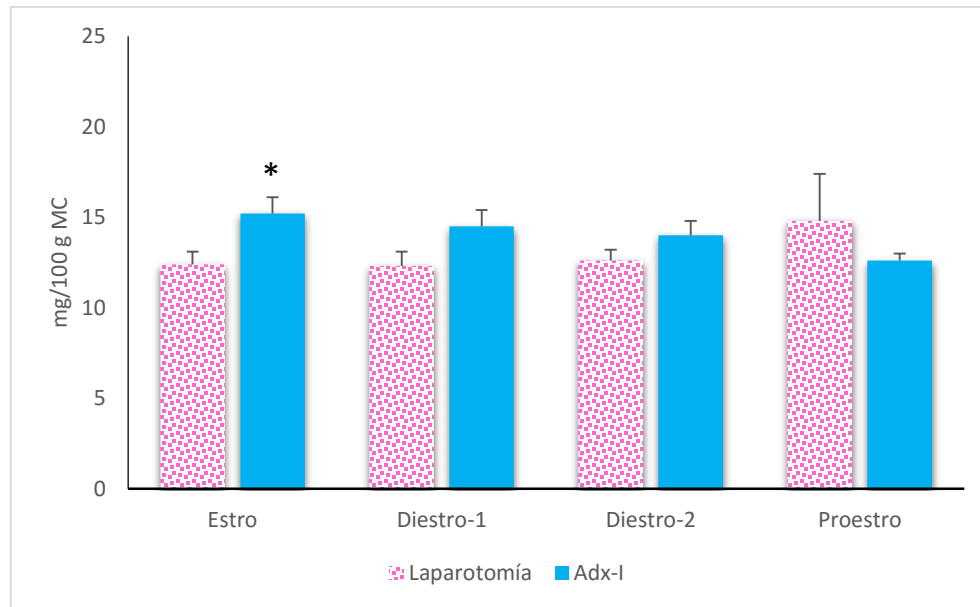
Gráfica 21. Media \pm e.e.m. de la masa de **ambos ovarios** en animales con adrenalectomía a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía. # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).



Gráfica 22. Media \pm e.e.m. de la **masa del útero** en animales con laparotomía o **adrenalectomía** a las 9:00 h durante el ciclo estral.



Gráfica 23. Media \pm e.e.m. de la **masa de la adrenal izquierda** en animales con **adrenalectomía derecha** a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba "t" de Student).

Masa adrenal derecha (*in situ*)

Gráfica 24. Media \pm e.e.m. de la **masa de la adrenal** derecha en animales con **adrenalectomía izquierda** a las 9:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba "t" de Student).



RESULTADOS DE LAS 11:00 h



CIRUGÍAS REALIZADAS A LAS 11:00 h

Animales Intactos

En los animales intactos, el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue similar al del ovario derecho (Cuadro 11). De igual forma, la masa de los ovarios y las adrenales del lado izquierdo es semejante a la del lado derecho (Cuadro 12).

Cuadro 11. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos a las 11:00 h en el día del estro vaginal.

Grupo	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	55	7.4 \pm 1.5	77	6.0 \pm 1.0	88	9.9 \pm 1.8

PAO: Porcentaje de animales ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho.

Cuadro 12. Media \pm e.e.m. de la masa corporal y la de los órganos en animales intactos a las 11:00 h del estro vaginal.

Grupo	n	MC	OI	OD	OI+OD	
Intacto	7	(g)	_____ mg/100g M.C. _____			
		251.6 \pm 7.4	10.7 \pm 1.0	10.8 \pm 0.4	21.6 \pm 1.2	
Intacto	7	U	AI	AD	AI+AD	
		_____ mg/100g M.C. _____				
		131.1 \pm 8.3	12 \pm 0.4	12.5 \pm 0.9	24.5 \pm 1.3	

MC: Masa corporal, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, U: Útero, AI: adrenal izquierda, AD: adrenal derecha.



Animales con laparotomía

La laparotomía ventral realizada en cada etapa del ciclo estral no alteró el porcentaje de animales ovulantes, ni el número de ovocitos liberados respecto a la del grupo de animales intactos (Cuadro 13).

Cuadro 13.- Porcentaje de animales y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales intactos o con laparotomía ventral a las 11:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	PAO	Ovocitos OI	PAO	Ovocitos OD	PAO	Ovocitos OI+OD
Intacto	E	55	7.4 \pm 1.5	77	6.0 \pm 1.0	88	9.9 \pm 1.8
Laparotomía		85	4.0 \pm 0.9	100	5.7 \pm 0.7	100	9.1 \pm 1.1
Laparotomía	D1	100	5.4 \pm 0.4	100	5.6 \pm 0.3	100	11.0 \pm 0.5
Laparotomía	D2	100	5.4 \pm 0.6	100	5.6 \pm 1.3	100	11.0 \pm 1.2
Laparotomía	P	100	5.0 \pm 1.2	100	4.1 \pm 1.2	100	9.1 \pm 1.5

PAO: Porcentaje de animales ovulantes, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho, E: Estro, D1: Diestro-1, D2: Diestro-2, P: Proestro.

La laparotomía ventral durante el ciclo estral no modificó la masa corporal o la ciclicidad (Cuadro 14).



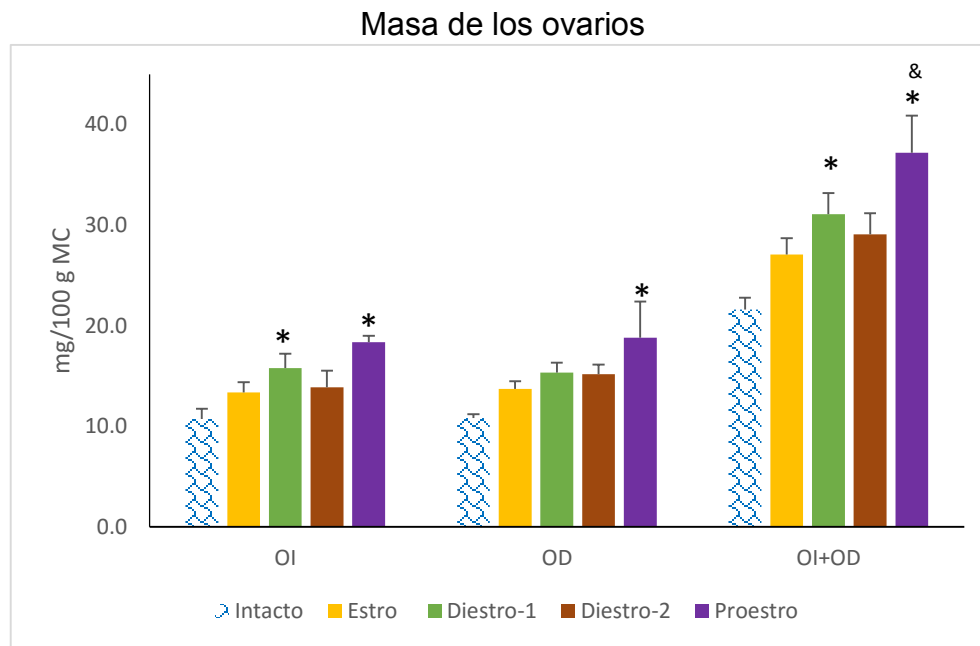
Cuadro 14.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal en animales intactos o con laparotomía ventral a las 11:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el día del estro vaginal.

GRUPO	ETAPA	MC (g)	AC
Intacto	E	251.6 \pm 7.4	7/7
Laparotomía		241.0 \pm 6.6	7/7
Laparotomía	D1	246.1 \pm 4.5	7/7
Laparotomía	D2	243.6 \pm 2.0	6/7
Laparotomía	P	254.4 \pm 4.5	7/7

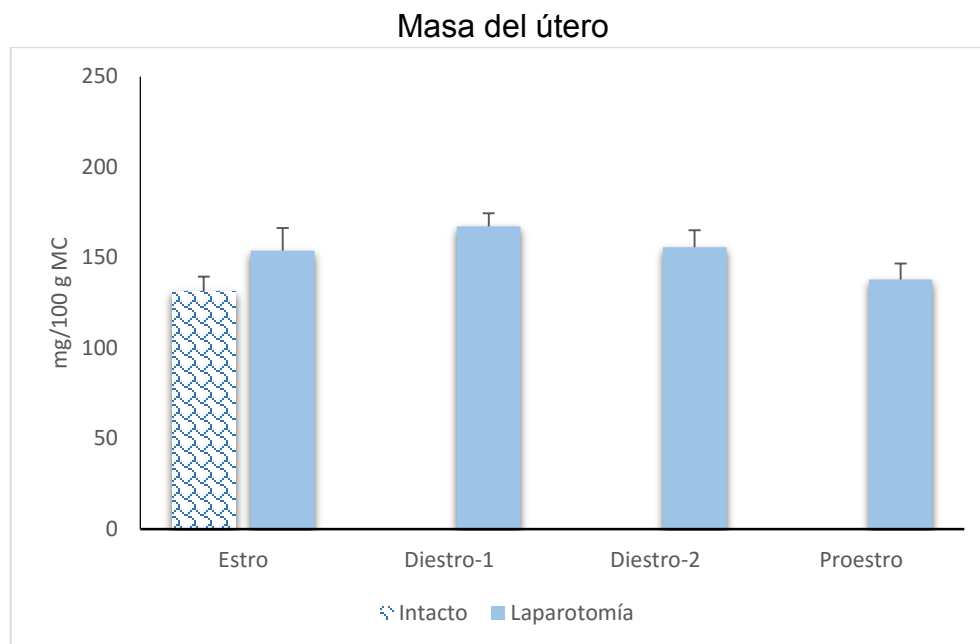
MC: Masa corporal, AC: animales cíclicos. E: Estro; D1: Diestro-1; D2: Diestro 2; P: Proestro.

La laparotomía realizada en la etapa del Estro no modificó la masa de los ovarios, la masa del útero y tampoco la masa de las adrenales (Gráfica 25 a 27). La laparotomía ventral no modificó la masa del útero en cualquiera de las etapas en que fue realizada. Dicha intervención cuando en la etapa del Diestro-1 reflejó aumento del ovario izquierdo lo que conllevó a un aumento en la masa ovárica (Gráfica 25) y se acompañó de un aumento en la masa adrenal (Gráfica 27); la misma cirugía realizada en la etapa del Proestro mostró un aumento en la masa del ovario izquierdo, derecho y por consiguiente a un aumento en la masa ovárica (Gráfica 25), lo anterior comparado contra el intacto.

La laparotomía en Diestro-2, mostró una disminución de la adrenal derecha; esta respuesta se reflejó al realizar dicha intervención en la etapa de Proestro, la cual se acompañó de una disminución de la masa adrenal (Gráfica 29); con respecto a la laparotomía en Diestro-1; y una disminución de la masa ovárica, con respecto a la laparotomía en Estro (Gráfica 26).

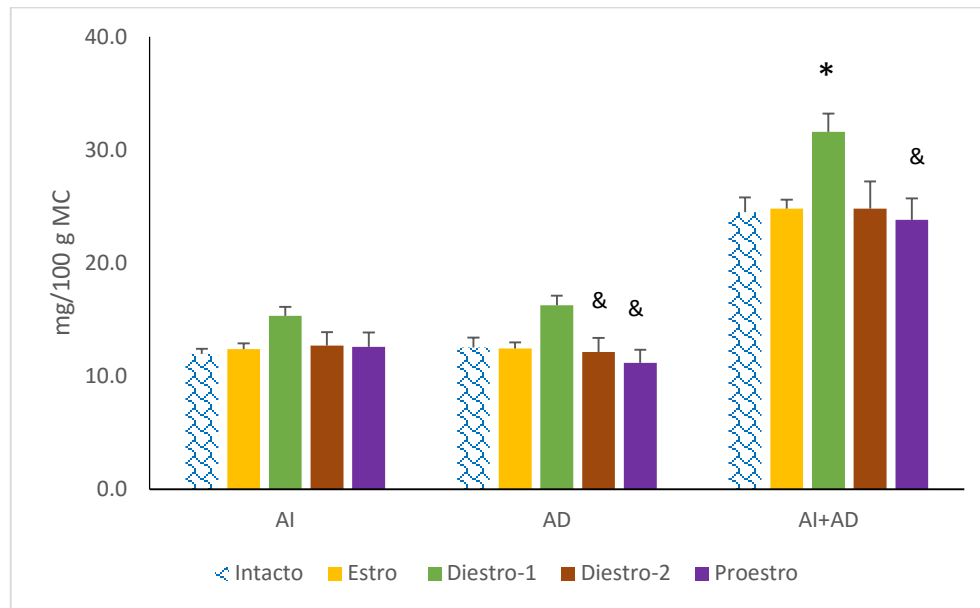


Gráfica 25. Media \pm e.e.m. de la **masa de los ovarios** en animales con **laparotomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Intacto; & $p < 0.05$ vs laparotomía en Estro. (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario Derecho.



Gráfica 26. Media \pm e.e.m. de la **masa del útero** en animales con **laparotomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.05$ vs. Intacto (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa de las adrenales



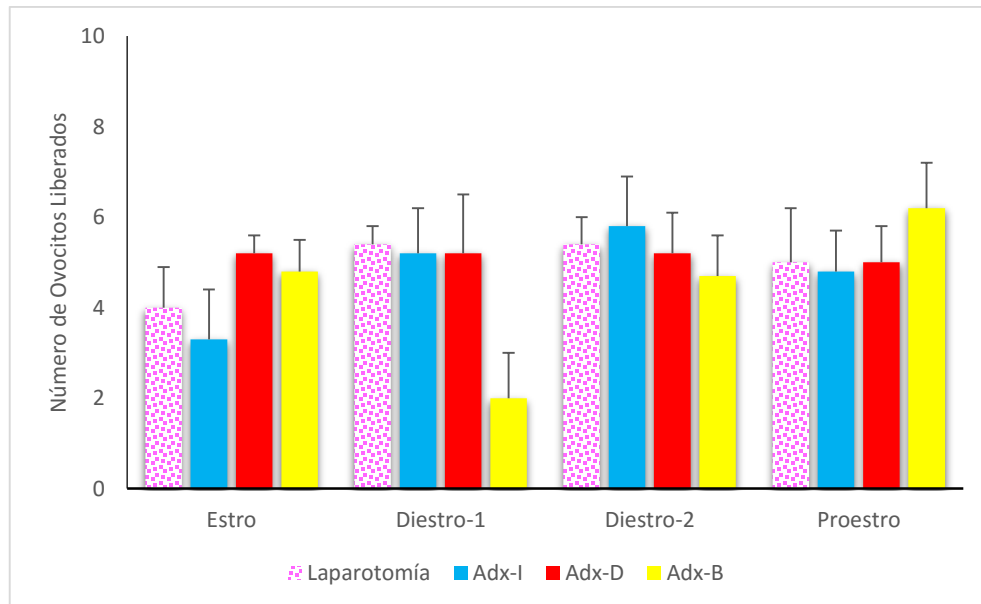
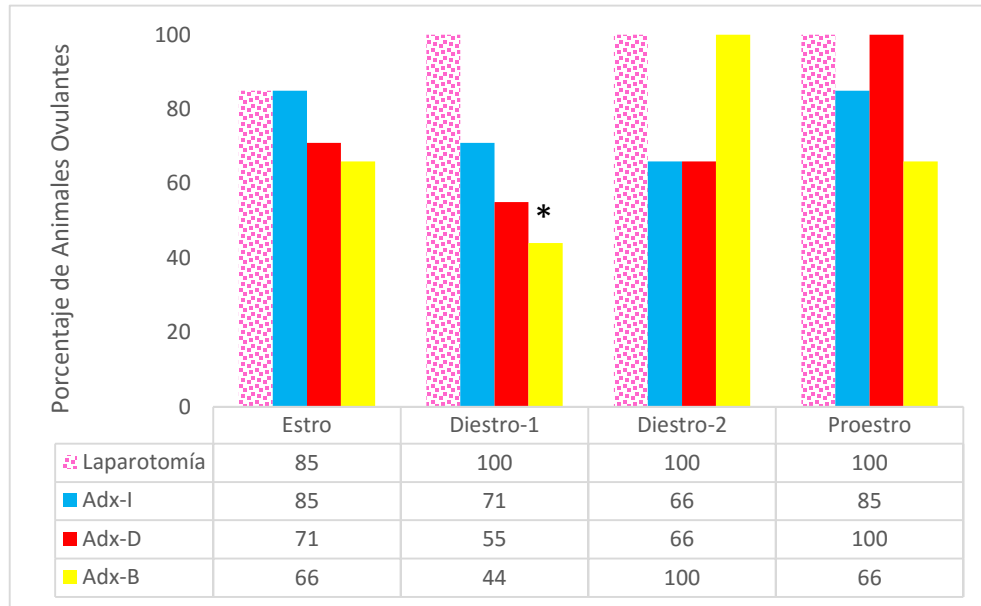
Gráfica 27. Media \pm e.e.m. de la **masa adrenal** en animales con **laparotomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Intacto; & $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía en Diestro-1. (Prueba ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). AI: adrenal izquierda, AD: adrenal derecha.

Animales con Adrenalectomía unilateral y bilateral

La adrenalectomía izquierda o derecha no modificó el porcentaje de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo respecto a la observada en animales con laparotomía (Gráficas 28 a 29). Esta respuesta fue semejante para el ovario derecho (Gráficas 28 a 29).

La ausencia de ambas adrenales resulta en un decremento en el porcentaje de animales ovulantes por el ovario izquierdo cuando la cirugía es realizada en la etapa del Diestro-1 (Gráfica 28), cuando la cirugía se realiza en Proestro resulta igualmente en un decremento pero esta vez afectando tanto al ovario izquierdo como al derecho (Gráfica 28 a 29).

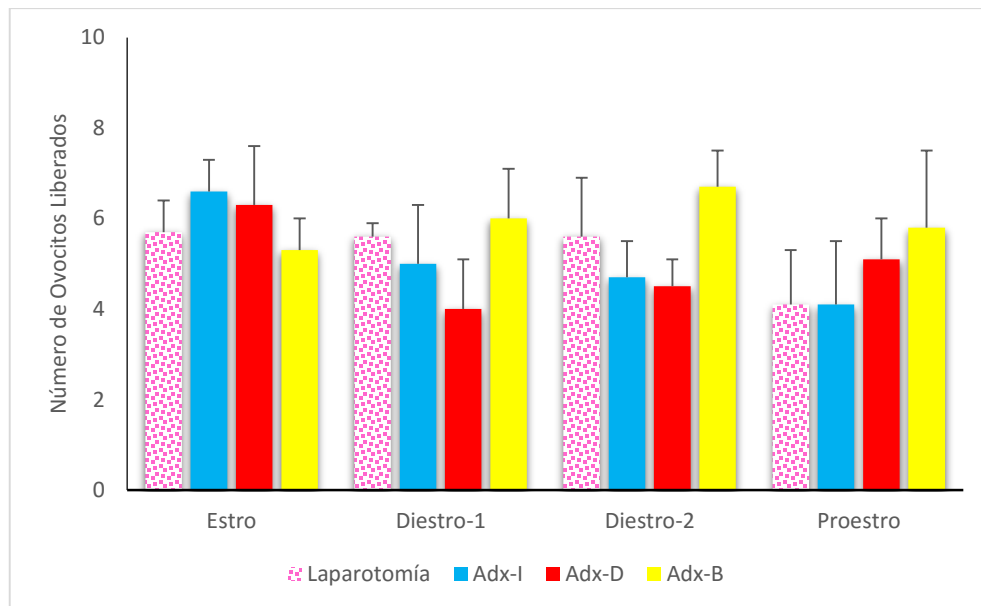
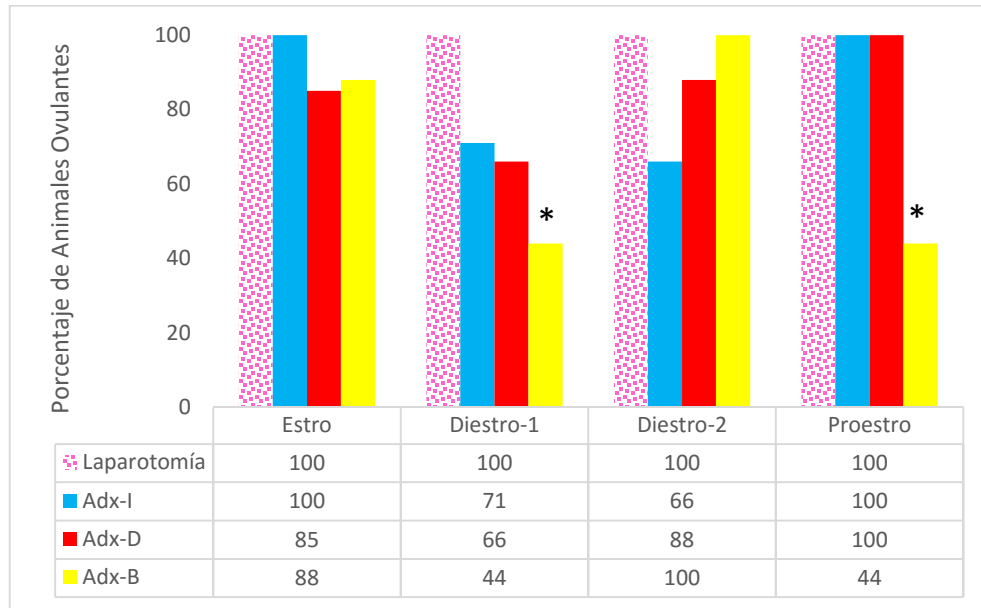
Ovario izquierdo



Gráfica 28. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el **ovario izquierdo** en animales con **adrenalectomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.005$ vs. Laparotomía (Prueba exacta de Fisher).



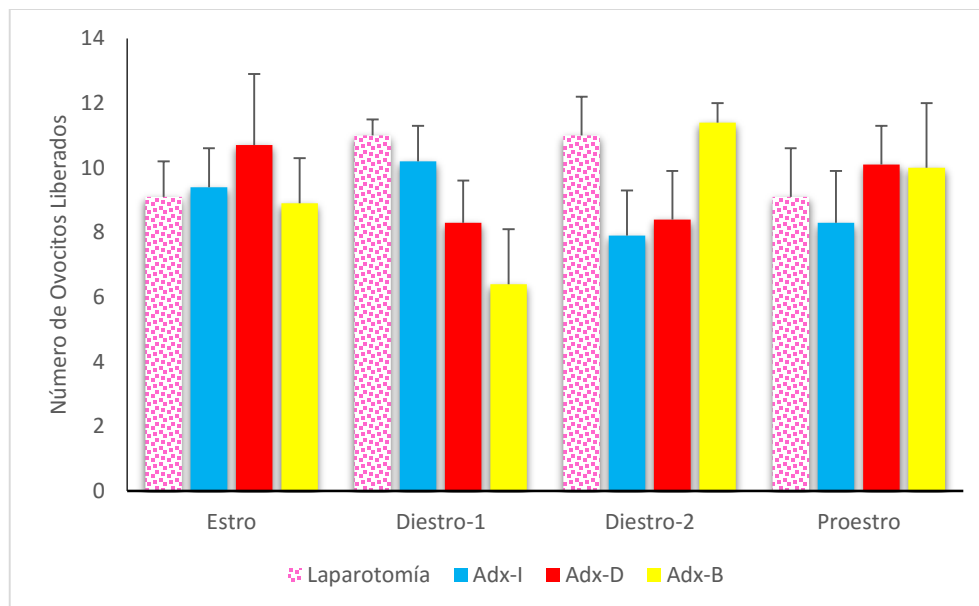
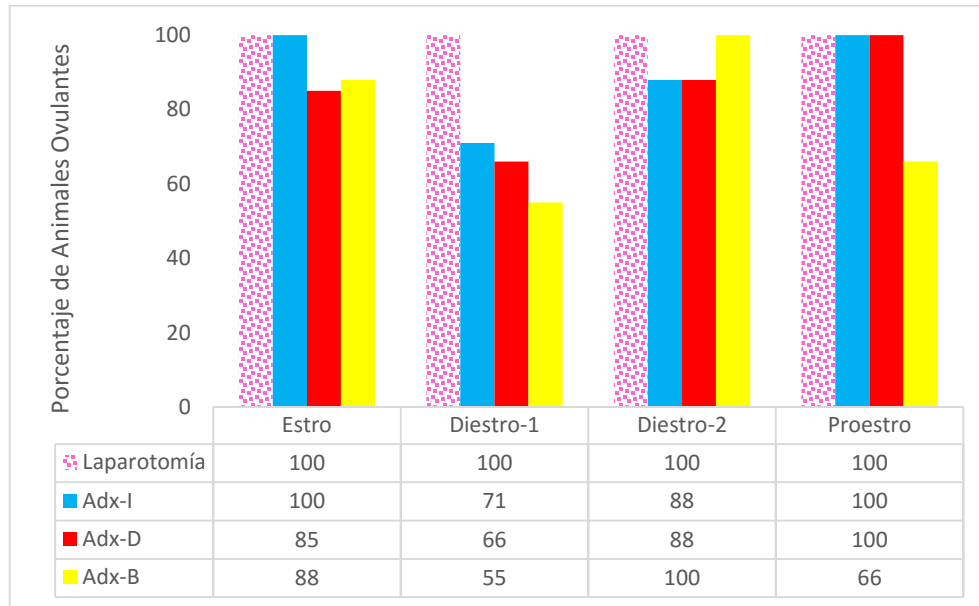
Ovario derecho



Gráfica 29. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el **ovario derecho** en animales con **adrenalectomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p < 0.005$ vs. Laparotomía (Prueba exacta de Fisher).



Ambos ovarios



Gráfica 30. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por ambos **ovarios** en animales con **adrenalectomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral.



La masa corporal no se modificó en ninguna de las etapas del ciclo estral con cualquiera de las cirugías realizadas (Cuadro 15); por el contrario cuando se extirpan ambas adrenales en la etapa del Diestro-2, el 58% de los animales presentaron un alargamiento del ciclo estral.

Cuadro 15.- Ciclicidad y media \pm e.e.m. de la masa corporal en animales con Laparotomía o adrenalectomía en cada etapa del ciclo estral a las 11:00 h y sacrificados en el estro vaginal.

TRATAMIENTO	ETAPA	n	MC	AC
Laparotomía	E	7	241.0 \pm 6.6	7/7
Adx-I		7	232.9 \pm 5.1	6/7
Adx-D		7	239.7 \pm 8.3	6/7
Adx-B		9	252.1 \pm 6.6	6/9
Laparotomía	D1	7	246.1 \pm 4.5	7/7
Adx-I		7	246.4 \pm 6.8	7/7
Adx-D		9	225.4 \pm 4.0	6/7
Adx-B		9	235.0 \pm 2.3	6/9
Laparotomía	D2	7	243.6 \pm 2.0	6/7
Adx-I		9	241.3 \pm 5.0	9/9
Adx-D		9	224.4 \pm 5.9	9/9
Adx-B		7	244.1 \pm 11.2	3/7*
Laparotomía	P	7	254.4 \pm 4.5	7/7
Adx-I		7	242.4 \pm 6.6	7/7
Adx-D		7	250.6 \pm 3.2	6/7
Adx-B		9	240.0 \pm 7.2	9/9

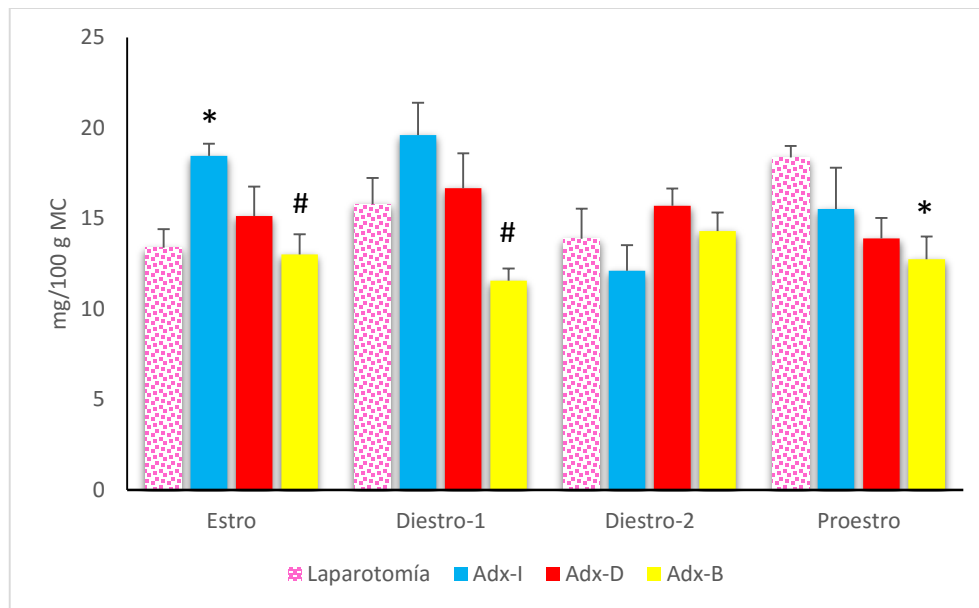
MC: masa corporal, AC: animales cíclicos, Adx-I: Adrenalectomía Izquierda, Adx-D: Adrenalectomía Derecha, Adx-B: Adrenalectomía Bilateral, E: Estro, D1: Diestro 1, D2: Diestro 2, P: Proestro.

La adrenalectomía izquierda realizada en Estro resultó en aumento de la masa del ovario ipsilateral (Gráfica 31), la masa ovárica (Gráfica 33) y la adrenal *in situ* con una hipertrofia compensadora del 22% (Gráfica 36); respecto a lo observado en los animales con laparotomía.

Los animales con adrenalectomía derecha realizada en las etapas de Estro o Diestro-2 mostraron un aumento de la adrenal *in situ* (adrenal izquierda) con una hipertrofia compensadora del 32% y 33%, respectivamente (Gráfica 35).

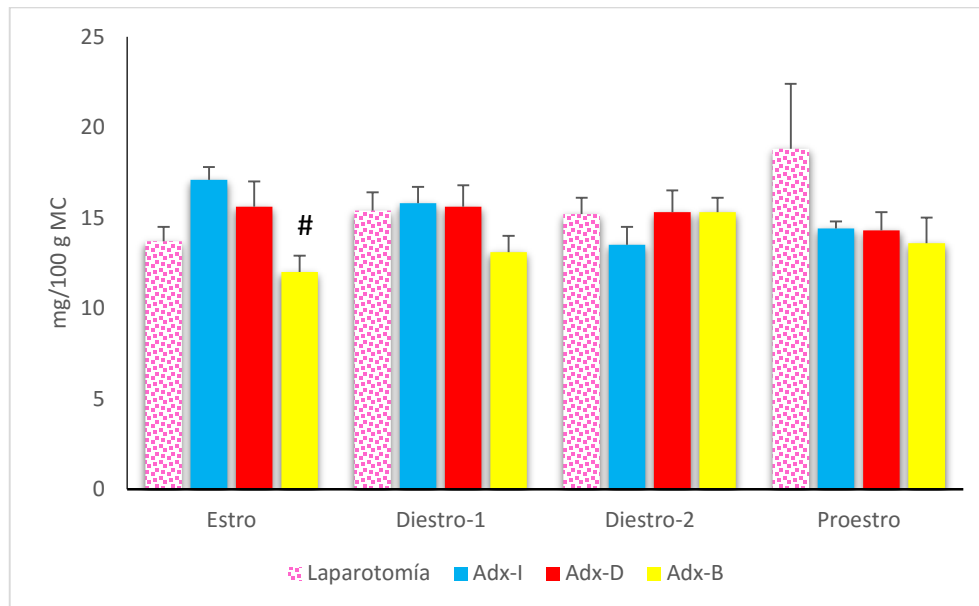
La extirpación de ambas adrenales en Estro resulta en disminución de la masa del ovario izquierdo (Gráfica 31), del ovario derecho (Gráfica 32), lo que conllevó a la disminución de la masa ovárica (Gráfica 33), e incluso la masa del útero (Gráfica 34) comparado contra la adrenalectomía izquierda; cuando dicho tratamiento es realizado en Proestro resultó en disminución de la masa del ovario izquierdo lo que se reflejó en una disminución en la masa ovárica respecto a lo registrado en animales con laparotomía (Gráfica 31 y 33).

Masa del ovario izquierdo



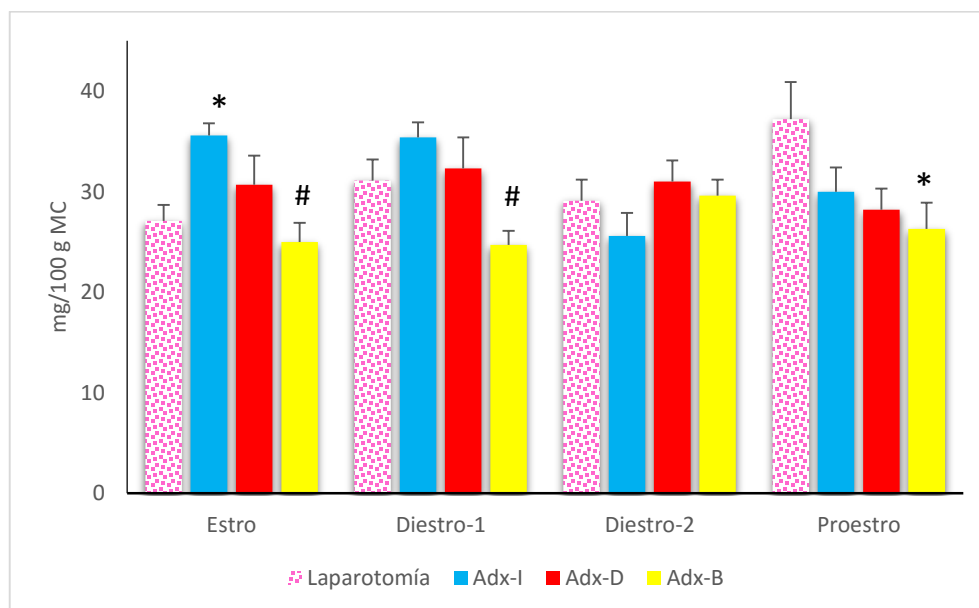
Gráfica 31. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo en animales con adrenalectomía a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía. # $p \leq 0.05$ vs Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa del ovario derecho



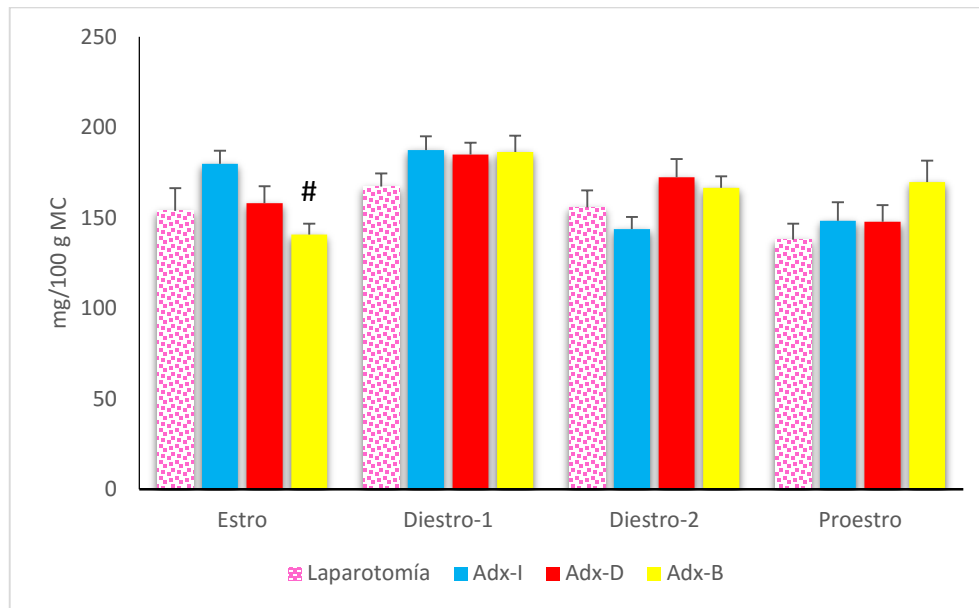
Gráfica 32. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho en animales con adrenalectomía a las 11:00 h durante el ciclo estral. # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa de ambos ovarios

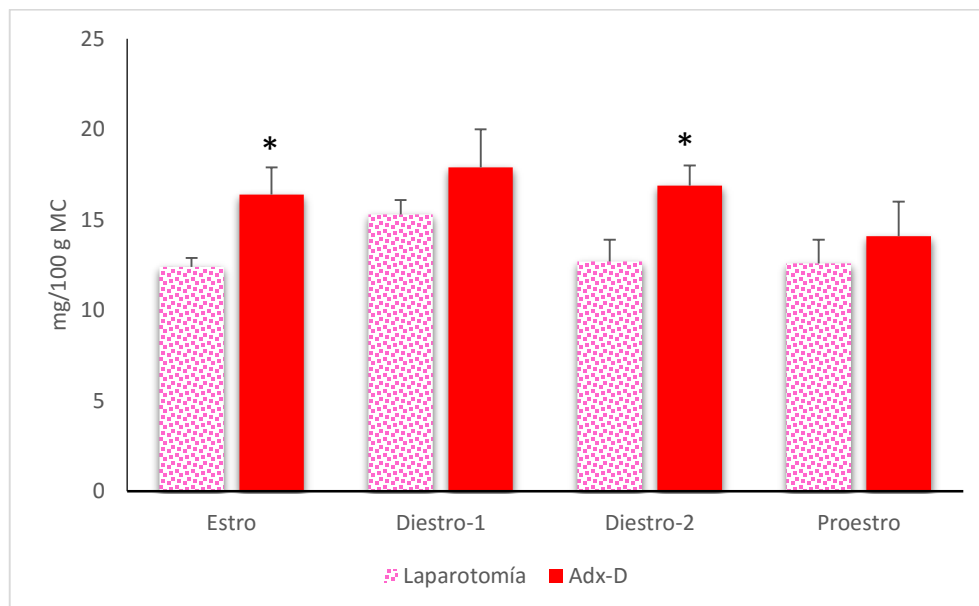


Gráfica 33. Media \pm e.e.m. de la masa de ambos ovarios en animales con adrenalectomía a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía. # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

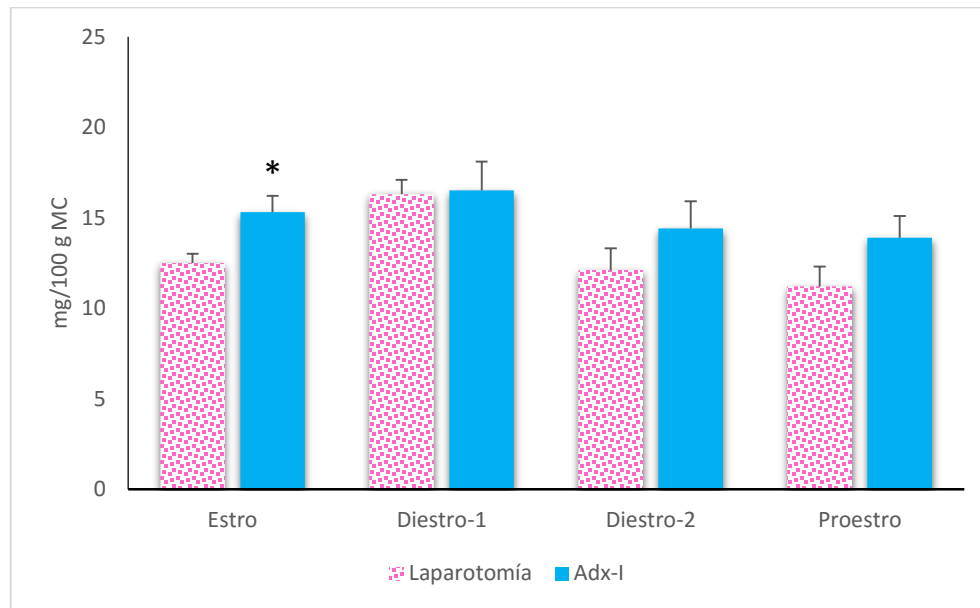
Masa del útero



Gráfica 34. Media \pm e.e.m. de la **masa del útero** en animales con **adrenalectomía** a las 11:00 h durante el ciclo estral. # $p \leq 0.05$ vs. Adx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Masa de la adrenal izquierda (*in situ*)

Gráfica 35. Media \pm e.e.m. de la **masa de la adrenal izquierda** en animales con **adrenalectomía derecha** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba "t" de Student).

Masa de la adrenal derecha (*in situ*)

Gráfica 36. Media \pm e.e.m. de la **masa de la adrenal derecha** en animales con **adrenalectomía izquierda** a las 11:00 h durante el ciclo estral. * $p \leq 0.05$ vs. Laparotomía (Prueba "t" de Student).



DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados del presente estudio muestran que las adrenales participan en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y la adrenal *in situ*, lo cual depende de la adrenal *in situ*, la hora y la etapa del ciclo estral en estudio.

Con base en los resultados de ovulación que se observaron en los animales con laparotomía ventral realizada por la mañana en las diferentes etapas del ciclo estral, sugerimos que la incisión de la piel, el músculo y el peritoneo, no modificó los mecanismos neuroendocrinos involucrados en la regulación de la liberación de las gonadotropinas que culminan con la ovulación; sin embargo, se modificó la masa de los órganos en los diferentes horarios y días del ciclo estral analizados por lo que proponemos que la laparotomía es un factor estresante para los animales.

Los factores estresantes activan tanto el eje neuroendócrino Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA), como al sistema nervioso simpático. La respuesta de estos sistemas induce cambios fisiológicos y metabólicos para hacer frente al desafío homeostático. Los factores estresantes activan a las neuronas noradrenérgicas de la corteza y al sistema límbico que vía los nervios simpáticos estimulan a la médula adrenal. También activan las vías neuroendocrinas que a través de la liberación de la CRH del hipotálamo y de la ACTH de la adenohipófisis, estimulan a la corteza adrenal y liberan los glucocorticoides (Ferin, 2006).

El aumento de la masa ovárica que se observa en los animales con laparotomía a las 11:00 h lo podemos atribuir a que la activación del HHA pudo provocar un aumento en la concentración de corticosteroides (Brann y Mahesh, 1991; Pagés *et al.*, 2005). Brann y colaboradores en 1991 mencionaron que cuando los animales son sometidos a estrés agudo, los corticosteroides incrementan la secreción de FSH, hormona que favorece el desarrollo de los folículos, por lo que es posible pensar que en los animales con laparotomía aumentó el desarrollo folicular y por consiguiente



produjo un aumento en la masa ovárica; que cabe aclarar no culminó con un incremento en el PAO o en el número de ovocitos liberados.

El aumento de la masa del útero que se observó en los animales con laparotomía ventral en los horarios analizados en este estudio puede deberse a la activación del sistema de respuesta del eje HHA, ya que el estrés provocado por la cirugía conduciría a una mayor secreción de P₄ y corticosterona de la corteza adrenal al torrente sanguíneo (Brann y Mahesh, 1991; Pagés *et al.*, 2005). La P₄ es la hormona que se encarga de promover la diferenciación y proliferación de las células epiteliales del útero (Couse *et al.*, 2006) y al encontrarse en altas concentraciones puede inducir un aumento en la masa de dicho órgano. Asimismo, se tienen evidencias de que el útero recibe inervación del sistema simpático el cual también lleva VIP; un neuropéptido que actúa a través de la formación de AMP cíclico (Stjernquist *et al.*, 1985), lo cual puede estar promoviendo la proliferación de células y por consiguiente un aumento en la masa uterina.

Otra posible explicación del aumento en la masa del útero, puede deberse a la activación de una vía neural sensorial; cuando se secciona la inervación que llega al peritoneo. Ésta es una membrana serosa, extensa y húmeda que reviste la cavidad abdominal y cubre los órganos situados en ella; incluyendo la mayoría de los órganos digestivos. En el peritoneo de la pared abdominal se distribuyen nervios aferentes que en su mayoría se originan en el ganglio de la raíz dorsal entre los niveles torácico 1 y lumbar 4, y otros cuantos del ganglio nodoso que a su vez pasan por la cadena simpática (Tanaka *et al.*, 2002).



La sección del peritoneo también podría estimular la actividad de las glándulas adrenales ya que es sabido que dichas glándulas reciben inervación principalmente simpática por medio del nervio esplácnico (Parker *et al.*, 1993), e información sensorial mediante el nervio vago (Coupland *et al.*, 1989). Ambos nervios transportan diferentes neurotransmisores y neuropéptidos, como VIP y NPY, que pueden inducir un aumento en la secreción de hormonas (Delarue *et al.*, 2001; Whitworth, 2003) y acompañarse de un aumento en la masa de la glándula adrenal.

Efectos de la Adrenalectomía Unilateral y Bilateral

Con base en los resultados obtenidos en los animales con adrenalectomía sugerimos que la información que proviene de una u otra adrenal en la mañana del Diestro-1 y Proestro es indispensable para estimular la secreción de la LH que conlleva a la ovulación, ya que cuando se eliminan ambas adrenales se observó alteración en los mecanismos neuroendocrinos que culminan con la ovulación.

Brann y Mahesh en 1991, mencionan que los corticosteroides en compañía de la P₄ pueden inducir estimulación de la liberación de la FSH y por consiguiente un aumento en el desarrollo folicular. El aumento en la ovulación observado en el ovario izquierdo de los animales con adrenalectomía derecha a las 7:00 h en la etapa del Diestro-2, nos hace sugerir que la extirpación de dicha adrenal, o la adrenal izquierda remanente o ambos procesos en conjunto activan la secreción de glucocorticoides en esta etapa, que no ocurre cuando se elimina la adrenal izquierda.

Otra forma de explicar nuestros resultados podría ser a través de la información que proporciona la inervación que llega a los ovarios. Como ya se mencionó, al



activarse el SNC (debido a un factor estresante) pueden aumentar las concentraciones de NA (Ferin, 2006); las catecolaminas influyen en el crecimiento y diferenciación folicular al unirse a los receptores adrenérgicos β -2, que se ha demostrado se encuentran en las células de la granulosa en los folículos de la rata (Wolf *et al.*, 1986).

Aunque no hay diferencia significativa en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo cuando se eliminan ambas adrenales a las 11:00 h en el Diestro-1 podemos sugerir que la secreción de FSH es alterada y que esto repercute en el crecimiento y diferenciación de los folículos provocando tal vez aumento en el grado de atresia folicular.

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Pepler y Jacobs, en 1976 y 1980, quienes mostraron que la adrenalectomía bilateral en Diestro-1 resultó en disminución en el número de ovocitos liberados. Asimismo, Pimentel (2011), mostró que Diestro-1 y Proestro fueron las etapas más sensibles ante la ausencia de ambas adrenales.

Ya que en la etapa del Proestro son las adrenales las que proporcionan el mayor aporte de P_4 (Flores *et al.*, 2008), sugerimos que la extirpación de ambas adrenales conllevó a una disminución en las concentraciones de dicha hormona, lo que puede conducir a una disminución en las concentraciones de gonadotropinas (Brann y Mahesh, 1991), y por ende se traduciría en un menor número de animales ovulantes.

Esto puede deberse al estrés en el sistema reproductivo ya que puede detonar una liberación de altas concentraciones de CRH lo que conlleva a la inhibición de la secreción de la GnRH (Kalantaridou, 2004). La capacidad de los glucocorticoides



para suprimir la función reproductiva en diferentes niveles puede tener un papel en el retraso de la reproducción en momentos de estrés (Rabin *et al.*, 1990).

Por otro lado, se conoce que la hipertrofia es un método de regulación de los órganos pares para mantener su función dentro del rango fisiológico; esta regulación incluye el crecimiento compensatorio de órganos pares, en la que uno se somete a la hipertrofia y/o hiperplasia después de la eliminación de uno de ellos (Ulrich *et al.*, 2002).

En la etapa de Estro y Diestro-1, tanto la glándula adrenal izquierda como la derecha *in situ*, tienen la misma capacidad de responder con hipertrofia la extirpación de una de ellas, mientras que en Diestro-2 sólo la adrenal izquierda presenta esta respuesta. Dallman y colaboradores en 1976, mencionaron que después de la adrenalectomía unilateral, la adrenal remanente aumenta rápidamente en un lapso de 24 horas y que dicho crecimiento compensatorio puede ser mediado por un reflejo neural que está comprendido por los aferentes de una adrenal, de la integración en el hipotálamo y de los nervios eferentes de la glándula adrenal contralateral. Tal crecimiento generalmente se cree que está mediado hormonalmente, sin embargo se ha demostrado que no es requerida una disminución de la concentración de corticosterona en la circulación, ni un incremento en la circulación de ACTH para el crecimiento compensatorio adrenal. Además de que el aumento de secreción de ACTH no es el único responsable en el aumento compensatorio adrenal, dicho proceso puede llevar al aumento de la glándula pero no en el índice mitótico, lo que si ocurre cuando se administran factores de crecimiento (Dallman *et al.*, 1977).

Estudios previos de Mackay y Mackay en 1925 mostraron que en ratas hembras a las que se les extirpo de manera aleatoria una adrenal, y permitieron un tiempo de recuperación de 40 o 90 días, la hipertrofia fue mayor a los 90 días, por lo



que concluyeron que el grado de hipertrofia de las adrenales depende del tiempo de recuperación después del tratamiento.

La inervación de los diferentes órganos endócrinos modula la acción de las hormonas sobre su órgano blanco. Las funciones corticales de la adrenal también son reguladas por nervios extrínsecos e intrínsecos de la glándula (Gerendai *et al.*, 2009).

Ante la ausencia de una adrenal a las 9:00 u 11:00 h, el ovario responde al estímulo con aumento en su masa, lo cual podría regularse mediante la inervación. Existe evidencia de una comunicación neural directa entre las gónadas y el SNC; el ovario recibe inervación motora simpática y parasimpática, esta última por el nervio vago y además posee fibras aferentes que viajan por ambas vías (Collins *et al.*, 1999; Gerendai *et al.*, 2000). También se ha demostrado que existe una vía multisináptica entre el cerebro y la glándula adrenal, la que apoya la idea de que el cerebro controla varias funciones del órgano, incluyendo la liberación de catecolaminas, hipertrofia adrenal compensatoria, el ritmo circadiano de la secreción de corticosterona y la regeneración del órgano (Gerendai *et al.*, 2000; Tóth *et al.*, 2008). Dicha conexión es mediante el nervio vago; ya que se han encontrado grupos de neuronas marcadas en el núcleo del tracto solitario y el núcleo motor dorsal del vago cuando se inyectan marcadores anterógrados en la adrenal (Gerendai *et al.*, 2009) se sabe también que en la glándula adrenal izquierda entra el vago dorsal subdiafragmático y el vago ventral (Nijima, 1992), los cuales descienden dorsalmente hacia los ganglios celiacos (Berthoud *et al.*, 1996). Con base en estos antecedentes podemos inferir que es mayor la información proveniente de la adrenal izquierda hacia la gónada ipsilateral, además de que al extirpar la adrenal derecha, lo que transporta el nervio vago desde el SNC puede llegar directamente a la gónada ipsilateral, ya que no es depositada en la glándula adrenal al haber sido extirpada; por lo que se sugiere recibe más información de dicho nervio; como los neurotransmisores que actúan a través de la activación del sistema de generación de AMP cíclico, Noradrenalina y



péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Dissen *et al.*, 2002); ya que estos promueven la formación de receptores a FSH en los folículos ováricos, por consiguiente promover el crecimiento folicular (Mayerhorfer, 1997), lo que podría conllevar a un aumento en la masa ovárica.

El aumento en la masa ovárica indicaría un mayor desarrollo folicular, pero al no encontrar en nuestros resultados un mayor número de ovocitos liberados, podemos sugerir que se sintetizó mayor cantidad de FSH, aumentó la sensibilidad de los folículos a dicha hormona, o bien hubo un factor que estimuló dicho proceso.

Existen factores neurotróficos que estimulan el desarrollo folicular; las neurotrofinas (NTs) tienen un papel importante tanto en el desarrollo folicular, producción de estrógenos y en la ciclicidad estral (Dissen *et al.*, 2002).

Tanto la corticosterona como la aldosterona pueden incrementar la expresión de los factores neurotróficos, debido a que encontramos un aumento en la masa de la adrenal *in situ* podemos sugerir que es de ahí de donde provienen altas concentraciones de los esteroides lo que induciría la síntesis del factor trófico, tal es el caso del NGF (Mocchetti *et al.*, 1996); El NGF es el miembro más prominente de las NTs; facilita el crecimiento de los folículos antrales, también como la inervación simpática extrínseca, participa en la ruptura folicular en el momento de la primera ovulación, sin embargo este ligando requiere de su receptor. NGF y trkA están presentes en las células de la teca y células intersticiales, trkA se encuentra en concentraciones altas poco antes del pico de LH preovulatorio (Dissen *et al.*, 2002), de ser lo contrario podría impedirse la ovulación, como ocurrió en el presente estudio.



El alargamiento del ciclo estral que se observó en los animales con adrenalectomía bilateral en la etapa del D-2 nos indica que la información proveniente de las adrenales forma parte del ambiente hormonal que se requiere para que se presente ciclicidad en los animales.

Las adrenales son el principal aporte de P_4 a lo largo del ciclo estral (Flores *et al.*, 2008), entonces, los resultados obtenidos en la masa de los órganos de los animales con adrenalectomía bilateral a las 11:00 h de Estro y Diestro-1 podrían ser debido a la disminución en la concentración del esteroide. Ya que la hormona también es el sustrato para la conversión a estrógenos por las células de los folículos ováricos (Palermo, 2007); los estrógenos son indispensables para el crecimiento y la maduración de los folículos, aumentan la división de células de la granulosa y aumenta la masa del ovario (Kaipia y Hsueh, 1997).

La extirpación de ambas adrenales a las 9:00 u 11:00 h mostró un aumento en la masa del ovario izquierdo o derecho; sin cambios en la ovulación, por lo que podemos sugerir que solamente se estimuló el desarrollo folicular. Asimismo proponemos que pudo haber participado un proceso para rescatar a los folículos de la atresia: a) la GH afecta el crecimiento folicular y la diferenciación; b) los factores de crecimiento que se producen localmente, como es el caso del IGF-I puede regular la foliculogénesis; c) las células de la granulosa expresan receptores para IGF-I y hacen sinergia con las gonadotropinas para promover la diferenciación de células de la granulosa (Kaipia y Hsuesh, 1997).

Una posible explicación a la disminución en la masa del útero en los animales con adrenalectomía bilateral, se relaciona con una menor producción de P_4 , debido a que al extirpar las glándulas se elimina el principal aporte del esteroide (Flores *et al.*, 2008), que como se sabe favorece la proliferación de las células del útero.



CONCLUSIONES

- ✚ Ambas adrenales estimulan el proceso de ovulación y los ovarios son más sensibles en las etapas del D-1 y P, ante la ausencia de la información proveniente de dichas glándulas.
- ✚ La información que proviene de una sola adrenal en la mañana del ciclo estral provee el ambiente hormonal necesario para culminar correctamente el proceso de ovulación y mantiene la ciclicidad de los animales.
- ✚ La adrenal izquierda como la derecha, tienen la misma capacidad de hipertrofia compensatoria y dicha regulación se puede dar a partir de las 72 hrs después de la adrenalectomía.



BIBLIOGRAFÍA

- ✚ **Álvarez DA, Pérez LH, De la Cruz MT, Quincosa TJ, Sánchez PA.** 2009. Fisiología del estrés. p. 237-239. En: Fisiología animal aplicada. Universidad Antioquia. Colombia.

- ✚ **Andreone L, Velásquez E, Abramovich D, Ambao V, Loreti N, Croxatto H, Parborell F, Tesone M, Campo S.** 2009. Regulation of inhibin/activin expression in rat early antral follicles. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 309:48-54.

- ✚ **Arce VM, Pablo FC, Mallo F.** 2006. Eje Hipotálamo Hipófisis Gónada. p.77-78, 89, 98-99. En: Endocrinología. Universidad de Santiago de Compostella, Universidad de Vigo.

- ✚ **Arimura A.** 2000. Hypothalamic Hormones. p. 41-58. In: Conn PM, Freeman ME (eds). *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa. New Jersey.

- ✚ **Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL.** 2013. Médula y corteza suprarrenales. p.337-360. En: Fisiología humana. 24ª ed. McGraw Hill. México.

- ✚ **Bergman RA, Afifi AK, Heider PM,** 1998. Sistema reproductor femenino. p. 307-320. En: Histología. Mc GrawHill Interamericana. México.

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



- ✚ **Botella J.** 1995. El ovario en vertebrados. p. 1-24. En: El ovario fisiología y patología. Díaz de Santos. Madrid, España.

- ✚ **Boya VJ.** 1996. Sistema Reproductor. p.317-323. En: Atlas de histología y organografía microscópica. Panamericana. México.

- ✚ **Brann DW, Mahesh VB,** 1991. Role of corticosteroids in female reproduction. The Journal of the federation of American Societies for Experimental Biology. 5:2691-2698.

- ✚ **Brann DW, Putnam CD, Mahesh VB.** 1991. Validation of the mechanisms proposed for the stimulatory and inhibitory effects of progesterone on gonadotropin secretion in the estrogen-primed rat. A possible role for adrenal steroids. Steroids 56:103-111.

- ✚ **Caravaca R,** 2005. Fisiología de la reproducción en las hembras. p. 61-68. En: Castel G, Guzmán G, Pertinez D, Mena G, Alcalde A, González R. (eds.). Bases de la reproducción animal. Universidad de Sevilla. España.

- ✚ **Cardinali P.** 2007. Fisiología del hipotálamo y del Sistema límbico. p. 347,352. En: Neurociencia aplicada: sus fundamentos. Panamericana. México.

- ✚ **Chen CC y Fernald RD.** 2008. GnRH and GnRH receptors: distribution, function and evolution. Journal of Fish Biology. 73:1099-1120.

- ✚ **Collins JJ, Lin CE, Berthoud HR, Papka RE.** 1999. Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. Cell and Tissue Research. 295:43-54.



- ✚ **Cortés GD, Villavicencio AA, Silva CC, Flores A.** 2014. Participación de las glándulas adrenales en la tarde de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación. LVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, 31 de Agosto al 4 de Septiembre. Oaxaca, Oaxaca.

- ✚ **Coupland RE, Parker TL, Kesse WK, Mohamed AA.** 1989. The innervation of the adrenal gland III Vagal innervation. *Journal Anatomy.* 163:173-181.

- ✚ **Couse J, Hewitt S, Korach K.** 2006. Steroids receptors in the ovary and the uterus. p: 593-678. In: *physiology of reproduction.* Knobil y Neill (eds). 3^{ra}. ed. Academic Press EUA.

- ✚ **Cuenca EM.** 2006. *Fundamentos de Fisiología.* p.371-372, 477. Paraninfo. México.

- ✚ **Cui D,** 2011. Sistema reproductor femenino. p.370-375. En: *Histología con correlaciones funcionales y clínicas.* Lippincott Williams y Wilkins. México.

- ✚ **Dallman MF, Engeland WC, Shinsako J.** 1976. Compensatory adrenal growth: a neutrally mediated reflex. *American Journal of Physiology.* 231: 408-414.

- ✚ **Dallman MF, Engeland WC, McBride MH.** 1977. The neural regulation of compensatory adrenal growth. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 297:373-392.

- ✚ **De Alba J.** 1964. Funcionamiento del sistema reproductivo en la hembra. p.58-59. En: *Reproducción y genética animal.* IICA Biblioteca Venezuela. Costa Rica.



- ✚ **Delarue C, Contesse V, Lenglet S, Perraudin V, Lefebvre H, Kodjo M, Leboulenger F, Yon L, Gallo-Payet N, Vaudry H.** 2001. Role of neurotransmitters and neuropeptides in the regulation of the adrenal cortex. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders.* 2:253-267.

- ✚ **Dissen GA, Ojeda SR.** 1999 Ovarian innervation. p. 583-589. In: Knobil E. and Neill JD. (eds) *Encyclopedia of Reproduction Vol. 3.* Academic Press. USA.

- ✚ **Dissen GA, Romero C, Paredes A, Ojeda SR.** 2002. Neurotropic Control of ovarian development. *Microscopy Research and Technique.* 59:509-515.

- ✚ **Domínguez R, Cruz-Morales S.** 2011. The ovarian innervation participates in the regulation of ovarian functions. *Endocrinology & Metabolic Syndrome.* 4:1-10.

- ✚ **Domínguez R, Morales L, Cruz ME.** 2003. Ovarian asymmetry. *Annual Review of Biomedical Sciences.* 5:95-104.

- ✚ **Estrada E, Uribe M.** 2002. Sistema endocrino. p. 175. En: *Atlas de histología de vertebrados.* Universidad Nacional Autónoma de México. México.

- ✚ **Ferin M.** 2006. Stress and reproductive system. p.2629. In: Knobil E and Neill's DJ (eds). *Physiology of Reproduction.* Vol. 2. 3rd Ed. Elsevier, USA.

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



- ✚ **Fox SI.** 2011. Fisiología Humana. p.333-336, 679, 702, 716,720-721. 12va ed. McGraw Hill. México.

- ✚ **Freeman ME.** 2006. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. p.2333-2335, 2349-2350. In: Knobil E and Neill's DJ (eds.). Physiology of Reproduction. Vol. 2. 3rd Ed. Elsevier, USA.

- ✚ **Funabashi T, Mitsushima D, Nakamura T, Uemura T, Hirahara F, Shinohara K, Suyama K, Kimura F.** 2002. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge generator in female rats. p.165-173. In: Parhar (ed.). Progress in Brain Research. Vol. 141. Elsevier Science.

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

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

- ✚ **Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői, Halász B.** 2009. Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervation of endocrine glands and other organs; observations obtained by the transeuronal viral double-labeling technique. Humana Press Endocrinology. 36:179-188.

- ✚ **Gutiérrez EM, Silva MC, Benítez DP, Muñoz CJ, Flores RA.** 2015. Las adrenales regulan la ovulación de manera asimétrica por la tarde del ciclo estral de la rata. XI Congreso de Investigación en la FES Zaragoza. Del 19-23 de Octubre. México, D.F.



- ✚ **Guyton AC, Hall JE.** 2001. Tratado de fisiología Médica. p. 848-849, 1045-1046. 10^{ma} Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México.

- ✚ **Hillier SG.** 2001 Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 179:39-46.

- ✚ **Hill RW, Wyse GA.** 2006. Reproducción. p: 507-508. En: *Fisiología animal. Médica Panamericana.* España.

- ✚ **Hillier SG, Zeleznik AJ, Knazek RA, Ross GT.** 1980. Hormonal regulation of preovulatory follicle maturation the rat. *Journal of Reproduction and Fertility.* 60:219-229.

- ✚ **Hoar WS, Hickman CP.** 1978. Manual de laboratorio para fisiología general y comparada. p.154. Omega. México.

- ✚ **Holzwarth MA, Cunningham LA, Kleitman N.** 1987. The role of adrenal Nerves in the regulation of adrenocortical functions. *Annals New York Academy of Sciences.* 512: 449-469.

- ✚ **Jácome R.** 2005. *Fisiología Endocrina.* p.43,44,63. 3^{ra} ed. Academia Nacional de Medicina. México.

- ✚ **Jeong KH, Kaiser UB.** 2006. Gonadotropin – Releasing Hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion. p. 1635-1636. In: Knobil E and Neill's DJ (eds.). *Physiology of Reproduction.* Vol. 1. 3rd Ed. Elsevier, USA.



- ✚ **Kaipia A, Hsueh A.** 1997. Regulation of ovarian follicle atresia. *Annual Reviews of the Physiology.* 59:349-363.

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

- ✚ **Kesse WK, Parker TL, Coupland RE.** 1988. The innervation of the adrenal gland I. the source of pre- and postganglionic nerve fibers to the rat adrenal gland. *Journal Anatomy,* 157: 33-41.

- ✚ **Kronenberg HM.** 2009. *Williams tratado de endocrinología.* p.92, 162,198-199. Elsevier. España.

- ✚ **Lawrence LE, JoAnne SR.** 2006 Ovulation. p .425-430. In: Knobil E and Neill's DJ (eds). *Physiology of Reproduction.* Vol. 1. 3rd. Ed. Elsevier, USA.

- ✚ **Loza AMC, Lemus AE, Pérez GP.** 1995. Metabolismo de hormonas esteroides. p.605-660. En: Díaz SJC, Hicks GJJ. (eds). *Bioquímica.* 2^{da} ed. Interamericana. MC Graw-Hill. México.

- ✚ **Mackay EM, Mackay LL.** 1925. Compensatory hypertrophy of the adrenal cortex. *Journal Experimental Medicine.* 43:395-402.

- ✚ **Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR.** 1992. Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. *Cell and Tissue Research,* 270:87-93.



- ✚ **Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR.** 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.

- ✚ **McDonald L.** 1983. Reproducción y endocrinología veterinaria. p.36-65 Interamericana. 2^{da} ed. México.

- ✚ **Mocchetti I, Spiga G, Hayes V, Isackson P, Colangelo A.** 1996. Glucocorticoids differentially increase nerve growth factor and basic fibroblast growth factor expression in the rat brain. *The Journal of Neuroscience*. 16:2141-2148.

- ✚ **Mohamed AA, Parker TL, Coupland RE.** 1988. The innervation of the adrenal gland II the source of splinal afferent nerve fibres to the guinea-pig adrenal gland. *Journal Anatomy*. 160:51-58.

- ✚ **Molina PE.** 2008. Fisiología endocrina. p. 1-32. 2^{da} ed. Mc Graw- Hill. México.

- ✚ **Nance D, Bhargava M, Myatt G.** 1984. Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Research Bulletin*. 13:651- 655.

- ✚ **Nijima A.** 1992. Electrophysiological study on the vagal innervation of the adrenal gland in the rat. *Journal of the Autonomic Nervous System*. 41:87-92.

- ✚ **Orisaka M, Orisaka S, Jiang J, Craig J, Wang Y, Fumikazu K, Tsang B.** 2006. Growth Differentiation Factor 9 is antiapoptotic during Follicular development from preantral to early antral stage. *Molecular Endocrinology* 20: 2456-2468.

- ✚ **Pagés CT, Blasco MJ, Palacios RL, Alfaro GV.** 2005. Fisiología animal. p. 113-114. Universidad de Barcelona. España.



- ✚ **Palermo R.** 2007. Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis. *Reproductive BioMedicine Online*. 15:326-337.

- ✚ **Parker TL, Kesse WK, Mohamed AA, Afework M.** 1993. The innervation of the mammalian adrenal gland. *Journal Anatomy*. 183:265-276.

- ✚ **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.

- ✚ **Peppler RD, Jacobs JJ.** 1976. The effect of adrenalectomy on ovulation and follicular development in the rat. *Biology of Reproduction*, 15: 173-178.

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

- ✚ **Pimentel KA.** 2011. Efectos de la adrenalectomía uni o bilateral en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ovulación. Tesis para obtener el título de Bióloga. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

- ✚ **Rabin DS, Johnson EO, Brandon DD, Liapi CL, Chrousos GP.** 1990. Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine Growth: possible role of the uterine estradiol receptor. *Biology of Reproduction*. 42:74-80.



- ✚ **Rajkovic A, Pangas SA, Matzuk MM.** 2006. Follicular development mouse, sheep and human models. p.384-387,389,399,404. In: Knobil E and Neill's DJ (eds.). Physiology of Reproduction. Vol. 1. 3rd Ed. Elsevier, USA.

- ✚ **Rodríguez J,** 1993. Ciclo estral de la rata. p. 147-150. En: de costa J, Madrid JA, Zamora S. (eds.). Manual de clases prácticas de fisiología animal. Vol.28. Editum. España.

- ✚ **Romero C, Paredes A, Dissen G, Ojeda S.** 2002. Nerve Growth Factor Induces the Expression of functional FSH Receptors in Newly formed follicles of the rat ovary. Endocrinology. 143:1485-1494.

- ✚ **Ross MH, Pawlina W.** 2007. Histología. p. 830-846, 742. Médica Panamericana. México.

- ✚ **Silva CC, Sánchez JO, Flores A.** 2013. ¿Qué papel juega cada glándula adrenal en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación de la rata por la noche de cada etapa del ciclo estral? LVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. Del 1-5 de Septiembre. Tlaxcala, Tlaxcala.

- ✚ **Simerly RB.** 2004. Anatomical substrates of hypothalamic integration. p. 335-337. In: Paxinos, G. (ed.). In: The Rat Nervous System. Elsevier. China.

- ✚ **Stjernquist M, Alm P, Ekman R, Owman C, Sjöberg, Sundler F.** 1985. Levels of neural vasoactive intestinal polypeptide in rat uterus are markedly changed in association with pregnancy as shown by immunocytochemistry and radioimmunoassay. Biology of Reproduction. 33: 157-163.



- ✚ **Swenson MJ, Reece WO.** 1999. Endocrinología, reproducción y lactación. p. 690-391. En: Fisiología de los animales domésticos de Dukes. Vol.2. 2^{da} ed. Uteha Noriega Editores. México.

- ✚ **Tanaka K, Matsugami T, Chiba T.** 2002. The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat. *Anatomy and Embryology.* 4:307-313.

- ✚ **Thomas FH, Vanderhyden B.** 2006. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 4:19.

- ✚ **Thornton J, Finn P.** 1999. Estrus. p. 136-141. In: In: Knobil E. and Neill JD. (eds) *Encyclopedia of Reproduction.* Vol 2. Academic Press. USA.

- ✚ **Tóth IE, Vizi S, Hinson J, Vinson G.** 1997. Innervation of the adrenal Cortex, its physiological Relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. *Microscopy Research and Technique,* 36: 534-545.

- ✚ **Tóth IE, Banczerowski P, Boldogkoi Z, Tóth JS, Szabó A, Halász B, Gerendai I.** 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.

- ✚ **Tresguerres JAF.** 2010. Fisiología humana. p. 940-950,1007-1021. 4^{ta} ed. McGraw Hill. México.

- ✚ **Tsafriri A, Kraicer PF.** 1972. The time sequence of ovum maturation in the rat. *Journal of Reproduction and Fertility.* 29: 387-393.



- ✚ **Tsafriri A, Lindner HR, Zor U, Lamprecht SA.** 1972. Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. *Prostaglandins*. 2: 1-10.

- ✚ **Ulrich Y, Marek DJ, Engeland WC.** 2002. Capsaicin-sensitive adrenal sensory fibers participate in compensatory adrenal growth in rats. *American Physiology Society*. 283:877-884.

- ✚ **Velázquez MJ, Domínguez SE, Gómez GB.** 2014. Hypothalamic neurohormones and immune responses. p.44. In: *Beyond the borders the gates and fences of neuroimmune interaction*. Vol.7. *Frontiers E. Books*. USA.

- ✚ **Vinson GP, Hinson JP, Tóth IE.** 1994. The Neuroendocrinology of the adrenal cortex. *Journal of Neuroendocrinology*. 6:235-246.

- ✚ **Williams, Dluhy.** 2006. Enfermedades de la corteza suprarrenal. p. 113-116. En: *Harrison Endocrinología*. Interamericana Mc Graw-Hill. España.

- ✚ **Whitworth EJ, Kostic O, Renshaw D, Hinson JP.** 2003. Adrenal Neuropeptides: Regulation and interaction with ACTH and other adrenal regulators. *Microscopy Research and Technique*. 61:259-267.

- ✚ **Wolf R, Meier-Fleitmann A, Düker EM, Wuttke W.** 1986. Intraovarian secretion of catecholamines, oxytocin, beta-endorphin, and Gamma-amino-butyric-acid in freely moving rats: development of a push-pull tubing method. *Biology of Reproduction*. 35,599-607.



- ✚ **Wong K, Adashi E.** 1999 Granulosa Cells. p. 569-572. In: Knobil E. and Neill JD. (eds) Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

- ✚ **Yao HH, Bahr JM.** 1999. Ovary, overview. p. 590-605. In: Knobil E. and Neill JD. (eds) Encyclopedia of Reproduction Vol. 3. Academic Press. USA.

- ✚ **Yen SSC.** 2001. Neuroendocrinología de la reproducción. p. 31-85, 46, 98, 108,17,182,311. En: Yen, S.S.C., Jaffe, R.B. y Barbieri, R.L. (eds.). Endocrinología de la Reproducción: fisiología, fisiopatología y manejo clínico. Médica Panamericana. Argentina.