



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LOS MECANISMOS QUE REGULAN EL PROCESO  
OVULATORIO EN LA RATA ADULTA CON ADRENALECTOMÍA UNILATERAL  
REALIZADA A LAS 15:00 H, DESPUÉS DE UN REMPLAZO DE LA SEÑAL  
HIPOTALÁMICA-HIPOFISARIA.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A**

Ana Paula García Vargas

DIRECTORA DE TESIS:

M. en IBSH Angélica Flores Ramírez



CDMX., 25 de Octubre del 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.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LOS MECANISMOS QUE REGULAN EL PROCESO  
OVULATORIO EN LA RATA ADULTA CON ADRENALECTOMÍA UNILATERAL  
REALIZADA A LAS 15:00 H, DESPUÉS DE UN REMPLAZO DE LA SEÑAL  
HIPOTALÁMICA-HIPOFISARIA.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A**

Ana Paula García Vargas

**DIRECTORA DE TESIS:**

M. en IBSH Angélica Flores Ramírez

**ASESORES:**

Dra. María Elena Ayala Escobar

Dr. Carlos Camilo Silva Méndez



CDMX., 25 de Octubre del 2021.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**  
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
 CARRERA DE BIOLOGÍA  
 FORMATO F-5



**OFICIO DE FECHA DE EXAMEN**

**QFB GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ**  
**JEFA DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
 Presente

Le comunico que al alumno: **GARCIA VARGAS ANA PAULA** con número de cuenta **313228898** de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día **25 de Octubre de 2021** a las **16:00 hrs.**, para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

| <b>CARGO</b> | <b>NOMBRE</b>                       | <b>FIRMA</b> |
|--------------|-------------------------------------|--------------|
| PRESIDENTE   | DRA. AYALA ESCOBAR MARIA ELENA      |              |
| VOCAL        | MTRA. FLORES RAMIREZ ANGELICA       |              |
| SECRETARIO   | DR. MORALES LEDESMA LETICIA         |              |
| SUPLENTE     | BIOL. EVERARDO AREVALO PAMELA MARIA |              |
| SUPLENTE     | MTRO. SILVA MENDEZ CARLOS CAMILO    |              |

El título del trabajo escrito que se presenta es:

**EVALUACIÓN DE LOS MECANISMOS QUE REGULAN EL PROCESO OVULATORIO EN LA RATA ADULTA CON ADRENALECTOMÍA UNILATERAL REALIZADA A LAS 15:00 H, DESPUÉS DE UN REMPLAZO DE LA SEÑAL HIPOTALÁMICA-HIPOFISARIA.**

En la modalidad de: **TESIS**

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
 CDMX, a 17 de Septiembre de 2021

**DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD**  
 DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS  
 SUPERIORES ZARAGOZA

## DEDICATORIAS

A mi hermana Belén, por nunca perder la fe en mí y de cierta manera guiarme hacia donde quiero ir. Espero te paguen la apuesta, por eso y muchas razones más, te dedico el primer párrafo, porque te juro que no estaría aquí de no ser porque tú siempre estuviste ahí.

A mi mamá, por darme todo tu apoyo de manera incondicional y ser el motivo principal por el cual me he esforzado, espero te sientas tan orgullosa de mí, como yo de ti, por ser tan tú. Las palabras no me alcanzan para describirte y describir todo lo que siento, te amo mamá.

A mi abuelita Yolanda, a mi Tío Saúl y a mi papá, porque a pesar de todo y aunque no se si algún día lo van a leer, siempre los llevo en el corazón. A usted tío, quiero decirle que siempre será mi ejemplo a seguir y que lo admiró demasiado. Por formar parte de mi crecimiento personal y académico les dedico parte de mi esfuerzo.

## AGRADECIMIENTOS

A la M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez le agradezco el tiempo, la dedicación y la paciencia que me ha tenido, y todo el apoyo y comprensión que me brindó todo este tiempo. Gracias por aceptarme y enseñarme todo lo que sabe, es una excelente persona y maestra.

A mis sinodales, el Dr. Camilo, la Dra. Elena, la Dra. Leticia y la Mtra. Pamela, por sus aportaciones que me ayudaron a mejorar mi trabajo, gracias por el conocimiento transmitido y por su tiempo. Agradezco principalmente al Dr. Camilo por hacerme ver mi suerte de tanta corrección con el objetivo de mejorarlo en la mayor medida posible, gracias por todas tus aportaciones y tiempo dedicado.

A la Dra. María Esther Cruz Beltrán (Q.E.P.D.) por todo el apoyo que me brindó en laboratorio, por su conocimiento y tiempo que me dedicó, siempre la tendré presente.

A mi padrino, el Sr. Raúl por apoyarme sin esperar nada a cambio, de no ser por usted me habría atrasado académicamente por mi extra de matemáticas, nunca voy a olvidar tan bonito gesto, de verdad lo considero una excelente persona, gracias por el tiempo y sus enseñanzas.

Y bueno, de manera general agradezco a todas las personas que estuvieron, están y sé que estarán, no solo en mi vida académica, también en mi vida personal. Aunque no los mencioné de manera particular, creo que todos saben que los tengo en mi corazón.

¡GRACIAS, TOTALES!

## Índice

|       |   |    |
|-------|---|----|
| I.    | RESUMEN.....  | 1  |
| II.   | INTRODUCCIÓN.....   | 3  |
| III.  | MARCO TEÓRICO.....  | 4  |
|       | • Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.....                          | 4  |
|       | • Ovarios.....  | 8  |
|       | • Foliculogénesis.....  | 10 |
|       | • Atresia Folicular.....  | 16 |
|       | • Ovulación.....  | 18 |
|       | • Cuerpo lúteo.....   | 20 |
|       | • Síntesis de hormonas.....                                     | 21 |
|       | • Ciclo estral.....   | 24 |
|       | • Glándulas adrenales.....                                      | 26 |
|       | • Irrigación e inervación adrenal.....                          | 29 |
|       | • Participación de las adrenales en las funciones ováricas..... | 31 |
| IV.   | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....                                 | 32 |
| V.    | PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....                                 | 33 |
| VI.   | HIPÓTESIS .....   | 33 |
| VII.  | OBJETIVO GENERAL.....   | 33 |
| VIII. | MATERIAL Y MÉTODOS.....   | 34 |
|       | • Grupos experimentales.....                                    | 34 |
|       | • Reemplazo hormonal.....                                       | 35 |
|       | • Autopsia.....   | 36 |
|       | • Procesamiento de los datos.....                               | 37 |
|       | • Análisis estadístico.....                                     | 37 |
| IX.   | RESULTADOS.....   | 38 |
| X.    | DISCUSIÓN.....  | 52 |
| XI.   | CONCLUSIONES.....   | 62 |
| XII.  | ANEXO.....  | 63 |
| XIII. | REFERENCIAS.....  | 65 |
| XIV.  | CONSTANCIAS.....  | 71 |

## RESUMEN

La ovulación es regulada por señales neuroendocrinas que provienen del hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, cuyos efectos son modulados por la información neural que llega al ovario. La regulación de la ovulación también depende de la retroalimentación estimulante e inhibitoria que ejercen los estrógenos ováricos a nivel del hipotálamo, y de la información nerviosa o endocrina que proviene de las glándulas adrenales. En la rata adulta, se ha mostrado que la ausencia de una o ambas glándulas puede afectar la ovulación. Sin embargo, se desconoce a qué nivel del eje reproductivo actúa la información proveniente de cada glándula.

El objetivo del presente estudio fue analizar el efecto de extirpar la adrenal izquierda o derecha a las 15:00 h de cada etapa del ciclo estral y posteriormente se realizó un remplazo de la señal hipotalámica, hipofisaria y ovárica en las etapas que afecta la ovulación. Para ello, a ratas hembra adultas y cíclicas de la cepa CIIZ-V, mantenidas en un fotoperiodo L:D=14:10 con agua y alimento *ad libitum* se les realizó una adrenalectomía izquierda (Adx-I) o derecha (Adx-D). Como grupo control se utilizaron animales con operación simulada izquierda (OS-I) o derecha (OS-D), respectivamente, y un grupo intacto. Todos los tratamientos quirúrgicos se realizaron a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral y como anestésico se utilizó *isoflurano*.

Las operaciones simuladas no modificaron ninguno de los parámetros evaluados respecto al del grupo intacto, independientemente de la etapa o del lado en el que se llevó a cabo la cirugía. En los animales con adrenalectomía unilateral no se modificó la ciclicidad o el PAO. La Adx-I en diestro-2 resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto a la OS-I, mientras que la Adx-D realizada en proestro resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto a la OS-D.

Los remplazos se llevaron a cabo en las etapas de diestro-2 y proestro. En ratas con Adx-I realizada en diestro-2 se aplicó una inyección con 3.7 µg/kg m.c. de LHRH sintética o 5 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG/LH) a las 14:00 h en la etapa de proestro o 10 µg de Benzoato de estradiol postcirugía. En contraste, un grupo de animales con Adx-D realizada en proestro solo se aplicó una inyección postcirugía con 3.7 µg/kg m.c. de LHRH sintética o 5 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG/LH).



Los animales con remplazos hormonales se sacrificaron por la mañana del estro esperado, mientras que el resto en el estro vaginal inmediato. Se cuantificaron los ovocitos liberados, que se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney para grupos de dos y Kruskal-Wallis seguida de Dunn para más de dos grupos, y el porcentaje de animales ovulantes (PAO), que se analizó mediante la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Se utilizó un nivel de significancia igual o menor a 0.05.

Ningún tratamiento con remplazo hormonal modificó el PAO. Sin embargo, los remplazos hormonales realizados en animales con Adx-I o Adx-D en diestro-2 y proestro, respectivamente lograron restaurar la ovulación, ya que el número de ovocitos liberados fue semejante al de los grupos control. El remplazo con LHRH en animales con Adx-D realizada en proestro tuvo un aumento significativo en el número de ovocitos liberados respecto al grupo con Adx-D. Con base en estos resultados se sugiere que ambas adrenales participan en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, dicha regulación depende de la etapa del ciclo estral en estudio. Las señales provenientes de la adrenal derecha a las 15:00 h regulan la secreción de GnRH de manera estimulante, sin embargo, las señales de la adrenal izquierda no participan, por lo que concluimos que dicha regulación es asimétrica.

## INTRODUCCIÓN

Las funciones de los ovarios (síntesis de hormonas y ovulación) son reguladas por señales neuroendocrinas que provienen del hipotálamo, la hipófisis y los mismos ovarios. En el hipotálamo, las neuronas GnRHérgicas sintetizan la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que es secretada en la eminencia media y transportada hacia la adenohipófisis vía el sistema portal hipotalámico-hipofisario (Tesone, 2007; Yen *et al.*, 2001).

En la hipófisis, la GnRH estimula la secreción de las gonadotropinas: la hormona estimulante de los folículos (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Éstas son secretadas al torrente sanguíneo y al llegar a los ovarios regulan sus funciones (Levine, 2015).

Se tienen evidencias de que la información que proviene de las glándulas adrenales también participa en la regulación de la ovulación. En 1976, Peppler y Jacobs, mostraron que un ciclo después de la adrenalectomía bilateral (Adx-B) realizada en el diestro-1, las ratas presentan disminución en el número de ovocitos liberados y en el número de folículos  $\geq 448 \mu\text{m}$  de diámetro.

Los animales con adrenalectomía unilateral a las 15:00 h en diestro 2 o proestro no mostraron cambios en la ciclicidad o en el porcentaje de animales ovulantes, sin embargo, la extirpación de la adrenal izquierda solo en diestro-2 resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto a su grupo con operación simulada y la extirpación de la adrenal derecha solo en proestro resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto a su grupo con operación simulada (García, 2019).

En el presente estudio se analizó el efecto de la adrenalectomía unilateral realizada a las 15:00 h de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación. En los animales en los que disminuyó el número de ovocitos liberados se evaluó si las señales hormonales que provienen de las adrenales regulan la secreción de la GnRH a nivel hipotalámico, de las gonadotropinas a nivel hipofisario o del estradiol a nivel ovárico.

# MARCO TEÓRICO

## Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

El hipotálamo, la hipófisis y el ovario se han considerado durante mucho tiempo como el eje de un circuito regulador que controla las funciones de los ovarios: secreción de hormonas proteicas y esteroides (Anexo 1), foliculogénesis y ovulación. Estos tres órganos clave se comunican entre sí vía señales hormonales cíclicas que resultan en la expulsión periódica de uno o más ovocitos; lo que depende de la especie (Figura 1) (Oakley *et al.*, 2011).

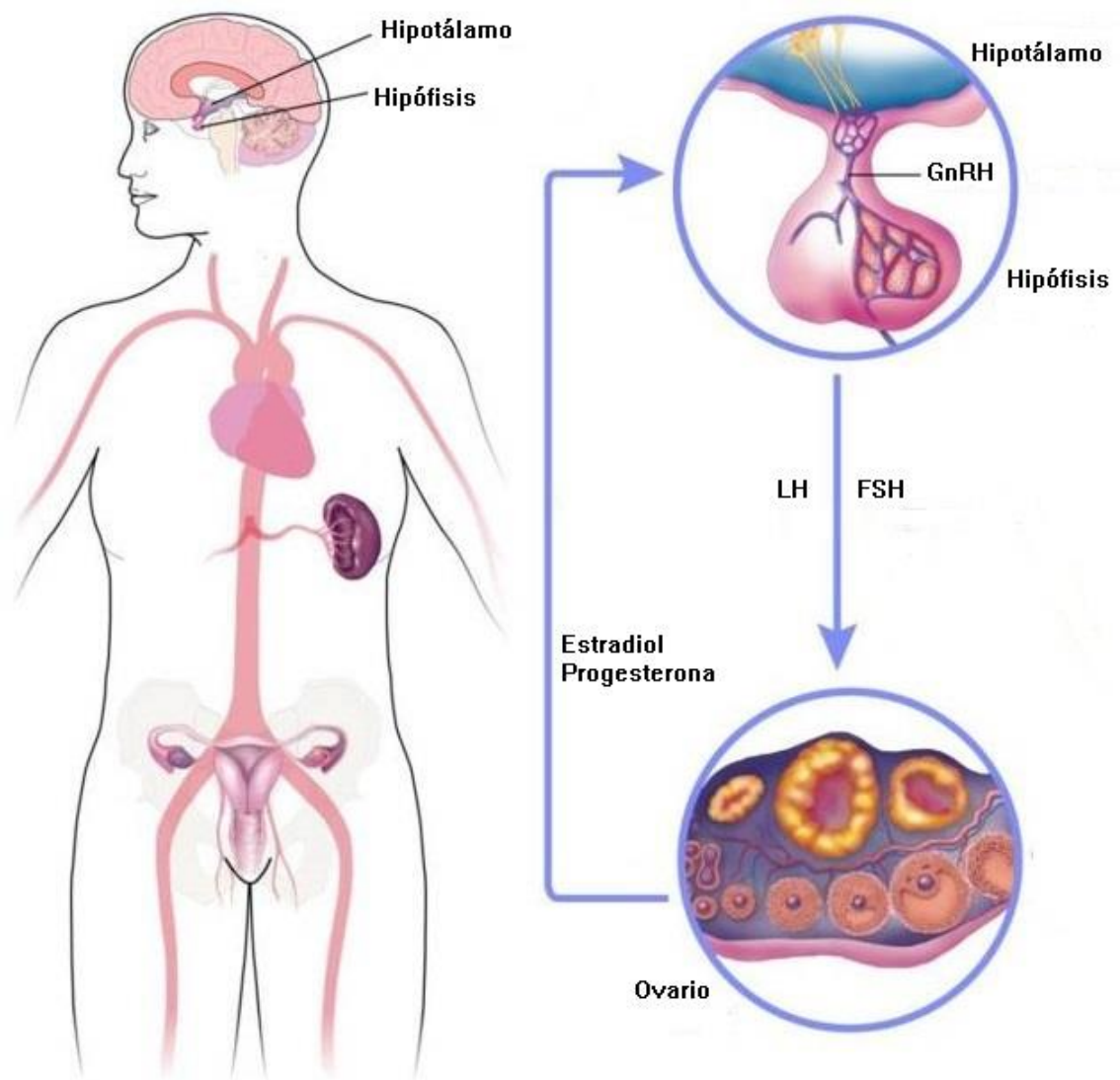


Figura 1. Eje Hipotálamo-hipófisis-ovario donde se muestra la secreción de GnRH, LH, FSH, estradiol y progesterona (modificada de Oakley *et al.*, 2011).

El hipotálamo es una región del diencefalo ubicada debajo del tálamo. Forma las paredes del tercer ventrículo; con una cierta prolongación hacia el telencefalo y el mesencefalo. La eminencia media constituye el piso del tercer ventrículo, situándose entre el quiasma óptico por delante y el tallo hipofisario por detrás, con el que continúa. El hipotálamo cuenta con vías aferentes y eferentes que lo conectan con diferentes regiones del cerebro y fuera de éste, por ello, el hipotálamo es el centro de la regulación neuroendocrina, autónoma y homeostática (Dudás y Merchenthalerva, 2013).

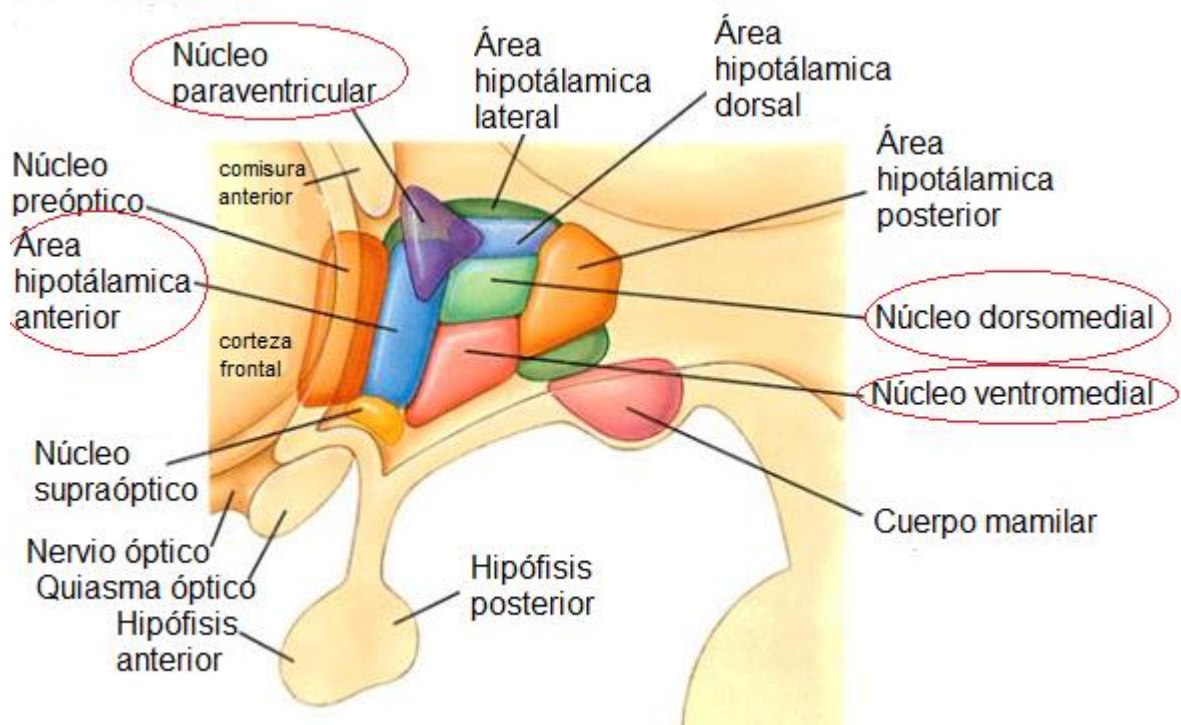
En su estructura se encuentran agregados de cuerpos neuronales que reciben el nombre de núcleos. Desde el punto de vista funcional, el hipotálamo se divide en tres zonas:

1) la zona anterior o supraóptica, ubicada por encima del quiasma óptico, contiene los núcleos supraóptico y el paraventricular, desde los cuales parten los axones que terminan en la neurohipófisis (lo que constituye el haz hipotálamo- hipofisario). Las neuronas de tipo magnocelular presentes en el núcleo paraventricular son responsables de la producción de oxitocina y vasopresina. La función del núcleo supraóptico es regular, a través de la vasopresina, la presión arterial y el equilibrio homeostático.

2) en la zona media o tuberal se localizan los núcleos ventromedial, dorsomedial y arcuato, que proyectan sus axones hacia capilares de la eminencia media; zona donde nace el tallo hipofisario. La función del núcleo arcuato está relacionada con la secreción de GnRH, mientras que el núcleo ventromedial y dorsomedial están implicados en conductas agresivas y defensivas, y la regulación de la saciedad, respectivamente.

3) la zona posterior o mamilar está constituida por los núcleos de la amígdala, a los cuales se les desconoce el papel que juegan en la regulación neuroendocrina.

Los núcleos del hipotálamo con función endocrina secretan hormonas cuya función es inhibir o estimular la liberación de hormonas presentes en la hipófisis. El área tuberal junto con el núcleo paraventricular contiene la mayor parte de las neuronas que secretan las hormonas hipotalámicas que regulan la producción endocrina de la hipófisis anterior (Figura 2) (Yen *et al.*, 2001).



**Figura 2. Regiones del hipotálamo (círculos rojos) donde se muestran las zonas con mayor concentración de neuronas neurosecretoras que regulan la secreción de hormonas hipofisarias (modificada de Yen *et al.*, 2001).**

En el área hipotalámica preóptica-anterior (POA-AHA) se localizan las neuronas GnRHérgicas (Figura 3), cuya función es sintetizar la GnRH. Esta neurohormona es un decapeptido (Piroglu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub>), en humanos, es codificado a partir de un único gen localizado sobre el brazo corto del cromosoma 8 que deriva del proceso postraduccional de la molécula precursora Pro-GnRH. Las neuronas GnRHérgicas tienen la propiedad intrínseca de secretar la GnRH de manera pulsátil. La periodicidad y amplitud del ritmo pulsátil de secreción son fundamentales para regular las actividades gonadales y, por ende, de todo el eje reproductivo (Cruz *et al.*, 2001; Yen *et al.*, 2001).

La GnRH liberada en la eminencia media llega a los gonadotropos de la adenohipófisis e inicia su mecanismo de acción uniéndose a receptores de membrana acoplados a proteínas G, con el fin de estimular la secreción de las gonadotropinas (Dudás y Merchenthalerva, 2013).



Las gonadotropinas son hormonas glucoproteicas compuestas por dos subunidades proteohidrocarbonadas diferentes ( $\alpha$  y  $\beta$ ). La unidad  $\alpha$  es común para ambas hormonas, mientras que la subunidad  $\beta$  le confiere la actividad específica a cada una de ellas. El peso molecular de la LH y la FSH es de alrededor de 28,000 y 33,000 daltons, respectivamente. El peso molecular de la subunidad  $\alpha$  es de aproximadamente 14,000 daltons, mientras que el de la cadena  $\beta$  tiene un peso molecular de 14,000 daltons y 19,000 daltons, respectivamente (Yen *et al.*, 2001).

Las gonadotropinas ejercen sus efectos en el ovario a través de la activación de sus receptores; los de la FSH están presentes en la membrana de las células de la granulosa, mientras que los de la LH se localizan en la membrana de las células de la teca interna y en las células luteínicas de los cuerpos lúteos (Yen, 2001; Palermo, 2007).

La FSH se une a su receptor y activa señales celulares que conducen a la maduración de las células germinales, el crecimiento folicular y estimula al sistema de aromatización de andrógenos. La LH tiene como funciones la ovulación, el mantenimiento del cuerpo lúteo y la síntesis de hormonas esteroideas (progesterona y testosterona) (Levine, 2015).

## Ovarios

Se localizan en la cavidad abdominal cerca de los riñones. Cada ovario está fijado a la superficie posterior del ligamento ancho del útero por el mesoovario, al cual se encuentra unido el hilio y la vasculatura. Los ovarios están recubiertos por una lámina de epitelio escamoso o cuboidal, el epitelio de la superficie del ovario, que se denomina epitelio germinal y debajo hay una capa de tejido conectivo denso denominado túnica albugínea. El ovario está organizado en dos partes principales: una parte central llamada médula y una parte periférica llamada corteza. Incrustado en el estroma de la médula hay vasos sanguíneos y nervios asociados, que irradian hacia la corteza. La corteza es una estructura dinámica en la que se distinguen tres compartimientos funcionales: el folicular, luteal y tejido intersticial. En el estroma de la corteza están distribuidos los folículos ováricos en distintas etapas del desarrollo (Figura 5) (Conti y Chang, 2016; Ross y Pawlina, 2015).



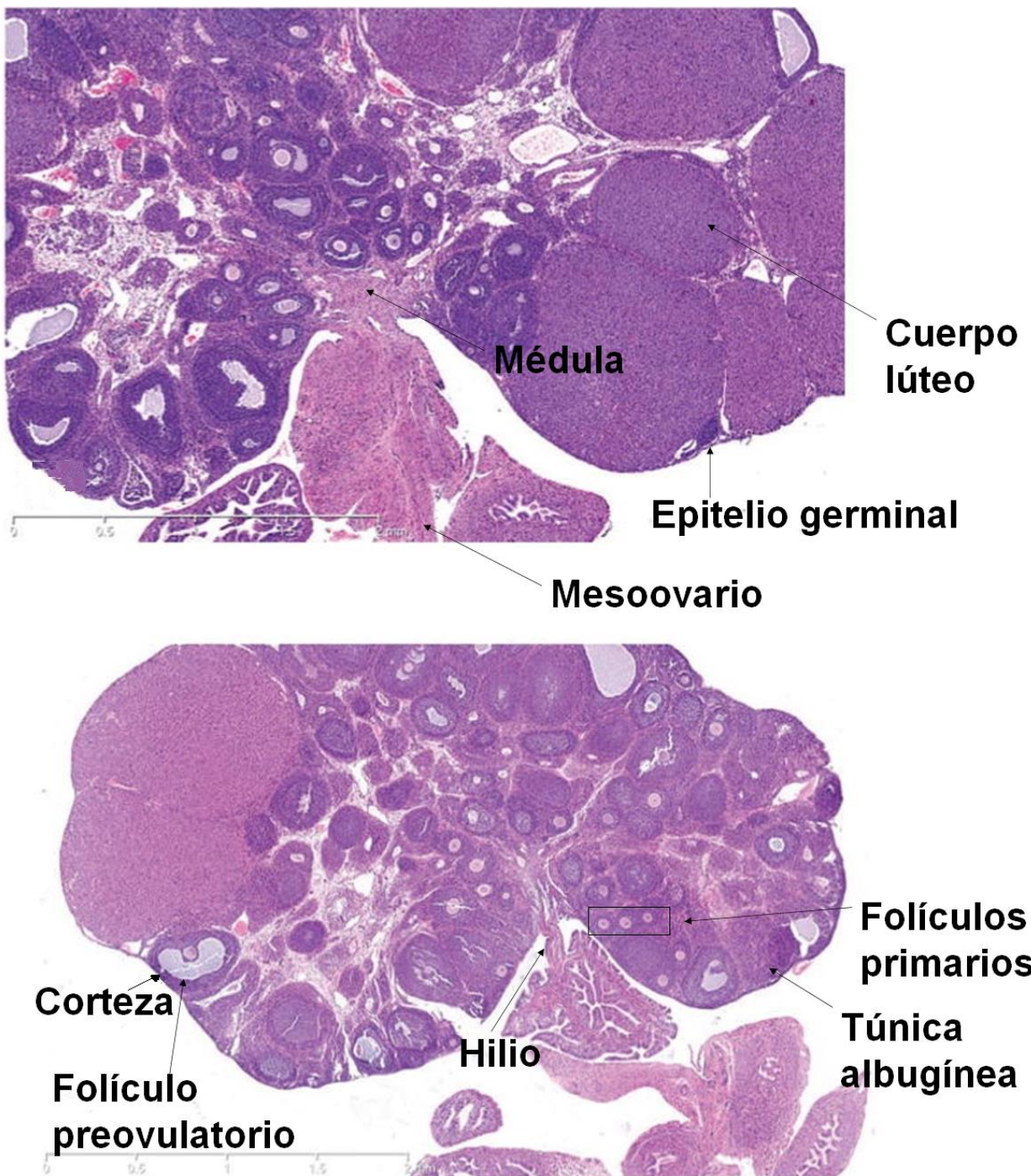


Figura 5. Estructura general del ovario de rata donde se muestra la médula, el mesoovario, el epitelio germinal, la corteza, el hilio, la túnica albugínea y los folículos primarios y preovulatorios (modificada de [Picut et al., 2014](#)).

Las hormonas gonadotrópicas inician eventos de señalización en las células diana de los ovarios que gobiernan el ciclo reproductivo y, por lo tanto, la continuidad de una especie. El folículo ovárico es la estructura clave que alberga el ovocito. Las células

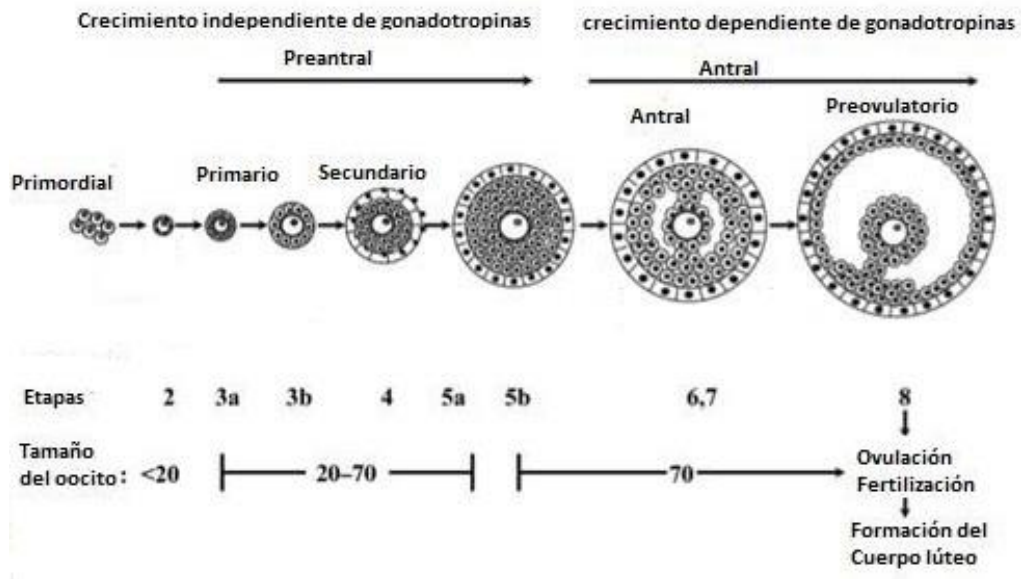


somáticas del folículo contribuyen a la producción de hormonas y proporcionan un entorno propicio para el crecimiento y la maduración del ovocito. Además, el folículo libera el ovocito durante la ovulación para permitir la fertilización y las células restantes dentro del folículo deben diferenciarse en células del cuerpo lúteo que producen las hormonas necesarias para mantener el embarazo (Hunzicker y Mayo, 2015).

## Foliculogénesis

La foliculogénesis es el desarrollo y maduración de un folículo primordial hasta un folículo preovulatorio. A medida que un folículo crece y se desarrolla, ocurren cambios en las tres principales poblaciones de células: los ovocitos, las células de la granulosa y de la teca. Estos cambios incluyen proliferación, crecimiento y apoptosis; actividades que son reguladas por hormonas y factores de crecimiento. Durante la foliculogénesis existe una comunicación bidireccional entre los componentes del folículo, las células de la teca, de la granulosa y el propio ovocito (Conti y Chang, 2016).

La foliculogénesis se puede dividir en dos fases: crecimiento preantral y crecimiento antral. Ese intervalo desde el reclutamiento de un folículo primordial hasta el final de la etapa secundaria se denomina fase preantral o independiente de gonadotropinas. En la fase antral o dependiente de gonadotropinas se desarrolla una cavidad o antro lleno de líquido. Para describir las etapas del desarrollo folicular se utiliza la clasificación de Pedersen y Peter (1968), la cual se basa en el tamaño del ovocito en folículos de diferentes etapas de desarrollo, en el tamaño del folículo definido por el número de células que constituyen la envoltura celular y en la morfología folicular. Esto la hace relativamente sencilla para diferenciar la fase preantral y antral del desarrollo folicular (Figura 6) (Conti y Chang, 2016; Pangas, 2015; Pedersen y Peter 1968).



**Figura 6. Clasificación del desarrollo folicular desde folículo primordial hasta folículo preovulatorio, dividida en dos fases; independiente y dependiente de las gonadotropinas, y las etapas propuestas por Pedersen y Peter en 1968 (modificada de Pangas, 2015).**

El desarrollo de un folículo preantral se caracteriza por tres procesos: 1) entrada de un folículo primordial en el conjunto de folículos en crecimiento; 2) crecimiento y diferenciación del ovocito; y 3) adquisición de receptores a FSH y LH en las células de la granulosa y teca, respectivamente. La reserva de folículos primordiales, también conocida como “reserva ovárica” se establece antes del nacimiento, ya que gran parte de los ovocitos atraviesan por un proceso de muerte celular; por lo que su número disminuye drásticamente. Un folículo primordial consta de un ovocito pequeño ( $\approx 15 \mu\text{m}$  de diámetro) que se detiene en la etapa de diploteno de la profase I de la meiosis, una sola capa de células escamosas de la granulosa y una delgada lámina basal rodean al ovocito (Figura 7-A). Antes de su selección, los folículos primordiales se encuentran en un estado quiescente durante el cual se han identificado factores de transcripción (FOXO3A, LHX8), para mantener dicho estado (Conti y Chang, 2016; Monniaux *et al.*, 2018; Pangas, 2015).

Durante la fase de desarrollo preantral, las fibras sensoriales, parasimpáticas y simpáticas que llegan a la gónada vía el nervio vago, el plexo ovárico y del nervio ovárico superior forman parte de las señales que modulan la acción de las gonadotropinas sobre el desarrollo folicular. La selección de un folículo primordial para

su desarrollo se inicia en las células pregranulosas aplanadas mediante la activación de la señalización del complejo sensible a rapamicina (mTORC1), que induce tanto la transición de forma aplanada a cuboidal de las células de la pregranulosas como la expresión del ligando del protooncogén KIT (KITLG), lo que desencadena a su vez la activación del ovocito. Estas señales podrían llegar a los folículos primordiales a través de la microvascularización de la corteza ovárica (Malamed *et al.*, 1992; Monniaux *et al.*, 2018).

Estructuralmente, el proceso de transición del folículo primordial a primario comienza con un cambio en la forma de las células foliculares de escamosa a cuboidal, que, a su vez, se asocia con el aumento en el número de células foliculares y el crecimiento del ovocito. Un folículo primario consta de un ovocito en crecimiento; durante su desarrollo se llevan a cabo eventos que incluyen la expresión de receptores de FSH en las células de la granulosa, la formación de uniones GAP entre el ovocito y las células de la granulosa, el crecimiento del ovocito y la deposición de la zona pelúcida entre el ovocito (Figura 7-B). Conforme las células de la granulosa proliferan, las células del estroma perifolicular forman una vaina de células conjuntivas llamada "teca folicular" que se diferencia en la teca interna y externa visibles en un folículo primario tardío. La teca interna contiene fibroblastos, haces de fibras colágeno y una red extensa de vasos sanguíneos pequeños, mientras que la teca externa es la capa superficial de las células del tejido conjuntivo y contiene células musculares lisas y haces de fibras colágenas. Durante la diferenciación del folículo primario se activa el gen que codifica el receptor de FSH en las células de la granulosa (Conti y Chang, 2016; Ross y Pawlina, 2015).

Mayerhofer y colaboradores (1997), mostraron que el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y la noradrenalina (NA) llegan a los ovarios a través de la inervación gonadal, y que al activar al adenosin monofosfato cíclico (AMPc) contribuyen al proceso de diferenciación mediante el cual los folículos primarios recién formados adquieren receptores a FSH y su capacidad de respuesta a dicha hormona. Posteriormente, la FSH junto con el factor de diferenciación del crecimiento 9 (GDF9), que es producido por el ovocito, promueven la aparición de receptores a LH presentes en las células de la teca interna. Aunque el crecimiento del folículo preantral es independiente a las gonadotropinas, las células de la granulosa de esta estructura inmadura responden a

las gonadotropinas. Sin embargo, el crecimiento del folículo preantral es impulsado por señales moleculares entre el ovocito y células de la granulosa. GDF9 y la proteína morfogenética ósea (BMP15) producidos por el ovocito activan la vía de señalización SMAD2 / 3 en las células de la granulosa y favorecen su proliferación y supervivencia, mientras que KITLG producido por las células de la granulosa activa la vía PI3K / AKT esencial para el crecimiento y supervivencia del ovocito (Conti y Chang, 2016; Monniaux *et al.*, 2018).

Otro evento clave que ocurre en el folículo primario es el desarrollo de uniones GAP entre las células de la granulosa y el ovocito. Las uniones GAP están formadas por una familia de proteínas denominadas conexinas (Cx). Funcionalmente, permiten la transferencia entre moléculas de bajo peso molecular, incluido el AMPc, guanosina monofosfato cíclico (GMPc) y el calcio. Las conexiones de Cx evocan cambios en el metabolismo de los ovocitos que influyen en la expresión génica. Cuando el ovocito ha alcanzado un diámetro de 50 a 80  $\mu\text{m}$  sintetiza y secreta una matriz extracelular de glicoproteínas (ZP-1, ZP-2, ZP-3 y ZP-4, en humanos, mientras que en roedores solo están presentes 3), dicha matriz es llamada "zona pelúcida" y aparece entre el ovocito y las células foliculares adyacentes (Conti y Chang, 2016; Ross y Pawlina, 2015).

A medida que el folículo aumenta de tamaño se constituye el folículo secundario que se caracteriza porque posee varias capas de células de la granulosa que rodean al ovocito. Cuando el estrato granuloso alcanza un espesor de 6 a 12 capas de células, aparecen pequeñas cavidades llenas de líquido entre las células de la granulosa. Las cavidades se forman debido al movimiento del líquido que se origina en la vasculatura tecal y que se alimenta de un gradiente osmótico generado por hialuronano y proteoglicanos. A medida que el fluido rico en hialurano continúa acumulándose entre las células de la granulosa, las cavidades comienzan a fusionarse, estas cavidades llamadas cuerpos de Call-Exner forman una cavidad única llamada antro folicular (Figura 7-C). Las células de la granulosa que se encuentran más cerca del ovocito forman un montículo engrosado, el *cumulus oophorus*, que se proyecta hacia el antro (Monniaux *et al.*, 2018; Ross y Pawlina, 2015).

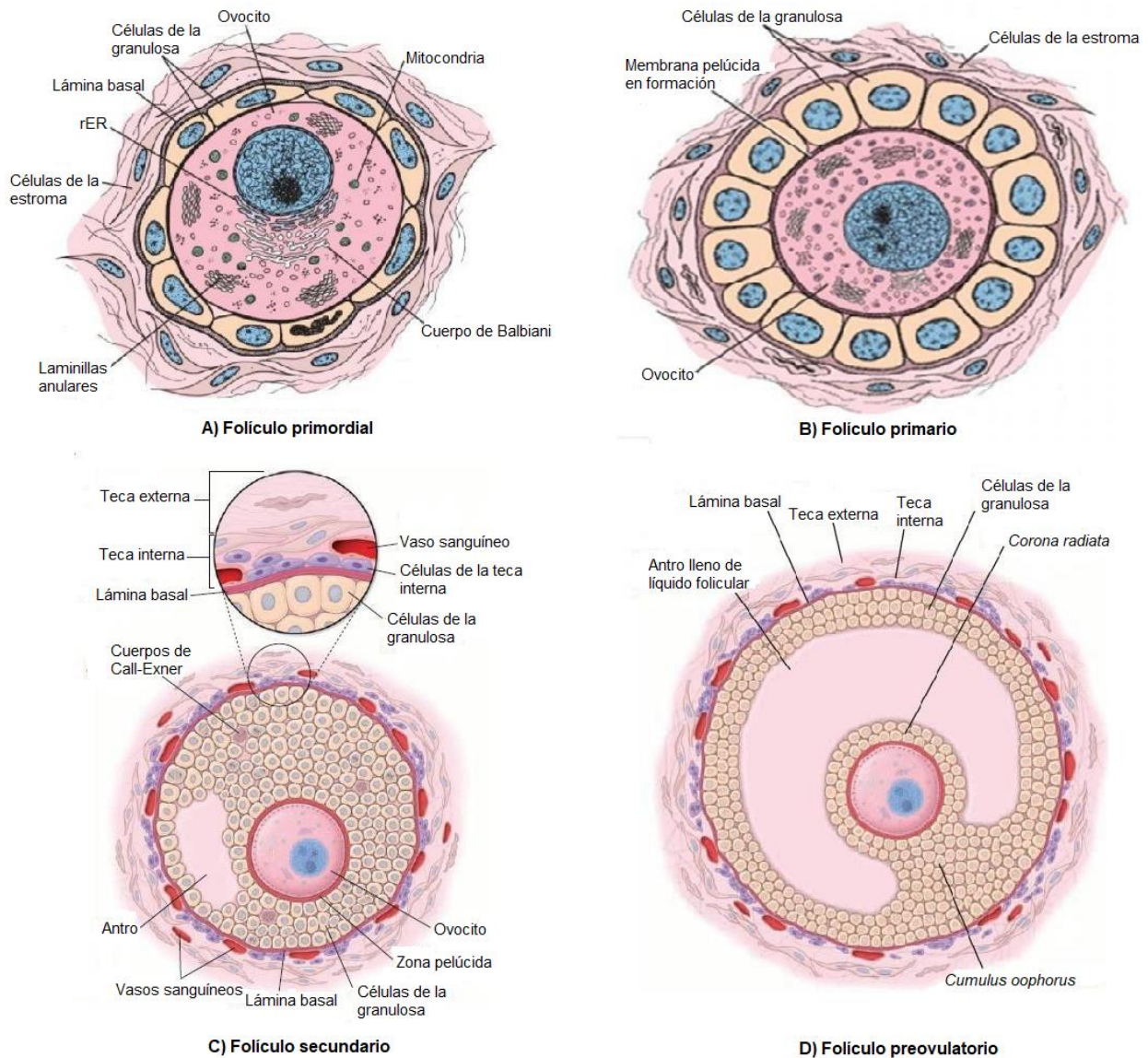
La foliculogénesis terminal se define como la fase de desarrollo estrictamente dependiente del suministro de FSH y LH, que actúan, respectivamente, sobre las

células de la granulosa y teca, en sinergia con varios factores ováricos y endocrinos, y corresponde a la selección, crecimiento y maduración final del folículo preovulatorio. En esta etapa, se vuelven cada vez más sensibles a la FSH, sintetizan cantidades crecientes de inhibina y se diferencian en células que expresan proteínas y enzimas esteroidogénicas como CYP11A1, STAR, HSD3B2 y, en particular, CYP19A1, la enzima que cataliza la síntesis de estradiol a partir de los andrógenos producidos por las células de la teca (Monniaux *et al.*, 2018).

El folículo preovulatorio se caracteriza porque el ovocito alcanza un diámetro de aproximadamente 125  $\mu\text{m}$ , mientras que todo el folículo mide 10 mm o más. Las células del *cumulus oophorus* que rodean al ovocito y permanecen con él durante la ovulación se denominan *corona radiata* cuya función es la continua transferencia de nucleótidos cíclicos al ovocito para mantener la detención meiótica, así como proporcionar sustratos energéticos como piruvato y lactato. Durante este período de maduración, las capas de la teca se vuelven más prominentes y aparecen gotas lipídicas en el citoplasma de las células de la teca interna (Figura 7-D) (Monniaux *et al.*, 2018; Ross y Pawlina, 2015).

Los folículos preovulatorios son estructuras endocrinas altamente diferenciadas cuyas secreciones hormonales participan en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario de manera estimulante o inhibitoria dependiendo la etapa del ciclo reproductivo. Durante este ciclo y la última etapa del desarrollo folicular se lleva a cabo la selección de los folículos dominantes y los folículos que no se seleccionan se degeneran mediante un proceso llamado atresia (Baumgarten y Stocco, 2018; Conti y Chang, 2016; Pangas, 2015).





**Figura 7. Esquema de las características morfológicas de los folículos en diferentes etapas de desarrollo; A) Folículo primordial rodeado por una capa simple de células foliculares aplanadas. B) Folículo primario en el que se aprecia la formación de la zona pelúcida entre el ovocito y las células de la granulosa cúbicas que rodean al ovocito en crecimiento. C) Folículo secundario en donde se observan los cuerpos de Call-Exner y la formación del antro, la teca interna y externa bien diferenciada, así como la zona pelúcida. D) Folículo preovulatorio, se aprecia la formación de la *corona radiata* a partir de las células del *cumulus oophorus* (modificada de Ross y Pawlina, 2015).**

## Atresia folicular

En el ovario, el 99% de los folículos ováricos degeneran antes de la ovulación, mientras que menos del 1% de los folículos continúan su desarrollo. Se pueden distinguir dos etapas principales de la degeneración celular en el ovario: la degeneración de las células germinales (atrición), que representa la mayor pérdida de ovocitos y ocurre principalmente en el periodo prenatal, y la degeneración del folículo (atresia), que ocurre durante la vida postnatal. La atresia folicular es un fenómeno clave mediante el cual el ovario elimina aquellos folículos que no ovulan. En la hembra adulta, la atresia asegura que sólo ovularán los folículos sanos y viables, mientras que el resto es descartado. Este proceso conduce al agotamiento de la reserva ovárica y finalmente a la senescencia reproductiva. Aunque la atresia folicular afecta todas las etapas del desarrollo folicular, la transición de folículo preantral a antral es la penúltima etapa de desarrollo en términos de dependencia a las gonadotropinas y destino del folículo (supervivencia/atresia). La exposición suficiente de los folículos antrales a la FSH es el estímulo esencial para que no entren en atresia y alcancen la etapa preovulatoria (Kaipia *et al.*, 1997; Meng *et al.*, 2018; Orizaka *et al.*, 2006).

La atresia folicular se asocia a la apoptosis de las células de la granulosa, en mayor medida; sin embargo, algunas células de la teca también sufren apoptosis. Durante la atresia, las células se vuelven picnóticas y mueren, mientras que la mayoría de las células de la teca se incorporan al tejido intersticial. La apoptosis no es el único proceso involucrado en la degeneración folicular, ya que, en el periodo neonatal, cuando los folículos primordiales y primarios degeneran masivamente, la autofagia es la forma dominante de degradación folicular. En los folículos preantrales la atresia se produce principalmente por autofagia de las células de la granulosa, mientras que en los folículos antrales la atresia se inicia por apoptosis masiva de las células de la granulosa (Palumbo y Yeh, 1994; Meng *et al.*, 2018).

Las primeras etapas de la autofagia son inducidas por la desfosforilación y activación de las quinasas y proteínas ULK, como parte de un complejo que contiene ATG5, ATG12, ATG16, quinasa de adhesión focal (FAK) y proteínas de interacción familiar 200 kD (FIP2000), entre otras proteínas. LC3 es una proteína importante involucrada en la autofagia, ya que determina el tamaño del autofagosoma y participa en el reconocimiento de la carga. La autofagia es clave en la atresia folicular, debido a

que una gran proporción de atresia folicular por autofagia de ovocitos se produce durante la pubertad (Meng *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2019).

La apoptosis de las células de la granulosa juega un papel fundamental en la atresia y puede activarse por dos vías de señalización extrínseca e intrínseca. Sin importar la vía de inicio, la apoptosis se lleva a cabo por la acción de una familia de proteasas de cisteína llamadas caspasas y ligandos como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Una citoquina expresada en las células de la granulosa y ovocitos, se transmite a través del receptor de TNF- $\alpha$  de tipo I (TNF-RI), que contiene un dominio de muerte. El tratamiento con TNF- $\alpha$  activa las enzimas esfingomielinasas en las células diana, lo que resulta en la formación de ceramida; un segundo mensajero lipídico. En las células de la granulosa, la señalización de TNF- $\alpha$  se acopla a la síntesis de ceramida. Otro receptor identificado en las células de la granulosa es FAS, presente en las primeras etapas de la atresia, y el ligando de FAS se ha detectado en el ovocito de los folículos atrésicos. La unión del ligando TNF- $\alpha$  y FAS a los receptores de la superficie celular participa en la vía extrínseca activada por la caspasa-8 (Da Silva *et al.*, 2018).

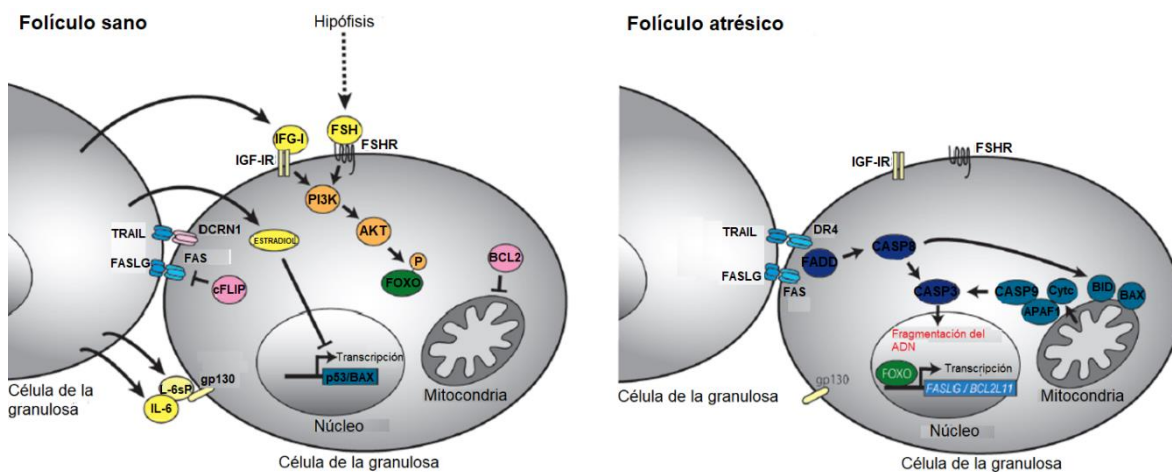
Durante el proceso de atresia de los folículos primordiales y de los folículos en crecimiento pequeños, el ovocito inmaduro reduce su tamaño y degenera. En los folículos en crecimiento grandes, la degeneración del ovocito maduro se retrasa y hay alteraciones secundarias de la pared folicular. Los folículos atrésicos exhiben células de la granulosa con una cromatina compactada contra la envoltura nuclear, fragmentación nuclear, contracción celular y fragmentación similar a los cuerpos apoptóticos (Da Silva *et al.*, 2018; Ross y Pawlina, 2015).

Las células de la granulosa son esenciales para determinar el destino de los folículos ya que las sustancias secretadas por estas células como el estradiol y el factor de crecimiento tipo insulina (IGF-I), interleucina 1- $\beta$ , son fundamentales para el crecimiento y desarrollo folicular. Las gonadotropinas junto con los factores producidos en el propio ovario son los factores de supervivencia de las células de la granulosa y rescatan a los folículos de la atresia. En un folículo sano, la FSH junto con los factores de supervivencia como el estradiol y la IGF rescatan a las células de la granulosa de la apoptosis mediante la activación de la vía de transducción de la señal fosfatidilinositol



3-quinasa (PI3K-ATK), la unión de FSH a su receptor conduce a la fosforilación de la subfamilia BOX o FOXO, que influye en la supervivencia de las células de la granulosa, mientras que, en un folículo atrésico no hay respuesta a FSH y a IGF, por lo tanto no hay estradiol suficiente y como consecuencia se activan las señales apoptóticas (Figura 8) (Meng *et al.*, 2018).

Tanto la autofagia en los folículos preantrales como la apoptosis en los folículos antrales pueden ser provocadas por una pérdida de la capacidad antioxidante mitocondrial en las células de la granulosa. El aumento de estrés oxidativo es uno de los principales factores que inducen apoptosis de los ovocitos. Esta vía es mediada por los ligandos preapoptóticos FAS y TNF- $\alpha$  que se unen a sus receptores y activan las señales de muerte en la superficie celular (Kaipia *et al.*, 1997; Tiwari *et al.*, 2015).



**Figura 8.** Esquema de un folículo sano activando la ruta anti apoptótica PI3K-ATK, la cual es eficiente debido a que FOXO se mantiene en el citoplasma, mientras que en el folículo atrésico FOXO es desfosforilado y llega dentro del núcleo activando señales apoptóticas (modificada de Matsuda *et al.*, 2012).

## Ovulación

La ovulación consiste en la liberación de un ovocito capaz de ser fecundado. Es un proceso de extrusión regulado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario y por conexiones intraováricas que operan entre las células de la teca, las células de la granulosa y el

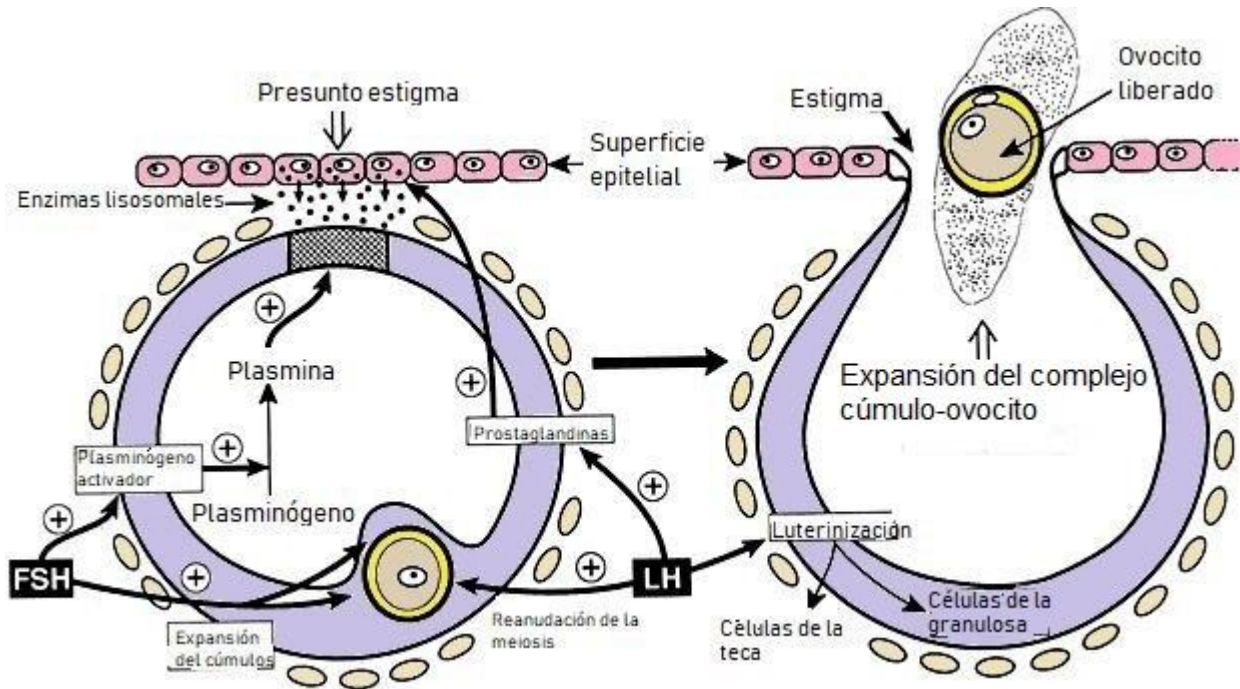
ovocito. En la última etapa del crecimiento y diferenciación folicular, la secreción de estradiol y progesterona inician una oleada de GnRH, seguida de una oleada de la LH y FSH que inician los eventos que culminan con la ovulación; el proceso comienza cuando las gonadotropinas actúan en los folículos maduros. Secuencialmente se llevan a cabo cinco eventos que finalmente permiten que la ovulación sea exitosa: la expansión del complejo cúmulo-ovocito (COC), la ruptura de uniones GAP, la reanudación de la meiosis en el ovocito, la liberación del complejo COC de la superficie del ovario y la luteinización (Brann y Mahesh., 2005; Melmed *et al.*, 2011; Richards y Liu, 2015).

En el folículo preovulatorio, las células de la teca, de la granulosa y del *cumulus oophorus* responden al aumento de la secreción de la LH para desencadenar eventos críticos para la ruptura y remodelación del folículo y diferenciación de las células de la granulosa y teca productoras de progesterona. La oleada de LH induce a las células del cúmulo a secretar una matriz extracelular rica en hialurano que induce el aflojamiento de los contactos entre las células de la granulosa, las células del *cumulus oophorus* y el ovocito, proceso conocido como expansión del COC. La regulación a la baja y la alteración de las proteínas de unión GAP facilitan la reanudación de la meiosis en los ovocitos al regular los niveles de cGMP y cAMP (Melmed *et al.*, 2011; Richards y Liu, 2015).

La LH también induce la expresión de receptores a prostaglandinas (PGR) en las células de la granulosa, lo que facilita la expresión de genes que codifican a enzimas proteolíticas como la plasmina. Ésta estimula la síntesis de colagenasa-activa cuya función es descomponer las fibras de colágeno presente en las células del tejido circundante y el epitelio de la superficie ovárica, lo que culmina con la ruptura de la pared folicular permitiendo la liberación del complejo COC (Figura 9) (Richards y Liu, 2015).

En la superficie ovárica, los eventos morfológicos asociados con la ovulación implican la disolución de las fibras de colágeno en la capa de células de la teca y el adelgazamiento del tejido estromal circundante. La red vascular en las células de la teca de los folículos ovulantes se vuelve hiperémica y dilatada, lo que indica las actividades de tipo inflamatorio que están ocurriendo en las células somáticas. Las

prostaglandinas, las citocinas y las quimiocinas que se liberan, alteran las funciones vasculares y reclutan células inmunitarias. La liberación exitosa del ovocito ocurre antes de la luteinización; de lo contrario, los ovocitos quedan atrapados con el cuerpo lúteo (Richards y Liu, 2015).

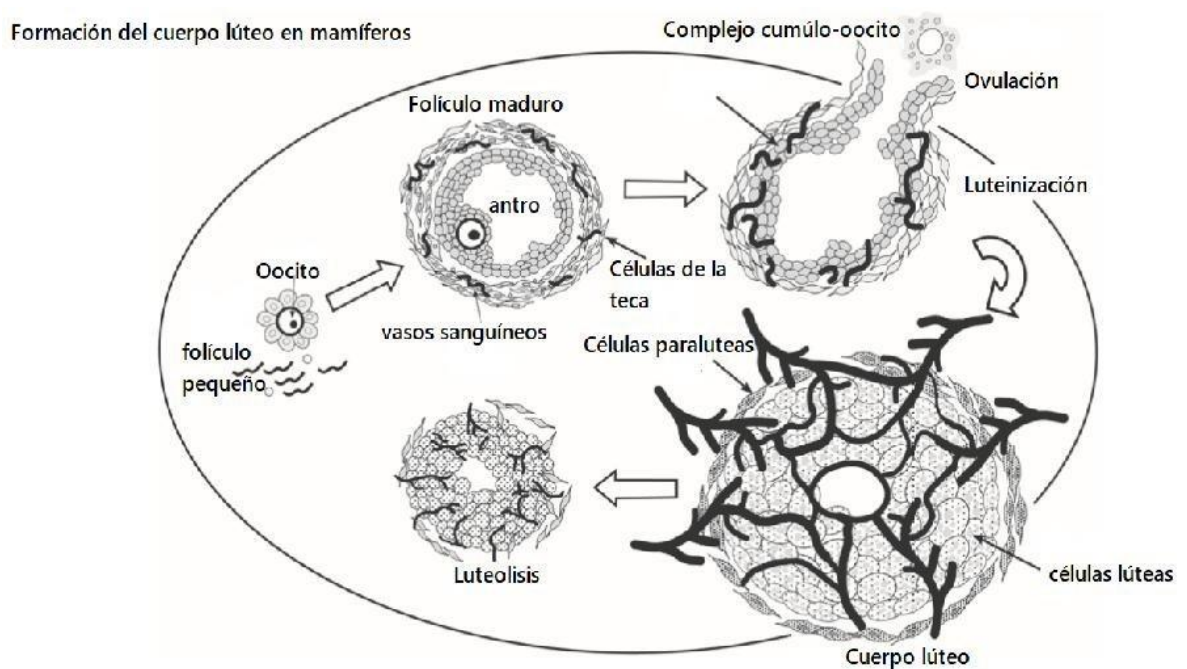


**Figura 9.** Diagrama de los eventos por los cuales la oleada preovulatoria de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH) estimulan la ovulación (modificada de Erickson, 1995).

## Cuerpo lúteo

Los cuerpos lúteos se forman después de la ovulación a partir de las células foliculares restantes. La luteinización implica la transición de un folículo preovulatorio a un cuerpo lúteo muy vascularizado que secreta progesterona. El desarrollo del cuerpo lúteo involucra mecanismos que son similares a la cicatrización de heridas y la formación de tumores, durante el cual se produce proliferación, hipertrofia, diferenciación de las células esteroideogénicas y angiogénesis en las células de la granulosa y de la teca. Las células de la granulosa se hipertrofian y forman células grandes lúteas (granulosaluteínas), mientras que las células de la teca forman a las células luteínicas (Figura 10) (Smith *et al.*, 1994).

Las granulosa luteínas expresan factores que estimulan el desarrollo de vasos sanguíneos durante la angiogénesis, lo que proporciona un mecanismo para transferir las altas cantidades de progesterona producida por las células lúteas a la circulación sistémica. También se expresan genes (*Star*, *CYP11a1* y *3 $\beta$ -HSD*) que son necesarios para la síntesis de progesterona. La formación del cuerpo lúteo depende de la LH ya que se ha observado que su ausencia resulta en la disminución en la secreción de progesterona y estrógenos (Brann y Mahesh., 2005; Smith *et al.*, 1994; Stouffer y Hennebold, 2015).



**Figura 10. Formación del cuerpo lúteo en mamíferos, donde se aprecia la angiogénesis y la proliferación de las células lúteas (modificada de Stouffer y Hennebold, 2015).**

### Síntesis de hormonas esteroides

La biosíntesis de hormonas esteroides está modulada por la disponibilidad de colesterol y la expresión de enzimas esteroidogénicas específicas. Los esteroides ováricos se producen en los folículos, el cuerpo lúteo y las células intersticiales del estroma, ya que tienen el complejo enzimático necesario para su síntesis a partir del colesterol. La principal fuente de colesterol utilizado por el ovario deriva de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), sin embargo, también se puede obtener el que es sintetizado a partir

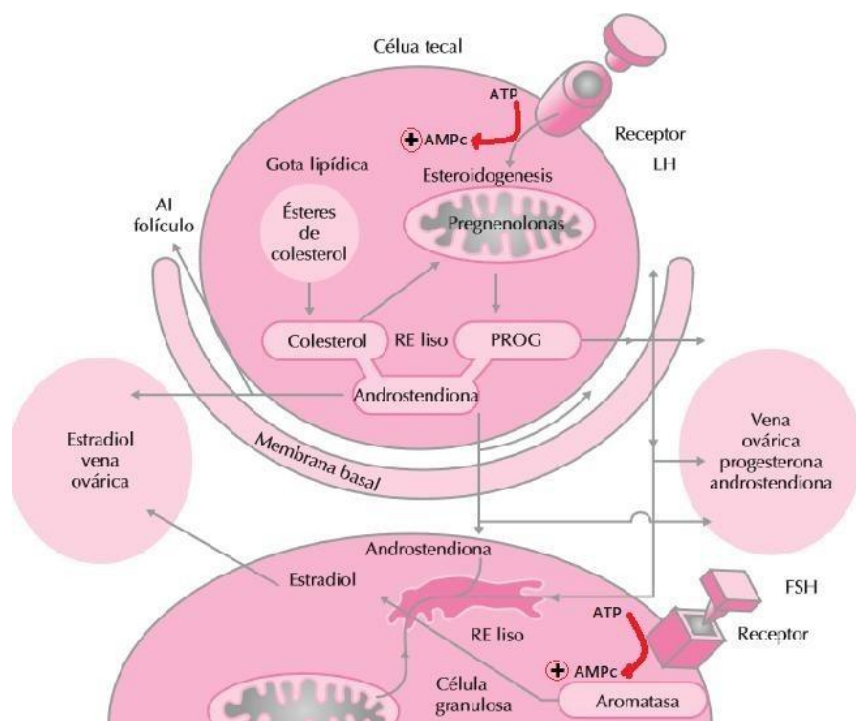
de acetilcoenzima A o el que se libera de los ésteres almacenados en gotas lipídicas (Smith *et al.*, 1994; Tresguerres y Castillo, 2005).

Las células de la granulosa y las de la teca interna trabajan en conjunto para sintetizar andrógenos que serán convertidos en estradiol. La LH se une a sus receptores de membrana en las células de la teca interna, lo que estimula a la enzima adenilato ciclasa, y se lleva a cabo la conversión de adenosin trifosfato (ATP) intracelular en AMPc. Éste actúa como el principal mediador intracelular en la biosíntesis de esteroides. El AMPc en la teca interna activa a las enzimas  $17\alpha$ -hidroxilasa y CYP17a1 para producir andrógenos (androstenediona y testosterona). Estos atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa, donde el aumento de AMPc, estimulado por la unión de FSH a sus receptores, activa al complejo aromatasa (CYP19A1) para la producción de estradiol a partir de la androstenediona. Al proceso de conversión de andrógenos a estrógenos, que se lleva a cabo entre ambas células, se le conoce como “La teoría de la doble células y la doble hormona” (Figura 11) (Baumgarten y Stocco, 2018; Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001).

En el cuerpo lúteo, la biosíntesis de esteroides sigue la vía  $\Delta 4$ , en la que la conversión de pregnenolona a progesterona se lleva a cabo por medio de la enzima  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa ( $3\beta$ -HSD), mientras que en los folículos es preferente la vía  $\Delta 5$  debido a que las células de la teca metabolizan con mayor eficiencia a la 17- hidroxipregnenolona (Tresguerres y Castillo, 2005).

Los esteroides ováricos ejercen sus funciones en órganos blanco mediante su unión a receptores específicos intracelulares y de membrana; debido a su naturaleza lipídica son capaces de atravesar la membrana plasmática y difundirse dentro de la célula (Tresguerres y Castillo, 2005).





**Figura 11. Teoría de la doble célula y la doble hormona para la síntesis de estrógenos, (+ aumento de AMPc y de la enzima aromatasa (modificada de Yen *et al.*, 2001).**

La progesterona disminuye la amplitud y la frecuencia de las contracciones uterinas porque reduce su sensibilidad al estímulo contráctil de la oxitocina. Por otro lado, estimula el desarrollo final de lobulillos y alvéolos en las glándulas mamarias durante el embarazo y estimula la liberación de la GnRH en el hipotálamo (Tresguerres y Castillo, 2005; Yen *et al.*, 2001).

En el ovario, los estrógenos actúan en las células de la granulosa donde promueven la división celular e inhiben la atresia. También tienen un papel clave en la inducción de la formación del antro (Yen *et al.*, 2001).

## Hormonas peptídicas

El ovario también sintetiza hormonas de origen peptídico como son la inhibina y la activina. Existen dos clases de inhibina: la A y la B; ambas tienen la misma subunidad  $\alpha$ , pero difieren en la  $\beta$ . La inhibina A participa en la producción de andrógenos en las células tecales y puede también ser un potente inhibidor de la proliferación celular ovárica (Tresguerres y Castillo, 2005).

La activina estimula la secreción de FSH en la adenohipófisis. La concentración de inhibina es alta durante las primeras etapas del desarrollo folicular, sin embargo, disminuye mientras avanza la foliculogénesis. La secreción de hormonas esteroides por los tejidos ováricos es episódica, estrictamente regulada y crucial para la coordinación de la ciclicidad reproductiva (Smith *et al.*, 1993; Tresguerres y Castillo, 2005).

## Ciclo estral

La rata es un animal que ovula de manera espontánea y posteriormente atraviesa por una breve fase lútea. La progresión del ciclo estral involucra la recurrencia de tipos celulares distintivos, el fenotipo celular se correlaciona con el estado de la mucosa vaginal, el útero y los ovarios; de la misma manera, se asocia con cambios en las concentraciones de hormonas esteroides y hormonas gonadotrópicas. Por otro lado, el ciclo estral de cuatro días presenta cuatro fases: estro, diestro-1, diestro-2 y proestro. Cada una de estas fases tiene una duración y características citológicas que hacen evidente el estadio de referencia. De igual manera, la secreción de hormonas esteroides y gonadotropinas aumentan o disminuyen en función de la hora y de la etapa del ciclo estral (Figura 12) (Levine, 2015; Sepúlveda *et al.*, 2011).

La etapa de estro tiene una duración de 25 a 27 horas. Es el periodo en el que la hembra está en celo, ocurre la ovulación y la formación del cuerpo lúteo. El epitelio vaginal se caracteriza por la presencia de células epiteliales cornificadas. Durante esta etapa, la secreción de estradiol es baja, disminuye en relación con el aumento de la secreción de la LH y FSH (Caravaca *et al.*, 2005; Sabogal *et al.*, 2013; Levine, 2015).

En el diestro-1 se observa el crecimiento del cuerpo lúteo, mientras que en el diestro-2 se da una fase de inactividad sexual acompañada de la madurez del cuerpo lúteo hasta su regresión. En ambas etapas se distingue una gran cantidad de leucocitos en el epitelio vaginal que pueden estar acompañados de células nucleadas o cornificadas. Tienen una duración aproximada de 8 y 57 horas, respectivamente. La secreción de estradiol aumenta significativamente desde el diestro-1 y hasta la mañana del diestro-2 (Figura 12 B). En la madrugada del diestro-2 hay aumento en la

concentración de progesterona cuya secreción proviene del cuerpo lúteo (Caravaca *et al.*, 2005; Sabogal *et al.*, 2013; Levine, 2015).

El proestro tiene una duración aproximada de 14 horas. Se observa el crecimiento y la maduración de uno o varios folículos preovulatorios. En el epitelio vaginal se observan células epiteliales nucleadas. A las 12:00 h del proestro, el estradiol alcanza su máxima concentración; posterior a la cual disminuye. Simultáneamente se registra un segundo aumento en la secreción de progesterona que proviene de las células de la granulosa (Figura 12 A). La concentración basal de LH y FSH comienza a aumentar rápidamente a las 13:00 h del proestro y alcanza su punto máximo a las 17:00 h (Figura 12 C y D, respectivamente) (Levine, 2015).

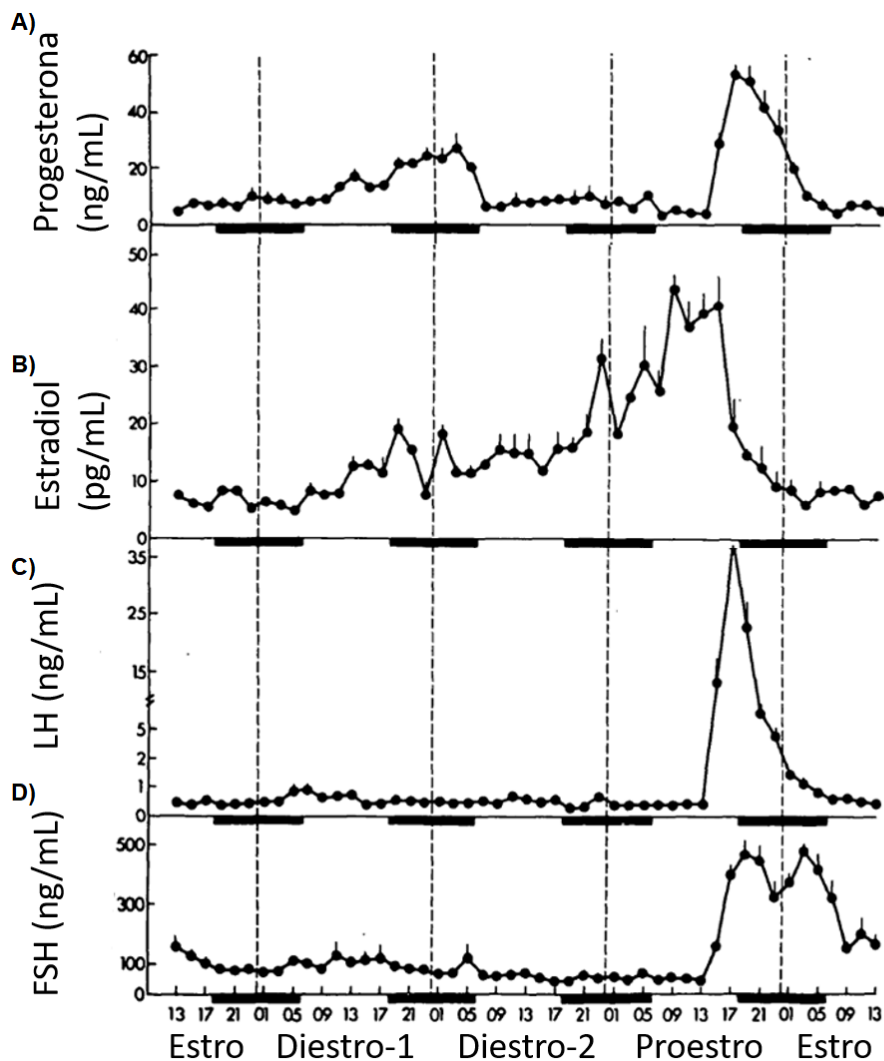


Figura 12. Concentración de progesterona (A), Estradiol (B), LH (C) y FSH (D) en suero durante las etapas del ciclo estral de la rata (modificada de Smith, 1975).



El aumento de LH induce la ruptura folicular y la ovulación. A partir de entonces, la concentración en sangre comienza a disminuir hasta una concentración basal en la mañana del estro. Durante la madrugada del estro comienza un aumento secundario de FSH y alcanza su punto máximo poco después; por la tarde del estro llega a su concentración basal. El papel biológico del segundo aumento en la secreción de FSH es el de reclutar a los folículos ováricos que pueden ovular en el próximo ciclo (Levine, 2015).

La prolactina es un péptido de cadena única secretado por las células lactotropas localizadas en la adenohipófisis. Esta hormona regula el ciclo ovárico ya que participa en el mantenimiento de los cuerpos lúteos. Su concentración es basal desde la noche del estro hasta la madrugada del proestro y durante la tarde de ese día se observa un aumento su secreción; similar a la de la LH (Levine, 2015).

La regulación de las funciones de los ovarios no solo se lleva a cabo por la información que proviene del hipotálamo, la hipófisis y los mismos ovarios, ya que se tienen evidencias de que las hormonas secretadas por las glándulas adrenales también regulan de manera estimulante dichas funciones.

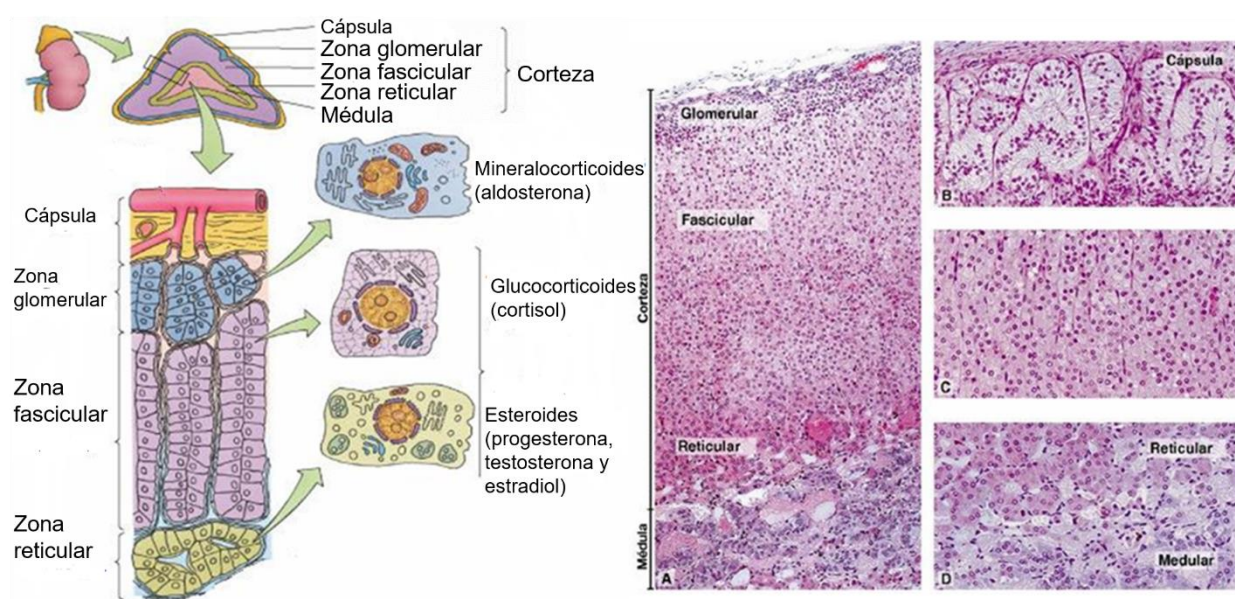
## Glándulas adrenales

Las glándulas adrenales son dos órganos localizados en el polo superior de los riñones. En ellas se reconocen dos tejidos endocrinos con funciones y orígenes embriológicos diferentes: la médula y la corteza, recubiertas por una cápsula de tejido conectivo vascularizado que se extiende hacia el interior, lo que forma conductos por los que pasan los vasos sanguíneos y los nervios (Xing, *et al.*, 2015).

La médula adrenal se forma a partir de la cresta neural. Es una estructura neuroendocrina constituida principalmente por un tejido de células poliédricas que se distribuyen en cordones rodeados por redes capilares que las nutren y a la vez recogen sus productos de secreción. Sus células se denominan cromafines y son responsables de la síntesis, almacenamiento y secreción de las catecolaminas. A pesar de que las células cromafines constituyen el tipo células más importante desde el punto de vista estructural y funcional, en la médula también existen células sustentaculares,

endoteliales y fibroblastos, además de las terminaciones nerviosas espláncicas. Funcionalmente, la médula se integra dentro del sistema nervioso autónomo ya que puede considerarse como un ganglio simpático modificado (Tischler, 2002; Xing, *et al.*, 2015).

La corteza adrenal se forma a partir del mesodermo celómico y de la cresta genital, y está dividida estructural y funcionalmente en tres zonas: 1) la glomerular es la zona más externa y comprende el 15% de la corteza; su función es sintetizar mineralocorticoides, 2) la zona fascicular es la más amplia, ocupa el 75%, y en ella se sintetizan los glucocorticoides, mientras que 3) la zona reticular es la más interna y comprende el 10%; en esta zona se sintetizan los esteroides sexuales. Las células de la zona reticular forman un tejido lazo en forma de malla que limita con la médula (Figura 13) (Xing, *et al.*, 2015).



**Figura 13.** Esquema que muestra la división estructural de la glándula suprarrenal (modificada de <http://morfoudec.blogspot.com>; consultada el 22 de octubre del 2018).

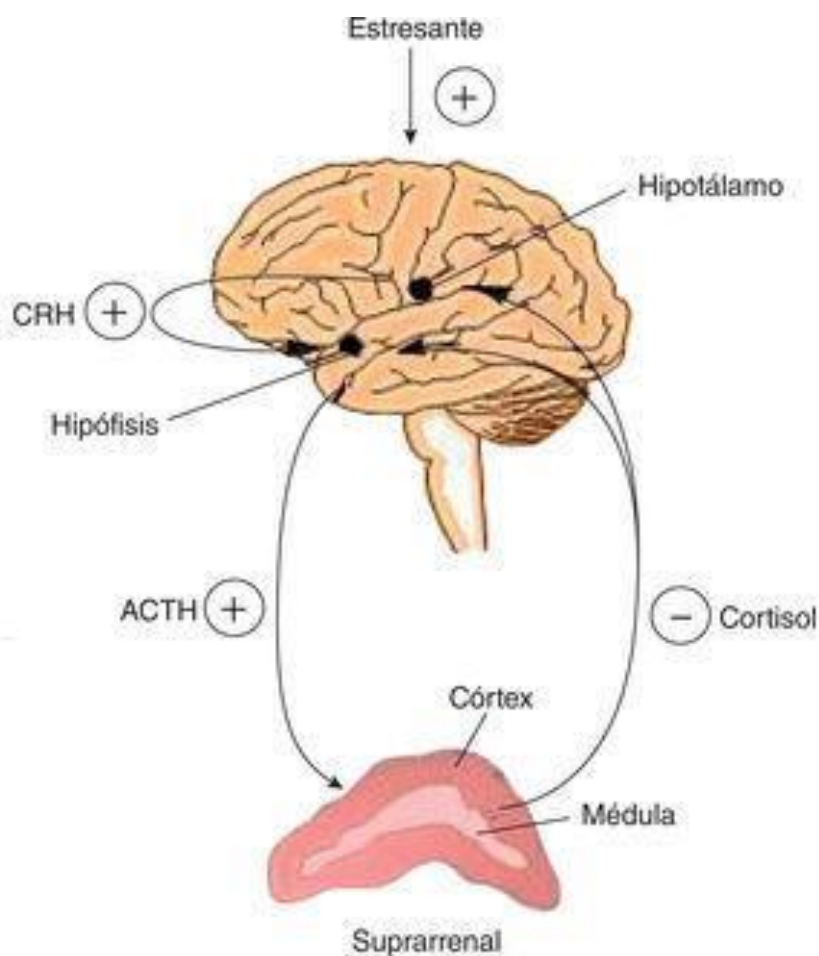
Los mineralocorticoides tienen como función principal regular el balance hidrosalino del organismo. Las hormonas más importantes son la aldosterona y la 11-deoxicorticosterona (DOC); ambas se transportan libremente en el plasma sanguíneo

y pueden estar unidas débilmente a la albúmina. La aldosterona es el mineralocorticoide primario sintetizado bajo el control de la angiotensina II y el potasio extracelular. La aldosterona funciona como el ligando para el receptor nuclear de mineralocorticoides (MR) en tejidos diana que incluyen al colon, las glándulas salivales, el túbulo contorneado distal y los conductos colectores del riñón; donde causa una mayor reabsorción de sodio y una mayor excreción de potasio (Melmed *et al.*, 2011; Xing, *et al.*, 2015).

Los glucocorticoides (cortisol en el humano y corticosterona en la rata) se sintetizan en la zona fascicular. Tienen efecto sobre el metabolismo de la glucosa ya que estimulan la gluconeogénesis, inhiben la utilización de glucosa en la sangre, promueven la lipólisis y la liberación de ácidos grasos en la sangre. El cortisol tiene una vida media de aproximadamente 90 minutos y circula en su mayoría unido a una proteína transportadora llamada globulina transportadora de cortisol (CBG), mientras que la vida media de la corticosterona solo es de 25 minutos. Los glucocorticoides facilitan la liberación de reservas de glucosa para su uso durante el estrés (Fox, 2008; Miller y Auchus, 2011; Ruetti *et al.*, 2008; Xing, *et al.*, 2015).

La progesterona se sintetiza en todas las zonas de la corteza, pero la 17 OH-progesterona solo se sintetiza en la capa fascicular y en la reticular; como principal precursor de glucocorticoides y andrógenos. La función de la progesterona adrenal en los ovarios depende de la coordinación fisiológica con los estrógenos (Miller y Auchus, 2011).

La síntesis de hormonas secretadas por las adrenales es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Figura 14), en el que la hormona liberadora de la corticotropina (CRH) hipotalámica estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en las células corticotropas localizadas en la adenohipófisis. Este eje es una parte esencial del sistema neuroendocrino ya que controla reacciones al estrés y regula varios procesos del organismo; como la digestión, el sistema inmune, las emociones, la conducta sexual y el metabolismo energético (Miller y Auchus, 2011).

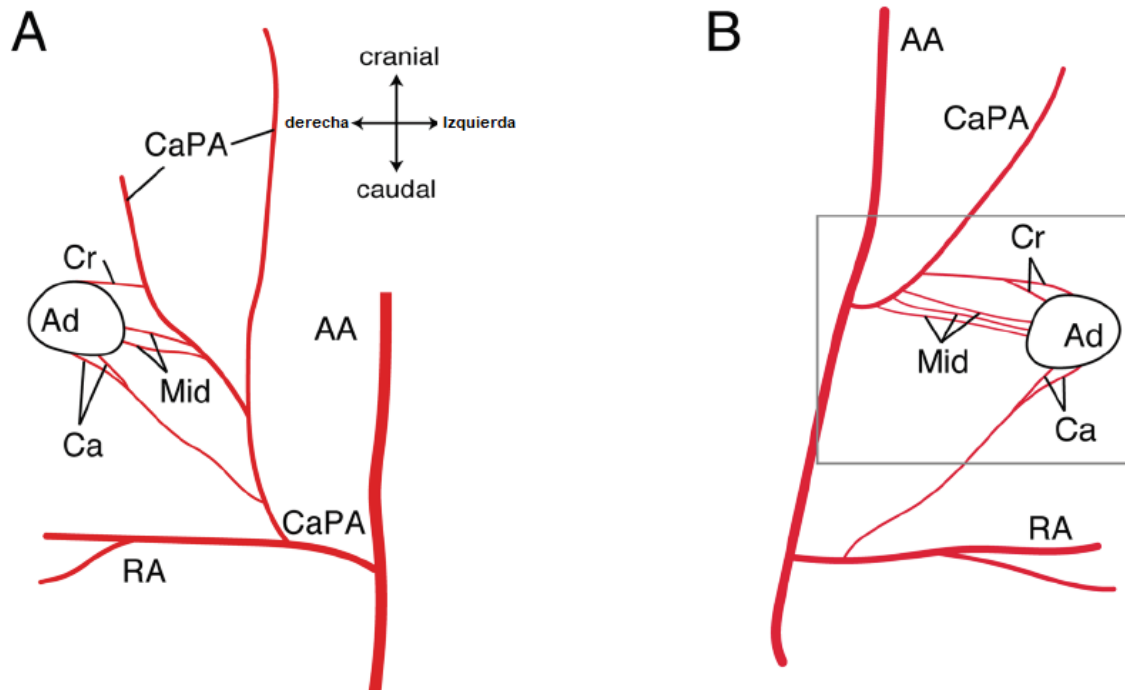


**Figura 14. Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. La hormona liberadora de corticotropina (CRH) regula la secreción de la hormona adrenocorticotrófica (ACTH), la cual actúa en las glándulas adrenales estimulando la síntesis de hormonas que pueden regular las señales del hipotálamo o directamente en la hipófisis (modificada de Uribe-Arcila, 2014).**

### **Irrigación e inervación de la glándula adrenal**

Tres arterias irrigan a cada glándula adrenal: la arteria suprarrenal superior provista por la arteria frénica inferior, la arteria suprarrenal media es abastecida por la aorta abdominal y la arteria suprarrenal inferior por la arteria renal. La sangre arterial llega primero a la superficie externa de la corteza suprarrenal donde las arterias corticales se ramifican para formar el plexo capilar subcapsular. La mayor parte del plexo subcapsular se convierte en capilares fenestrados que siguen las estructuras en forma de cordón de la zona fascicular hacia abajo en la zona reticular antes de descargarse en las venas medulares; que luego forman las venas suprarrenales (Xing, *et al.*, 2015).

Algunas de las arteriolas continúan a través de la corteza y proporcionan sangre directamente a la médula. La vena suprarrenal derecha drena hacia la vena cava inferior (Figura 15 A) y la vena suprarrenal izquierda drena hacia la vena renal izquierda o la vena frénica inferior izquierda (Figura 15 B) (Xing, *et al.*, 2015).



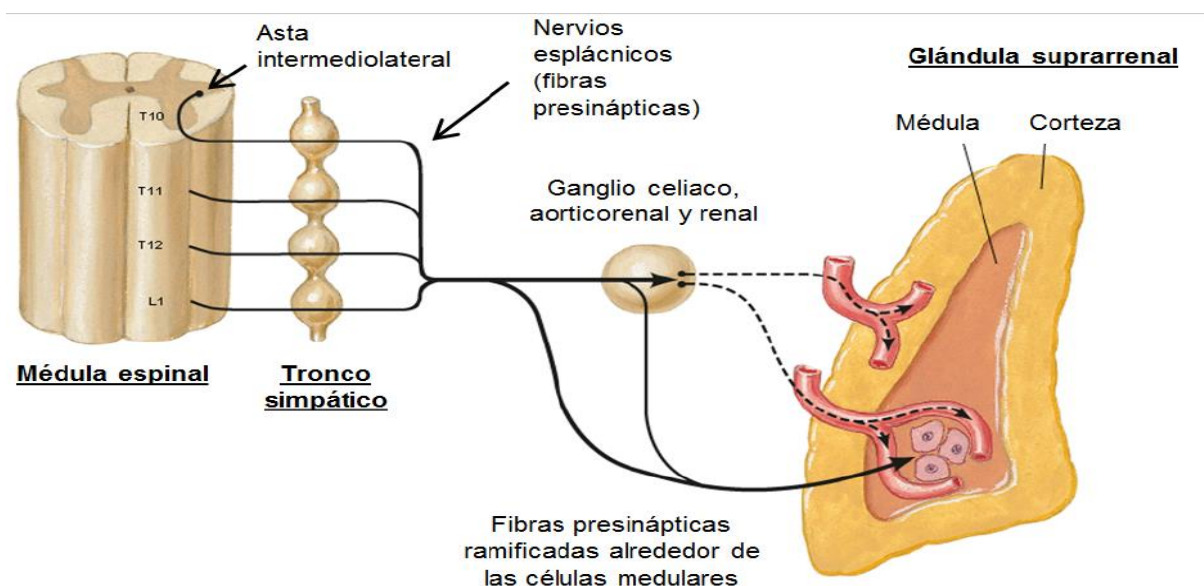
**Figura 15. Dibujos esquemáticos del patrón de ramificación de la arteria suprarrenal derecha (A) e izquierda (B). AA: aorta abdominal, Ad: glándula suprarrenal, Ca: arteria suprarrenal caudal, CaPA: arteria caudal frénica, Cr: arteria suprarrenal craneal, Mid: Arteria suprarrenal media y RA: arteria renal (modificada de Kigata, 2017).**

La glándula suprarrenal también está ricamente inervada con la mayoría de los plexos nerviosos ubicados en la región capsular. Sus fibras se originan principalmente en el nervio esplácnico mayor y los plexos abdominales asociados del sistema nervioso autónomo simpático, junto con algunas contribuciones parasimpáticas de los nervios frénico y vagal. Los haces nerviosos penetran en la corteza, principalmente en asociación con los vasos sanguíneos. Similar a la estructura de la vasculatura, la mayoría de estos nervios posganglionares terminan en la médula (Xing *et al.*, 2015).

Después de penetrar la cápsula, los nervios se ramifican para formar una extensa red subcapsular. A partir de aquí, las fibras pasan a la corteza y a la médula



donde forman redes adicionales que rodean las células de estas regiones. La innervación intrínseca surge de las células ganglionares escasamente distribuidas por la glándula en las regiones subcapsular, cortical y medular. Los estudios clásicos de colinesterasa y degeneración nerviosa muestran que la mayoría de las fibras que se proyectan hacia la médula son fibras simpáticas preganglionares colinérgicas que surgen, predominantemente, de la médula espinal en los niveles T7 a T9 (segmento medular T10-T12)(Figura 16) (Parker *et al.*, 1993).



**Figura 16. Innervación simpática de la médula adrenal. El soma de las neuronas simpáticas presinápticas reside en la asta intermediolateral de la región torácica inferior y lumbar superior de la médula espinal (modificada de <http://mural.uv.es/>; consultada el 29 de marzo del 2020).**

### Participación de las adrenales en las funciones ováricas

Flores *et al.* (2008), mostraron que las glándulas adrenales son la principal fuente de progesterona durante el ciclo estral y que la pérdida de señales adrenales afecta las concentraciones de testosterona y estradiol en función de la etapa del ciclo estral en estudio. El aumento de la progesterona en el plasma periférico antes de las 15:00 h en la etapa del proestro se debe al aumento de la secreción adrenal, y después de esta hora se debe, principalmente a la secreción ovárica. La progesterona que proviene de las glándulas adrenales induce la oleada de la LH preovulatoria. No obstante, también

se ha mostrado que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal también ejerce un efecto inhibitorio sobre el sistema reproductivo. El estrés activa el eje, lo cual estimula el aumento de la secreción de la CRH. La alta concentración de esta neurohormona inhibe la secreción de la GnRH, mientras que los glucocorticoides inhiben la secreción de LH, estrógenos y progesterona ovárica (Feder *et al.*, 1971; Kalantaridou *et al.*, 2004).

Peppler y Jacobs en 1976, mostraron que los animales con Adx-B en la etapa de diestro-1 presentaron menor número de ovocitos liberados cuando fueron sacrificados un ciclo o 30 días después. La Adx-B en el grupo sacrificado en el primer proestro posterior a la cirugía no afectó el número de folículos mayores a 295  $\mu\text{m}$ , pero disminuyó el número de folículos mayores a 448  $\mu\text{m}$  de diámetro con respecto al del grupo intacto. Los autores concluyeron que la información que proviene de las adrenales participa de manera estimulante sobre la ovulación y son necesarias para el desarrollo folicular normal.

Gutiérrez *et al.* (2015), mostraron que la información que proviene de las glándulas adrenales regula el proceso ovulatorio de manera asimétrica y está en función de la etapa del ciclo estral, ya que las ratas con Adx-I a las 15:00 h del diestro-2 presentaron un menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho sin afectar el porcentaje de animales ovulantes (PAO), mientras que cuando la cirugía se realizó en la etapa de proestro se presentó disminución del PAO sólo en el ovario ipsilateral.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La extirpación de una o ambas glándulas resulta en la disminución del número de ovocitos liberados, de los folículos con diámetro  $\geq 448 \mu\text{m}$  y de la tasa de animales ovulantes (Peppler y Jacobs 1976; Gutiérrez *et al.*, 2015). Estos resultados muestran que la información que proviene de las adrenales participa de manera estimulante en los mecanismos que regulan la ovulación, y que dicha participación varía en función de la etapa de ciclo estral y la hora. Sin embargo, se desconoce a que nivel del eje hipotálamo-hipófisis ovario afecta la señal proveniente de cada adrenal a las 15:00 h de cada etapa del ciclo estral.

## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

El remplazo de la GnRH, de las gonadotropinas o estradiol, ¿puede restaurar la ovulación en ratas con adrenalectomía unilateral realizada a las 15:00 h?

## HIPÓTESIS

Dado que la información que proviene de las adrenales regula de manera estimulante las funciones ováricas dependiendo de la etapa y la hora, el realizar una adrenalectomía unilateral a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral afectará la secreción de la GnRH, las gonadotropinas o el estradiol. Como consecuencia, el proceso ovulatorio resultará alterado, por lo que el remplazo hormonal de la señal hipotalámica, hipofisaria y ovárica restaurará la ovulación.

## OBJETIVO GENERAL

Analizar el efecto de la adrenalectomía unilateral realizada a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación, y evaluar si las señales que provienen de las adrenales regulan el proceso ovulatorio a nivel hipotálamo, hipófisis y ovario realizando un remplazo hormonal en las etapas afectadas.

### Objetivos particulares

Analizar el efecto de la operación simulada a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación y la masa de los ovarios, el útero y las glándulas adrenales.

Analizar la participación de cada glándula adrenal a las 15:00 h de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación, la masa de los ovarios, el útero y la glándula adrenal *in situ*.

Analizar el efecto del remplazo de la señal hipotalámica, hipofisaria y ovárica en ratas con adrenalectomía unilateral en las que se presente disminución de la ovulación.



## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso a agua y alimento (Rodent Diet 5001, LabDiet, EUA.). El ciclo estral de los animales se monitoreó mediante la toma diaria del frotis del epitelio vaginal (a las 8:00 h), y sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días de duración: estro, diestro-1, diestro-2 y proestro.

Durante el desarrollo de los experimentos se siguió lo establecido por la Norma Oficial Mexicana de Protección Animal para el Uso de Animales de Experimentación (NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio). Las diferentes cirugías se llevaron a cabo entre las 14:50 y 15:10 h en cada etapa del ciclo estral de manera aséptica con material estéril. Antes de comenzar cualquiera de las cirugías se inyectó un antibiótico (enrofloxacin 5 mg/kg vía subcutánea) en la parte exterior del muslo derecho, y un analgésico y antiinflamatorio no esteroideo (meloxicam 0.5 mg/kg vía subcutánea) en la parte exterior del muslo izquierdo. El número de ratas para cada grupo experimental fue de siete.

### Grupos experimentales

**Operación simulada izquierda o derecha (OS-I/OS-D):** Con el fin de conocer si el corte de piel, músculo y peritoneo, y el movimiento de órganos provocados por el procedimiento previo a una adrenalectomía unilateral tienen un efecto sobre la ovulación, se realizó la OS-I o OS-D. Para ello, los animales fueron anestesiados con isoflurano (PISA, México) en dos etapas; inducción y mantenimiento. Para la etapa de inducción, las ratas fueron colocadas en una cámara conectada a un vaporizador (VetFlo 1205S-R, EUA.), con isoflurano al 3% y un flujo de oxígeno de 900 mL/min durante 3 min. Para el mantenimiento, a la rata se le colocó una mascarilla conectada al vaporizador con isoflurano al 2.5% y un flujo de oxígeno de 600 mL/min durante el tiempo que duró la cirugía.

Mientras las ratas se encontraban en la etapa de mantenimiento, se realizó una laparotomía ventral para lo cual se rasuró el área ventral (aproximadamente 1 cm por debajo del esternón) con jabón quirúrgico y la zona se limpió con yodo jabonoso, yodo neutro y etanol al 70%, se hizo un corte de piel, músculo y peritoneo, a continuación se realizó la simulación de la adrenalectomía izquierda moviendo el estómago, el hígado y el bazo o derecha moviendo solo el hígado, y sin tocar la adrenal ni los nervios o arterias que irrigan a la glándula, se vertió 0.1 mL de solución salina a la cavidad abdominal para evitar que los órganos se resecaran (Mashhadi *et al.*, 2008) enseguida se procedió a suturar la herida.

**Grupo con adrenalectomía izquierda o derecha (Adx-I-/Adx-D):** Para analizar la participación de la información que proviene de la adrenal izquierda o derecha sobre la ovulación se realizó una laparotomía ventral y posteriormente se movió el estómago, el hígado y el bazo con el fin de localizar y extirpar la glándula adrenal izquierda, y solo el hígado para localizar la adrenal derecha. Después se vertió 0.1 mL de solución salina dentro de la cavidad abdominal y se procedió a suturar la herida.

Una vez que se realizó la cirugía, los animales fueron colocados en un colchón térmico por aproximadamente 5 minutos en lo que se recuperaron de la anestesia y posteriormente se llevaron nuevamente al bioterio.

## Reemplazo hormonal

En los animales con adrenalectomía unilateral en los que se presentó una disminución del PAO o del número de ovocitos liberados se realizó un reemplazo hormonal de la señal hipotalámica, hipofisiaria u ovárica.

**Grupo con Adx-I + LHRH:** Con el fin de simular la secreción preovulatoria de la GnRH, un grupo de animales fue sometido a una Adx-I en diestro 2 y al día siguiente (proestro esperado) se les inyectó 3.7 µg/kg m.c. de LHRH (Sigma, Chemical, St. Louis, USA) a las 14:00 h por vía subcutánea (s. c.) (Humprey *et al.*, 1973).

**Grupo con Adx-I + hCG:** Con el fin de simular la secreción preovulatoria de la LH, un grupo de animales fue sometido a una Adx-I en diestro 2 y al día siguiente (proestro esperado) se les inyectó 5 UI de gonadotropina coriónica humana (hCG) (Sigma, Chemical, St. Louis, USA) s.c. a las 14:00 h (Tain y Goh, 2000).

**Grupo con Adx-I + BE:** Con el fin de simular la secreción preovulatoria de estradiol, un grupo de animales fue sometido a una Adx-I en diestro 2. Post cirugía y antes de la recuperación total de la anestesia, fueron inyectados con 10 µg de benzoato de estradiol (Sigma Chemical, St. Louis, USA) s.c. aproximadamente a las 15:00 h (Lee, 2015).

**Grupo con Adx-D + LHRH:** Con el fin de simular la señal hipotalámica, un grupo de animales fue sometido a una Adx-D en la etapa de proestro. Post cirugía y antes de la recuperación total de la anestesia, los fueron inyectados con 3.7 µg/kg m.c. de LHRH s.c. (Humprey *et al.*, 1973).

**Grupo con Adx-D + hCG:** Con el fin de simular la señal hipofisaria, un grupo de animales fue sometido a una Adx-D en la etapa de proestro. Post cirugía y antes de la recuperación total de la anestesia, fueron inyectados con 5 UI de hCG s.c. (Tain y Goh, 2000).

## Autopsia

La toma de frotis vaginales se reinició un día después de la cirugía con el fin de conocer si se presentaron alteraciones en la ciclicidad. Los animales con OS y Adx fueron sacrificados a las 9:00 h en el día que presentaron el estro vaginal, mientras que aquellos que recibieron remplazo hormonal se sacrificaron en el día del estro esperado.

En el oviducto de los ovarios (izquierdo y derecho) se cuantificó el número de ovocitos liberados con la ayuda de un microscopio estereoscópico Stemi DV4 (Zeiss, Alemania). Para confirmar dicho número, los ovocitos fueron teñidos mediante la técnica de hematoxilina-eosina y se contaron con la ayuda del microscopio óptico Optiphot 2 (Nikon, USA). Los ovarios, el útero y las adrenales se pesaron en una balanza de precisión AT261 Delta Range (Mettler, USA).

## Procesamiento de los datos

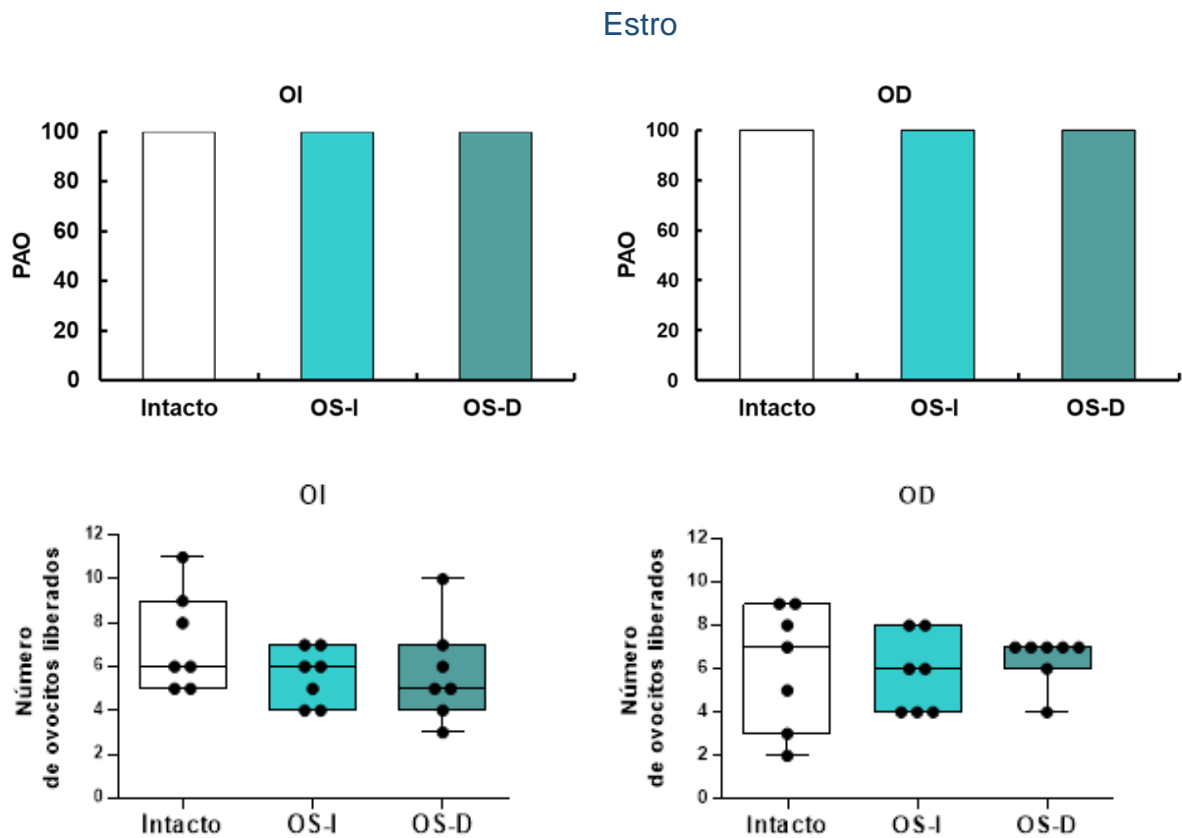
Los resultados del número de ovocitos liberados se expresaron como los correspondientes a cada ovario. Con este resultado, se cuantificó la tasa de animales ovulantes (TAO) definida como el número de animales que ovulan/número total de animales tratados. Posteriormente, la TAO fue expresada en porcentaje de animales ovulantes ( $PAO = TAO \times 100$ ). Los resultados del número de ovocitos liberados fueron expresados como la mediana y los rangos intercuartiles, mientras que, los resultados de la masa de los órganos fueron representados como la media  $\pm$  el error estándar de la media (e.e.m.).

## Análisis estadístico

El número de ovocitos liberados se analizó mediante la prueba U de Mann-Whitney (cuando se compararon dos grupos) o por la prueba de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn (cuando se compararon tres grupos). La TAO fue analizada mediante la prueba de probabilidad exacta de Fisher. La masa corporal fue evaluada con la prueba de ANOVA pareada de dos vías seguida de la prueba de Tukey, mientras que la masa de los órganos fue analizada mediante la prueba de "t" de Student (cuando se compararon dos grupos) o la de ANOVA seguida de la prueba de Tukey (cuando se compararon tres grupos). En todos los casos, se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue  $\leq 0.05$ .

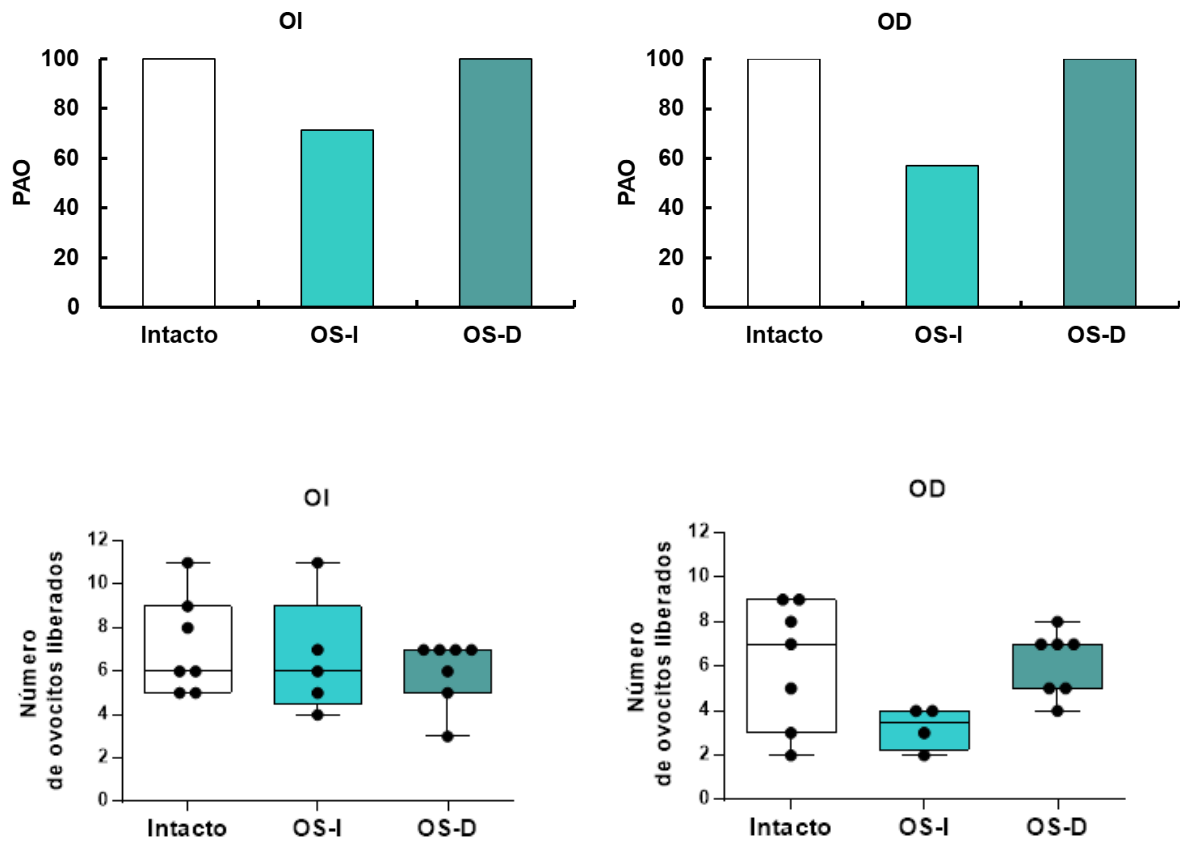
## RESULTADOS

No se alteró el porcentaje de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados (Gráfica 1-4) por cada ovario en los animales con operación simulada unilateral realizada en cada etapa del ciclo estral. De igual manera, la masa corporal no presentó ninguna diferencia significativa respecto al grupo intacto (Cuadro 1).



Gráfica 1. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales intactos y con operación simulada unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de estro. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha.

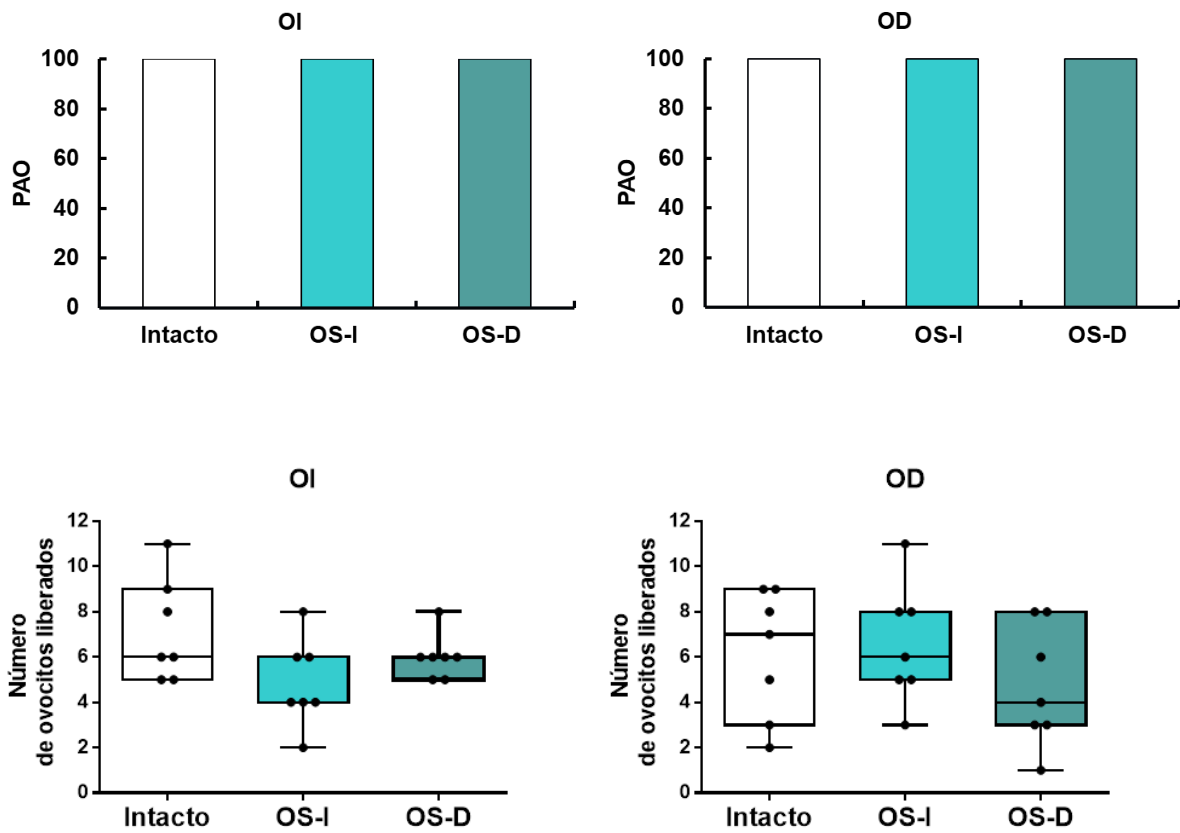
### Diestro-1



**Gráfica 2. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales intactos y con operación simulada unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de diestro-1. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha.**

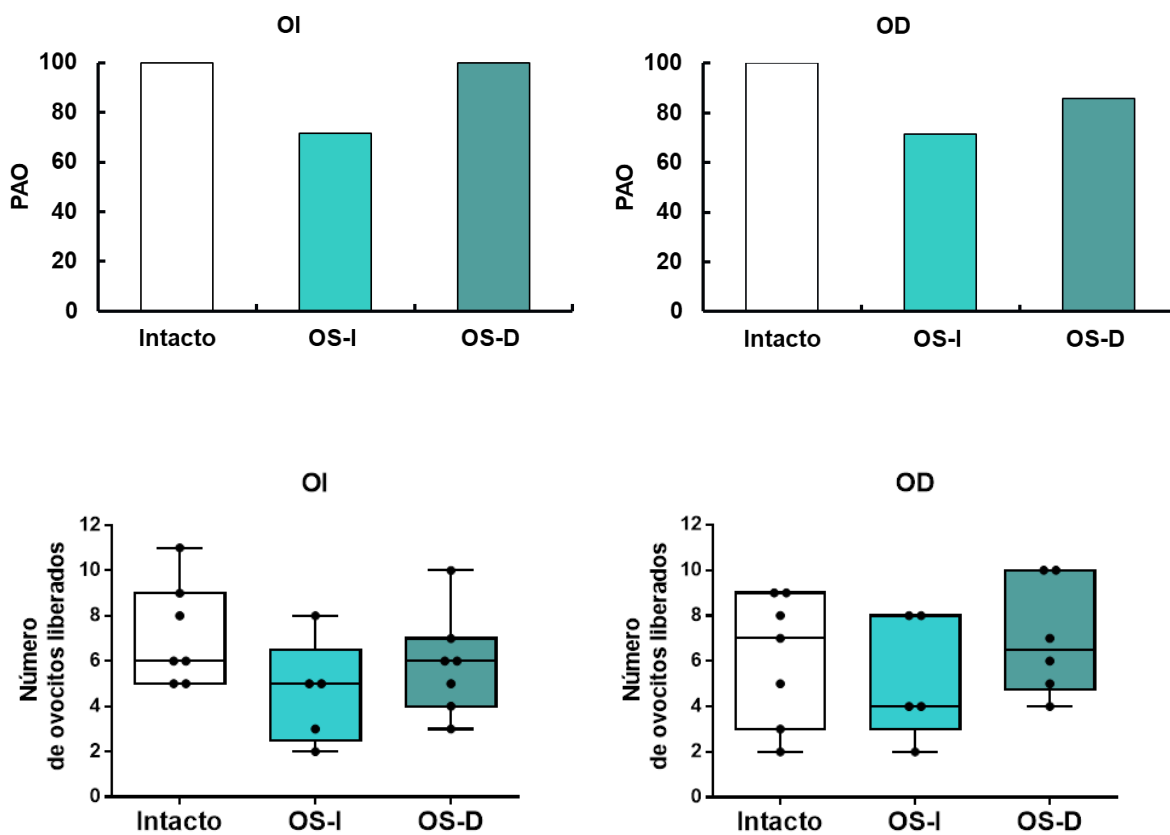


### Diestro-2



Gráfica 3. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales intactos y con operación simulada unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de diestro-2. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha.

### Proestro



Gráfica 4. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales intactos y con operación simulada unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de proestro. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha.

**Cuadro 1. Diferencia de masas de animales con operación simulada izquierda o derecha.**

| Grupo   | Etapa     | n | m.c. (g) cirugía | m.c. (g) sacrificio | ≠ de masas  |
|---------|-----------|---|------------------|---------------------|-------------|
| Intacto | Estro     | 7 | —————            | 235.6 ± 6.7         | 0.0 ± 0.0   |
| OS-I    | Estro     |   | 235.3 ± 4.5      | 241.1 ± 5.1         | -5.9 ± -0.6 |
| OS-D    |           |   | 245.6 ± 4.9      | 250.3 ± 6.4         | -4.7 ± -1.5 |
| OS-I    | Diestro-1 |   | 250.7 ± 9.2      | 245.4 ± 9.5         | 5.3 ± -0.3  |
| OS-D    |           |   | 239.7 ± 6.8      | 241.6 ± 7.0         | -1.9 ± -0.2 |
| OS-I    | Diestro-2 |   | 241.3 ± 9.0      | 236.4 ± 10.3        | 4.9 ± -1.3  |
| OS-D    |           |   | 255.6 ± 6.1      | 253.6 ± 6.8         | 2.0 ± -0.8  |
| OS-I    | Proestro  |   | 243.1 ± 8.3      | 246.7 ± 9.4         | -3.6 ± -1.1 |
| OS-D    |           |   | 249.0 ± 6.3      | 247.4 ± 6.7         | 1.6 ± -0.4  |

m.c.: masa corporal; OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha.

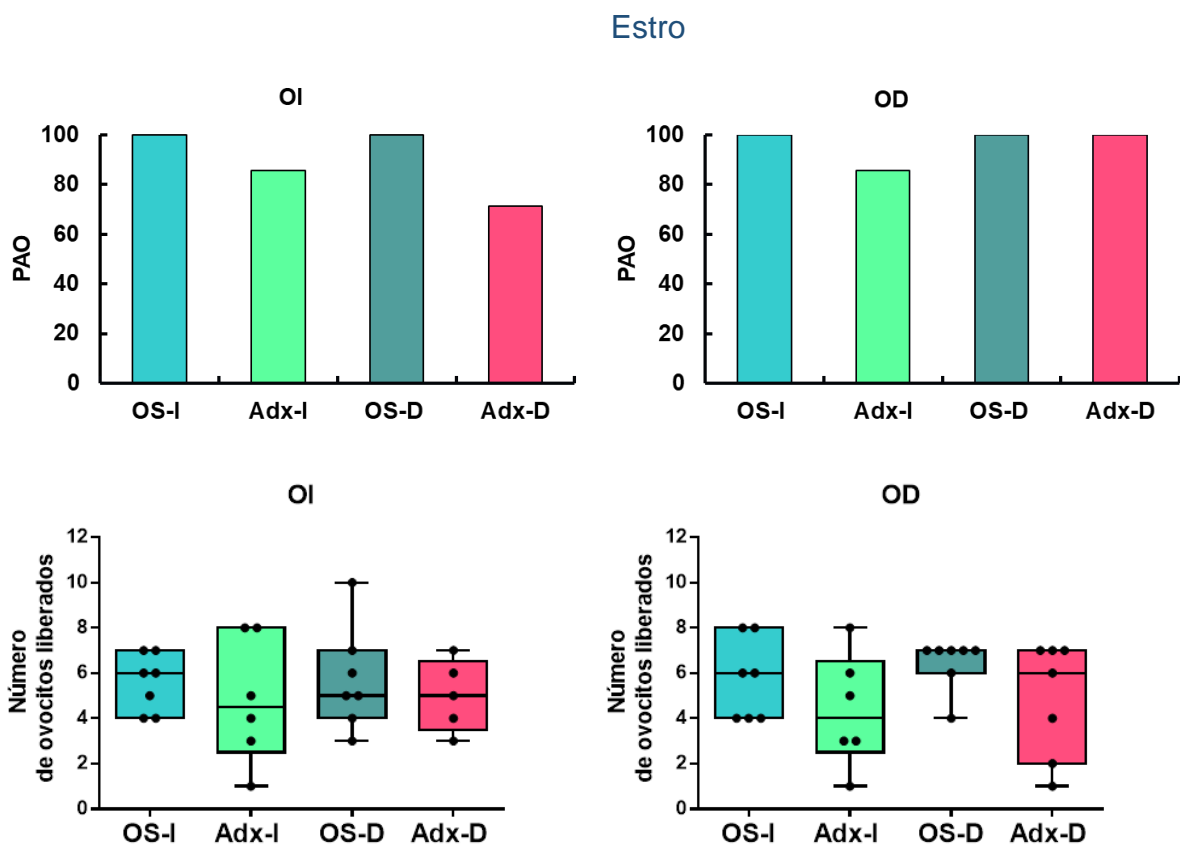
Respecto a la masa de los órganos, sólo en animales con operación simulada izquierda realizada en diestro-1 se presentó una disminución en la masa adrenal derecha respecto al grupo intacto (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Media ± e.e.m de la masa de órganos de animales intactos y con operación simulada izquierda o derecha.**

| Grupo   | Etapa     | n | mg/100 g m.c. |          |            |          |          |
|---------|-----------|---|---------------|----------|------------|----------|----------|
|         |           |   | OI            | OD       | Útero      | AI       | AD       |
| Intacto | Estro     | 7 | 11.3±0.5      | 12.1±0.8 | 186.5±11.2 | 12.9±0.8 | 12.0±0.5 |
| OS-I    | Estro     |   | 12.0±0.5      | 12.6±0.3 | 166.8±4.5  | 12.0±0.6 | 11.3±0.6 |
| OS-D    |           |   | 12.3±0.6      | 13.1±0.8 | 156.1±5.4  | 12.2±0.6 | 11.7±0.6 |
| OS-I    | Diestro-1 |   | 11.7±0.9      | 11.4±0.8 | 176.1±11.7 | 11.0±0.3 | 9.7±0.4* |
| OS-D    |           |   | 11.6±0.8      | 11.2±0.5 | 152.6±5.1  | 11.7±0.2 | 11.0±0.3 |
| OS-I    | Diestro-2 |   | 12.0±0.6      | 12.3±0.4 | 157.1±4.8  | 11.6±0.8 | 11.4±0.7 |
| OS-D    |           |   | 12.6±0.6      | 12.3±0.9 | 143.8±6.5  | 12.0±0.6 | 11.0±0.5 |
| OS-I    | Proestro  |   | 12.7±0.7      | 12.5±0.5 | 161.3±3.8  | 11.9±0.6 | 11.3±0.7 |
| OS-D    |           |   | 11.9±0.8      | 12.0±1.0 | 173.9±4.7  | 12.0±0.4 | 11.8±0.5 |

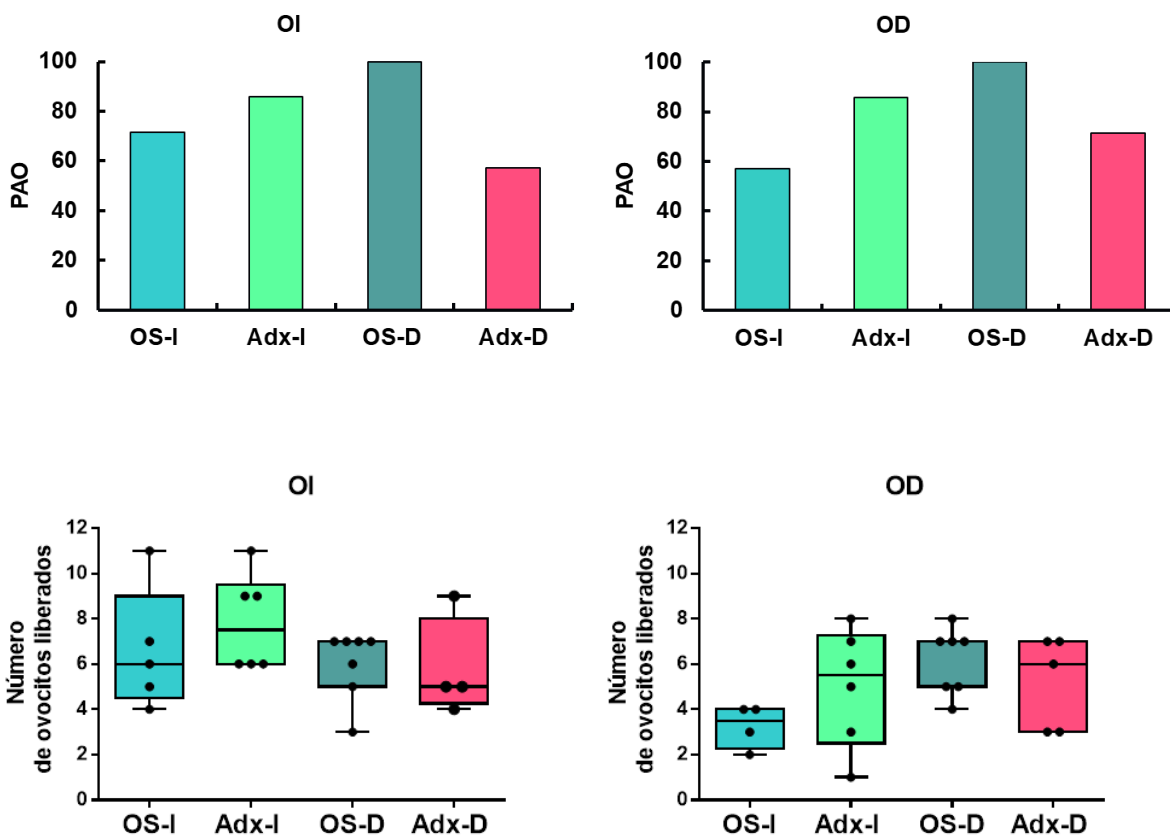
\*p≤0.0015 vs. intacto. OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha; OI: Ovario izquierdo; OD: Ovario derecho; AI: Adrenal izquierda; AD: Adrenal derecha.

La adx unilateral no resultó en cambios en el porcentaje de animales ovulantes (Gráfica 5-8). La Adx unilateral en estro o diestro-1 no resultó en disminución del número de ovocitos liberados (Gráfica 5 y 6). Sin embargo, en el grupo con adrenalectomía izquierda realizada en la etapa de diestro-2 (Gráfica 7) y en el grupo con adrenalectomía derecha realizada en proestro (Gráfica 8) se presentó la disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho. Respecto a la masa corporal no se encontraron diferencias significativas en los grupos con adrenalectomía unilateral comparada con su grupo control (Cuadro 3).



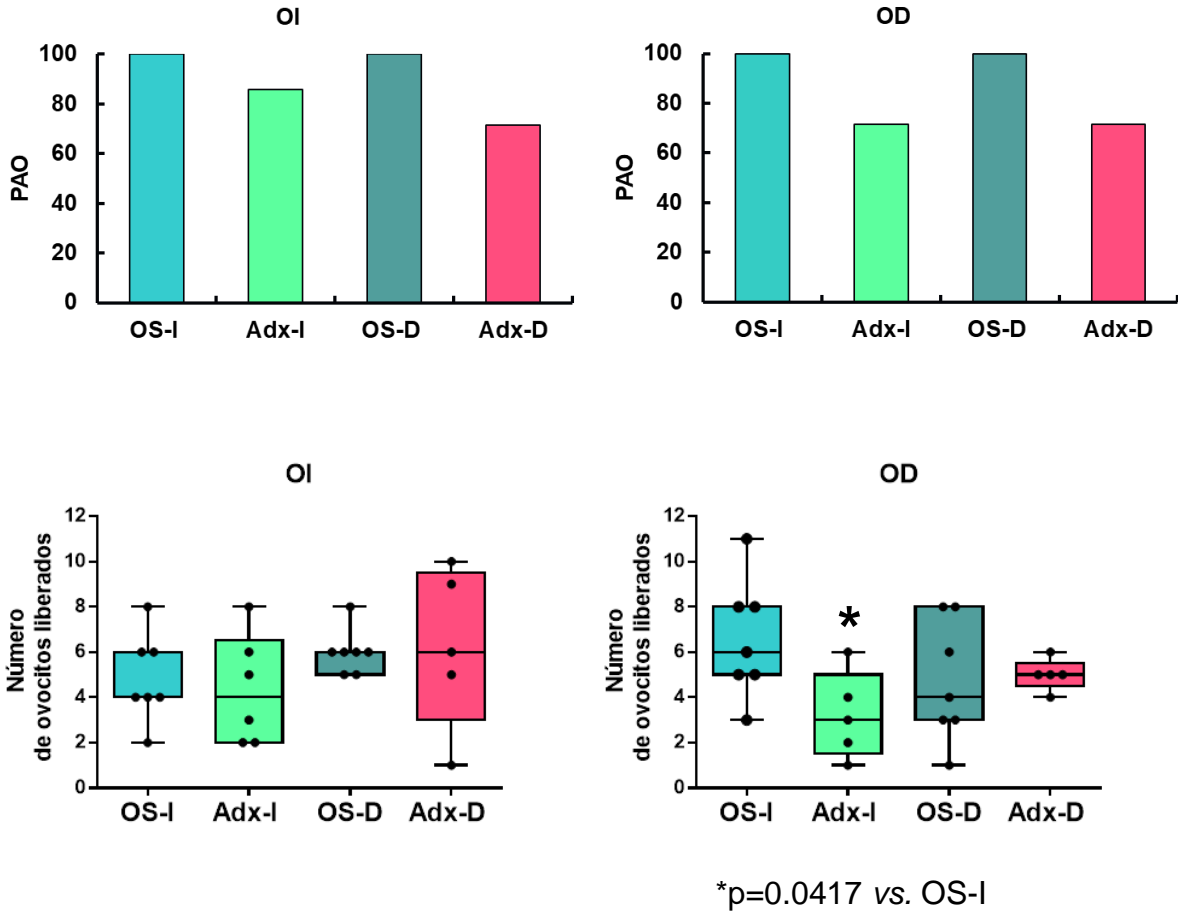
**Gráfica 5. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada unilateral y adrenalectomía unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de estro. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha, Adx-I: Adrenalectomía izquierda, Adx-D: Adrenalectomía derecha.**

### Diestro-1



Gráfica 6. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada unilateral y adrenalectomía unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de diestro-1. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha, Adx-I: Adrenalectomía izquierda, Adx-D: Adrenalectomía derecha.

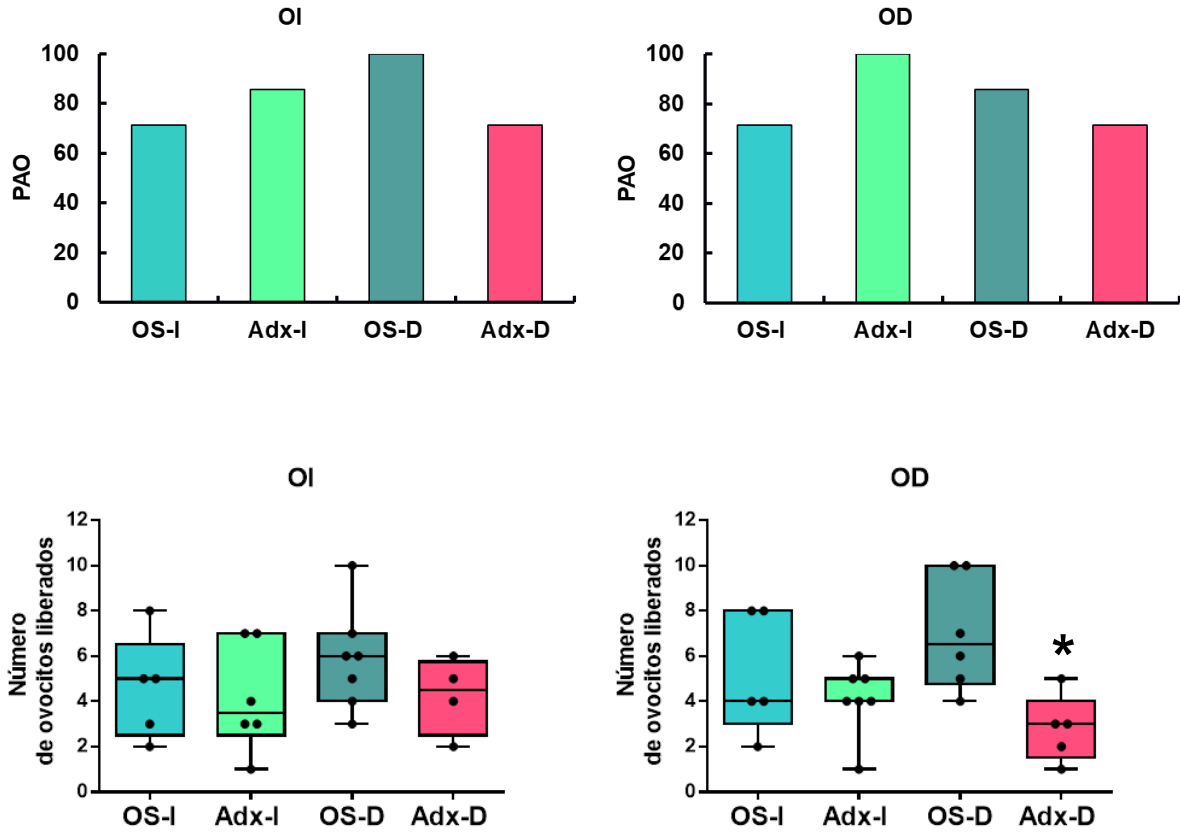
Diestro-2



Gráfica 7. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada unilateral y adrenalectomía unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de diestro-2. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha, Adx-I: Adrenalectomía izquierda, Adx-D: Adrenalectomía derecha. \*p=0.0417 vs. OS-I (U de Mann-Whitney).



## Proestro



\*p=0.0108 vs. OS-D

**Gráfica 8.** Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada unilateral y adrenalectomía unilateral realizadas a las 15:00 h en la etapa de proestro. OI: Ovario izquierdo, OD: Ovario derecho, OS-I: Operación simulada izquierda, OS-D: Operación simulada derecha, Adx-I: Adrenalectomía izquierda, Adx-D: Adrenalectomía derecha. \*p=0.0108 vs. OS-D (U de Mann-Whitney).

**Cuadro 3. Diferencia de masas de animales con operación simulada unilateral y con adrenalectomía unilateral.**

| Grupo | Etapas    | n | m.c. (g) cirugía | m.c. (g) sacrificio | ≠ de masas  |
|-------|-----------|---|------------------|---------------------|-------------|
| OS-I  | Estró     | 7 | 235.3 ± 4.5      | 241.1 ± 5.1         | -5.9 ± -0.6 |
| Adx-I |           |   | 234.9 ± 5.5      | 236.1 ± 5.1         | -1.3 ± 0.4  |
| OS-D  |           |   | 245.6 ± 4.9      | 250.3 ± 6.4         | -4.7 ± -1.5 |
| Adx-D |           |   | 243.1 ± 9.7      | 243.1 ± 10.2        | 0.0 ± -0.5  |
| OS-I  | Diestro-1 |   | 250.7 ± 9.2      | 245.4 ± 9.5         | 5.3 ± -0.3  |
| Adx-I |           |   | 240.9 ± 3.5      | 245.6 ± 3.4         | -4.7 ± 0.1  |
| OS-D  |           |   | 239.7 ± 6.8      | 241.6 ± 7.0         | -1.9 ± -0.2 |
| Adx-D |           |   | 238.7 ± 5.6      | 242.3 ± 5.8         | -3.6 ± -0.2 |
| OS-I  | Diestro-2 |   | 241.3 ± 9.0      | 236.4 ± 10.3        | 4.9 ± -1.3  |
| Adx-I |           |   | 255.6 ± 8.2      | 249.4 ± 9.8         | 6.1 ± -1.6  |
| OS-D  |           |   | 255.6 ± 6.1      | 253.6 ± 6.8         | 2.0 ± -0.7  |
| Adx-D |           |   | 253.7 ± 6.5      | 249.6 ± 6.7         | 4.1 ± -0.2  |
| OS-I  | Proestro  |   | 243.1 ± 8.3      | 246.7 ± 9.4         | -3.6 ± -1.1 |
| Adx-I |           |   | 238.1 ± 3.5      | 231.9 ± 3.8         | 6.3 ± -0.3  |
| OS-D  |           |   | 249.0 ± 6.3      | 247.4 ± 6.7         | 1.6 ± -0.4  |
| Adx-D |           |   | 234.1 ± 6.8      | 230.1 ± 5.6         | 4.0 ± 1.2   |

m. c.: masa corporal; OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha; Adx-I: Adrenalectomía izquierda; Adx-D: Adrenalectomía derecha.

La masa del ovario derecho de animales con adrenalectomía derecha aumentó respecto su grupo control. La masa de la adrenal remanente de los grupos con adrenalectomía izquierda o derecha realizadas en todas las etapas aumentó significativamente con respecto a su grupo control (Cuadro 4).

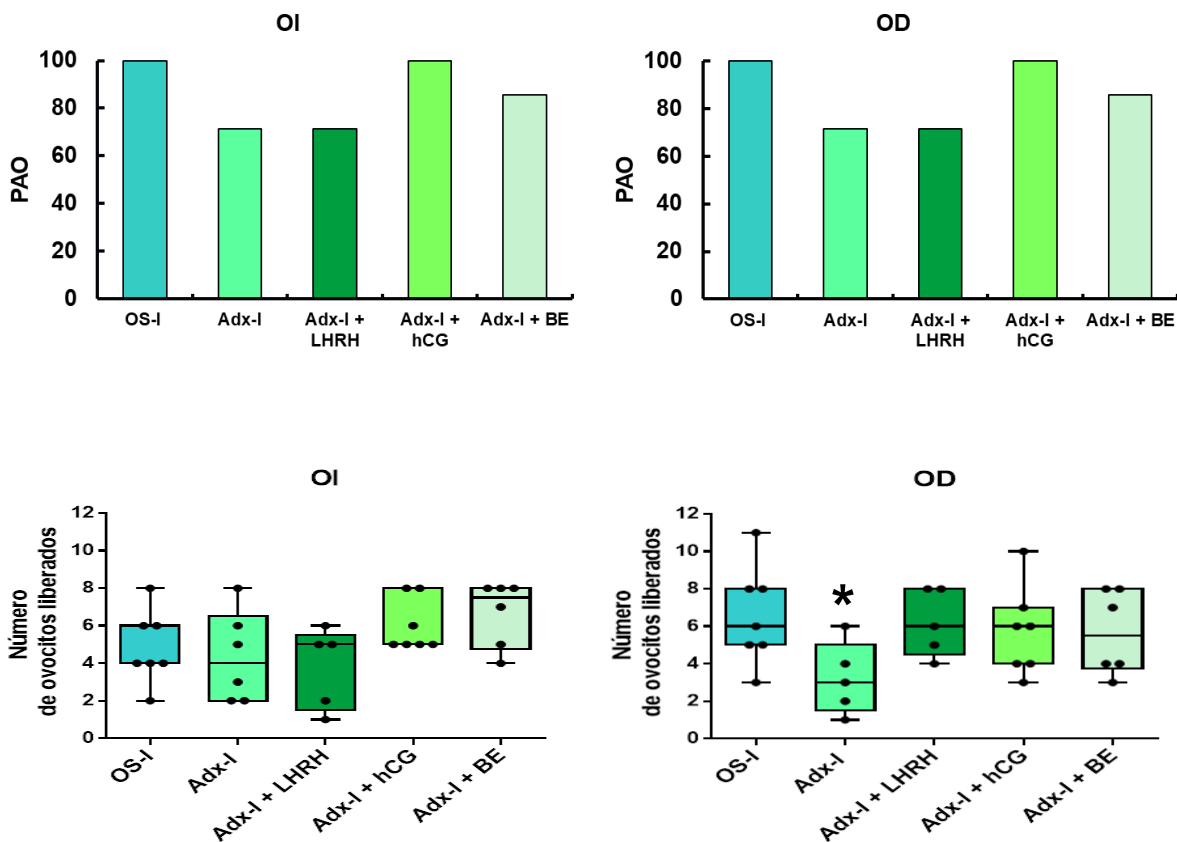
**Cuadro 4. Media  $\pm$  e.e.m de la masa de órganos de animales con operación simulada unilateral y con adrenalectomía unilateral.**

| Grupo | Etapa     | n | mg/100 g m.c.  |                 |                  |                 |                 |
|-------|-----------|---|----------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|
|       |           |   | OI             | OD              | Útero            | AI              | AD              |
| OS-I  | Estro     | 7 | 12.0 $\pm$ 0.5 | 12.6 $\pm$ 0.3  | 166.8 $\pm$ 4.5  | 12.0 $\pm$ 0.6  | 11.3 $\pm$ 0.6  |
| Adx-I |           |   | 11.7 $\pm$ 0.4 | 13.0 $\pm$ 1.1  | 168.3 $\pm$ 3.2  | extirpada       | 14.7 $\pm$ 0.6* |
| OS-D  |           |   | 12.3 $\pm$ 0.6 | 13.1 $\pm$ 0.8  | 156.1 $\pm$ 5.4  | 12.2 $\pm$ 0.6  | 11.7 $\pm$ 0.6  |
| Adx-D |           |   | 13.3 $\pm$ 0.9 | 14.2 $\pm$ 0.8  | 161.3 $\pm$ 8.6  | 14.8 $\pm$ 0.5# | extirpada       |
| OS-I  | Diestro 1 |   | 11.7 $\pm$ 0.9 | 11.4 $\pm$ 0.8  | 176.1 $\pm$ 11.7 | 11.0 $\pm$ 0.3  | 9.7 $\pm$ 0.4   |
| Adx-I |           |   | 11.6 $\pm$ 0.7 | 10.9 $\pm$ 0.7  | 152.8 $\pm$ 8.0  | extirpada       | 13.2 $\pm$ 1.0* |
| OS-D  |           |   | 11.6 $\pm$ 0.8 | 11.2 $\pm$ 0.5  | 152.6 $\pm$ 5.1  | 11.7 $\pm$ 0.2  | 11.0 $\pm$ 0.3  |
| Adx-D |           |   | 12.4 $\pm$ 0.7 | 13.8 $\pm$ 0.8# | 150.3 $\pm$ 7.8  | 13.8 $\pm$ 0.3# | extirpada       |
| OS-I  | Diestro 2 |   | 12.0 $\pm$ 0.6 | 12.3 $\pm$ 0.4  | 157.1 $\pm$ 4.8  | 11.6 $\pm$ 0.8  | 11.4 $\pm$ 0.7  |
| Adx-I |           |   | 12.0 $\pm$ 0.8 | 10.8 $\pm$ 0.9  | 162.3 $\pm$ 5.2  | extirpada       | 14.0 $\pm$ 0.6* |
| OS-D  |           |   | 12.6 $\pm$ 0.6 | 12.3 $\pm$ 0.9  | 143.8 $\pm$ 6.5  | 12.0 $\pm$ 0.6  | 11.0 $\pm$ 0.5  |
| Adx-D |           |   | 10.9 $\pm$ 0.7 | 10.5 $\pm$ 0.9  | 143.9 $\pm$ 5.3  | 15.1 $\pm$ 0.6# | extirpada       |
| OS-I  | Proestro  |   | 12.7 $\pm$ 0.7 | 12.5 $\pm$ 0.5  | 161.3 $\pm$ 3.8  | 11.9 $\pm$ 0.6  | 11.3 $\pm$ 0.7  |
| Adx-I |           |   | 12.8 $\pm$ 0.7 | 11.5 $\pm$ 0.8  | 160.9 $\pm$ 6.4  | extirpada       | 15.5 $\pm$ 1.0* |
| OS-D  |           |   | 11.9 $\pm$ 0.8 | 12.0 $\pm$ 1.0  | 173.9 $\pm$ 4.7  | 12.0 $\pm$ 0.4  | 11.8 $\pm$ 0.5  |
| Adx-D |           |   | 11.2 $\pm$ 0.7 | 12.5 $\pm$ 0.7  | 169.0 $\pm$ 7.1  | 14.3 $\pm$ 0.7# | extirpada       |

\* $p \leq 0.0160$  vs. OS-I; # $p \leq 0.0174$  vs. OS-D. OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha; OI: Ovario izquierdo; OD: Ovario derecho; AI: Adrenal izquierda; AD: Adrenal derecha.

En los grupos con adrenalectomía izquierda realizados en diestro-2 más remplazos hormonales se restableció la ovulación ya que no se presentan diferencias significativas respecto el grupo con operación simulada izquierda o al grupo con adrenalectomía izquierda (Gráfica 9). Mientras que en los grupos con adrenalectomía derecha realizada en proestro con remplazos hormonales, solo el grupo al que se le inyectó LHRH presentó un aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto al grupo con adrenalectomía derecha, restaurando la ovulación (Gráfica 10). Respecto a la masa corporal no hubo ninguna diferencia significativa (Cuadro 5). En la masa de órganos hubo una disminución de la masa adrenal derecha en animales con adrenalectomía derecha más benzoato de estradiol en diestro-2, mientras que en la adrenalectomía derecha en proestro más el remplazo con hCG hubo un aumento en la masa ovárica (Cuadro 6).

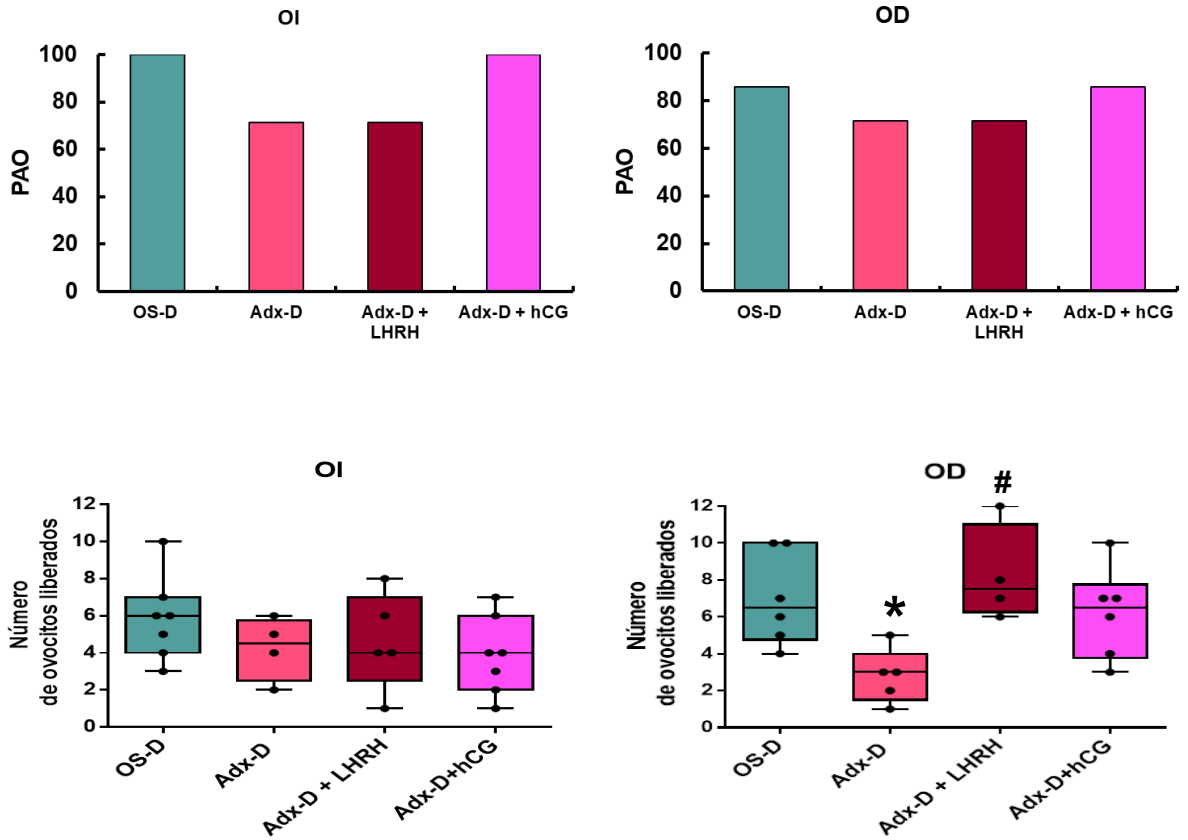
Diestro-2



\*p=0.0417 vs. OS-I

Gráfica 9. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada izquierda, adrenalectomía izquierda realizadas a las 15:00 h en la etapa de diestro-2 y adrenalectomía izquierda más remplazos hormonales. \*p=0.0417 vs. OS-I (U de Mann-Whitney).

Proestro



\*p=0.0108 vs. OS-D, #p=0.0155 vs. Adx-D.

**Gráfica 10. Porcentaje de animales ovulantes (PAO) y número de ovocitos liberados por cada ovario de animales con operación simulada derecha, adrenalectomía derecha realizadas a las 15:00 h en la etapa de proestro y adrenalectomía derecha más remplazos hormonales. \*p=0.0108 vs. OS-D, #p=0.0155 vs. Adx-D (U de Mann-Whitney).**

**Cuadro 5. Diferencia de masas de animales con operación simulada unilateral, adrenalectomía unilateral y adrenalectomía unilateral más remplazos hormonales.**

| Grupo        | Etapas    | n | m.c. (g) cirugía | m.c. (g) sacrificio | ≠ de masas |
|--------------|-----------|---|------------------|---------------------|------------|
| OS-I         | Diestro-2 | 7 | 241.3 ± 9.0      | 236.4 ± 10.3        | 4.9 ± -1.3 |
| Adx-I        |           |   | 255.6 ± 8.2      | 249.4 ± 9.8         | 6.1 ± -1.6 |
| Adx-I + LHRH |           |   | 255.0 ± 5.5      | 249.9 ± 6.0         | 5.1 ± -0.5 |
| Adx-I + hCG  |           |   | 249.1 ± 9.5      | 248.1 ± 8.6         | 1.0 ± 0.9  |
| Adx-I + BE   |           |   | 243.1 ± 6.1      | 238.1 ± 5.4         | 5.0 ± 0.7  |
| OS-D         | Proestro  |   | 249.0 ± 6.3      | 247.4 ± 6.7         | 1.6 ± -0.4 |
| Adx-D        |           |   | 234.1 ± 6.8      | 230.1 ± 5.6         | 4.0 ± 1.2  |
| Adx-D + LHRH |           |   | 240.1 ± 4.0      | 237.7 ± 4.0         | 2.4 ± 0.0  |
| Adx-D + hCG  |           |   | 241.7 ± 1.8      | 235.1 ± 2.6         | 6.6 ± -0.8 |

m.c: masa corporal; OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha; Adx-I: Adrenalectomía izquierda; Adx-D: Adrenalectomía derecha.

**Cuadro 6. Media ± e.e.m de la masa de órganos de animales con operación simulada unilateral, con adrenalectomía unilateral y con adrenalectomía unilateral más remplazos hormonales.**

| Grupo        | Etapas    | n | mg/100 g m.c. |           |            |           |            |
|--------------|-----------|---|---------------|-----------|------------|-----------|------------|
|              |           |   | OI            | OD        | Útero      | AI        | AD         |
| OS-I         | Diestro 2 | 7 | 12.0±0.6      | 12.3±0.4  | 157.1±4.8  | 11.6±0.8  | 11.4±0.7   |
| Adx-I        |           |   | 12.0±0.8      | 10.8±0.9  | 162.3±5.2  | extirpada | 14.0±0.6*  |
| Adx-I + LHRH |           |   | 13.1±1.0      | 13.6±0.8  | 148.9±11.0 | extirpada | 12.8±0.5   |
| Adx-I + hCG  |           |   | 13.4±1.0      | 14.0±1.4  | 145.3±6.9  | extirpada | 12.3±0.8   |
| Adx-I + BE   |           |   | 13.7±1.3      | 13.3±0.8  | 152.8±5.3  | extirpada | 11.3±0.6\$ |
| OS-D         | Proestro  |   | 11.9±0.8      | 12.0±1.0  | 173.9±0.4  | 12.0±0.4  | 11.8±0.5   |
| Adx-D        |           |   | 12.0±0.8      | 10.8±0.9# | 162.3±5.2  | 14.0±0.6# | extirpada  |
| Adx-D + LHRH |           |   | 12.6±1.0      | 13.0±0.6  | 186.0±14.4 | 12.0±0.4  | extirpada  |
| Adx-D + hCG  |           |   | 16.1±0.8# &   | 15.5±0.5& | 183.0±10.2 | 11.3±1.3  | extirpada  |

\*p≤0.0160 vs. OS-I; #p≤0.0203 vs. OS-D; &p≤0.0054 vs. Adx-D; \$p=0.0317 vs. Adx-I; OS-I: Operación simulada izquierda; OS-D: Operación simulada derecha; OI: Ovario izquierdo; OD: Ovario derecho; AI: Adrenal izquierda; AD: Adrenal derecha.



## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la información que proviene de la glándula adrenal izquierda en la etapa diestro-2 o de la adrenal derecha en la etapa de proestro regula la ovulación del ovario derecho, por lo que proponemos que las adrenales participan de manera estimulante y asimétrica en la regulación de la ovulación lo que depende de la etapa del ciclo estral.

La mayoría de los órganos pares presentan asimetrías, que pueden ser explicadas a través de su inervación intrínseca y extrínseca. En la rata, la información neural que surge del ovario puede ser ipsilateral o contralateral, esta información desempeña un papel directo en la regulación de las respuestas del folículo al efecto de las gonadotropinas. Por lo tanto, la regulación de las funciones ováricas depende no solo de la acción de la LH y FSH, sino también, de los efectos moduladores de la inervación y el ovario específico en estudio (Domínguez *et al.*, 2003).

Flores y colaboradores (2005), reportaron que las adrenales son el principal aporte de progesterona a la circulación a lo largo del ciclo estral. Feder y colaboradores (1971), mostraron que las concentraciones normales de progesterona de origen adrenal facilitan la liberación de LH. Con base en los resultados obtenidos en animales con adrenalectomía unilateral se sugiere que la pérdida de una glándula adrenal no genera una disminución importante de progesterona que en un momento dado comprometiera la liberación de la LH preovulatoria, y que esto podría ser debido a que la adrenal *in situ* compensa dicha pérdida. De hecho, en este estudio se observó que la adrenalectomía unilateral en cualquier etapa resulta en crecimiento de la masa adrenal por parte de la glándula *in situ*.

Peppler y Jacobs, en 1976, sugirieron que la falta de ambas adrenales resultó en el aumento de la secreción de ACTH lo que a su vez inhibió la secreción de GnRH y la respuesta ovárica a FSH. Es posible que la disminución en la concentración de FSH haya alterado el desarrollo folicular normal y por ende el número de ovocitos liberados. Por lo que en su estudio y en éste se presentó disminución del número de ovocitos liberados.

Se sabe que cuando el HPA se activa por estrés puede ejercer un efecto principalmente inhibitorio sobre el sistema reproductor femenino. El cortisol ejerce una

retroalimentación negativa sobre la liberación de CRH y de ACTH. La CRH, es la principal neurohormona reguladora del HPA y sus receptores se han identificado en los órganos reproductores femeninos, incluido los ovarios. La CRH a nivel ovárico inhibe la biosíntesis de esteroides, participa en la maduración folicular, la ovulación y la luteólisis, sin embargo, cuando se liberan altas concentraciones de CRH por estrés, esta neurohormona inhibe la secreción de GnRH en el hipotálamo y de LH en la hipófisis. Los resultados presentados por [Wang y colaboradores 2019](#), mostraron que en ratas sometidas a estrés agudo el eje HPA se activa de manera inmediata provocando un aumento en la concentración de glucocorticoides, que son los principales mediadores de la respuesta al estrés ([Kalantaridou et al., 2004](#); [Wang et al., 2019](#)).

Se requieren concentraciones precisas de glucocorticoides para una función gonadal adecuada; si el equilibrio se interrumpe, también se interrumpe la fertilidad. Los glucocorticoides afectan las funciones gonadales en múltiples niveles dentro del eje hipotálamo-hipófisis-ovario: en el hipotálamo disminuyen la síntesis y liberación de GnRH, en la hipófisis disminuyen la síntesis y liberación de LH y FSH y en el ovario modulan la esteroidogénesis ([Witorsch, 2016](#)).

Aunque el efecto de los glucocorticoides es principalmente inhibitorio sobre el eje reproductivo, se ha mostrado que, en respuesta al estrés por inflamación, la concentración basal de glucocorticoides es necesaria para el mantenimiento de LH y la función reproductiva. En respuesta al estrés por inflamación, a saber, el tratamiento con TNF- $\alpha$ , una proteína del grupo de las citocinas que participa en el proceso inflamatorio, puede inhibir la secreción pulsátil de LH. [Whirledge y Cidlowski \(2010\)](#), mostraron que en animales con adrenalectomía el efecto inhibitorio de TNF- $\alpha$  aumenta. El pretratamiento con glucocorticoides reduce la supresión de la secreción de LH inducida por TNF- $\alpha$ . Esto explica por qué la secreción de LH no se vio afectada en los grupos con cirugía y con base en nuestros resultados sugerimos que la secreción de glucocorticoides por parte de la adrenal *in situ* fue constante, y a pesar de que hubo estrés inflamatorio, la concentración de LH no disminuyó; por lo tanto, no tuvimos bloqueo en la ovulación.

**¿Cómo se puede explicar la disminución del número de ovocitos liberados que se presentó en nuestros grupos con adrenalectomía unilateral realizada en diestro-2 y proestro?**

Nosotros sugerimos que el efecto inhibitorio de los glucocorticoides ocurrió por diferentes mecanismos, ya que la respuesta a glucocorticoides en el cerebro está dirigida por regiones específicas, y en general, por los tipos de células que contienen receptores a glucocorticoides (GR). A nivel celular, los glucocorticoides ejercen sus efectos al unirse al GR, un miembro de la superfamilia de receptores a esteroides nucleares que funcionan como un factor de transcripción dependiente de ligando para regular la expresión de genes que responden a glucocorticoides. Más allá del control a nivel hipotalámico e hipofisario, el ovario cuenta con mecanismos reguladores locales de la acción de glucocorticoides. El mecanismo principal consiste en cambios en la expresión de las dos isoformas de 11 $\beta$ -HSD, que catalizan la conversión entre glucocorticoides activos e inactivos. Durante la maduración folicular, la actividad deshidrogenasa de 11 $\beta$ -HSD I restringe la concentración de glucocorticoides activos. Mientras tanto, en la ovulación, la 11 $\beta$ -HSD II la concentración de glucocorticoides activos, que median la respuesta inflamatoria asociada con la ruptura del epitelio en la superficie del ovario. La localización del GR en tipos de células específicas dentro del ovario (folículos, cuerpo lúteo y las células del epitelio de la superficie ovárica) sugiere una influencia directa sobre la función reproductiva a nivel gonadal. Los glucocorticoides actúan directamente sobre las células ováricas para inhibir la biosíntesis de hormonas esteroides, en cultivos de células de la granulosa de rata, los glucocorticoides suprimen la actividad de la aromatasa P450 inducida por FSH (Whirledge y Cidlowski, 2010).

Es posible que la supresión de la aromatasa P450 resulte en la disminución de la concentración de estradiol, una hormona de suma importancia que regula la ovulación. El estradiol gonadal y la progesterona de origen suprarrenal y ovárica regulan el ciclo ovulatorio por efectos de retroalimentación inhibitorios y estimulantes. A medida que el ciclo avanza, ambas hormonas inician, sincronizan, potencian y limitan el pico de LH en un día, el aumento de estradiol producido por la maduración de los folículos ováricos evoca una acción de retroalimentación positiva que desencadena la señal ovulatoria en la hipófisis, de igual manera, asegura una cuota preovulatoria completa de ovocitos (Ayrout *et al.*, 2019).

Micevych y colaboradores (2003), mostraron que el estradiol estimula selectivamente la síntesis hipotalámica de progesterona e induce la aparición de receptores a progesterona. La progesterona es fundamental para el aumento de LH y

también regula la dinámica del receptor a estradiol (Mahesh y Brann, 1992), sin embargo, se ha detectado muy poca en la circulación antes del aumento de gonadotropinas. A pesar de que la progesterona de origen suprarrenal no es necesaria para un aumento preovulatorio de LH (Feder *et al.*, 1971), nosotros sugerimos que al realizar la adrenalectomía unilateral hay una reducción de los receptores de estradiol, proporcional a provocar una disminución de las concentraciones séricas de estradiol, y a su vez, altera la síntesis de progesterona y sus receptores afectando todo el eje reproductivo.

A nivel hipotalámico, el estradiol de origen ovárico regula la secreción pulsátil de GnRH dirigiéndose a las células que expresan receptores a estradiol (ER) en circuitos aferentes, debido a la escasez de ER en las neuronas GnRHérgicas. La kisspeptina es el estimulador más potente de la secreción de GnRH que se ha descubierto hasta la fecha y está regulada por los esteroides gonadales (Clarkson, 2013).

Los esteroides regulan de forma diferencial las dos poblaciones principales de neuronas kisspeptidérgicas, la mayoría de las neuronas de kisspeptina tanto en el núcleo anteroventral peraventricular (AVPV) y núcleo arcuato (ARN), en mamíferos, expresan receptores a estrógenos  $\alpha$  y  $\beta$  (ER- $\alpha$  y ER- $\beta$ , respectivamente), receptores a progesterona (PR) y receptores a andrógenos (AR) y, por lo tanto, están adecuadas para responder directamente a cambios en esteroides gonadales circulantes. Las neuronas secretoras de kisspeptina dentro del AVPV se consideran neuronas hipotalámicas críticas para procesar la señal de estradiol, son de hecho importantes reguladores de las neuronas GnRH durante la pubertad y la fertilidad (Clarkson, 2013).

El estradiol regula la expresión de ARNm de Kiss1 en el AVPV como resultado de la activación de vías de señalización dependientes de ER- $\alpha$ . Los ovarios son la fuente probable del estradiol que actúa sobre las neuronas de kisspeptina en el AVPV e incrementa su síntesis, ya que cualquier contribución de las glándulas suprarrenales o neuroesteroides son insuficientes para causar el aumento de la expresión de kisspeptina (Clarkson, 2013).

Las neuronas de kisspeptina pueden actuar de forma diferencial en respuesta a la activación inducida por estradiol, en neuronas de kisspeptina presentes en el núcleo arcuato suprime la secreción de LH, mientras que, la activación de estradiol en el AVPV media la liberación y asegura la activación completa de las neuronas GnRHérgicas,

regulando positivamente el pico preovulatorio de la GnRH. En los roedores, la sincronización de los picos preovulatorios está controlada por una señal neural diaria, que se transmite en parte desde el núcleo supraquiasmático (SCN) al AVPV. La interrupción de esta vía de comunicación induce aciclicidad y problemas en la fertilidad (Clarkson, 2013; Dubois *et al.*, 2015).

Se cree que la vasopresina de origen hipotalámico funciona como conector entre las neuronas del SCN y el AVPV, estudios recientes en roedores han documentado que las proyecciones vasopresinérgicas del SCN se dirigen a neuronas de kisspeptina sensibles a estradiol. Esta conexión vasopresinérgica sobre las neuronas kisspeptina aumenta con el tratamiento de estradiol, que también aumenta la respuesta de las neuronas GnRHérgicas a la kisspeptina de manera circadiana. Estos estudios sugieren que el estradiol actúa para maximizar la señal de kisspeptina-GnRH en el momento del pico preovulatorio de GnRH (Dubois *et al.*, 2015).

El estradiol y la progesterona son mediadores del eje reproductivo, juntos regulan la secreción de GnRH y las gonadotropinas. El estradiol es el principal activador, mientras que la progesterona es el principal inhibidor. La mayoría de las neuronas de kisspeptina expresan el receptor ER- $\alpha$  (90%) y el receptor a progesterona (PR 86%). La expresión de PR en las neuronas de kisspeptina es necesaria para el aumento de LH y el ciclo estral normal en ratones. En roedores, la expresión del PR es regulada por ER- $\alpha$  en el AVPV, la progesterona regula negativamente el ER y puede contrarrestar la inducción de PR por estradiol. Además, las células de kisspeptina en el núcleo arcuato expresan neuropéptidos (neuroquinina B y dinorfina) para formar un conjunto neural interconectado y sincronizado que envía intermitentemente una señal estimulante a las neuronas de GnRH. De acuerdo con esta información se sabe que el estradiol y la progesterona juegan diferentes roles en el sistema de kisspeptina (Marraudino *et al.*, 2018).

La falta de expresión de GR en las neuronas de GnRH sugiere que los glucocorticoides actúan indirectamente, a través de una vía interneural, para reducir la frecuencia del pulso de GnRH, lo que implica, por ejemplo, el factor de liberación de corticotropina o kisspeptina. Los glucocorticoides inhiben la actividad de las neuronas kisspeptina del AVPV en el momento del pico preovulatorio de LH, evitando que provoquen la liberación inducida por estradiol de GnRH y LH. Por lo tanto, los

glucocorticoides pueden bloquear la ovulación actuando directamente sobre las neuronas kisspeptina. Sin embargo, se ha mostrado que los glucocorticoides inducen la regulación positiva de dinorfina durante un periodo de estrés, esto conduce a la regulación a la baja de Kiss-1 y a la supresión de la liberación de GnRH y por consecuencia las gonadotropinas (Ayrou *et al.*, 2019; Whirledge y Cidlowski, 2010).

El estradiol es una hormona de suma importancia; se encarga de regular la secreción de GnRH y estimular la secreción de la neuroprogesterona a nivel hipotalámico. También modula el efecto de las gonadotropinas en varios niveles, incluyendo el crecimiento ovárico, la síntesis de receptores para FSH, y aumentan a su vez la actividad de la aromatasas, en las células de la granulosa, el estradiol estimula la división celular, teniendo un efecto antiatrético, a su vez, induce la formación de uniones intercelulares tipo GAP y estimulan la formación del antro folicular y la síntesis de receptores a progesterona (Rosenfeld *et al.*, 2001).

Las altas concentraciones de glucocorticoides suprimen la secreción de estradiol a nivel ovárico y en el hipotálamo inhiben la síntesis de GnRH, lo que a su vez altera la retroalimentación estimulante sobre las hormonas gonadotrópicas. El bloqueo de los receptores que modulan la señal de estradiol o la ausencia de dicha hormona tiene como consecuencia una disminución en el número de ovocitos liberados (Uchida y Kagitani, 2019). Con base en lo anterior, proponemos que la disminución en el número de ovocitos liberados se debe a una serie de eventos que implican una disminución o bloqueo de la señal de estradiol y como consecuencia disminuye la capacidad de respuesta de los receptores de FSH. Aunque la progesterona también regula el eje reproductivo, las señales y respuestas por parte de esta hormona no se vieron afectadas directamente, ya que la ciclicidad de nuestros animales no se alteró y las ratas sí ovularon.

El hecho de que solo en diestro-2 y proestro hubiese disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho se puede explicar porque la capacidad de síntesis de estradiol por parte de los ovarios es asimétrica y varía durante el ciclo estral, el ovario izquierdo secreta mayor concentración de estradiol que el derecho (Flores *et al.*, 2006). Arrieta y colaboradores (2019) examinaron el papel de los receptores a estrógenos en el área hipotalámica preóptica anterior (POA-AHA) en la regulación de la ovulación en ratas y sugieren que la activación de los receptores a estrógeno en la mañana del diestro-



2 y del proestro regula asimétricamente la ovulación y regula de manera apropiada la secreción de FSH y progesterona en la mañana y tarde del proestro. En diestro-2 el porcentaje de ER- $\alpha$  es mayor en el lado derecho que en el lado izquierdo. Debido a que el estradiol regula los pulsos de GnRH/LH por medio de ER, cualquier alteración en los mecanismos de retroalimentación de estradiol invariablemente estaría asociada con modificaciones e incluso la ausencia de la ovulación. El estradiol, en el día del diestro-2, actúa en las células gonadotropas para mejorar su capacidad de respuesta a la GnRH e inducir la ovulación, mientras que, en la etapa de proestro es la progesterona. Nuestros resultados sugieren que la síntesis y concentración de estradiol, principalmente, es importante para asegurar una cuota preovulatoria promedio.

Mendoza (2007) mostró que la concentración sérica de estradiol disminuye en animales a los que se les extirpan las adrenales, dicha disminución puede ser explicada por la existencia de una regulación estimulante entre las adrenales y los ovarios sobre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de estradiol. Es posible que en tal comunicación esté implícita la inervación que reciben los ovarios y las adrenales y, por ende, module la respuesta de las glándulas. Así la capacidad de secreción de estradiol por parte de los ovarios es regulada por señales que provienen de las adrenales, dicha regulación varía durante el ciclo estral y es diferente por cada ovario.

El aumento de la masa adrenal *in situ* que se observó en los animales con adrenalectomía unilateral puede ser explicado por un incremento en la concentración de la ACTH. El crecimiento suprarrenal compensatorio inducido por adrenalectomía unilateral depende principalmente de la proliferación de células adrenocorticales; en la rata, la extracción de una glándula adrenal es seguida por dos ondas de proliferación de células parenquimatosas en la glándula restante en los días uno y tres después de la cirugía. El crecimiento compensatorio se caracteriza por un aumento de masa de la glándula *in situ* en comparación con la glándula extirpada y con concentraciones elevadas de ACTH y corticosterona en sangre. Como se sabe, el principal factor que regula el crecimiento de la corteza adrenal *in vivo* es la ACTH, sin embargo, además de la ACTH, varios factores hormonales y de crecimiento, así como el sistema nervioso están involucrados en la regulación del crecimiento de las glándulas (Jopek *et al.*, 2018; Malendowicz *et al.*, 2009).

En conjunto con la ACTH, las neuromedinas (NM), una familia de polipéptidos que se han encontrado en extractos de tejido del cerebro, la médula espinal y el tracto gastrointestinal también modulan el crecimiento adrenal. Las células adrenocorticales presentan receptores con el subtipo periférico de receptores a NMU (NMUR1). En ratas, el neuropéptido NMU mejora la proliferación de células adrenocorticales. Dentro del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, la NMU estimula la síntesis de CRH y mejora la secreción de ACTH hipofisaria (Malendowicz *et al.*, 2009).

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, el crecimiento compensatorio se puede dar antes de las 24 horas, ya que cuando las adrenalectomías unilaterales se realizan a las 15:00 h en la etapa del proestro, y se sacrifican 18 horas después, aumenta la masa de la adrenal *in situ*. Dado el tiempo de respuesta podemos confirmar lo demostrado por diversos autores: el tipo de crecimiento compensatorio depende principalmente de impulsos nerviosos aferentes y eferentes, el reflejo neural, responsable del crecimiento adrenal compensatorio, se origina en una glándula. Este reflejo viaja a través de nervios aferentes, e interneuronas en el hipotálamo, y a través de nervios eferentes del hipotálamo que afectan a la glándula contralateral. Estos mecanismos neurales incluyen la participación de regiones del cerebro como el núcleo del tracto solitario, hipotálamo ventromedial y el núcleo paraventricular, los cuales envían información a células del grupo A5, núcleo caudal del rafe, médula ventrolateral y ventromedial. Estas regiones modulan la actividad simpática de los nervios postganglionares que inervan a la adrenal (Guzmán, 2014; Jopek *et al.*, 2018).

Así como el crecimiento compensatorio adrenal está regulado por una vía hormonal y una neural, la disminución del número de ovocitos liberados no solo pueden ser explicado por una vía hormonal, ya que las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (CRH, ACTH y glucocorticoides, respectivamente) por si solas no son suficientes para inhibir totalmente la función del eje reproductivo, lo que implica la participación adicional de otras vías de señalización neural, incluidas las entradas al tronco encefálico, amígdala y el núcleo parabraquial (McCosh, 2019).

Uchida y Kagitani (2019) mostraron que en ratas sometidas a estrés físico nocivo por un pellizco en la pata trasera, la secreción de estradiol ovárico disminuye, esta respuesta es provocada por la activación del nervio ovárico superior (NOS), mediada por

la estructura del tallo cerebral, el principal centro de integración debido a las conexiones neuronales que van desde los núcleos caudal del rafe y llegan hasta el ovario a través de los nervios simpáticos ováricos. El NOS inerva a los vasos sanguíneos que irrigan a las células de la teca interna (Ramírez *et al.*, 2020), esta conexión directa con las células que producen androstenediona, puede explicar la disminución en la concentración de estradiol ovárico.

En nuestro estudio no realizamos denervación ovárica, sin embargo, al realizar la adrenalectomía unilateral se estimulan fibras nerviosas simpáticas que afectan directamente la respuesta ovárica, esto se debe a que, las fibras simpáticas posganglionares que inervan a los ovarios surgen principalmente del plexo celíaco (ganglios suprarrenales izquierdo y derecho, ganglios celíacos izquierdo y derecho, ganglio aorticorenal y haces de fibras nerviosas entre ellos). Las fibras parasimpáticas derivan del nervio vago y algunas del nervio del plexo ovárico (NPO) provienen del ganglio suprarrenal. Las fibras del NPO derechas se originan del ganglio mesentérico superior (SMG) y del ganglio lumbar del tronco simpático (LGST), mientras que las fibras del NPO izquierdas surgen solo del LGST. Las fibras que inervan las glándulas adrenales se originan principalmente del nervio mayor y el plexo abdominal simpático (SNA). Los nervios esplácnicos izquierdo y derechos que inervan las adrenales se unen a los ganglios celíacos izquierdo y derecho en el plexo (Baljet y Drukhet, 1979; Palestin *et al.*, 2017).

El hecho de que las adrenalectomías izquierdas o derechas afecten directamente el número de ovocitos liberados solamente por parte del ovario derecho puede ser explicado por el papel que juega la inervación ovárica y adrenal, así como por el suministro sanguíneo que llega a las adrenales. Toda la información neural que llega a los ovarios y a las adrenales tienen una regulación asimétrica que depende de la etapa del ciclo estral en el que se encuentre la rata. Rosas y colaboradores (2018) mostraron que por los nervios NPO y NOS viaja el neuropéptido Y, y VIP, el VIP es importante durante el desarrollo folicular ya que promueve la síntesis de receptores a FSH (Ramírez *et al.*, 2020). Al realizar la sección de estos nervios en la etapa de diestro-2 y proestro disminuye la síntesis de hormonas esteroideas, debido a una disminución en la capacidad de respuesta a FSH, por lo que concluyeron que el ovario izquierdo y derecho responden diferente al estímulo de VIP.

Como era de esperarse, la adrenalectomía unilateral afecta la comunicación endocrina y neural que regula el eje reproductivo, por lo que el tratamiento con agonistas de la señal hipotalámica (LHRH), hipofisaria (hCG) y ovárica (benzoato de estradiol) en dosis adecuadas considerando la masa corporal del animal, puede restaurar la ovulación sin inducir superovulación. Las etapas que se vieron afectadas por la adrenalectomía unilateral fueron diestro-2 y proestro, por lo que sugerimos que la pérdida de señales hormonales por parte del estradiol y neurales por parte de VIP provocaron que la capacidad de respuesta a FSH se viera afectada dando como resultado una disminución en el número de ovocitos liberados, por lo que al realizar los remplazos de la señal hipotalámica, hipofisaria y ovárica en diestro-2 y solo hipotalámica e hipofisaria en proestro, la ovulación se restauró en el ovario derecho, sin provocar diferencias significativas en la etapa de diestro-2, mientras que en proestro solo el remplazo con LHRH tuvo diferencias significativas con respecto a su grupo control, sin embargo, en ninguno de los dos grupos el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo aumento con los remplazos, este hallazgo puede ser explicado por medio de la irrigación sanguínea que llega al ovario.

[Palestin y colaboradores \(2017\)](#) reportaron que el SMG es el único ganglio ubicado en el lado derecho, el nervio intermesentérico que surge caudalmente del SMG se une a un pequeño ganglio ubicado en la vena cava inferior. El SMG y la vena cava están relacionados directamente con el ovario derecho. [Xing y colaboradores \(2015\)](#) reportaron que la vena suprarrenal izquierda drena hacia la vena renal izquierda, mientras que la vena suprarrenal derecha drena hacia la vena cava inferior. Con esta información sugerimos que cualquier estímulo hormonal o nervioso afecta en mayor medida al ovario derecho. En conjunto las características asimétricas del sistema reproductivo no solo se explican de manera endocrina, sino también por el papel que juega la inervación ovárica y adrenal.

Si bien, el efecto de los remplazos logro restaurar la ovulación a un número de ovocitos promedio por parte del ovario derecho en diestro-2 respecto el control, el hecho de que en ratas con adrenalectomía derecha en proestro exista un aumento significativo en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho cuando se realizó el remplazo con LHRH significa que las señales afectadas a nivel hipotálamo logro restaurarse de tal manera que las ratas ovularon incluso más que el promedio por ovario.

La respuesta trófica del ovario a las gonadotropinas, mediada por el aumento del peso que se observó en animales tratados con hCG puede explicarse gracias a los resultados presentador por [Welschen y Rutte \(1971\)](#), en el que al realizar un remplazo con diferentes dosis de hCG se encontraron ovarios que contenían rasgos característicos de cuerpos lúteos en aquellos grupos donde las dosis de hCG excedían las 10 UI, por lo que nosotros sugerimos que al realizar el remplazo a las 14:00 h justo cuando es el periodo crítico y las concentraciones de LH endógena comienzan a aumentar, es posible que exista una cantidad subnormal de LH en el torrente sanguíneo por lo que la respuesta ovárica sea un incremento de masa que afecta a ambos ovarios.

## CONCLUSIONES

Las operaciones simuladas izquierdas o derechas realizadas a las 15:00 h en cada etapa del ciclo estral no son un factor estresante ni estimulante que afecten la ovulación en ratas adultas.

Las secreciones de la glándula adrenal izquierda en la etapa de diestro-2 participan en los mecanismos que regulan la ovulación del ovario derecho a las 15:00 h, mientras que en proestro es la adrenal derecha quien regula dicha función en el ovario derecho.

Las señales endocrinas y neurales que surgen de cada glándula adrenal las 15:00 h regulan las funciones ováricas de manera estimulante y asimétrica, a nivel hipotalámico, hipofisario y gonadal a en la etapa de diestro-2 y en proestro solo a nivel hipotalámico e hipofisario.

El remplazo de la señal hipotalámica, hipofisaria y ovárica indujeron una cuota preovulatoria completa en ratas con pérdida parcial de las señales hormonales que provienen de cada glándula adrenal.

## ANEXO 1. Esteroidogénesis

La esteroidogénesis es el proceso metabólico que se lleva a cabo para hacer posible la síntesis de hormonas esteroideas en un determinado órgano o tejido. Los principales tejidos esteroidogénicos son: las gónadas (ovario y testículo), la placenta humana y la corteza suprarrenal (Gómez *et al.*, 2012).

Los esteroides forman una subclase de lípidos caracterizados por una estructura básica de cuatro anillos fusionados denominada perhidrociclopentanofenantreno. El precursor de todas las hormonas esteroideas es el colesterol, cuyo suministro se realiza a partir de tres vías: síntesis a partir del acetato y coenzima A en el retículo endoplásmico, síntesis a partir de las reservas intracelulares de ésteres del colesterol o importado de lipoproteínas plasmáticas. La síntesis de hormonas esteroideas comienza con la conversión del colesterol a pregnenolona por la enzima citocromo P450<sub>scc</sub>/Cyp11A1 localizada en la membrana interna mitocondrial (Gómez *et al.*, 2012; Miller y Auchus, 2011).

La pregnenolona es el precursor de todas las hormonas esteroideas, y la síntesis se puede llevar a cabo por dos vías metabólicas:  $\Delta^4$  y  $\Delta^5$ . En el cuerpo lúteo se lleva a cabo la síntesis por la vía  $\Delta^4$ , mientras que en el folículo es preferente la vía  $\Delta^5$ . La pregnenolona es biotransformada a progesterona por acción del complejo enzimático de la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa  $\Delta^{4-5}$  isomerasa (3 $\beta$ -HSD). Existen dos isoformas de la 3 $\beta$ -HSD, una de localización mitocondrial y otra en el retículo endoplásmico (Gómez *et al.*, 2012; Tresguerres y Castillo, 2005).

El proceso de síntesis de mineralocorticoides, glucocorticoides, andrógenos, progestinas y estrógenos a partir del colesterol, se lleva a cabo por diversas enzimas entre las cuales se encuentran diferentes tipos de citocromo P450, deshidrogenasas de esteroides y reductasas (figura 17) (Gómez *et al.*, 2012).

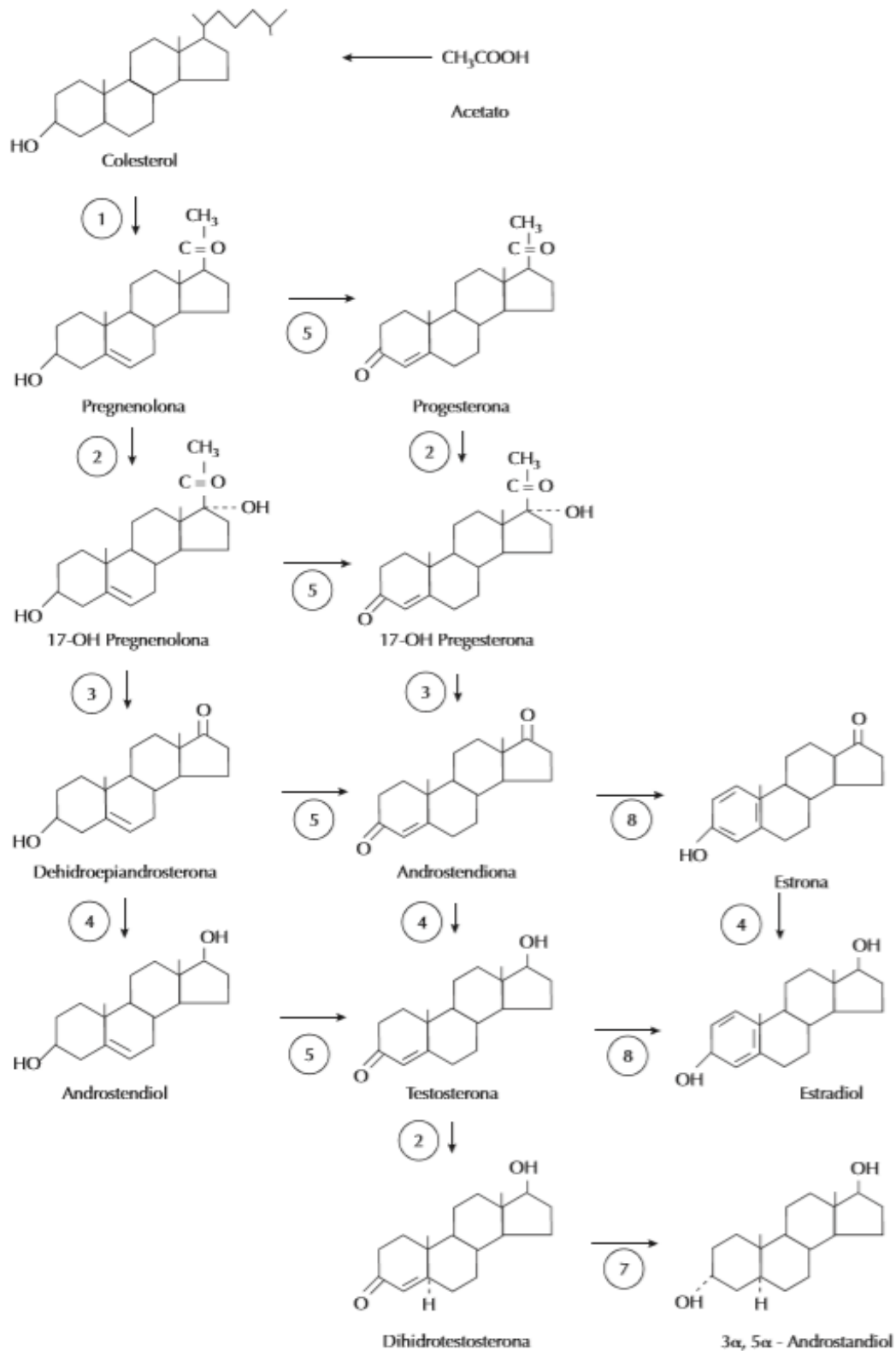


Figura 17. Síntesis de hormonas esteroides gonadales a partir del colesterol. (1) CYP11A1, (2) CYP17-hidroxilasa, (3) 17,20- $\beta$ -OH-esteroide hidrogenasa, (5) 3 $\beta$ -ol-deshidrogenasa y  $\delta$ 4-5 isomerasa, (6) 5 $\alpha$ -reductasa, (7) 3 $\alpha$ -reductasa, (8) CYP19-aromatasa (modificada de [Tresguerres y Castillo, 2005](#))



## REFERENCIAS

- Arrieta, I., Librado, R., Flores, A., Mendoza, L., Chavira, R., Cárdenas, M., Gutiérrez R., Domínguez, R., Cruz, M.E.** (2019). Estrogen receptor Alpha and Beta in POA-AHA region regulate asymmetrically ovulation. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 39(1), 1139-1149.
- Ayrou, M., Le Billan, F., Grange-Messent, V., Mhaouty-Kodia, S., Lombès, M., Chauvin, S.** (2019). Glucocorticoids stimulate hypothalamic dynorphin expression accounting for stress-induced impairment of GnRH secretion during preovulatory period. *Psychoneuroendocrinology*, 99(1), 47-56.
- Baljet, B. y Drukker, J.** (1979). The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anat (basel)*, 104(1), 243-267.
- Baumgarten, S.C., y Stocco, C.** (2018). Granulosa cells. En: M.K. Skinner (Ed.), *Encyclopedia of Reproduction* (2da ed., Vol. 2, pp. 8-13). USA: Elsevier.
- Brann, D.W., y Mahesh, V.B.** (2005). The aging reproductive neuroendocrine axis. *Steroids*, 70(4), 273-283.
- Caravaca, F.P., Castel, J.M., Guzmán, J.L., Delgado, M., Alcalde, M.J., González P.** (2005). Bases de la producción animal (1ra ed.). España: Universidad de Sevilla.
- Clarkson, J.** (2013). Effects of estradiol on kisspeptin neurons during puberty. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 52(1), 1-12.
- Conti, M., y Chang, J.** (2016). Folliculogenesis, ovulation and luteogenesis. En: J. Larry (Ed.). *Endocrinology: Adult and pediatric* (7th ed., vol 12, pp- 2179-2191).
- Coupland, R.E., Parker, T.L., Kesse, W.K., Mohamed, A.A.** (1989). The innervation of the adrenal gland. III. Vagal innervation. *Journal of Anatomy*, 163(1), 173-181.
- Cruz, M.E., Villegas, G., Domínguez, A., Chavira, R., Domínguez R.** (2001). Ovulation delay induced by blockade of the cholinergic system on dioestrus-1, is related to changes in dopaminergic activity of the preoptic anterior-hypothalamic area of the rat. *Brain Research Bulletin*, 54 (4), 339-344.
- da Silva Bitecourt, F., Horta, C.O.D., Lima, K.S., Godoi, B.B., Bello, F.L.M., Rodrigues, C.M.,... Honorato-Sampaio, 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.
- Domínguez, R., Chávez, R., Cruz, M.E. (1991).** La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: R. Domínguez (Ed.). *Tópicos selectos de Biología de la Reproducción* (1ra ed., vol. 1, pp.164-181). México: Miguel Ángel Porrúa.

- Domínguez, R., Morales, L., Cruz, M.E. (2003).** Ovarian asymmetry. *Biomedical science*, 5(1), 95-104.
- Dubois, S.L., Acosta, M., DeJoseph, M.R., Wolfe, A., Radovick, S., Boehm, U., Urban, J.H., Levine, J.E. (2015).** Positive, but not negative feedback actions of estradiol in adult female mice require estrogen receptor  $\alpha$  in kisspeptin neurons. *Neuroendocrinology*, 156(3), 1111-1120.
- Dudás, B., y Merchenthaler, M. (2013).** Morphology and distribution of hypothalamic peptidergic system. En: B. Dudás (Ed.): *The human hypothalamus* (1ra ed., Vol. 1, pp. 67-73). New York: Nova Biomedical.
- Erickson, G.F. (1995).** The ovary: Basic principles and concepts. En: P. Felig, J.D. Baxter, A.E. Broadus, & L.A. Froman (Eds.): *Endocrinology and Metabolism* (2da. ed., Vol. 1). New York: McGraw-Hill.
- Feder, H.H., Brown-Grant, K., & Corker, C.S. (1971).** Pre-ovulatory progesterone, the adrenal cortex and the "critical period" for luteinizing hormone release in rats. *Journal. Endocrinology*, 50(1), 29-39.
- Flores, A., Gallegos, A.I., Velasco, J., Mendoza, F.D., Montiel, C., Everardo, P.M.,... 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 and Endocrinology*, 6(48), 1-7.
- Flores, A., Meléndez G., Palafox, M.T., Rodríguez, J.O., Barco, A.I., Chavira, R.,... Domínguez R. (2005).** The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine*, 28(2), 145-151.
- Flores, A., Rodríguez, J.O., Palafox, M.T., Meléndez, G., Barco, A.I., Chavira, R.,... 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.
- Fox, S.I. (2008).** Fisiología humana (10° ed.). México: McGraw Hill.
- García, A. (2019).** Las glándulas adrenales regulan de manera estimulante y asimétrica el proceso ovulatorio durante la etapa de diestro-2 o proestro. Servicio social. UNAM, FES Zaragoza.
- Gómez-Chang, E., Larrea, F., Martínez-Montes, F. (2012).** Vías de señalización asociadas a la esteroidogénesis. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 15(1), 24-36.
- Gutiérrez, M., Silva, C., Benítez, D., Muñoz, J., Flores, A. (2015).** Las adrenales regulan la ovulación de manera asimétrica por la tarde del ciclo estral de la rata. 11°

Congreso de Investigación de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM (BI-38/35). México, DF.

**Guzmán, M.G.** (2014). Participación de las adrenales en la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas y su dependencia de la inervación vagal. La rata adulta cíclica como modelo de estudio (Tesis para obtener el grado de Maestra en Ciencias Biológicas). Fes Zaragoza, UNAM. Recuperado de: <http://132.248.9.195/ptd2014/noviembre/0721911/Index.html>

**Humprey, R.R, Dermody, W.C., Brink, H.O., Bousley, F.G., Schottin, R., Sakowski, J.W.,... Reel, J.R.** (1973). Induction of luteinizing hormone (LH) release and ovulation in rats, hamsters, and rabbits by synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Factor (LRF). *The Endocrine Society*, 92(5), 1515-1526.

**Hunzicker, D.M. y Mayo, K.** (2015). Gonadotropin signaling in the ovary. En: T. Plant, & A. Zeleznik (Ed.), *Physiology of Reproduction* (4th ed., Vol. 1, pp 897-945). USA: Academic Press.

**Jopek, K., Tyczewska, M., Celichowski, P., Melendowicz, L.K., Rucinski, M.** (2018). Transcriptome profile in unilateral adrenalectomy-induced compensatory adrenal growth in the rat. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1-17.

**Kaipia, A., y Hsueh, A.J.** (1997). Regulation of ovarian follicle atresia. *Annual Review of Physiology*, 59(1), 349-363.

**Kalantaridou, S.N., Makrigiannakis, A., Zoumakis, E., Chrousos G.P.** (2004). Stress and the female reproductive system. *Journal of Reproductive Immunology*, 62(1-2), 61-68.

**Kigata, T., y Shibata, H.** (2017). Anatomical variations of the arterial supply to the adrenal gland in the rat. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 79(2), 238-234.

**Lee, S., Germé, K., Graham, M.D., Roy, P., Gardner, J., Rosenbaum, S.,... Pfau, J.G.** (2015). Vagino-cervical stimulation attenuates the sensitization of appetitive sexual behaviors by estradiol benzoate in the ovariectomized rat. *Hormones and Behavior*, 75(1), 70-77.

**Levine, J.** (2015). Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: T. Plant, & A. Zeleznik (Eds.), *Physiology of Reproduction* (4th ed., Vol. 1, pp.1199-1257). USA: Academic Press.

**Mahesh, V.B. y Brann, D.W.** (1992). Interaction between ovarian and adrenal Steroids in the regulation of gonadotropin secretion. *The Journal Steroid Biochem Molecular Biology*, 41(3), 495-513.

**Malamed, S., Gibney, J.A., Ojeda S.R.** (1992). Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. *Cell and Tissue Research*, 270(1), 87-93.

**Malendowicz, L., Guidolin, D., Trejter, M., Rucinski, M., Porzionato, A., De Caro, R., Nowak, M.** (2009). Neuromedin-U inhibits unilateral adrenalectomy-induced compensatory adrenal growth in the rat. *Peptides*, 30(1), 935-939.

**Marraudino, M., Martini, M., Trova, S., Farinetti, A., Ponti, G., Gotti, S., Panzica, G.** (2018). Kisspeptin system in ovariectomized mice: Estradiol and progesterone regulation. *Brain Research*, 1688(1), 8-14.

**Mashhadi, M., Reza, S., Abbas, T., Arian, A.** (2008). Effects of peritoneal exposure to povidone iodine, heparin and saline in post surgical adhesion in rats. *Journal of Research in Medical Sciences*, 13(3), 135-140.

**Matsuda, F., Inoue, N., Manabe, N., Ohkura, S.** (2012). Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells. *Journal of Reproduction and Development*, 58(1), 44-50.

**Mayerhofer, A., Dissen, G.A., Costa, M.E., Ojeda, S.R.** (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology*, 138(8), 3320-3329.

**McCosh, R., Breen, M.K. Kauffman, A.S.** (2019). Neural and endocrine mechanisms underlying stress-induced suppression of pulsatile LH secretion. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 498(1), 1-8.

**Melmed, S., Polonsky, K.S., Larsen, R., Kronenberg, H.M.** (2011). Williams Textbook of Endocrinology (12th ed.). Philadelphia, P.A: Saunders Elsevier.

**Mendoza, F.D.** (2007). Estudio de la participación de la inervación del ovario por el nervio ovárico superior en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol: interacciones entre los ovarios y las adrenales en el día del diestro-2 de la rata (Tesis para obtener el grado de biólogo). Fes Zaragoza, UNAM. Recuperado de: <http://132.248.9.195/pd2008/0624182/Index.html>

**Meng, L., Jan, S.Z., Hamer, G., Pelt, A., Stelt, I., Keijer, J., Teerds, K.J.** (2018). Preantral follicular atresia occurs mainly through autophagy, while antral follicles degenerate mostly through apoptosis. *Biology of Reproduction*, 99(4), 853-863.

**Micevych, P., Sinchak, K., Mills, R.H., Tao, L., LaPolt, P., Lu, J.** (2003). The luteinizing hormone surge is preceded by an estrogen-induced increase of hypothalamic progesterone in ovariectomized and adrenalectomized rats. *Reproductive neuroendocrinology*, 78(1), 29-35.

**Miller, W.L., & Auchus, R.J.** (2011). The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocrine Reviews*, 32(1), 81-151.

**Monniaux, D., Cadoret, V., Clément, F., Dalbies, R., Sébastien, E., Fabre, S.,...**

- Uzbekova, S.** (2018). Folliculogenesis. En: I. Huntaniemi & L. Martini (Eds.). *Encyclopedia of endocrine diseases* (2da ed., vol. 2, pp. 377-398).
- Oakley, O., Frazer, M.L., Ko, C.** (2011). Pituitary-ovarian-splenic axis in ovulation. *Trends endocrinology metabolism*, 22(9), 345-352.
- Orisaka, M., Orisaka, S., Jiang, J.Y., Craig, J., Wang, Y., Kotsui, F., Tsang, B.K.** (2006). Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Molecular Endocrinology*, 20(10), 2456-2468.
- Palermo, R.** (2007). Differential actions of FSH and LH during folliculogenesis. *Reproductive Biomedicine Online*, 15(3), 326-337.
- Palestín, C., Rosas, N., Morales, L., Linares, R., Domínguez, R., Morán, C.** (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of Ovarian Research*, 10(18), 1-7.
- Palumbo, A. y Yeh, J.** (1994). In situ localization of apoptosis in the rat ovary during follicular atresia. *Biology of Reproduction*, 51(1), 889-895.
- Pangas, S.** (2015). Follicular development: mouse, sheep and human models. En: T. Plant, & A. Zeleznik (Eds.), *Physiology of Reproduction* (4th ed., vol. 1, pp. 974-945). USA: Academic Press.
- Parker, T.L., Kesse, W.K., Mohamed, A.A., Afework, M.** (1993). The innervation of the mammalian adrenal gland. *Journal of anatomy*, 183(Pt 2), 265.
- Paxinos., G y Watson, C.** (2005). The rat brain in stereotaxic coordinates (5ta ed.). USA, Elsevier academic press.
- Pedersen, T., y Peters, H.** (1968). Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *F. Reproduction and fertility*, 17(1), 555-557.
- 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.
- Picut, C.A., Dixon, D., Simons, M.L., Stump, D.G., Parker, G., y Remeck, A.K.** (2014). Postnatal ovary Development in the rat: morphologic study and correlation of morphology to neuroendocrine parameters. *Toxicologic Pathology*, 20(1)1-11.
- Ramírez, D.A., Vieyra, E., Rosas, G., Linares, R., Espinoza, J., Chaparro, A., Domínguez, R., Morales, L.** (2020). Role of the superior ovarian in the regulation of follicular Development and steroidogenesis in the morning of diestrus 1. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 37(1), 1477-1488.
- Richards, J. y Liu, Z.** (2015). Ovulation. En: T. Plant, & A. Zeleznik (Ed.), *Physiology of Reproduction* (4th ed., Vol. 1, pp. 997-1021). USA: Academic Press.
- Rosas, G., Linares, R., Ramírez, D.A., Vieyra, E., Trujillo, A., Domínguez, R., Ledesma, L.** (2018). The neural signals of the superior ovarian nerve modulate in an

asymmetric way the ovarian steroidogenic response to the vasoactive intestinal peptide. *Frontiers in Physiology*, 9(1142), 1-9.

**Rosenfeld, C., Wagner, J., Roberts, R., Lubahn, D.** (2001). Intraovarian actions of oestrogen. *Reproduction*, 122(2), 215–226.

**Ross, M.H., y Pawlina, W.** (2015). Female reproductive system. En: M.H., Ross, & W. Pawlina (Eds.), *Histology A text and atlas with Correlated cell and Molecular Biology* (7th ed., pp. 834-847). Argentina: Panamericana.

**Ruetti, E., Mustaca, A., Bentosela, M.** (2008). Memoria emocional: efectos de la corticosterona sobre los recuerdos. *Revista latinoamericana de psicología*, 40(3), 461-474.

**Sabogal, A., Mayorga, E., Gallego, G., Bonilla, A., Bonilla, L., Navarro, D.,...Francis L.** (2013). Characterization of oestrus and associated behaviors in a population of *proechimys chrysaerolus* Held in captivity. *Revista Tumbago*, 2(8), 13-28.

**Sepúlveda, M.T., Sabanero, M., Durán, E., Flores, L., Ramírez, J., Solís, M.S.** (2011). Ciclo estral del ratón hembra intacto y ovariectomizado. *Acta universitaria*, 22 (2), 5-8.

**Smith, M.F., McIntush, E.W. y Smith, W.** (1994). Mechanisms associates with corpus luteum Development. *Journal Animals Sciences*, 72(1), 1857-1872.

**Smith, M.S., Freeman, M.E., 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 of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology*, 96 (1), 219-226.

**Stouffer, R.L., y Hennebold, J.** (2015). Structure, function, and regulation of the corpus luteum. En: T. Plant, & A. Zeleznik (Ed.), *Physiology of Reproduction* (4th ed., Vol. 1, pp. 1023-1076). USA: Academic Press.

**Tain, C.F., Goh, V.H.H., NG, S.C.** (2000). Effects of hyperstimulation with Gonadotrophins and age of females on oocytes and their metaphase II status in rats. *Molecular Reproduction and Development*, 55(1), 104-108.

**Tesone, M.** (2007). Reproducción Humana (1ra ed.). México: Eudeba.

**Tischler, A.S.** (2002). Chromaffin cells as models of endocrine cells and neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 971(1), 366-370.

**Tiwari, M., Prasad, S., Tripathi, A., Pandey, A., Ali, F., Singh, A., Shrivastav, T., Chaube, S.** (2015). Apoptosis in mammalian oocytes: a review. *Springer*, 20(1), 1019-1025.

**Tresguerres, J.A., y Castillo, C.** (2005). Fisiología del eje hipotálamo-hipófisis-ovárico. En: J.A. Tresguerres (Ed.), *Fisiología Humana* (3ra ed., pp.1007-1022). México:



McGraw-Hill.

**Uchida S. y Kagitani F.** (2019). Neural mechanisms involved in the noxious physical stress-induced inhibition of ovarian estradiol secretion. *The Anatomical Record*, 302(6), 904-911.

**Uribe-Arcila, J.F.** (2014). Hipogonadismo nueva propuesta de clasificación basada en el mecanismo inductor. *Urología Colombiana*, 23(2), 114-120.

**Wang, SF., Chen, XH., He, B., Yin, DD., Gao, HJ., Zhao, HQ.,...Xu, XB.** (2019). Acute restraint stress triggers progesterone withdrawal and endometrial breakdown and shedding through corticosterone stimulation in mouse menstrual-like model. *Reproduction*, 157(2), 149-161.

**Welschen, R. y Rutte, M.** (1971). Ovulation in adult rats after treatment with pregnant mare serum gonadotrophin during oestrus. *Acta Endocrinológica*, 68(1), 41-49.

**Whirledge, S., y Cidlowski, J.A.** (2010). Glucocorticoids, stress, and fertility. *Minerva Endocrinology*, 35(2), 109-125.

**Witorsch, R.J.** (2016). Effects of elevated glucocorticoids on reproduction and development: relevance to endocrine disruptor screening. *Critical Reviews in Toxicology*, 46(5), 420-436.

**Xing, Y., Lerario, A.M., Rainey, W., Hammer, G.D.** (2015). Development of adrenal cortex zonation. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 44(2), 243-274.

**Yen, S., Jaffe, R., Barbieri, R.** (2001). *Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico* (4th ed.). México: Panamericana.

**Zhou, J., Peng, X., Mei, S.** (2019). Autophagy in ovarian follicular Development and atresia. *International Journal of Biological Sciences*, 15(1), 726-737.





LXII CONGRESO NACIONAL  
SOCIEDAD MEXICANA DE  
CIENCIAS FISIOLÓGICAS, A.C



OTORGA LA PRESENTE CONSTANCIA A:

# Ana Paula García Vargas

QUIEN ASISTIÓ Y PRESENTÓ EL TRABAJO:

Las glándulas adrenales no regulan el proceso ovulatorio  
en las etapas de diestro-2 y proestro

POR:

García Vargas Ana Paula, Linares Súares Sindhel Aketzal, Gutiérrez Estrada Mónica Ingrid,  
Cruz Beltrán María Esther, Silva Méndez Carlos Camilo, Flores Ramírez Angélica

En la modalidad de cartel durante el LXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana  
de Ciencias Fisiológicas, A. C. del 11 al 15 de agosto del 2019 en la Ciudad de Querétaro, Qro.

Dr. Benjamín Florán Garduño  
Presidente de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas

Dra. Margarita Teresa de Jesús García Gasca  
Rectora de la Universidad Autónoma de Querétaro



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



# Constancia

Que otorga la  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA  
a través de la Unidad de  
Formación Integral

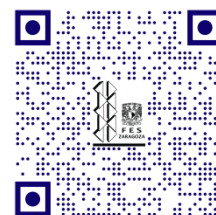
A Ana Paula García Vargas, Mónica Ingrid Gutiérrez Estrada, Eduardo Martínez García, Carlos Camilo Silva Méndez y Angélica Flores Ramírez

Por su participación en la modalidad **Exposición oral**, con el Tema: *“Las glándulas adrenales modulan de manera asimétrica la secreción de la GnRH a las 15:00 horas del diestro-2 y el proestro en la rata adulta”*, en el marco del **XXVI Foro de Investigación Escolar en Biología**; organizado por la Carrera de Biología, el día 25 de septiembre del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”  
Ciudad de México, 10 de noviembre del 2020.

3561061617156055031660109

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad  
Director







UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



# Constancia

Que otorga la  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA  
a través de la Unidad de  
Formación Integral

A Ana Paula García Vargas, Mónica Ingrid  
Gutiérrez Estrada, Carlos Camilo Silva Méndez  
y Angélica Flores Ramírez

Por su participación en modalidad de **Cartel** con el trabajo  
titulado: “*¿Cómo participan las glándulas adrenales a las 15:00  
h en la etapa de diestro-2 o proestro sobre la ovulación?*”, en el  
marco del **XXIV Foro de Investigación Escolar en Biología**;  
organizado por la Carrera de Biología, el día 9 de agosto del año  
en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”  
Ciudad de México, 20 de septiembre de 2019.

  
Dr. Vicente Jesús Hernández Abad  
Director



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA  
DE MÉXICO



## Constancia

Que otorga la  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES ZARAGOZA  
a través de la Unidad de  
Formación Integral

A Ana Paula García Vargas, Mónica Ingrid Gutiérrez Estrada, Eduardo Martínez García, Carlos Camilo Silva Méndez y Angélica Flores Ramírez

Por su participación en modalidad de **Cartel** con el trabajo titulado: *“La adrenal derecha regula la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas por la tarde del proestro”*, en el marco del **XXV Foro de Investigación Escolar**; organizado por la Carrera de Biología, el día 31 de enero del año en curso.

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Ciudad de México, 4 de febrero del 2020.

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad

Director