



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**“LA INFORMACIÓN VAGAL REGULA LA ACTIVIDAD
OVÁRICA EN ANIMALES CON BLOQUEO DEL
SISTEMA COLINÉRGICO DEL NÚCLEO
SUPRAQUIASMÁTICO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

PRESENTA

JULIO CÉSAR GARCÍA TABLAS



DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

Ciudad de México

29 de Marzo 2016



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

**“LA INFORMACIÓN VAGAL REGULA LA ACTIVIDAD OVÁRICA
EN ANIMALES CON BLOQUEO DEL SISTEMA COLINÉRGICO
DEL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO”**

Tesis presentada por: Julio César García Tablas

Directora de tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la
Unidad de Investigación en Biología de la, UMIEZ, FES
Zaragoza, UNAM

Investigación realizada gracias al Programa UNAM DGAPA-
PAPIIT clave IN217016 y CONACyT clave 236908



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 "ZARAGOZA"
 DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 PRESENTE.

Comunico a usted que el alumno **GARCÍA TABLAS JULIO CÉSAR**, con número de cuenta **308044728**, de la carrera de Biología, se le ha fijado el día **29 de marzo de 2016** a las **11:00 hrs.**, para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE** Dra. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
- VOCAL** Dra. LETICIA MORALES LEDESMA
- SECRETARIO** Dra. PATRICIA ROSAS SAUCEDO
- SUPLENTE** M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ
- SUPLENTE** Dra. JUANA MONROY MORENO



El título de la tesis que presenta es: **La información vagal regula la actividad ovárica en animales con bloqueo del sistema colinérgico del núcleo supraquiasmático.**

Opción de titulación: Tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para salucarle.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 México, D. F., a 04 de febrero de 2016

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
 DIRECTOR



RECIBI
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.
 M. en C. ARMANDO GERVANTES SANDOVAL
 JEFE DE CARRERA

DEDICATORIA

A mi Papá: por haber estado siempre al pie del cañón, por enseñarme que sin sacrificio no hay recompensa, por ser mi modelo a seguir en cuanto a superación, por todas las enseñanzas que me ayudaron a ser la persona que hoy en día soy, y por todo el cariño que tanto a mis hermanos y a mí nos ha dado, gracias por ser el mejor papá.

A mi Mamá: por todos esos consejos que me ha dado a lo largo de mi vida, por todas esas preocupaciones que la he hecho pasar, por todos esos desvelos que le ocasiono al salir de madrugada y llegar al anochecer, por su cariño incondicional, y por ser la mejor mamá que Dios me pudo mandar.

A mis hermosas gemelas: porque siempre me reciben con una sonrisa, aun en los días en los que mis ánimos estaban por los suelos, por todo su cariño y por muchas cosas más.

A mi hermano mayor: por quererme tal como soy, porque lejos de juzgarme siempre me has apoyado, porque siempre que te he necesitado has estado para mí.

Este trabajo es de ustedes y para ustedes, ya que sin su todo su apoyo, cariño y la confianza que han depositado en mí, este trabajo nunca se hubiera llevado a cabo.

SON MI MAYOR TESORO, LOS AMO.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por permitirme culminar con éxito uno de mis sueños.

A la **UNAM**, por aceptarme dentro de sus estudiantes, y así ayudar a mi formación académica como ninguna otra escuela lo hubiera hecho, mil gracias.

A los miembros de mi comité tutor:

Dra. María Esther Cruz Beltrán

Dra. Patricia Rosas Saucedo

Dra. Leticia Morales Ledesma

Mtra. Angélica Flores Ramírez

Dra. Juana Monroy Moreno

Por haber enriquecido con sus conocimientos este trabajo, y por la amistad que me han brindado.

Al biólogo **Roberto Chavira**, por la colaboración en la medición de las concentraciones de hormonas que se utilizaron en este estudio.

Al personal del bioterio, en especial a la **Dra. Adriana**, al **Dr. Román** y la **Dra. Ely**, por el cuidado de los animales utilizados en este estudio, así como por haberme brindado su amistad.

A la **Dra. Lety**, no tengo palabras para agradecerle la paciencia, dedicación e innumerables consejos que me ayudaron a crecer, tanto en lo académico como en lo personal, así como el cariño que nos ha brindado a mis compañeros y a mí en nuestra estancia en el laboratorio.

A **Ely**, por ser como una mamá académica para mí, por haberme instruido desde mi entrada al laboratorio, por estar siempre pendiente de mí, del trabajo que tenía que realizar y por ayudarme a madurar académicamente día con día, gracias Ely.

A **Rosa, Gaby y Deyra**, por brindarme su amistad, su apoyo, así como por los consejos que me han dado desde que llegue al laboratorio, muchas gracias Doctoras.

A mi amigo **Iván**, por ese gran equipo de trabajo que junto con Ely formamos y que hicimos del trabajo algo muy liviano e incluso divertido, gracias amigo.

A mis amigas **Azu, Alina y Liz**, por que al poco tiempo de llegar al laboratorio me brindaron su amistad y confianza sin restricciones, gracias chicas.

A **Wendy** por que a pesar de que no entramos a la carrera al mismo tiempo, el compartir contigo el laboratorio ha sido una experiencia invaluable, gracias por tu amistad y cariño, te quiero mucho.

A **Misa, David, Chio, Vale, Nallely** y **Lulú**, que a pesar de ser los mas chiquitos del laboratorio, ha sido un placer contar con su presencia en mi estancia en el laboratorio.

Mención especial a **Daniel**, ha sido un placer compartir contigo tantas vivencias, aventuras, y demás cosas, no existe papel en donde pueda plasmar lo agradecido que estoy con Dios de haberte encontrado en 4º semestre y a pesar de altibajos, desde ese momento hasta la fecha la amistad y la unidad sigan casi como el primer día, **gracias Chaparro**.

A **Toño, Ely, Yael, Jess, Romina, Diego, Raúl** y en especial a **Fanny**, desde primer semestre han sido grandes amigos para mí, y así espero conservarlos siempre.

Sara, Aurora, Gaby, Diana, Shard, todos esos momentos que compartimos en el transcurso de la carrera jamás dejaran de ser de mis recuerdos favorito, las quiero.

A mis amigos del cubo, en especial a **Adriana y Rodrigo**, por esa amistad que me han brindado y por muchas cosas más.

A **Eyla, Daniel, Sully, Pime, Julio Reyes, Julio Rojas, Iván, Edgar; a Lucero, Cristian, Aarón y Jorge**, quienes me han demostrado que la amistad no tiene fecha de caducidad, y que a pesar de que no nos vemos tan seguido los puedo considerar parte vital de mi vida.

Por último y no menos importante, a **mis Ángelitos**, que aunque sé que no pueden leer esto, ellos siempre han cuidado de mí y de mi familia, gracias por cuidarnos y espero que así sea hasta el momento en que nos volvamos a encontrar.

ÍNDICE

	Páginas
- RESUMEN.....	1
- INTRODUCCIÓN.....	3
- MARCO TEÓRICO.....	5
○ Ovario.....	5
○ Foliculogénesis.....	6
○ Ovulación.....	10
○ Esteroidogénesis.....	11
○ Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario.....	13
○ Inervación parasimpática del ovario.....	15
○ Núcleo supraquiasmático, generalidades.....	17
▪ Aferencias y eferencias.....	18
▪ Acetilcolina.....	21
- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
- HIPÓTESIS.....	29
- OBJETIVOS.....	29
- MATERIAL Y MÉTODO.....	30
- RESULTADOS.....	35
- DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	43
- MODELO.....	49
- CONCLUSIONES.....	50
- BIBLIOGRAFÍA.....	51

RESUMEN

En los mamíferos, el núcleo supraquiasmático (NSQ) es una estructura bilateral que se localiza en la porción ventral del hipotálamo anterior, ventrolateral al receso óptico del tercer ventrículo y dorsal al quiasma óptico. En dicho núcleo se generan los ritmos circadianos encargados de la liberación de hormonas sexuales.

El NSQ envía información de tipo simpática y parasimpática al núcleo paraventricular (NPV), el cual mantiene una comunicación directa con dos de los núcleos que dan origen al nervio vago.

Por el nervio vago transcurre, entre otras, información de naturaleza colinérgica, es una vía de comunicación entre el ovario y el sistema nervioso central. La participación del vago en la regulación de las funciones ováricas es asimétrica y varía durante el ciclo estral.

Para analizar si el nervio vago es la vía de comunicación entre el NSQ y los ovarios, en el presente estudio se analizaron los efectos de la sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) en el animal con bloqueo de los receptores muscarínicos del NSQ-Izquierdo o NSQ-Derecho en la mañana del proestro sobre la ovulación espontánea y la secreción de hormonas esteroides ováricas. Para ello se utilizaron ratas cíclicas de la cepa CII-ZV, las cuales fueron anestesiadas a las 9:00 h del proestro y se les realizó el bloqueo del sistema muscarínico del NSQ-Izquierdo o Derecho, por la microinyección de 62.5 ng de atropina (ATR) disueltos en 0.3 µl de solución salina seguido de la sección ipsilateral del nervio vago, o de la operación simulada ventral o laparotomía (OSV). Como grupos de comparación se utilizaron animales con microinyección de solución salina (VH) seguido de la sección del vago izquierdo o derecho o con laparotomía y animales a los que se les practicó la operación simulada (OS) del NSQ-Izquierdo o Derecho seguida o no de la SNVI o SNVD. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

La micro-inyección unilateral de ATR resultó en el bloqueo parcial de la ovulación en comparación con los animales microinyectados con VH. En estos animales la OSV restableció la ovulación en el 80% de los animales. Efecto que no se produce por la sección del nervio vago izquierdo.

La microinyección de ATR en el supraquiasmático izquierdo resultó en la disminución de la concentración sérica de progesterona, hecho que se ve revertido al practicar la OSV donde se restablece la concentración. En los animales con ATR la sección del nervio vago izquierdo o derecho no modificó la concentración de la hormona, respecto al grupo con ATR y vago intacto.

La microinyección de ATR en el supraquiasmático izquierdo no modificó la concentración de estradiol, en comparación con los animales a los que solo se les administró el VH; este efecto no es mantenido al realizar la OSV ya que la concentración de la hormona disminuyó de manera significativa.

Los resultados permiten sugerir que a las 9:00 h del proestro, el sistema colinérgico de ambos supraquiasmáticos regula de manera estimulante los eventos que culminan con la ovulación, y que el nervio vago izquierdo puede ser una vía de información entre el NSQ y los ovarios. El sistema colinérgico del supraquiasmático regula de manera estimulante la síntesis de progesterona, mientras parece no participar en la de estradiol.

INTRODUCCIÓN

En los mamíferos el núcleo supraquiasmático (NSQ), es el marcapasos que dirige los ritmos biológicos, se sincroniza con el medio ambiente externo a través de proyecciones neuronales que provienen directamente de las células ganglionares fotosensibles de la retina (Moore y Eichler, 1972; Stephan y Zucker, 1972; Berson y col., 2002). En muchas especies los mecanismos neuronales que regulan la ovulación están bajo el control del NSQ, lo que garantiza que el momento de mayor fertilidad coincida con el período de máxima motivación sexual. Este control circadiano es dependiente de la concentración del estradiol en el ciclo reproductivo lo que asegura la correcta maduración del ovocito en el momento de la ovulación (Wilbur y col., 2012). El NSQ proporciona una señal diaria que estimula el eje reproductivo en cada día del ciclo estral, en roedores dicho estímulo es precedido de la fase de actividad (Kriegsfeld y Silver, 2006).

Estudios anteriores han demostrado que es necesaria la integridad de ambos núcleos supraquiasmáticos para que se lleve a cabo la ovulación. Cuando se realiza una lesión térmica en el supraquiasmático izquierdo o derecho en el día del diestro 1 se bloquea completamente la ovulación, mientras que si se realiza en el día del estro el bloqueo es total si el lado lesionado es el izquierdo, y ovula el 40% de los animales cuando la lesión es del lado derecho (Silva, 2013). Del mismo modo, cuando se realiza el bloqueo del sistema colinérgico del supraquiasmático por la microinyección de atropina a las 9:00 horas del día del proestro resulta en el bloqueo de la ovulación, efecto que no se observa si la microinyección se realiza a las 19:00 h (Lagunas, 2014).

El NSQ envía información de tipo simpática y parasimpática al núcleo paraventricular (NPV), el cual mantiene comunicación directa con dos de los núcleos que dan origen al nervio vago: el núcleo del tracto solitario (NTS) y el núcleo dorsal motor del vago (NDMV) (Buijs y col., 2003).

El nervio vago es un nervio mixto (motor y sensitivo) cuyas fibras se originan de grupos celulares provenientes de: 1) el núcleo motor principal (ambiguo) 2) el núcleo parasimpático (motor dorsal del vago) 3) el núcleo sensitivo (del tracto solitario) 4) el núcleo espinal del nervio trigémino (Gerendai y col., 2000).

La información que transcurre por el nervio vago es de naturaleza parasimpática y conlleva neurotransmisores como: la sustancia P (SP), el péptido relacionado con el gen que codifica a la calcitonina (CGRP), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la acetilcolina (Ach) (Gerendai y col., 2000).

La ovulación y la esteroidogénesis ovárica dependen de la integridad de uno o ambos nervios vago. En el animal adulto la sección del vago izquierdo bloquea la ovulación en el 50% de los animales, mientras que la sección del nervio vago derecho no modifica la respuesta ovulatoria (Cruz y col., 1986). La modulación que ejerce el nervio vago en las funciones ováricas depende de la edad del animal; cuando se realiza la vagotomía unilateral en el animal de 24 o 28 días de edad, no se modifica la concentración de progesterona, pero disminuye la de estradiol. La sección bilateral del vago incrementa la concentración de progesterona, mientras que la de estradiol en suero no se modifica (Morales y col., 2004).

Estudios anteriores han establecido la vía neural de comunicación entre los ovarios y el sistema nervioso central (SNC) (Gerendai y col., 2000; Toth y col., 2007). Dado que por el nervio vago transcurre información de tipo colinérgica y que en el NSQ existen neuronas que sintetizan acetilcolina, en el presente estudio se analizó si el nervio vago puede ser la vía de comunicación entre los ovarios y el NSQ.

MARCO TEÓRICO

OVARIO

En la rata adulta los ovarios tienen un peso aproximado de 30 mg cada uno y miden 4.35 mm de ancho, 5.5 mm de largo y un grosor de apenas 1.6 mm aproximadamente (Navarrete, 2014).

Las gónadas se localizan en la pelvis fijados a la superficie posterior del ligamento ancho por medio de un pliegue peritoneal denominado mesovario. Su aporte nervioso, vascular y linfático ocurre precisamente a través del mesovario, que juntamente con otras estructuras fibromusculares, mantienen el ovario en posición a la entrada de las trompas de Falopio y unido al útero (Tresguerres y col., 2005).

El ovario presenta tres regiones, la médula, corteza y el hilio. La médula está compuesta por un grupo celular heterogéneo, la corteza está formada por células germinales (ovocitos) rodeadas de complejos celulares inmersos en el estroma formando los folículos ováricos, recubiertos por un epitelio celómico denominado epitelio germinal y es aquí donde van a ocurrir la mayoría de los cambios asociados con la producción de hormonas esteroideas y la ovulación (Tresguerres y col., 2005).

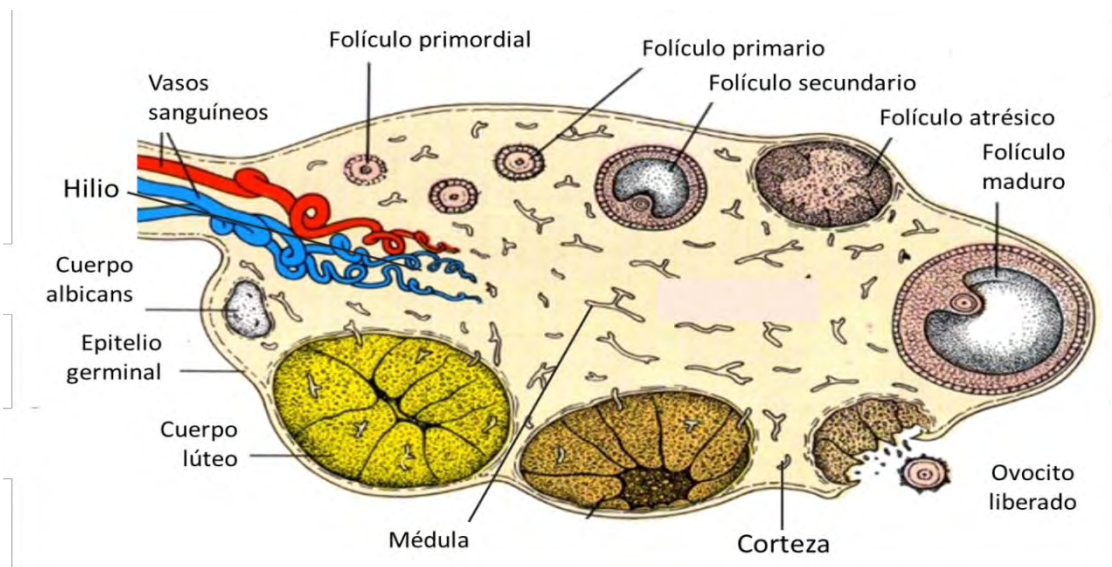


Figura 1. Esquema que muestra la maduración folicular, la expulsión del ovocito, así como la formación del cuerpo lúteo. Tomado y modificado de Junqueira y Carneiro, 2005.

El hilio contiene nervios, vasos sanguíneos y linfocitos, tejido conectivo de sostén y algunas células esteroidogénicas denominadas células hiliares (Figura 1).

FOLICULOGÉNESIS

El folículo ovárico constituye la unidad anatómica y funcional de los ovarios. A medida que el folículo se modifica morfológicamente, existen cambios bioquímicos que reflejan el proceso de diferenciación celular. Un factor importante en esta cito-diferenciación es la expresión de receptores que permiten a las células foliculares responder a distintos estímulos, promoviendo en ellas la síntesis de hormonas esteroides (progestinas, andrógenos, estrógenos) y de factores de crecimiento. Para su estudio, los folículos se clasifican en primordiales, primarios, secundarios y preovulatorios o terciarios. En cualquiera de los estados de desarrollo los folículos pueden llegar a la atresia (Vantman y Vega 2010).

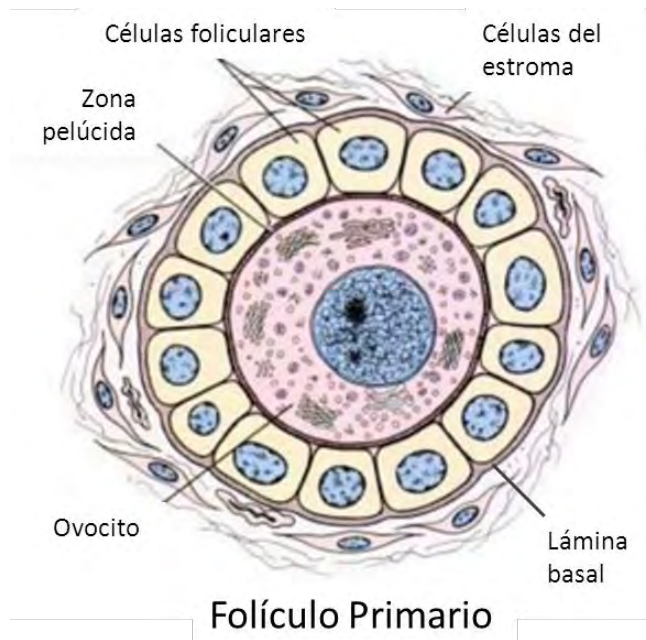


Figura 2. Esquema de un folículo primario conformado por el ovocito rodeado de la zona pelúcida y esta a su vez de células foliculares. Tomado y modificado de Ross y Pawlina, 2008.

El crecimiento y desarrollo de los folículos a partir de los folículos primarios hasta folículo preovulatorio involucra proliferación de las células de la granulosa (CG) y el crecimiento del ovocito I y por lo tanto, aumento del diámetro folicular. En la etapa del folículo primario se forma la zona pelúcida, así como células foliculares que rodean completamente al ovocito (Figura 2). Además, aumentan considerablemente el número de mitocondrias y ribosomas, así como, de los organelos del ovocito (Vantman y Vega 2010).

Mediante proliferación mitótica rápida la mono capa de células foliculares da origen a un epitelio estratificado y es entonces cuando las células foliculares reciben el nombre de células de la granulosa. Conforme la proliferación de las células de la granulosa aumenta, las células perifoliculares del estroma forman una vaina de células conjuntivas conocida como teca folicular, y se distinguen dos capas, la teca interna y la teca externa (Ross y Pawlina, 2008).

La teca interna es la capa más profunda y vascularizada, sus células cuentan con un gran número de receptores a hormona luteinizante (LH), haces de fibras colágenas y una red extensa de vasos pequeños típica de órganos endócrinos. La teca externa es la capa más superficial de células del tejido conjuntivo, está compuesta principalmente de células musculares lisas y haces de fibras colágenas (Ross y Pawlina, 2008).

Cuando la capa de las células de la granulosa alcanza un espesor aproximado de 6 a 12 estratos aparecen cavidades llenas de líquido, llamado líquido folicular. Este líquido, al ser mas abundante, va a hacer que estas cavidades confluyan y así tomar una forma semejante a la media luna llamada antro folicular y es entonces que el folículo primario ha pasado a ser un folículo secundario (figura 3)

(Ross y Pawlina, 2008).

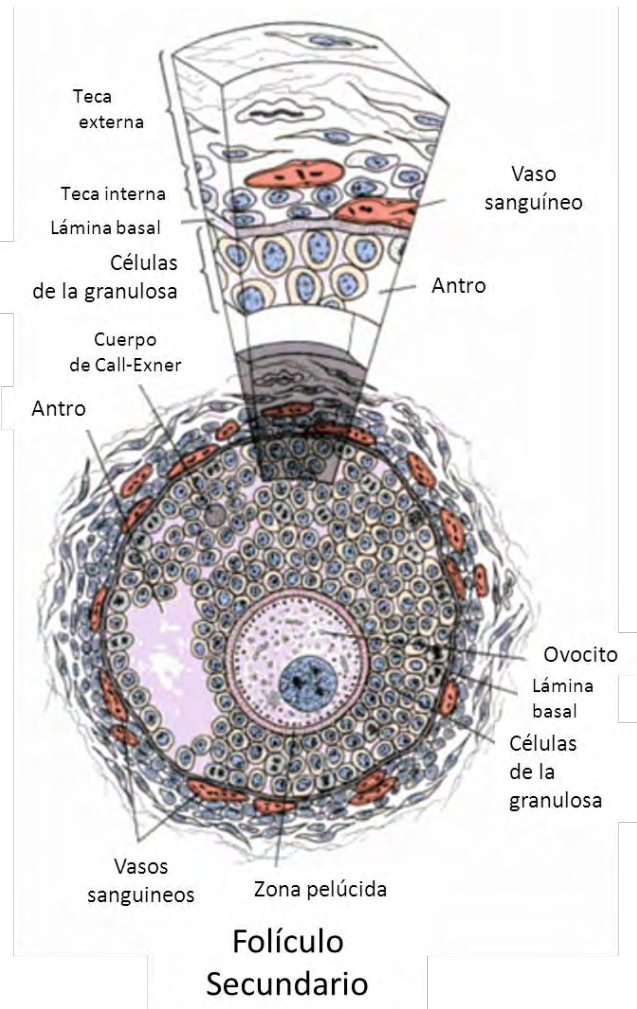


Figura 3. Esquema de un folículo secundario conformado por el ovocito rodeado de la zona pelúcida y esta a su vez de células de la granulosa. También se muestra el antro folicular, la lámina basal así como los vasos sanguíneos, la teca interna y externa. En la ampliación se distinguen con mayor claridad la disposición de la cavidad antral junto a las células de la granulosa, la lámina basal, vasos sanguíneos y las capas de la teca. Tomado y modificado de Ross y Pawlina, 2008.

En el folículo secundario se inicia la expresión de receptores para la Hormona Folículo Estimulante (FSH) en las células de la granulosa, alrededor de 1.500 receptores por célula, los cuales no están aún activos para regular la síntesis de estradiol y permanecen constantes durante el resto del proceso de foliculogénesis. También, comienzan a expresarse los receptores para estradiol y el desarrollo de un aporte sanguíneo adecuado, a través del cual llegan al folículo en desarrollo las gonadotropinas hipofisarias, factores de crecimiento, iones y otros metabolitos (Vantman y Vega 2010).

Conforme el folículo secundario aumenta de tamaño el antro lo hace de igual manera. La capa de las células de la granulosa adoptan un grosor uniforme excepto en una región que se asocia con el ovocito, formando un montículo abultado llamado cúmulo oóforo, el cual se proyecta dentro del antro. Estas células van a cubrir inmediatamente al ovocito, adoptando el nombre de corona radiada y van a permanecer con él hasta el momento de la ovulación; con este aumento de tamaño y nuevas estructuras el folículo secundario va a pasar a ser un folículo terciario o preovulatorio (Figura 4) (Ross y Pawlina, 2008).

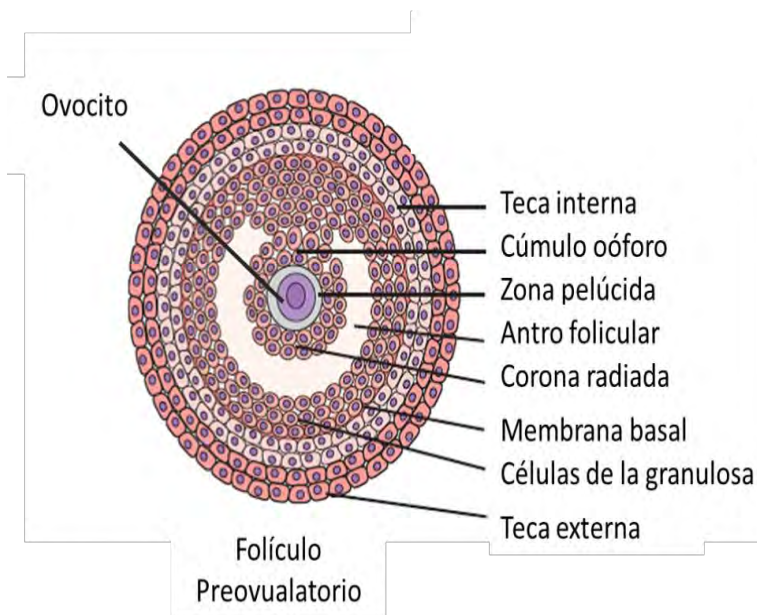


Figura 4. Esquema de un folículo terciario o preovulatorio, conformado por el ovocito rodeado de la zona pelúcida y esta a su vez, de células de la granulosa que forman la corona radiada y están unidas al cúmulo oóforo. También se muestra el antro folicular de mayor tamaño, la lámina basal así como la teca interna y externa. Tomado y modificado de Ross y Pawlina, 2008.

En este estadio de desarrollo se inicia la formación de uniones comunicantes o “gap junction” en las células tecales, células de la granulosa entre sí y células de la corona radiada con el ovocito, lo cual implica que las células de la granulosa y el ovocito están eléctrica y metabólicamente acoplados desde esta etapa del desarrollo, permitiendo una sincronización funcional en respuesta a la estimulación por diversos factores (Erickson, 1987; Findlay y col., 1994).

La coordinación funcional entre células de la teca interna y células de la granulosa facilita la síntesis de estradiol. La adquisición de los receptores de estradiol es un proceso importante en el desarrollo del folículo ya que tiene un papel permisivo de la acción de FSH, induciendo la formación de AMP cíclico, lo que resulta en el aumento de la sensibilidad de las células de la granulosa a la concentración relativamente disminuida de FSH presente en el fluido folicular del folículo terciario. En consecuencia, el desarrollo folicular depende de los efectos tróficos de las gonadotropinas, generándose una cohorte de folículos en crecimiento de los cuales se seleccionará el folículo dominante (Vantman y Vega 2010).

En esta etapa de desarrollo, las células de la granulosa que ya han expresado receptores para FSH y estradiol, desarrollan además, receptores para la LH, inducidos por FSH y estradiol. A diferencia de lo descrito para los receptores de FSH, la concentración de los receptores de LH cambia durante la diferenciación de las células de la granulosa. De esta manera, las células de la granulosa de folículos antrales pequeños y medianos no expresan prácticamente receptores para LH; sin embargo, esta situación se revierte al finalizar el crecimiento folicular, observándose aproximadamente 20.000 receptores para LH por célula en un folículo dominante, inmediatamente antes del pico preovulatorio de la concentración plasmática (Vantman y Vega 2010).

OVULACIÓN

Cuando el folículo alcanza el estado de folículo preovulatorio, se produce su ruptura con liberación del ovocito contenido en su interior juntamente con el cúmulo oóforo que lo rodea. La ruptura de la membrana folicular ocurre por acción del activador del plasminógeno, proveniente de las células foliculares, que se encuentra presente en el líquido folicular, que cataliza la conversión del plasminógeno en plasmina, enzima proteolítica capaz de romper la membrana basal, y que actúa sobre el tejido conectivo de la teca. El proceso de la ruptura folicular está mediado también por una especie de “reacción inflamatoria” local dependiente de histamina, por colagenasas o por la contractura folicular inducida por prostaglandinas (Tresguerres y col., 2005).

La LH actúa sobre el folículo ya maduro generando toda una serie de eventos que van a desembocar en la ovulación. Además, actúa sobre las células de la teca y también sobre las granulosa maduras, las luteiniza transformando el folículo en cuerpo lúteo, el cual incrementa la producción de progesterona. La LH produce además la lisis de las células del cúmulo oóforo y reanuda la maduración del ovocito. Esto último parece que tiene lugar por la apertura de las uniones gap o nexos de las células granulosa de la corona radiada, con lo que ésta se hace más permeable a sustancias inductoras de la meiosis procedente de células granulosa al ovocito por eliminación de las comunicaciones a través de la membrana pelúcida. La LH es, pues, responsable de la ovulación, la maduración del ovocito y la luteinización del folículo (Tresguerres y col., 2005).

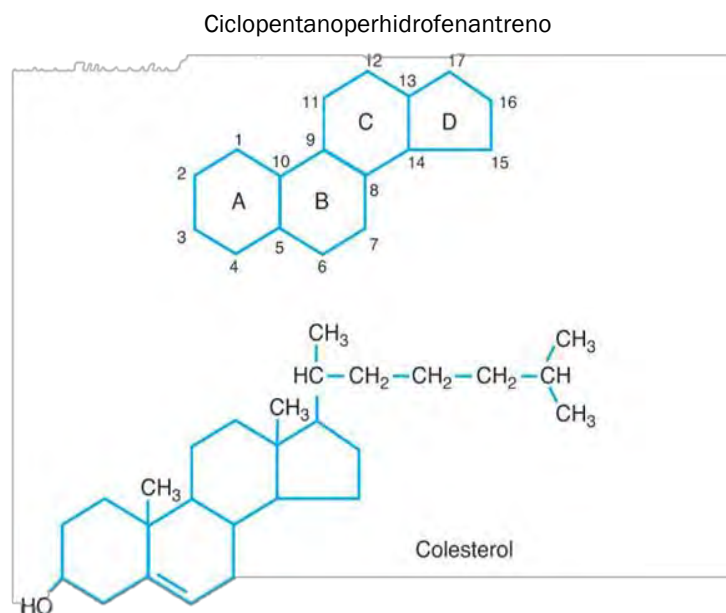
ESTEROIDOGÉNESIS

Las hormonas esteroideas sexuales se sintetizan principalmente en los ovarios, a partir del colesterol, y en menor medida a partir de la acetil coenzima A, (Guyton y Hall, 2006) la concentración de estas va a depender del día del ciclo estral (Bajo y Coroleu, 2009).

El colesterol circula ligado a varios tipos de lipoproteínas y aunque las células esteroideas pueden sintetizar las hormonas esteroideas a partir de acetato, la fuente principal es el colesterol (Bajo y Coroleu, 2009). Para que el colesterol sea internalizado a la célula se vale de la ayuda de los receptores para la Lipoproteína de baja densidad (LDL), para después ser transportado e internalizado en la mitocondria donde empezará el proceso de esteroideogénesis, esto, mediado por una serie de proteínas transportadoras intracelulares que se conocen con las siglas SCP2 (proteína transportadora de esteroides 2), SAP (polipéptido activador de la esteroideogénesis) y la StAR (proteína reguladora de la esteroideogénesis aguda); esta última la más conocida y más relacionada con la síntesis de esteroides (Bajo y Coroleu, 2009).

Los esteroides sexuales comparten entre sí, e incluso con el colesterol que los origina, un componente básico llamado ciclopentanoperhidrofenantreno, el cual cuenta con un anillo pentano así como tres hexanos, los cuales sumados a cadenas laterales representan una molécula de 27 carbonos (Figura 5).

Figura 3.
Ciclopentanoperhidrofenantreno y
colesterol.
Tomada de Laguna y col., 2013



Una vez que el colesterol es internalizado en la mitocondria se inicia el proceso enzimático que va a dar lugar a la síntesis de hormonas esteroideas que es de carácter irreversible y consiste en la pérdida progresiva de carbonos junto con la adición o pérdida de dobles enlaces y grupos hidroxilo, hasta que se llegue a la molécula de 21 carbonos para los progestágenos, 19 para los andrógenos y 18 para los estrógenos (Bajo y Coroleu, 2009).

En la primera etapa de la esteroidogénesis el colesterol es transformado a pregnenolona mediante la fragmentación del carbono 21 de la cadena lateral que se sitúa en el carbono 17, con ayuda del complejo enzimático P450_{scc}. La biosíntesis sigue después la vía Δ -4 en el cuerpo lúteo, que empieza con la conversión de pregnenolona a progesterona en presencia de la enzima 3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa 3 β HSD. Seguida a esta conversión, la progesterona resultante va a pasar a ser 17-OHprogesterona con ayuda de la 17-hidroxilasa, y por último la 17-OHprogesterona va a sufrir la conversión a androstenediona en presencia de la 17,20 liasa. El folículo ovárico preferentemente sigue la vía Δ -5, ya que las células tecales son capaces de metabolizar más eficientemente, y con ayuda de la 17-hidroxilasa, la 17-hidroxipregnenolona que la 17-hidroxiprogesterona (Tresguerres y Castillo, 2005), para después, convertirse en dihidroxiepianrostenediona (DHEA) con ayuda de la 17,20 liasa. A partir de la pregnenolona se debe llegar a una molécula mas pequeña de 19 carbonos con 2 cetonas: la androestenediona (Bajo y Coroleu, 2009).

Tanto las células tecales y el cuerpo lúteo son capaces de sintetizar elevadas concentraciones de andrógenos, mientras que las células granulosas no son capaces de ello. El último paso para la biosíntesis de los estrógenos es la aromatización del anillo A de los andrógenos utilizando la aromatasa, que está presente en grandes cantidades en las células de la granulosa, por lo que estas células son capaces de transformar los andrógenos en estrógenos (Figura 6) (Tresguerres y Castillo, 2005).

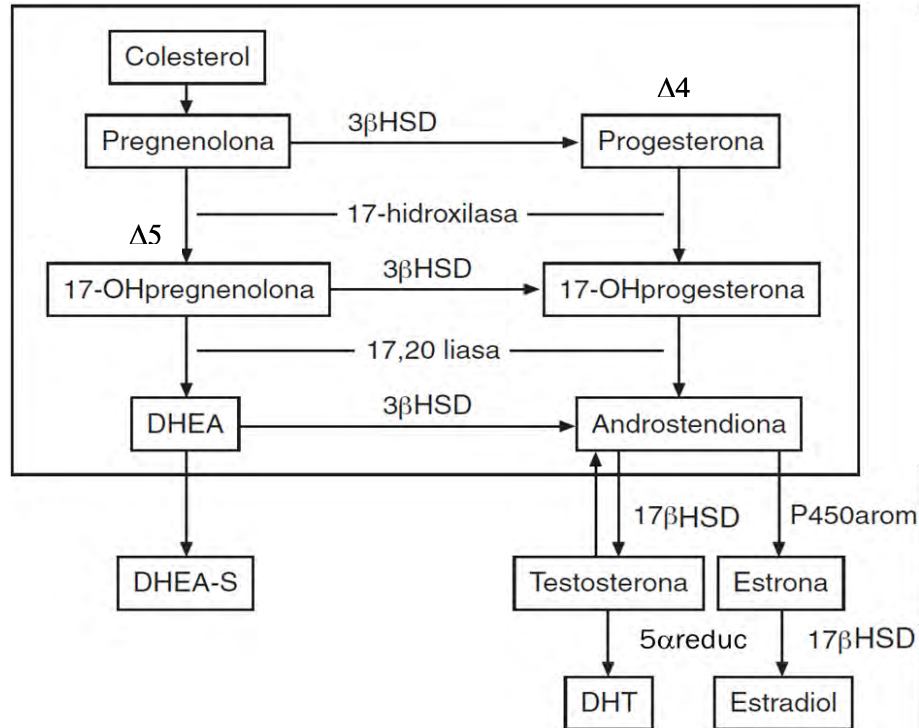


Figura 6. Vías de biosíntesis de hormonas esteroides en el ovario. Después de que el colesterol es internalizado en la mitocondria, este va a pasar a pregnenolona y seguir la ruta $\Delta 5$ (delta 5), o mediante la enzima 3β HSD (3-beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa) pasará a ser progesterona y aquí seguir la ruta $\Delta 4$ (delta 4). Tomada y modificada de Ibañez y Potau, 2007.

EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-OVARIO

El hipotálamo, la hipófisis y el ovario constituyen un eje neuroendocrino. En este eje, la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es la neurohormona hipotalámica encargada de regular la secreción de la FSH y la LH, sintetizadas por la adenohipófisis (Costoya y Arce, 2005).

La GnRH es un decapeptido de cadena sencilla que se origina a partir de un precursor de 92 aminoácidos (la preproGnRH). Este precursor contiene en su secuencia un péptido de 56 aminoácidos denominado GAP (del inglés GnRH-associated peptide), que se libera junto con la GnRH madura (Costoya y Arce, 2005). La función del GAP es estimular la liberación de LH y FSH e inhibir la de prolactina (Herbison, 2006). La GnRH está codificada por un gen que, en el ser humano, se localiza en el cromosoma 8 y consta de 4 exones (Costoya y Arce, 2005).

En los roedores las neuronas productoras de GnRH se encuentran dispersas por todo el hipotálamo, aunque son más abundantes en el núcleo arcuato y en el hipotálamo anterior. La mayor parte de estas neuronas proyectan sus axones a la eminencia media, donde liberan la GnRH, que alcanza la hipófisis para estimular la secreción de gonadotropinas. Algunas neuronas GnRHérgicas no proyectan sobre la eminencia media, sino que extienden sus axones a otras regiones hipotalámicas e incluso fuera del hipotálamo. Se plantea que estas neuronas participan en la regulación de cambios conductuales relacionados con la reproducción (Costoya y Arce, 2005).

La GnRH se une a receptores específicos pertenecientes a la familia de receptores acoplados a proteínas G, que principalmente se localizan en los gonadotropos. En el ser humano existen dos receptores de GnRH, denominados GnRHR y GnRHR2. La acción de la GnRH sobre la adenohipófisis es estimular la secreción de LH y FSH (Costoya y Arce, 2005).

La GnRH es liberada de forma pulsátil y depende de la actividad intrínseca de las neuronas productoras de la neurohormona, constituyendo lo que se conoce como generador hipotalámico de pulsos. La modificación en la pulsatilidad de la GnRH (frecuencia y amplitud) es capaz de desencadenar, en las células gonadotropas de la hipófisis, la liberación de LH y FSH. La magnitud de la respuesta es proporcional al ambiente estrogénico. Las altas concentraciones de estrógenos durante la maduración folicular disminuye las concentraciones de LH y FSH circulantes, lo que se conoce como “feedback” de tipo negativo. En la fase ovulatoria, se convierte en un “feedback” positivo que determina la presencia del pico ovulatorio de LH y FSH (Costoya y Arce, 2005).

Las funciones ováricas van a ser reguladas por este eje neuroendócrino, así como por la inervación que recibe (Dissen y Ojeda, 1999).

INERVACIÓN PARASIMPÁTICA DEL OVARIO

La inervación extrínseca del ovario está dada por fibras de carácter simpático, provenientes del nervio ovárico superior (NOS) y del nervio del plexo ovárico (NPO); fibras sensoriales y fibras de tipo parasimpático aportadas por el nervio vago (Dissen y Ojeda, 1999).

Los núcleos vagales situados en la región del bulbo se distribuyen como: dorsales motor y sensitivo (parasimpático), el núcleo ambiguo (motor visceral) y el núcleo del tracto solitario (sensitivo visceral). Las fibras sensitivas somáticas probablemente se conectan con el núcleo sensitivo del trigémino (Figura 7) (Lumley y col., 1985).

El núcleo motor principal corresponde al núcleo ambiguo, el cual se ubica en la formación reticular del bulbo raquídeo, recibe conexiones de ambos hemisferios cerebrales mediante fibras corticonucleares. Las fibras eferentes que se originan en este núcleo proporcionan la inervación al paladar blando, a los músculos constrictores de la faringe y a los músculos intrínsecos de la laringe (Meilán y Quecedo, 2000).

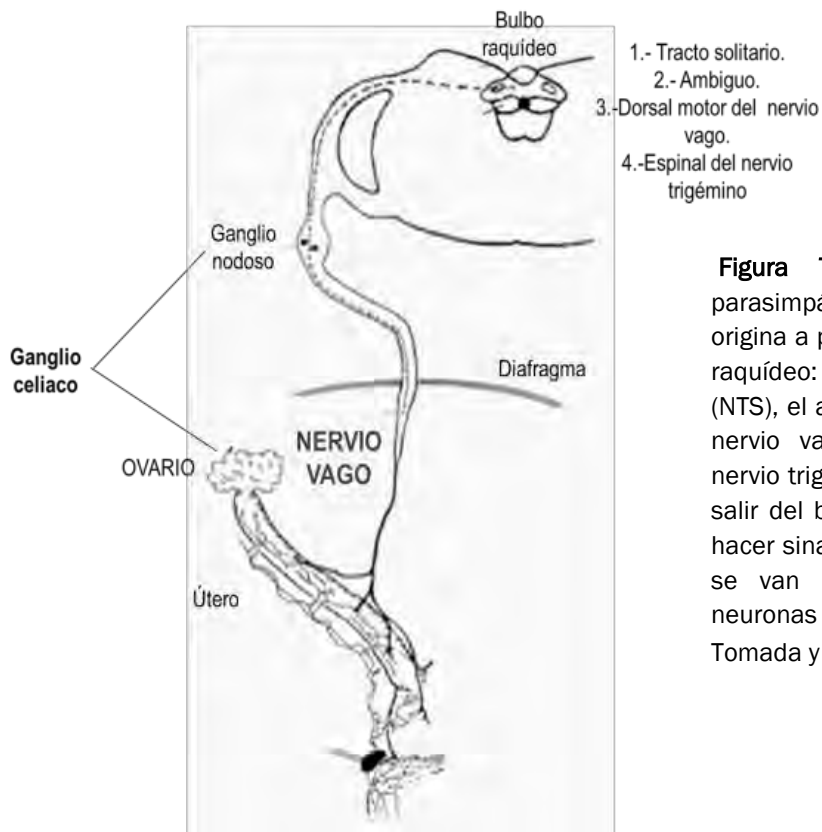


Figura 7.- Origen de la inervación parasimpática del ovario. El nervio vago se origina a partir de cuatro núcleos del bulbo raquídeo: el núcleo del tracto solitario (NTS), el ambiguo (NA), el dorsal motor del nervio vago (NDMN) y el espinal del nervio trigémino (NENT). Estas fibras van a salir del bulbo raquídeo y descender para hacer sinapsis en el ganglio nodoso donde se van a originar los somas de las neuronas que inervan a los ovarios. Tomada y modificada de Collins, 1999.

El núcleo parasimpático corresponde al núcleo motor dorsal del vago, el cual se ubica bajo el piso de la mitad inferior del cuarto ventrículo posterolateral al núcleo hipogloso. Este núcleo recibe aferencias del hipotálamo a través de las vías autonómicas descendentes y del núcleo del tracto solitario relacionadas con el reflejo del seno carotideo. Los axones que se originan en este núcleo constituyen las fibras parasimpáticas preganglionares del vago que se distribuyen en los sistemas cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal del tórax y abdomen (músculatura lisa bronquial, corazón, esófago, estómago, intestino delgado hasta los dos tercios proximales del colon transversal) (Meilán y Quecedo, 2000).

El núcleo sensitivo del vago lo conforma el núcleo del tracto solitario. Las fibras gustativas del vago se originan en neuronas pseudo-unipolares cuyo soma está en el ganglio inferior del vago (Meilán y Quecedo, 2000).

El nervio sale del bulbo por fuera de la oliva en forma de pequeñas raíces y del cráneo a través del agujero rasgado posterior, con el seno petroso inferior y el nervio glossofaríngeo medialmente y el nervio espinal y la vena yugular interna lateralmente. Desciende por el cuello y el tórax hasta el plexo esofágico en donde se une con el nervio del otro lado para formar los troncos vagales anterior y posterior. Junto a la base del cráneo el vago conforma los ganglios sensitivos superior e inferior (Meilán y Quecedo, 2000).

El nervio vago está profundamente situado en la vaina carotidea (paquete vasculonervioso del cuello), entre la vena yugular interna (lateralmente) y la arteria carótida (medialmente), localizándose sobre la aponeurosis y los fascículos prevertebrales. A nivel de la raíz del cuello, sobre el lado derecho, el nervio discurre anterior a la arteria subclavia y penetra en el tórax. En el lado izquierdo discurre entre las arterias carótida común y subclavia para entrar en el tórax (Meilán y Quecedo, 2000).

La evidencia neuroanatómica de que el nervio vago es una vía de comunicación entre los ovarios y el SNC fue dada por el grupo de Gerendai (2000), quien mostró que al inyectar un marcador retrógrado en los ovarios la marca viajaba por el nervio vago hasta núcleos cerebrales y la misma desaparecía cuando a estos animales se les practicaba la vagotomía.

En la rata adulta, la sección del nervio vago izquierdo resulta en la disminución del porcentaje de animales ovulantes así como en el número de ovocitos liberados, mientras que la sección del nervio vago derecho no modifica estos. Resultados que llevaron al grupo de Cruz y colaboradores en 1986 a postular que la información neural que viaja desde los ovarios hacia el SNC, vía nervio vago izquierdo, está más comprometida con el proceso de ovulación que la información que transcurre por el nervio vago derecho.

Existen evidencias experimentales que muestran que la participación del nervio vago en la regulación de las funciones ováricas depende de la edad del animal, en el caso de la rata prepúber, o del día del ciclo estral en la rata adulta. Esto ha llevado a pensar que existe un marcapasos que pudiera estar regulando la actividad neural del vago.

EL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO

El núcleo supraquiasmático (NSQ) es el marcapasos donde se regulan los ritmos biológicos (Aguilar y col., 2004), definidos como la recurrencia de fenómenos dentro de un sistema biológico, que alterna periodos de máxima actividad con periodos de actividad escasa o nula (Gruart y col., 2002). En función de la duración de los ritmos se dice que un ritmo es circadiano cuando persiste por un periodo cercano a las 24 h en condiciones libres de señales ambientales de tiempo. Las funciones ováricas están reguladas por un sistema circadiano (Lagunas, 2014).

En los mamíferos, el NSQ es una estructura bilateral que se localiza en la porción ventral del hipotálamo anterior, ventrolateral al receso óptico del tercer ventrículo y dorsal al quiasma óptico (Aguilar y col., 1994).

El ritmo circadiano de la actividad de las neuronas del NSQ es consecuencia de la oscilación de un conjunto de genes “reloj” que forman asas de retroalimentación (Aguilar y col., 2004). La lesión bilateral de los núcleos supraquiasmáticos produce la desorganización del patrón circadiano que caracteriza diversas conductas y parámetros fisiológicos, y se logra restablecer los parámetros mediante el transplante del NSQ fetal (Aguilar y col., 1994).

Así mismo, la estimulación eléctrica o química de estos núcleos induce cambios de fase similar a los provocados por la exposición a la luz. Las neuronas del NSQ presentan variaciones circadianas en su actividad eléctrica y metabólica, cuyos valores máximos ocurren durante el día (Klein y col., 1991). Estos ritmos persisten aun cuando los sujetos se exponen a condiciones de iluminación constante e incluso en explantes del NSQ mantenidos *in vitro* (Zhang y col., 1995).

AFERENCIAS AL NSQ

Existen cuatro vías por las cuales el NSQ recibe información (Figura 8 y cuadro 1) (Dibner y col., 2010).

Cuadro 1.- Aferencias del Núcleo Supraquiasmático.

VÍA AFERENTE	FACTORES QUÍMICOS INVOLUCRADOS
1.- Tracto Retino-Hipotalámico (RHT)	Información fótica, Glutamato (Glu), Péptido Hipofisiario Activador del Adenilato Ciclasa (PACAP)
2.- Hojuela Inter-Geniculada (IGL)	Neuropéptido Y (NPY), Ácido gamma-aminobutírico (GABA).
3.- Núcleo Medial del Rafé (MRN)	Serotonina (5-HT)
4.- Núcleo Dorsal del Rafé (DRN)	Serotonina (5-HT)

EL TRACTO RETINO-HIPOTALÁMICO

Las neuronas del NSQ sincronizan su actividad con el ciclo día-noche. La cantidad de luz ambiental es detectada en la retina por fotorreceptores diferentes a los que intervienen en la visión.

Los fotorreceptores circadianos son un tipo especial de célula ganglionar que poseen el fotopigmento melanopsina, y que se caracterizan por tener un campo receptivo visual muy amplio y codificar la cantidad de luz (Rollag y col., 2003). Los axones de estas células ganglionares forman el tracto retino-hipotalámico que llega a la porción ventrolateral del NSQ, estos axones liberan glutamato y el PACAP (Hannibal, 2002).

EL TRACTO GENICULO-HIPOTÁLAMICO

El tracto retino-hipotalámico proyecta bilateralmente a una región del cuerpo geniculado lateral del tálamo llamada IGL. A partir de la hojuela se origina otra aferencia del NSQ denominada tracto genículo hipotalámico (Aguilar y col., 2004).

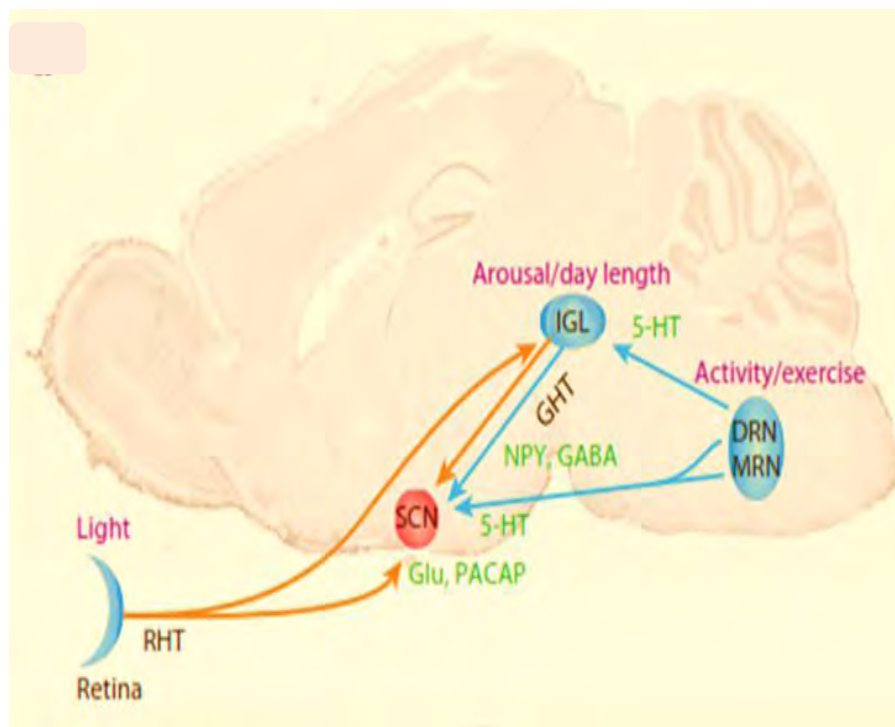


Figura 8. Aferencias al NSQ. El NSQ recibe información, entre otras, de tres zonas cerebrales: la retina le envía información fótica, Glu, PACAP por medio del RHT; la IGL se comunica con el NSQ mediante el GHT, el cual le hace llegar NPY, GABA e información fótica; los núcleos medial y dorsal del rafe envían 5-HT al NSQ. Tomado de Dibner y col., 2010

NÚCLEOS MESENFÁLICOS DEL RAFÉ

Otras aferencias al supraquiasmático se originan del complejo del rafé y el núcleo paraventricular del tálamo. Tanto la hojuela intergeniculada como el núcleo del rafé proyectan a la región ventrolateral del NSQ fibras que contienen neuropéptido-Y y serotonina respectivamente. Estas aferencias también participan en ajustar el inicio de la actividad de los ritmos circadianos con el inicio de la obscuridad (Aguilar y col., 2004).

EFERENCIAS DEL NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO (NSQ)

Las vías eferentes hacia el área preóptica, el hipotálamo ventromedial, dorsomedial, la región retroquiasmática y el arcuato participan en la modulación de los procesos homeostáticos (Aguilar y col., 2004). Mientras que las eferentes hacia el área preóptica ventrolateral, el septum y el tálamo paraventricular, modulan diversos aspectos de la función del sistema límbico y el fascículo medio del cerebro anterior involucrados en las conductas motivadas (Figura 9).

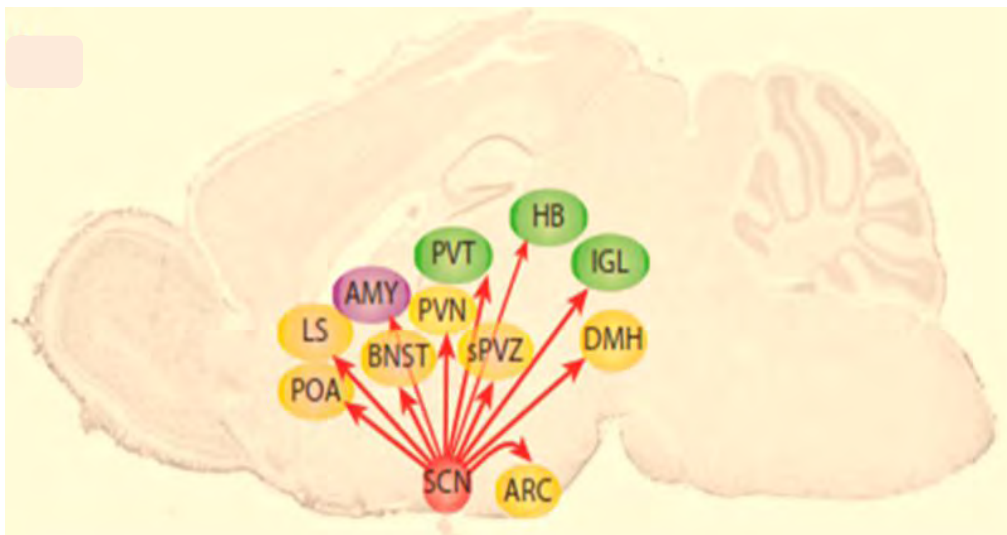


Figura 9. Eferencias del NSQ. En esta imagen se muestran las áreas talámicas (círculos verdes), hipotalámicas (círculos amarillos) y extra hipotalámicas (círculo morado) hacia las cuales el NSQ envía información. En áreas talámicas está el núcleo paraventricular del tálamo (PVT), la habenula (HB), la hojuela inter-geniculada (IGL). En áreas hipotalámicas está el núcleo arqueado (ARC), el núcleo dorsomedial (DMH), la zona sub paraventricular (sPVZ), el núcleo para ventricular del hipotálamo (PVN), el núcleo de la estria terminal (BNTS), el septum lateral (LS) y el área preóptica (POA). El área extra hipotalámica está representada por la amígdala. Tomado de Dibner y col., 2010.

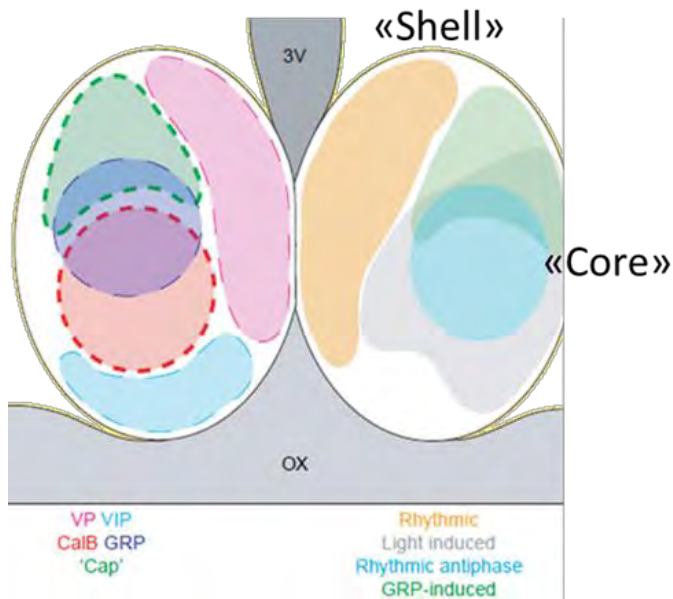


Figura 10. Estructura del NSQ. Se muestra la ubicación anatómica del NSQ, ventrolateral al receso óptico del tercer ventrículo (3V) y dorsal al quiasma óptico (OX). En la figura de la izquierda se encuentran las sustancias neuroactivas, así como su ubicación dentro del NSQ. Vasopresina (VP), péptido intestinal vasoactivo (VIP), calbindina (CalB), péptido liberador de gastrina (GRP) y grupo de células “cap”. Del lado derecho de la imagen se muestran las diferentes regiones definidas por la expresión de genes *Período*. Las células que expresan rítmicamente los genes *Período* se encuentran de color naranja pálido; de color gris aquellas células que expresan los genes *Período* mediante la inducción de luz y de color verde aquellas que los expresan después de la administración de GRP. En ratones y ratas la región de color azul representa la expresión de genes *período* en antifase al ritmo que presentan las células de color naranja pálido (Shell). Tomada y modificada de Antle y Silver, 2005.

Las neuronas del NSQ expresan diversas sustancias neuroactivas, como péptidos, que se distribuyen en dos poblaciones neuronales (Figura 10): una dorsomedial o “Shell” caracterizada por la presencia de vasopresina (VP), y una ventrolateral o “Core”, caracterizada por la presencia del péptido intestinal vasoactivo (VIP). La mayoría de las neuronas presentes en el NSQ sintetizan GABA (Klein y col., 1991).

En el NSQ, con la ayuda de estudios de inmunohistoquímica, se han podido identificar además de VIP y VP, las enzimas de síntesis y degradación, así como el transportador vesicular de ACh (Gilmor y col., 1996; Weihe y col., 1996; Arvidsson y col., 1997)

ACETILCOLINA

La acetilcolina (ACh) es el neurotransmisor clásico del sistema nervioso parasimpático, se le localiza en el sistema nervioso periférico (SNP) y en el SNC. En los mamíferos, el sistema colinérgico participa en la regulación de diversas funciones como la activación cortical, el sueño-vigilia, procesos de memoria y asociados a la contracción del músculo (Lazar y col., 1998).

La ACh que existe en las terminaciones colinérgicas es sintetizada en el citoplasma de la neurona presináptica a partir de la colina y de la acetil-coenzima A (acetil-CoA) mediante la acción de la enzima acetilcolintransferasa (CAT) (Figura 11) (Flores y Segura, 2005).

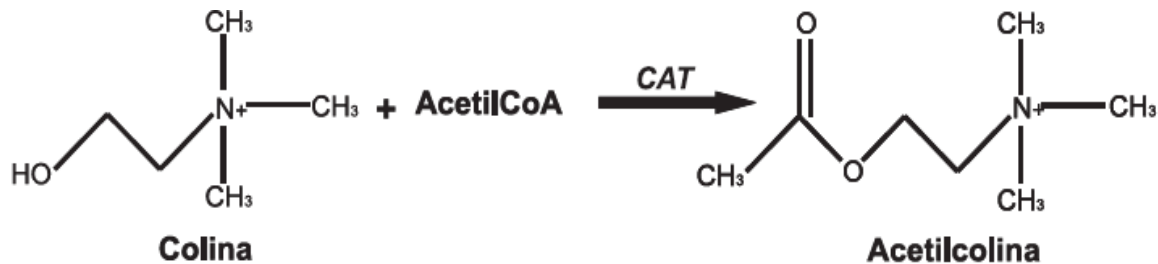


Figura 11. Estructura y biosíntesis de la acetilcolina. La molécula de colina interactúa con la molécula de Acetil-CoA en presencia de la acetilcolintransferasa (CAT), la cual es la enzima que va a promover la síntesis de acetilcolina. Tomada de Flores y Segura, 2005

La colina proviene de tres fuentes:

A) La colina circulante, sintetizada principalmente en el hígado, la cual penetra en la terminal presináptica colinérgica, a través de un sistema de transporte de baja afinidad, común a la mayoría de las células, o a través de un sistema de recaptura específico de colina de alta afinidad (SRCAA).

B) A partir del metabolismo de la fosfatidilcolina de membrana.

C) Del espacio intersináptico, a partir de la hidrólisis de la acetilcolina por la acetilcolinesterasa.

El origen de la acetil-CoA es también diverso. Puede derivarse del metabolismo de la glucosa, citrato y acetato. La síntesis de acetil-CoA tiene lugar en las mitocondrias, catalizada por el complejo piruvato-deshidrogenasa (Flórez y González, 2008).

La enzima CAT se encuentra ubicada, en su mayor parte, en las terminales nerviosas de las neuronas presinápticas. La CAT es relativamente específica de las neuronas colinérgicas, de manera que su identificación por métodos inmunohistoquímicos sirve para localizar las neuronas colinérgicas y sus terminaciones (Flórez y González, 2008).

SÍNTESIS DE ACETILCOLINA

La síntesis de la ACh se realiza en las terminales presinápticas de las fibras colinérgicas a partir de la colina y acetil-CoA por medio de la CAT dando como productos acetilcolina y coenzima A. El catabolismo de ACh se realiza principalmente por hidrólisis, donde la acetilcolinesterasa hidroliza en fracciones de segundo a la ACh en colina y acetato (Márquez, 2004). La colina es recapturada por la neurona presináptica, donde inicia un nuevo ciclo de síntesis del neurotransmisor (Mendoza, 2008) (Figura 12).

ALMACENAMIENTO Y LIBERACIÓN DE ACETILCOLINA

Una vez sintetizada, la acetilcolina es almacenada en la terminal colinérgica presináptica y pasa a ocupar algunos de los siguientes tres compartimientos.

- a) En vesículas, cada una contiene de 1000 a 5000 moléculas de ACh y una sola terminación sináptica puede contener hasta 300 000 vesículas.
- b) De forma libre, disuelta en el citoplasma.
- c) Asociada lábilmemente a membranas y susceptible, por lo tanto, de desprenderse con facilidad.

En condiciones de reposo, las moléculas de ACh pueden liberarse espontáneamente al espacio sináptico, en forma molecular o en forma cuántica, originando los potenciales miniatura en la membrana postsináptica (MEPP), cuya magnitud está considerablemente por debajo de la necesaria para descargar el potencial de acción (Flórez y González, 2008).

Las vesículas sinápticas son la base morfológica de la descarga cuántica, de modo que en su interior está contenida la cantidad mínima de moléculas de ACh necesarias para producir los MEPP que se observan espontáneamente en la membrana postsináptica (Flórez y González, 2008).

Cuando un potencial de acción despolariza la terminación colinérgica, provoca de forma rápida y pasajera la abertura de canales de Ca^{2+} en la membrana presináptica con lo que el Ca^{2+} penetra en el interior a favor del gradiente electroquímico. El aumento de Ca^{2+} en el interior de la terminal desencadena la movilización de la ACh, tanto de la fracción que está en forma libre como de la asociada a las vesículas sinápticas. Éstas interactúan con la membrana presináptica y descargan su contenido en el espacio sináptico por exocitosis, de esta manera la ACh interacciona con los receptores postsinápticos localizados en las estructuras efectoras. Posteriormente el neurotransmisor que no es captado por los receptores postsinápticos retornan y se recuperan (reciclaje) para volver a ser liberados por la terminal presináptica (Mendoza, 2008). Si la estimulación nerviosa es muy prolongada, disminuye el número de vesículas de la terminal, pero su síntesis se recupera con mayor rapidez que la de la propia acetilcolina (Flórez y González, 2008) (Figura 12).

RECEPTORES A ACETILCOLINA

La acción de la ACh está mediada por la activación de dos tipos de receptores: el nicotínico (ionotrópico) que permiten la apertura de canales iónicos, y el muscarínico (metabotrópico) que interactúan con proteínas G (Figura 12) (Lazar y col., 1998). Esta clasificación fue postulada originalmente por Henry Dale, la que se basa en el análisis de las respuestas de ciertos agonistas y antagonistas colinérgicos en relación a las distintas acciones farmacológicas promovidas por dos agentes colinérgicos naturales: la muscarina y la nicotina (Rothlin, 2003).

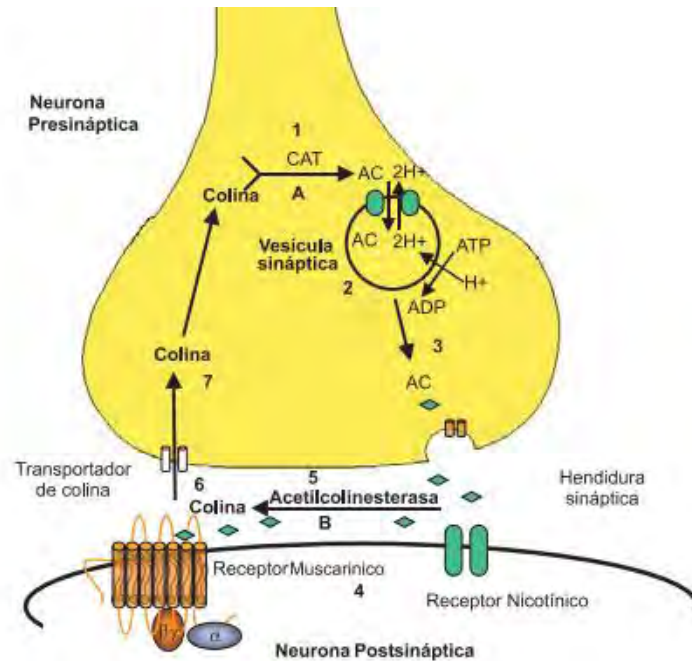


Figura 12. Esquema de la biosíntesis, liberación y degradación de acetilcolina (AC). La colina se une al acetato (A) en presencia de la acetilcolintransferasa (CAT) (1), esta va a ser internalizada en las vesículas sinápticas (2) para su transporte hacia la hendidura sináptica (3). Una vez liberada, la AC va a unirse a sus receptores muscarínicos o nicotínicos en la membrana postsináptica (4) y así realizar su efecto. La AC sobrante en la hendidura sináptica va a ser degradada a colina mediante la acetilcolinesterasa (5) para que ésta sea recapturada por la neurona presináptica (6) y así inicie un nuevo ciclo de biosíntesis de la AC. Tomada de Flores y Segura, 2005

RECEPTORES NICOTÍNICOS

El receptor nicotínico pertenece a la familia de los canales iónicos llamados también receptor dependiente de ligando. Este tipo de receptor se presenta en menor densidad que los receptores muscarínicos. La localización de los receptores nicotínicos se restringe a los ganglios autosómicos simpáticos y parasimpáticos y a los localizados en la placa neuromuscular que tiene inervación somática (Mendoza, 2008). La estructura primaria está formada por cuatro subunidades glicoproteicas independientes denominadas α , β , γ , δ . La activación del receptor nicotínico provoca la abertura del canal y el aumento de la permeabilidad iónica para cationes monovalentes y divalentes de diámetro inferior a 8 Å, por esta razón, el Na^+ y el K^+ pasan con facilidad y, en menor grado, el Ca^{2+} y el Mg^{2+} . Así se provoca el potencial postsináptico excitador (Flores y Segura, 2005).

Existen dos subtipos de receptores nicotínicos:

- El N_1 o N_M que se encuentra en la placa motriz.
- El N_2 o N_N , se encuentra en el SNC, en ganglios vegetativos y en células cromafines de la médula adrenal.

RECEPTORES MUSCARÍNICOS

Los receptores muscarínicos fueron llamados así, por los efectos en el órgano efector que fueron similares a los observados con el alcaloide obtenido del hongo *Amanita muscaria*. Este tipo de receptor es esencial en muchos procesos fisiológicos: transmisión interneuronal en el SNC, ganglios vegetativos y plexos nerviosos, contracción del músculo liso, conducción de estímulos cardíacos, secreciones exocrinas y endocrinas. Aunque inicialmente se consideró que los receptores muscarínicos pertenecían a una sola familia, la diferente afinidad de algunos receptores mostrada frente al antagonista pirenzepina, inició un proceso de diferenciación de subtipos de receptores que culminó con el establecimiento de cinco subtipos moleculares. Todos ellos presentan una estructura molecular enteramente diferente de la de los nicotínicos. Pertenecen a la gran familia de receptores de membrana que presentan siete dominios transmembranales (Flórez y González, 2008).

Los subtipos de receptores muscarínicos son M1, M2, M3, M4 y M5. Estos se encuentran repartidos de forma irregular y presentan diferentes agonistas y antagonistas muscarínicos. (Gonzales y col., 2008). De acuerdo a su diversidad funcional, todos los subtipos de receptores muscarínicos ejercen sus efectos mediante la proteína G. Dependiendo de la naturaleza de la proteína G, esta respuesta va a desencadenar respuestas diferentes (Mendoza, 2008) como:

- Activación del adenilato ciclasa.
- Regulación de la abertura de un canal iónico.
- Regulación intracelular del AMPc.
- Activación de la fosfolipasa C.
- Aumento en la concentración de segundos mensajeros.

Los receptores muscarínicos están presentes en diversos órganos y tejidos periféricos (cardíaco, músculo liso y glándulas exocrinas) y dentro del sistema nervioso central. Asimismo, en diversos tipos de neuronas se localiza en sinapsis somato-dendríticas, tanto colinérgicas como de otros tipos (Rothlin, 2003).

Existen fármacos que van a evitar que las moléculas de ACh se unan a los receptores muscarínicos. Estos fármacos reciben el nombre de antagonistas colinérgicos y un ejemplo de estos es la **atropina** (Mendoza, 2008)

La atropina posee dos características farmacodinámicas importantes (Mendoza, 2008):

- Su afinidad por los receptores muscarínicos es mayor que la de la ACh, lo cual va a hacer que en la competencia con la ACh endógena, la atropina sea quien ocupe los receptores muscarínicos.
- Carece de actividad intrínseca, por lo tanto la molécula de atropina no tienen ningún efecto sobre el órgano inervado.

Estudios previos han demostrado que la administración subcutánea de sulfato de atropina tiene un efecto de tipo inhibitorio en las funciones ováricas (Domínguez y col., 1982; Flores y col., 2005; Cruz y col., 2006; Flores y col., 2006). La microinyección de atropina en el NSQ izquierdo o derecho en la mañana del proestro resulta en el bloqueo de la ovulación y disminución de la concentración de progesterona en suero (Lagunas 2014).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

EL NSQ presenta receptores a acetilcolina de tipo muscarínicos y nicotínicos; envía información neural al área preóptica hipotalámica anterior, la cual regula la secreción de GnRH y por tanto la ovulación. Cuando se microinyecta en el núcleo supraquiasmático un antagonista muscarínico, como la atropina, se produce el bloqueo de la ovulación, respuesta que ha sido atribuida a la alteración en la secreción de GnRH, lo que conlleva a la ausencia del pico preovulatorio de LH. A su vez, el NSQ envía información al núcleo paraventricular (NPV) el cual presenta eferencias sobre dos núcleos que dan origen al nervio vago, el núcleo dorsal motor del vago (NDMV) y el núcleo del tracto solitario (NTS). El nervio vago es una vía de comunicación colinérgica entre el ovario y el sistema nervioso central. La participación de éste nervio en la regulación de las funciones ováricas es asimétrica y varía durante el ciclo estral. Por lo anterior, es posible que el nervio vago sea la vía por la cual el NSQ regule las funciones ováricas.

HIPÓTESIS

Si la información colinérgica que transcurre por el nervio vago es una vía de comunicación entre el SNC y los ovarios, la falta de ovulación en los animales con previo bloqueo del sistema muscarínico del núcleo supraquiasmático izquierdo o derecho, será revertida al seccionar el vago izquierdo o derecho.

OBJETIVO GENERAL

Analizar el papel del nervio vago izquierdo o derecho sobre la respuesta ovárica de ratas con previo bloqueo del sistema colinérgico del NSQ.

OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Analizar los efectos de la sedación del animal con pentobarbital sódico realizado a las 9:00 horas del proestro sobre:
 - La tasa de animales ovulantes
 - El número de ovocitos liberados
 - Concentración sérica de Progesterona y Estradiol

- ❖ Analizar los efectos de la Sección del Nervio Vago- Izquierdo o Derecho, en el animal con previo bloqueo de los receptores muscarínicos del NSQ-Izquierdo o Derecho realizado a las 9:00 horas del proestro sobre:
 - La tasa de animales ovulantes
 - El número de ovocitos liberados
 - Concentración sérica de Progesterona y Estradiol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas adultas cíclicas de la cepa CII-ZV, bajo condiciones de bioterio 14 h luz y 10 h oscuridad a una temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ y alimento *ad libitum*. Para el monitoreo del ciclo estral se realizó diariamente el frotis vaginal. Sólo se utilizaron aquellas ratas que cumplieran dos ciclos estrales continuos.

Se utilizaron 10 animales por cada grupo experimental, con una masa corporal de entre 230-260 g, los cuales fueron tratados entre las 09:00 y 10:00 h del día del Proestro.

Grupos experimentales:

- 1.- **Testigo Absoluto (TA):** Animales intactos, los cuales fueron sacrificados al día del Estro Vaginal.
- 2.- **Grupo con Pentobarbital:** Se inyectó por vía intraperitoneal una dosis de pentobarbital sódico (PB) a una concentración de 25mg/ kg de peso corporal y se sacrificó al estro vaginal.
- 3.- **Operación Simulada Ventral (OSV):** Consistió en realizar una incisión ventral aproximada de 2 cm de largo que abarcó piel, músculo y peritoneo, sin manipular ningún órgano y en seguida se suturó la herida.
- 4.- **Sección del Nervio Vago Izquierdo o Derecho (SNVI o SNVD):** se procedió a seccionar el nervio vago izquierdo o derecho. Una vez seccionado el nervio vago se suturó la herida.

5.- Operación simulada del NSQ izquierdo o derecho, seguida de la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho (OS-NSQI+SNVI; OS-NSQD+ SNVD): Se hizo descender la aguja de microinyección hasta el área previamente calculada para el NSQ izquierdo o derecho sin administrar ningún tipo de fármaco, acto seguido se procedió a realizar la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho. Como grupos de comparación se tuvieron animales a los cuales se les realizó la operación simulada del NSQ izquierdo o derecho seguida o no de la OSV.

6.- Vehículo en el NSQ izquierdo o derecho, seguida de la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho (VH-NSQI+SNVI; VH-NSQD+ SNVD): En el NSQ izquierdo o derecho se microinyectó solución salina en un volumen de 0.3 μ l/min y en el mismo acto quirúrgico se realizó la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho. Como grupos de comparación se tuvieron animales con microinyección del vehículo en el NSQ izquierdo o derecho seguida o no de la OSV.

7.- Atropina en el NSQ izquierdo o derecho, seguida de la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho (ATR-NSQI+SNVI; ATR-NSQD+ SNVD): En el NSQ izquierdo o derecho se microinyectó atropina y en el mismo acto quirúrgico se realizó la sección ipsilateral del nervio vago izquierdo o derecho. Como grupos de comparación se tuvieron animales con microinyección de Atropina en el NSQ izquierdo o derecho seguida o no de la OSV.

DISEÑO EXPERIMENTAL:

Procedimiento de microinyección en el NSQ:

En la cabeza del animal se realizó una incisión de piel, se limpió con agua oxigenada de tal manera que el cráneo quedó expuesto. Se colocó al animal en el aparato estereotáxico para que fueran calculadas las coordenadas en las cuales se encuentra el NSQ-Izquierdo o Derecho, según la referencia del Atlas de Paxinos y Watson. Para el NSQ-Izquierdo de animales con un peso corporal promedio entre 230- 240g las coordenadas fueron: Antero-Posterior= +0.3 Lateral +0.3 y Ventral -9.1; para animales de 240-260g: Antero-Posterior= +0.3 Lateral +0.2 y Ventral -9.1. Para el NSQ-Derecho las coordenadas utilizadas fueron Antero-Posterior= -0.3 Lateral -0.4 y Ventral -9.1. Ya calculadas las coordenadas del NSQ deseado se procedió a realizar una perforación en el cráneo del animal con ayuda de una fresa odontológica, por donde se hizo descender una aguja de 27x13 mm hasta la coordenada ventral donde fue calculado que se encuentra el NSQ-Izquierdo o Derecho. Una vez realizado esto, con ayuda de una bomba de micro inyección y una jeringa Hamilton se micro-inyectó atropina en una concentración de 62.5ng /0.3 μ l/min en el NSQ-Izquierdo o Derecho, se procedió a retirar la aguja y se suturó la herida.

Procedimiento de sección del nervio vago

Se realizó una incisión ventral a la altura de la última costilla con dirección a las gónadas de aproximadamente 2 cm de largo, una vez hecho esto, se exteriorizó el estómago y a la altura del esófago se procedió a seccionar el nervio vago izquierdo con ayuda de unas pinzas de punta aguda. Para seccionar el vago derecho se giró el estómago y se ubicó al vago. Terminada la denervación se regresó el estómago a su lugar y se suturó la herida.

PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Todos los animales fueron sacrificados en la mañana del estro vaginal por decapitación. La sangre fue colectada en tubos de ensaye y se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 15 minutos; el suero fue colectado y almacenado en microtubos a -20°C hasta el momento de la cuantificación de progesterona y estradiol por radioinmunoanálisis (RIA). Se disecaron los oviductos en los cuales se cuantificó el número de ovocitos liberados.

ANÁLISIS DE LA TRAYECTORIA DE LA AGUJA

Para localizar el lugar de la micro-inyección y sólo tomar en cuenta aquellos animales en los que la trayectoria de la aguja llegó al NSQ izquierdo o derecho, el cerebro de todos los animales se colocó en paraformaldehído al 4% durante 48 horas; se enjuagó con agua corriente para eliminar el exceso de formol y se realizaron secciones coronales seriadas de $100\ \mu\text{m}$, las cuales fueron teñidas con violeta de cresilo. Con ayuda de un microscopio estereoscópico se localizó el lugar de la micro-inyección.

CUANTIFICACION HORMONAL POR RADIOINMUNOANÁLISIS (RIA)

La concentración de progesterona y estradiol fue cuantificada por RIA de fase sólida, mediante reactivos comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA). En tubos de polipropileno (que ya contenían el anticuerpo específico: antiprogesteron- I^{125} , o antiestradiol- I^{125}), se adicionaron $100\ \mu\text{l}$ de la muestra problema y después se adicionó $1\ \text{ml}$ de la hormona marcada con I^{125} , la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se determinó la concentración de la hormona con ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard TM, en función de las cuentas por minuto y una curva de calibración. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml , mientras que la de estradiol en pg/ml de suero.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/ el número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones o de J_i^2 .

El número de ovocitos liberados se analizó con la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de U de Mann-Whitney.

La concentración de progesterona y estradiol en suero se analizó por medio de la prueba “t” de Student.

Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

RESULTADOS

EFFECTO DE LA INYECCIÓN DE PENTOBARBITAL SÓDICO A LAS 9:00 H DEL DÍA DEL PROESTRO EN LA RESPUESTA OVÁRICA

En comparación con el testigo absoluto, la inyección de pentobarbital sódico (PB) no modificó la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados por ambos ovarios ni la concentración de estradiol. La inyección de PB disminuyó la concentración sérica de P4 en comparación con el TA (Figura 13).

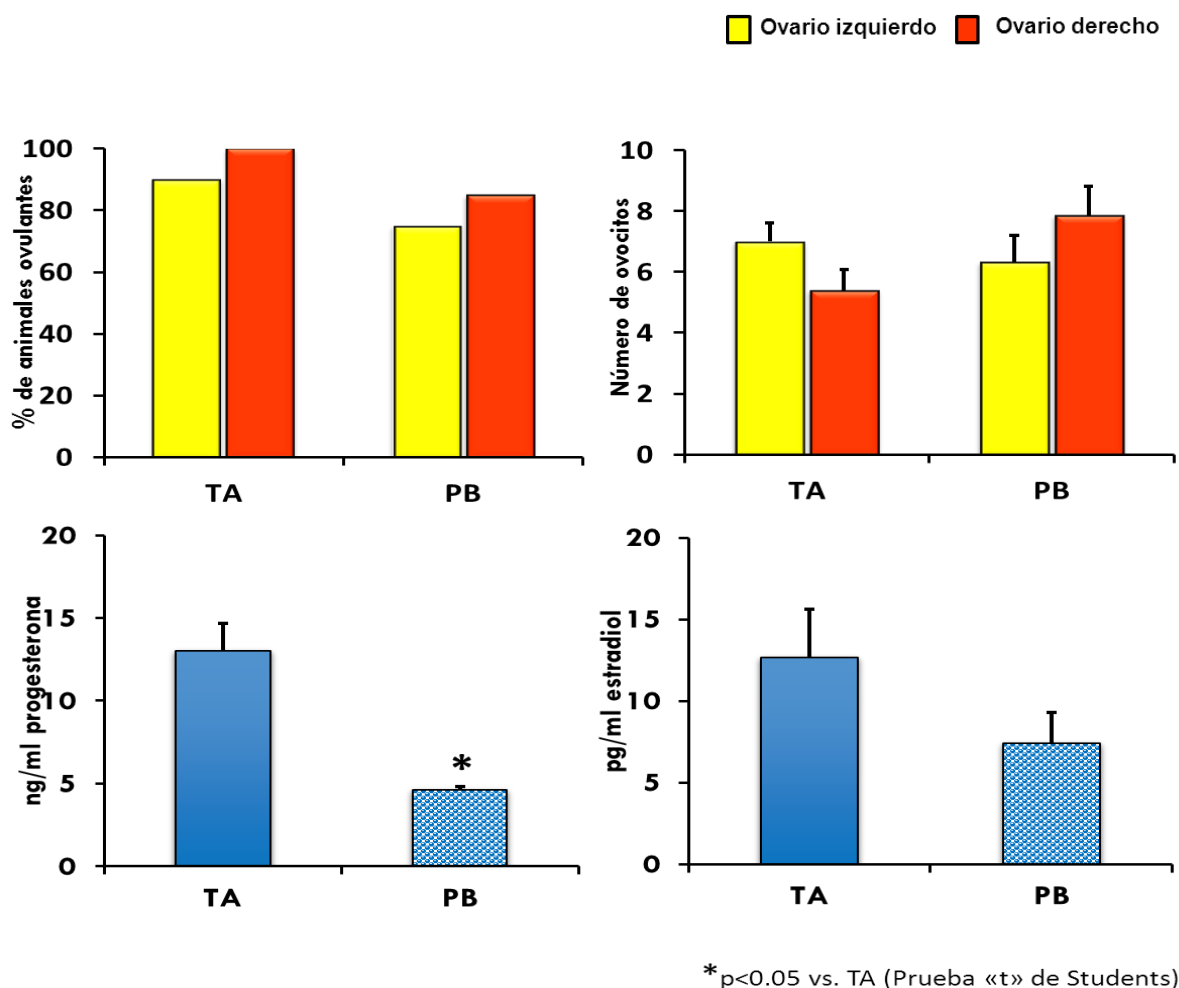


Figura 13. Porcentaje de animales ovulantes, la media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho y de la concentración de progesterona y estradiol de animales testigo absoluto (TA) o inyectados con pentobarbital sódico (PB) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

EFFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVI VAGO SOBRE LA RESPUESTA OVÁRICA

En comparación a los animales con operación simulada ventral (OSV), la sección del nervio vago izquierdo (SNVI) no modificó la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados. La sección del nervio vago derecho (SNVD) disminuyó el porcentaje de animales ovulantes. La SNVI y SNVD disminuyó la concentración de estradiol, mientras que la SNVD aumentó la concentración de progesterona (Figura 14).

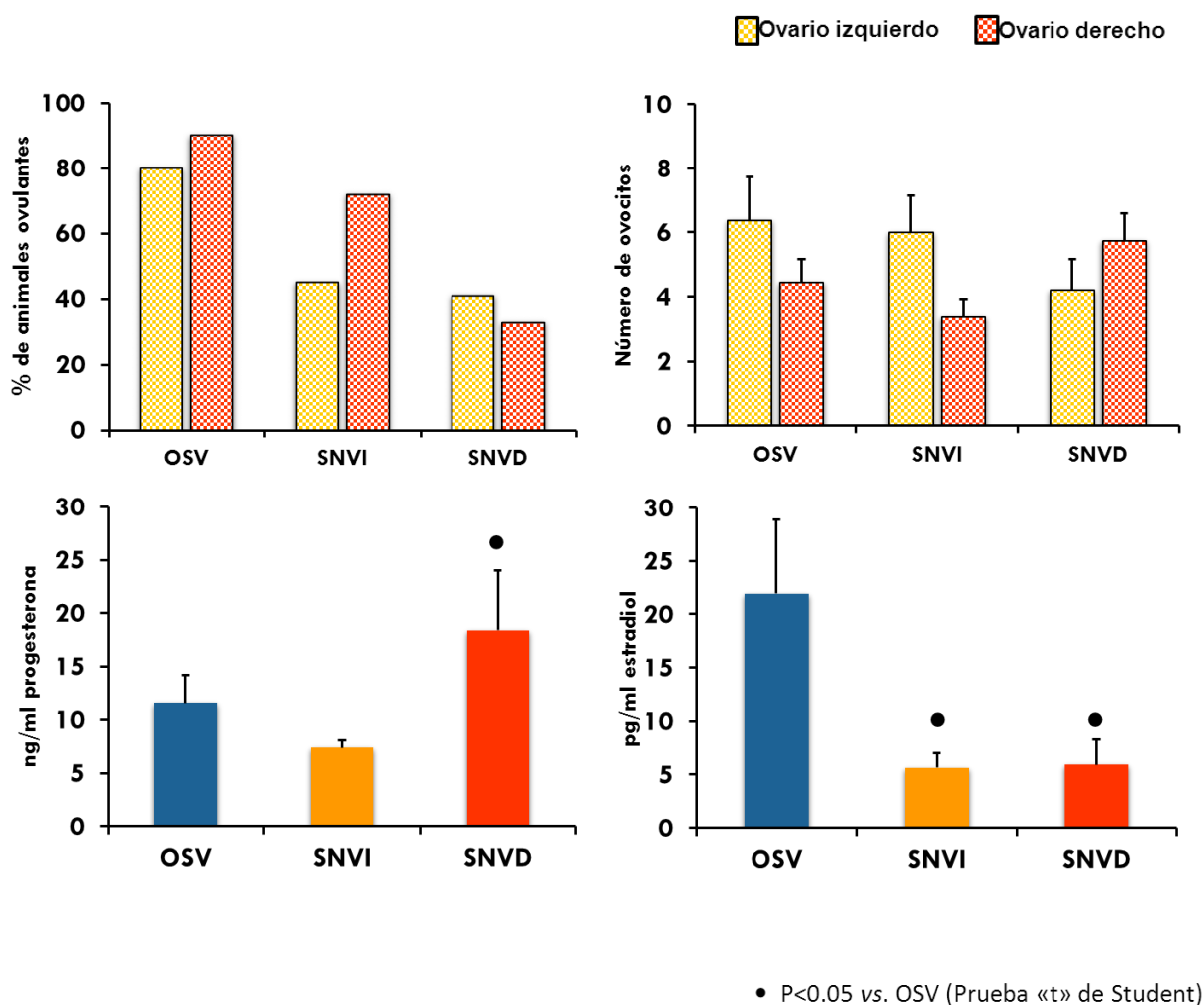


Figura 14. Porcentaje de animales ovulantes, la media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho y de la concentración de Progesterona y Estradiol de animales con operación simulada ventral (OSV), sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o sección del nervio vago derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

EFFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVI VAGO EN LA RATA CON OPERACIÓN SIMULADA DEL NSQ SOBRE LA RESPUESTA OVÁRICA

Respuesta Ovulatoria

En los animales con operación simulada del NSQ izquierdo o derecho, la SNVI o la SNVD no modificó de manera estadística la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados, en comparación con los animales a los que se les practicó OS-NSQI + OSV (Figura 15).

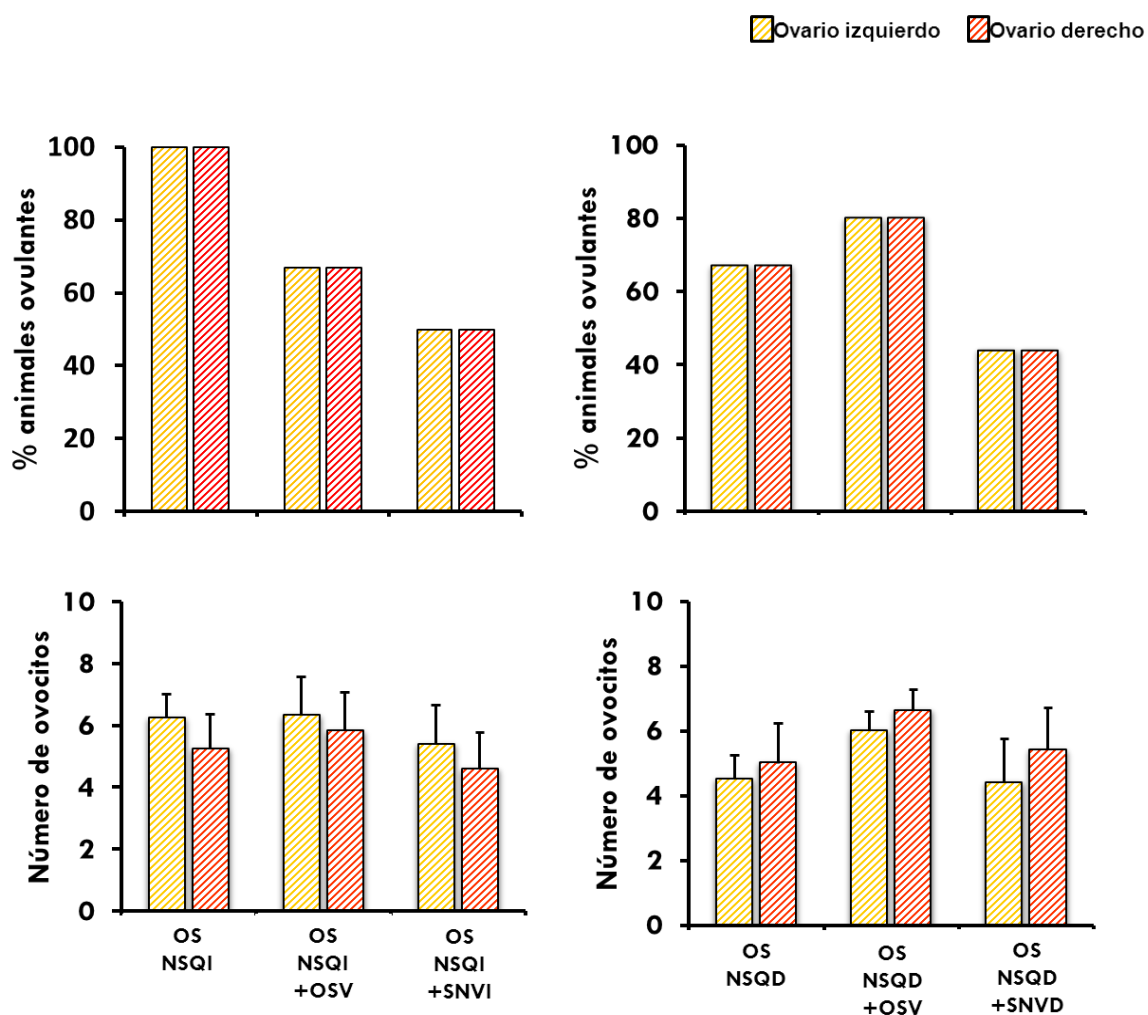


Figura 15. Porcentaje de animales ovulantes y la media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada del NSQ izquierdo (OS-NSQI) o derecho (OS-NSQD) seguida o no de la operación simulada ventral (OSV), sección del vago izquierdo(SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

Concentración en suero de progesterona y estradiol

En los animales con OS-NSQI la SNVI no modificó la concentración de progesterona, mientras que disminuyó la concentración de estradiol en suero, comparado con el grupo OS-NSQI + OSV. En el grupo con OS-NSQD, la sección del vago derecho no modificó la concentración de progesterona en suero; en este grupo, la OSV resultó en la disminución de la concentración de estradiol, efecto que se mantiene al realizar la SNVD (Figura 16).

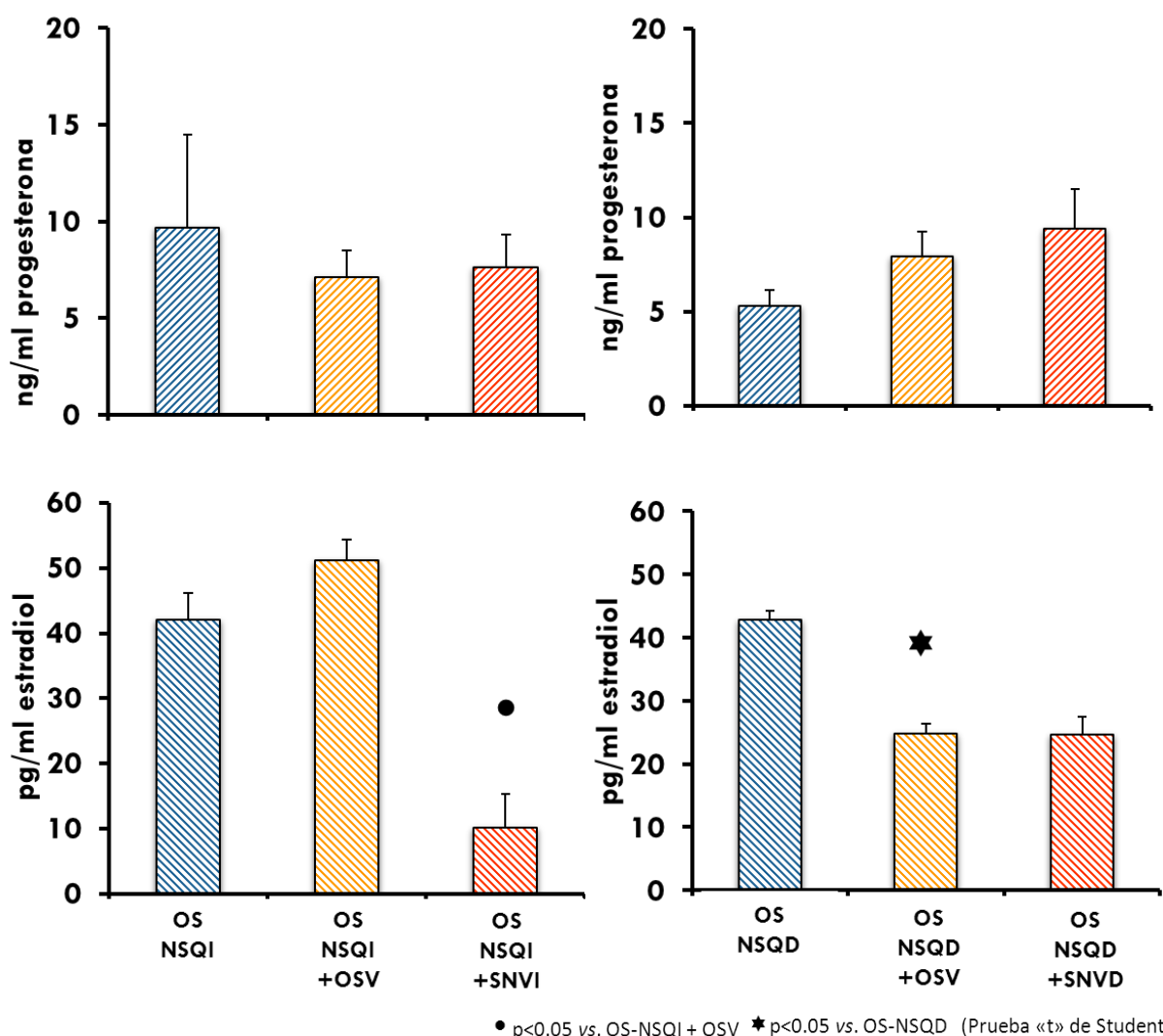


Figura 16. Media ± e.e.m. de la concentración de progesterona y estradiol de animales con OS-NSQI u OS-NSQD seguida o no de la operación simulada ventral (OSV) o sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

EFFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVI VAGO EN LA RATA CON MICRO-
 INYECCIÓN DE VEHÍCULO EN EL NSQ SOBRE LA RESPUESTA OVÁRICA

Respuesta Ovulatoria

En el animal con microinyección de VH en el NSQ izquierdo o derecho la sección del nervio vago resultó en la disminución del porcentaje de animales ovulantes, donde solo ovuló alrededor del 40% de los animales en comparación con los animales con OSV, sin modificación en el número de ovocitos liberados (Figura 17).

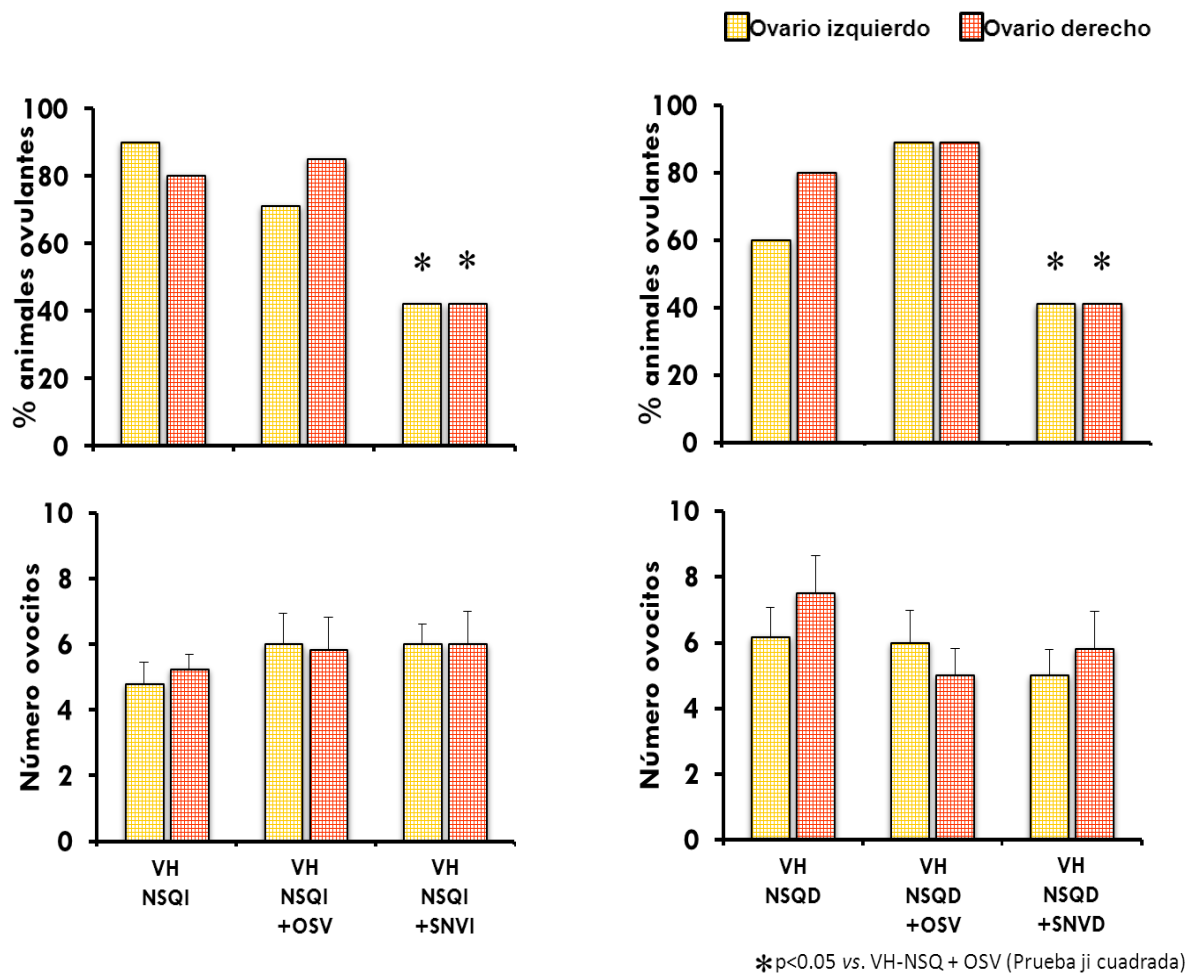
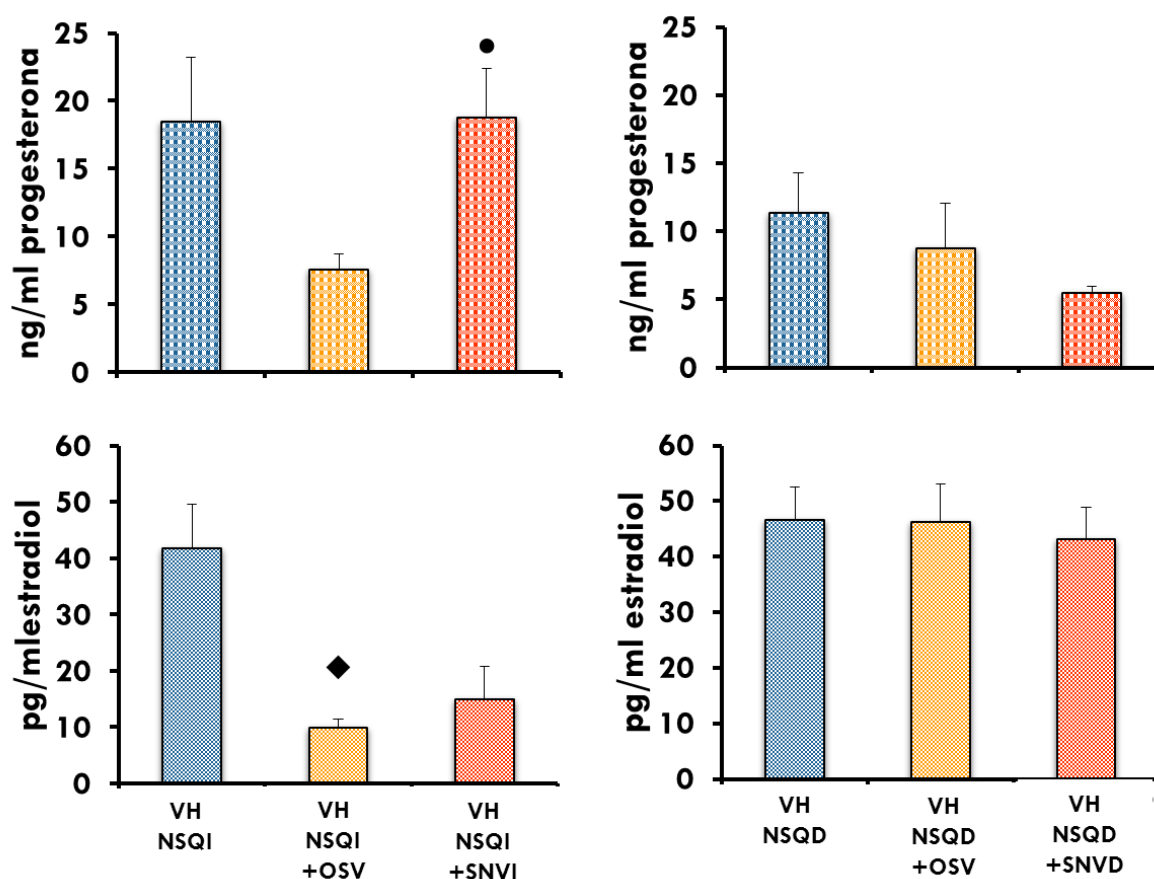


Figura 17. Porcentaje de animales ovulantes y la media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con microinyección de VH en el NSQI o NSQD seguida o no de la operación simulada ventral (OSV), sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

Concentración en suero de progesterona y estradiol

En el grupo con VH-NSQI la SNVI resultó en una concentración mayor de progesterona comparada con el grupo con laparotomía ventral. En el mismo grupo la OSV disminuyó la concentración de estradiol, efecto que no se modificó al realizar la SNVI. En el grupo con microinyección de VH del lado derecho del supraquiasmático la SNVD no modificó la concentración de las hormonas (Figura 18).



● p<0.05 vs. VH-NSQI + OSV; ◆ p<0.05 vs. VH-NSQI (Prueba «t» de Student)

Figura 18. Media ± e.e.m. de la concentración de progesterona y estradiol de animales con microinyección de VH en el NSQI o NSQD, seguida o no de la operación simulada ventral (OSV), sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del preostro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

EFFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVI VAGO, EN LA RATA CON MICRO-
 INYECCIÓN DE ATROPINA EN EL NSQ SOBRE LA RESPUESTA OVULATORIA

Respuesta Ovulatoria

La microinyección de ATR en el NSQI o NSQD resultó en la disminución del porcentaje de animales ovulantes con respecto al grupo microinyectado con VH en el NSQI o NSQD respectivamente; este efecto fue revertido al realizar la OSV en ambos grupos con ATR. La SNVI en el grupo con ATR-NSQI resultó en la disminución del porcentaje de animales ovulantes comparado con el grupo ATR-NSQI + OSV, este efecto no se observó al realizar la SNVD. En los grupos con ATR en el NSQI o NSQD, la sección ipsilateral del vago no modificó el número de ovocitos liberados, en comparación con su grupo control (Figura 19).

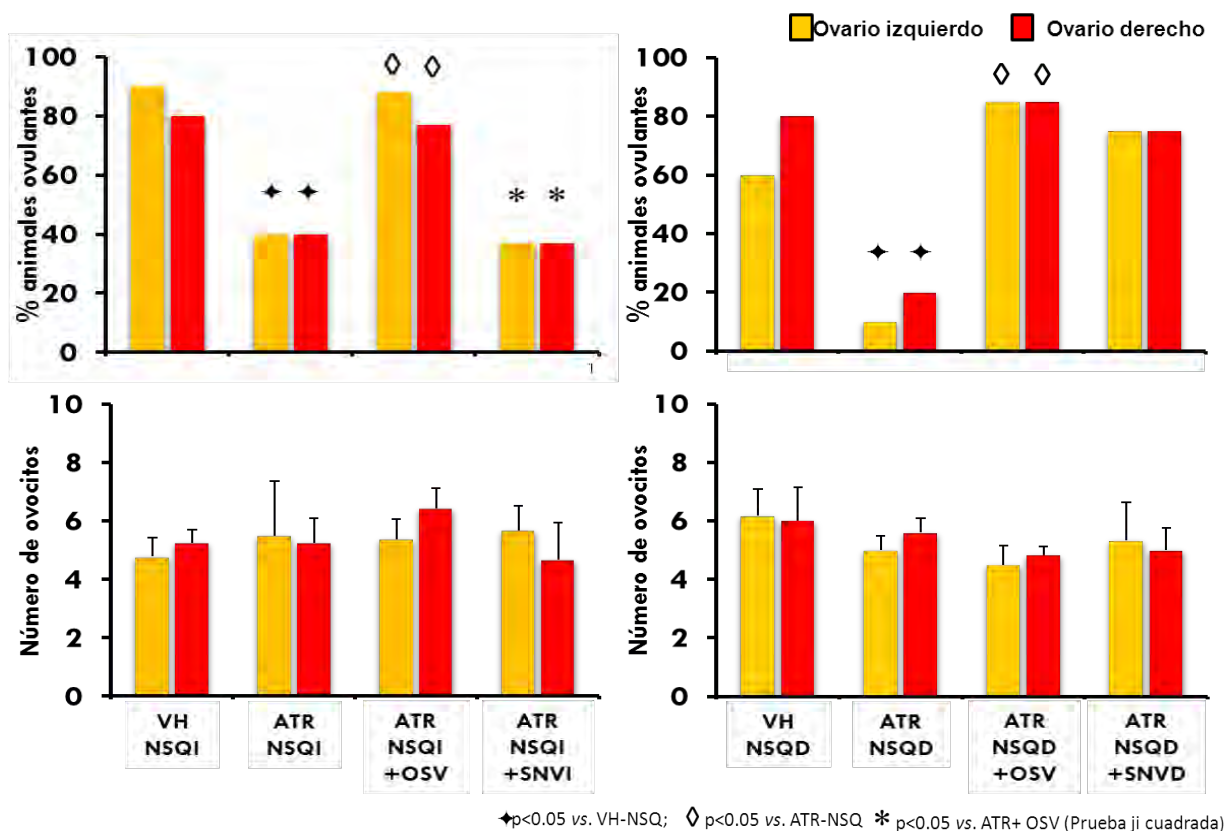
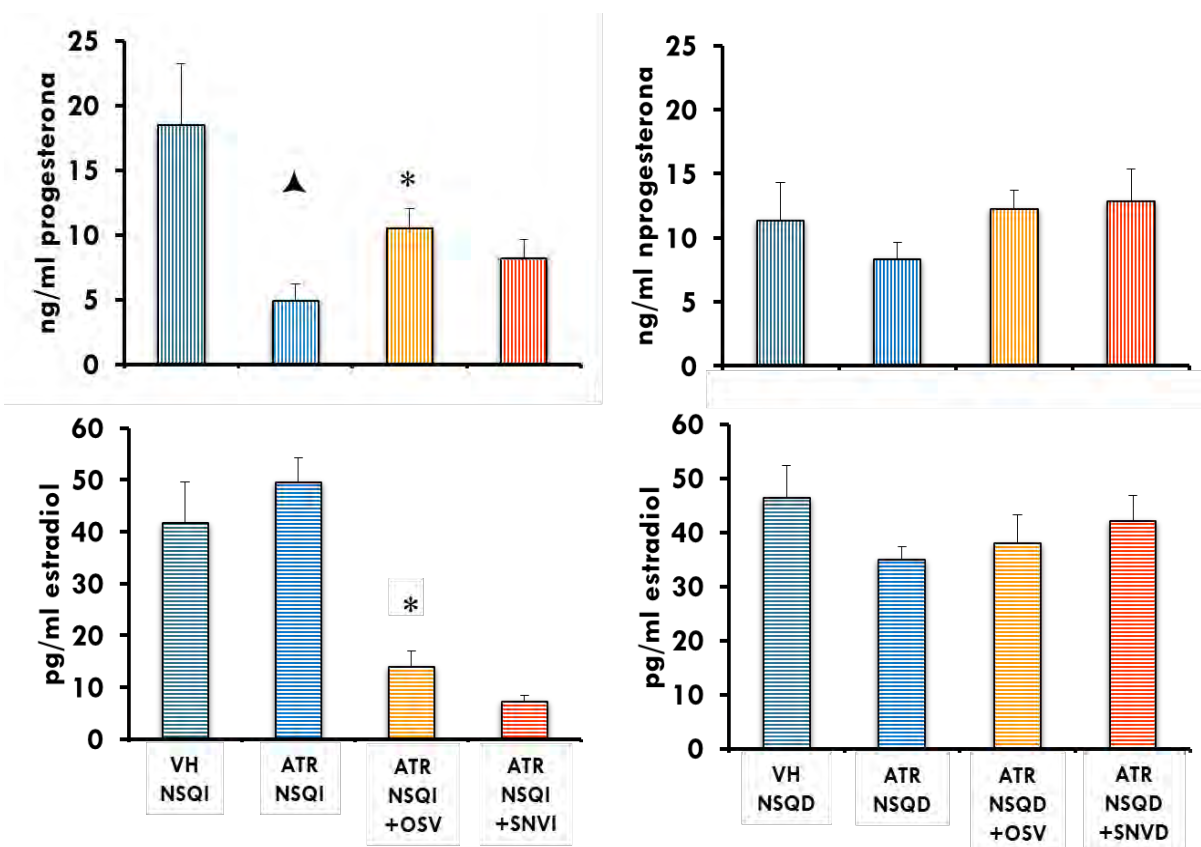


Figura 19. Porcentaje de animales ovulantes y la media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con microinyección de ATR en el NSQI o NSQD, seguido o no de la operación simulada ventral (OSV), sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

Concentración en suero de progesterona y estradiol

La microinyección de ATR en el NSQ-I resultó en la disminución de la concentración de progesterona, sin modificar la concentración de E₂ al compararlo con el animal al que sólo se le microinyectó VH. La OSV resultó en el incremento de la concentración de progesterona y disminución en la concentración de estradiol en suero al compararlo con el grupo ATR-NSQI. Estas respuestas sobre las hormonas no se vieron modificadas al realizar la SNVI. La microinyección de ATR en el NSQD no alteró la concentración de las hormonas y este efecto no se modificó al realizar la OSV o la SNVD.



▲p<0.05 vs. VH-NSQI *p<0.05 vs. ATR-NSQI («t» de Student)

Figura 20. Media ± e.e.m. de la concentración de progesterona y estradiol de animales con microinyección de ATR en el NSQI o NSQD seguida o no de la operación simulada ventral (OSV), sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) a las 9:00 h del proestro. Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal.

DISCUSIÓN

En la rata adulta a las 09:00 h del día del proestro la participación del sistema colinérgico del núcleo supraquiasmático es de tipo estimuladora en los mecanismos que regulan la ovulación. No se observó una respuesta asimétrica por parte del NSQ en la regulación de la ovulación, pero sí en la secreción de hormonas ováricas. Los resultados del presente estudio apuntan a que el NSQ se comunica con los ovarios, vía el nervio vago izquierdo.

En el presente estudio la sedación del animal con 25 mg/Kg pc de PB a las 9:00 h del proestro, no afectó la ovulación. Estos resultados son similares a los ya reportados (Silva, 2013; Lagunas, 2014), lo que permite sugerir que la administración del barbitúrico a esta hora en el día del proestro no afecta la secreción de GnRH y por ende la de LH. No se descarta que a las 9:00 h del proestro la sensibilidad de las neuronas GnRHérgicas sea menor, por lo que se requiere de una concentración mayor del PB para inducir cambios en la secreción de GnRH que conlleve al bloqueo de la ovulación. La respuesta del animal al PB depende no solo de la dosis si no también del día del ciclo estral en el que se administra y de la hora del día. Así, cuando se administran 50 mg/kg de pc en la tarde del diestro-2 se produce el bloqueo de la ovulación en el 60% de los animales, mientras que si se administra en la mañana del estro sólo ovula el 20% (Domínguez y Smith, 1974). En estos modelos si se inyecta la gonadotropina coriónica humana (hCG) se restablece la respuesta ovulatoria (Domínguez y Smith, 1974).

En el presente estudio la administración de PB resultó en una menor concentración de progesterona en sangre. Resultados que permiten sugerir que al sedar al animal disminuye la actividad de la glándula adrenal, y así resultar en bajas concentraciones de progesterona en suero. En los animales con PB no se modificó la secreción de estradiol, lo que explicaría el hecho de que no se haya modificado la ovulación.

Los grupos de Gerendai (2000) y Toth (2007) al inyectar trazadores retrógrados en el ovario muestran la existencia de una comunicación neural entre los ovarios y el SNC. Con la ayuda de trazadores inyectados en el NSQ, se ha podido establecer la comunicación entre éste núcleo y el NPV, y éste a su vez con uno de los cuatro núcleo que van a dar origen al nervio

vago, el Núcleo Dorsal Motor del Nervio Vago (NDMNV) (Buijs y col., 2003). Estas fibras vagales descienden hasta hacer sinapsis en el Ganglio Nodoso, a partir del cual se origina el soma de las neuronas que van a inervar, al útero y los ovarios (Gerandai y col., 2000).

Diversos autores han mostrado que la información neural que transcurre por el nervio vago participa en los mecanismos que regulan la ovulación y la respuesta esteroidogénica (Lawrence y col., 1978; Cruz y col., 1986; Chávez y col., 1989; Nakamura y col., 1992; Morales y col., 2004; Linares y col., 2013).

En la rata adulta cíclica la sección del nervio vago izquierdo disminuye la tasa ovulatoria tres ciclos post-denervación, lo que llevo a los autores a sugerir que el proceso ovulatorio depende más de la integridad del nervio vago izquierdo (Cruz y col., 1986). En el presente estudio, en la rata adulta se observó que la información neural que transcurre por el nervio vago derecho modula de manera estimulante la ovulación, mientras que la del nervio vago izquierdo parece no participar. La aparente discrepancia con los resultados publicados podría ser explicados en función del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia, ya que mientras el grupo de Cruz dejo transcurrir aproximadamente 12 días, en el presente estudio la denervación se practicó en la mañana del proestro y se evaluó 24 h post-denervación. No descartamos que el resultado de la vagotomía sea producto de la liberación brusca de los neurotransmisores al momento de seccionar el nervio vago.

Para que se lleve a cabo la ovulación es necesario que se presente el pico preovulatorio de LH, el cual es precedido por el de estradiol (Legan y Karsch, 1975; Legan y col, 1975; Cristian y col, 2005). Aunado al control hormonal, se requiere de la integridad de la inervación extrínseca que reciben las gónadas. En la rata púber la participación del nervio vago en la regulación de la esteroidogénesis depende de la edad del animal y del nervio estudiado. Así, en la rata juvenil el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de progesterona y estradiol (Morales y col., 2004). En la rata preñada, la vagotomía bilateral induce incremento en el número de reabsorciones fetales, como resultado de la disminución en la concentración de progesterona, efecto atribuido a la menor secreción de LH y de la actividad de la 3 β -HSD, enzima responsable de la síntesis de progesterona (Lawrence y col., 1978).

En la rata con síndrome de ovario poliquístico la falla ovulatoria se ha atribuido a la alteración en el feedback ovárico y por ende a la alteración en la secreción de GnRH / LH. En este modelo experimental la información que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de progesterona, mientras que la secreción de estradiol es modulada de manera inhibitoria (Linares y col., 2013).

Los resultados del presente estudio muestran que en la rata adulta la modulación que ejerce el nervio vago en la secreción de progesterona es asimétrica, donde el vago derecho la modula de manera inhibitoria y el vago izquierdo parece no participar. Estudios anteriores han demostrado que en la rata adulta, la vagotomía bilateral resulta en la disminución de la concentración de P4 en comparación a los animales a los que solo se les practicó una laparotomía. Estos resultados son interpretados como una disminución en la actividad del cuerpo lúteo y de la glándula intersticial (Lawrence y col., 1978; Nakamura y col., 1992). Al parecer, esta modificación está relacionada a la baja actividad en la 3 β HSD, enzima que promueve en el cuerpo lúteo la conversión de pregnenolona a progesterona (Lawrence y col., 1978). Tomando en conjunto estas evidencias podemos sugerir que la esteroidogénesis es regulada de manera diferente cuando queda intacto uno de los nervios vago que cuando se quitan ambos.

Las glándulas adrenales reciben inervación vagal directa y por neuronas que se originan en el ganglio celiaco (Coupland y col., 1989). Se ha mostrado que en la rata adulta en el día del proestro, el mayor aporte de progesterona a la circulación es por parte de las glándulas adrenales (Flores y col., 2005). Esta idea concuerda con nuestros resultados ya que en el grupo con microinyección de vehículo en el NSQ izquierdo o derecho observamos que la vagotomía izquierda o derecha sólo ovulan el 40% de los animales, mientras que la concentración de P₄ es tres veces más alta en el grupo con sección del vago izquierdo que en el derecho; ya que en ambos grupos el número de ovocitos liberados y por ende el de cuerpos lúteos es similar, es posible sugerir que la progesterona circulante no sólo es de origen ovárico si no que también puede ser proveniente de la glándula adrenal, donde además la regulación de esta glándula vía nervio vago es asimétrica.

A partir de los resultados obtenidos en el animal con microinyección de vehículo en el supraquiasmático izquierdo seguido de la laparotomía ventral, sugerimos que existe una vía de comunicación entre el núcleo y el peritoneo que modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona por parte de la adrenal, lo que explicaría la disminución en la concentración de la hormona. Es posible que la vía de comunicación esté dada por el nervio vago izquierdo, ya que la sección de éste nervio resulta en el restablecimiento de la concentración de progesterona.

En la segunda mitad del ciclo menstrual de la mujer, las altas concentraciones de progesterona inhiben la liberación de GnRH por parte del hipotálamo y de las gonadotropinas por la adenohipófisis, evitando así la ovulación (Gupta y col., 2015). Al parecer en nuestros animales con vagotomía, la respuesta ovulatoria no depende únicamente de las concentraciones de progesterona, ya que aún cuando se encuentra muy elevada ovula de la misma manera a cuando la concentración de P₄ es normal.

En la rata, al inicio o final de la etapa juvenil, el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de estradiol (Morales y col., 2004). En el presente estudio, al realizar la vagotomía unilateral en el día del proestro, la concentración de estradiol fue menor respecto a su grupo con laparotomía, resultados que nos permiten sugerir que el papel del vago en la regulación de la secreción de estradiol no varía con la edad del animal. Dicho efecto estimulante no se ve modificado por la operación simulada del supraquiasmático izquierdo, seguido de la vagotomía. Sin embargo, el efecto estimulante del vago derecho se pierde si se practica la operación simulada del núcleo supraquiasmático. Estos resultados nos permiten proponer la existencia de una comunicación entre el NSQ-Derecho, el peritoneo y el ovario, de tipo estimulante. La posible comunicación del supraquiasmático con el peritoneo no se ve modificada si en el núcleo se microinyecta solución salina.

El nervio vago transporta al ovario Acetilcolina (ACh) (Gerendai y col., 2000), neurotransmisor que participa en la regulación de la ovulación. Idea que se apoya en el hecho de que el bloqueo del sistema colinérgico por la administración de sulfato de atropina resulta en un bloqueo total de la ovulación si se administra a una concentración de 700 mg/kg a las 13:00 h del día del proestro, donde además, la regulación por este sistema de neurotransmisión muestra un ritmo circadiano, ya que si la atropina es administrada a las 17:00 h de mismo día no se bloquea la ovulación (Domínguez y col., 1982). En el día del proestro el sistema colinérgico regula de manera inhibitoria la secreción de progesterona (Flores y col., 2005).

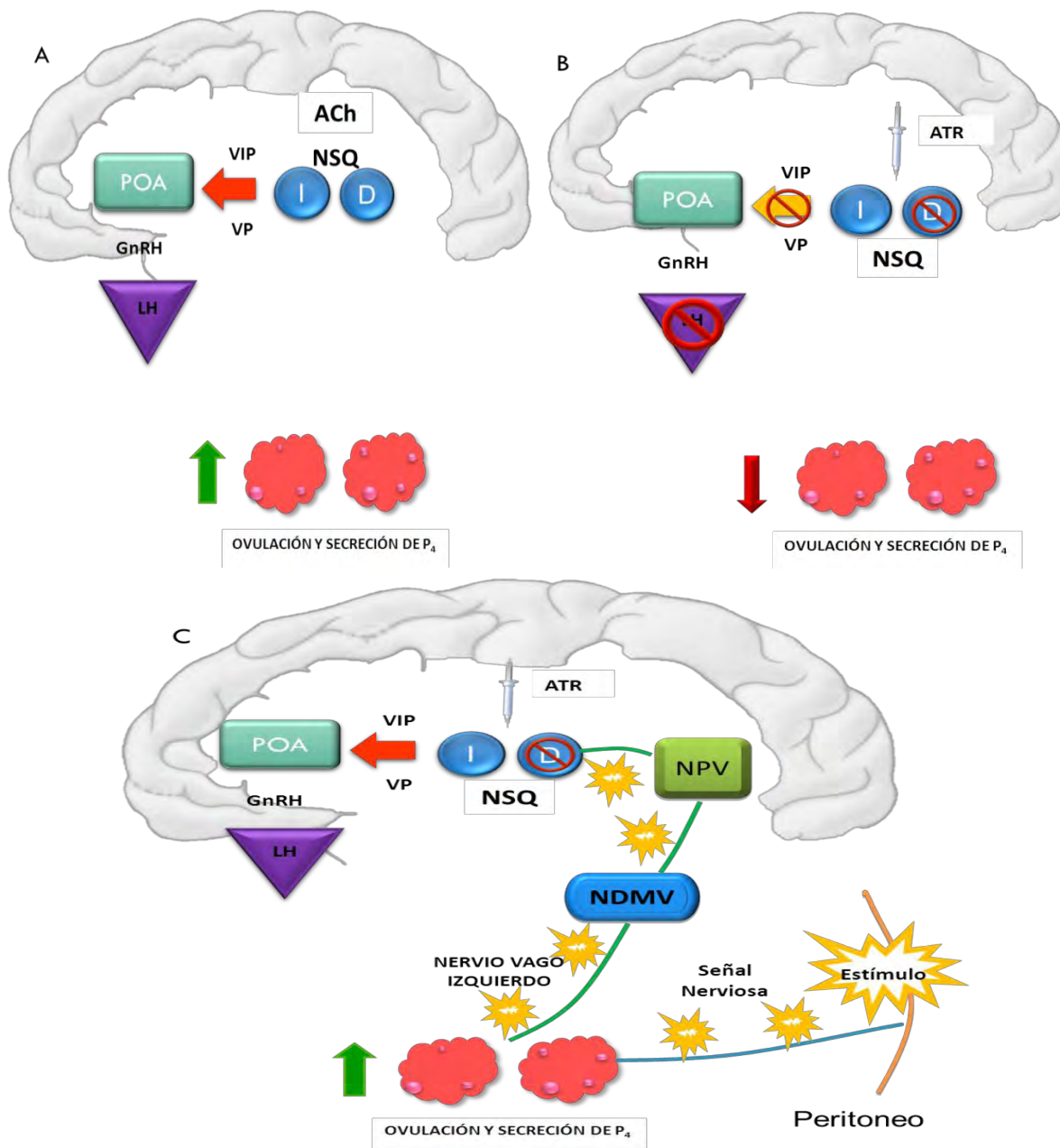
La atropina es un antagonista colinérgico con mayor afinidad a los receptores muscarínicos en comparación con la ACh (Mendoza, 2008). En estudios previos del laboratorio, mostramos que la microinyección unilateral con atropina en el NSQ produce un bloqueo de la ovulación entre el 60% y 80% de los animales (Lagunas, 2014). Esta respuesta no se modificó en el presente estudio.

La información colinérgica que se origina en el NSQ, modula de manera estimulante la respuesta ovulatoria, efecto que se da por la comunicación que existe entre el NSQ y el área preóptica (POA), mediante péptido intestinal vasoactivo (VIP) y vasopresina (VP). Esta comunicación puede ser alterada cuando se microinyecta atropina en cualquiera de los dos núcleos y así bloquear la ovulación. Este efecto inhibitorio sobre las funciones ováricas en el animal microinyectado con ATR en el NSQ se ve revertido al realizar un estímulo en el peritoneo. El grupo de Barco (2003) proponen una vía de comunicación entre el peritoneo y los ovarios, la cual va a participar en la esteroidogénesis. Los resultados del presente estudio apoyan esta idea de comunicación neural entre el peritoneo y los ovarios, y sugerimos que al llegar a los ovarios va a desencadenar una señal nerviosa que viajará vía nervio vago izquierdo hasta el NSQ, probablemente de naturaleza colinérgica, haciendo relevo en núcleo dorsal motor del vago y de allí al núcleo paraventricular, tal y como se señala en el modelo.

En el animal con bloqueo del sistema muscarínico del supraquiasmático, el nervio vago izquierdo o derecho participa de manera diferencial en los mecanismos que conllevan a la ovulación, ya que en este modelo, al seccionar el vago izquierdo ocurre un bloqueo parcial de la ovulación en comparación con el animal con laparotomía, y cuando es seccionado el vago derecho no hay efecto alguno.

En la rata, la progesterona circulante puede ser de origen ovárico y adrenal, en el día del proestro el principal aporte proviene de la adrenal, mientras que en el diestro es de origen ovárico. La secreción de esta hormona es regulada por el sistema colinérgico, ya que en el animal con inyección sc. de sulfato de atropina a las 12 h del proestro y sometidos a la ovariectomía bilateral o adrenalectomía bilateral resulta en la disminución de la concentración de progesterona (Flores y col, 2005). Con los resultados del presente estudio sugerimos que la información colinérgica que se origina del NSQ izquierdo modula de manera estimulante la secreción de progesterona. Es posible que la modulación que ejerce el NSQ sea mediada por la información neural que se origina en el peritoneo, ya que cuando éste se corta tiende a restablecerse la concentración de la hormona.

El mayor aporte de E_2 en el día del proestro es por los ovarios y éste a su vez es regulado por el sistema colinérgico (Cruz y col., 2006). En la rata con bloqueo del sistema muscarínico, la señal nerviosa que pudiera originarse en el peritoneo modula de manera estimulante la secreción de estradiol, ya que al realizar el corte en el peritoneo la concentración de estradiol en suero decae, efecto que no se ve modificado al seccionar el nervio vago. Por tal motivo se sugiere que el sistema colinérgico del supraquiasmático modula de manera estimulante la secreción de P_4 y parece no participar en la secreción de estradiol.



Modelo. En el presente modelo se resume el efecto de la estimulación del peritoneo en un animal con microinyección de atropina en el NSQ izquierdo o derecho sobre las funciones ováricas. A) La información colinérgica que se origina en el NSQ izquierdo y derecho necesaria en la secreción de vasopresina (VP) y péptido intestinal vasoactivo (VIP). Éstas regulan la actividad de las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que se encuentran en el área preóptica (POA), de este modo, al ser estimulada la hipófisis por la GnRH se va a liberar la hormona luteinizante (LH) y así regular las funciones ováricas. B) La microinyección de atropina (ATR) en cualquiera de los supraquiasmáticos tiene un efecto inhibitorio en la secreción de VP y VIP, las cuales al no llegar a POA alteran la pulsatilidad de la GnRH y por ende, la secreción de LH, lo que resulta en la disminución de las funciones ováricas. C) El estímulo que se origina en el peritoneo va a resultar en la liberación de una señal nerviosa la cual va a llegar a los ovarios, para después viajar vía nervio vago izquierdo, y a través de un relevo de información en el núcleo dorsal motor del vago (NDMV) y del núcleo paraventricular (NPV) llegar a los supraquiasmáticos y actuar sólo en el núcleo intacto, y así estimular la secreción de VIP y VP sobre POA y finalmente estimular las funciones ováricas.

CONCLUSIONES

- A las 9:00 horas del día del proestro, el sistema colinérgico del NSQ Izquierdo o Derecho regula de manera estimulante los eventos que culminan con la ovulación.
- El sistema colinérgico del NSQ regula de manera estimulante la secreción de progesterona y parece no participar en la de estradiol.
- El NSQ se comunica con los ovarios, vía el nervio vago izquierdo.

BIBLIOGRAFÍA

Abrahamson E, y Moore R. (2001). Suprachiasmatic nucleus in mouse: retinal innervation, intrinsic organization and efferent projections. *Brain Research*. 916: 172-191.

Aguilar-Roblero R, Guadarrama P, Mercado C, Chávez J. (2004). El núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores. *Temas Selectos de Neurociencias III*. J. Velázquez Moctezuma (Ed.). UAM. México. pp. 321-330.

Aguilar-Roblero R, Morin L, Moore R. (1994). Morphological correlates of circadian rhythm restoration induced by transplantation of the suprachiasmatic nucleus in hamsters. *Experimental Neurology*. 136: 1-11.

Antle M, y Silver R. (2005). Orchestrating time: arrangements of the brain circadian clock. *TRENDS in Neurosciences*. 28 (3): 145-151.

Bajo J, y Coroleu B. (2009). *Fundamentos de Reproducción*. Editorial Médica Panamericana. pp. 16-19.

Berson D, Dunn F, Takao M.(2002).Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science*. 295: 1070–1073.

Buijs R, La Fleur S, Wortel J, Heyningen C, Zuiddam L, Mettenleiter T, Kalsbeek A, Nagai K, Nijijima A. (2003). The Suprachiasmatic Nucleus Balances Sympathetic and Parasympathetic Output to Peripheral Organs through Separate Preautonomic Neurons. *The Journal of Comparative Neurology*. 464: 36-48

Chávez R, Sánchez S, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R. (1989). Effects on oestrus cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different day of the oestrus cycle in the rat. *Journal of Endocrinology*. 123: 441-444.

Collins J, Lin C, Berthoud H, Papka R. (1999). Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. *Cell Tissue Res*. 295: 43-54.

Costoya J, y Arce V. (2005). Integración neuroendócrina: En Fisiología Humana (Tesguerras 2005). Ed McGraw-Hill Interamericana de España. pp. 824-839.

Coupland R, Parker T, Kesse W, Mohamed A. (1989). The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *J Anat.* 163: 173-181.

Christian C, Mobley J, Moenter S. (2005). Diurnal and estradiol-dependent changes in gonadotropin-releasing hormone neuron firing activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102: 15682–15687.

Cruz ME, Chávez R, Domínguez R. (1986). Ovulation follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev Invest Clin (Mex).* 38: 167–171.

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

Dibner Ch, Schibler U, Albrecht U. (2010). The Mammalian Circadian Timing System: Organization and Coordination of Central and Peripheral Clocks. *Annual Review of Physiology.* 72: 517-538.

Domínguez R, y Smith E. (1974). Barbiturate blockade of ovulation on days other than proestrus in the rat. *Neuroendocrinology.* 14: 212-233.

Erickson J, Hsueh D. (1987). Structure-function relationship during granulosa cell differentiation. *Endocrine Reviews.* 8 (3): 309

Findlay J. (1994). *Molecular biology of the female reproductive system.* Academic Press, USA. 457 pp.

Flores A, Meléndez G, Palafox M, Rodríguez J, Barco A, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2005). The Participation of the Cholinergic System in Regulating Progesterone Secretion Through the Ovarian–Adrenal Crosstalk Varies Along the Estrous Cycle. *28 (2):* 145-151.

Flores ME, y Segura JE. (2005). Estructura y función de los receptores acetilcolina de tipo muscarínico y nicotínico. *Rev Mex Neuroci.* 6 (4): pp. 315-326.

Flórez J, y González AM. (2008). *Farmacología humana*. 5ª Edición. Ed ELSEVIER ESPAÑA S.A. España. pp. 213.

Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B. (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal of Autonomic Nervous System.* 80 (1-2): 40-45.

González AM, y Flórez J. (1997). Transmisión colinérgica. Fármacos agonistas colinérgicos. En: Flórez J, Armijo JA, Mediavilla A, Editores. *Farmacología Humana*. Editorial Masson S.A. pp. 213-28.

Gruart A, Delgado M, Escobar C, Aguilar R. (2002). *Los relojes que gobiernan la vida*. Fondo de Cultura Económica. México, DF. pp. 200

Gupta S, Malik A, y Arukha A. (2015). Ovarian and oocyte targets for development of female contraceptives. *Expert Opinion on Therapeutic Targets.* 19 (11): 1433-1446.

Hannibal J. (2002). Neurotransmitters of the retinohypothalamic tract. *Cell Tissue Research.* 309: 73-88.

Ibañez L, y Potau N. (2007). Ovario: estrógenos, gestágenos, andrógenos, globulina fijadora de hormonas sexuales, inhibinas y cariotipo. *Endocrinol Nutr.* 54 (3): 174-181.

Jennes L, Eyigor O, Janovick JA, Conn PM. (1997). Brain gonadotrophin releasing hormone receptors: localization and regulation. *Recent Progress in hormone Research.* 52: 475-491.

Klein DC, Moore RY, Reppert SM. (1991). Suprachiasmatic Nucleus. *The Mind's Clock: En El núcleo supraquiasmático y la glándula pineal en la regulación de los ritmos circadianos en roedores* (Aguilar 2004). *Temas Selectos de Neurociencias III*. J. Velázquez Moctezuma (Ed.). UAM. México. pp. 321-330

Kriegsfeld L, y Silver R. (2006). The regulation of neuroendocrine function: timing is everything. *Horm. Behav.* 49: 557–574.

Lawrence I, Burden H, Louis T. (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentration and fetal resorption. *J Reprod Fertil.* 53: 131-136.

Lagunas N. (2014). Efectos de la micro-inyección de atropina en el núcleo supraquiasmático en el día del proestro sobre las funciones ováricas. Tesis de licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.

Lazar K, Costumbres N, Navarro S, Saeed A, Arora K, Catt k. (1998). Muscarinic Regulation of Intracellular Signaling and Neurosecretion in Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. The Endocrine Society. Maryland. 0013-7227.

Legan S, Coon G, Karsch F. (1975). Role of estrogen as initiator of daily LH surges in the ovariectomized rat. *Endocrinology.* 96: 50–56.

Legan S, y Karsch F. (1975). A daily signal for the LH surge in the rat. *Endocrinology.* 96: 57–62.

Linares R, Hernández D, Moran C, Chavira R, Cárdenas M, Domínguez R, Morales-Ledesma L. (2013). Unilateral or bilateral vagotomy induces ovulation in both ovaries of rats with polycystic ovarian syndrome. *Reproductive Biology and Endocrinology.* 11: 68.

Lumley S, Craven L, Aitken T. (1985). Oído, región intracraneal y nervios craneales. *Anatomía esencial. Aplicaciones técnicas.* ed. Barcelona. Salvat. pp. 333-347.

Magoffin DA, y Erickson GF. (1994). Control System of Theca-Interstitial Cells: En *Molecular biology of the female reproductive system* (Frindlay JK 1994). Academic Press, USA. pp. 39-57.

Márquez B. (2004). Ritmos circadianos y neurotransmisores: Estudios en la corteza prefrontal de la rata. Universidad de Complutense De Madrid. 84-669-2475-2.

Mendoza N. (2008). Farmacología médica. Editorial Médica Panamericana: UNAM, Facultad de Medicina, México. pp. 213.

Meilán ML, y Quecedo L. (2000). Estimulación Vagal en la Epilepsia: Consideraciones Anestésicas. AnesNet Libro Electrónico de Anestesiología, Reanimación y Tratamiento del Dolor. Madrid, España.

Moore R, y Eichler V. (1972). Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.* 42: 201–206.

Morales-Ledesma L, Betanzos-García R, Domínguez-Casalá R. (2004). Unilateral or Bilateral Vagotomy Performed on Prepubertal Rats at Puberty Onset of Female Rat Deregulates Ovarian Function. *Archives of Medical Research.* 35: 279–283

Nakamura Y, Kato H, Terranova P. (1992). Abdominal vagotomy decreased the number of ova shed and serum progesterone levels on estrus in the cyclic hamster. *Endocrinol. Jap.* 39: 141-145.

Navarrete MI. (2014). Modificación de las funciones ováricas en el animal con síndrome de ovario poliquístico inducido por la administración de valerato de estradiol o la exposición de estrés por frío. Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.

Prieto-Gómez B, y Velázquez-Paniagua M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotropinas. *Rev Fac Med. UNAM.* 45: 252-257

Rollag M, Berson D, Provenci I. (2003). Melanopsin Ganglion-cell photoreceptors, and mammalian photoentrainment. *Journal of Biological Rhythms.* 18: 227-234.

Rothlin R. (2003). Farmacología clínica. 4ª Edición. U.B.A. pp. 8.

Silva C. (2013). Respuesta ovulatoria a la lesión del núcleo supraquiasmático a las 9:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta. Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza. UNAM.

Stephan F, y Zucker I. (1972). Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 69: 1583–1586.

Toth I, Wiesel O, Bodogkoi Z, Bálint K, Tapaszi Z, y Gerendai I. (2007). Predominance of Supraspinal Innervation of the Left Ovary. *Microscopy Research and Technique*. 70: 710-718.

Tresguerres J, Ariznavarreta C, Cachafeiro V, Cardinale D, Escrich E, Gil P, Lahera V, Mora F, Romano M, Tamargo J. (2005). *Fisiología Humana*. Ed McGraw-Hill Interamericana de España. pp.1500.

Tresguerres J, y Castillo C. (2005). Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-ovárico: En *Fisiología Humana* (Tresguerres 2005). Ed McGraw-Hill Interamericana de España. pp. 1007-1023.

Upledger JE. (2004). *Terapia Craneosacra II. Más allá de la Duramadre*. Editorial Paidotribo. Barcelona. pp. 126-134.

Vantman D, y Vega M. (2010). Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer. *Rev. Med. Clin. Condes*. 21(3): 348-362.

Wilbur VIII, y Kriegsfeld L. (2012). Circadian control of neuroendocrine circuits regulating female reproductive function. *Frontiers in Endocrinology*. 3: 1-14.

Yellon SM, Lehman MN, Newman SW. (1990). The gonadotrophin-releasing hormone neuronal system of the male Djungarian hamster: distribution from the olfactory tubercle to the medial basal hypothalamus. *Neuroendocrinol*. 51: 219-225.

Yen S, Jaffe R, Barbieri R. (2001). *Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico*. Editorial Médica Panamericana. México, D.f. pp. 37-46.

Zhang L, Aguilar-Roblero R, Barrio RA, Maini PK. (1995). Rhythmic firing patterns in SCN: The role of circuit interactions. *International Journal of Bio-Medical Computing*. 38: 23-31.