



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Lab. BIOLOGÍA DEL DESARROLLO. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“EFECTOS AGUDOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN EL DÍA DEL PROESTRO DE RATAS CON OVARIECTOMÍA, ADRENALECTOMÍA O AMBAS, SOBRE LA OVULACIÓN Y LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA Y 17 β -ESTRADIOL”

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:

JACQUELINE

VELASCO

MIRÓN



DIRECTORA DE TESIS
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT IN200405-3.

MÉXICO, D.F.

20 de noviembre de 2007



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

EFFECTOS AGUDOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR EN EL DÍA DEL PROESTRO DE RATAS CON OVARIECTOMIA, ADRENALECTOMIA O AMBAS, SOBRE LA OVULACIÓN Y LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA Y 17- β ESTRADIOL.

Tesis presentada por: Jacqueline Velasco Mirón

Directora de tesis: M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Realizada en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción

Durante esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT convenio IN200405-3.

AGRADECIMIENTOS

Con amor y profundo agradecimiento:

A mis padres.

En especial a mi admirable mamá Ana María, por su sabiduría, bondad, cariño incondicional, humanidad y apoyo, por sus bendiciones, porque complementa los días de mí existir, llenándolos de alegría y paz.

A mi familia porque siempre me motivan para seguir adelante.

A Luis J. M. por el gran amor que nos une, por la comprensión y la alegría de disfrutar y compartir juntos cada día.

Con todo cariño a:

Mis hermanos: Isaac, Ariana y Julio Enrique,
por lo gratificante que es el compartir lazos de alegría,
de comprensión, de paz, de felicidad.

Mis amigas: Norma Z, Norma M, Laura, Viridiana, Araceli, Paola, Teresa,
Pamela, Aiko, Gladys, Cristina y Karina,
porque las virtudes de cada una, generan alegría en la vida de cuantos
tenemos el júbilo de conocerlas.

Mi gran amiga, Nadia, porque siempre está ahí para mí.

Mi abuelita, Juana, por la sabiduría y el cariño que emana.

A mis primos y tíos.

A la Dra. Adriana, Dr. Román y Sr. Abelardo G.,
por su amistad y valiosa cooperación técnica,
tanto en el cuidado como en el mantenimiento de las ratas.

A mis maestros,
porque representan el pilar de mi formación profesional.

Con sincero agradecimiento:

A mi tutora, Angélica Flores R,
porque representa el principal estímulo para seguir superándome
académica y profesionalmente,
por que su constante confianza en mí ha sido determinante
para obtener este grado y demás logros académicos.

A los miembros del jurado:
Dr. Roberto Domínguez Casalá,
M en IBSH Angélica Flores Ramírez,
Dra. Ma. Esther Cruz Beltrán,
Biól. Marisela Valdez Ruiz y
Biól. Carlos Martínez Montoya,
por la revisión de este estudio y sus valiosas sugerencias.

ÍNDICE

RESUMEN.1
MARCO TEÓRICO.	4
❖ Ovario.	4
❖ Inervación del ovario.	4
❖ Nervio Ovárico Superior.	5
○ Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior.	6
○ Estimuladores.	11
○ Neurotransmisores.	11
○ Bloqueadores.	12
❖ Compartimientos del ovario.	14
❖ Funciones del ovario.	19
○ Ovulación.	19
○ Esteroidogénesis.	22
❖ Ciclo estral.	31
❖ Glándulas suprarrenales.	32
○ Inervación.	33
○ Regulación de la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH).	34
❖ Relación funcional ovarios-adrenales.	36
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	39
HIPOTESIS.	40
OBJETIVOS.	41
MATERIALES Y MÉTODOS.	42
RESULTADOS.	46
❖ Efectos de la anestesia o laparotomía.	46
❖ Efectos de la ovariectomía o adrenalectomía unilateral.	46
❖ Efectos de la ovariectomía o adrenalectomía bilateral.	48
❖ Efectos de la sección unilateral o bilateral del Nervio Ovárico Superior.	49
❖ Efectos de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior en animales con ovariectomía unilateral.	50

❖ Efecto de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior en animales con adrenalectomía unilateral.	51
DISCUSIÓN.	54
CONCLUSIONES.	61
BIBLIOGRAFÍA.	62

RESUMEN

La integración del sistema inmunológico, endocrino y nervioso permite hacer frente a las demandas cambiantes del medio, ya que regulan las actividades metabólicas de todos los sistemas orgánicos y mantienen en equilibrio los procesos fisiológicos.

En la reproducción, la ovulación y secreción de progesterona y estradiol por los ovarios es regulada por la interacción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH) que actúan sobre los folículos y los cuerpos lúteos. La secreción de las gonadotropinas (FSH y LH), es regulada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) secretada por neuronas hipotalámicas. La progesterona también es secretada por las adrenales. El hipotálamo produce la hormona liberadora de la corticotropina (CRH), la cual llega a la adenohipófisis por el sistema portal hipotalámico-hipofisiario y estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica hipofisiaria (ACTH), la cual actúa en las adrenales, estimulando la secreción de sus hormonas.

Las interacciones funcionales entre las adrenales y los ovarios también pueden observarse en hallazgos patológicos y estudios experimentales. Algunas de estas patologías están asociadas a una mayor actividad de las fibras simpáticas, es decir las que llegan al ovario vía el nervio ovárico superior (NOS).

En este estudio se propone que la información nerviosa que reciben los ovarios por medio del NOS modula la respuesta de los compartimientos endocrinos de la gónada a los efectos estimulantes e inhibitorios que ejercen las gonadotropinas y las hormonas adrenales. La vía nerviosa de la que forma parte el NOS vincula la recepción de información nerviosa proveniente de los ovarios con el sistema nervioso central (SNC) y dado que las adrenales y los ovarios reciben información nerviosa proveniente del ganglio celíaco-mesentérico superior, se propone que este puede servir como puente de comunicación nerviosa entre ambos órganos. La participación de la

inervación en los mecanismos que regulan las funciones del ovario varían en función del día del ciclo estral, por ello en este estudio se analizaron los efectos agudos de la sección del NOS en animales enteros o con extirpación de un ovario o una adrenal en el día del proestro de la rata adulta, sobre la ovulación y la secreción de progesterona y 17- β estradiol como indicadores de la regulación de las funciones del ovario por parte de las adrenales y del NOS.

Los resultados mostraron que la anestesia y laparotomía no modificaron los parámetros evaluados. La ovariectomía unilateral resultó en menor número de ovocitos liberados, pero no se modificó la tasa de animales ovulantes. La concentración de progesterona fue menor, sin importar el ovario extirpado, no así la concentración de 17- β estradiol que resultó mayor al extirpar el ovario derecho. Los resultados indican que ambos ovarios aportan progesterona a la circulación, el ovario izquierdo secreta más 17- β estradiol, que el ovario derecho y hay mayor compensación ovulatoria por parte del ovario derecho.

Los resultados de la adrenalectomía unilateral o bilateral, resultaron en menor tasa de animales ovulantes y de la concentración de progesterona; no así la concentración de 17- β estradiol que fue mayor que en el grupo con laparotomía. No se modificó en el número de ovocitos liberados. Este hallazgo apoya la idea de que las adrenales son la principal fuente de progesterona y que regulan de manera estimulante la ovulación, por medio de la secreción de progesterona y su efecto inhibitorio sobre la secreción de 17- β estradiol por los ovarios.

La sección del NOS derecho o la sección bilateral resultó en disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho respecto a la de los animales testigo. La concentración de progesterona, fue menor en todos los grupos experimentales con sección del NOS, mas no la de 17- β estradiol. Por lo tanto el NOS regula principalmente el proceso ovulatorio y la secreción de progesterona.

El efecto de la sección del NOS derecho en animales con ovariectomía izquierda resultó en menor número de ovocitos liberados, mientras que no se modificó la tasa de animales ovulantes y la concentración de progesterona y 17- β estradiol. Los resultados indican que el NOS derecho modula de manera estimulante la ovulación.

El efecto de la sección del NOS del lado derecho en los animales con extirpación de la adrenal derecha (Adx-D+NOS-D), bloqueó la ovulación del ovario derecho y no modificó la concentración de progesterona y 17- β estradiol. Por lo tanto, el NOS del lado derecho estimula la ovulación. La sección del NOS-I en animales con adrenalectomía izquierda resulta en menor concentración de 17- β estradiol y no se modifica la ovulación ni la concentración de progesterona. Por ende, la información que llega a los ovarios a través del NOS en el día del proestro es lateralizada. Nuestros resultados indican que los efectos de la adrenalectomía unilateral sobre la ovulación implicarían una hiperactividad del NOS derecho, ya que su sección recupera la tasa de animales ovulantes de manera significativa, mientras que dicha hiperactividad no se presentaría en el NOS izquierdo.

Por ello se propone que la conexión entre las adrenales, los ovarios y el NOS ocurre a nivel del ganglio celiaco-mesentérico superior, desde donde se distribuiría la información nerviosa.

MARCO TEÓRICO

OVARIO

Los ovarios son órganos pares, dispuestos a uno y otro lado de la columna vertebral y se les considera como el órgano reproductor primario femenino. Son de forma ovalada. En la rata su superficie es irregular semejante a un racimo de uvas. Se localizan contra la pared pélvica en ambos lados en la parte superior de la misma. Sus funciones son: 1) la secreción de hormonas y 2) la liberación de ovocitos capaces de ser fecundados (Yao y Bahr, 1999).

Para su estudio en el ovario se distinguen tres zonas: la médula, corteza y el hilio. La médula consiste en una red vascular con tejido conectivo. La corteza es la estructura donde están localizados los folículos. El hilio es el sitio por donde salen las venas y los vasos linfáticos, y entran las ramas de la arteria ovárica, y nervios adrenérgicos y colinérgicos (Yao y Bahr, 1999).

INERVACIÓN DEL OVARIO

La inervación extrínseca del ovario está compuesta por fibras simpáticas, sensoriales y colinérgicas. La inervación simpática llega por el plexo ovárico (PO) y los nervios ováricos (Domínguez y col., 2003), que en la rata recibe el nombre de nervio ovárico superior (NOS) (Dissen y Ojeda, 1999); y la parasimpática vía el nervio vago (Domínguez y col., 2003). La inervación simpática consta de neuronas que contienen noradrenalina, péptido intestinal vasoactivo (VIP por sus siglas en

inglés) y neuropéptido Y (NPY), mientras que la inervación sensorial contiene fibras con sustancia P (SP) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés) (Dissen y Ojeda, 1999).

NERVIO OVÁRICO SUPERIOR

El Nervio Ovárico Superior (NOS) es un nervio simpático. La mayor parte de sus fibras son de tipo noradrenérgico y en menor proporción hay fibras vipérgicas (Dissen y Ojeda, 1999).

Localización

Se origina en neuronas del ganglio celíaco, cuyos axones constituyen el NOS (Sosa y col., 2004). Está en el borde libre del “ligamento suspensorio”, desciende por el límite inferior de la caja torácica hasta el ovario (Fig. 1, Burden y Lawrence, 1980). Entra por el hilio, asociado con los vasos sanguíneos, formando una red estrechamente relacionada con los folículos primordiales y en desarrollo, termina en las células de la teca interna, sin tener contacto con células de la granulosa o del cuerpo lúteo (Burden, 1978).

La participación del NOS en la regulación de las funciones del ovario se ha postulado a partir de los resultados obtenidos de la sección unilateral o bilateral de este nervio.

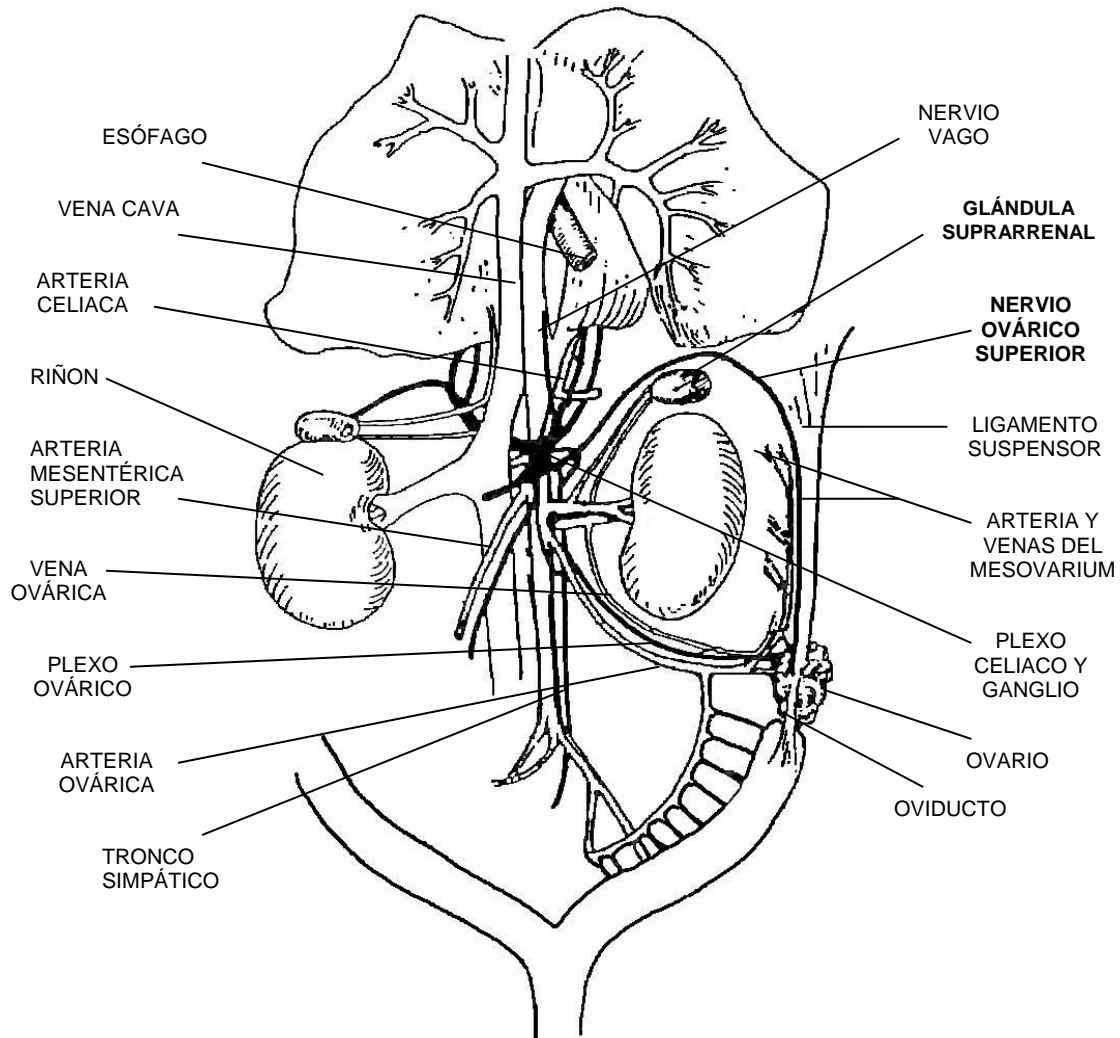


Figura 1. Representación esquemática de la trayectoria del nervio ovárico superior (NOS) desde su origen en neuronas posganglionares localizadas en el complejo ganglionar celiaco-mesentérico superior y extendiéndose a lo largo del ligamento suspensor para arribar al ovario. El NOS forma parte de la información simpática que recibe el ovario y es su principal vía de innervación noradrenérgica (Tomada de Lawrence y Burden, 1980).

Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior

En la rata prepúber la sección unilateral del NOS provoca la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario denervado. Esta respuesta varía con la edad del animal y el lado del NOS seccionado, es decir, el NOS modula la respuesta ovulatoria de manera estimulante y lateralizada. Este efecto no se

observa al seccionar el NOS bilateralmente (Morales y col., 1993). Sin embargo ratas de 32 días con previa denervación bilateral y tratados con gonadotropinas, la ovulación fue 50% más baja en el ovario derecho que en el izquierdo (Morales y col., 1998). Estos resultados indican que el NOS modula la capacidad de respuesta de los ovarios a las gonadotropinas de manera estimulante y asimétrica (Domínguez, 2003).

En la rata adulta la sección del ligamento suspensorio disminuye el contenido de noradrenalina ovárica y no se observa la presencia de nervios perivasculares y ni en la glándula intersticial (Burden y Lawrence, 1980).

La denervación del ovario por la sección unilateral del NOS en animal con ovariectomía unilateral realizada en cada etapa del ciclo estral, resulta en la disminución o falta de ovulación por el ovario denervado, efecto que varía según el día del ciclo estral en el que se realizó el tratamiento. La hipertrofia compensadora del ovario (HCO) fue mayor en las etapas de diestro-2 y proestro en el ovario derecho, y las del proestro y estro en el izquierdo. Mientras que la ovulación compensatoria (OC) sólo se observó en el ovario derecho (81% de 51%) (Chávez y Domínguez, 1994).

En ratas adultas la sección bilateral del NOS, en la mañana del proestro, resulta en la disminución aguda de la secreción de progesterona y estradiol. El mismo tratamiento realizado a las 16:00 horas, resulta en el aumento de la concentración de progesterona y no modifica la de estradiol. La sección del NOS

durante el estro no altera las concentraciones de esteroides, ni el flujo sanguíneo (Aguado y Ojeda, 1984).

En el día del diestro la estimulación eléctrica del NOS provoca liberación de progesterona del ovario de la rata (Aguado, 2002).

Esto muestra que la comunicación nerviosa aportada por el NOS modula ambas funciones de los ovarios.

En el día del diestro-1, la extirpación del ovario en un animal con sección unilateral del NOS afecta de manera asimétrica la respuesta aguda de la secreción de progesterona y estradiol. La extirpación del ovario derecho en un animal con sección del NOS izquierdo resulta en aumento de la concentración de progesterona y estradiol, mientras que la extirpación del ovario izquierdo en un animal con sección del NOS derecho resulta en la disminución de la concentración de progesterona y no se modifica la de estradiol. Los resultados son interpretados como indicación que el NOS izquierdo lleva información que regula de forma inhibitoria la secreción de progesterona y estradiol secretadas por el ovario izquierdo, mientras que el NOS derecho regula de forma estimulante la secreción de progesterona y no participaría en la regulación de la secreción de estradiol (Montiel y col., 2005).

En el día del proestro la extirpación de un ovario en un animal con sección del NOS afecta de manera aguda y asimétrica la concentración de progesterona, testosterona y estradiol. La extirpación del ovario izquierdo en un animal con sección del NOS derecho resulta en aumento de la concentración de estradiol. Los resultados muestran que la secreción de estradiol y testosterona en el animal con ovariectomía unilateral depende parcialmente de la integridad del NOS. En el día del proestro, el ovario derecho secreta más estradiol que el ovario izquierdo. El ovario izquierdo secreta más testosterona que el ovario derecho y que el NOS derecho modula de forma estimulante la secreción de estradiol y testosterona por el ovario (Gallegos y col., 2005). Además que la participación es diferente en el animal adulto y el prepúber (Morales y col., 1993; Albuquerque-Araújo y col., 1995).

Efectos de la sección del Nervio Vago

La regulación de la ovulación y la hipertrofia ovárica compensatoria (proceso de compensación funcional) está dada por dos caminos neurales diferentes: el nervio vago y el sistema noradrenérgico (Chávez y Domínguez, 1994).

Los efectos de la sección unilateral del nervio vago sobre la ovulación compensatoria y la hipertrofia ovárica dependen del ovario *in situ* y el lado del nervio seccionado (Chávez y col., 1987). La vagotomía realizada a ratas de 24 días de edad no modifica el número de ovocitos liberados al primer estro vaginal,

pero cuando es realizada a los 28 días incrementa la cuota ovulatoria (Morales y col., 2004)

En la rata prepúber, la vagotomía induce retraso en la edad de apertura vaginal, disminución en la concentración sérica de estrógenos, sin observar cambios en las concentraciones plasmáticas de la hormona estimulante del folículo (FSH por sus siglas en inglés) o de la hormona luteinizante (LH por sus siglas en inglés). Estos resultados indican que el nervio vago no modifica el papel de las gonadotropinas, pero si el proceso de esteroidogénesis (Ojeda y col., 1983).

En la rata adulta la sección unilateral del nervio vago, disminuye la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados y es variable de acuerdo a la etapa del ciclo estral (Cruz y col., 1986), ya que no lo modifica.

En la rata preñada la vagotomía incrementa el número de reabsorciones fetales, efecto que se acompaña de menores concentraciones de LH hipofisarias (Burden y col., 1983).

Efectos de la sección del Plexo Ovárico

La sección del plexo ovárico no modifica el contenido de noradrenalina ovárica (Burden y Lawrence, 1980).

Estimuladores

La síntesis de noradrenalina por el ovario en la fase folicular disminuye por la inyección de gonadotropinas de suero de yegua preñada (PMSG) (Aguado, 2002). En cambio, la inyección intrabursal de noradrenalina o de agonistas adrenérgicos resultó en el incremento del número de cuerpos lúteos en ratas prepúberes tratadas con PMSG (Aguado, 2002).

Los ovarios de ratas en diestro-1 (D1) incubados con VIP, NPY o SP con o sin noradrenalina, la liberación de progesterona es menor que en los controles, mientras que los efectos de los mismos neurotransmisores en los ovarios de rata en diestro-2 (D2) estimulan la liberación de la hormona (Garraza, Aguado y De Bortoli, 2004).

En un sistema de incubación ganglio celiaco-NOS-ovario obtenido de ratas en D1, la administración de 5-hidroxitriptamina en el ganglio celíaco, resulta en el aumento de la liberación aguda de progesterona (primera hora de evaluación), mientras que el mismo tratamiento en la preparación obtenida de ratas en D2 resulta en una menor secreción de la hormona (Aguado, 2002).

Neurotransmisores

La noradrenalina y el VIP, estimulan la secreción de esteroides ováricos. Mientras ambos estimulan la secreción de progesterona y andrógenos, sólo el VIP estimula la secreción de estradiol. La noradrenalina facilita el efecto estimulador de gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica. Tanto el VIP como la

noradrenalina estimulan la síntesis de receptores a la FSH, efecto que depende del día del ciclo estral en que se trate a los animales (Dissen y Ojeda, 1999).

En la coneja, la inyección intrafolicular de isoproterenol (β -agonista adrenérgico), resulta en un incremento transitorio y agudo en la secreción de progesterona, más no de estrógenos. En cultivos de células de cuerpos lúteos de bovinos y células luteales de ovino, la adrenalina, noradrenalina y el isoproterenol, estimulan la secreción de progesterona (Adashi y Hsueh, 1981).

El cultivo de células de la granulosa de ratas hipofisectomizadas tratadas con dietinilestradiol (DES) pre-incubadas con adrenalina, noradrenalina o isoproterenol, la adición de FSH, resulta en el incremento de la secreción de progesterona. Esto confirma que el receptor adrenérgico de las células de la granulosa está funcionalmente acoplado en efectos estimulantes de la FSH sobre la producción de progesterona (Adashi y Hsueh, 1981).

Bloqueadores

En el cuyo recién nacido, el bloqueo del desarrollo de la inervación simpática por inmunoneutralización del factor de crecimiento nervioso (NGF, por sus siglas en inglés), resultó en el retraso del desarrollo folicular, la pubertad, y disminución de la secreción de estradiol. Este resultado es interpretado como prueba de que el sistema nervioso modula procesos específicos de la función

ovárica y facilita la acción estimuladora de las gonadotropinas sobre el crecimiento folicular y la esteroidogénesis (Dissen y Ojeda, 1999).

En la rata recién nacida la administración de guanetidina resulta en el aumento del número de ovocitos liberados y retraso en la edad de apertura vaginal y del primer estro (Flores y col., 1990).

En la rata prepúber la simpatectomía química con guanetidina, disminuye la secreción de estrógenos y LH, retrasa la edad de la primera ovulación, altera el desarrollo folicular y los ciclos estrales subsecuentes (Lara y col., 1990; Lara y col., 1991; Albuquerque-Araújo y col., 1995).

En la etapa prepúber los efectos de la denervación sensorial por inyección de capsaicina al nacimiento, resulta en alteraciones agudas del crecimiento folicular y la esteroidogénesis, mismos que el día 28 (de edad) resultan en mayor número de folículos atrésicos y menor concentración de progesterona y estradiol (Morán y col., 2003).

La denervación noradrenérgica periférica, inducida por la administración de sulfato de guanetidina, resulta en una disminución significativa en el contenido de noradrenalina ovárica, efecto mayor en el ovario izquierdo que en el derecho. En esos animales la concentración de estrógenos y progesterona, así como el tamaño de los folículos fueron diferentes, dependiendo de la etapa del ciclo estral en el que fueron realizados (Trujillo y Riboni, 2002).

COMPARTIMIENTOS DEL OVARIO

Para su estudio en el ovario se distinguen tres compartimientos (Fig.2): 1) intersticial, 2) luteal o cuerpo (s) lúteo (s) y 3) folicular (en su evolución da origen a los otros dos) (Domínguez, 1997).

1.-Intersticial. También llamado glándula intersticial se localiza tanto en la parte interna de la corteza como en la médula (Yao y Bahr, 1999). Las células intersticiales son células de la teca interna de los folículos atrésicos que tienen receptores a LH (Domínguez y col., 1991).

2.-Luteal. Del latín “cuerpo amarillo”, debido a que en la mujer existe un pigmento en las células luteales. Una vez que el folículo madura y libera su ovocito, las paredes foliculares remanentes se colapsan (Jones, 1997). Las células luteinizadas de la teca y de la granulosa (células luteales) comienzan a dividirse e invaden la vieja cavidad antral. Este hecho es estimulado por la LH. Los vasos sanguíneos de la capa de la teca crecen y atraviesan la masa de células (Yao y Bahr, 1999). Estas células secretan progesterona en grandes cantidades y estradiol en menor proporción. En los animales de laboratorio, las hormonas hipofisiarias: prolactina y LH, participan en la regulación de la función luteal (Jones, 1997). Sí no ocurre la preñez, el cuerpo lúteo degenera (Yao y Bahr, 1999). En los animales con ciclo estral corto el cuerpo lúteo es de muy corta duración (Ruíz-Dura, 1988).

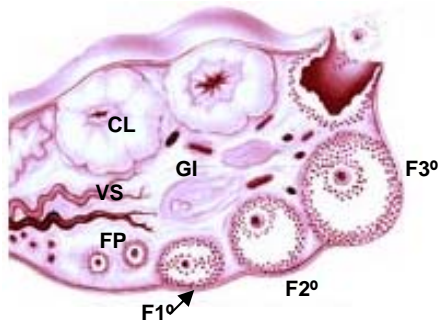


Figura 2. Compartimientos del ovario: intersticial (GI), luteal (CL) y folicular: folículo primordial (FP), primario (F1°), secundario (F2°) y terciario (3°). Vasos sanguíneos (VS). (Modificado de Dvorkin y Cardinali, 2003).

3.-Folicular. El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario.

Un folículo consiste en un ovocito, una capa de células foliculares y una membrana basal, que aísla a las células de la granulosa del resto de los componentes del ovario, las células tecales o teca intersticiales (o teca interna). El ovocito es una célula cuyo tamaño varía entre 20 y 70 μm de diámetro (Domínguez y col., 1991). Está provisto de material genético y nutrientes maternos para el desarrollo temprano del embrión (Yao y Bahr, 1999). En general los organelos citoplasmáticos del ovocito (retículo endoplásmico, aparato de Golgi, centriolos, mitocondrias, etc.) son los precursores directos de los mismos organelos de las diferentes líneas celulares que emergerán a partir del cigoto. Dependiendo del grado de desarrollo se clasifican en: primordial (la mayoría), primario, secundario y terciario o de Graff (Merchant, 1991). Se encuentran distribuidos en el estroma.

Crecimiento folicular

Comienza en la parte más interna de la corteza ovárica (Yao y Bahr, 1999). Durante cada etapa del ciclo, la preñez y la lactancia, varios folículos pasan del estado de reposo al de crecimiento. A medida que el conjunto de folículos en “reposo” disminuye, lo mismo ocurre con el número de los que entran en el proceso crecimiento. El inicio del crecimiento folicular en la **rata**, dura 19 días desde que pasa del estado de “reposo” hasta que culmina con la ovulación (Domínguez y col., 1991), y durante este tiempo está expuesto por lo menos a cuatro “picos” de concentraciones plasmáticas de gonadotropinas (Domínguez y col., 1991). Las diferentes etapas del desarrollo que se presentan son:

1ª etapa: el ovocito está rodeado por: 1) células foliculares que se transforman gradualmente de planas a cuboidales, ordenadas en capas y 2) una capa simple de células de la teca (células del estroma adyacentes que adoptan características epiteliales). En conjunto constituyen el **folículo primario** (Yao y Bahr, 1999). El ovocito y las células de la granulosa adyacentes quedan separados por una estrecha hendidura en la que se proyectan microvellosidades y prolongaciones más grandes desde ambos tipos celulares. En este espacio o hendidura se acumula material amorfo que se condensa gradualmente formando la zona pelúcida, una capa glucoproteica que se condensa gradualmente (Fawcett, 1995).

2ª etapa: caracterizada por la proliferación notable de las células foliculares hasta formar una capa múltiple (2 o 6) de células llamadas de la granulosa. La

proliferación celular es estimulada por la FSH y el estradiol. La capa de las células de la teca permanece indiferenciada. En esta etapa el folículo recibe el nombre de **folículo secundario** (Yao y Bahr, 1999). Dentro de la masa celular se comienzan a secretar líquido y se forma una cavidad (antro folicular). Este “líquido folicular” se origina por el flujo de componentes plasmáticos y la secreción por parte de las células de la granulosa (al principio se acumula entre ellas), las cuales ya superan cuatro capas. En el líquido folicular se encuentran hormonas esteroides (progesterona, andrógenos, estrógenos) y proteicas (FSH, LH, inhibina, activina, relaxina, prolactina, etc.), polipéptidos, gonadocrininas, noradrenalina, anticoagulantes, enzimas y electrolitos, cuyas concentraciones son similares a las del suero sanguíneo y varían durante el ciclo estral (Domínguez y col., 1991; Yao y Bahr, 1999).

3ª etapa: La capa de la teca está diferenciada en: células de la teca interna y células de la teca externa. En esta etapa es llamado **folículo terciario o de Graff**. El antro sigue aumentando de tamaño hasta abombar el folículo hacia el exterior por la superficie del ovario. En varios de los folículos dominantes se encuentra un ovocito encerrado en un montículo sobresaliente de células de la granulosa (cúmulus ooforo) (Domínguez y col., 1991; Yao y Bahr, 1999).

4ª etapa: en plazo de pocas horas después de la maduración del folículo y un ambiente hormonal idóneo, la superficie se rompe y libera el ovocito y el líquido folicular hacia la trompa uterina, proceso que recibe el nombre de ovulación. Para que se produzca la ovulación es necesario un proceso inflamatorio

localizado, en la zona externa del folículo, hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento de las prostaglandinas en el área (Guyton y Hall, 2001). En la rata y el ratón como en la especie humana, el ovocito abandona el folículo en la etapa de metafase II. Para que se complete el proceso meiótico, se requiere el estímulo de la fertilización del ovocito (Merchant, 1991).

5ª etapa: inmediatamente después de la ovulación los otros folículos vesiculares, dejan súbitamente de crecer y comienzan a reabsorberse sin que se presente la ovulación (Domínguez y col., 1991).

El “pico” de FSH que se presenta en la tarde del proestro y en la mañana del estro seleccionará los folículos que van a crecer hasta alcanzar la etapa preovulatoria en el próximo ciclo. El “pico” de LH que produce en la tarde del proestro además de inducir la ovulación, produce cambios sustanciales en aquellos folículos preovulatorios o con antro muy desarrollado que los lleva a la atresia (Domínguez y col., 1991). El crecimiento folicular en los roedores de ciclo estral breve (4 o 5 días), no parece depender de la presencia de los folículos seleccionados para la ovulación y de las concentraciones de las gonadotropinas, si no de las condiciones internas del ovario. Resultados obtenidos en animales tratados con gonadotropinas y denervación catecolaminérgica, revelan que la respuesta folicular y la velocidad del crecimiento de los folículos con denervación difieren a la de los innervados (Domínguez y col., 1991).

FUNCIONES DEL OVARIO

Ovulación

Es la culminación del crecimiento y la diferenciación folicular, expresado en la liberación del ovocito por el folículo, cuando éste ha alcanzado el tamaño y el grado de diferenciación adecuado, lo que depende de la especie en estudio (Domínguez y col., 1991). En los mamíferos, es el único fenómeno biológico que requiere un rompimiento del tejido saludable de la superficie del ovario (Espey, 1999).

Regulación de la ovulación

Los folículos en crecimiento comienzan a secretar estrógenos y andrógenos, los que ejercen una retroalimentación estimulante que induce un súbito incremento en la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH por sus siglas en inglés) por las células secretoras del hipotálamo (Arimura, 2000).

La GnRH es un decapeptido cuya estructura primaria es pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ (peso molecular de 1182.4) (Gómez-Prieto y Velázquez-Paniagua, 2002). En los roedores la GnRH se sintetiza en neuronas del área preóptica del hipotálamo anterior (POA-AH), mientras que en primates los cuerpos celulares se encuentran localizados en el hipotálamo medio basal (MBH) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Domínguez, 1997; Halász, 2000). La GnRH es transportada a lo largo de axones y secretada de las terminales nerviosas dentro del sistema portal hipofisiario, donde existen capilares, que forman el plexo

primario del sistema porta-hipofisiario. Esta hormona viaja a través de las venas porta-hipofisiarias de la pars tuberalis hacia el plexo secundario compuesto por otra serie de capilares en la adenohipófisis. En esta región la GnRH estimula las células gonadotropas, las que secretan LH y FSH hacia el plexo venoso secundario, y por su intermedio pasan a la circulación general (Arimura, 2000; Brown, 1994; Espey, 1999). El estradiol estimula la expresión de receptores gonadotrópicos en la membrana plasmática de las células foliculares. Un folículo maduro cuando está dotado de la población adecuada de receptores gonadotrópicos, es sensible a LH y FSH (Espey, 1999).

La ovulación se produce 10 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas (Espey, 1999; Domínguez y col., 1991), lo cual se acompaña de cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células tecales y de la granulosa (Domínguez y col., 1991).

Durante la última etapa del crecimiento y la diferenciación folicular en las células de la granulosa y la teca se produce la desaparición de los desmosomas y los nexos, como consecuencia de la disminución de la concentración de estrógenos en el líquido folicular, mientras que aumenta la de progesterona. Cuatro a seis horas posteriores al inicio del proceso ovulatorio, los folículos comienzan a enrojecer, los capilares internos se dilatan y hay hiperhemia en el tejido. El ápice del folículo maduro sobresale por encima de la superficie ovárica, el cual comienza a ser traslúcido y balonado. La pared folicular gradualmente se adelgaza por degradación de las fibras colágenas, inducida por la fibrinolisisina

sintetizada por las células de la granulosa, que es activada por el plasminógeno, producto de las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991).

La síntesis y liberación del plasminógeno es estimulada por las gonadotropinas y la GnRH, las que también regulan la síntesis de un inhibidor de la fibrinólisis sintetizado por las células de la granulosa. La estimulación de la síntesis del plasminógeno por la LH parece estar mediado por las prostaglandinas, principalmente por la prostaglandina PGE, ya que si se inhibe su síntesis con indometacina, se bloquea la ovulación (Domínguez y col., 1991). La plasmina degrada la colágena de la pared folicular y disminuye su rigidez. La actividad de esta enzima es estimulada por la LH y los efectos de la hormona sobre el plasminógeno son incrementados por los estrógenos. La colagenasa es producida por los fibroblastos de la teca interna y su actividad es estimulada por el ácido ascórbico y la plasmina. En la porción más apical del folículo se forma una pequeña depresión y la ruptura ocurre minutos después, la cual depende de la correcta degradación de la pared folicular y la presión intrafolicular. Uno a dos minutos después de la ruptura, el ovocito y su corona radiada son empujados hacia afuera del ovario y se completa la ovulación (Espey, 1999).

Esteroidogénesis

La segunda función del ovario es la producción de hormonas, las cuales son clasificadas por la base de su estructura química o su función biológica (Brown, 1999). Las secretadas por las gónadas son de tres tipos: esteroides, proteícas y polipeptídicas (Domínguez, 1997).

Hormonas esteroides

Son derivados del colesterol (C₂₇) (Domínguez, 1997) y se sintetizan en tejidos endocrinos como las gónadas, adrenales y placenta; y en sitios extracelulares: cerebro, hueso, piel, hígado y numerosos tejidos (adiposo y fetales) (Brown, 1999; Hinshelwood, 1999). En la síntesis de hormonas esteroides por el ovario y las adrenales intervienen las mismas enzimas (Baird, 1982)

El núcleo de los esteroides deriva del colesterol (Fig. 3), es una molécula compleja de: tres anillos fenólicos (A-C), un anillo ciclopentano (D), una cadena de 6 carbonos, y grupos metilo (-CH₃) entre las uniones de los anillos A y B en el carbono 10 (C-10) y los anillos C y D en el carbono 13 (C-13), llamado núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno (Brown, 1999; Baird, 1982).

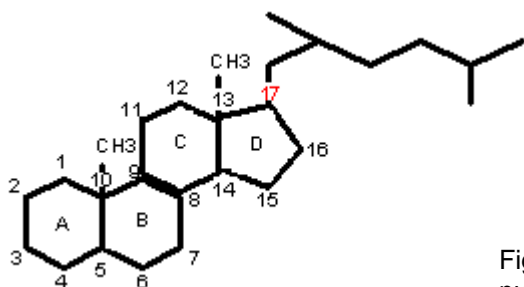


Figura 3. Fórmula del colesterol, mostrando la numeración convencional de los anillos y los átomos de carbono (Tomado de Baird, 1982).

Las células con función esteroidogénica obtienen el colesterol a partir de tres fuentes: 1) unido a lipoproteínas de alta o baja densidad en el torrente sanguíneo. En los roedores el colesterol viaja unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés) principalmente, mientras que en primates humanos y no humanos lo hace ensamblado a lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) (Domínguez y col., 1991). 2) colesterol sintetizado *de novo* a partir de acetato, producto del ciclo de Krebs, y 3) ésteres de colesterol, almacenado en vacuolas citoplasmáticas (Brown, 1999; Domínguez, 1997). El equilibrio entre los ésteres de colesterol almacenados y el colesterol libre está dado por un balance entre dos enzimas: 1) Acetil coenzima A (colesterol transferasa o colesterol ester sintetasa) y 2) colesterol esterasa (Brown, 1999). El producto final producido y secretado dependerá de: la naturaleza de la célula esteroidogénica y de la actividad de los sistemas enzimáticos intrínsecos (Yen y col., 2001).

Las células secretoras de esteroides se caracterizan por poseer abundante retículo endoplásmico liso, gotas de lípidos que contienen ésteres del colesterol y mitocondrias con crestas tubulares (Domínguez, 1997). En los ovarios el colesterol es metabolizado en progestinas, andrógenos y estrógenos.

Progestinas. Son la familia de los derivados del pregnano, con 21 átomos de carbono. La pregnenolona es esencial, debido a su posición clave es el precursor de todas las hormonas esteroides (Yao y Bahr, 1999). La progestina más abundante es la progesterona, producida como un intermediario sintético por

los folículos en todas las etapas de crecimiento del desarrollo y como un producto final de secreción del cuerpo lúteo y por las glándulas suprarrenales (Brown, 1999; Domínguez, 1997). La progesterona es una molécula constituida por 21 átomos de carbono y grupos metilo en posición 10 y 13 (C-10 y C-13) (Brown, 1999), estimula: el desarrollo final de lóbulos y alvéolos de la glándula mamaria (Ying y Zhang, 1999; Arias, 2003), la secreción de las células epiteliales y el depósito de glucógeno y lípidos en el endometrio, la reabsorción de Na^+ , Cl^- y H_2O en los tubos distales del riñón (Miller y Lavell, 1979), la síntesis de enzimas líticas requeridas en la ruptura de la pared folicular durante la ovulación (Arias, 2003), y la secreción de la GnRH (Domínguez, 1997). Relaja la musculatura lisa en todo el cuerpo, incluyendo la del útero (Miller y Lavell, 1979), vesícula y del tubo gastrointestinal. Reduce: la excitabilidad del miometrio (Baird, 1982; Ying y Zhang, 1999), la relación HDL/LDL colesterol, la sensibilidad a la insulina, la excitabilidad neuronal y el pH vaginal (Arias, 2003). Inhibe el efecto proliferativo de los estrógenos sobre el endometrio (Arias, 2003). Participa en la regulación de la conducta sexual de la hembra (Domínguez, 1997) y la secreción de gonadotropinas (Arias, 2003).

Andrógenos. Pertenecen a la familia de los derivados del androstano, con 19 átomos de carbono. Los metabolitos de andrógenos son: la dehidroepiandrosterona y androstenediona, los cuales son transformados en testosterona, que es el sustrato de conversión de los estrógenos. La capa de la teca del folículo es el origen primario de los andrógenos ováricos (Yao y Bahr, 1999), así como las células intersticiales e hiliares (Baird, 1982). Atraviesan la

membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa donde son aromatizados. Tienen efecto anabólico en el metabolismo de las proteínas y en varias especies participa en la regulación de la conducta sexual (Baird, 1982; Fortman y col., 1992)

Estrógenos. Pertenecen a la familia de los derivados del estrano, con 18 átomos de carbono (Brown, 1999), que en el anillo fenólico A de la molécula presenta tres dobles enlaces (Domínguez, 1997). El estrógeno que más secretan los ovarios es el 17β -estradiol, pero la variedad de hormonas estrogénicas incluye la estrona y el estriol. En el ovario, el estradiol y la estrona son sintetizados por células de la granulosa (Brown, 1999; Domínguez, 1997). Los estrógenos actúan directamente sobre el ovocito y las células de la granulosa y otros se difunden a la circulación general (Domínguez, 1991). Estimulan la receptividad sexual (estro) de la hembra (Yao y Bahr, 1999), e influyen sobre la temperatura corporal, textura de la piel, distribución de la grasa, división de las células de la granulosa, el crecimiento folicular; estimulan la contracción de la musculatura del oviducto y el batido de las cilias de las células epiteliales que tapizan la mucosa, las cuales, favorecen la captura del ovocito, y participan en numerosas funciones enzimáticas, circulatorias e inmunes (Brown, 1994).

Síntesis y regulación

En la figura 4, se muestran los pasos de la biotransformación del colesterol a estradiol. La conversión de colesterol en pregnenolona se realiza en la mitocondria. Este paso consiste en la remoción de los seis átomos de carbono de

la cadena lateral del núcleo colestano, dando como productos finales la pregnenolona y el ácido isocáproico. Esta reacción se realiza en la mitocondria en presencia de NADPH, oxígeno molecular y la enzima citocromo P₄₅₀_{scc}, que hidroxila al colesterol en los átomos de carbono 20 y 22 por la acción conjunta de la 20, 22-hidroxilasa y la 20, 22-desmolasa (Larrea y col., 1991).

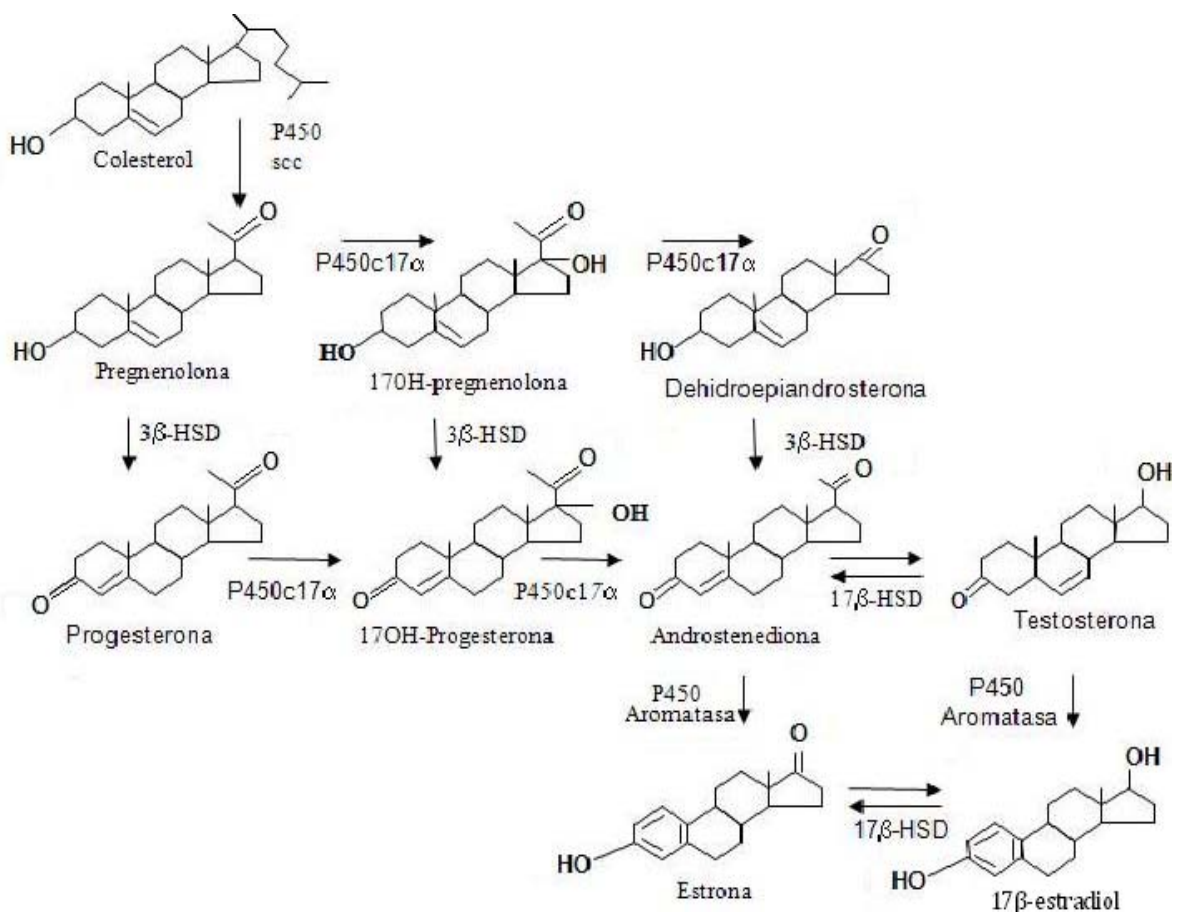


Figura 4. Ruta esteroidogénica en el ovario, a partir del colesterol (Tomado de Hinshelwood, 1999).

La conversión de pregnenolona a progesterona requiere de la acción de dos enzimas: 1) la Δ^5 , 3β hidroxisteroide-deshidrogenasa y la Δ^5 - Δ^4 isomerasa. El resultado es una estructura llamada Δ^4 -3cetona, localizado en la parte microsomal y el átomo de hidrógeno generado durante la reacción es captado por el NAD. Posteriormente la progesterona es convertida a los andrógenos: androstenediona y testosterona, por la 17α -hidroxilasa (Larrea y col., 1991), que actúa en la posición del átomo de carbono 17 eliminando la cadena lateral del carbono 21 (C-21). El andrógeno de 19 átomos de carbono a su vez es convertido a estrógeno de 18 átomos de carbono por hidroxilación, pérdida subsecuente de un grupo metilo en el átomo de carbono 19 y la aromatización del anillo A (Baird, 1982; Brown, 1999).

En este último paso de la síntesis intervienen dos tipos de células: 1) las de la teca y 2) las de la granulosa (Domínguez, 1997). La LH regula la secreción de andrógenos y estrógenos por las células de la teca y las de la granulosa respectivamente. Estimula la síntesis de sus receptores en las células de la teca ("up regulation"). Enseguida del "pico de LH", inhibe la síntesis de sus receptores en las células de la granulosa ("down regulation"), lo que disminuye la síntesis de estrógenos (Hsueh y col., 1983).

En las células de la granulosa (previamente estimuladas con FSH) la LH también estimula la síntesis y actividad de la aromatasas; lo que en la rata ocurre en la tarde del diestro 2. En el folículo preovulatorio, la síntesis de progesterona por

las células tecales y de la granulosa es estimulada por la LH, la prolactina y la noradrenalina, cuyos efectos son mediados por el adenosín monofosfato cíclico (AMPc) (Domínguez, 1991). En los folículos pre-antrales, las células de la granulosa carecen de receptores a LH y su síntesis es estimulada por los estrógenos y la FSH. La FSH estimula la secreción de estrógenos por las células de la granulosa; el complejo receptor-hormona actúa sobre el sistema de la adenilato ciclasa, provocando el aumento del AMPc y estimula la síntesis y la actividad de la aromatasa (Domínguez, 1991).

La acción sinérgica de la LH y FSH sobre la producción de andrógenos en células de la teca y la síntesis de estrógenos en las células de la granulosa, respectivamente, establecen la base de la teoría de la doble célula-doble hormona (Fig. 5; Yao y Bahr, 1999).

En las células de la granulosa el número de receptores a FSH es constante durante el ciclo estral de la rata, mientras que los de LH aparecen en diestro-1, aumentan en la tarde del diestro-2 y alcanzan su máximo antes del “pico de LH” y no a consecuencia de este. En la tarde del diestro-2 y mañana del proestro, en las células de la granulosa aparecen receptores a prolactina, resultado de la estimulación de FSH, LH y prolactina. Las células de la granulosa de los folículos preantrales también presentan receptores a prolactina (Domínguez, 1991).

La prolactina inhibe la actividad aromatásica de las células de la granulosa y bloquea los efectos de la FSH sobre las mismas, lo que disminuye la secreción de

estrógenos, y bloquea la síntesis de andrógenos en las células tecaes, (Domínguez, 1991).

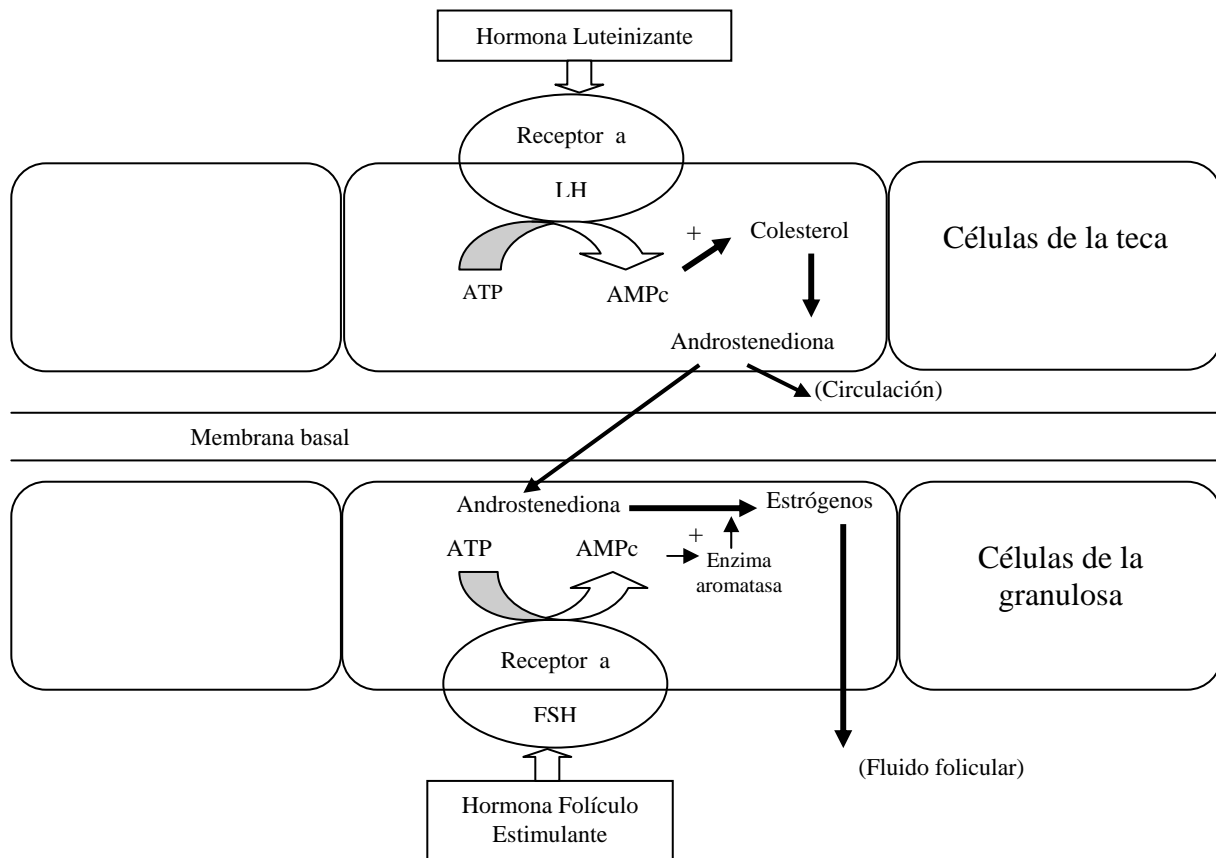


Figura 5. Teoría “doble célula, doble hormona” de la esteroidogénesis. (Tomado de Yao y Bahr, 1999).

La síntesis de estrógenos es regulada de manera estimulante por la noradrenalina y la prostaglandina E (PGE_2). Los efectos de la noradrenalina sobre las células de la granulosa no son directos, sino que requieren de la interacción con la FSH o la LH. En las células tecaes, la estimulación de los β -receptores provoca el aumento en la síntesis de progesterona y de andrógenos. La PGE_2 estimula la síntesis de estrógenos por las células de la granulosa y de progesterona por las células tecaes (Domínguez, 1991).

La regulación de la secreción de estrógenos además de la FSH, LH y prolactina, incluye otros factores de efectos generales acoplados a los de las gonadotropinas:

- a) la GnRH inhibe la síntesis de andrógenos en las células de la teca e impide los efectos estimulantes de la FSH sobre la actividad aromatásica de las células de la granulosa,
- b) la oxitocina inhibe la actividad de la 17α -hidroxilasa y la 20-22 desmolasa,
- c) el factor de crecimiento epidermal bloquea los efectos de la FSH sobre la aromataasa y la síntesis de receptores a la LH en las células de la granulosa,
- d) la vasopresina y la arginina-vasopresina (secretadas por el cuerpo lúteo), inhiben la secreción de estrógenos por un mecanismo semejante al de la oxitocina,
- e) los estrógenos y los corticoides adrenales inhiben la síntesis y secreción de estradiol, al modificar la síntesis de andrógenos por las células de la teca,
- f) los corticoides adrenales bloquean el desarrollo de los receptores a la LH, inducidos por la FSH, en las células de la granulosa (Domínguez, 1991).

CICLO ESTRAL

El término “estro” proviene de la palabra griega “oistros”, que significa “frenesí” (Kilen y Schwartz, 1999), y es definido como una cascada de eventos progresivos, sincronizados y repetitivos que involucran, conducta y factores hormonales, los cuales dependen de la liberación cíclica de las gonadotropinas y las hormonas ováricas (Domínguez, 1993).

Durante el ciclo estral la interrelación de señales provenientes del medio (visual, olfatoria, auditiva, etc.), el hipotálamo, la hipófisis, los ovarios y los órganos sexuales accesorios que están bajo el control del SNC, da repetitividad al ciclo. La duración es específica de la especie (Kilen y Schwartz, 1999).

La rata de laboratorio es un animal poliéstrico, no estacional, que ovula espontáneamente cada 4 ó 5 días durante todo el año, a menos que se interrumpa por la preñez o la pseudopreñez. (Kilen y Schwartz, 1999; Schwartz, 2000).

Para su estudio, al ciclo estral se le divide en cuatro etapas: diestro-1 o metaestro (D1), diestro-2 (D2), proestro (P) y estro (E) (Kilen y Schwartz, 1999), y puede estudiarse examinando los tipos celulares que aparecen en el frotis vaginal. En los días de diestro, el frotis vaginal muestra predominantemente leucocitos. En el proestro, el frotis se caracteriza por la presencia de células epiteliales

nucleadas, que cambian por la mañana del estro a células epiteliales escamosas y algunas células nucleadas (Kilen y Schwartz, 1999).

GLÁNDULAS SUPRARRENALES

Son glándulas endocrinas pares, ubicadas por encima o por encima y detrás del polo superior renal, rodeadas por la grasa perineal. Presentan una cápsula de tejido conectivo que se extiende en trabéculas hacia el interior del parénquima, por donde transcurren vasos sanguíneos y nervios. El riego sanguíneo de las adrenales es muy abundante, ya que reciben la mayor cantidad de flujo sanguíneo por gramo de tejido del organismo (Arias, 2003).

En la adrenal de los mamíferos se distinguen dos regiones (Fig. 5): 1) cortical (externa) y 2) medular (interna) (Brown, 1994).

1) Cortical. Es una glándula endocrina verdadera, que forma la capa externa de la glándula suprarrenal y secreta tres categorías de hormonas esteroides: mineralcorticoides, glucorticoides y esteroides sexuales. Está organizada en tres zonas (Arias, 2003; Brown, 1994):

1.1) Zona glomerular. Es la más externa y sintetiza y secreta mineralcorticoides (aldosterona y desoxicorticosterona).

1.2) Zona fasciculada. Corresponde a la parte media que secreta los glucocorticoides cortisol y corticosterona, y el esteroide androgénico dehidroepiandrosterona (DHA).

1.3) Zona reticular. Es la región interna donde se sintetizan progesterona y andrógenos.

2) Medular. La médula suprarrenal es un componente neuroendocrino que sintetiza y secreta las aminas vasoactivas, adrenalina y noradrenalina. La sangre que recibe la médula es rica en hormonas de la corteza, las cuales estimulan a las enzimas que participan en la síntesis de catecolaminas (Arias, 2003).

Inervación

La inervación de las adrenales se origina en mayor medida en los segmentos T8-T11 de la médula espinal. Algunas de estas fibras preganglionares hacen sinapsis con neuronas simpáticas posganglionares en el **ganglio celíaco** y estas fibras inervan los vasos sanguíneos de la suprarrenal (Stevens y Lowe, 1993). Además, numerosas fibras nerviosas mielínicas simpáticas preganglionares llegan directamente hasta las células parenquimatosas de la médula. Las fibras nerviosas simpáticas que llegan hasta las células cromafines de la médula establecen sinapsis colinérgicas, por lo que se considera a las células medulares como equivalente a las neuronas posganglionares (Ross y col., 1997).

Regulación de la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH)

La ACTH es una hormona hipofisiaria, secretada por el estímulo de la hormona liberadora de la corticotropina (CRH, por sus siglas en inglés). En respuesta a factores “estresantes” aumentan la secreción de CRH y ACTH. La CRH estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en las células corticotropas de la hipófisis anterior y actúa como un neuromodulador en el cerebro. La CRH estimula su propia secreción e inhibe la liberación de la hormona del crecimiento y de la GnRH, pero su secreción también está regulada por un número de neurotransmisores y neuropéptidos que incluyen la acetilcolina, serotonina, histamina y los opioides (Brown, 1994).

La CRH es una neurohormona de 41 aminoácidos (Ser-Glu-Glu-Pro-Pro-Ile-Ser-Leu-Asp-Leu-Thr-Phe-His-Leu-Leu-Arg-Glu-Val-Leu-Glu-Met-Ala-Arg-Ala-Glu-Gln-Leu-Ala-Gln-Gln-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH₂, (PM 4757.5) de origen hipotalámico (Arimura, 2000). Su síntesis se lleva a cabo principalmente en el núcleo paraventricular (PVN) y en el núcleo periventricular (Pva) del hipotálamo. En los núcleos: supraóptico (SON), dorsomedial (DMN) y ventromedial (VMN) también hay neuronas que sintetizan CRH (Brown, 1994).

La interacción de la CRH con sus receptores sobre membrana plasmática en los corticotropos hipofisarios activan la adenil ciclasa e incrementa la concentración de AMPc y el flujo transmembranal de calcio, lo que resulta en la estimulación de la secreción de la ACTH (Arimura, 2000). Una vez que es

secretada a la circulación general llega a la corteza adrenal (Fig. 6; Brown, 1994) e interactúa con sus receptores en las glándulas adrenales. La ACTH estimula la síntesis y la secreción inmediata de corticosteroides en la corteza adrenal; esteroides no sexuales (glucocorticoides y mineralocorticoides) y sexuales. A su vez, los corticosteroides ejercen un mecanismo de retroalimentación inhibitoria sobre el hipotálamo y la hipófisis (Arimura, 2000).

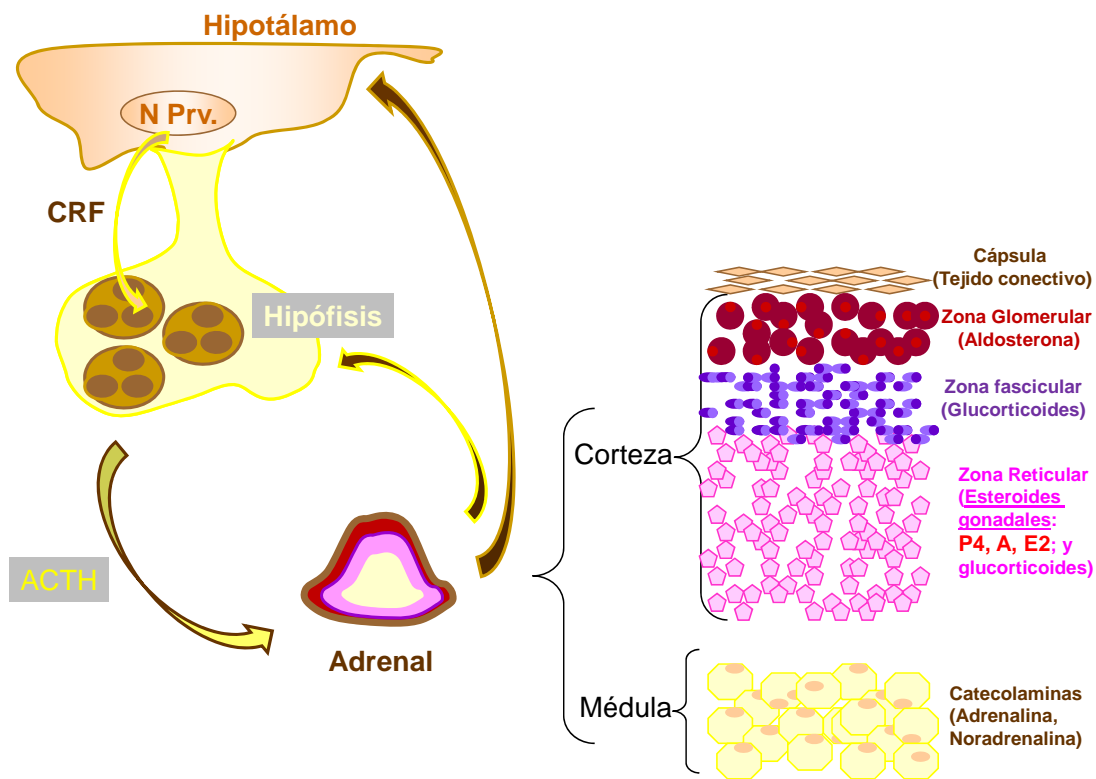


Figura 6. Elementos que componen el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, hormonas que intervienen en su regulación y capas que forman la suprarrenal, con sus principales productos de secreción (Modificado de Dvorkin y Cardinali, 2003).

RELACIÓN FUNCIONAL OVARIOS-ADRENALES

Las interacciones funcionales entre las adrenales y los ovarios están documentadas por estudios experimentales y por hallazgos patológicos. El aumento en la concentración sérica de glucocorticoides, en respuesta del estrés o por la presencia de tumores, afecta las funciones del ovario; la secreción hormonal y la ovulación (Fink, 2000; Halász, 2000; Levine, 2000; Malven, 2000). La actividad de las adrenales varía durante el ciclo estral (Figueiredo y col., 2002).

La adrenalectomía bilateral realizada a ratas hembra (extirpación de ambas glándulas) resultó en disminución del número de ovocitos liberados 30 días después de haber realizado la cirugía. Este resultado puso de manifiesto que las adrenales participan en forma estimulante en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la liberación de los ovocitos (Jacobs y Pepler, 1980). No obstante, los autores no especificaron la fase del ciclo estral en la cual se realizaron las operaciones quirúrgicas.

El mismo procedimiento en la etapa del proestro a las 13:00 horas, resultó en menor tasa de animales ovulantes (TAO) y concentración de progesterona, y aumento en la concentración de estradiol. El número de ovocitos liberados no se modificó. Asimismo el efecto de la ovariectomía en animales con adrenalectomía bilateral resultó en disminución: del número de ovocitos liberados, la TAO, la secreción de progesterona y estradiol (Flores y col., 2005).

La adrenalectomía aumenta la liberación de noradrenalina por los ovarios, el contenido de receptores β -adrenérgicos y la secreción basal de andrógenos, pero no modifica la respuesta al estrés (Gálvez y col., 1999; Paredes y col., 1998).

Ratas adultas sometidas a estrés durante 3 semanas, desarrollan quistes ováricos. El estrés: aumenta la secreción de noradrenalina en el ganglio celíaco y la liberación de noradrenalina por el ovario, disminuye el contenido de receptores β -adrenérgicos y de NPY, sin modificar la secreción andrógenos. (Paredes y col., 1998).

Los órganos pares reciben distinta información nerviosa (Burden, 1978, 1985; Gerendai y Halasz, 1997; Gerendai y col., 1998, 2000; Gilbert y col., 1980; Klein y Burden, 1980, 1988, 1989; Dees y col., 1986; Kannisto y col., 1986; Mitchel, 1988), esto puede explicar las diferencias en las capacidades secretoras de los órganos pares. Por ello se ha propuesto que las funciones de los ovarios y las adrenales son reguladas por las hormonas tróficas secretadas por la hipófisis, cuyas acciones son moduladas por la inervación que recibe la glándula (Barco y col. 2003; Burden y Lawrence, 1977; Chávez y col. 1989; Chávez y Domínguez, 1994; Cruz y col., 2004, 2005; D'Albora y col. 2002; De Bortoli y col. 1998, 2000, 2002; Delarue y col. 2001; Domínguez y col. 2003, 2004; Domínguez-González y col. 1998; Flores y col., 2005^a, 2005^b ; Flores y col., 2006; Gálvez y col. 1999; Gerendai y col. 2000; Ulrich-Lai y col. 2002). Los ovarios como las adrenales están

inervados por neuronas del ganglio celíaco-mesentérico superior, lo cual pone de manifiesto una comunicación neural no conocida ni descrita.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en la información disponible, se propone que la información nerviosa que reciben los ovarios por intermedio del NOS tiene dos funciones diferentes: 1) modula la respuesta de los tres compartimientos de la gónada a los efectos estimulantes e inhibitorios que ejercen las gonadotropinas y las hormonas adrenales, la que varía durante el ciclo estral. 2) La vía nerviosa de la que forma parte el NOS vincula la información nerviosa originada en los ovarios con el SNC.

Las adrenales al igual que los ovarios secretan hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos). Ambas se encuentran inervadas por neuronas simpáticas y sensoriales del sistema nervioso periférico (Dissen y Ojeda, 1999), y reciben información nerviosa proveniente del ganglio celíaco-mesentérico superior. Por ello este ganglio puede servir como puente de comunicación nerviosa entre ambos órganos (Gálvez y col., 1999; Gerendai y Halász, 1997; Gerendai y col., 1998, 2000, Morán y col. 2005).

Por consiguiente en el presente estudio se analizan los efectos agudos de la sección unilateral y bilateral de NOS sobre la ovulación y la secreción de progesterona y 17β -estradiol, en ratas a las que en el día del proestro se les extirpó un ovario o una adrenal, y fueron sacrificadas 24 horas después.

HIPÓTESIS

Dado que el NOS es un puente de comunicación con el sistema nervioso central, que modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas, de que existe una interacción funcional entre el SNC, las gónadas y las adrenales, de que ambas estructuras endocrinas reciben inervación que se origina en el ganglio celíaco mesentérico superior, entonces la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior, en ratas con o sin extirpación de un ovario o una adrenal afectará de manera diferente la ovulación y la secreción de progesterona y 17β -estradiol .

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la participación del nervio ovárico superior en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación y la secreción de progesterona y 17β -estradiol en la rata con ovariectomía o adrenalectomía unilateral.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo 1.- Analizar los efectos de la ovariectomía o adrenalectomía unilateral o bilateral realizadas en el día del proestro, sobre la ovulación y la secreción hormonal.

Objetivo 2.- Analizar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior en animales enteros, realizadas en el día del proestro, sobre la ovulación y la secreción hormonal.

Objetivo 3.- Analizar los efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en ratas con ovariectomía unilateral realizadas en el día del proestro, sobre la ovulación y la secreción hormonal.

Objetivo 4.- Analizar los efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en ratas con adrenalectomía unilateral realizadas en el día del proestro, sobre la ovulación y la secreción hormonal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra, vírgenes, cíclicas, de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19.00 h), con libre acceso al agua y alimento (Purina rat chow). El ciclo estral de los animales fue monitoreado por la toma diaria de frotis vaginales. Sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron al menos dos ciclos consecutivos de 4 días de duración.

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron bajo anestesia con éter, siguiendo las metodologías habituales de laboratorio (Chávez y Domínguez, 1994).

Diseño experimental

A las 13:00 h en el día del proestro los animales fueron destinados a algunos de los siguientes grupos experimentales.

Grupos experimentales:

Testigo absoluto: Ratas cíclicas intactas sacrificadas a las 13:00 horas en el día del estro del ciclo estral.

Anestesia. Los animales se anestesiaron con éter de 3 a 4 minutos (tiempo en el que se realizan las cirugías).

Laparotomía. A ratas anestesiadas se les realizó una incisión ventral que abarcó piel, músculo y peritoneo (aproximadamente 1 centímetro por debajo de la última

costilla), sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía, se suturó la herida por planos.

Ovariectomía o adrenalectomía unilateral. Ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirpó un ovario (izquierdo (Hovx-I) o derecho (Hovx-D) o una adrenal (izquierda (Adx-I) o derecha (Adx-D).

Ovariectomía o adrenalectomía bilateral. A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirparon ambos ovarios (CAS) o ambas adrenales (Adx-B).

Sección del Nervio Ovárico Superior. Ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les seccionó uni o bilateralmente el NOS un centímetro por arriba del ovario.

Sección del Nervio Ovárico Superior en un animal con ovariectomía unilateral. A un grupo de ratas con ovariectomía unilateral, inmediatamente después de la extirpación del ovario se seccionó el NOS que inerva al ovario *in situ*.

Sección del Nervio Ovárico Superior en animales con adrenalectomía unilateral. A ratas con adrenalectomía unilateral, inmediatamente después de la extirpación de la adrenal se les seccionó el NOS que inerva al ovario contralateral, a la adrenal *in situ*.

Procedimiento de autopsia

Todos los grupos de animales fueron sacrificados por decapitación 24 horas después de la intervención quirúrgica, se colectó la sangre del tronco y se le dejó coagular a 4 °C, se centrifugó a 3500 rpm y el suero se dividió en alícuotas, que fueron conservadas a -20 °C.

A la autopsia se disecaron los ovarios y en los oviductos se buscó la presencia de ovocitos y se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico.

Cuantificación de hormonas esteroides

La cuantificación de progesterona y estradiol se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida, para lo cual se utilizó un estuche (Coat-A-Count, USA), que consiste de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales de hormona marcada (125I-Progesterona; 125I-Estradiol) y calibradores para la realización de la curva patrón (Progesterona: 0.05, 0.1, 0.5, 2, 10, 20 y 40 ng/ml; Estradiol: 2.5, 5, 10, 20, 50, 150, 250, 500, pg/ml). A cada tubo se le adicionaron 100 µl de suero problema, más 1000 µl de la hormona marcada, todos los tubos se agitaron e incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante de cada tubo, se secaron las paredes del mismo y se colocaron en un contador de centelleo gama para su análisis. La concentración de la progesterona se expresó en ng/ml y la de estradiol en pg/ml de suero.

Análisis estadístico

El número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba de Kruskal-Wallis seguido de la prueba de U de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan /número total de animales X 100), fue analizada por la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Los datos de las concentraciones de las hormonas se analizaron por una prueba de análisis de varianza multifactorial (MANOVA), seguida por la prueba de Tukey. Cuando fueron comparados los resultados de dos grupos, el análisis se realizó por la prueba "t" de Student. En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor a 0.05.

RESULTADOS

Efectos de la anestesia o laparotomía

En comparación con los animales intactos, la anestesia y laparotomía no modificaron la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados, la concentración de P₄ o de E₂ (cuadro 1).

Cuadro 1. Tasa de animales ovulantes (TAO=número de animales ovulantes/número total de animales tratados), media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados y concentración de progesterona (ng/ml) y estradiol (pg/ml) en animales intactos o sometidos a anestesia o a la laparotomía, realizadas a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	TAO	No. de ovocitos	n	Progesterona	n	Estradiol
Intacto	10/10	14.3 \pm 0.9	10	13.3 \pm 1.9	10	33.7 \pm 1.6
Anestesia	10/10	14.6 \pm 1.4	10	14.8 \pm 1.9	10	34.6 \pm 3.9
Laparotomía	10/10	14.2 \pm 1.6	10	18.1 \pm 2.0	10	28.8 \pm 1.3

Dado que el paso obligado para las diferentes cirugías es realizar la laparotomía, a este grupo se le consideró como el grupo de comparación para realizar los análisis estadísticos.

Efectos de la ovariectomía o adrenalectomía unilateral.

La extirpación del ovario izquierdo o derecho no modificó la tasa de animales ovulantes (cuadro 2), pero el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue menor que el del testigo, lo que se tradujo como compensación ovulatoria mayor por el ovario derecho. La extirpación unilateral de las adrenales, resultó en menor número de animales ovulantes (cuadro 2).

Cuadro 2. Tasa de animales ovulantes (TAO=número de animales ovulantes/número total de animales tratados) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en los animales con ovariectomía (Hovx-I ó D), o adrenalectomía unilateral (Adx-I ó D), realizadas a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	Ovario <i>in situ</i>	OI		OD		OI+OD	
		TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Laparotomía	Ambos	10/10	6.3 \pm 1.2	10/10	7.9 \pm 1.2	10/10	14.2 \pm 1.6
Hovx-I	Derecho			10/10	10.3 \pm 0.7	10/10	10.3 \pm 0.7 #
Hovx-D	Izquierdo	10/10	6.6 \pm 0.9			10/10	6.6 \pm 0.9 # *
	Adrenal <i>in situ</i>						
Adx-I	Derecha	2/10&	5, 5	2/10&	4, 2	2/10&	9, 7
Adx-D	Izquierda	4/10 ^o	7.0 \pm 1.1	4/10 ^o	6.3 \pm 2.3	4/10 ^o	13.3 \pm 2.3

&p<0.001 vs. laparotomía, ^op<0.01 vs. laparotomía, (#p<0.05 vs.laparotomía y *p<0.05 vs. Hovx-I, prueba t de student).

La adrenalectomía bilateral resultó en una menor tasa de animales con ovulación espontánea (3/10 vs. 10/10, p<0.05 prueba de probabilidad exacta de Fisher), sin que se observaran diferencias significativas en el número de ovocitos liberados por animal ovulante (11.6 \pm 3.4 vs. 14.2 \pm 1.6).

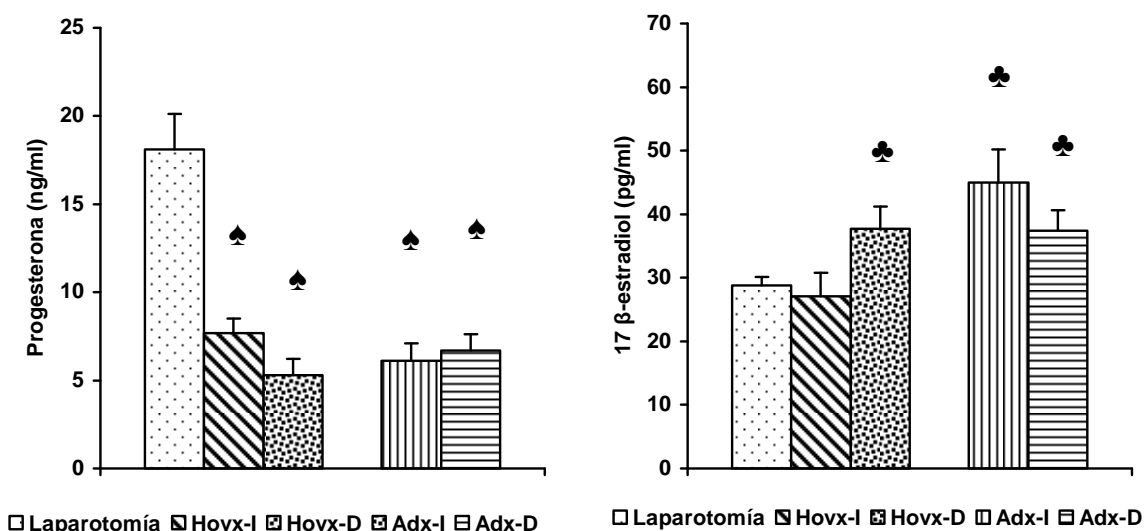


Gráfico 1. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y 17 β -estradiol (pg/ml) en animales con ovariectomía (Hovx-I (OD *in situ*) ó Hovx-D (OI *in situ*)), o adrenalectomía unilateral (Adx-I (AD *in situ*) ó Adx-D (AI *in situ*)), realizadas a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía. ♠p<0.001 y ♣p<0.05 vs PP.

Tanto los animales con ovariectomía o con adrenalectomía unilateral la concentración de P_4 fue menor que en los animales con laparotomía (Gráf. 1). La concentración de E_2 fue significativamente mayor en los animales con Hovx-D (ovario izquierdo *in situ*) o con adrenalectomía unilateral (Gráf. 1).

Estos resultados indican que en el día del proestro: a) en el animal con ovariectomía unilateral el ovario derecho compensa un mayor número de ovocitos y b) que las adrenales regulan de manera estimulante la ovulación, por medio de la secreción de P_4 y su efecto inhibitorio sobre la secreción de E_2 por los ovarios.

Efectos de la ovariectomía o adrenalectomía bilateral.

La concentración de P_4 disminuyó en los animales castrados o adrenalectomizados bilateralmente, pero la concentración de E_2 fue mayor en los animales con adrenalectomía bilateral que en los castrados y laparotomizados (Gráf. 2).

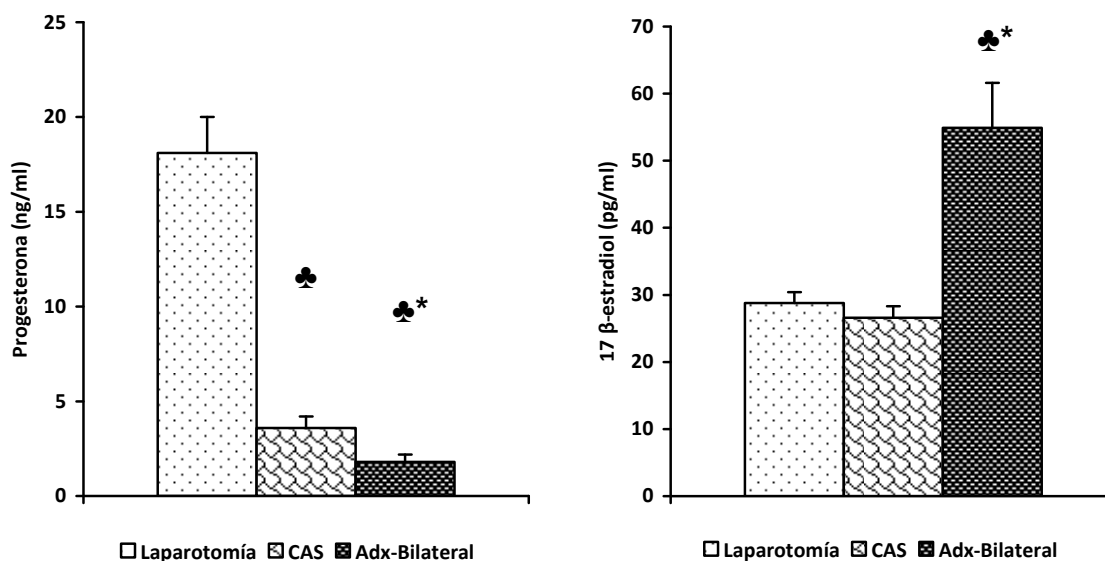


Gráfico 2. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y 17 β -estradiol (pg/ml) en animales con ovariectomía bilateral (CAS) o adrenalectomía bilateral (Adx-Bilateral) realizadas a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía. ♣ $p < 0.05$ vs. PP * $p < 0.05$ vs. CAS.

Estos resultados en el día del proestro indican que los ovarios son la principal fuente de E₂ y las adrenales de P₄.

Efectos de la sección unilateral o bilateral del Nervio Ovárico Superior.

La sección del NOS no modificó la tasa de animales ovulantes (cuadro 3). Sin embargo la sección nervio derecho o de ambos disminuyó la función ovulatoria del ovario derecho (cuadro 3).

Cuadro 3. Tasa de animales ovulantes (TAO=número de animales ovulantes/número total de animales tratados) y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con sección del nervio ovárico superior unilateral (NOS-I ó D) o bilateral (NOS-Bilateral) realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	Ovario denervado	OI		OD		OI+OD	
		TAO	No.de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Laparotomía	Ninguno	10/10	6.3 ± 1.2	10/10	7.9 ± 1.2	10/10	14.2 ± 1.6
NOS-I	Izquierdo	7/10	5.9 ± 1.2	10/10	8.4 ± 0.5	10/10	12.5 ± 0.9
NOS-D	Derecho	10/10	6.0 ± 0.4	10/10	4.2 ± 0.7 **	10/10	10.2 ± 0.9 ♠
NOS-Bilateral	Ambos	7/10	3.7 ± 0.5	9/10	3.8 ± 0.6 *&	9/10	6.0 ± 1.2 °#

*p<0.05 vs. laparotomía, **p<0.01 vs. NOS-I, &p<0.01 vs. NOS-I, °p<0.05 vs. NOS-I, #p<0.001 vs. laparotomía, (♠p<0.05 vs. laparotomía, prueba t de student).

La sección de cualquiera de los nervios se acompañó de una menor concentración de P₄, sin que se modificara la de E₂ (Gráf. 3).

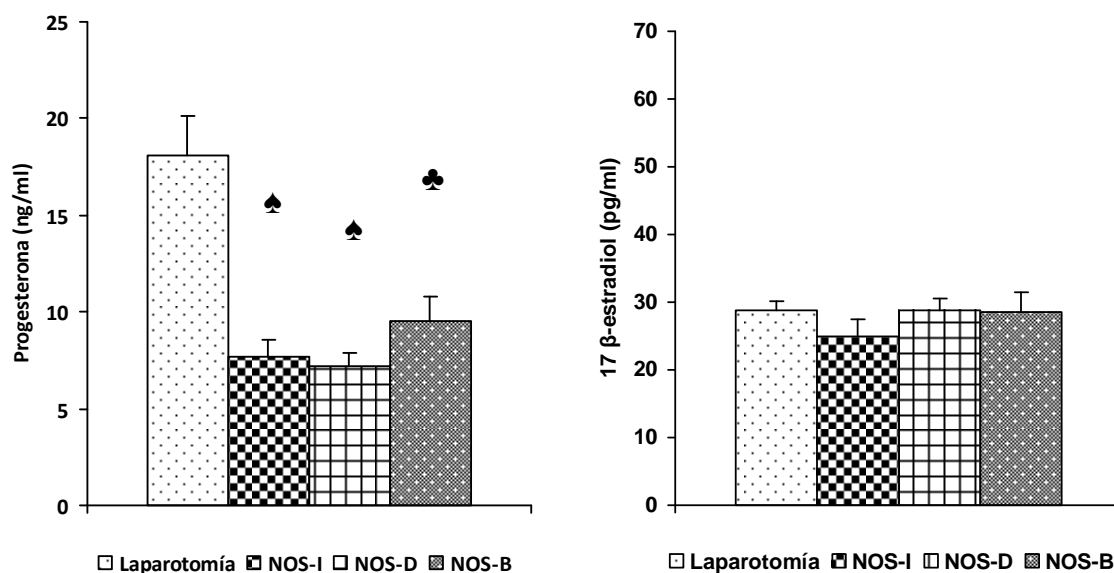


Gráfico 3. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y 17 β-estradiol (pg/ml) en animales con sección del nervio ovárico superior unilateral (NOS-I ó D) o bilateral (NOS-B) realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía. ♠p<0.001 vs. laparotomía.

Los resultados indican que ambos nervios ováricos regulan principalmente el proceso ovulatorio del ovario derecho y la secreción de P₄.

Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior en animales con ovariectomía unilateral.

En el animal con ovariectomía unilateral, la sección del NOS no modificó la tasa de animales ovulantes, pero el número de ovocitos liberados disminuyó en los animales con el ovario derecho *in situ* (ovario denervado). La capacidad ovulatoria del ovario izquierdo no fue modificada por la denervación (cuadro 4).

Cuadro 4. Tasa de animales ovulantes (TAO=número de animales ovulantes/número total de animales tratados) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con ovariectomía (Hovx) y sección del nervio ovárico superior ipsilateral al ovario *in situ* (NOS) realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	Ovario <i>in situ</i> denervado	TAO	No. de ovocitos
Hovx-I	Derecho	10/10	10.3 \pm 0.7
Hovx-I + NOS-D	Derecho	10/10	6.6 \pm 0.9 &
Hovx-D	Izquierdo	10/10	6.6 \pm 0.9
Hovx-D + NOS-I	Izquierdo	7/10	6.3 \pm 1.3

& p<0.05 vs. Hovx-I (OD *in situ*).

La sección del NOS no modificó la concentración de P₄ y de E₂ en los animales con ovariectomía unilateral (cuadro 5).

Cuadro 5. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y 17 β -estradiol (pg/ml) en animales con ovariectomía (Hovx) y sección del nervio ovárico superior ipsilateral al ovario *in situ* (NOS) realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	Progesterona	n	Estradiol
Hovx-I	10	7.7 \pm 0.8	10	27.1 \pm 3.7
Hovx-I + NOS-D	8	11.3 \pm 2.1	10	21.5 \pm 1.8
Hovx-D	10	5.3 \pm 0.9	10	37.7 \pm 3.5
Hovx-D + NOS-I	10	6.4 \pm 1.2	10	30.5 \pm 2.1

Los resultados indican que en el animal con ovariectomía unilateral, el NOS-D regula en forma inhibitoria la secreción de P₄ por parte del ovario derecho *in situ*, mientras que el NOS-I regula en forma estimulante la secreción de E₂ por parte del ovario izquierdo *in situ*.

Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior en animales con adrenalectomía unilateral.

La sección del NOS-I en animales con adrenalectomía izquierda no modificó los efectos de la adrenalectomía, mientras que cuando se seccionó el NOS-D en animales

con adrenalectomía derecha, disminuyo el número de ovocitos liberados, resultado del bloqueo de la ovulación del ovario derecho (cuadro 6).

Cuadro 6. Tasa de animales ovulantes (TAO=número de animales ovulantes/número total de animales tratados) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con adrenalectomía (Adx) y sección del nervio ovárico superior (NOS) contralateral a la adrenal *in situ*, realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	Adrenal <i>in situ</i>	Ovario denervado	OI		OD		OI+OD	
			TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Adx-I	Derecha	Ninguno	2/10	5, 5	2/10	4, 2	2/10	9, 7
Adx-I + NOS-I	Derecha	Izquierdo	3/10	5.3 \pm 0.9	6/10	5.5 \pm 0.9	6/10	8.2 \pm 1.7
Adx-D	Izquierda	Ninguno	4/10	7.0 \pm 1.1	4/10	6.3 \pm 2.3	4/10	13.3 \pm 2.3
Adx-D + NOS-D	Izquierda	Derecho	9/10	4.6 \pm 0.8	0/10	0	9/10	4.6 \pm 0.8 *

* $p < 0.05$ vs. Adx-D.

Las secciones del NOS no modificaron la concentración de P₄. La sección del NOS izquierdo en ratas con adrenalectomía izquierda disminuyó la concentración de E₂ (Gráf. 4).

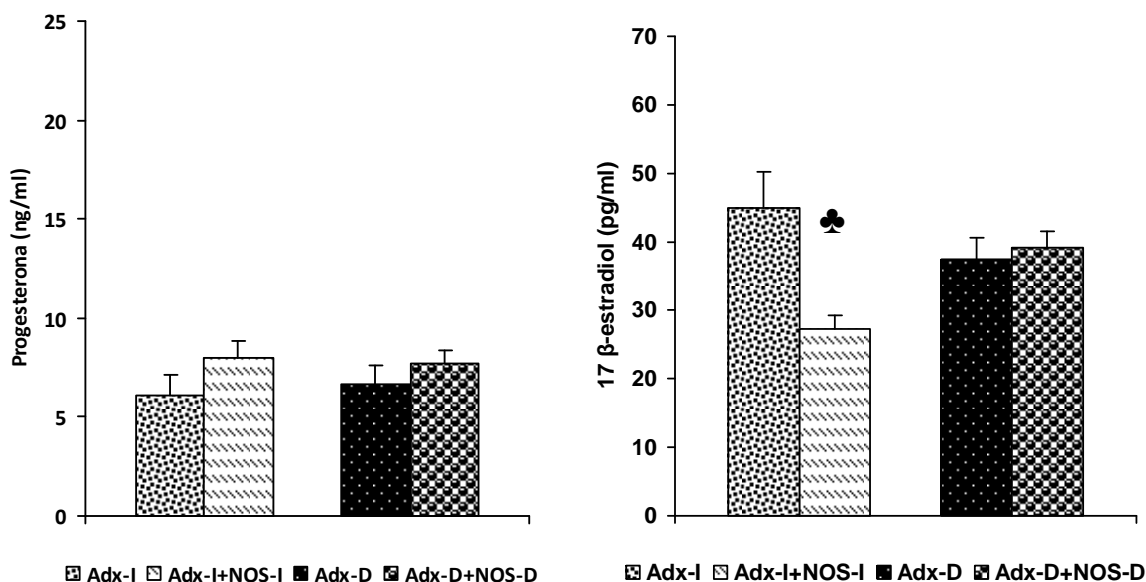


Gráfico 4. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) y 17 β -estradiol (pg/ml) en animales con adrenalectomía (Adx) y sección del nervio ovárico superior (NOS) contralateral a la adrenal *in situ*, realizada a las 13:00 horas del proestro y sacrificados 24 horas después de la cirugía. ♣ $p < 0.05$ vs Adx-I.

Los resultados indican que en el animal con adrenalectomía unilateral, el NOS-I regula en forma estimulante la secreción de E_2 por parte de los ovarios, mientras que el NOS-I no participa en los mecanismos que regulan la secreción de P_4 y E_2 por parte de los ovarios.

DISCUSIÓN

A partir de los resultados de este estudio proponemos que en el día del proestro, la capacidad funcional del ovario en ratas con ovariectomía uni o bilateral o adrenaletomía uni o bilateral, es asimétrica y que el nervio ovárico superior participa de manera estimulante en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación y secreción de P_4 , cuando los resultados son evaluados 24 horas después de la cirugía.

En los animales sometidos a anestesia o laparotomía los mecanismos de compensación en las 24 horas siguientes a los tratamientos experimentales funcionaron normales, por lo tanto no se afectaron los mecanismos neuroendocrinos que regulan los procesos compensatorios (Cruz y col., 2005; Flores y col., 2005; 2006).

Los resultados de la ovariectomía unilateral indican que la ovariectomía unilateral por vía ventral resulta en menor número de ovocitos liberados y ovulación compensatoria por el ovario derecho, estos resultados son semejantes a lo observado por Chávez y Domínguez (1994), mientras que este efecto que no se observa en aquellos animales con tratamientos por vía dorsal (Flores y col., 2005^a). Estas diferencias podrían ser explicadas por los resultados obtenidos de Tanaka y col. (2002) quienes mostraron que la mayor parte del peritoneo parietal recibe inervación sensorial que proviene del ganglio de la raíz dorsal, mientras que el peritoneo visceral recibe inervación de nervios espinales y del nervio vago.

Las modificaciones en la secreción de P_4 no dependen del ovario *in situ*, ni de la vía de abordaje (Flores y col., 2005). La capacidad de secreción de E_2 es diferente; el ovario izquierdo secreta más que el derecho, resultado que difiere con lo observado en los animales tratados por vía dorsal (Flores y col., 2005^a), y los estudiados una hora después de la cirugía (Gallegos y col., 2005), en los cuales la ovariectomía resultaba en una menor secreción de E_2 . Esta diferencia estaría dada por el efecto que ejerce un ovario sobre el otro, mediante la existencia de una comunicación nerviosa entre los ovarios (Flores y col., 2005^a), es decir, por medio de la inervación ovárica se establecería la comunicación entre ambas gónadas (Domínguez y col., 2005).

La extirpación de ambos ovarios (CAS) resulta en menor concentración de P_4 al igual que lo observado por Flores y col. (2005^a), más no por Gallegos y col. (2005) en cuyos resultados la concentración de P_4 no se modificó una hora después del tratamiento. Estos resultados indican que los ovarios son la principal fuente de E_2 , mas no de P_4 . El mismo tratamiento vía ventral, pero ahora sobre la concentración de E_2 no se modifica a las 24 horas, mientras que por vía dorsal disminuye (Flores y col., 2005^a). Este hecho concuerda con que dependiendo del lugar de abordaje será el tipo de inervación peritoneal que se involucre, ya que vía dorsal y por vía ventral son aportes neurales diferentes (Tanaka y col, 2002).

Los resultados obtenidos en los animales con adrenalectomía uni y bilateral indican que las adrenales participan en forma estimulante en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación, específicamente en la tasa de animales

ovulantes y la secreción de P_4 . La adrenalectomía bilateral disminuye el número de animales que ovulan tanto por vía ventral como dorsal (Flores y col., 2005^a). De manera similar a lo obtenido por Jacobs y Pepler (1980), la falta de adrenales por un período crónico (30 días) provoca menor número de ovocitos liberados. Por ello sugerimos que la extirpación de las adrenales estimula la secreción de la CRH hipotalámica, y ACTH y β -endorfina hipofisarias y corticosterona, noradrenalina y adrenalina por las adrenales (Flores y col., 2005). Estas hormonas inhiben parcialmente la secreción de LH, lo que disminuye la tasa de animales ovulantes, y que en el día del proestro es acompañada de la disminución en la concentración de P_4 (Mahesh y Brann, 1992). Además al secretarse la CRH se inhiben las secreciones de GnRH y gonadotropinas y por lo tanto las funciones ováricas (Kalantaridou y col., 2004).

La adrenalectomía unilateral disminuye la concentración de P_4 , mientras que en el día del proestro 1 hora después no provoca cambios en la concentración. El mismo tratamiento resulta en mayor concentración de E_2 , mientras que a 1 hora vía ventral (Gallegos y col., 2005) y 24 horas después vía dorsal (Flores y col., 2005) provoca disminución de dicha concentración. Las adrenales inhiben la secreción de E_2 , por parte de los ovarios, ya que al extirparse una o ambas adrenales se eleva la concentración de la hormona. El período de recuperación también es un factor determinante, ya que en la evaluación de los efectos agudos y semiagudos los procesos de compensación que intervienen en el animal son diferentes.

Cuando se extirparon ambas adrenales, la concentración de P_4 disminuyó drásticamente, lo que indica que el aporte de P_4 a la circulación en el día del proestro proviene principalmente de las adrenales (Flores y col., 1995) y los ovarios.

A partir de los resultados de las secciones (uni o bilateral) evaluadas por el número de ovocitos liberados por el ovario denervado (animales con sección del NOS derecho uni o bilateral), así como la secreción de progesterona, específicamente, proponemos que en el día del proestro, el neurotransmisor y los neuropéptidos contenidos en el nervio (NA, el VIP y el NPY, respectivamente; Garraza y col., 2004; Dissen y Ojeda, 1999) estimulan los mecanismos neuroendocrinos que regulan estas funciones en el ovario. Esta regulación es dada fundamentalmente por el NOS derecho. Por ello los resultados son interpretados como que el NOS regula principalmente el proceso ovulatorio del ovario derecho y la secreción de P_4 .

La sección bilateral del NOS, interrumpió la señal nerviosa en ambos ovarios, pero es el NOS del lado derecho es el que regula de manera estimulante la función ovárica, ya que el número de ovocitos liberados disminuye considerablemente. Estos resultados difieren a los reportados por Morales y col. (1993), donde no se registra ningún cambio en este tipo de tratamiento, refiriendo que los mecanismos entre el animal prepúber aún no están del todo establecidos y maduros, como en el animal adulto. Otra causa posible es que al encontrarse menor número de fibras nerviosas en el ovario izquierdo que en el derecho

(Chávez y Domínguez, 1994), este último resiente más la pérdida de su información, y que en un período de 24 horas de posible reajuste de mecanismos no logra restaurar dicha comunicación. En concordancia con esta idea Chávez y Domínguez (1994), mostraron que la sección del NOS resulta en una marcada disminución de la concentración de noradrenalina ovárica. El NOS al ser predominantemente noradrenérgico y la noradrenalina al estimular la secreción de P_4 , más no de E_2 (Adashi y Hsueh, 1981), explica porque, al seccionar el NOS la concentración de P_4 sea menor y por ello sea directamente influenciada por la vía neural.

El hecho de que el número de ovocitos liberados disminuyó en los animales con denervación del ovario derecho indica que el NOS derecho participa de manera estimulante en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.

La sección del NOS derecho del ovario *in situ* resulta en menor número de ovocitos liberados, mientras que la denervación del ovario izquierdo *in situ* no los modifica, lo que indica que el NOS derecho estimula la ovulación de ese ovario. Dado que la secreción de P_4 y E_2 no se modificó en esos animales, se muestra que la falta de inervación restablece la función secretora del ovario al denervarse.

Los resultados obtenidos en los efectos de la sección unilateral del NOS en animales con extirpación de una adrenal, dependen del lado en que se realice el tratamiento. Cuando la adrenal derecha está *in situ*, el ovario denervado, tiende a recuperar la ovulación; en cambio, cuando queda la adrenal izquierda *in situ*, el

ovario denervado no tiende a recuperar dicho parámetro. Este hecho es una evidencia más de que las adrenales utilizan al NOS como vía neural para comunicarse con los ovarios, ya que la sección del NOS derecho en el animal con Adx-D, disminuye el número de ovocitos liberados, resultado del bloqueo de la ovulación. Lo que remite nuevamente al tipo y cantidad de neurotransmisor que llega vía el NOS al ovario afectado (ovario derecho); y que pone de manifiesto la comunicación entre ovarios y las adrenales, como ha sido propuesto por varios autores (Cruz y col., 2005; Domínguez y col., 2003; Flores y col., 2005, 2006). Los resultados indican que los efectos del NOS en la adrenalectomía unilateral sobre la ovulación implicarían una hiperactividad del NOS derecho, ya que su sección recupera la tasa de animales ovulantes de manera significativa, más no el número de ovocitos liberados por el ovario denervado, mientras que dicha hiperactividad no se presentaría en el NOS izquierdo, por lo tanto la respuesta es lateralizada. Otra posibilidad es que la conexión entre las adrenales y los NOS podría ocurrir a nivel del ganglio celíaco-mesentérico superior, desde donde se enviaría información nerviosa hacia los ovarios y las adrenales.

Tanto los ovarios como las adrenales reciben inervación simpática, sensorial y colinérgica. Como ya describió, a los ovarios llega la información nerviosa vía el plexo ovárico y vía el nervio ovárico superior, y muy probablemente por neuronas SIF (Dissen y Ojeda, 1999). En el caso de las adrenales, la inervación simpática llega por los nervios y la inervación parasimpática por el nervio vago. Anatómicamente, el ganglio celíaco, es otro punto que suministra de fibras nerviosas, tanto a los ovarios (Morán y col, 2005) como a las adrenales, por

lo tanto podría ser la estación de relevo de las diferentes señales que afectan a ambos, sin necesidad de tener que involucrar al sistema nervioso central. Así los efectos observados por las diferentes intervenciones quirúrgicas son el resultado de múltiples mecanismos fisiológicos que involucran la combinación de los sistemas endocrino y nervioso, de ratas adultas en el día del proestro con un período de evolución de 24 horas.

CONCLUSIONES

- ◆ El ovario izquierdo secreta más 17- β estradiol que el ovario derecho.

- ◆ Los ovarios y las adrenales aportan concentraciones séricas de progesterona a la circulación.

- ◆ Las adrenales inhiben la secreción de 17- β estradiol por parte de los ovarios.

- ◆ Los nervios ováricos superiores regulan la función ovulatoria del ovario derecho principalmente, así como la secreción de progesterona.

- ◆ El NOS regula de manera lateralizada la capacidad ovulatoria y quizás secretora del ovario derecho.

- ◆ La vinculación funcional entre el ovario depende de las glándulas del lado derecho.

BIBLIOGRAFÍA:

Adashi EY, Hsueh AJW. (1981). Stimulation of β_2 -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 6: 2170-2178.

Aguado LI. (2002). Role of the Central and Peripheral Nervous System in the Ovarian Function. *Microsc Res and Tech* 59: 462-473.

Aguado LI, Ojeda SR. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114: 1944-1946.

Albuquerque-Araújo WIC, Silva RE, Antunes-Rodríguez J, Favaretto ALV. (1995). Is ovarian adrenergic innervation essential to gonadal function in adult rats? *Arch Physiol Biochem* 1: 109-113.

Arias P. (2003). Endocrinología de la reproducción. En: Bases fisiológicas de la práctica médica. MA Dvorkin y DP Cardinali. (Eds.) 13ª ed. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 659-680.

Arias P. (2003). Glándula suprarrenal. En: Bases fisiológicas de la práctica médica. MA Dvorkin y DP Cardinali. (Eds.) 13ª ed. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 627-657.

Arimura A. (2000). Hypothalamic hormones. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 41-58.

Baird DT. (1982). Hormonas reproductoras. En: *Hormonas en la reproducción*. CR Austin y RV Short. (Eds.) La Prensa Médica Mexicana. México. pp. 1-27.

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

Brown RE. (1994). *Introduction to Neuroendocrinology*. Cambridge University Press. pp. 19-55.

Brown TR. (1999). Steroid hormones, overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 634-644.

Burden HW. (1978). Ovarian innervation. En: *The vertebrate ovary*. RE Jones. (Ed.) Plenum Press, New York. pp. 615-638.

Burden HW, Lawrence IE Jr, Louis MT, Hodson CA. (1983). Abdominal vagotomy does not activate the corpus luteum in rats. *Neuroendocrinology* 37:288-290.

Burden HW. (1985). The adrenergic innervation on mammalian ovaries. En: Catecholamines as hormone regulator. N Ben-Jonathan, JM Bahr, RI Weiner (Eds). Raven Press New York. pp. 261-278.

Burden HW, Lawrence IE, Jr. (1977). The effects of denervation on compensatory hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23: 360-378.

Burden HW, Lawrence IE. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat Recor* 196: 51-59.

Chávez R, Domínguez R. (1994). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *J Endocrinol* 140: 197-201.

Chávez R, Morales L, González ME, Domínguez R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats effect of ipsi and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113: 397-401.

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

Cruz ME, Cruz-Morales SE, Meléndez G, Rodríguez J, Palafox MT, Flores A, Barco AI, Domínguez R. (2004). Asymmetric effects of unilateral adrenalectomy (ADX) performed on the day of proestrus, on ovarian hormone serum levels. Thirty-Seventh annual meeting of the Society for the Study of Reproduction. Publicado en las memorias de la sociedad, pp. 119 (No. 116). Vancouver, Canadá.

Cruz ME, Palafox MT, Rodríguez JO, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Flores A, Domínguez R. (2005). Papel del sistema muscarínico en la regulación de la secreción de estradiol durante el ciclo estral de la rata. XXX Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, pp. 1-11. Guanajuato, Gto.

Cruz ME, Chávez R, Domínguez R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adults rats whit unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38: 167-171.

D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dees WL, Ojeda SR. (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech* 59: 484-489.

De Bortoli MA, Garraza MH, Aguado LI. (1998). Adrenergic intracerebroventricular stimulation affects progesterone concentration in the ovarian vein of the rat: participation of the superior ovarian nerve. *J Endocrinol* 159: 61-68.

De Bortoli MA, Garraza MH, Aguado LI. (2000). Epinephrine intracerebroventricular stimulation modifies the LH effect on ovarian progesterone and androstenedione release. *J Steroid Biochem Mol Biol* 74: 19-24.

De Bortoli MA, Garraza MH, Aguado LI. (2002). Involvement of beta-adrenoceptors in a central regulation of the ovarian progesterone release in rats. *Neuro endocrinol Lett* 23: 27-31.

Dees WL, Ahmed CE, Ojeda SR. (1986). Substance P and Vasoactive Intestinal Peptide- containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology* 119: 638-641.

Delarue C, Contesse V, Langlet S, Sicard F, Perraudin V, Lefebvre H, Kodjo M, Leboulenger F, Yon L, Gallo-Payet N, Vaudry H. (2001). Role of neurotransmitters and neuropeptides in the regulation of the adrenal cortex. *Rev Endocr Metab Disord* 2: 253-267.

Dissen GA, Ojeda SR. (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 583-589.

Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. *Tópicos selectos de Biología de la Reproducción*. Miguel Ángel, Porrúa (Ed.). México. pp. 161-192.

Domínguez R, Cruz ME, Chávez R. (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: *Growth factors and the ovary*. AM Hirshfield (Ed.). Plenum Press New York. pp. 321-325.

Domínguez R. (1993). Las secreciones periódicas y la regulación de la ovulación, En: *Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares*. Domínguez R. (Ed.) Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México. pp. 251-258.

Domínguez R. (1997). Endocrinología de las gónadas, En: *actualización en fisiología, curso internacional precongreso. XL Congreso Nacional en Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C.* (Ed.). Morelia, Mich. pp. 271-279.

Domínguez-González A, Cruz ME, Domínguez R. (1998). Effects of hemiovariectomy and unilateral mechanical stimulation of the ovarian pedicle performed on ovulation rate and monoamine neural activity in the preoptic-anterior hypothalamic area. *Med Sci Res* 26: 545-547.

Domínguez R, Cruz ME, Palafox MT, Meléndez G, Rodríguez J, Flores A, Barco AI. (2004). Differential effects of unilateral hemiovariectomy (Hovx) performed at the day of proestrus, on progesterone (P4), testosterone (T) or estradiol (E2) serum levels. Thirty-Seventh annual meeting of the Society for the Study of Reproduction. Publicado en las memorias de la sociedad, pp. 119 (No.117). Vancouver, Canadá.

Domínguez R, Flores A, Gallegos AI, Montiel C, Cruz ME. (2005). The superior ovarian nerve (NOS) as a neural pathway communicating the right and left ovaries. Society of neuroscience. (No. 760.3). Washington, DC.

Domínguez R, Morales L, Cruz ME. (2003). Ovarian Asymmetry. *Annu Rev Biomed Sci* 5: 95-104.

Domínguez R, Morales L, Cruz ME, Flores A. (2004). Asimetrías Ováricas. XXIX Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. y IV Reunión de la Sociedad Mexicana de Biología de la Reproducción Humana, AC. Publicado en Memorias de la Sociedad, pp. 62-63. Oaxaca, Oax.

Dvorkin MA, Cardinali DP. (2003). Bases fisiológicas de la práctica médica. 13^a ed. Editorial Médica Panamericana. México, pp: 1091.

Espey LL. (1999). Ovulation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 605-614.

Fawcett DW. (1995). Tratado de histología. 12^a ed. McGraw-Hill Interamericana. España. pp. 885-893.

Figueiredo HF, Dolgas C M, Herman JP. (2002). Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinol* 143: 2534-2540.

Fink G. (2000). Neuroendocrine regulation of pituitary function. En *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa, NJ. pp. 107-133.

Flores A, Ayala ME, Domínguez R. (1990). Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation in the pubertal and the adult rat? *Med Sci Res* 18: 817-818.

Flores A, Flores K, Madrigal G, Orozco EM, Everardo PM, Chavira R, Cruz ME, Dominguez R. (2005^a). Interacciones entre las adrenales y los ovarios en la regulación de la secreción de progesterona, estrógenos y la ovulación. XXX Reunión anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, pp. 306-319. Guanajuato, Gto.

Flores A, Meléndez G, Palafox MT, Rodríguez JO, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2005^b). The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine* 2: 145-151.

Flores A, Rodríguez JO, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Cruz ME, Domínguez R. (2006). The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. Participation of the cholinergic system. *Reprod Biol Endocrinol* 4: 11.

Flores K, Chavira R, Cruz ME, Domínguez R, Flores A. (2005). Regulación funcional recíproca entre los ovarios y las adrenales en el día del proestro de la rata adulta. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-203, p.169. Guadalajara, Jal.

Fortman M, Dellovade TL, Rissman EF. (1992). Adrenal contribution to the induction of sexual behavior in the female musk shrew. *Horm Behav* 1:76-86.

Gallegos AI, Montiel C, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R. (2005). Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro previo a la ovariectomía unilateral (ULO) sobre la concentración de estradiol (E2), progesterona (P4). XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-214. Guadalajara, Jal.

Ganong WF. (1988). Fisiología médica. 11ª ed. El Manual Moderno. México. 621 pp.

Gálvez A, Paredes A, Fiedler JL, Venegas M, Lara HE. (1999). Effects of adrenalectomy on the stress-induced changes in ovarian sympathetic tone in the rat. *Endocrine* 10: 131-135.

Garraza MH, Aguado LI, De Bortoli MA. (2004). In vitro effect of neuropeptides on ovary or celiac ganglion affects the release of progesterone from ovaries in the rat. *Med Sci Monit* 12: 440-446.

Gerendai I, Halász B. (1997). Neuroendocrine asymmetry. *Front Neuroendocrinol* 18: 354-381.

Gerendai I, Toth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I, Halász B. (1998). Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology* 4: 244-256.

Gerendai I, Toth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I, Halász B. (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *J Auton Nerv Syst* 3:269-281.

Gilbert RFT, Emson PC, Fahrenkrug J, Lee CM, Penman E, Wass J. (1980). Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *J Neurochem* 1980; 34:108-113.

Guyton AC, Hall JE. (2001). Tratado de fisiología médica. 10ª ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México. pp. 100-110.

Halász B. (2000). The hypothalamus as an endocrine organ. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 3-21.

Hinshelwood MM. (1999). Steroidogenesis, overview. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 644-653.

Hsueh, AJW, Erickson GF, Papkoff H. (1983). Effect of diverse mammalian gonadotropins on estrogen and progesterone production by cultured rat granulosa cells. Arch Biochem Biophys 225: 505-511.

Jacobs JJ, Pepler RD. (1980). Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of two strains of rat. J Endocrinol 87: 241-246.

Jones RE. (1997). The female reproductive system. En: Human Reproductive Biology. 2^a ed. Academic Press. USA. pp. 26-39.

Kalantaridou SN, Makrigrannakis A, Zoumakis, Chrousos GP. (2004). Stress and the female reproductive system. J Reprod immunol 1,2: 61-68.

Kannisto P, Ekblad E, Helm G, Owman CH, Sjoberg NO, Stjernquist, Sundler F, Walles B. (1986). Existence and coexistence of peptides in nerves of mammalian ovary and oviduct demonstrated by immunocytochemistry. Histochemistry 96: 25-34.

Kilen SM, Schwartz NB. (1999). Estrous cycle. En: Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 127-135.

Klein CM, Burden HW. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. Anat Rec 196: 51-59.

Klein CM, Burden HW. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. Neurosc lett. 85: 217-222.

Klein CM, Ray RH, Burden HW. (1989). Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats causes an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. Brain Res 479: 194-200.

Lara HE, McDonald JK, Ojeda S R. (1990). Involvement of nerve growth factor in female sexual development. Endocrinology 126: 364-375.

Lara HE, McDonald JK, Ahmed CE, Ojeda SR. (1991). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. Endocrinology 127: 2199-2209.

Larrea F, Oliart RM, Escorza A, Ulloa-Aguirre A, Valencia X. (1991). Fisiología y mecanismos de acción de las gonadotropinas hipofisarias. Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Miguel Ángel, Porrúa (Ed.). México. pp. 107-131.

Levine JE. (2000). The hypothalamus as a major integrating center. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc. Totowa, NJ. pp. 75-93.

Mahesh VB, Brann DW. (1992). Interaction between ovarian and adrenal steroids in the regulation of gonadotropin secretion. Steroid Biochem Mol Biol 3-8: 495-513.

Malven PV. (2000). Neurotransmitters as regulators of hypothalamic function. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc. Totowa, NJ. pp. 59-73.

Merchant LH. (1991). Gametogénesis. Tópicos selectos de biología de la reproducción. Miguel Ángel Porrúa (Ed.). México. pp: 11-29.

Miller MA, Lavell LC. (1979). Hormonas. En: Manual de anatomía y fisiología. 2ª ed. La Prensa Médica Mexicana. México. pp. 656-679.

Mitchel GAG. (1988). The innervation of the ovary, uterine tube, testis and epididimus. J Anat 72: 508-517.

Montiel C, Gallegos AI, Mendoza F, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R. (2005). Efectos de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior (NOS) en diestro1 (D1) sobre la concentración sérica de estradiol (E_2) y progesterona (P_4) en la rata adulta. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-204, p.169. Guadalajara, Jal.

Morales L, Chávez R, Ayala ME, Domínguez R. (1998). Effects of the unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats, on the ovulatory response to gonadotrophins administration. J Endocrinol 158: 213-219.

Morales L, Chávez R, Domínguez R. (1993). Participation of superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. Med Sci Res 21: 15-17.

Morales-Ledesma L, Betanzos-García R, Domínguez-Casalá R. (2004). Unilateral or bilateral vagotomy performed on pubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. Arch Med Res 4:279-283.

Morán C, Morales L, Razo RS, Apolonio J, Quiróz U, Chavira R, Domínguez R. (2003). Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy. Life Sci 16: 2113-2125.

Morán C, Franco A, Morán JL, Handal A, Morales L, Domínguez R. (2005). Neural activity between ovarios and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglion varies during the estrous cycle of the rat. Endocrine 26: 147-152.

Morán C, Morales L, Quiróz U, Domínguez R. (2000). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. *J Endocrinol* 166: 205-211.

Ojeda SR, Hite SS, Aguado IL, Advis JP, Andersen JM. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36:261-267.

Paredes A, Galvez A, Leyton V, Aravena G, Fiedler JL, Bustamante D, Lara HE. (1998). Stress promotes development of ovarian cysts in rats: the possible role of sympathetic nerve activation. *Endoc* 8: 309-315.

Gómez-Prieto B, Velázquez-Paniagua M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de las gonadotropinas. *Rev Fac Med UNAM* 6: 252-257.

Ross HM, Romrell LJ, Kaye GI. (1997). Glándulas endocrinas. En: *Histología Texto y Atlas a color*. 3ª ed. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 610-618.

Ruiz-Durá F. (1988). Ciclos reproductores de los vertebrados, En: *Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción*. UNAM (Ed.). México. pp. 81-108.

Sosa Z, Delgado M, Casais M, Aguado L, Rastrilla AM. (2004). Release of ovarian progesterone during the rat oestrous cycle by ganglionic cholinergic influence: the role of norepinephrine. *J of Steroid Biochemistry y Molecular Biology*. 91: 179-184.

Schwartz N. (2000). Neuroendocrine regulation of reproductive cyclicity. En: *Neuroendocrinology in physiology and medicine*. M Conn y M Freeman (Eds.). Humana Press. USA. pp. 135-145.

Stevens A, Lowe JS. (1993). Sistema endocrino. En: *Texto y atlas de histología*. Editorial Doyma. España. pp. 260-263.

Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. (2002). The origin of sensory innervations of the peritoneum in the rat. *Anat Embryol* 4: 307-313.

Trujillo A, Riboni L. (2002). Effects of functional peripheral sympathetic denervation induced by guanethidine on follicular development and ovulation of the adult female guinea pig. *Gen Comp Endocrin*. 127: 273-278.

Ulrich-Lai YM, Marek DJ, Engeland WC. (2002). Capsaicin-sensitive adrenal sensory fibers participate in compensatory adrenal growth in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 283: R877-884.

Yao HHC y Bahr J M. (1999). Ovary overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 590-597.

Yen SS, Jaffe RB, Barbieri RL. (2001). Neuroendocrinología de la reproducción. En: Endocrinología de la reproducción. Editorial Panamericana. pp. 31-85.

Ying SY, Zhang Z. (1999). Ovarian hormones. Encyclopedia of Reproduction. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 578-582.