



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO

ANÁLISIS DEL REEMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOTALÁMICO-
HIPOFISARIA EN RATAS CON ADRENALECTOMÍA
BILATERAL A LAS 13:00 H SOBRE LA OVULACIÓN

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

Gabriela Contreras González

DIRECTORA DE TESIS: M. en IBSH Angélica Flores Ramírez

CDMX., 2021





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.

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	4
OVARIOS	4
OVOGÉNESIS	5
FOLICULOGÉNESIS	5
OVULACIÓN	9
CUERPO LÚTEO	10
ATRESIA FOLICULAR	11
CICLO ESTRAL	12
PERFIL DE SECRECIÓN HORMONAL A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL	18
INERVACIÓN	21
GLÁNDULAS ADRENALES	22
PARTICIPACIÓN DE LAS GLÁNDULAS ADRENALES EN LA REPRODUCCIÓN	26
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	29
HIPÓTESIS	29
OBJETIVO GENERAL	29
OBJETIVOS PARTICULARES	30
MATERIAL Y MÉTODOS	31
RESULTADOS	35
DISCUSIÓN	52
CONCLUSIONES	60
REFERENCIAS	61
ANEXO 1. ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA	71
ANEXO 2. ESTEROIDOGÉNESIS ADRENAL	72
ANEXO 3. ISOFLURANO (PISA, México)	74
ANEXO 4. ENROXIL (Antibiótico)	75
ANEXO 5. MELODEX (antiinflamatorio)	76
ANEXO 6. HEMATOXILINA-EOSINA	77

RESUMEN

Las funciones de los ovarios son reguladas por la información que proviene del hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y las glándulas adrenales. Se ha mostrado que los animales con adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral presentaron disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho cuando la cirugía se realizó en diestro-1 y por el ovario izquierdo al realizarla en la etapa de proestro en comparación con su respectiva operación simulada. Debido a que se desconoce a qué nivel del eje reproductivo participa la información que proviene de las adrenales para regular la ovulación, en este estudio se propuso realizar si el reemplazo de la señal que proviene del hipotálamo, la hipófisis y los ovarios en ratas con Adx-B restauran la ovulación.

Para ello, se utilizaron ratas hembra de la cepa CIIZ-V, adultas y cíclicas, mantenidas bajo un fotoperiodo L:D=14:10, con agua y alimento *ad libitum*. Se replicó la Adx-B a las 13:00 h en las etapas de diestro-1 o proestro y posteriormente los animales se dividieron al azar en cuatro grupos: 1) se reemplazó la señal hipotalámica con 3.7 µg/kg de (Gly-OH)-LHRH a las 14:00 h del proestro, 2) la señal hipofisiaria con 5 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) a las 14:00 h del proestro o 3) con 10 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) a las 13:00 h del diestro-1, y la 4) señal ovárica con 10 µg de benzoato de estradiol (BE) a las 14:00 h del diestro-2. Los animales fueron sacrificados en el día del estro esperado.

En la etapa de diestro-1, el reemplazo con (Gly-OH)-LHRH, eCG o BE restauró el número de ovocitos liberados por el ovario derecho con un número semejante al del grupo con operación simulada. Sin embargo, el reemplazo con hCG no restauró dicho parámetro ovulando una cantidad similar a la del grupo con Adx-B. En la etapa de proestro, el reemplazo con (Gly-OH)-LHRH o hCG restauró el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo con una cantidad de ovocitos similar a la del grupo con operación simulada.

Con base en los resultados se sugiere que la información que proviene de las glándulas adrenales en la etapa de diestro-1 estimula la regulación de la retroalimentación que se lleva a cabo del ovario hacia el hipotálamo por parte del estradiol. A su vez, participa en la regulación de la secreción de la FSH, es por ello que al removerlas en esta etapa se interrumpe el crecimiento folicular y resulta en

la disminución del número de ovocitos liberados. Por otro lado, en la etapa de proestro, la información que proviene de las glándulas adrenales participa de manera estimulante en la regulación de la oleada preovulatoria de la GnRH/LH.

INTRODUCCIÓN

Las funciones de los ovarios son la ovulación y la secreción de hormonas esteroideas y proteicas (Vidal y Dixon, 2018). Estas funciones son reguladas por la información que proviene del hipotálamo, la hipófisis y el propio ovario (Levine, 2015). Por ello, la secreción hipotalámica de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) estimula la secreción preovulatoria de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en la adenohipófisis, lo que desencadena la ruptura de la pared del folículo y la liberación del ovocito (Domínguez *et al.*, 1991).

En la regulación de las funciones de los ovarios también participa la información que proviene de las glándulas adrenales. Al respecto, Pepler y Jacobs (1976) mostraron que la extirpación de ambas glándulas (Adx-B) en la etapa de diestro-1 del ciclo estral de la rata resultó en menor número de ovocitos liberados cuando fueron sacrificados un ciclo o 30 días después de la cirugía, lo que se acompañó de la disminución del número de folículos mayores a 448 μm . Los autores proponen que la falta de la información que proviene de las adrenales alteró la secreción de la FSH o disminuyó la sensibilidad de los ovarios a dicha hormona.

Pimentel (2011) mostró que en los animales con Adx-B a las 13:00 h en las etapas de proestro, estro y diestro-1 disminuye la tasa de animales ovulantes (TAO) al siguiente estro posterior a la cirugía. Con base en los resultados, la autora propone que la falta de información que proviene de las adrenales resultó en un aumento en la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), lo cual alteró la secreción de la GnRH y LH preovulatorias.

Ya que se desconoce a qué nivel del eje reproductivo intervienen las secreciones de las glándulas adrenales y, por tanto, cuál de las señales es alterada por la adrenalectomía, se analizará si la disminución en la ovulación es por alteración de la secreción preovulatoria de la GnRH, de las gonadotropinas o del estradiol.

MARCO TEÓRICO

OVARIOS

Los ovarios son estructuras redondeadas con una superficie irregular que se localizan a varios milímetros del riñón y aproximadamente a 1 cm lateral de la línea media. Se encuentran unidos a la pared dorsal abdominal por una prolongación llamada mesoovario y por el ligamento suspensorio. En la rata adulta, cada ovario mide aproximadamente 5 mm en su mayor dimensión y tienen un peso aproximado de 60 mg (Vidal y Dixon, 2018).

El ovario está conformado por la túnica albugínea, la corteza y la médula (Figura 1). La corteza es la zona externa del ovario y se compone de una red de tejido conjuntivo llamada estroma (que contiene células estromales similares a los fibroblastos), folículos ováricos en diversas etapas del desarrollo, cuerpos lúteos (resultado de la ovulación) y células intersticiales. La médula es la parte interna del ovario en la que se encuentran vasos sanguíneos y tejido conjuntivo laxo. El hilio es la vía por la cual entran y salen del ovario las terminales nerviosas y los vasos sanguíneos (Gartner y Hiatt, 2007).

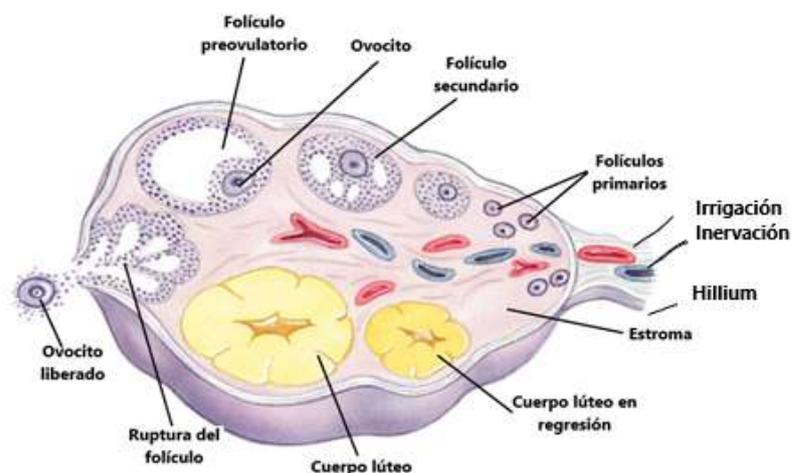


Figura 1. Esquema del ovario que señala los folículos en desarrollo, el cuerpo lúteo, la irrigación, la inervación, el hilio y un ovocito liberado (modificada de http://163.178.103.176/Fisiologia/fendocrino/ejercicios/ejercicio2/endo_ejercicio2_7.html; consultada el 29-05-2020).

OVOGÉNESIS

La ovogénesis es el proceso de formación de los ovocitos o gametos femeninos que tiene lugar en los ovarios. Las células germinales diploides generadas por mitosis se localizan en los folículos del ovario, donde crecen y tienen modificaciones estructurales (Newman, 1991).

Las células germinales se dividen por meiosis para dar lugar al ovocito. En esta meiosis se reduce la cantidad de cromosomas de 42 a 21 y es regulada por la secreción preovulatoria de la LH; lo que ocurre entre las 17:00 y las 18:00 h en la etapa de proestro (aproximadamente 2 o 3 horas después de la oleada de la LH). La segunda división meiótica procede sólo si el óvulo es fertilizado (Gartner y Hiat, 2007; Levine, 2015). El desarrollo del ovocito sucede al mismo tiempo que el desarrollo de las células foliculares que lo recubre (Zhang *et al.*, 2010).

FOLICULOGÉNESIS

Durante la formación del ovocito maduro se producen cambios en las células que lo rodean en un proceso denominado foliculogénesis que comprende el crecimiento del folículo y su pasaje a través de las distintas etapas de diferenciación (Hiller, 2001).

El desarrollo de los folículos hasta el estadio primario es independiente de gonadotropinas (FSH y LH), pero a partir del estadio secundario es dependiente de ellas (Figura 2) (Hiller, 2001).

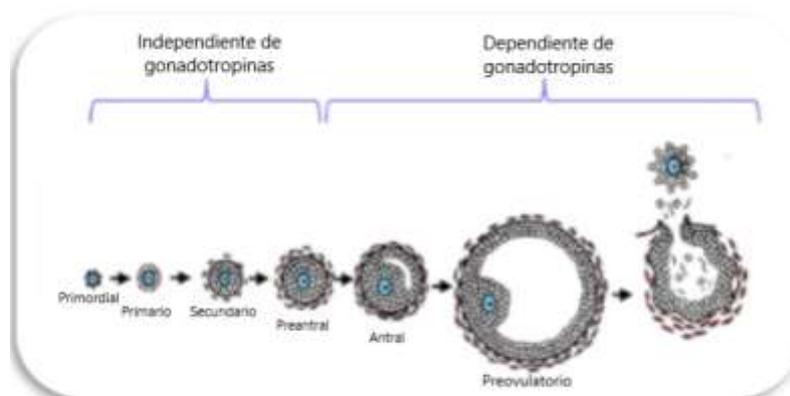


Figura 2. Esquema que muestra las distintas etapas de desarrollo folicular, así como la división de las etapas independientes y dependientes de gonadotropinas (modificada de <https://ovarianresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1757-2215-2-9>; consultada el 29-05-2020).

Folículo primordial

Los folículos primordiales se encuentran rodeados de una capa simple de células planas llamadas pregranulosas (Figura 3). Estos representan la estructura funcional más importante del ovario ya que en esa etapa los folículos no crecen en número y constituyen una reserva fija de gametos que va disminuyendo gradualmente cada ciclo (Chedresse, 2003; Newman, 1991).

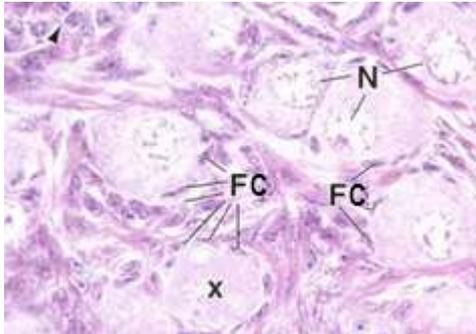


Figura 3. Folículo primordial en donde se observa: N: núcleo, FC: células foliculares y X: ovocito sin núcleo (Ross y Pawlina, 2007).

En ratas, un folículo primordial típico contiene aproximadamente cuatro células planas pre-granulosas en su sección transversal. Un folículo con el doble de células pre-granulosas y con morfología cúbica en su sección transversal es considerado un folículo primario (Chedresse, 2003; Newman, 1991).

Folículo primario

A medida que el ovocito aumenta de tamaño, la capa única de células aplanadas se convierte inicialmente en una capa de células cúbicas y cilíndricas (Figura 4) (Hiller, 2001). Esto es estimulado por la inervación ovárica y factores de crecimiento sintetizados por el propio folículo (Pangas y Rajkovik, 2015).

En esta etapa de crecimiento comienza la formación de la zona pelúcida; que separa al ovocito de las células foliculares, las que a su vez se multiplican y reciben el nombre de “células de la granulosa” formando un epitelio estratificado columnar que dará origen al folículo secundario (Zhang *et al.*, 2010).

La zona pelúcida es una matriz glucoproteica que tiene dos funciones principales durante la fecundación: es el sitio de reconocimiento del espermatozoide y da comienzo a la reacción acrosómica momentos después de la unión del espermatozoide. Está formada por mucopolisacáridos secretados por las células de la granulosa que más tarde originarán un halo translúcido que rodea al ovocito. (Gilbert, 2003).

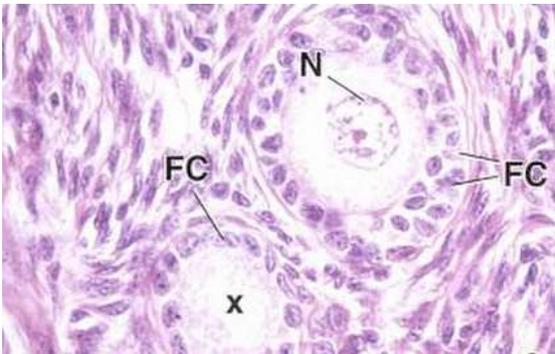


Figura 4. Folículo primario con y sin núcleo en el que se observa: N: núcleo, FC: células foliculares cúbicas y X: ovocito sin núcleo (Ross y Pawlina, 2007).

Folículo secundario

En esta etapa de crecimiento, la comunicación entre el ovocito y las células de la granulosa es a través del factor de crecimiento transformante β (TGF- β) (Levine, 2015). La capa más externa de la granulosa se encuentra limitada por la membrana basal, y ésta a su vez por el tejido conjuntivo ovárico formando la teca folicular, que se divide en interna y externa. La primera recibe un gran aporte de vasos sanguíneos y posee receptores a la LH y la teca externa es menos vascularizada (Figura 5) (Hiller, 2001).

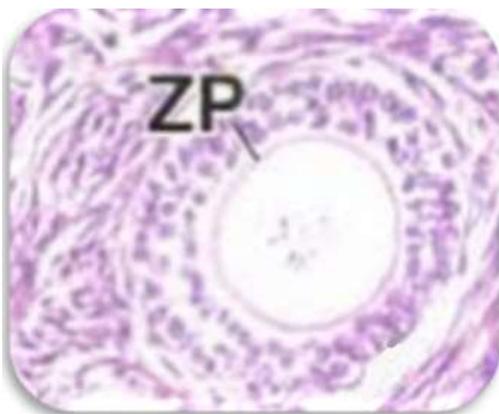


Figura 5. Folículo secundario donde se observa la capa multilaminar de células de la granulosa y la zona pelúcida (ZP) (Ross y Pawlina, 2007).

Folículo preantral

Una vez que las células de la granulosa forman siete u ocho capas alrededor del ovocito (Figura 6), comienza a observarse la presencia de licor folicular formando los cuerpos de Call-Exner; se originan por extravasación de componentes plasmáticos y por la secreción de las células de la granulosa. En el licor folicular se encuentran proteínas, péptidos, prolactina, estrógenos, progesterona, gonadocrininas y noradrenalina. El aumento del líquido folicular forma el antro. Una característica de este folículo es que mantiene visible el núcleo del ovocito (Domínguez *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 2010).

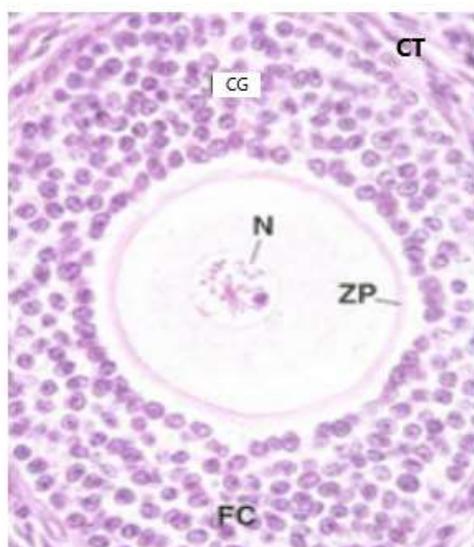


Figura 6. Folículo preantral donde se observa: ZP: zona pelúcida, FC: células foliculares, N: núcleo, CG: células de la granulosa, CT: células de la teca (modificada de Ross y Pawlina, 2007).

Folículo antral

El folículo aumenta de tamaño, el antro se hace más grande y el ovocito queda excéntrico dentro del líquido folicular sostenido por una columna de células de la granulosa que forma un anillo conocido como *cumulus oophorus* (Figura 7) (Da Silva *et al.*, 2018).

Un folículo preantral o preovulatorio en pleno crecimiento contiene aproximadamente 2000-2500 células de la granulosa en la sección transversal más grande. En la rata, el crecimiento de un folículo primordial hasta la octava generación probablemente tarda más de 50 días, es decir, más de 15 ciclos estrales (Newman, 1991).

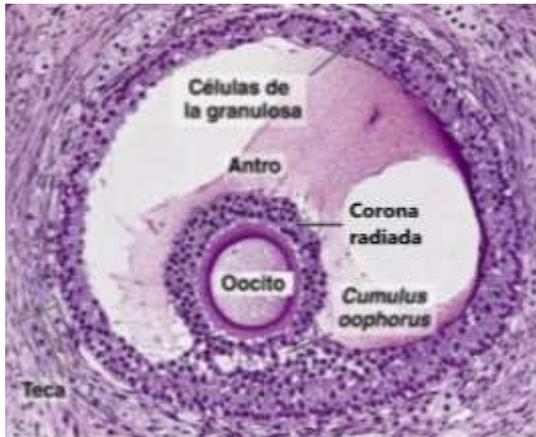


Figura 7. Folículo antral donde se observan las células de la granulosa, las células de la teca, el ovocito con el *cumulus oophorus* y el antro (Juanqueira y Carneiro, 2005).

El crecimiento del folículo en la ratona requiere de aproximadamente 19 días; desde el estado de reposo hasta que culmina la ovulación. Durante este tiempo está expuesto por lo menos a cuatro picos preovulatorios de gonadotropinas (Domínguez *et al.*, 1991).

OVULACIÓN

Desde el momento en que el folículo ha sido seleccionado para liberar su ovocito (ovulación) comienza a aumentar en tamaño. Las células de la granulosa y de la teca tienen transformaciones morfológicas como es el aumento de su volumen, la ruptura de los desmosomas y de los nexos que existen entre ellas. Hay degradación de las fibras de colágeno en respuesta a la disminución en la concentración de estrógenos en el líquido folicular (Irusta, 2008).

A medida que se acerca la ruptura folicular (Figura 8), células epiteliales del folículo, (teca y granulosa) se acumulan en pequeños grupos, el estroma se adelgaza y se forma una pequeña vesícula de líquido folicular (Levine, 2015).

La ovulación se produce 11 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas (Irusta, 2008), y se forma el cuerpo lúteo a partir del folículo que ha liberado su ovocito, lo que lleva a cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células de la teca y de la granulosa (Levine, 2015).



Figura 8. Corte histológico de ovario en el que se muestra el sitio de ovulación que se produce cuando el ovocito es liberado (modificada de Fourtoul, 2017).

CUERPO LÚTEO

Durante el ciclo estral de la rata, tres o más generaciones de cuerpos lúteos pueden estar presentes en el ovario a partir de los ciclos ovulatorios inmediatamente anteriores. Las células del cuerpo lúteo tienen un origen dual ya que se originan de las células de la granulosa y de la teca interna del folículo preovulatorio (Levine, 2015).

El cuerpo lúteo (Figura 9) es un órgano endócrino temporal que produce esteroides; especialmente progesterona. La concentración de la hormona que proviene de las células de la granulosa del folículo preovulatorio aumenta en la tarde del proestro; antes de la ovulación (Levine, 2015).

La vida funcional del cuerpo lúteo en la rata es de aproximadamente cuatro días y después entra en regresión, lo cual es conocido como luteólisis y ocurre como resultado de la liberación pulsátil de la prostaglandina F₂-α (PGF₂-α) por el endometrio (Levine, 2015).

La luteólisis en la rata se lleva a cabo en dos fases: la primera es una regresión funcional que se encuentra asociada a una disminución en la concentración de progesterona, y la segunda es una regresión estructural que involucra la disminución de tamaño y masa del cuerpo lúteo. Las células luteales mueren por apoptosis y se observa la regresión del cuerpo lúteo (Gartner y Hiatt, 2007).

Marco teórico

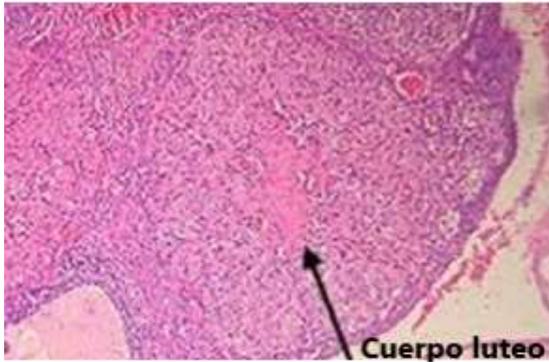


Figura 9. Imagen de un cuerpo lúteo donde se señala el cuerpo hemorrágico o coágulo formado a partir de los vasos sanguíneos de las células de la teca, rotos al momento de la ovulación (modificada de http://www.clinica-unr.com.ar/2015-web/Publicaciones/12/12_Sop.htm; consultada el 29-05-2020).

Muy pocos de los folículos presentes en el ovario en el momento del nacimiento están destinados a ovular (Da Silva *et al.*, 2018).

En la rata se ha calculado un total de 35,000 folículos al nacer y 11,000 cuando ha transcurrido 20 días. El suministro de folículos primordiales en ratas y ratones no se agota en animales de edad avanzada a pesar de que se produce atresia en la gran mayoría (Levine, 2015).

ATRESIA FOLICULAR

La atresia folicular es un proceso sistemático de muerte celular por apoptosis y necrosis, por el cual se eliminan del ovario aquellos folículos que no culminan su proceso de crecimiento y diferenciación. Se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular y su inicio está determinado por alteraciones del ovocito porque pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo (Da Silva *et al.*, 2018).

Las alteraciones del ovocito son seguidas de modificaciones en las células de la granulosa. Cuando pierden sus receptores a FSH disminuye la aromatización de andrógenos; paso necesario para que el folículo siga su desarrollo (Da Silva *et al.*, 2018). A su vez, se presenta una reducción del núcleo y la condensación de la masa de la cromatina de las células de la granulosa. Además, el núcleo puede romperse y la cromatina se desintegra en gránulos que se extruyen de la célula (Levine, 2015).

CICLO ESTRAL

El ciclo se define como el intervalo de tiempo que existe desde el comienzo de un periodo sexual hasta el inicio del siguiente (Levine, 2015). En ratas tiene una duración de cuatro días (estro, diestro-1, diestro-2 y proestro), aunque puede presentarse un ciclo de cinco días con una repetición de diestro o proestro (Levine, 2015).

En la etapa de **estro** ocurre la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. El frotis del epitelio vaginal se caracteriza por la presencia de células epiteliales sin núcleo y con el citoplasma granular (Figura 10). Esta etapa tiene una duración de 25 a 27 horas (Levine, 2015).



Figura 10. Células del epitelio vaginal de la rata en etapa de estro donde se observan células sin núcleo.

El **diestro-1** corresponde al periodo de crecimiento del cuerpo lúteo que se instaura después de la ovulación y tiene una duración aproximada de 6 a 8 horas. El **diestro-2** representa generalmente la fase más larga del ciclo y se considera un periodo de inactividad sexual que inicia desde la madurez del cuerpo lúteo hasta su regresión, y tiene una duración de 55 a 57 horas. Las células que se observan en el frotis del epitelio vaginal son leucocitos y células epiteliales nucleadas (Figura 11) (Levine, 2015; Suckow *et al.*, 2006).



Figura 11. Células del epitelio vaginal de la rata en la etapa de diestro donde se muestran células con y sin núcleo, así como la presencia de leucocitos.

La etapa de **proestro** se inicia con el crecimiento y la maduración de uno o varios folículos ováricos. En un frotis del epitelio vaginal se observan células epiteliales nucleadas y ausencia de leucocitos (Figura 12). Esta etapa tiene una duración de 12 a 14 horas (Levine, 2015).

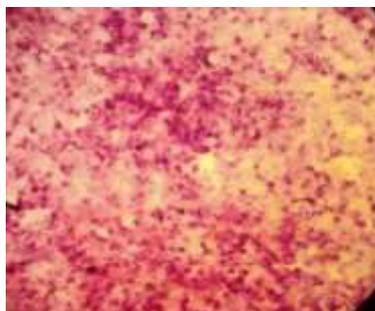


Figura 12. Células nucleadas que se observan en el epitelio vaginal de la rata en la etapa de proestro.

EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-OVARIO

Hipotálamo

El hipotálamo es una estructura del sistema nervioso central (SNC) fundamental para la vida, ya que en él se sintetizan neurohormonas que regulan la mayoría de los procesos fisiológicos del organismo. Está conformado por cuerpos neuronales que reciben el nombre de núcleos que se localizan en las paredes laterales del tercer ventrículo, por debajo del tálamo y por encima de la hipófisis, a la cual está unido por el tallo hipofisario (Puelles y Rubenstein, 2015).

La GnRH es una neurohormona (Figura 13) cuya secreción es regulada por mecanismos de retroalimentación por parte de las hormonas esteroides secretadas en los ovarios (Levine, 2015).



Figura 13. Estructura de la molécula de GnRH donde se observan sus 10 aminoácidos y la parte amino-terminal (tomada de <https://fisiocconstructivo2.4umer.com/t2p60-hormona-liberadora-de-la-hormona-del-crecimiento>; consultada el 29-05-2020).

El decapeptido es sintetizado en los somas de las neuronas que se encuentran en el área preóptica y el área hipotalámica anterior (POA-AHA) (Figura 14) (Brandan *et al.*, 2011).

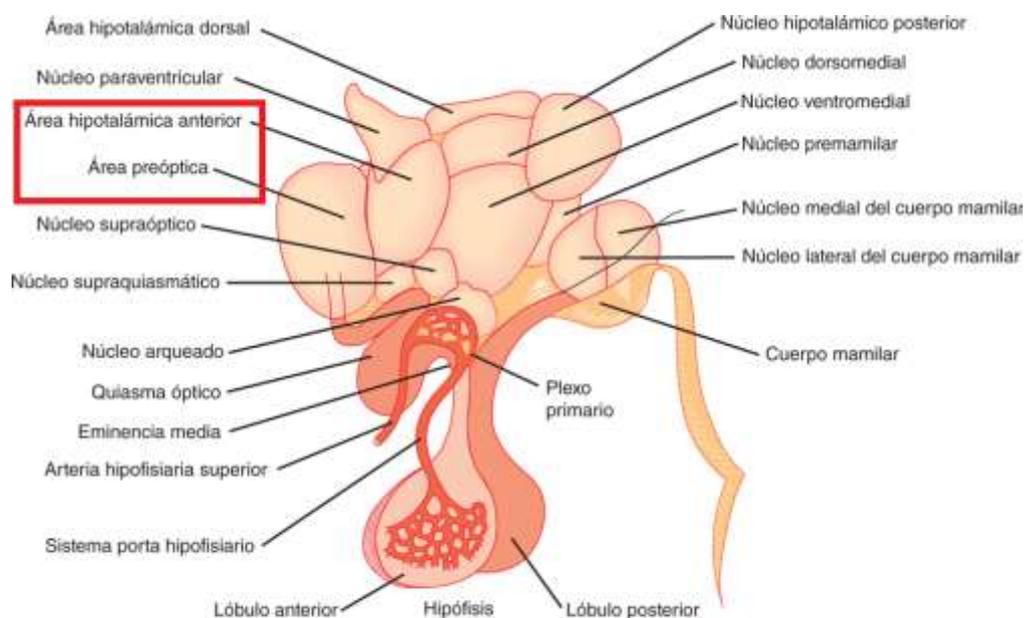


Figura 14. Esquema del hipotálamo en el que se muestra el área preóptica e hipotalámica anterior (Brandan *et al.*, 2008).

La GnRH se libera como pulsos sincronizados desde las terminales nerviosas de las neuronas hacia el sistema portal hipotalámico-hipofisario cada 30-120 minutos y estimula la síntesis y la secreción de la LH y la FSH en los gonadotropos de la hipófisis (Millar, 2013). La GnRH es degradada por proteólisis en pocos minutos (Prieto-Gómez y Velásquez-Paniagua, 2002).

No todas las neuronas de la GnRH están involucradas en la regulación de la secreción de las gonadotropinas, ya que se ha mostrado que sólo el 50%-70% de las neuronas que secretan GnRH participan en la secreción pulsátil de las gonadotropinas y menos de 100 neuronas GnRHérgicas son suficientes para lograr dicho estímulo (Herbison, 2016).

En la rata, la síntesis de las gonadotropinas depende de la frecuencia del pulso de la GnRH; la producción de la FSH se estimula preferentemente con pulsos de GnRH de baja frecuencia (máxima en un intervalo de 120 minutos), mientras que la síntesis

de la LH se estimula con pulsos de GnRH de mayor frecuencia (máximo en un intervalo de cada 30 minutos) (Stamatiades y Kaiser, 2018).

La frecuencia de los pulsos de GnRH es más alta en el momento de la secreción preovulatoria de la LH y más baja durante la fase lútea del ciclo ovárico (Uribe-Velásquez *et al.*, 2010).

La progesterona secretada en mayor parte por el cuerpo lúteo tiene su acción principalmente en el hipotálamo; reduce la amplitud de los pulsos de la GnRH sin afectar la frecuencia (Uribe-Velásquez *et al.*, 2010).

Las terminales axónicas de las neuronas GnRHérgicas liberan la GnRH en la eminencia. Es transportada vía el sistema portal hipotalámico hipofisario a la adenohipófisis; que contiene las células gonadotropas donde la GnRH activa a su propio receptor (Stamatiades y Kaiser, 2018).

El receptor a la GnRH (GnRHR) es un miembro de la familia de receptores acoplados a proteínas G, caracterizado por siete dominios transmembrana. La unión de la GnRH a su receptor activa al adenilato ciclasa y la fosfolipasa C. Como resultado de la activación de estos sistemas enzimáticos, se forman moléculas que actúan como segundos mensajeros, entre los que se encuentran la adenosina mono-fosfatada cíclica, el fosfatidil inositol, el diacil glicerol, así como la movilización de calcio extra e intracelular. Estos mensajeros activan el sistema de proteínas cinasas C, lo que se traduce como el estímulo para la secreción de la FSH y la LH (McArdle y Roberson, 2015; Stamatiades y Kaiser, 2018). Las gonadotropinas son liberadas al torrente sanguíneo, llegan al ovario y estimulan sus funciones.

Hipófisis

La hipófisis es una glándula que se localiza en la base del cerebro, alojada en una depresión en la superficie superior del hueso esfenoides y cubierta por la duramadre (Fink, 1998). Está conectada al hipotálamo por el tallo hipofisario, el cual contiene el sistema porta hipofisario de vasos sanguíneos (Kontogeorgos *et al.*, 2012).

La glándula está constituida por la adenohipófisis y la neurohipófisis. La primera se divide en tres partes: *distalis*, *tuberalis* e *intermedia*; y la neurohipófisis está

compuesta por el lóbulo neural o proceso infundibular y el tallo infundibular (Brandan *et al.*, 2011).

Las gonadotropinas están compuestas por dos subunidades peptídicas; la subunidad α es común (α GSU) en la FSH y la LH, y la subunidad β que es estructuralmente específica para cada gonadotropina (FSH β o LH β , respectivamente) (Stamatiades y Kaiser, 2018). Esta especificidad es responsable de la actividad biológica de cada hormona (Levine, 2015).

La LH estimula la producción de andrógenos en las células de la teca interna, participa en la producción de progesterona, promueve las etapas finales de la maduración del folículo vía interacción directa con las células de la granulosa, induce la ovulación y estimula la formación del cuerpo lúteo (Levine, 2015; Smitz *et al.*, 2016).

La FSH estimula la proliferación de las células de la granulosa y el crecimiento de los folículos ováricos, promueve el reclutamiento de los folículos preantrales y la síntesis de estradiol. A medida que las células de la granulosa se desarrollan también aumenta el número de los receptores a FSH en ellas. También promueve el desarrollo de los receptores a LH en las células de la granulosa en los folículos antrales, paso clave en la preparación del folículo maduro para la ovulación promoviendo la luteinización de la granulosa en el folículo dominante y también la síntesis de progesterona (Levine, 2015; Smitz *et al.*, 2016).

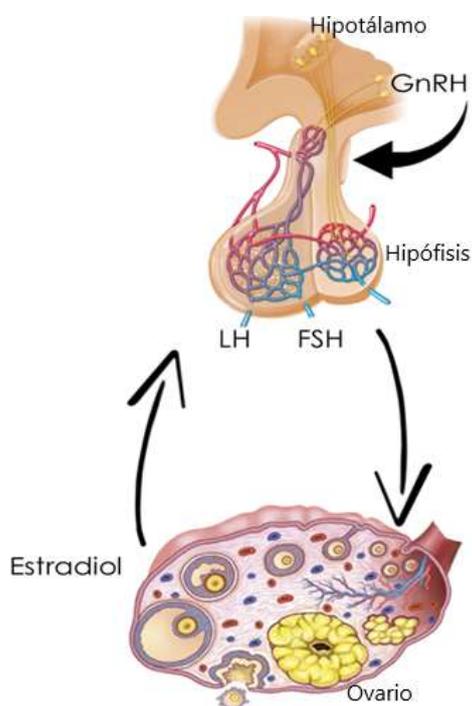


Figura 15. La secreción hipotalámica de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) en la adenohipófisis. Éstas son liberadas al torrente sanguíneo y al llegar a los ovarios estimulan sus funciones (modificada de <http://ventas.ilusmedical.com/proceso-ovulatorio-del-ovario-en-la-mujer/>; consultada el 29-05-2020).

Ovario

Teoría de la doble célula doble hormona

En las células de la teca interna, la LH estimula a conversión del colesterol (precursor inicial de la síntesis de las hormonas esteroideas) en pregnenolona, por acción de las enzimas de la familia de los citocromos p450 (Yen, 2001).

Las enzimas 17α -hidroxilasa y la 17 y 20 liasa convierten la pregnenolona a dehidroepiandosterona, que por actividad de la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa forma androstenediona. La 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, transforma la androstenediona en testosterona (andrógenos) (Apacarana, 2004).

Los andrógenos atraviesan la membrana basal y llegan a las células de la granulosa en donde la FSH, al unirse con su receptor, promueve la activación de la aromatasa p450 que convierte los andrógenos en estrona o estradiol (Figura 16) (Yen, 2001).

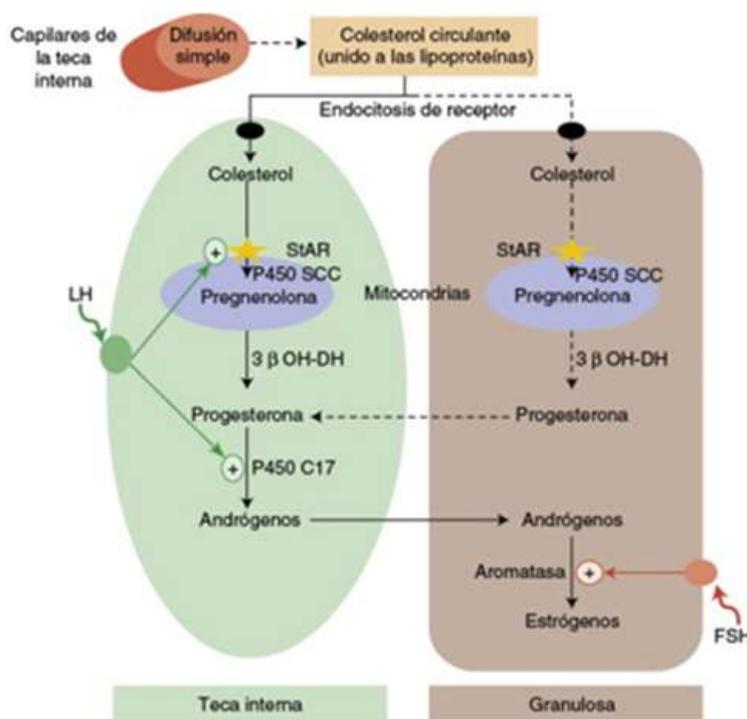


Figura 16. Esquema de la teoría de la doble célula doble hormona, en el que se representa los pasos de la conversión del colesterol a estradiol por parte de las células de la teca y de la granulosa en los folículos ováricos (tomada <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1283081X12633980>, consultada en 20-06-2021).

PERFIL DE SECRECIÓN HORMONAL A LO LARGO DEL CICLO ESTRAL

Progesterona

Las concentraciones de progesterona durante el ciclo estral son basales en la etapa de estro. Su concentración comienza a aumentar entre las 13:00 y las 15:00 h de diestro-1 y hasta la mañana del diestro-2; aumento que probablemente surge del cuerpo lúteo recién formado. En la tarde de proestro, entre las 13:00 y las 17:00 h alcanza su máxima concentración y disminuye progresivamente hasta la mañana del estro; este aumento surge de las células de la granulosa del folículo preovulatorio (Figura 17) (Levine, 2015).

Prolactina

Las concentraciones de prolactina permanecen en concentraciones basales a lo largo del ciclo estral hasta la mañana del proestro, en donde comienzan a incrementar hasta llegar a su concentración máxima a las 17:00 h de esta etapa. La máxima concentración de la prolactina y de la progesterona es paralela al momento en que la de estradiol disminuye entre las 13:00 h y las 17:00 h del proestro (Figura 17) (Levine, 2015).

Estradiol

La concentración de estradiol va en aumento a lo largo de los primeros días del ciclo estral a partir del estro, debido a su secreción por los folículos ováricos. Alcanza su máxima concentración a las 09:00 h en el proestro, disminuye a las 11:00 h y eleva su concentración a las 15:00 h para después disminuir hasta concentraciones basales para la mañana del estro; entre las 03:00 h y 05:00 h (Figura 17) (Levine, 2015).

La concentración de estradiol en la etapa de proestro disminuye a las 11:00 h, aumenta a las 12:00 h y alcanza sus concentraciones máximas a las 13:00 h para luego disminuir a concentraciones basales a las 17:00 h (Smith, 1975).

Hormona estimulante del folículo

La FSH se secreta en concentraciones basales durante la tarde del estro, diestro-1, diestro-2 y la mañana del proestro. Su concentración aumenta entre las 14:00 y 15:00 h del proestro hasta alcanzar su máximo entre las 17:00 y 19:00 h de esta etapa. Durante la mañana del estro, entre la 01:00 y las 05:00 h, comienza un segundo incremento en la concentración de la hormona y regresa a concentraciones basales aproximadamente a las 09:00 h del estro. Este segundo incremento promueve el reclutamiento de los folículos preantrales que serán liberados en el siguiente ciclo (Levine, 2015).

Hormona luteinizante

La concentración de LH es basal desde la mañana del estro y hasta medio día del proestro. Aumenta entre las 14:00 y las 15:00 h del proestro y alcanza su máxima concentración entre las 17:00 y las 19:00 h del mismo día. Este incremento induce la ruptura folicular y la liberación del ovocito entre las 03:00 y las 05:00 h del estro; para este tiempo, las concentraciones de la LH regresan a sus concentraciones basales (Figura 17) (Levine, 2015).

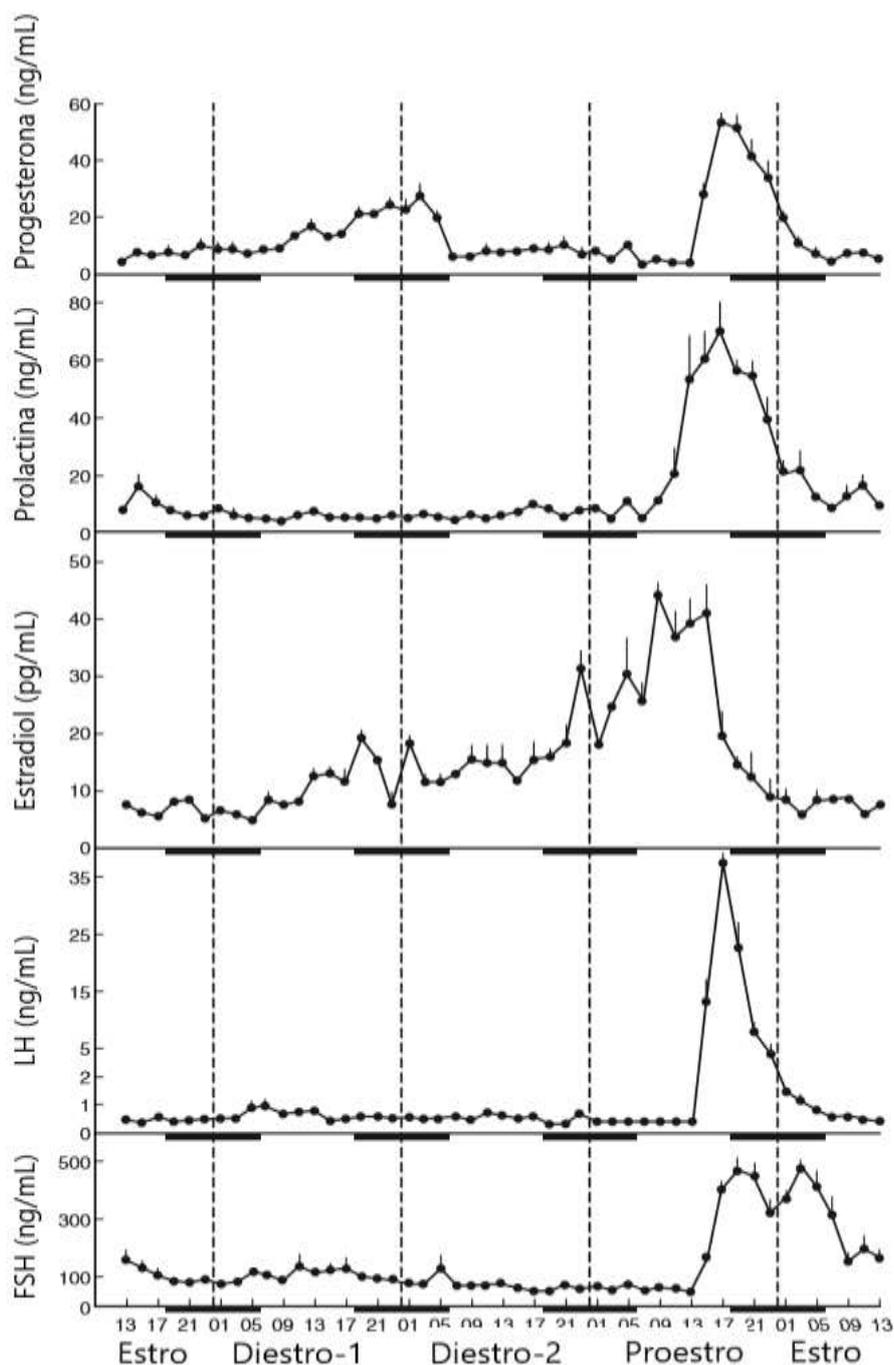


Figura 17. Perfil de secreción de la FSH, LH, prolactina, progesterona y estradiol durante el ciclo estral de la rata en un periodo de luz de las 05:00 a las 19:00 h. La lectura de las concentraciones se realizó cada dos horas en cada etapa del ciclo estral (modificada de Smith *et al.*, 1975).

INERVACIÓN

La inervación que llega a las gónadas modula la acción de las gonadotropinas sobre el desarrollo folicular, la secreción de hormonas y la liberación del ovocito (Domínguez, 1998).

La inervación de los ovarios está conformada por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales que llegan a la gónada vía el nervio vago (Nv), el nervio del plexo ovárico (NPO) y el nervio ovárico superior (NOS) (Figura 18) (Lawrence y Burden, 1980). Estas fibras derivan de neuronas del sistema nervioso periférico que están conectadas mediante vías multisinápticas a las redes neuronales del SNC (Ricu *et al.*, 2008),

La inervación simpática provee al ovario de neuropéptido-Y, noradrenalina y péptido intestinal vasoactivo (VIP), mientras que la inervación sensorial contiene sustancia P. El nervio vago aporta acetilcolina, somatostatina, sustancia P y VIP (Ojeda *et al.*, 1996).

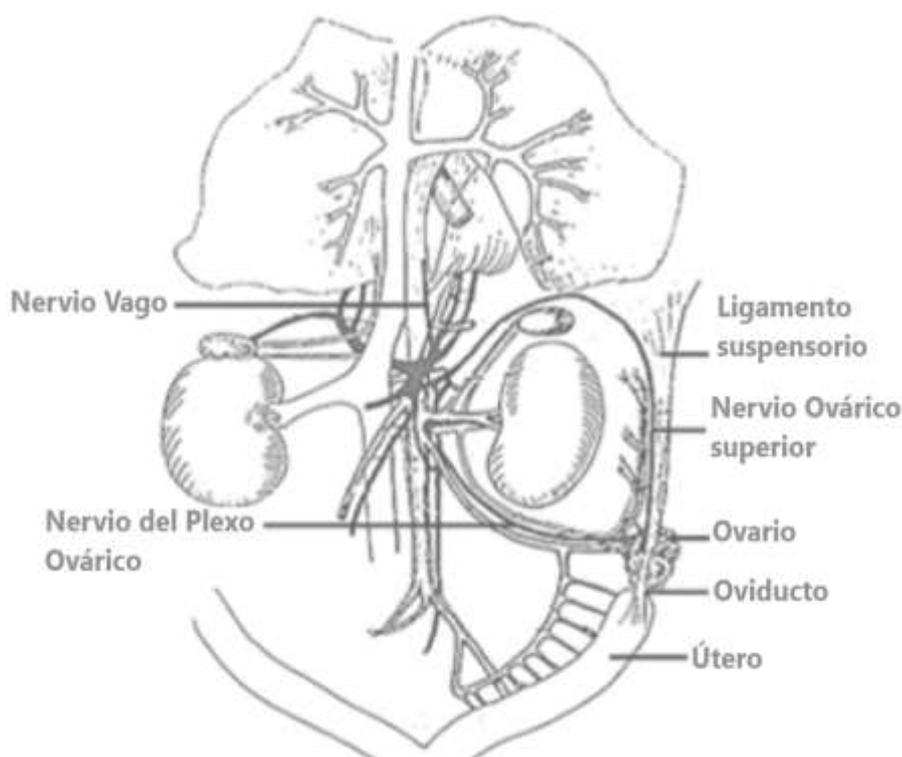


Figura 18. Esquema anatómico de los nervios ováricos (modificada de Lawrence & Burden, 1980).

El NPO inerva al ovario, la bursa ovárica, el oviducto y los cuernos uterinos; los axones entran vía el hilio e inervan la región medular del ovario (Pastelin, *et al.*, 2017).

Las fibras nerviosas que forman parte del NOS se localizan en el ganglio celíaco y sus axones en el borde del ligamento suspensorio que desciende por el límite inferior de la caja torácica para insertarse en el ovario, oviducto y útero (Lawrence y Burden, 1980).

El NOS ingresa al ovario por el hilio y llega a diferentes compartimentos (como la vasculatura y el tejido intersticial), y forma una red estrechamente relacionada con los folículos primordiales y aquellos en desarrollo, termina en las células de la teca interna sin tener contacto con las células de la granulosa o del cuerpo lúteo (Burden *et al.*, 1983).

Las neuronas del nervio vago se encuentran en la médula ventrolateral, el núcleo gigantocelular, el área postrema, el núcleo vagal del tracto solitario, el núcleo dorsal del vago, los grupos de células noradrenérgicas A1 y A5, los núcleos del rafe caudal, el locus coeruleus y el núcleo paraventricular hipotalámico; algunas neuronas en este núcleo están conectadas simultáneamente con los ovarios y las glándulas adrenales (Domínguez y Cruz-Morales, 2011).

GLÁNDULAS ADRENALES

Existen otros factores que regulan las funciones de los ovarios, tales como la información que proviene de las glándulas adrenales.

Las glándulas adrenales son dos estructuras piramidales localizadas en el polo superior de ambos riñones. Están formadas de una corteza externa y la médula interna, cubierta por una cápsula de tejido conectivo (Brandan *et al.*, 2008).

El aporte sanguíneo que irriga a la corteza procede de tres arterias: suprarrenal superior (rama de la diafragmática inferior), una suprarrenal media procedente de la aorta y una suprarrenal inferior (Figura 19) (Brandan *et al.*, 2014).

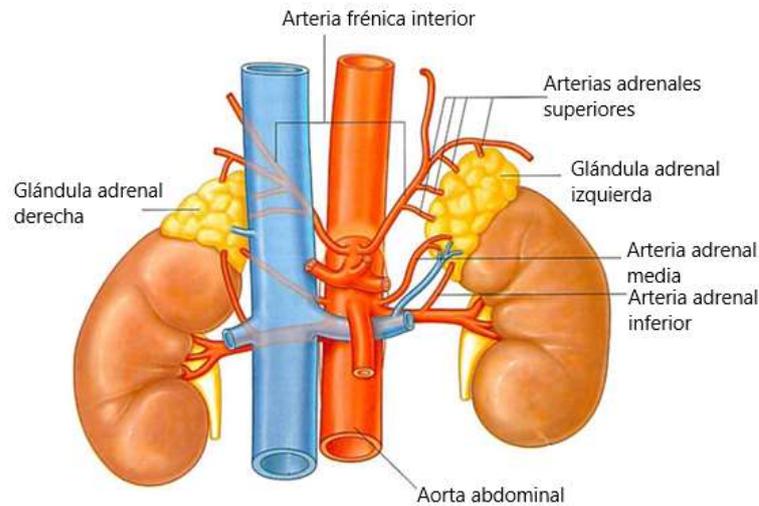


Figura 19. Esquema de la irrigación de las glándulas adrenales (modificada de <https://slideplayer.es/slide/147035/>; el 07-05-2020).

La corteza adrenal está dividida en tres zonas: la glomerular que se encuentra en la zona más externa inmediatamente debajo de la cápsula y comprende el 15%, la zona fascicular que constituye alrededor del 75%, y la zona reticular que comprende el 10% y se encuentra adyacente a la médula adrenal (Figura 20) (Brandan *et al.*, 2008).

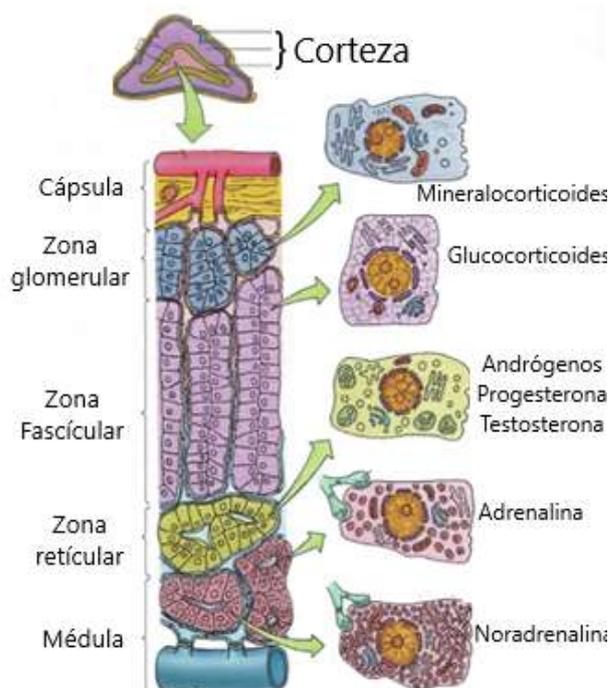


Figura 20. Esquema de la glándula adrenal, donde se observan las zonas de la corteza, las células que la conforman y las sustancias que se sintetizan (modificada de Gartner & Hiatt, 2007).

La zona glomerular sintetiza mineralocorticoides cuya función es incrementar la reabsorción de sodio y la secreción de potasio. La zona fascicular produce glucocorticoides (corticosterona) que tienen efectos sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas. También regulan la función inmunitaria, circulatoria y renal, influyen sobre el crecimiento, el desarrollo, el metabolismo óseo y la actividad del SNC (Brandan *et al.*, 2014). La zona reticular sintetiza las hormonas sexuales, principalmente andrógenos como la testosterona (Brandan *et al.*, 2011).

El déficit de mineralocorticoides puede producir en el organismo una pérdida excesiva de sodio, hipovolemia, hipertensión, retención excesiva de potasio y acidosis leve. El déficit de glucocorticoides produce un metabolismo anormal de los hidratos de carbono, las grasas y las proteínas que producen debilidad muscular, pérdida de peso y apetito e incapacidad de producir corticosterona durante el estrés (González-Albarran y García, 2000).

La médula adrenal está compuesta por células poliédricas dispuestas en paquetes o cordones ramificados separados por una extensa red vascular. En la rata adulta, aproximadamente el 74% de las células medulares producen adrenalina y el 26% produce noradrenalina. La médula también produce dopamina y péptidos opioides (Suttie y Sutcliffe, 2018).

La adrenalina y la noradrenalina actúan sobre los receptores α y β ; los cuales son receptores acoplados a proteínas G. La noradrenalina tiene una mayor afinidad por los receptores α adrenérgicos, mientras que la adrenalina tiene una mayor afinidad por los receptores β -adrenérgicos. La activación de los receptores α causa vasoconstricción y presión arterial alta; mientras que la estimulación de los β causa vasodilatación (Liyanarachchi y Debono, 2017).

Las funciones de la corteza adrenal son reguladas por la información que proviene del hipotálamo y la hipófisis. Las terminales nerviosas del núcleo paraventricular hipotalámico liberan la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) en la eminencia media y es transportada a través del sistema portal hipotalámico-hipofisario hacia las células corticotropas de la adenohipófisis donde estimula la síntesis y liberación de la ACTH. Esta hormona es transportada por el torrente sanguíneo a la corteza de las glándulas adrenales y estimula sus funciones; esta

vía se conoce como el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (H-H-A) (Gartner y Hiatt, 2007).

La CRH es un polipéptido formado por 41 aa. Se sintetiza a partir de una pre-hormona de 196 aa, por acción de la proteína convertasa 1 y 2 (PC1 y PC2). El gen de la CRH se localiza en el cromosoma 8. La biosíntesis de la ATCH tiene lugar a partir de un precursor de 241 aa, proopiomelanocortina (POMC), sobre el que actúan las convertasas PC-1 y PC-2. Su acción biológica se concentra en los primeros 18 aa y su vida media es de aproximadamente 10 minutos. En su mecanismo de acción intervienen receptores de membrana específicos acoplados a proteína G (Brandan *et al.*, 2011).

Álvarez (2007) mencionó que, ante situaciones de estrés, el organismo de la mayoría de los mamíferos reacciona activando una serie de eventos fisiológicos y conductuales. Cuando dichos mecanismos resultan prolongados, se pueden presentar consecuencias negativas sobre otras funciones fisiológicas como la reproducción. Se sabe que la activación del eje HHA puede afectar la reproducción a nivel del hipotálamo, la hipófisis y en las gónadas. A nivel hipotalámico se afecta la secreción de la GnRH, en hipófisis se inhibe la secreción de gonadotropinas, principalmente de la LH, y a nivel gonadal se altera la función estimulante de las gonadotropinas (Figura 21).

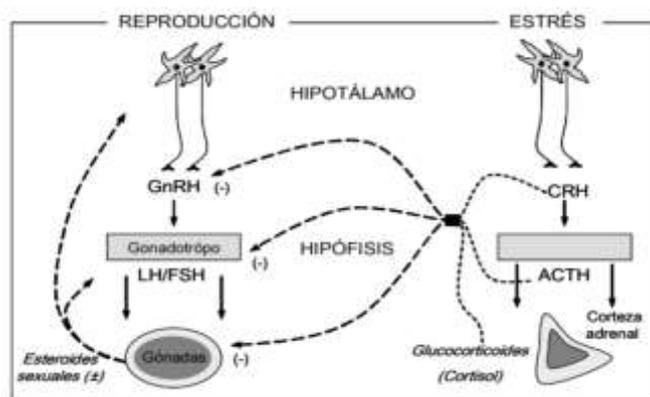


Figura 21. Esquema de la interacción entre la información del eje HHA en la síntesis y liberación de hormonas en el eje reproductivo (Álvarez, 2007).

La CRH rige la respuesta del eje HHA ante situaciones de estrés y es un potente inhibidor del generador de pulsos de GnRH. En la rata se han descrito conexiones anatómicas entre los axones de neuronas productores de CRH y las dendritas de neuronas secretoras de GnRH y su administración altera de diversos modos la secreción de LH (Álvarez, 2007).

PARTICIPACIÓN DE LAS GLÁNDULAS ADRENALES EN LA REPRODUCCIÓN

Las alteraciones morfológicas y funcionales de las glándulas adrenales tienen efecto en el eje reproductivo que resulta en enfermedades tales como el síndrome de Cushing o la enfermedad de Addison (McGivern y Redei, 1994; González *et al.*, 2001).

El síndrome de Cushing es una patología provocada por un exceso de cortisol en el organismo que puede deberse a una exposición a medicamentos que contengan glucocorticoides o a un tumor en la corteza adrenal o en la hipófisis. En la corteza adrenal aumenta la producción de glucocorticoides, mientras que en la hipófisis se incrementa la producción de ACTH que conduce al aumento en la producción de glucocorticoides (Baldwin, 1979; McGivern y Redei, 1994).

Baldwin (1979) mostró que el colocar un implante de cortisol en el cuello de ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley en la mañana de estro resultó en alteración de la citología vaginal a lo largo de un periodo de 52 días y disminución en la concentración de la LH; sin cambios en la secreción de la FSH. El autor sugiere que no se produjo la oleada de la LH preovulatoria en la tarde de proestro por lo que el cortisol inhibe la respuesta de la hipófisis a la GnRH. Concluye que las hembras con síndrome de Cushing no se modifica la secreción de la FSH, pero sí la de la LH, lo que afecta la ovulación.

La enfermedad de Addison o insuficiencia adrenal primaria se caracteriza por la secreción insuficiente de hormonas corticosuprarrenales para mantener las demandas periféricas. Esta enfermedad tiene una incidencia de dos o tres veces mayor en el género femenino y tiene su origen en la destrucción bilateral de la corteza suprarrenal que posee una reserva funcional tal, que la sintomatología no comienza a aparecer hasta la pérdida de un 90% o más del tejido adrenal (González *et al.*, 2001). La disminución en la concentración de glucocorticoides no permite que

se lleve a cabo la retroalimentación inhibitoria en el hipotálamo y la hipófisis, por lo que la CRH y la ACTH se siguen liberando al torrente sanguíneo ocasionando inhibición en la secreción de las gonadotropinas (Álvarez, 2007).

Hodges y Jones (1964) mostraron que en ratas hembra con Adx-B disminuye la concentración de la ACTH y de la corticosterona una hora después de la cirugía. La de la ACTH alcanza valores más bajos cuando transcurren cuatro horas después de la cirugía, pero 24 horas después la concentración de ACTH aumenta y alcanza concentraciones máximas que se mantuvieron hasta por diez días.

Feder *et al.* (1971), mostraron que la Adx.B en la etapa de diestro-1 en ratas hembra, resulta en disminución del número de ovocitos liberados en comparación a los animales con operación simulada. Aunado a esto, mostraron que la administración de la ACTH a las 12:00 h en proestro y a las 14:00 h en diestro-1 ocasionó aumento en las concentraciones de progesterona, sin embargo, solo en el grupo en el que la ACTH se administró en la etapa de diestro-1, los animales presentaron retraso en la ovulación acompañado de alteración en la citología vaginal predominando la etapa de diestro. Los autores sugieren que el aumento de la ACTH produce el aumento de la progesterona lo que podría alterar la ciclicidad de los animales y concluyen que tanto la falta de la progesterona provocada por la Adx-B, así como el exceso de esta ocasionada por el estrés, son causantes de la alteración en la ovulación.

Pepler y Jacobs (1976) evidenciaron que la Adx-B en la etapa de diestro-1 del ciclo estral de la rata resultó en menor número de ovocitos liberados cuando fueron sacrificados un ciclo o 30 días después de la cirugía y que el análisis de la población folicular resultó en disminución del número de folículos mayores a 448 μm . Por ello propusieron que la falta de la información que proviene de las adrenales alteró la secreción de la FSH o disminuye la sensibilidad de los ovarios a dicha hormona.

Petraglia *et al.* (1978), comprobaron que la administración de la CRH en el ventrículo lateral derecho del cerebro de ratas de la cepa Sprague-Dawley en distintos horarios (15:30, 16:00, 16:30, 17:00, 17:30) de la etapa de proestro, resultó en la disminución de la concentración de la GnRH a partir de las 16:00 h del proestro con 1.0 nmol de CRH y a partir de las 17:00 h con 2.0 nmol de CRH en dicha etapa. Los autores sugirieron que la CRH puede modular de manera inhibitoria la actividad del eje

hipotálamo-hipófisis y que la activación de la vía de la CRH inducida por estrés puede participar en la inhibición de la secreción de la GnRH y de las gonadotropinas.

Rivier y Vale (1984) observaron que la inyección intraventricular de 10 µl de la CRH al medio día del proestro ocasionó una disminución marcada en la secreción de la LH cinco horas después de la administración de la neurohormona, sin cambios significativos en la liberación de FSH. Asimismo, bloqueó la oleada preovulatoria de la LH e inhibió la ovulación en el 50% de las ratas. Los autores concluyeron que el estrés podría ejercer una influencia a través de varios mecanismos diferentes: inhibición de la liberación de GnRH, cambios en la capacidad de respuesta de la hipófisis a la GnRH, efecto directo en la esteroidogénesis gonadal o efecto en la capacidad de respuesta de los órganos reproductivos a los esteroides sexuales. A su vez, que el aumento en las concentraciones circundantes de corticosteroides o progesterona disminuyen la respuesta hipofisaria a la GnRH lo que ejerció una acción inhibitoria directa sobre la esteroidogénesis.

Flores *et al.* (2008), mostraron que la Adx-B realizada a las 13:00 h en cualquier etapa del ciclo estral resultó en la disminución de la concentración de progesterona en suero al ser evaluada una hora después de la cirugía, mientras que la ovariectomía bilateral resultó en la disminución de la concentración de estradiol. Con base en los resultados, los autores concluyeron que las adrenales aportan la mayor concentración de progesterona al suero, mientras que los ovarios son la principal fuente de estradiol a lo largo del ciclo estral.

Pimentel (2011) mostró que la Adx-B realizada a las 13:00 h en las etapas de proestro, estro o diestro-1 resultó en la disminución de la TAO, pero no alteró la cantidad de ovocitos liberados. Por ello, la autora propuso que la adrenalectomía resulta en un aumento en la secreción de ACTH, lo cual alteró la secreción de GnRH y de las gonadotropinas preovulatorias.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en los resultados obtenidos en los animales con adrenalectomía bilateral se sugiere que la información que proviene de las glándulas adrenales regula de manera estimulante los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación. Sin embargo, se desconoce a qué nivel del eje reproductivo participa la información que proviene de las adrenales en la ovulación, por lo que en este estudio se realizó el reemplazo de la señal que proviene del hipotálamo, la hipófisis y los ovarios en ratas con adrenalectomía bilateral que presenten disminución en la ovulación.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

El reemplazo hormonal de la GnRH hipotalámica, de la FSH y LH hipofisaria o del estradiol ovárico ¿Puede restaurar la ovulación en ratas con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en las etapas que presentaron disminución en este parámetro?

HIPÓTESIS

Dado que la ovulación es regulada por la información que proviene del hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, y la ausencia de las glándulas adrenales modifica dicho proceso, entonces, el reemplazo de las señales hipotalámica, hipofisarias u ovárica restaurará la ovulación.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la respuesta ovulatoria al reemplazo de la señal hipotalámica, hipofisaria u ovárica en las etapas en las que los animales con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h presentan disminución de la ovulación.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar los efectos de la operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación.
- Analizar la participación de las glándulas adrenales a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación.
- Analizar la respuesta ovulatoria al reemplazo de la señal hipotalámica (LHRH) en las etapas en las que los animales con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h presentaron disminución de la ovulación.
- Analizar la respuesta ovulatoria al reemplazo de las señales hipofisarias (hCG o eCG) en las etapas en las que los animales con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h presentaron disminución de la ovulación.
- Analizar la respuesta ovulatoria al reemplazo de la señal ovárica (Benzoato de estradiol) en las etapas en las que los animales con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h presentaron disminución de la ovulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se utilizaron ratas hembra vírgenes de la cepa CIIZ-V de tres meses de edad, en condiciones controladas de 14 horas luz y 10 horas de oscuridad (con luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con agua y comida *ad libitum*. Con el fin de monitorear su ciclo estral se les realizó frotis del epitelio vaginal diariamente a las 09:00 h, y sólo se incluyeron aquellos animales que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días: estro, diestro-1, diestro-2 y proestro.

El trabajo experimental se llevó a cabo bajo la Norma Oficial Mexicana de Protección Animal para el Uso de Animales de Experimentación (NOM-062-ZOO-1999).

Las intervenciones quirúrgicas se llevaron a cabo entre las 12:50 y 13:10 h en cada etapa del ciclo estral, para lo cual se utilizó material estéril (guantes, campos y material quirúrgico).

Grupos Experimentales (para cada grupo experimental se utilizaron siete animales).

Operación simulada: Debido a que el grupo control de cirugía debe contener todos los pasos a realizar excepto el fin de ésta, se realizó la operación simulada en la que se buscaron las glándulas adrenales, sin tocarlas.

Procedimiento: Los animales fueron anestesiados con isoflurano (PISA, México), lo cual se llevó a cabo en dos etapas: inducción y mantenimiento. Para la inducción los animales fueron introducidos en una caja en la cual se administró isoflurano al 3% en oxígeno a un flujo de 900 mL/min por aproximadamente dos minutos. Cuando los animales estaban completamente anestesiados se colocaron en una mesa de cirugía y en su nariz se colocó una boquilla a través de la cual se administró isoflurano al 2.5% y oxígeno a 600 mL/min durante el tiempo que duró la cirugía.

Enseguida se procedió a realizar una laparotomía ventral. Para ello, en la parte ventral debajo de la última costilla se humedeció un área de aproximadamente dos centímetros cuadrados con jabón quirúrgico y se retiró el vello corporal con una navaja de afeitar. Posteriormente, el área se limpió con torundas de povidona yodada, de alcohol etílico (70%), povidona neutra y de alcohol etílico (70%).

Después, se colocó un campo quirúrgico sobre el área rasurada, fijandola a la cama con masking tape. A los animales se les inyectó 0.1 mL de antibiótico (Enroxil, SENOSAIN 50 mg/Kg de peso corporal) de manera subcutánea en el muslo derecho y 0.1 mL de antiinflamatorio (Melodex, ARANDA 5 mg/Kg de peso corporal) subcutáneo en el muslo izquierdo.

Inmediatamente, se sostuvo la piel con pinzas de disección, se sujetó el músculo y el peritoneo con pinzas Kelly y con un bisturí se realizó una incisión ventral horizontal de aproximadamente un centímetro debajo de la última costilla sin tocar ningún órgano.

La cavidad abdominal se iluminó con una fuente de luz para lámpara de fibra óptica (Fiber Lite) y con unas pinzas de disección se realizó el movimiento de los órganos que permitieron encontrar la glándula adrenal izquierda (hígado, estómago y bazo), y posteriormente la derecha (lóbulos del hígado).

Una vez que se observaron las glándulas adrenales; sin tocarlas ni a sus conexiones sanguíneas; se administró 0.1 mL de solución salina, ya que es útil en el reemplazo del sangrado y pérdidas de otros líquidos en la cirugía (Cardona, 2000). La herida fue suturada por puntos (sutura de polipropileno 3.0), los animales se colocaron en un cojín térmico (BENESTA) hasta que despertaran de la anestesia, tuvieran movimiento sin titubeo y comportamiento de exploración. Posteriormente regresaron al bioterio.

Adrenalectomía bilateral: para analizar los efectos de la adrenalectomía bilateral sobre la ovulación, una vez que los animales fueron anestesiados y se realizó la laparotomía ventral, se extrajeron las glándulas adrenales. Para extirpar la glándula adrenal izquierda, con ayuda de pinzas de disección, se movió el hígado, el estómago y el bazo. Se sujetaron con presión la arteria frénica inferior, la suprarrenal media y ramas de la arteria renal, así como la vena suprarrenal, y con las tijeras iris se realizó el corte entre las pinzas y la glándula.

Para extirpar la glándula adrenal derecha se sujetó con las pinzas de disección la arteria frénica inferior, la suprarrenal media, ramas de la arteria renal y la vena suprarrenal. Posteriormente, con las tijeras iris se realizó el corte entre las pinzas y la glándula, sacando la adrenal completa.

Se administró 0.1 mL de solución salina directo a la cavidad abdominal, la herida fue suturada por puntos y se siguió el procedimiento de recuperación.

Adrenalectomía y reemplazo hormonal: En los grupos de animales que presentaron disminución en la ovulación se realizó la adrenalectomía bilateral seguida del reemplazo hormonal.

Señal hipotalámica: una vez que se realizó la Adx-B a las 13:00 h y con el fin de estimular la secreción preovulatoria de las gonadotropinas se analizaron los efectos de la inyección de 3.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal vía subcutánea de (Gly-OH)-LHRH sintética (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) a las 14:00 h del proestro sobre la ovulación.

Señal hipofisaria: con el objetivo de simular la oleada preovulatoria de la LH y estimular la ovulación una vez realizada la Adx-B a las 13:00 h, se analizó el efecto de la administración de 5 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) vía subcutánea a las 14:00 h del proestro.

Para estimular el desarrollo folicular y la formación de folículos preovulatorios listos para la ovulación, en otro grupo de animales, una vez realizada la Adx-B a las 13:00 h, se analizaron los efectos de la administración de 10 UI de la gonadotropina coriónica equina (eCG) (Virbac, México) vía subcutánea 10:00 h en el diestro-1 sobre la ovulación.

Señal ovárica: con el objetivo de estimular la secreción de GNRH, una vez realizada la Adx-B a las 13:00 se analizaron los efectos de la administración de 10 μg subcutáneo de benzoato de estradiol (BE) (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), la cual se inyectó a las 14:00 h del diestro-2.

La toma de frotis vaginal se reinició un día después de la cirugía, con el fin de conocer si se presentaron alteraciones en la ciclicidad.

Sacrificio

Los animales con operación simulada o con Adx-B fueron sacrificados a las 9:00 h en la etapa de estro vaginal, al igual que un grupo de animales intactos, mientras que aquellos con Adx-B y reemplazo hormonal fueron sacrificados a las 9:00 h en el día del estro esperado.

Del oviducto de ambos ovarios se obtuvieron y cuantificaron los ovocitos presentes con ayuda de un microscopio estereoscópico (Carl Zeiss). Para confirmar dicho número, los ovocitos fueron teñidos con hematoxilina-eosina y se contaron en el microscopio óptico (Nikon 137644).

Se disecaron los ovarios, el útero y las adrenales y se pesaron en una balanza de precisión (0.0001g, Mettler AT261 DeltaRange).

Análisis estadístico

Los resultados de la tasa de animales ovulantes (TAO), expresados como el porcentaje de animales ovulantes (PAO), fueron analizados mediante la prueba de probabilidad exacta de Fisher. El número de ovocitos liberados se analizó mediante la prueba estadística de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn, ~~pero~~ cuando fue necesario comparar entre dos grupos se realizó el análisis con la prueba de U de Mann-Whitney. Estos resultados fueron expresados como la mediana y rangos intercuartiles (Q_1 , M, Q_3).

Los resultados de las masas de órganos se analizaron con la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA) seguida de la prueba de Dunnett, cuando fue necesario realizar comparaciones entre dos grupos se utilizó la prueba de "t" de Student y se expresaron como la media \pm e.e.m. Se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue menor o igual a 0.05. El programa estadístico utilizado fue Prism 6 versión 6.01 (GraphPad Software Inc. USA) con apoyo del programa StatGraphics Centurion XVI.

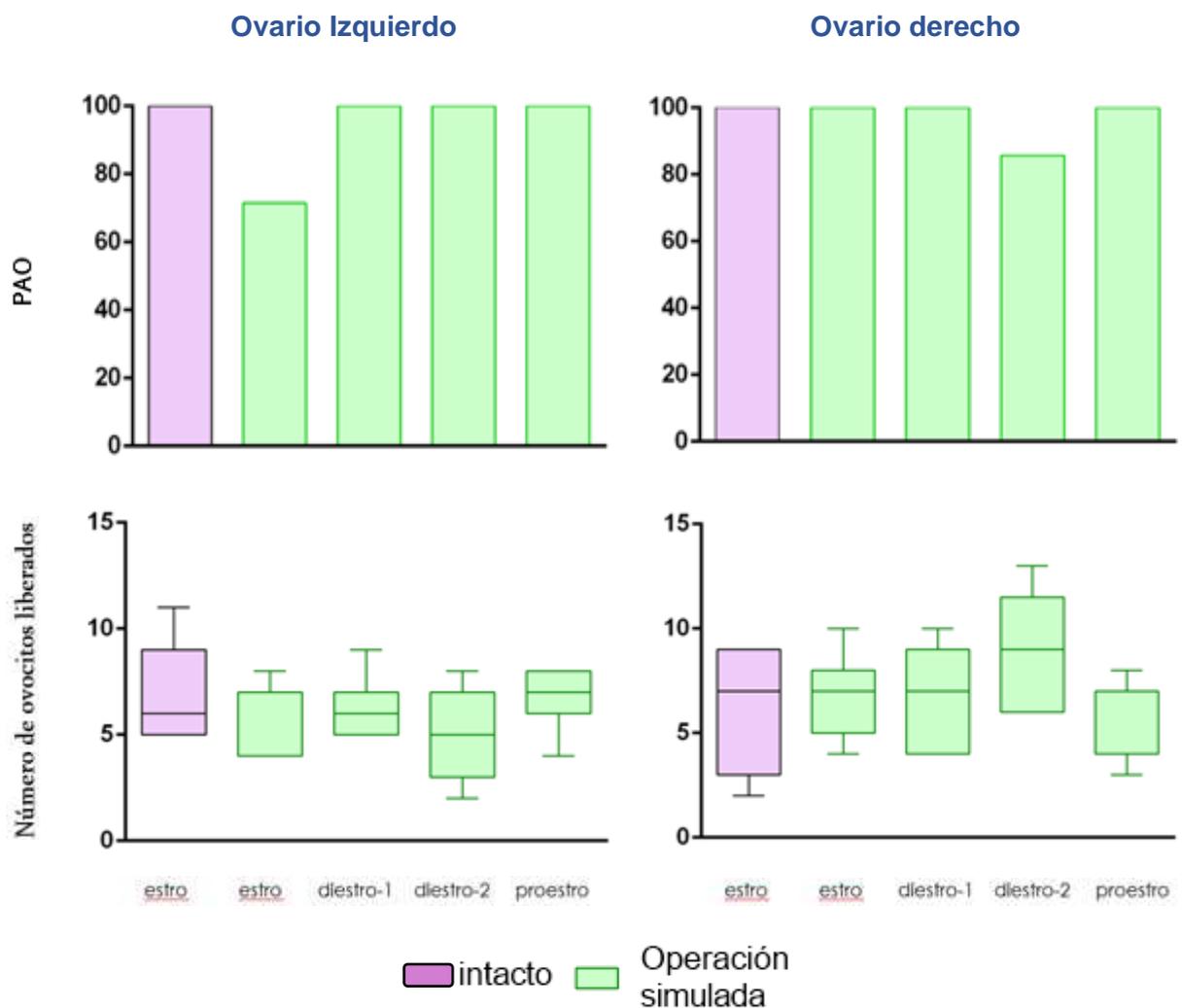
RESULTADOS

Intacto

El 100 % de los animales intactos ovuló en el día del estro vaginal. La mediana de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue de 6, por el ovario derecho de 7 y por ambos ovarios de 14.

Operación simulada

La operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral no modificó el porcentaje de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados respecto a lo observado en el grupo intacto (Gráfica 1).



Gráfica 1. Porcentaje de animales ovulantes y número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales intactos o con operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 h del estro vaginal.

En el grupo con operación simulada no se modificó la masa corporal, adrenal o del útero de los animales; sin embargo, cuando se realizó en la etapa de proestro resultó en aumento de la masa del ovario izquierdo en comparación a lo observado en el grupo intacto (Cuadros 1, 2 y 3).

Cuadro 1. Media \pm e.e.m. de la masa corporal de animales intactos o con operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 del estro vaginal.

Grupo	Etapa de la cirugía	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (sacrificio)	Diferencia de medias
		(g)		
Intacto		235.6 \pm 6.7	235.6 \pm 6.7	0.0
Operación simulada	estro	252.4 \pm 8.1	252.9 \pm 7.6	-0.4 \pm 1.7
	diestro-1	244.3 \pm 4.7	246.1 \pm 3.3	-1.9 \pm 4.3
	diestro-2	238.6 \pm 3.4	237.4 \pm 3.3	1.1 \pm 1.7
	proestro	241.0 \pm 3.9	234.9 \pm 0.5	6.1 \pm 2.4

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales intactos o con operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 del estro vaginal.

Grupo	Etapa de la cirugía	Masa ovárica	Masa adrenal	Útero
		(mg/100 g de masa corporal)		
Intacto		23.4 \pm 0.8	24.8 \pm 1.3	186.5 \pm 11.2
Operación simulada	estro	25.4 \pm 1.3	22.9 \pm 1.4	169.5 \pm 6.2
	diestro-1	24.8 \pm 0.8	23.4 \pm 0.9	171.0 \pm 8.8
	diestro-2	23.7 \pm 0.8	23.8 \pm 1.3	165.6 \pm 5.8
	proestro	28.0\pm1.9*	23.3 \pm 1.4	157.4 \pm 5.6

*p=0.0483 vs. Grupo intacto (ANDEVA seguida de la prueba de Dunnett).

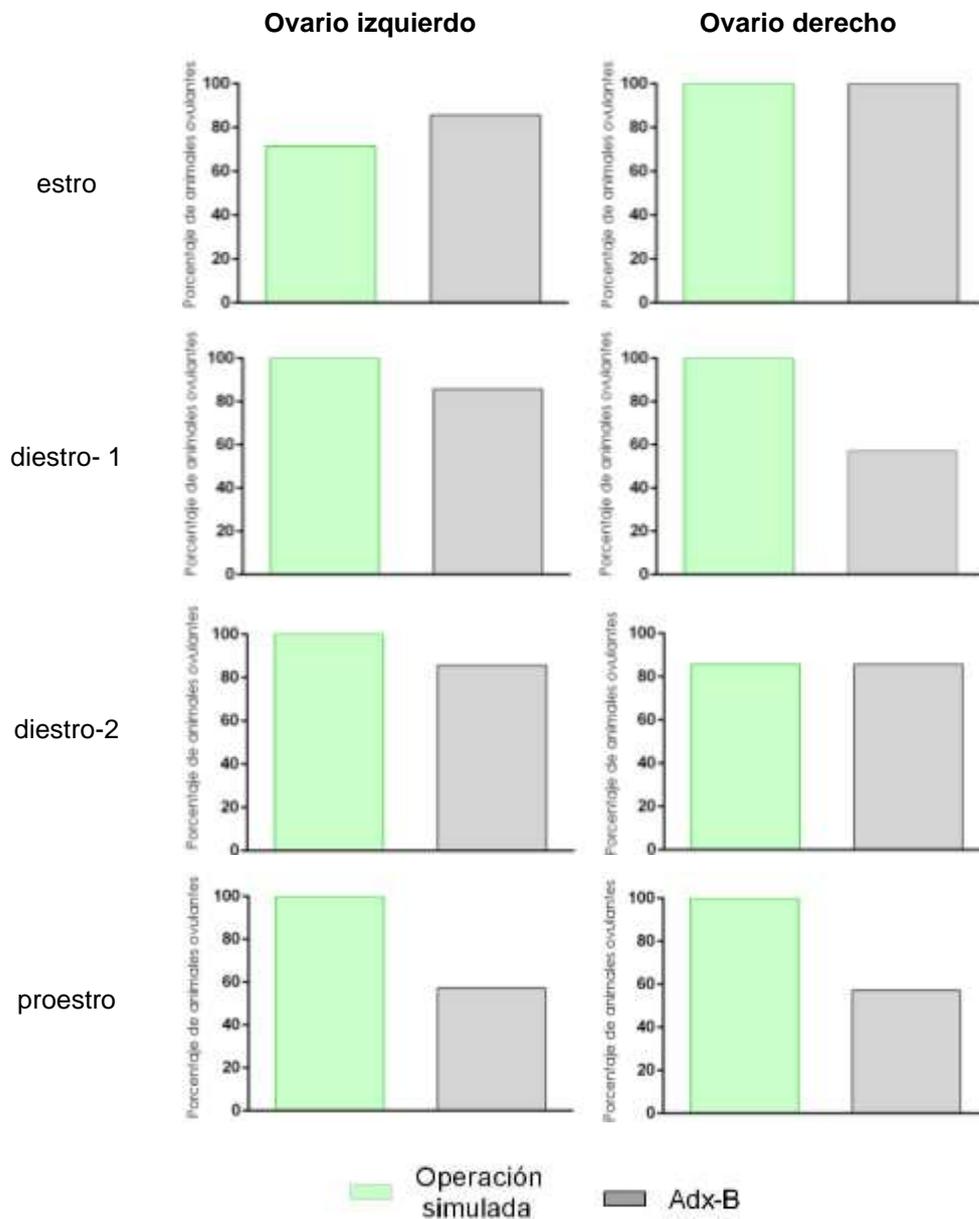
Cuadro 3. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de cada ovario y adrenal de animales intactos o con operación simulada a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 del estro vaginal.

Grupo	Etapa de la cirugía	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Adrenal izquierda	Adrenal derecha
		(mg/100 g de masa corporal)			
Intacto		11.3 \pm 0.5	12.1 \pm 0.8	12.9 \pm 0.8	12.0 \pm 0.5
Operación simulada	estro	12.2 \pm 1.8	13.2 \pm 0.9	10.5 \pm 0.4	11.9 \pm 0.5
	diestro-1	11.8 \pm 0.4	13.0 \pm 0.6	12.1 \pm 0.4	11.3 \pm 0.6
	diestro-2	11.6 \pm 0.5	12.1 \pm 0.5	12.3 \pm 0.5	11.5 \pm 0.8
	proestro	13.9\pm0.8*	14.1 \pm 1.3	11.5 \pm 0.8	10.8 \pm 1.0

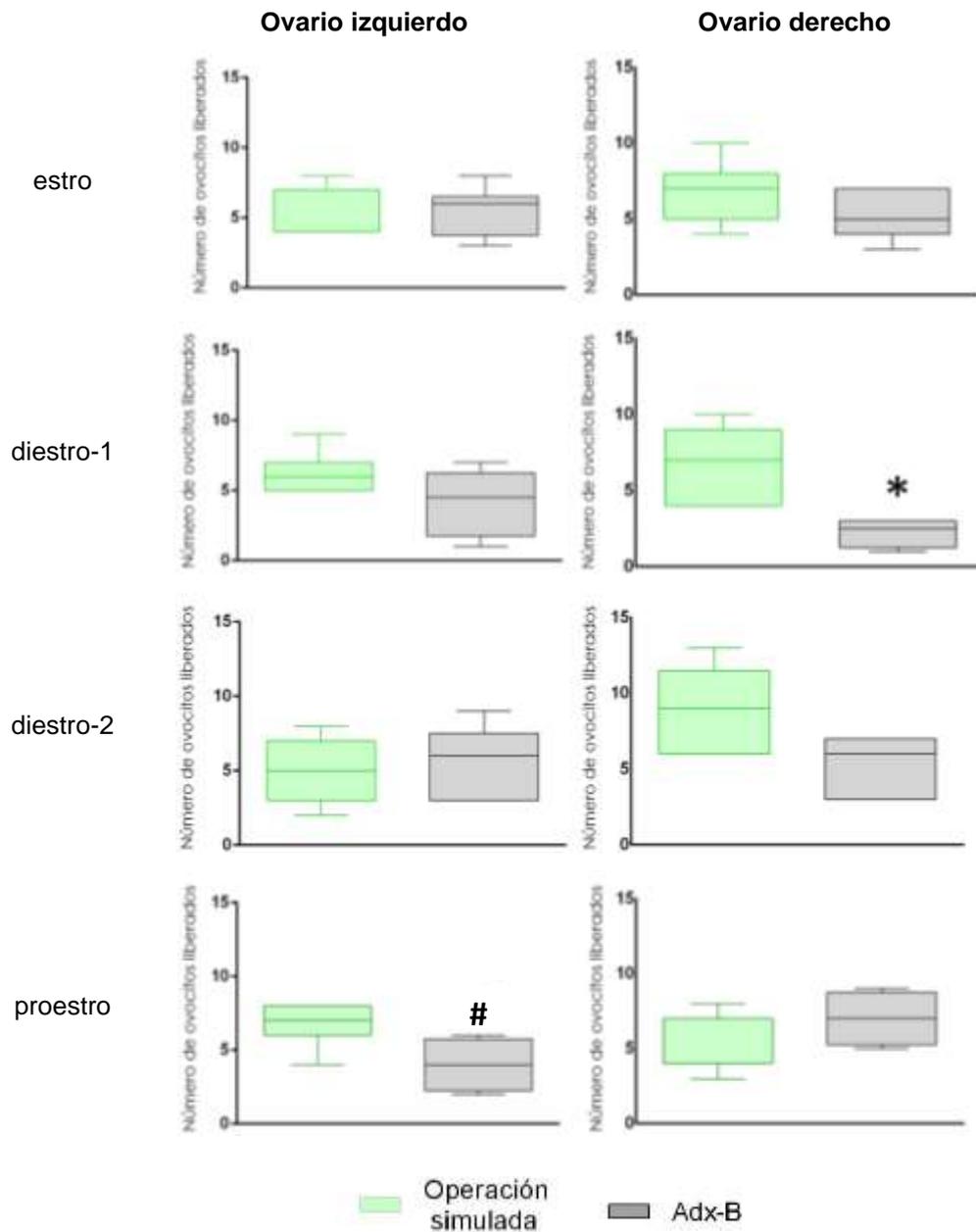
* p= 0.0323 vs. grupo intacto (ANDEVA seguida de la prueba de Dunnett).

Adrenalectomía bilateral

La Adx-B no alteró el porcentaje de animales ovulantes (Gráfica 2). Sin embargo, cuando la cirugía fue realizada en diestro-1 resultó en disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho o por el ovario izquierdo cuando dicha cirugía se realizó en proestro en comparación con su respectiva operación simulada (Gráfica 3).



Gráfica 2. Porcentaje de animales ovulantes por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 h del estro vaginal inmediato.



Gráfica 3. Número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 9:00 h del estro vaginal inmediato. * $p=0.0265$; # $p=0.0242$ vs. su respectiva operación simulada (prueba de U de Mann Whitney).

El tratamiento resultó en disminución de la masa corporal cuando fue realizado en las etapas de estro o diestro en comparación con su respectiva operación simulada, sin alterar la masa de los ovarios o del útero (Cuadro 4 y 5).

Cuadro 4. Media ± e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, el sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral.

Grupo	Etapa	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
		(g)		
Operación simulada	estro	252.4±8.1	252.9±7.6	-0.4±1.7
Adx-B		231.9±7.9	221.4±6.4	10.4±4.3*
Operación simulada	diestro-1	244.3±4.7	246.1±3.3	-1.9±4.3
Adx-B		229.3±3.0	220.4±2.6	8.9±0.9#
Operación simulada	diestro-2	238.6±3.4	237.4±3.3	1.1±1.7
Adx-B		241.9±7.3	232.3±5.5	9.6±2.0&
Operación simulada	proestro	241.0±3.9	234.9±5	6.1±2.4
Adx-B		242.0±9.3	235.4±8.7	6.6±1.8

Adx-B = Adrenalectomía bilateral

*p=0.0363 vs. operación simulada en estro (Prueba de U de Mann Whitney).

#p=0.0327 vs. operación simulada en diestro-1 (Prueba de U de Mann Whitney).

&p=0.0076 vs. operación simulada en diestro-2 (Prueba de U de Mann Whitney).

Cuadro 5. Media ± e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral.

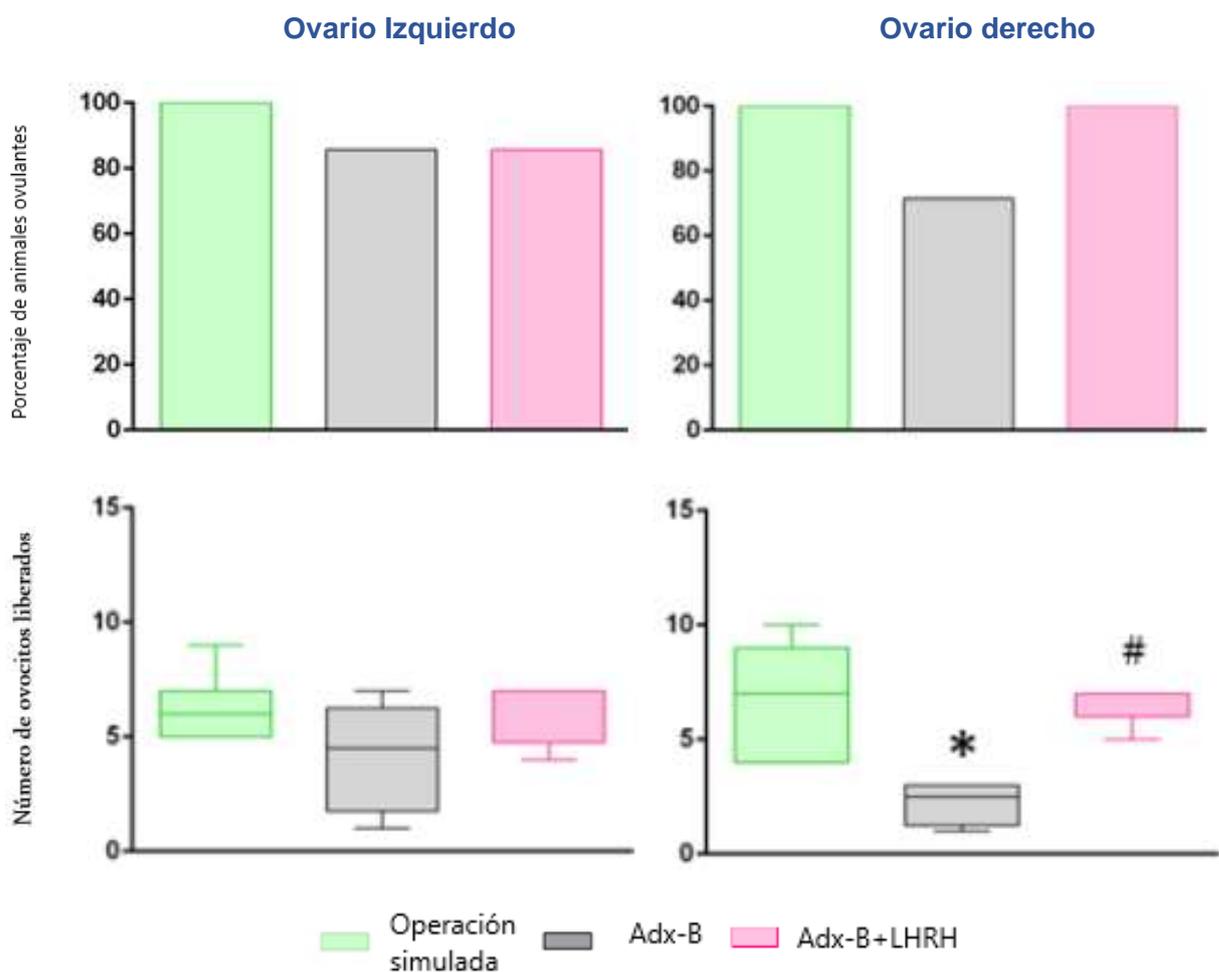
Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica (OI+OD)	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
Operación simulada	estro	12.2±1.8	13.2±0.9	25.4±1.3	169.5±6.2
Adx-B		13.1±0.9	13.4±1.0	26.7±1.1	167.3±5.9
Operación simulada	diestro-1	11.8±0.4	13.0±0.6	24.8±0.8	171.0±8.8
Adx-B		12.9±1.1	13.0±0.6	25.9±1.3	177.4±7.4
Operación simulada	diestro-2	11.6±0.5	12.1±0.5	23.7±0.8	165.6±5.8
Adx-B		12.3±0.9	12.4±0.7	24.7±1.3	150.8±6.2
Operación simulada	proestro	13.9±0.8	14.1±1.3	28.0±1.9	157.4±5.6
Adx-B		12.1±0.8	12.9±0.6	25.0±1.0	175.6±8.8

Adx-B = Adrenalectomía bilateral

Adrenalectomía bilateral en diestro-1 y reemplazo hormonal

El reemplazo de la señal hipotalámica causó que el 100 % de los animales ovularan y restauró el número de ovocitos liberados por el ovario derecho ya que liberó una cantidad similar al grupo con operación simulada y mayor a lo liberado por el grupo con Adx-B (Gráfica 4).

El tratamiento no modificó la masa corporal ni la masa de los órganos en comparación con sus grupos control (Cuadro 6 y 7).



Gráfica 4. Porcentaje de animales ovulantes y número de ovocitos liberados por ovario de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipotalámica con 3.7 µg/kg s.c. LHRH a las 14:00 h en la etapa de proestro y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. *p= 0.0061 vs. operación simulada; p= 0.0107092 vs. Adx-B (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

Cuadro 6. Media \pm e.e.m. de la masa corporal en el momento de la cirugía, al sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo hormonal con (LHRH a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapas	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias (g)
<i>Operación simulada</i>	diestro-1	244.3 \pm 4.7	246.1 \pm 3.3	-1.9 \pm 4.3
<i>Adx-B</i>		229.3 \pm 3.0	220.4 \pm 2.6	8.9\pm0.9*
<i>Adx-B+LHRH</i>		248.1 \pm 3.9	239.3 \pm 2.9	8.9 \pm 5.4

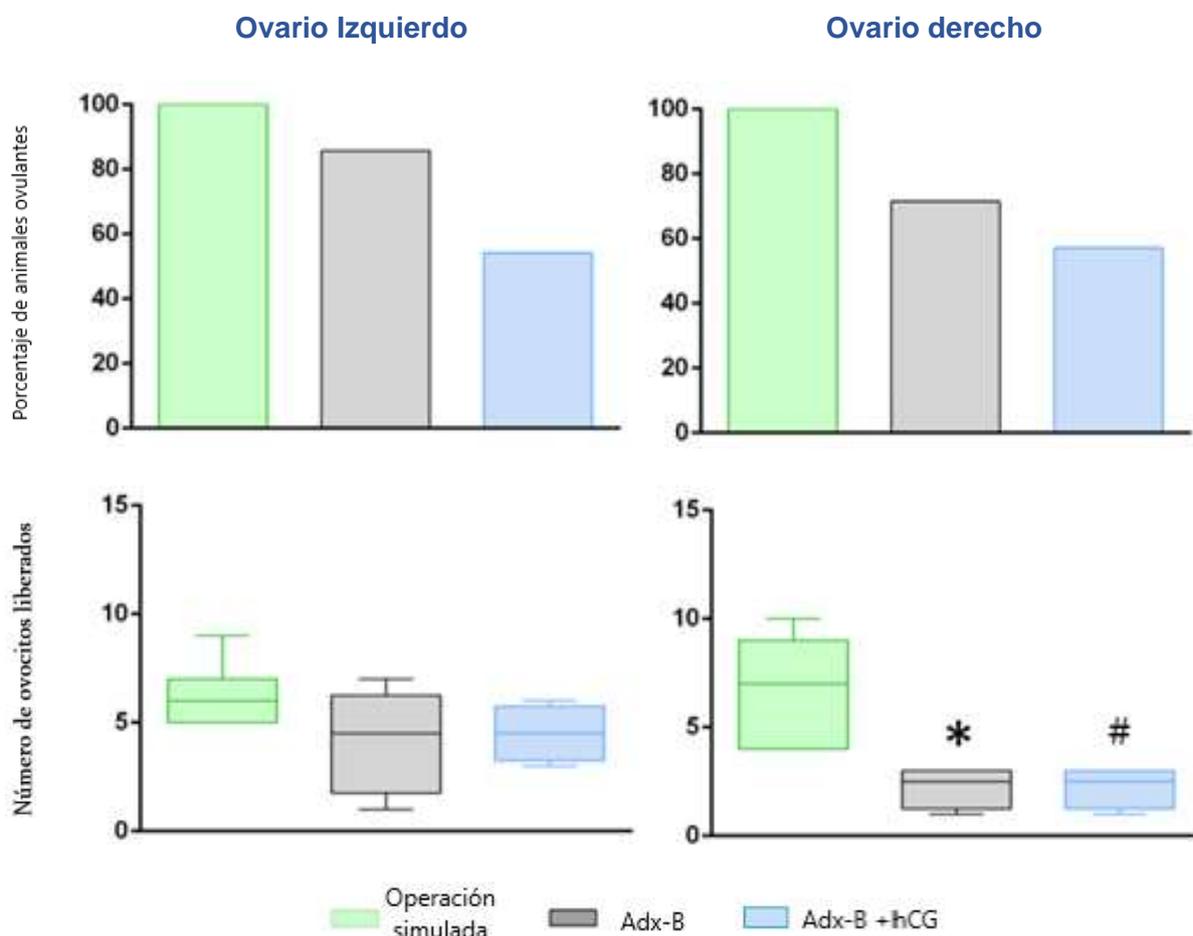
*p=0.0327 vs. operación simulada (Prueba de U de Mann Whitney).

Cuadro 7. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h de diestro-1 seguida o no de reemplazo de la señal hipotalámica con LHRH a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapas	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i>	diestro-1	11.8 \pm 0.4	13.0 \pm 0.6	24.8 \pm 0.8	171.0 \pm 8.8
<i>Adx-B</i>		12.9 \pm 1.1	13.0 \pm 0.6	25.9 \pm 1.3	177.4 \pm 7.4
<i>Adx-B+LHRH</i>		13.7 \pm 0.8	13.5 \pm 0.5	27.2 \pm 0.7	167.3 \pm 5.1

En ratas con Adx-B a las 13:00 h en diestro-1, el reemplazo de la señal hipofisaria con hCG a las 14:00 h en la etapa de proestro no restauró el número de ovocitos liberados ya que presentaron un número de ovocitos similar al liberado por el grupo con Adx-B (Gráfica 5).

El tratamiento resultó en disminución de la masa corporal en comparación con la operación simulada sin alterar la masa de los órganos (Cuadro 8 y 9).



Gráfica 5. Porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral (Adx-B) a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria con 5 UI de hCG s.c. a las 14:00 h en la etapa de proestro y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. *p= 0.0061 vs. operación simulada; #p=0.0045866 vs. operación simulada (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

Cuadro 8. Media \pm e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, el sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (hCG) a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapa	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
			(g)	
Operación simulada	diestro-1	244.3 \pm 4.7	246.1 \pm 3.3	-1.9 \pm 4.3
Adx-B		229.3 \pm 3.0	220.4 \pm 2.6	8.9\pm0.9*
Adx-B+ hCG		248.1 \pm 3.9	239.3 \pm 2.9	15.1\pm1.5#

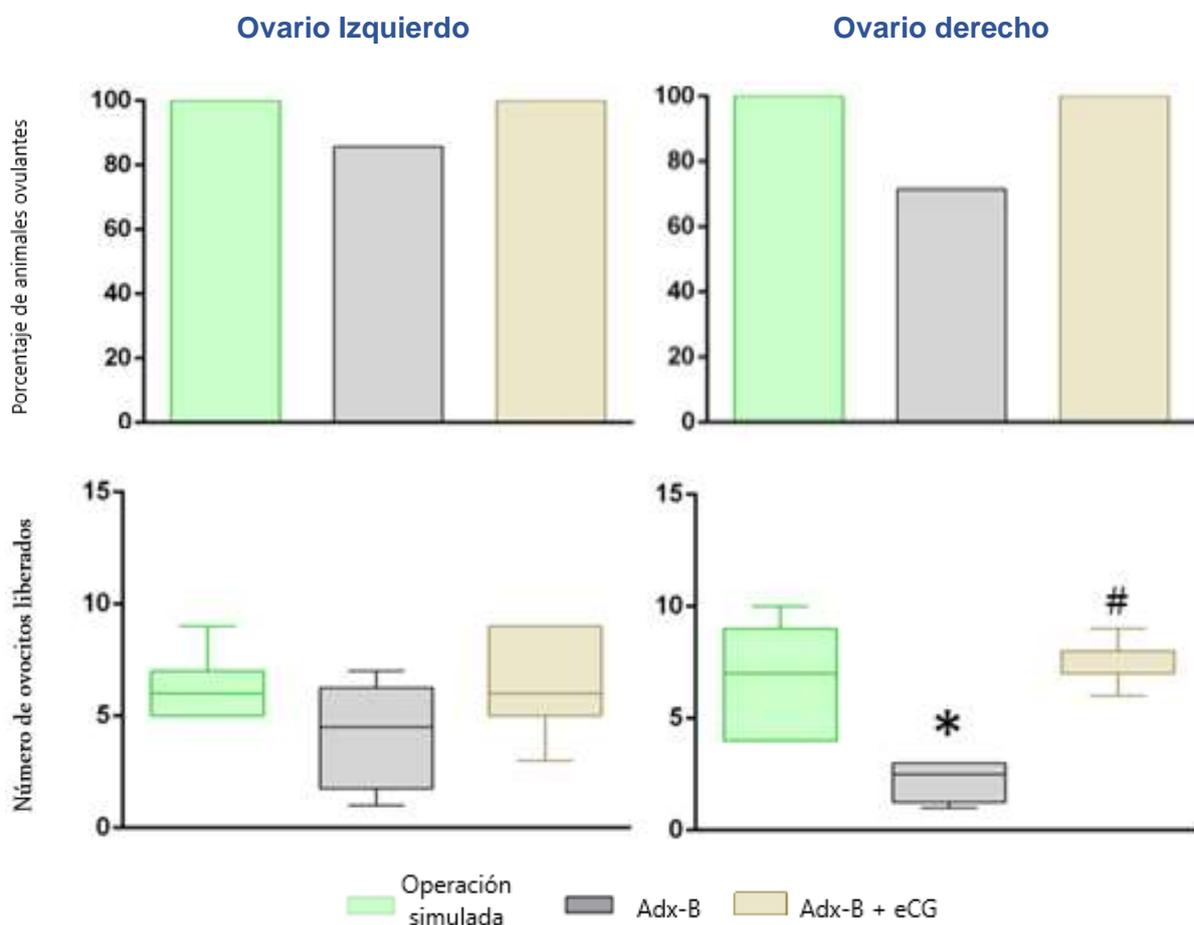
*p=0.0327 vs. operación simulada; #p= 0.0012 vs. operación simulada (prueba de ANDEVA seguida de la prueba de Dunnett).

Cuadro 9. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (hCG) a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i>	diestro-1	11.8 \pm 0.4	13.0 \pm 0.6	24.8 \pm 0.8	171.0 \pm 8.8
<i>Adx-B</i>		12.9 \pm 1.1	13.0 \pm 0.6	25.9 \pm 1.3	177.4 \pm 7.4
<i>Adx-B+hCG</i>		14.7 \pm 0.7	13.3 \pm 0.6	27.9 \pm 0.8	150.7 \pm 5.9

El reemplazo de la señal hipofisaria con eCG provocó la ovulación en el 100% de los animales con Adx-B en diestro-1. Asimismo, restauró el número de ovocitos liberados por el ovario derecho, ya que liberó una cantidad similar a los animales con operación simulada y presentó aumento comparado con el grupo con Adx-B (Gráfica 6).

El tratamiento resultó en disminución de la masa corporal de los animales en comparación con la operación simulada, sin alterar la masa de los órganos (Cuadro 10 y 11).



Gráfica 6. Porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria con 10 UI de eCG s.c. a las 13:00 h en diestro-1 y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. # $p=0.0061$ vs. operación simulada; # $p=0.0105194$ vs. Adx-B (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

Cuadro 10. Media \pm e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, el sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (eCG) a las 13:00 h en diestro-1.

Grupo	Etap	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
		(g)		
Operación simulada	diestro-1	244.3 \pm 4.7	246.1 \pm 3.3	-1.9 \pm 4.3
Adx-B		229.3 \pm 3.0	220.4 \pm 2.6	8.9\pm0.9*
Adx-B+eCG		259.6 \pm 5.4	247.3 \pm 5.5	12.3\pm2.5#

* $p=0.0327$ vs. operación simulada

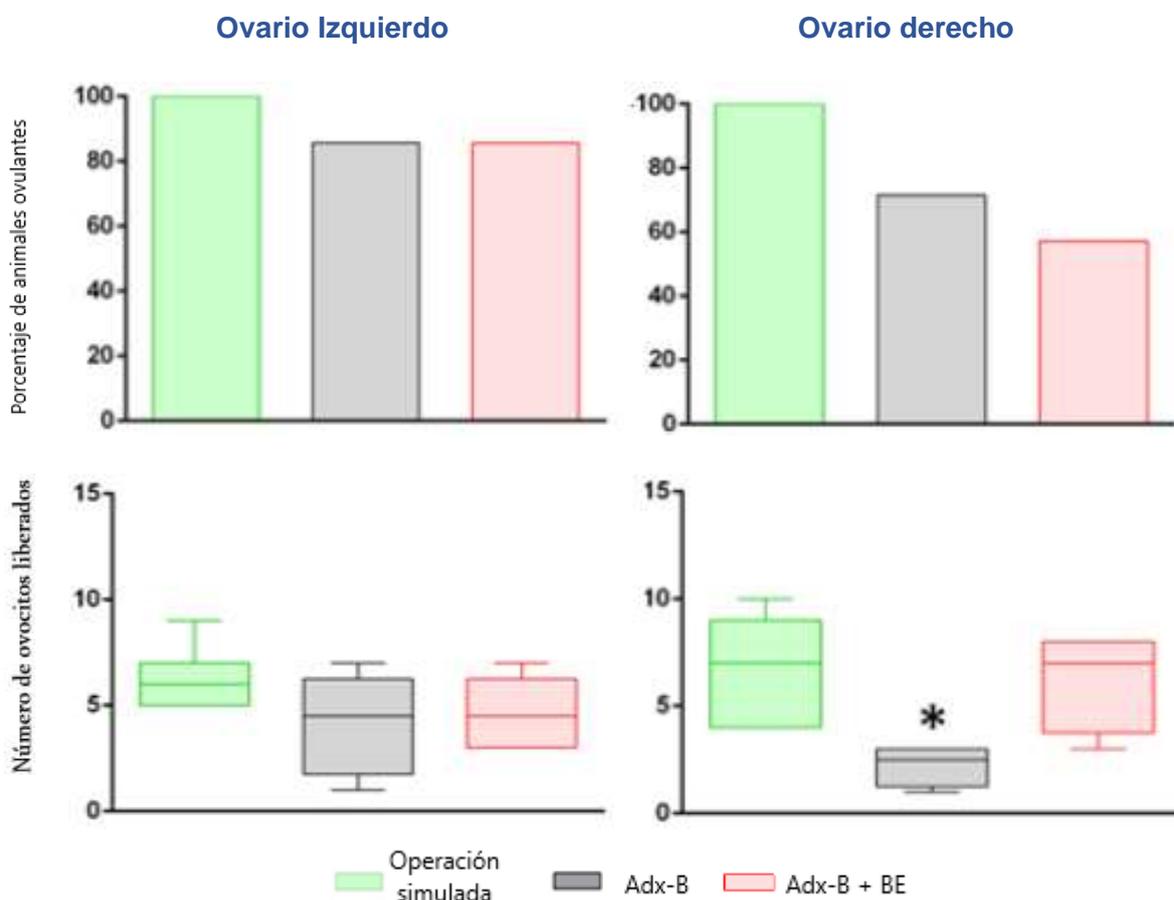
$p= 0.0084$ vs. operación simulada, prueba de ANDEVA seguida de la prueba de Dunnett.

Cuadro 11. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (eCG) a las 13:00 h en diestro-1.

Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i> <i>Adx-B</i> <i>Adx-B+eCG</i>	diestro-1	11.8 \pm 0.4	13.0 \pm 0.6	24.8 \pm 0.8	171.0 \pm 8.8
		12.9 \pm 1.1	13.0 \pm 0.6	25.9 \pm 1.3	177.4 \pm 7.4
		13.6 \pm 1.1	14.3 \pm 0.7	27.9 \pm 1.7	154.1 \pm 7.2

Debido a que el reemplazo con LHRH y eCG restauró la ovulación en los animales con Adx-B, se realizó otro grupo con Adx-B en el que se llevó a cabo el reemplazo de la señal ovárica para analizar si el hipotálamo secreta GnRH en respuesta a los estrógenos. Para ello, se inyectó 10 μ g de BE a las 14:00 h en la etapa de diestro-2 en ratas con Adx-B a las 13:00 h en la etapa de diestro-1.

El tratamiento con BE no alteró significativamente el porcentaje de animales ovulantes, pero restauró el número de ovocitos liberados por el ovario derecho con una cantidad similar a la del grupo con operación simulada (Gráfica 7). La masa corporal de los animales disminuyó en comparación con su grupo control, sin alterar la masa de los órganos (Cuadro 12 y 13).



Gráfica 7. Porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal ovárica con 10 µg de BE s.c. a las 14:00 h en diestro-2 y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. *p=0.0061 vs operación simulada (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

Cuadro 12. Media ± e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, el sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del reemplazo de la señal ovárica a las 14:00 h en diestro-2.

Grupo	Etapas	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
Operación simulada Adx-B Adx-B+BE	diestro-1		(g)	
		244.3±4.7	246.1±3.3	-1.9±4.3
		229.3±3.0	220.4±2.6	8.9±0.9*
		247.3±7.6	236.9±6.4	10.4±2.5#

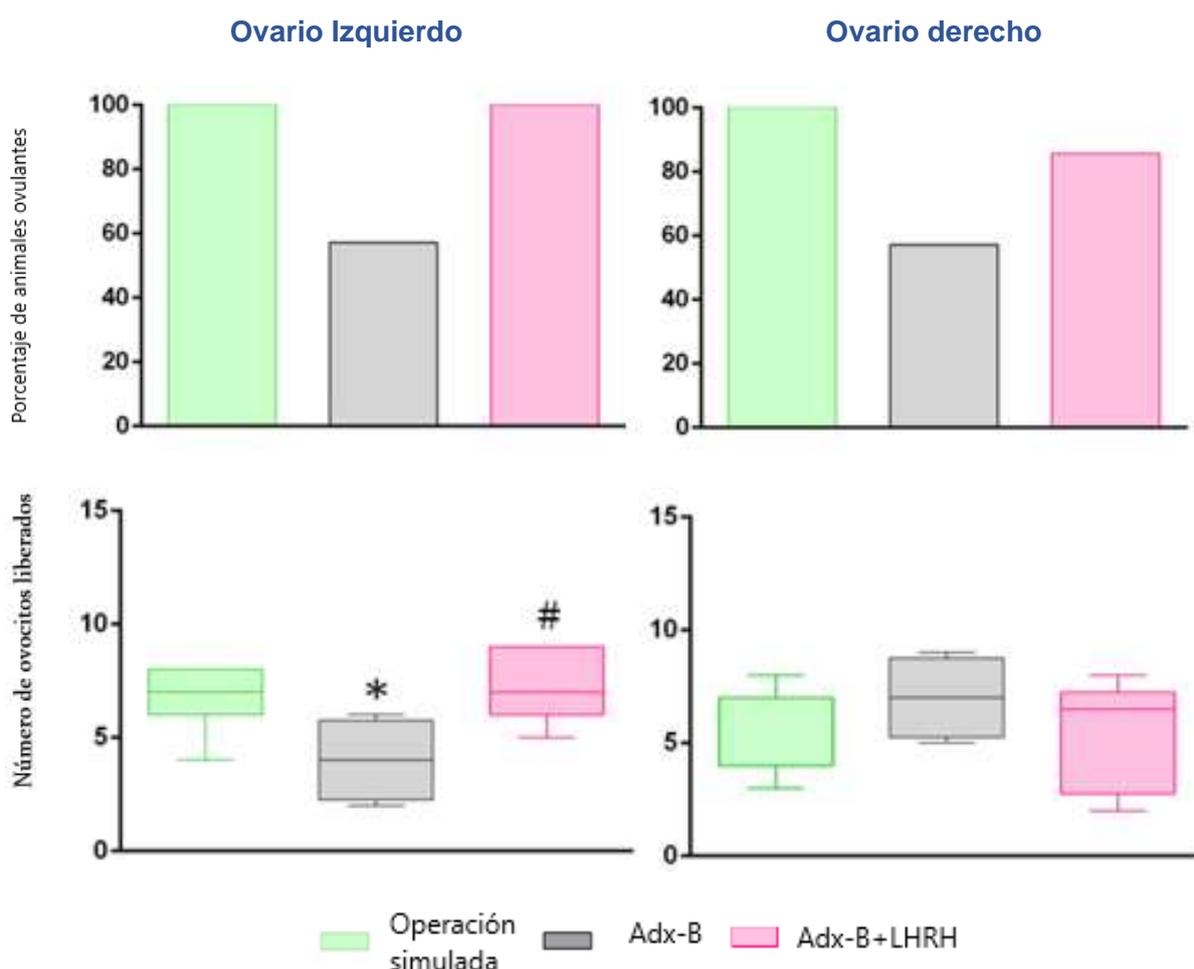
*p=0.0327 vs. operación simulada; #p= 0.0168 vs. operación simulada (prueba de ANDEVA seguida de la prueba de Dunnett).

Cuadro 13. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en diestro-1 seguida o no del remplazo de la señal ovárica (BE) a las 14:00 h en diestro-2.

Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i> <i>Adx-B</i> <i>Adx-B+BE</i>	diestro-1	11.8 \pm 0.4	13.0 \pm 0.6	24.8 \pm 0.8	171.0 \pm 8.8
		12.9 \pm 1.1	13.0 \pm 0.6	25.9 \pm 1.3	177.4 \pm 7.4
		13.3 \pm 0.8	14.4 \pm 0.2	27.6 \pm 0.9	161.8 \pm 4.7

Adrenalectomía bilateral en proestro y reemplazo hormonal

El reemplazo de la señal hipotalámica en ratas con Adx-B a las 13:00 h en la etapa de proestro resultó en un 100% de animales ovulantes y restauró el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo; similar al que liberó el grupo con la operación simulada y mostró aumento respecto al grupo con Adx-B (Gráfica 8). El tratamiento no alteró la masa corporal ni la masa de los órganos (Cuadro 14 y 15).



Gráfica 8. Porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo de la señal hipotalámica con 3.7 µg/kg s.c. LHRH a las 14:00 h en la etapa de proestro y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. *p= 0.0242 vs. operación simulada; #p= 0.0455223 vs. Adx-B (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

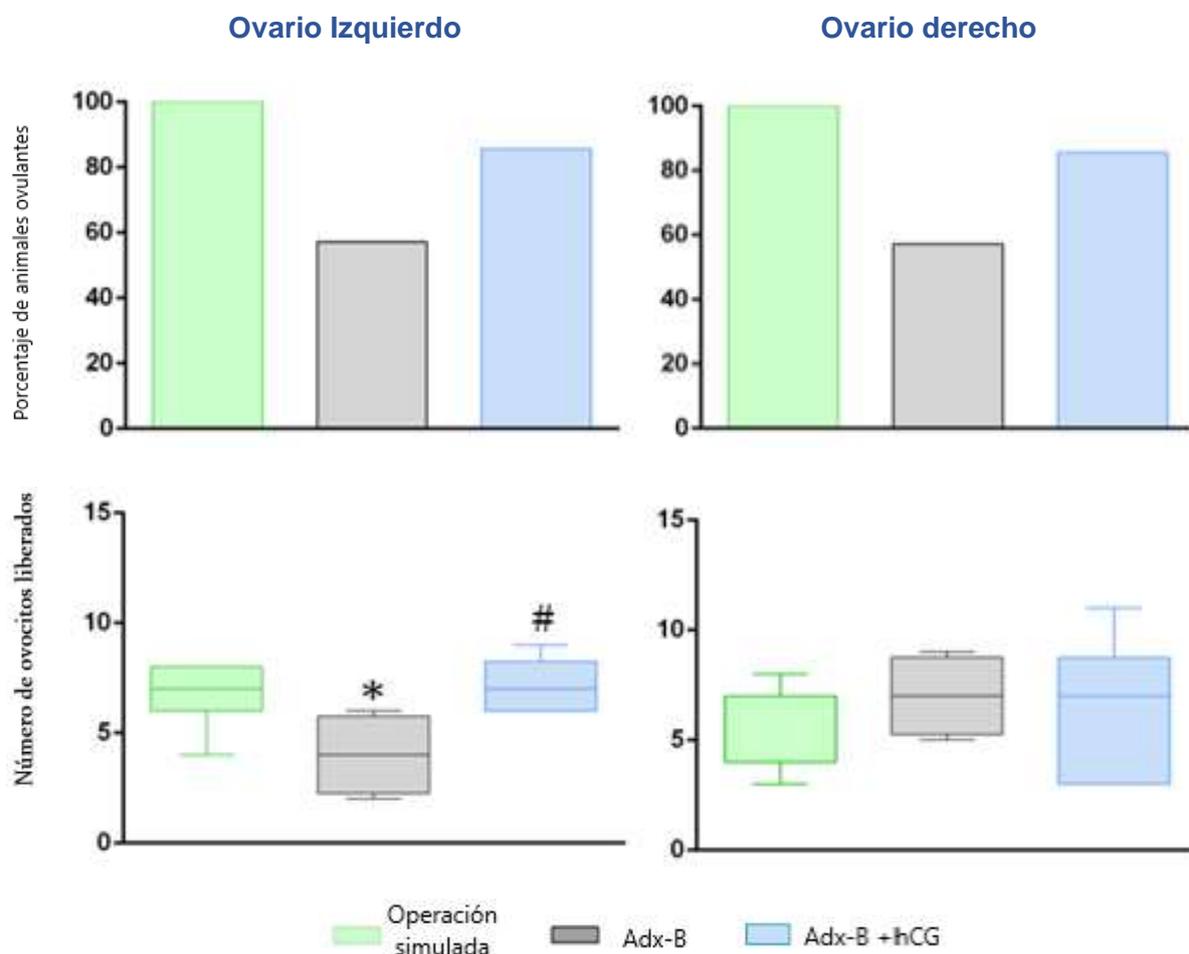
Cuadro 14. Media \pm e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, el sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo hormonal con (LHRH a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapa	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
		(g)		
<i>Operación simulada</i> <i>Adx-B</i> <i>Adx-B+LHRH</i>	proestro	241.0 \pm 3.9	234.9 \pm 3.5	6.1 \pm 2.4
		242.0 \pm 9.3	235.4 \pm 8.7	6.6 \pm 1.8
		232.9 \pm 8.2	228.0 \pm 7.3	4.9 \pm 1.5

Cuadro 15. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo de la señal hipotalámica a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i> <i>Adx-B</i> <i>Adx-B+ LHRH</i>	proestro	13.9 \pm 0.8	14.1 \pm 1.3	28.0 \pm 1.9	157.4 \pm 5.6
		12.1 \pm 0.8	12.9 \pm 0.6	25.0 \pm 1.0	175.6 \pm 8.8
		14.2 \pm 0.9	12.8 \pm 0.5	26.9 \pm 0.8	166.6 \pm 5.1

El reemplazo con hCG no modificó el porcentaje de animales ovulantes y restauró el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en comparación con la Adx-B (Gráfica 9). Sin alterar la masa corporal ni de los órganos (Cuadro 16 y 17).



Gráfica 9. Porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria con 5 UI de hCG s.c. a las 14:00 h en la etapa de proestro y sacrificados a las 9:00 h del estro esperado. *p= 0.0242 vs. operación simulada; #p=0.0323997 vs. Adx-B (prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn).

Cuadro 16. Media ± e.e.m. de la masa corporal al momento de la cirugía, sacrificio y diferencia de medias de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (hCG) a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapas	Masa corporal (cirugía)	Masa corporal (Sacrificio)	Diferencia de medias
Operación simulada	proestro	241.0±3.9	234.9±3.5	6.1±2.4
Adx-B		242.0±9.3	235.4±8.7	6.6±1.8
Adx-B+hCG		249.9±10.0	242.6±9.9	7.3±1.5

Cuadro 17. Media \pm e.e.m. de la masa relativa de los órganos de animales con operación simulada o adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en proestro seguida o no del reemplazo de la señal hipofisaria (hCG) a las 14:00 h en proestro.

Grupo	Etapa	Ovario izquierdo	Ovario derecho	Masa ovárica	Útero
		(mg /100 g de masa corporal)			
<i>Operación simulada</i>	proestro	13.9 \pm 0.8	14.1 \pm 1.3	28.0 \pm 1.9	157.4 \pm 5.6
<i>Adx-B</i>		12.1 \pm 0.8	12.9 \pm 0.6	25.0 \pm 1.0	175.6 \pm 8.8
<i>Adx-B+hCG</i>		14.1 \pm 0.4	12.6 \pm 1.0	26.7 \pm 1.2	188.9 \pm 18.7

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que en la regulación de la ovulación existe comunicación entre las glándulas adrenales y el eje hipotálamo-hipófisis-ovario; la respuesta ovulatoria es diferente para cada ovario y depende de la etapa del ciclo estral en la que se analice.

La operación simulada realizada en cada etapa del ciclo estral no modificó la ovulación en los animales. Se sugiere que el procedimiento realizado para dicha cirugía; la anestesia con *isoflurano*, la laparotomía y el movimiento de órganos, no interviene en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en la rata. [Contreras et al., 2021](#) mostraron que el *isoflurano* como anestésico no altera la ovulación en la rata adulta, lo que apoya nuestros resultados.

¿Cómo explicar la disminución de la ovulación causada por la adrenalectomía bilateral?

La disminución del número de ovocitos liberados en las etapas de diestro-1 o proestro puede deberse a que la ausencia de glándulas adrenales ocasiona disminución en las concentraciones de glucocorticoides una hora después de la cirugía y se mantiene por los siguientes diez días ([Hodges y Jones, 1964](#)). La falta de glucocorticoides puede actuar en los distintos niveles del eje HHO ([Whirledge y Cidlowski, 2010](#)); pueden alterar la secreción de la GnRH, la de las gonadotropinas ([Jacobs y Pepler, 1980](#)) o la función gonadal ([Whirledge y Cidlowski, 2010](#)).

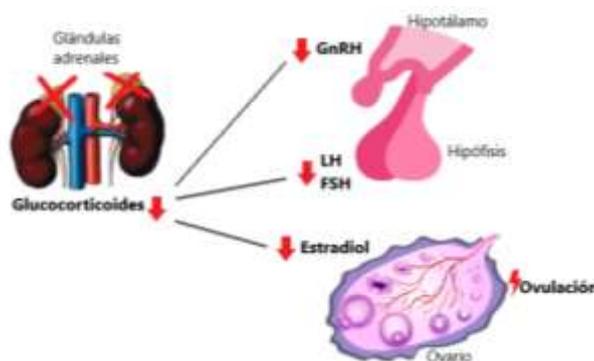


Figura 22. Modelo propuesto sobre la interacción de los glucocorticoides sobre el eje reproductivo regulando la secreción de las hormonas. Se propone que la ausencia (X X) de las glándulas adrenales ocasiona disminución (↓) en la concentración de glucocorticoides, lo que puede provocar disminución (↓) en la secreción de las hormonas del eje reproductivo (GnRH, LH, FSH o estradiol) lo que resulta en alteración (↗) de la ovulación.

¿Cómo explicar la respuesta ovárica al reemplazo hormonal en ratas con disminución en la ovulación causada por la adrenalectomía bilateral en la etapa de diestro-1?

En animales con Adx-B en la etapa del diestro-1, la restauración del número de ovocitos liberados se llevó a cabo por el reemplazo de la señal hipotalámica de LHRH, la señal hipofisaria con eCG y la señal ovárica con BE, sin restaurar la ovulación el reemplazo con hCG. Con base en estos resultados se sugiere que la falta de glándulas adrenales altera el eje HHO a nivel ovárico; lo que alteró la secreción de la FSH y por ende la esteroidogénesis.

[Whirledge y Cidlowki, 2010](#), mencionan que los glucocorticoides son necesarios para la función gonadal adecuada. Dichas hormonas tienen acciones diferenciales dependiendo de la abundancia de los receptores a glucocorticoides funcionales y disponibles en las células diana; los receptores presentes en los folículos son constantes durante la maduración folicular y la ovulación de la rata. Indican que los niveles de glucocorticoides activos se suprimen durante el desarrollo y la maduración folicular, mientras que los niveles aumentan en el proceso ovulatorio desencadenado por la LH.

Los glucocorticoides actúan directamente sobre las células ováricas para inhibir la acción de la LH y la biosíntesis de esteroides estimulada por la LH de una manera dependiente de la concentración. En células de la granulosa, los glucocorticoides suprimen la actividad de la aromatasa P450 inducida por la FSH y el número de receptores de la LH. Por el contrario, los glucocorticoides mejoran la síntesis de progesterona estimulada por la FSH. El efecto sinérgico de los glucocorticoides sobre la síntesis de progesterona mediada por FSH puede explicarse por el aumento de la producción y el deterioro del metabolismo de la progesterona. Los glucocorticoides estimulan la actividad de 3β -HSD, que convierte la pregnenolona en progesterona e inhibe la actividad de 20α -HSD, que reduce la progesterona a una forma inactiva. Además, los glucocorticoides pueden regular la ovogénesis a lo largo de múltiples etapas de la ovulación ([Whirledge y Cidlowski, 2010](#)).

[Bishayi y Ghosh \(2003\)](#), mostraron que la adrenalectomía resulta en disminución en la concentración de glucocorticoides por lo cual dicha hormona no puede realizar sus funciones. También se ha mostrado que disminuye los niveles de la proteína

StAR (proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda) inducida por la LH. Esto puede resultar en diferencias en la síntesis y liberación del estradiol durante el desarrollo folicular (Whirledge y Cidlowski, 2017).

El estradiol también es importante en el mantenimiento de la función ovárica, ya que regula el desarrollo folicular e inhibe la apoptosis de las células de la granulosa (Matsuda *et al.*, 2012).

Por lo tanto, en la etapa de diestro-1, se sugiere que la información que proviene de las glándulas adrenales actúa a nivel ovárico, ya que estimula el desarrollo folicular y la secreción de estradiol, lo que a su vez estimula la secreción de FSH.

La administración de hCG en los animales con Adx-B no restauró la ovulación, por lo que se sugiere que se alteró el desarrollo folicular y existían pocos folículos preovulatorios capaces de liberar su ovocito.

¿A qué se debe que dicha disminución solo suceda en el ovario derecho en la etapa del diestro-1?

Existe evidencia que la inervación juega un papel importante en la regulación de las funciones ováricas y que los mecanismos que participan son diferentes para el ovario izquierdo o derecho, así como de la etapa del ciclo estral en la que se analice (Domínguez *et al.*, 1998).

Solís *et al.* (2019), mostraron que al realizar una adrenalectomía izquierda a las 13:00 h en la etapa del diestro-1 disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario derecho, mientras que el realizar la adrenalectomía derecha no altera la ovulación. Con base en dichos resultados sugirieron que la información que proviene de la glándula adrenal izquierda forma parte de los mecanismos que estimulan la ovulación del ovario derecho.

Las glándulas adrenales se encuentran inervadas vía el nervio vago (Tóth *et al.*, 1997), a su vez, el ovario también recibe información que proviene del mismo nervio (Ojeda *et al.*, 1996), por lo tanto, las glándulas adrenales y los ovarios podrían estar compartiendo información que module las funciones ováricas a través de la estimulación del nervio vago.

Al respecto, [Chávez et al. \(1989\)](#), mostraron que al realizar una vagotomía izquierda a las 13:00 h en la etapa del diestro-1 resultó en aumento del número de ovocitos liberados por el ovario derecho, concluyendo que el nervio vago izquierdo modula de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados por dicho ovario.

Con esta información, se sugiere que al realizar la Adx-B en dicha etapa, es la ausencia de la adrenal izquierda y, por tanto, la estimulación del nervio vago izquierdo lo que provoca la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho.

¿Cómo se explica la disminución de la masa corporal después de la Adx-B?

La disminución en la masa corporal que se observó en los animales con adrenalectomía bilateral pudo deberse a alteraciones en la ingesta de alimentos.

[Su et al. \(2015\)](#), mencionan que la adrenalectomía resulta en pérdida del ritmo de la alimentación diaria debido a que las hormonas adrenales son necesarias para la expresión de los genes para la adipogénesis, la lipogénesis y la oxidación de ácidos grasos, así como la expresión de los genes para la Hsl (hormona sensible a la lipasa), receptor de glucocorticoides, leptina y adiponectina. Para que se lleve a cabo la diferenciación celular de los adipocitos (adipogénesis) se necesita de inductores como insulina, el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1), glucocorticoides y AMPc. Los glucocorticoides, en particular, son estimulantes energéticos de la diferenciación de los adipocitos ya que actúan a nivel nuclear y pueden activar directamente la transcripción celular. Además, inhiben a la fosfolipasa A2 y, a través de este efecto, se piensa que se puede contrarrestar el efecto inhibitorio de las prostaglandinas sobre la diferenciación celular ([Viveros et al., 2002](#)).

Se ha mostrado que la adrenalectomía aumenta la sensibilidad a la leptina, aumentando la expresión del ARNm de su receptor, al igual que aumenta la sensibilidad a insulina ([La Fleur, 2006](#)). La leptina es una hormona secretada por los adipocitos que interacciona con diversos receptores hipotalámicos y activa diversas rutas neuroendocrinas encargadas de controlar el balance entre la ingesta y el gasto energético, lo que provoca disminución en la masa corporal ([Martí y](#)

[Martínez, 1999](#)). La adiponectina también es secretada por los adipocitos y regula el metabolismo energético del organismo; reduce los triglicéridos plasmáticos y mejora el metabolismo de la glucosa mediante la sensibilidad a la insulina ([Palomer et al., 2005](#)). Al perder estas funciones y el ritmo de su alimentación presentan disminución en la conversión de los ácidos grasos en triglicéridos y grasas de reserva. Además, los efectos de la CRH en el hipotálamo, en respuesta al estrés, atenúan los efectos en el comportamiento alimenticio. Varios estudios han utilizado la eliminación de los corticosteroides endógenos a través de la adrenalectomía y han mostrado que ante la ausencia de glucocorticoides hay reducción de la alimentación y el aumento del peso corporal. Además, la adrenalectomía es usada para corregir la obesidad en roedores ([La Fleur, 2006](#)).

¿Cómo explicar la respuesta ovárica al remplazo hormonal en ratas con disminución en la ovulación causada por la adrenalectomía bilateral en la etapa de proestro?

Con base en la restauración de la ovulación con el reemplazo hipotalámico en los animales con Adx-B en la etapa de proestro, se sugiere que la disminución del número de ovocitos liberados puede deberse a que la ausencia de las glándulas adrenales en dicha etapa interrumpe la retroalimentación del eje HHA, lo que resulta en aumento en la CRH hipotalámica ([Whirledge y Cidlowski, 2010](#)) afectando así la secreción de la GnRH.

Se han descrito conexiones anatómicas entre las neuronas de la CRH y las dendritas de las neuronas secretoras de la GnRH en la rata ([Álvarez, 2007](#)). Por medio de estas conexiones, al aumentar la secreción de CRH dentro del hipotálamo, afecta a la GnRH e inhibe el éxito reproductivo ([Geraghty y Kaufer, 2015](#)).

Está establecido que la estimulación del área preóptica medial (MPOA) aumenta la liberación de la GnRH y las concentraciones de la LH, lo que puede inducir la ovulación en ratas hembra ([Rivest y River, 1993](#)). Existen poblaciones de neuronas de GnRH que expresan receptores a CRH y a glucocorticoides en la rata, lo cual indica que dichas hormonas pueden inhibir la síntesis y liberación de la GnRH ([Geraghty y Kaufer, 2015](#)). El aumento de la CRH reprime el ARNm de la GnRH

endógena y la actividad transcripcional de los genes promotores de la misma (Whirledge y Cidlowski, 2010).

El MPOA contiene la densidad más alta de somas neuronales de la GnRH, por lo cual, es el sitio de acción más probable de la CRH para influir en la actividad endógena de las neuronas de la GnRH y en todo el eje reproductivo (Rivest y River, 1993).

Los efectos de la CRH en las neuronas de la GnRH ubicadas en el MPOA también pueden deberse a una acción directa, por lo tanto, es posible que la CRH y la activación de la liberación de péptidos derivados de la POMC, al actuar de manera sinérgica dentro del MPOA, pueden tener un efecto postsináptico directo sobre las neuronas de GnRH durante el estrés (Rivest y River, 1993). Se ha mostrado que la administración intraventricular de la CRH resulta en disminución de la concentración de la GnRH (Petraglia *et al.*, 1978) y de la LH, pero no resulta en cambios significativos en la liberación de la FSH, asimismo, bloquea la ovulación de al menos el 50% de los animales (Rivier y Vale, 1984).

Además de la CRH, el efecto también podría estar mediado a través de la señalización GABAérgica dentro del núcleo arcuato (ARC), el ácido gammaaminobutírico (GABA), el principal neurotransmisor inhibitorio en el SNC, se ha implicado en la modulación del sistema reproductivo. Su función fisiológica está mediada principalmente por dos subtipos de receptores principales: el receptor ionotrópico y el metabotrópico los cuales responden al estrés (XiaoFeng *et al.*, 2015).

Diferentes tipos de estresores conducen a una regulación negativa de KISS y su receptor en las neuronas de kisspeptina en el hipotálamo, lo que conduce a una disminución de la secreción de la LH. Un subconjunto de neuronas en el hipotálamo que expresa KISS se proyecta directamente a las neuronas de la GnRH que están implicadas en la modulación del generador de pulsos de la GnRH (Geraghty y Kaufer, 2015).

Se ha mostrado que la kisspeptina induce la liberación de las gonadotropinas. En términos de mecanismo de acción se acepta que los efectos de la kisspeptina sobre el eje reproductivo se derivan principalmente de acciones de estimulación directa

sobre el sistema hipotalámico de GnRH, ya que se ha evidenciado que la kisspeptina estimula a las neuronas GnRHérgicas (Roa *et al.*, 2006).

Existe evidencia que las neuronas de kisspeptina expresan receptores a la CRH, lo que implica que podría responder directamente al aumento de cualquiera de las hormonas después de un estímulo de estrés. Estos cambios pueden ocasionar la inhibición del generador de pulsos de la GnRH y la inhibición de la ovulación (Geragthy y Kaufer, 2015)

En los animales con Adx-B en la etapa de proestro, el reemplazo con hCG restauró el número de ovocitos liberados. Esto puede deberse a que, al ser una etapa previa a la ovulación, la ausencia de las glándulas adrenales a las 13:00 h del proestro provoca la disminución de la ACTH hipofisaria lo que provoca una disminución en la concentración de la LH preovulatoria (Rivier y Vale, 1984).

¿A qué se debe que dicha disminución solo suceda en el ovario izquierdo en la etapa de proestro?

Domínguez *et al.* (1998), sugieren que en la tarde del día del proestro, antes de la oleada preovulatoria de la LH, una señal neural modula la respuesta del ovario izquierdo a las gonadotropinas. Mencionan que existe una vía neural por la cual en la tarde del proestro el ovario izquierdo envía una señal al ovario derecho, dicha señal viaja al sistema nervioso central, regresa al ovario izquierdo y controla la respuesta del mismo ovario a las gonadotropinas.

Aunado a esto, Moran *et al.* (2005), realizaron un experimento en rata adulta, en el cual inyectaron un marcador True Blue a las 13:00 h del proestro en la bursa ovárica de los animales con el fin de descifrar la relación anatómica entre cada ovario y el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS). Sus resultados mostraron que en la tarde del proestro el ovario izquierdo se encuentra más inervado mostrando neuronas activas en el GCMS izquierdo y derecho, mientras que el ovario derecho solo muestra neuronas activas en el GCMS ipsilateral.

En la tarde del proestro, a las 13:00 h, el ovario izquierdo es sensible a cualquier manipulación quirúrgica. La vía de respuesta comienza en el mismo ovario izquierdo, el cual manda una señal al ovario derecho a través del nervio ovárico superior (Morán *et al.*, 2005). La señal de ambos ovarios viaja a través del nervio

vago, por el GCMS y el ganglio nodoso hacia el SNC (Vieyra-Valdez *et al.*, 2020). La señal regresa de nuevo hacia el GCMS, por medio del nervio ovárico superior y llega a los ovarios donde modula la respuesta del ovario izquierdo a las gonadotropinas.

Es por ello por lo que en nuestros resultados es en el ovario izquierdo en el que se altera la ovulación en animales con adrenalectomía bilateral a las 13:00 h en la etapa de proestro.

CONCLUSIONES

A las 13:00 h, la operación simulada en cada etapa del ciclo estral no resulta en modificaciones de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.

A las 13:00 h en la etapa de diestro-1, las secreciones de las glándulas adrenales son necesarias para el correcto funcionamiento de los ovarios. La respuesta del ovario derecho depende de la comunicación entre las glándulas adrenales y los ovarios vía neural.

A las 13:00 h en la etapa de proestro, las glándulas adrenales estimulan los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción preovulatoria de GnRH/LH. La alteración del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo depende de la sensibilidad de dicho ovario a cualquier manipulación de éste.

La información que proviene de las glándulas adrenales en la etapa de estro, diestro-1 y diestro-2 regula la masa corporal de los animales.

REFERENCIAS

- Álvarez, L. (2007). Efectos negativos del estrés sobre la reproducción en animales domésticos. *Archivos de Zootecnia*, 57(R), 39-59. <https://pdfs.semanticscholar.org/171d/c4cbb7e814ff6a1782e37ec3295296bb6fa6.pdf>
- Apacarana, R. M. y Pacheco, J. (2004). Síndrome de ovario poliquístico y el consenso de Róterdam. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*, 50(1): 54-60.
- Baldwin, D. M. (1979). The effect of glucocorticoids on estrogen-dependent luteinizing hormone release in the ovariectomized rat and on gonadotropin secretin in the intact female rat. *Endocrinology*, 105(1), 120-128. <https://doi.org/10.1210/endo-105-1-120>
- Barco, A. I., Flores, A., Chavira, R., Damián-Matsumura, P., Domínguez, R. y Cruz, M. E. (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in-situ* ovary. *Endocrine*, 21(3), 209-215. <https://link.springer.com/article/10.1385/ENDO:21:3:209>
- Bishayi, B. y Ghosh, S. (2003). Metabolic and immunological responses associated with in vivo glucocorticoid depletion by adrenalectomy in mature Swiss albino rats. *Life Sciences*, 73 (24), 3159-3174. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.06.009>
- Brandan, N., Llanos, I., Miño, C., Ragazzoli, M. y Ruíz, D. (2011). Hormonas hipotalámicas e hipofisarias. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste.
- Brandan, N., Llanos, I., Miño, C., Ragazzoli, M. y Ruíz, D. (2014). Hormonas de la corteza adrenal. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste.
- Burden, W. H., Leonard, M., Smith, C. P. y Lawrence, I. E. Jr. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record*, 207(4), 623-627. <https://doi.org/10.1002/ar.1092070410>
- Cima (2017). Ficha técnica Desflurano Piramal. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios. Madrid, España. Ministerio de sanidad política, social e igualdad, Recuperado de: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/80863/80863_ft.pdf

- Cardona, E. F. (2000). Manejo de líquidos en el paciente quirúrgico. *IATREIA*, 13(4), 221-229. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/view/3781>
- Chávez, R., Cruz, M. E. y Domínguez, R. (1986). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ips-and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology*. 113(3), 397-01. <https://doi.org/10.1677 / joe.0.1130397>
- Chávez, R., Sánchez, S., Ulloa-Aguirre, A. y Domínguez, R. (1989). Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrous cycle in the rat. *Journal of Endocrinology*, 123(3), 441-4. <https://10.1677/joe.0.1230441>
- Chedresse, J. (2003). Regulación autocrina y paracrina del desarrollo folicular: efecto de los esteroides. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16(2), 171-182. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3242051>
- Contreras, G. G., Gutiérrez, E. M. I. y Flores, R. A. (2021) La anestesia con isoflurano a las 13:00 h en cada etapa del ciclo estral no participa en la regulación de la ovulación en la rata adulta. (XXVII Foro de investigación escolar en biología, en tiempos de pandemia). FES ZARAGOZA. UNAM.
- Da Silva, B. F., Horta, C. O. D., Lima, K. S., Godoi, B. B., Bello, F. L. M., Rodrigues, C. M., Schetino, L. P. L. y Honorato-Sampiao, K. (2018). Morphological study of apoptosis in granulosa cells and ovulation in a model of atresia in rat preovulatory follicles. *Zygote*, 26(4), 336-341. <https://doi.org/10.1017/S0967199418000291>
- Domínguez, R., Chávez, R., y Cruz, M. E. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: R. Domínguez. Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción (pp. 160-188). México: Miguel Ángel Porrúa.
- Domínguez, R. y Cruz-Morales, S. E. (2011). The ovarian innervation participates in the regulation of ovarian functions. *Endocrinology & Metabolic Syndrome*, S(4):1-10. <http://dx.doi.org/10.4172/2161-1017.S4-001>
- Domínguez, R., Cruz, M. E. y Morán, C. (1998). Differential effects of ovarian local anaesthesia during pro-oestrus on ovulation by the right or left ovary in normal and hemi-ovariectomized adult rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113(2), 185-190. <https://doi.org/ 10.1530 / jrf.0.1130185>

- Feder, H. H., Brown-Grant, K. y Corker, C. S. (1971). Pre-ovulatory progesterone, the adrenal cortex and the 'critical period' for luteinizing hormone release in rats. *Journal of Endocrinology*, 50(1), 29-39. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0500029>
- Flores, A., Rodríguez, J. O., Palafox, M. T., Meléndez, G., Barco, A. I., Chavira, R., Cruz, M. E. y Domínguez, R. (2006). The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4(11), 1-10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1448196/>
- Flores, A., Gallegos, A. I., Velasco, J., Mendoza, F. D., Montiel, C., Everardo, P. M., Cruz, M. E. y Domínguez, R. (2008). The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6(48), 1-7. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18954455/>
- Gartner, P. y Hiatt, L. (2007). Texto Atlas de Histología (3ª ed). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Geraghty, A. C. y Kaufer, D. (2015). Glucocorticoid regulation of reproduction. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 872, 253-278. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26215998/>
- Gilbert, S. F. (2003). Biología del desarrollo (7ma edición). México: Panamericana.
- González, R., Gomendio, M. y Roldan, E. R. S. (2008). Los glucocorticoides y la reproducción femenina. *Asebir*, 4(1), 29-36.
- González-Albarrán, O., Fraile, J. y García, R. R. (2000). Fisiología de las glándulas suprarrenales. *Programa de Formación Médica Continuada*, 8(21), 1097-1101. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(00\)70206-X](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(00)70206-X)
- González, C. F. J., Matezans, D. M. y Candel, M. I. (2001). Insuficiencia corticosuprarrenal primaria. Enfermedad de Addison. *Anales de Medicina Interna*, 18(9), 48-54.
- Grünenthal Pharma. (2018). Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Madrid, España. Ministerio de sanidad política, social e igualdad, Recuperado de: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/61617/61617_ft.pdf

- Herbison, A. E. (2016). Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology*, 12(8), 452-466. <https://soy.org/10.1038/nrendo.2016.70>
- Hifarmax. (2015). Ficha técnica o resumen de las características del producto. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Madrid, España. Ministerio de sanidad política, social e igualdad, Recuperado de: <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2017/3/9/111744.pdf>
- Hillier, S. G. (2001). Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 179(1-2), 39-46. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00469-5](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00469-5)
- Hirshfield, A. N. (1991) Development of follicles in the mammalian ovary. *International Review of Cytology*, 124(1), 43-101. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61524-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61524-7)
- Hodges, J. R. y Jones, M. T. (1964). Changes in pituitary corticotrophic function in the adrenalectomized rat. *The Journal of Physiology*, 173, 190-200. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1964.sp007451>
- Jacobs, J. J. y Pepler, R. D. (1980). Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of tow strains of rat. *The Journal of Endocrinology*, 87(2), 241-246. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0870241>
- Kontogeorgos, G., Stefaneau, L., Kovacs, L. y Horvath, E. (2012). Hypophysis. En: Mai, J. K. y Paxinos, G. The uman nervous system. España: Elsevier.
- La Fleur. S. E. (2006). The effects of glucocorticoids on feeding behavior in rats. *Physiology & Behavior*, 89(1), 110-114. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.01.028>
- Lawrence, I. E. Jr. y Burden, H. W. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record*, 196(1), 51-59. <https://doi.org/10.1002/ar.1091960106>
- Linares, S. A., Gutiérrez, M. I., y Flores, A. (2019). El isoflurano a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata no altera la ovulación. (XXIII Foro Escolar en Investigación en Biología). FES Zaragoza, UNAM.

- Liyanarachchi, K. D. y Debono, M. (2017). Physiology of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Elsevier*, 35(10):542-555. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2014.07.008>
- Levine, J. (2015). Neuroendocrine Control of the Ovarian Cycle of the Rat. En: T. M. Plant by A. J. Zeleznil. (4ta ed.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (pp. 1199-1257). Pittsburgh, EE. UU.: Academic Press.
- Martí, A. y Martínez, J. A. (1999). La leptina y la regulación del peso corporal. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 22(3),353-363. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0707>
- Matsuda, F., Inoue, N., Manabe, N. y Ohkura, S. (2012). Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells. *The Journal of Reproduction and Development*, 58(1), 44-50. <https://doi.org/10.1262/jrd.2011-012>
- McArdle, C. A. y Roberson, M. S. (2015). Gonadotropes and gonadotropin-releasing hormone signaling. En: T. M. Plant by A. J. Zeleznil. (4ta ed.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (pp. 1199-1257). Pittsburgh, EE. UU.: Academic Press.
- McGivern, R. F. y Redei, E. (1994). Adrenalectomy reverses stress-induced suppression of luteinizing hormone secretion in long-term ovariectomized rats. *Physiology & Behavior*, 55(6), 1147-1150. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90402-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90402-2)
- Megias, M., Molist, P. y Pumbal, M. (2018) Técnicas Histológicas. Tinción. España: Universidad de Vigo.
- Millar, R. P. (2013). GnRH (LHRH). En: A.J. Kastin. Handbook of biologically active peptides (pp. 792-801) Madrid, España: Elsevier.
- Molina, L. A., Moyano, S. M., Peña, O. F., Lora, B. A., Moreno, B. S. y Serrano, C. J. M. (2008). Depresores del sistema nervioso central y anestesia en roedores de experimentación. *Revista electrónica de clínica veterinaria*, 3(9). Recuperado de: <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n090908.html>
- Morales, L., Chávez, R., Ayala, M. E. y Domínguez, R. (1998). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory

response to gonadotrophin administration. *Journal of Endocrinology* 158(2), 213-219. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1580213>

Morán, C., Franco, A., Morán, J. L., Handal, A., Morales, L. y Domínguez, R. (2005). Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine* 26(2), 174-152. <https://doi.org/10.1385/ENDO:26:2:147>

Moreno, E., Fernández, G. y López, C. (1994). Diagnóstico y tratamiento en endocrinología. Madrid, España: Diaz de Santos.

Newman, H. A. (1991). Development of follicles in the mammalian ovary. *Cytology*, 24(10), 43-101. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61524-7](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61524-7)

Ojeda, S.R. Mayerhofer, A. Dissen, G. A. Hill, D. F., Smith, G. D. Wolf, D. P., LesDees, W. y Skinner, M. (1996). Ovarian development is influenced by a neuroendocrinotrophic regulatory complex. Divisions of neuroscience and reproductive sciences. University of California, San Francisco. <https://skinner.wsu.edu/documents/2016/07/604.pdf/>

Pastelin, C. F., Rosas, N.H., Morales-Ledesma, L., Linares, R., Domínguez, R. y Morán, C. (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of Ovarian Research*, 10(18), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13048-017-0311-x>

Palomer, X., Pérez, A. y Blanco-Vaca, F. (2005). Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Elsevier*, 124(10), 388-395. <https://doi.org/10.1157/13072576>

Pangas, S. A. y Rajkovic, A. (2015). Follicular development: mouse, sheep, and human models. En: T. M. Plant by A. J. Zeleznil. (4ta ed.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (pp. 1199-1257). Pittsburgh, EE. UU.: Academic Press.

PanReac (2017). Ficha técnica productos químicos. VidraFOC. Recuperado de: <https://www.vidrafoc.com/>

Passarge, E. (2007). Genética. Texto y atlas. España: Panamericana.

- Peppler, R. D., y Jacobs, J. J. (1976). The effect of adrenalectomy on ovulation and follicular development in the rat. *Biology of Reproduction*, 15(2), 173-178. <https://doi.org/10.1095/biolreprod15.2.173>
- Petraglia, F., Sutton, S., Vale, W. y Plotsky, P. (1978). Corticotropin-releasing factor decreases plasma luteinizing hormone levels in female rats by inhibiting gonadotropin-releasing hormone release into hypophysial-portal circulation. *Endocrinology*, 120(3), 1083-1088. <https://doi.org/10.1210/endo-120-3-1083>
- Pimentel, K. (2011). Efectos de la adrenalectomía uni o bilateral en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ovulación (Tesis de licenciatura). UNAM, FES Zaragoza.
- Piramal healthcare uk limited. (2008). Ficha técnica. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. Madrid, España. Ministerio de sanidad política, social e igualdad. Recuperado de: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/60373/P_60373.pdf
- Prieto-Gómez, B. y Velázquez-Paniagua, M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 45(6), 252-257.
- Puelles, L. y Rubenstein, J. LR. (2015). A new Scenario of hypothalamic organization: rationale of new hypotheses introduced in the updated prosomeric model. *Frontiers in Neuroanatomy*, 19,9:27, 1-23. <https://doi.org/10.3389 /fnana.2015.00027>
- Ricu, M., Paredes, A., Greiner, M., Ojedas, S. R. y Lara, H. E. (2008). Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. *Endocrinology*, 149(1), 50-56. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1204>
- Rivest, S. y Rivier, C. (1993). Central mechanisms and sites of action involved in the inhibitory effects of CRF and cytokines on LHRH neuronal activity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 29(679), 117-141. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb49928.x>
- Rivier, C. y Rivest, S. (1991). Effect of stress on the activity of the hypothalamic pituitary-gonadal axis: peripheral and central mechanisms. *Biology of Reproduction*, 45(4), 523-532. <https://doi.org/10.1095/biolreprod45.4.523>

Rivier, C., y Vale, W. (1984) Influence of corticotropin-releasing factor on reproductive functions in the rat. *Endocrinology*, 114(3), 914-921. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(87\)91236-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(87)91236-4)

Roa, J., Vigo, E., Castellano, J. M., Navarro, V. M., Fernández-Fernández, R., Casanueva, F. F., Dieguez, C., Aguilar, E., Pinilla, L. y Tena-Sempere, M. (2006). Hypothalamic expression of KISS-1 system and gonadotropin-releasing effects of kisspeptin in different reproductive states of the female rat. *Endocrinology*, 147(6), 2864-2878. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1463>

Rodríguez de la Cruz, R. M. y Pásaro-Dionisio, M. R. (1998). Control endocrino del ciclo reproductor en la rata: una experiencia docente utilizando un método de caracterización citológica. *Revista de Enseñanza Universitaria*, 20, 545-554.

Ross, M. y Pawlina, W, (2007). Histología. Texto atlas y color con biología celular y molecular. Argentina: Panamericana.

Schiffer, F. y Wertheimer, E. (1947). Leannes in adrenalectomized rats. *The Journal of endocrinology*, 5(3), 147-151. <https://doi.org/10.1677 / joe.0.0050147>

Smith, M. S., Freeman, M. E. y Neill, J. D. (1975). The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue og the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology*, 95(1):219-226. <https://doi.org/10.1210 / endo-96-1-219>

Smitz, J., Wolfenson, C., Chappel, S. y Ruman, J. (2016). Follicle-Stimulating Hormone: a review of form and function in the treatment of infertility. *Reproductive Sciences*, 23(6), 706-716. <https://doi.org/10.1177/1933719115607992>

Solís, A. V. E., Gutiérrez, E. M. I., Contreras, G. G., Cruz, M. E., Flores, R. A. (2019). La glándula adrenal izquierda a las 13:00 h del diestro-1 regula de manera estimulante la ovulación del ovario derecho. XXIV Foro de investigación escolar en biología. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México.

Stamatiades, G. A. y Kaiser, U. B. (2017). Gonadotropin regulation by pulsatil GnRH: signaling and gene expression. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 463(1): 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.10.015>

- Su, Y., Foppen, E., Zhang, Z., Fliers, E. y Kalsbeek, A. (2016). Effects of 6-meals-a-day feeding and 6-meals-a-day feeding combined with adrenalectomy on daily gene expression rhythms in rat epididymal white adipose tissue. *Genes Cells*, 21(1),6-24. <https://doi.org/10.1111 / gtc.12315>
- Suckow, M., Weisbroth, H., Steven, H. y Franklin, L. (2006). The laboratory rat. USA: Academic Press.
- Suttie, A. W. y Sutcliffe, C. (2018). Adrenal Gland. Suttie, A. Boorman's Pathology of the rat. Reference and atlas. (pp. 523-536) London: Academic Press.
- Tóth, I.E., Vizi, E. S., Hinson, J.P. y Vinson, G. P. (1997). Innervation of the adrenal cortex, its physiological relevance, with primary focus on the noradrenergic transmission. *Microscopy Research and Technique*, 36(6), 534-545. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19970315\)36:6<534::AID-JEMT10>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19970315)36:6<534::AID-JEMT10>3.0.CO;2-P)
- Tresguerres, F., y Castillo, C. (2010). Fisiología del eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario. En: Tresguerres, F., (3 ed). Fisiología Humana. (pp. 1007-1023) Madrid, España: Editorial Mc Graw Hill.
- Uribe-Velásquez, L. F., Restrepo-Cadavid, R. y Henry, O. J. (2010). Cambios en la secreción de los esteroides ováricos y de la hormona luteinizante durante el ciclo estral en la oveja. *Biosalud*, 9(1): 64-78.
- Vidal, D. y Dixon, D. (2018) Ovary. En: Suttie, A. Boorman's Pathology of the rat. Reference and atlas. (pp. 523-536) London: Academic Press.
- Vieyra-Valdez, E., Linares-Culebro, R., Rosas-Gavilán, G., Ramírez-Hernández, D., Domínguez-Casalá, R. y Morales-Ledesma, L. (2020). Roles of the cholinergic system and vagal innervation in the regulation of GnRH secretion and ovulation: Experimental evidence. *Brain Research Bulletin*, 165, 129-138. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2020.09.009>
- Viveros, C. A., Lavlada, M. H. y Bastarrachea, S. R. (2002). Influencia endocrina y paracrina sobre la adipogénesis. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 10(3), 151-164. <https://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2002/er023i.pdf>
- Whirledge, S. y Cilowski, J. A. (2010). Glucocorticoids, stress and fertility. *Minerva endocrinology*, 35(2), 109-125.

Whirledge, S. y Cidlowski, J. A. (2017). Glucocorticoids and Reproduction: Traffic control on the road to reproduction. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 8(6), 399-415. <https://dx.org/10.1016/j.tem.2017.02.005>

XiaoFeng, L., Shao, B., ChengCheng, L., O'Byrne, K. T. y YuanShao, L. (2015). Stress-induced inhibition of LH pulses in female rats: role of GABA in arcuate nucleus. *Journal of Molecular Endocrinology*, 55(1), 9-19. <https://doi.org/10.1530/JME-15-0084>

Yen, S. S. C., Jaffe, R. B. y Barbieri, R. L. (2001). Endocrinología de la reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico. Argentina: Editorial Medica Panamericana.

Zhang, X., Zhang, L., Huo, S., Wang, J. y Cui, S. (2010). Neonatal superior ovarian nerve transection inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. *Reproduction, Fertility and Development*, 22(7), 1148-1158. <https://doi.org/10.1071/RD09271>

ANEXO 1. ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA

Las hormonas esteroideas sintetizadas en los ovarios son los estrógenos y los andrógenos, aunque también se producen pequeñas cantidades de testosterona, 17 α -hidroxiprogesterona y hormonas peptídicas como la inhibina y la relaxina. Son compuestos lipídicos que derivan del colesterol (Figura 22) (Levine, 2015).

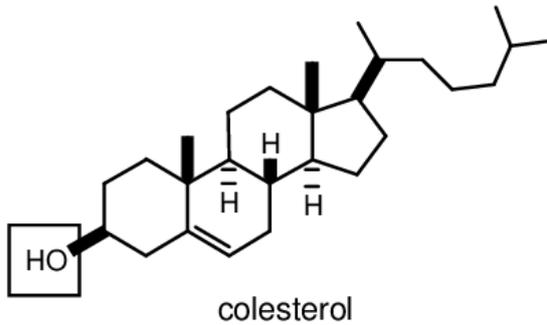


Figura 22. Estructura de la molécula del colesterol (tomada de https://www.researchgate.net/figure/Estructura-del-colesterol_fig10_274192733 07-09-2020).

El colesterol utilizado en la esteroidogénesis (Figura 23) proviene de diversas fuentes: de la síntesis de colesterol a partir del acetato, del almacén del colesterol éster, de las membranas celulares y de lipoproteínas en el citoplasma (Tresguerres y Castillo, 2010).

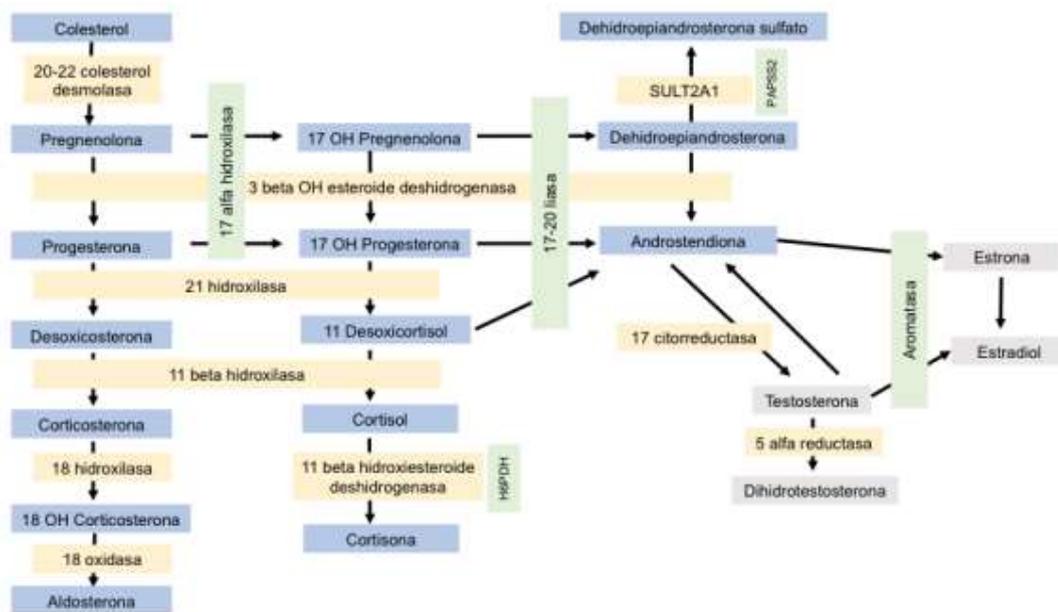


Figura 23. Esquema de la esteroidogénesis ovárica a partir del colesterol (tomada de Pérez *et al.*, 2017: consultada el 07-09-2020).

ANEXO 2. ESTEROIDOGÉNESIS ADRENAL

Los esteroides adrenales (Figura 24) derivan del colesterol cuya fuente principal es el colesterol circulante captado por los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL); en menor proporción derivan del colesterol sintetizado en las propias células a partir del acetato o del colesterol ligado a proteínas de alta densidad (HDL) (Brandan *et al.*, 2014).

Mineralocorticoides

Su nombre proviene de su principal función que es la de regular el balance hidrosalino del organismo. Los dos mineralocorticoides más importantes son la aldosterona y la 11-desoxicorticosterona (DOC).

Glucocorticoides

Los glucocorticoides son hormonas de la familia de los corticosteroides que participan en la regulación del metabolismo de carbohidratos favoreciendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis; poseen además actividad inmunosupresora. Su acción reguladora se extiende también al metabolismo intermedio de grasas y proteínas.

Andrógenos suprarrenales

Se originan a partir de progesterona y pregnenolona, y requiere la 17- α -hidroxilación. La mayor producción de andrógenos es por la conversión de la 17- α -hidroxipregnenolona al compuesto de 19 carbonos DHEA y su conjugado DHEA sulfato. Su función en la reproducción femenina depende de la función ovárica en coordinación con los estrógenos.

Se les atribuye cierto efecto termogénico, responsable de la subida de temperatura en la segunda fase del ciclo ovárico. El mecanismo de acción es semejante al de los esteroides ováricos (González-Albarrán *et al.*, 2000).

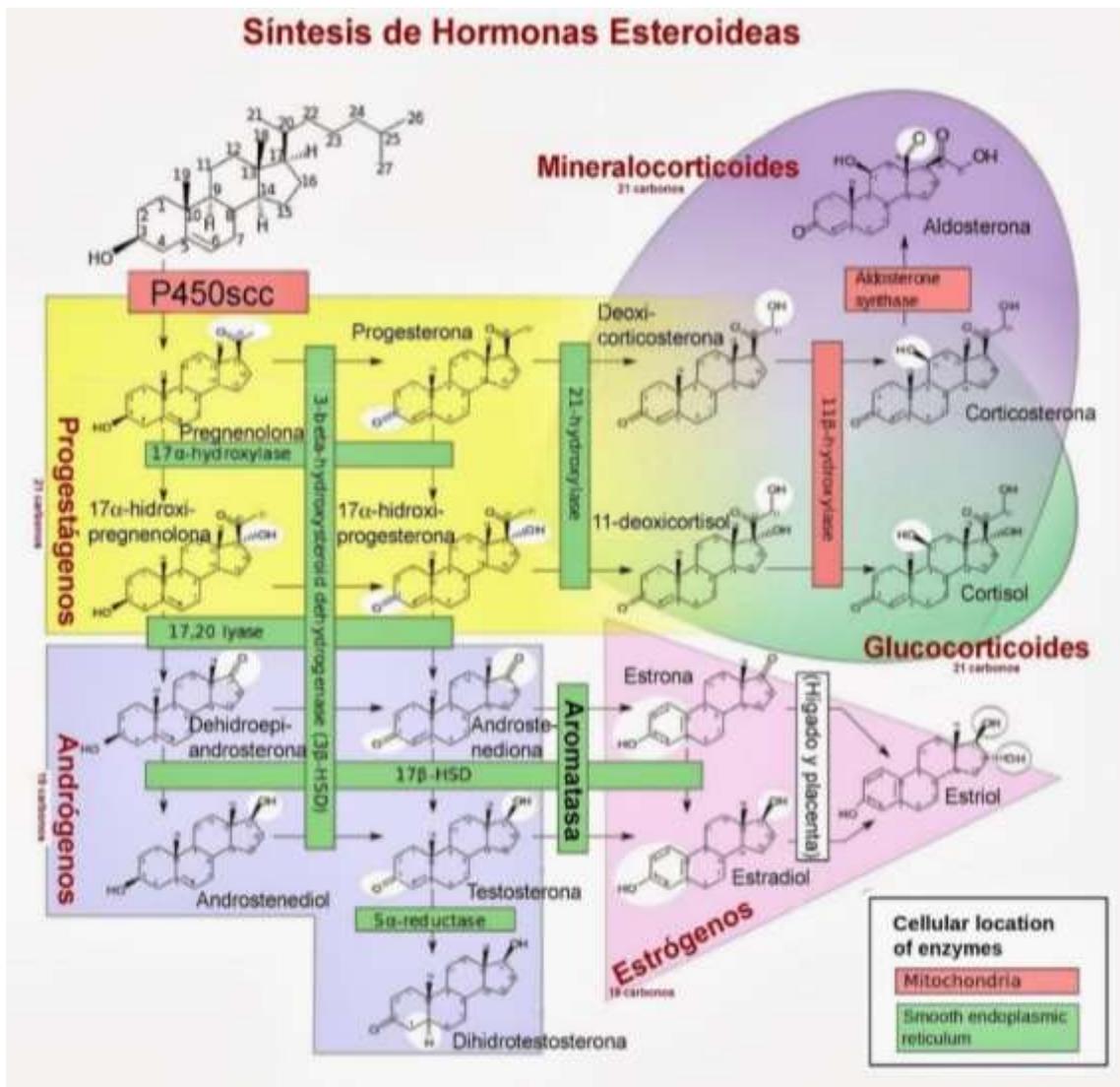


Figura 24. Esquema de la síntesis de hormonas esteroideas a partir del colesterol (tomada de: <http://mtxcollege.com/index.php/2018/05/03/colesterol-es-realmente-un-enemigo-para-la-salud/>; consultada 07-09-2020).

ANEXO 3. ISOFLURANO (PISA, México)

El isoflurano (1-cloro-2,2,2-trifluoroetil difluorometil éter) (Figura 25) es un éter halogenado usado como anestésico inhalatorio. Junto con el enflurano y el halotano reemplazaron a los éteres inflamables.



Figura 25. Estructura química del isoflurano (tomada de: <https://www.alamy.es/imagenes/isoflurano.html>: consultada el 07-09-2020).

Presen Presentación: Isoflurano 100%. Por cada 100 mL contiene 100 % de isoflurano.

Mecanismo de acción: el Isoflurano inhibe la conducción de los potenciales de acción y su transmisión sináptica. Deprime la percepción de las sensaciones al interferir en el funcionamiento fisiológico de la matriz lipídica de las membranas de las neuronas del cerebro (Cima, 2017). Los niveles de anestesia cambian rápidamente con Isoflurano. La frecuencia respiratoria permanece esencialmente constante. La respiración espontánea se va deprimiendo al ir aumentando la profundidad de la anestesia, y debe ser cuidadosamente controlada. Durante la inducción se produce una disminución de la tensión arterial, que vuelve a la normalidad mediante estimulación quirúrgica. Durante el mantenimiento, la tensión arterial tiende a disminuir en relación directa con la profundidad de la anestesia, pero el ritmo cardíaco se mantiene estable. Con la ventilación controlada y una presión arterial de CO₂ normal, el gasto cardíaco tiende a mantenerse, a pesar del aumento de la profundidad de la anestesia, en principio a través de un aumento de la frecuencia cardíaca.

El isoflurano se absorbe rápidamente en la circulación por los pulmones y el comienzo de acción, así como el tiempo de recuperación, es muy rápido. Su metabolismo es principalmente hepático y se elimina en un 95% sin cambios por exhalación y el resto por vía renal. La vida media de eliminación urinaria es de 36 a 41 horas (Piramal healthcare uk limited, 2008).

ANEXO 4. ENROXIL (Antibiótico)

Enroxil 0.5% SENOSIAIN

Es una fluoroquinola de tercera generación que inhibe la acción de la enzima DNA girasa, lo cual provoca un efecto bactericida de amplio espectro. Se absorbe por la vía parental y enteral, alcanzando niveles terapéuticos en 30 minutos a dos horas. Se mantiene por 24 horas y se distribuye en todos los tejidos corporales.

Usos: Está indicado en el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano.

Presentación: Enroxil inyectable 5%, en donde cada mL contiene 50 mg de enrofloxacin en 1 mL de vehículo cbp.

Mecanismo de acción: Actúa inhibiendo en forma irreversible la enzima ADN-girasa, responsable de una serie de funciones vitales para la bacteria. El ADN microbiano posee una longitud de más de 1000 micras y se encuentra contenido dentro de los confines de las bacterias las cuales miden generalmente entre 1 a 2 micras, por lo tanto, el ADN se encuentra condensado y espiralado en un pequeño espacio del citoplasma celular. Al inhibir este sistema enzimático ocurre un colapso en el metabolismo ya que la información vital no puede ser copiada, esto provoca la muerte inmediata del microorganismo. La acción de las fluoroquinolonas es altamente selectiva ya que en las células de los mamíferos estos sistemas enzimáticos se encuentran estructurados de manera totalmente diferente. Un segundo mecanismo de acción estaría descrito en la inhibición de otra enzima, la topoisomerasa IV, responsable de la separación de las cromátidas hermanas en la replicación del ADN bacteriano (Hifarmax, 2008).

ANEXO 5. MELODEX (antiinflamatorio)

Melodex Aranda

Indicaciones: Antiinflamatorio coadyuvante en el tratamiento de diversas afecciones como enfermedad respiratoria aguda, diarreas, cojeras, traumatismos, mastitis y en general cualquier proceso agudo o crónico que presente dolor, inflamación y fiebre, en combinación con la terapia antimicrobiana específica para cada caso.

Presentación: Melodex 0.15% contiene 1.5 mg de meloxicam en 1 mL de vehículo.

Vía de administración: Intramuscular, subcutánea o intravenosa lenta
Mecanismo de acción: inhibe a las enzimas COX-1 y COX-2 (ciclooxigenasas). Estas enzimas catalizan la conversión de ácido araquidónico a prostaglandina G₂, que a su vez es precursora de otras prostaglandinas y del tromboxano. La COX-1 interviene en la síntesis de prostaglandinas que parecen tener un efecto beneficioso sobre la mucosa gástrica y la función renal, mientras que la COX-2 favorece la síntesis de mediadores de la inflamación y el dolor ([Grünenthal Pharma, 2012](#)).

ANEXO 6. HEMATOXILINA-EOSINA

Es una tinción basada en dos etapas: la primera, una tinción nuclear por un colorante básico (hematoxilina) y la segunda, una tinción citoplasmática por un colorante xantenico ácido (eosina). La hematoxilina en combinación con sales de aluminio, hierro o cromo, forma un colorante activo, la hemateina, formada por oxidación de la hematoxilina. Este se usa como colorante nuclear, tiñendo los núcleos de color azul y aportando un buen detalle a los mismos. Por este motivo se suele usar junto con un colorante citoplasmático, eosina, que aporta una gradación rosa a las estructuras y matrices celulares de carácter catiónico (a las que la hematoxilina no tiñe) ([PanReac, 2017](#)).

El procedimiento de la tinción se lleva a cabo en cuatro etapas, primero la muestra en el portaobjetos se sumerge por ocho minutos en hematoxilina, posteriormente se enjuaga durante 5 minutos en agua, se añade una gota de eosina que se distribuirá por la muestra y se dejará actuar por 1 minuto, posteriormente se enjuagará con alcohol al 70% y dejará secar. Al estar completamente seco se podrá observar al microscopio óptico ([PanReac, 2017](#)).

Los resultados que se observan con esta tinción son:

Colágeno: rosa pálido.

Músculo: rosa fuerte.

Queratina: rojo intenso.

Citoplasma: rosado.

Núcleos: azul oscuro o púrpura (en realidad se tiñe sólo la cromatina).

Eritrocitos: color cereza.

Este procedimiento es utilizado en las láminas de frotis del epitelio vaginal, así como la tinción de las láminas para el conteo de ovocitos.