



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

“ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN DEL
OVARIO POR EL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR EN LA
REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA Y
ESTRADIOL. INTERACCIONES ENTRE LOS OVARIOS Y LAS
ADRENALES EN EL DÍA DEL DIESTRO-2 DE LA RATA.”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G O
P R E S E N T A:
FERNANDO DANIEL MENDOZA AGUILAR



DIRECTOR DE TESIS
M. en IBSH ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE 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

ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN DEL OVARIO POR EL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN LA REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA Y ESTRADIOL. INTERACCIONES ENTRE LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES EN EL DÍA DEL DIESTRO-2 DE LA RATA.

Tesis presentada por: Fernando Daniel Mendoza Aguilar

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

Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción

Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de CONACYT 40300Q; DGAPA – PAPIIT Convenio IN 200405-3.

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a:

Dios:

Porque estas conmigo en todo momento, por tu gran amor y tolerancia. Gracias padre por darme la oportunidad de experimentar la vida misma, por llegar a este punto de mi carrera y por la gracia de tener una familia y amigos que me quieren y aprecian.

A mi madre:

Porque eres una persona excepcional, por quererme tanto, porque me has apoyado en todo momento, porque nunca me dejarás a mi suerte, porque gracias a ti pude culminar mi carrera y he podido superarme como persona. Te doy las gracias por confiar en mí, tu sabes que nunca voy a decepcionarte. Te amo mami.

A mi padre

Te doy las gracias papá por tu cariño, tus consejos y por guiarnos siempre por el camino del bien. Siempre estarás presente en mí. y en todos tus hijos.

A mi abuela:

Ma. De Jesús. Gracias porque siempre creíste en mí, porque me enseñaste que en la vida no puedes permanecer como un espectador solamente, por tus consejos y regaños y porque a tu manera fuiste insistente conmigo para que me superara como persona. Donde quiera que estés ahora te digo, gracias por tu fortaleza, por tus cuidados y por el amor hacia tu familia. Te queremos mucho y "Nunca te olvidaremos".

A mis hermanos:

Ma. De Lourdes, Raúl y Wendy. Gracias por el cariño y el apoyo que me han brindado, porque sé que se preocupan por mi bienestar y porque puedo contar con ustedes en todo momento. Recuerden que también ustedes cuentan con mi apoyo incondicional. Los quiero mucho y espero que en las buenas y en las malas, sigamos tan unidos como hasta ahora.

AGRADECIMIENTOS

A la M. en IBSH Angélica Flores Ramírez por la oportunidad que me brindó al incorporarme a su equipo de trabajo y por su apoyo en la realización de esta tesis.

A la Dra. María Esther Cruz Beltrán por su disposición en todo momento para ayudar a mejorar este trabajo.

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por brindar sus conocimientos en la elaboración de esta tesis.

A los miembros del jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá
M. en IBSH Angélica Flores Ramírez
Dra. María Esther Cruz Beltrán
Dra. Bertha Peña Mendoza
Biól. Cristina Alvarado Domínguez

Por su empeño en la revisión de esta tesis y sus consejos para mejorarla

A la Dra. Adriana por su gran disposición para ayudarnos en el bioterio.

A Esteban, Yadira, Jacqueline, Lalo, Edna, Karina y Alma, Quienes formaron parte del laboratorio y me apoyaron en la práctica. Gracias por su ayuda y su compañía.

A Jorge, Luís, Martín, Rosa, Juanita, Gladis, Pablo, Rodrigo, Sandra, Edgar, Manuel, Adriana, Raquel y todos mis compañeros de la FES Zaragoza que me brindaron su amistad y con los que compartí momentos inolvidables. Suerte para todos.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	6
Esteroidogénesis.....	6
• Fijación y transporte de hormonas esteroides.....	10
• Receptores de las hormonas esteroides.....	11
• Depuración metabólica.....	11
Regulación de la esteroidogénesis.....	12
Neurotransmisores y su relación con la esteroidogénesis.....	15
Ovarios.....	17
Relaciones funcionales entre los ovarios y las adrenales.....	23
Participación del sistema nervioso en la regulación de las funciones ováricas.....	25
Asimetrías morfológicas y funcionales.....	28
Hipotálamo.....	30
Hipófisis.....	32
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	35
HIPÓTESIS	36
OBJETIVO GENERAL	37
• Objetivos específicos.....	37
MATERIALES Y MÉTODOS	39
RESULTADOS	43
DISCUSIÓN	52
CONCLUSIONES	58
BIBLIOGRAFIA	59

RESUMEN

Las funciones de los ovarios, son reguladas por señales endocrinas provenientes de la hipófisis, las adrenales, el timo, las hormonas ováricas y señales nerviosas que arriban al ovario por el nervio ovárico superior (NOS), el plexo ovárico y el nervio vago. El NOS es una de las vías nerviosas que comunican al ovario con el sistema nervioso central, por medio del ganglio celiaco-mesentérico superior, lo que hace suponer que esta vía nerviosa participa en la regulación de la secreción hormonal. Dado que las adrenales y los ovarios reciben información nerviosa proveniente del ganglio celíaco-mesentérico superior, se supone que este ganglio actúa como puente de comunicación nerviosa entre ambos órganos.

En este estudio se analizó la participación del NOS en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol. Para ello se utilizaron ratas en el día del diestro-2 a las que se les seccionó uno o ambos NOS. En otros grupos a los animales se les extirparon ambos ovarios o ambas adrenales. En otros animales se extirpó un ovario o una adrenal y se seccionó el NOS ipsilateral a la glándula que permaneció *in situ*, antes o después de extirpar el ovario o la adrenal.

La ovariectomía unilateral no modificó la concentración sérica de progesterona y estradiol, mientras que la ovariectomía bilateral resultó en una menor concentración de estradiol.

La adrenalectomía unilateral resultó en incremento en la concentración de estradiol, mientras que, la adrenalectomía bilateral provocó disminución de la concentración de progesterona y aumento en la de estradiol.

La ovariectomía unilateral en animales con adrenalectomía bilateral resultó en disminución de la concentración de progesterona y aumento en la de estradiol.

La sección del NOS derecho incrementó la concentración de progesterona. La sección del NOS izquierdo resultó en aumento en la concentración de estradiol. La sección bilateral no modificó la concentración de ambas hormonas.

La ovariectomía del lado izquierdo (permanece el ovario derecho *in situ*) en animales con sección del NOS derecho provocó disminución de la concentración de progesterona y aumento en la de estradiol.

La sección del NOS en animales con ovariectomía unilateral resultó en aumento en la concentración de estradiol.

En los animales con adrenalectomía unilateral, la secreción de la progesterona no es regulada por la influencia del NOS. Sin embargo, en animales con adrenalectomía izquierda, la sección del NOS derecho resulta en disminución de la concentración de estradiol, mientras que en animales con adrenalectomía derecha, la sección del NOS izquierdo resultó en aumento en la concentración de la hormona.

A partir de estos resultados sugiero que en el día del diestro-2 el aporte de estradiol proviene de los ovarios, mientras que las adrenales son la fuente principal de progesterona circulante, que las adrenales regulan de forma inhibitoria los mecanismos que modulan la secreción de estradiol. Además que el NOS participa en la regulación de la secreción de hormonas esteroides de manera asimétrica y forma parte de la comunicación nerviosa entre las adrenales y los ovarios.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas endocrino y nervioso regulan y coordinan los recursos del organismo mediante mensajeros químicos, en respuesta a los cambios del medio ambiente exterior e interior. Ambos están interrelacionados e integrados. El sistema endocrino utiliza hormonas que son transportadas por el torrente sanguíneo desde el lugar donde se elaboran (una glándula endocrina) hasta las células blanco donde regulan los procesos metabólicos. El sistema nervioso utiliza neurotransmisores que son secretados por una célula nerviosa en la vecindad de un estrecho espacio sináptico, donde influye sobre otras células nerviosas, una célula muscular o una glandular (Noback, 1980).

El hipotálamo regula la actividad de las glándulas endocrinas mediante la secreción de neurohormonas que llegan a la hipófisis por medio del sistema portal hipotalámico–hipofisiario donde estimulan o inhiben la síntesis y secreción de sus respectivas hormonas, las que a su vez llegan por el torrente sanguíneo a órganos como los ovarios, los testículos, las adrenales, la tiroides y las glándulas mamarias, donde ejercen una acción biológica determinada (Schwartz, 2000; Guyton y Hall, 2001).

La síntesis y secreción de hormonas esteroides (estrógenos, progesterona y andrógenos) y péptidos (inhibina, activina, entre otros) por parte de los ovarios es regulada por la interacción de dos gonadotropinas secretadas por la adenohipófisis: la hormona estimulante del folículo (FSH) y hormona luteinizante (LH). A su vez, la secreción FSH y LH es regulada por la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) secretada por neuronas hipotalámicas (Arimura, 2000; Fink, 2000; Halász, 2000; Levine, 2000).

Las glándulas adrenales también sintetizan progesterona y testosterona, su secreción es regulada por la hormona adrenocorticotrópica hipofisiaria (ACTH), que

es regulada por la hormona liberadora de la corticotropina hipotalámica (CRH) (Arimura, 2000; Delarue y col. 2001; Fink, 2000; Halász, 2000; Levine, 2000).

La secreción de las hormonas hipotalámicas e hipofisiarias, a su vez, es regulada en parte por las variaciones en las concentraciones de las hormonas ováricas de naturaleza esteroide o polipeptídica, por las variaciones en la concentración de las hormonas secretadas por la corteza adrenal y por numerosos sistemas de neurotransmisión (Delaure y col. 2001; Halász, 2000; Levine, 2000; Malven, 2000).

Existen interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la concentración de hormonas esteroideas que varían a lo largo del ciclo estral (Barco y col., 2003; Cruz y col., 2001; Flores y col., 2004). Además se ha mostrado la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y las adrenales (Barco y col., 2003; Cruz y col., 2005; Flores y col., 2005b; Flores y col., 2006).

Para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de parte de los órganos pares, se ha propuesto que ellas se deben a que los órganos pares reciben distintas informaciones nerviosas (Burden, 1978, 1985; Dees y col., 1986; Gerendai y Halász, 1997; Gerendai y col., 1998; Gilbert y col., 1980; Klein y Burden, 1980, 1988; Kannisto y col., 1986; Mitchel, 1988) y que por ende, las funciones de los ovarios y las adrenales son reguladas por las hormonas tróficas secretadas por la hipófisis, cuyas acciones a nivel periférico 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; 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; Galvez y col., 1999; Gerendai y col., 2000; Ulrich-Lai y col., 2002).

En los mamíferos, los ovarios están inervados por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales aferentes y eferentes que llegan al ovario por vía del

nervio ovárico superior (NOS) y el plexo ovárico (PO) (Dissen y Ojeda, 1999). El NOS es una de las vías nerviosas que comunican a los ovarios con el sistema nervioso central (SNC) y contiene neurotransmisores como la noradrenalina (NA) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP) que estimulan la secreción de esteroides ováricos (Dissen y Ojeda, 1999; Domínguez y col., 2003). El NOS tiene su origen en neuronas localizadas en el complejo ganglionar celiaco-mesentérico superior, que es un punto donde los ovarios y las adrenales tienen contacto pues se originan fibras nerviosas que inervan a ambos (Gerendai y Halász, 1997; Morán y col., 2005).

Puesto que la participación de la inervación en los mecanismos que regulan las funciones del ovario varía en función del día del ciclo estral, en este estudio se propuso analizar los efectos agudos de la sección unilateral del NOS en animales a los que se les extirpa un ovario o una adrenal en el día del diestro-2 de la rata adulta, sobre la secreción de progesterona y estradiol.

MARCO TEÓRICO

1) ESTEROIDOGÉNESIS

El núcleo básico de los esteroides son cuatro anillos aromáticos, tres ciclos hexanos y un ciclo pentano; molécula conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 1). Sobre este núcleo se agregan cadenas laterales que determinan las distintas clases de esteroides (Pedernera, 1993).

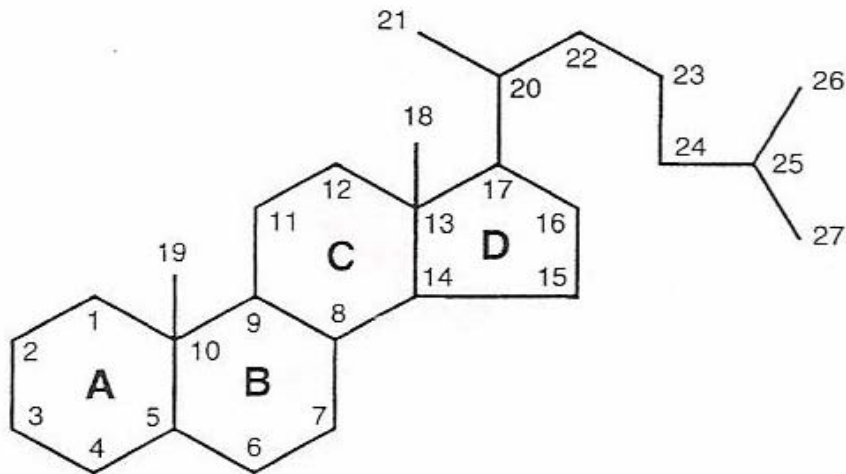


Figura 1. La molécula conocida como ciclopentanoperhidrofenantreno es el núcleo básico de los esteroides. Los átomos de carbono de los esteroides están numerados y las estructuras del anillo se designan con letras (Tomado de O'Malley y Srtott 2001).

El colesterol (C27) es el precursor de la síntesis de las hormonas esteroides. Las células con función esteroideogénica pueden obtener el colesterol de tres fuentes: a) incorporarlo de la sangre a partir de las lipoproteínas circulantes (forma común de las células esteroideogénicas ováricas), b) utilizar el colesterol almacenado bajo la forma de ésteres presentes en las inclusiones de lípidos del citoplasma, y c) sintetizarlo de "*novo*" a partir de acetato (Pedernera, 1993).

La síntesis, las enzimas y los genes que dirigen la síntesis de las hormonas esteroides son las mismas en los ovarios y en las adrenales (Figura 2, Berne y Levy, 1992).

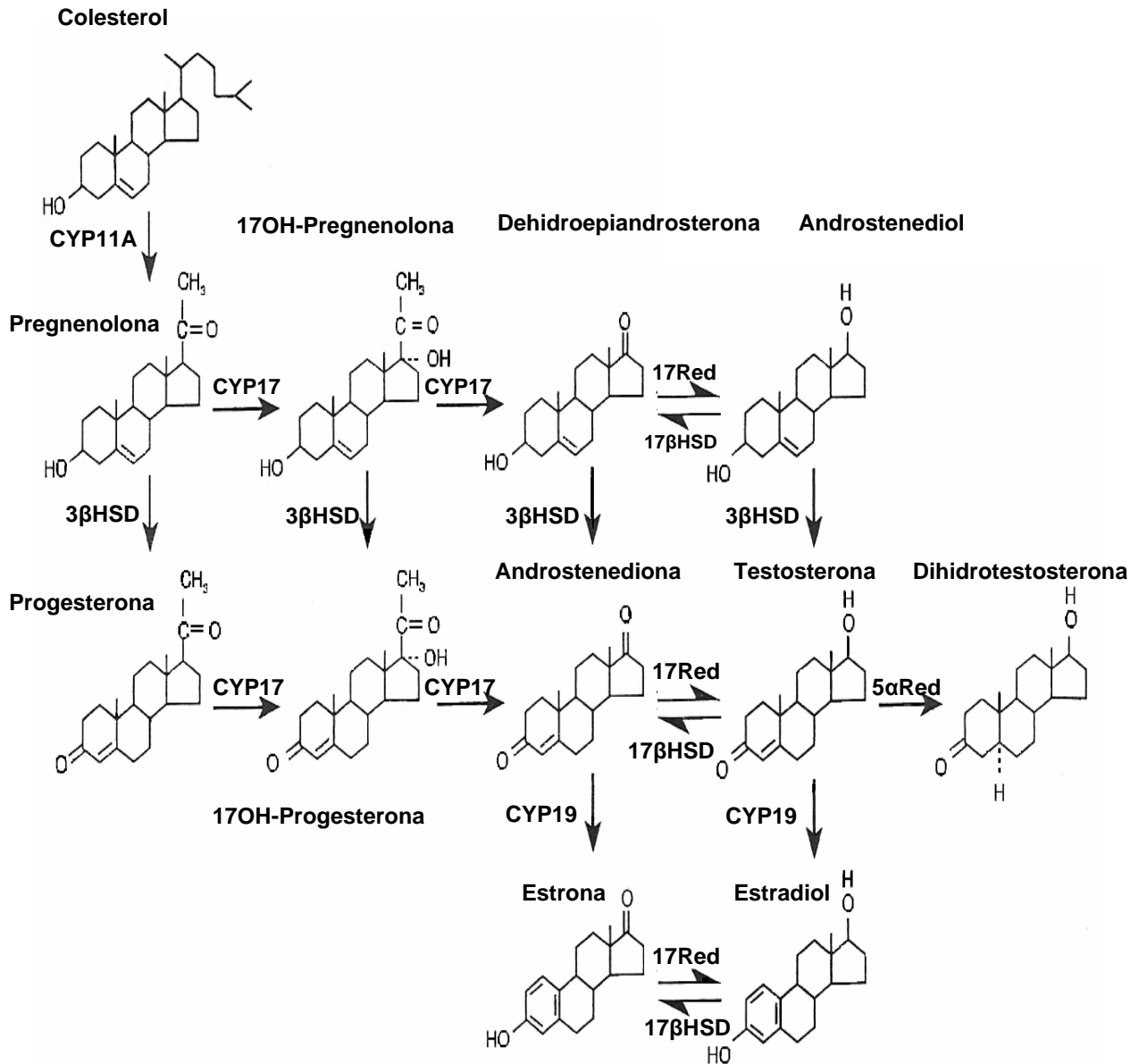


Figura 2. Vía de síntesis de las hormonas esteroides. Las enzimas son: Clivaje de la cadena lateral del colesterol (CYP11A); 17 α -hidroxilasa/17,20-liasa (17 α -CYP17); 17-reductasa (17Red); 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β HSD); 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD); 5 α -reductasa (5 α Red); aromatasa (CYP19) (Tomada de O'Malley y Strott, 2001).

La mayor parte del colesterol llega unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y entra por endocitosis formando gotículas lipídicas de ésteres de colesterol que se hidrolizan dando colesterol libre el cual es transportado de la membrana mitocondrial externa a la interna por la proteína de regulación esteroideogénica aguda

(StAR), hasta donde está localizada la enzima del citocromo P₄₅₀ (20,22 desmolasa). La enzima transforma el colesterol en pregnenolona (etapa inicial en la biosíntesis de los esteroides) la cual es extraída de la mitocondria y transformada en los distintos esteroides en el retículo endoplásmico (Figura 3, Litwack y Schmidt, 2000).

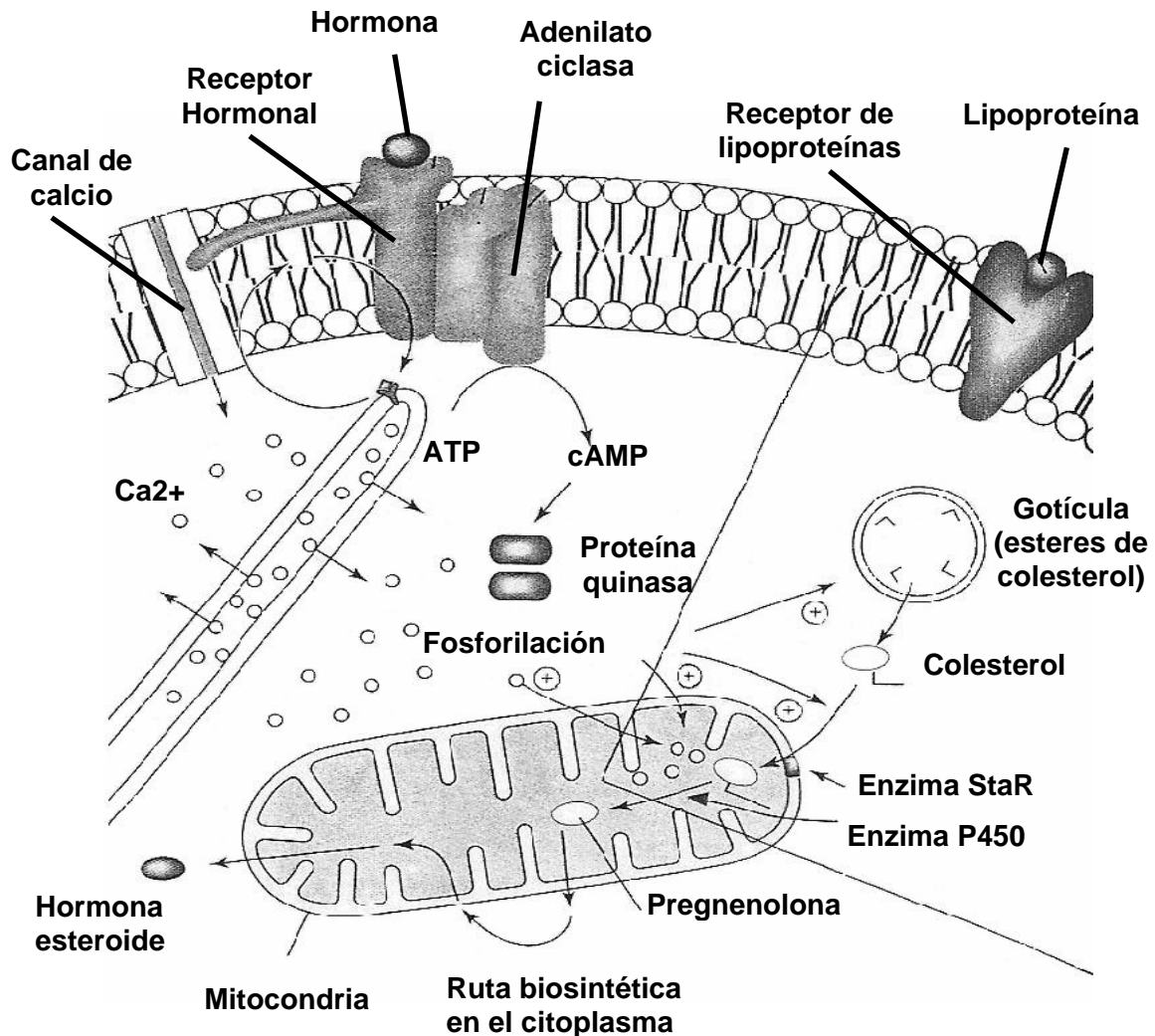


Figura 3. Biosíntesis de hormonas esteroides. La etapa inicial es el paso de colesterol a pregnenolona que se realiza en la mitocondria por la acción de la enzima P₄₅₀. La unión de las LDL a sus receptores específicos provoca que el colesterol penetre por endocitosis al interior de las células con actividad esteroidogénica. Parte del colesterol se almacena en gotas lipídicas que se hidrolizan dando colesterol libre para ser usado como sustrato, el colesterol es transportado a la membrana interna de la mitocondria por la proteína StAR hasta donde se encuentra la enzima P₄₅₀. Una vez sintetizada, la pregnenolona es extraída de la mitocondria y sufre una modificación secuencial para dar lugar a los distintos esteroides (Tomada de Litwack y Schmidt 2000).

El colesterol es metabolizado en progestinas, andrógenos y estrógenos por diferentes compartimentos del folículo. La progestina más abundante es la progesterona y es producida como un intermediario biosintético por los folículos en desarrollo y como un producto secretor del cuerpo lúteo (Yao y Barh, 1999).

Los folículos son la fuente de andrógenos ováricos (con 19 átomos de carbono). La pregnenolona y la progesterona son convertidas en dehidroepiandrosterona (DHEA) y androstenediona, respectivamente. Estos metabolitos son transformados en testosterona. Las células teco-intersticiales de los folículos son la primera fuente de andrógenos ováricos. En el sistema nervioso central, algunas células poseen el complejo enzimático de aromatización, por lo que convierten a los andrógenos en estrógenos (Domínguez, 1997; Yao y Bahr, 1999).

Los estrógenos (con 18 átomos de carbono), especialmente estrona y 17β -estradiol son los más importantes esteroides ováricos. La androstenediona y testosterona son los precursores biosintéticos inmediatos de estrona y 17β -estradiol, respectivamente. En el ovario, la capa de la granulosa es el sitio con mayor síntesis de estrógenos (Yao y Bahr, 1999).

La corteza adrenal secreta cinco tipos de hormonas esteroides: mineralocorticoides, glucocorticoides y andrógenos en mayor grado, estrógenos y progestágenos en menor grado (Figura 4). Los mineralocorticoides son producidos exclusivamente por la zona glomerular, los glucocorticoides son producidos principalmente en la zona fascicular y en menor grado por la zona reticular, mientras que los andrógenos son producidos en su mayoría por la zona reticular y en menor grado por la zona fascicular. Los andrógenos principales de origen adrenal son: DHEA, sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS), 11β -hidroxiandrostenediona (11β -A) y androstenediona (Gonzalez, 1999).

La síntesis de progesterona y andrógenos en las adrenales tiene lugar en la zona reticular. La actividad andrgénica en la corteza adrenal es muy débil, por el

contrario, después de circular por vía sanguínea pueden convertirse en verdaderos andrógenos activos en distintos tejidos blanco (tejido adiposo o hígado) (Berne y Levy, 1992; Borel y col., 1989).

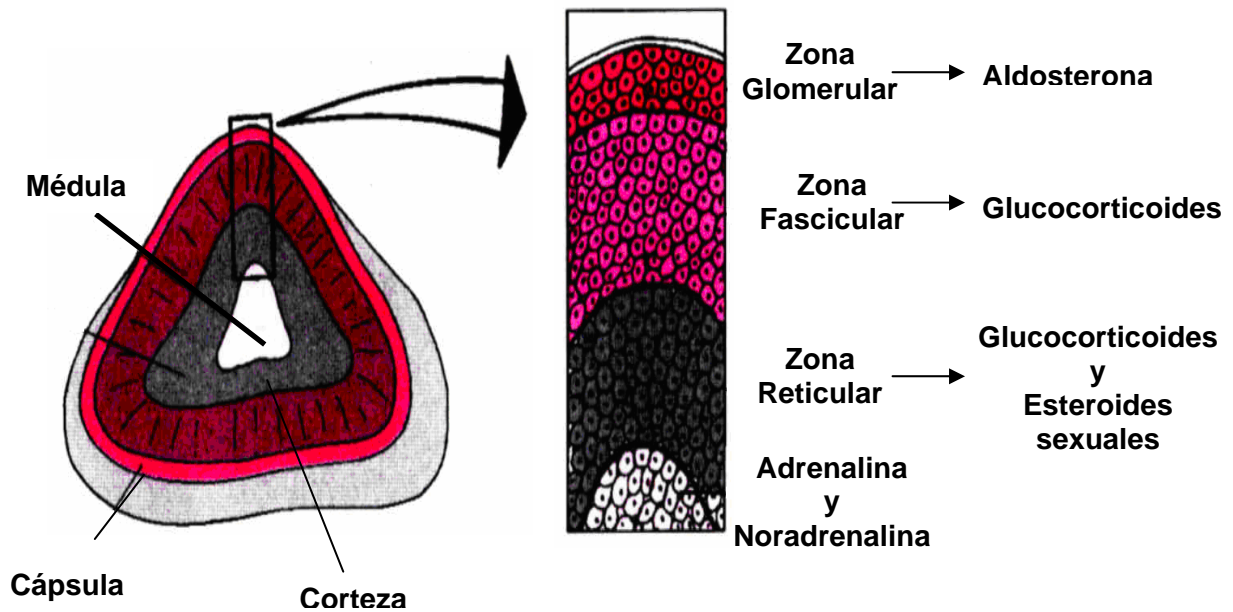


Figura 4. Estructura de la glándula suprarrenal y principales hormonas secretadas por ella (Tomada de López-Calderón, 1999).

Fijación y transporte de hormonas esteroideas:

Una vez sintetizadas, las hormonas esteroideas, se secretan a la circulación general o al sistema linfático para ser transportadas. Las hormonas esteroideas tienen naturaleza lipotrófica y son parcialmente insolubles en medio acuoso. El mecanismo por el que las hormonas esteroideas se incorporan de modo parcial en medios acuosos y se transportan a diversos sitios se realiza gracias a la interacción de estas hormonas con componentes de naturaleza proteica presentes en el torrente circulatorio, como la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG o TeBG) (con afinidad tanto por andrógenos como por estrógenos), la globulina transportadora de corticosteroides

(CBG o transcortina) (con afinidad por esteroides de origen suprarrenal como glucocorticoides y progesterona), entre otras (Pérez y col., 1995; Yen, 2001).

El hecho de que las hormonas esteroides se unan a las proteínas plasmáticas circulantes las presenta en dos formas en la circulación: ligadas y no ligadas. La fracción no ligada es la fracción biológicamente importante porque puede difundir libremente en el tejido durante el tránsito por el lecho capilar. Por otra parte, se considera que la fracción ligada a las proteínas actúa fundamentalmente como reservorio de las hormonas esteroides (Yen, 2001).

Receptores de hormonas esteroides:

Los esteroides libres (no unidos a proteínas plasmáticas) se difunden hacia el interior de las células y se combinan con los receptores específicos presentes en las células blanco en los que ejercerán sus funciones. Una vez dada la unión, las hormonas esteroides determinan que los receptores sufran un cambio conformacional (alostérico) de estructura que los convierte de inactivos en activos. La forma activa es capaz de afectar la transcripción nuclear de los genes que culmina con la generación del producto proteico apropiado especificado por el gen en cuestión (Yen, 2001).

Depuración metabólica.

Los esteroides circulantes son transformados principalmente en el hígado por una serie de reacciones y los metabolitos alterados son conjugados y excretados en la orina sobre todo como glucuronatos pero también en cierta medida como ésteres sulfonatos (Yen, 2001).

2) REGULACIÓN DE LA ESTEROIDOGÉNESIS

En la síntesis de los estrógenos participan dos células del folículo: la célula tecointersticial, que sintetiza andrógenos (androstenediona, testosterona o ambos), los cuales atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa donde son aromatizados. Los estrógenos ejercen acciones directas sobre las células de la granulosa y el ovocito y otros se difunden a la circulación general (Domínguez, 1991).

La hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH), sintetizadas en células gonadotropas de la adenohipófisis participan de manera conjunta en la esteroiogénesis ovárica. La LH regula la síntesis de estrógenos por sus efectos sobre la producción de andrógenos por las células tecales, ya que estimula selectivamente el complejo enzimático que separa la cadena colateral del colesterol y las actividades de la 17 α hidroxilasa y la C 17-20 desmolasa, las que provocan la conversión del colesterol a pregnenolona, paso limitante en la síntesis de progesterona y por lo tanto de andrógenos. La LH también estimula la síntesis y la actividad de la aromatasa en las células de la granulosa que han sido previamente estimuladas con la hormona estimulante del folículo (FSH). En los folículos preantrales, las células de la granulosa carecen de receptores a LH y su síntesis es estimulada por la FSH y los estrógenos. En las células de la granulosa, la FSH se une a su receptor en la membrana celular, el complejo receptor-hormona actúa sobre el sistema de la adenilato ciclasa, provoca el aumento del adenosín monofosfato cíclico (AMPc), estimula la síntesis y la actividad de la aromatasa lo cual resulta en la estimulación de la síntesis de estrógenos (Domínguez, 1991).

Particularmente en el folículo preovulatorio, la síntesis de progesterona por las células tecales y de la granulosa es estimulada por la LH, la prolactina (PRL) y la noradrenalina (NA), cuyos efectos son mediados por el AMPc (Domínguez, 1991).

La acción de la LH sobre la producción de andrógenos en células de la teca, junto con la acción de la FSH en la síntesis de estrógenos en las células de la granulosa, forman la base de la teoría de la doble célula doble hormona en el control de la esteroidogénesis en el ovario (Figura 5, Ericsson, 1987; Yao y Bahr, 1999).

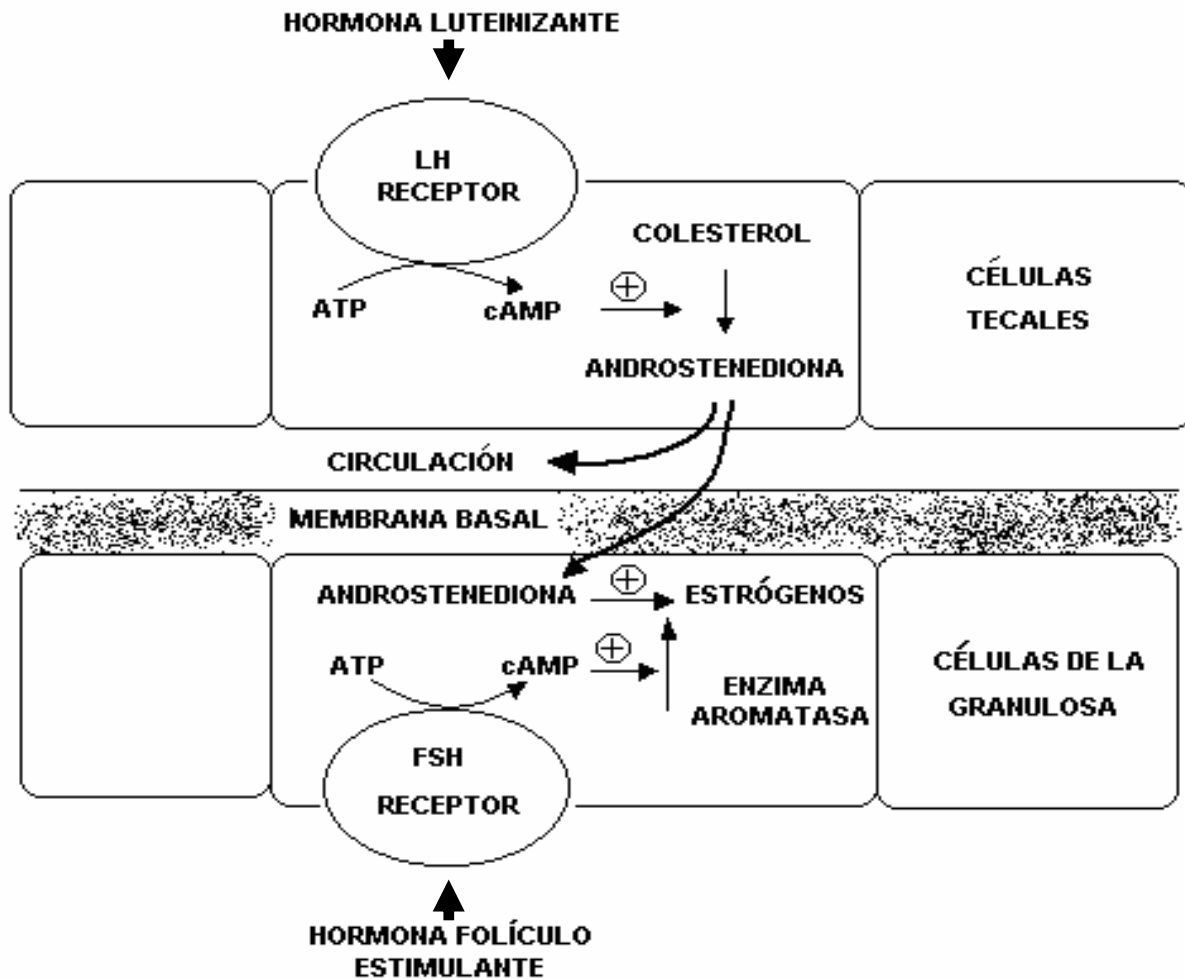


Figura 5. Teoría de la doble célula-doble hormona en la esteroidogénesis folicular. La LH se une a receptores de membrana específicos sobre las células de la teca interna y estimula la producción de AMPc y la conversión de colesterol a andrógenos, principalmente androstenediona y testosterona. Estos andrógenos se difunden a la circulación y a través de la membrana basal hasta llegar al interior de las células de la granulosa. La FSH se une a receptores de membrana específicos sobre las células de la granulosa y estimula la producción de AMPc el cual permite que se incremente la actividad de la enzima aromatasa y la conversión de andrógenos a estrógenos (Tomada de Yao y Bahr, 1999).

Los efectos de la LH sobre la síntesis de estrógenos son amplificados por su liberación pulsátil, ya que la respuesta secretora es controlada tanto por la amplitud como por la frecuencia de los pulsos de LH (Domínguez, 1991).

Las células de la granulosa de los folículos también presentan receptores a prolactina, esta hormona inhibe la actividad de la aromatasa y bloquea los efectos de la FSH sobre las mismas, lo que resulta en la disminución de la producción de estrógenos. Además, actúa en las células tecaes donde bloquea la síntesis de andrógenos al disminuir la formación de AMPc y de la escisión de la cadena colateral del colesterol (Domínguez, 1991).

Además de la FSH, la LH y la prolactina, la secreción de estrógenos por el folículo está regulada por otros factores cuyos efectos en general van acoplados a los de la FSH y la LH: a) la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), secretada por neuronas del hipotálamo, inhibe la síntesis de andrógenos en las células tecaes e impide los efectos estimulantes de la FSH sobre la actividad aromatasa de las células de la granulosa, b) la oxitocina inhibe la actividad de la 17 α -hidroxilasa y la 20-22 desmolasa, c) el factor de crecimiento epidermal bloquea los efectos de la FSH sobre la aromatasa 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), también 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. Además, los corticoides adrenales bloquean el desarrollo de los receptores a la LH, inducidos por la FSH, en las células de la granulosa (Domínguez, 1991).

La síntesis de estrógenos es regulada de manera estimulante por la noradrenalina y la prostaglandina E2 (PGE2). 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 receptores β provoca el aumento en la síntesis de progesterona y de andrógenos. La PGE2 estimula la

síntesis de estrógenos por las células de la granulosa y de progesterona por las células tecales (Domínguez, 1991).

3) NEUROTRANSMISORES Y SU RELACIÓN CON LA ESTEROIDOGÉNESIS.

Las terminales nerviosas de las fibras que inervan al ovario, liberan al interior de la glándula neurotransmisores entre los que se encuentran la catecolamina noradrenalina, el péptido intestinal vasoactivo (VIP), neuropéptido Y (NPY), sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), considerados como reguladores de la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

Las catecolaminas como NA afectan la esteroidogénesis ovárica vía unión a los receptores β_2 -adrenérgicos, quienes estimulan la liberación de progesterona de las células de la granulosa y las células luteales y los andrógenos de las células tecales. También facilitan la respuesta esteroidogénica de las células ováricas a bajas concentraciones de gonadotropinas lo que es interpretado como que estos nervios amplifican los efectos de gonadotropinas circulantes sobre la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999; Weiss y col., 1982).

Los receptores β_2 -adrenérgicos se encuentran localizados en células de la granulosa y células tecales de folículos desarrollados así como células luteales (Ferruz y col., 1992).

VIP es un potente estimulador de la secreción de progesterona, estradiol y andrógenos, ya que amplifica la síntesis de los componentes del complejo enzimático de clivaje de la cadena lateral, la tasa de la enzima limitante en la biosíntesis esteroide y estimula la actividad aromatasa. En ovarios neonatales, VIP induce la expresión de genes para el receptor de FSH y en conjunto con la hormona estimula el crecimiento folicular (Dissen y Ojeda, 1999).

En cultivos de células de la granulosa, VIP induce la síntesis de la proteína sulfúrica de hierro y la proteína sulfúrica de hierro reductasa NADPH (reductasa) enzimas que son componentes del complejo enzimático de clivaje de la cadena lateral (SCC), el cual cataliza la tasa de reacción limitante en la síntesis y regulación esteroideogénica del ovario. VIP incrementa la formación de AMPc que está involucrado en la activación y síntesis de P450_{SCC}. (Trzeciak y col., 1986).

El NPY participa en el control del flujo sanguíneo ovárico, no parece estar involucrado en el proceso ovulatorio, pero contribuye a modular la respuesta de las células de la granulosa a las gonadotropinas y a las catecolaminas (Dissen y Ojeda, 1999).

El NPY actúa como un cotransmisor de la NA y media los efectos noradrenérgicos sobre el lecho vascular. En el ovario de la rata el NPY puede actuar como un neurotransmisor modulador que inhibe la secreción de NA y no tiene un efecto directo sobre la esteroidogénesis ovárica. En cultivos de células de la granulosa de porcinos el NPY tiene un efecto inhibitorio sobre la concentración de progesterona y andrógenos y parece estimular la secreción de estradiol en células luteales. Las fibras que contienen NPY inervan los vasos sanguíneos y el tejido perifolicular (Ferruz y col., 1992).

La secreción de NPY ocurre a altas frecuencias de estimulación (actividad simpática amplificada) y puede actuar imitando los efectos vasoconstrictores de NA probablemente por la activación específica de receptores Y1/Y2. La concentración de NPY incrementa en la circulación durante el ejercicio extenuante o durante periodos de estrés provocando disminución en la secreción esteroide ya que reduce los efectos de las gonadotropinas en el desarrollo folicular así como la capacidad de NA para estimular la secreción de progesterona y estradiol de sus células secretoras (Ferruz y col., 1992).

Las fibras que contienen SP y CGRP están relacionadas predominantemente con la regulación del flujo sanguíneo y provee la información sensorial aferente que envía el ovario (Dissen y Ojeda, 1999).

4) OVARIOS

El ovario es el órgano reproductor primario. En él se producen los gametos femeninos y se sintetizan hormonas que participan en la regulación de las funciones reproductivas y del metabolismo en general. Son pares y se localizan contra la pared pélvica a ambos lados de la cavidad pélvica, están suspendidos en un pliegue peritoneal llamado mesovario. La arteria ovárica (o arteria útero-ovárica) recibe el riego sanguíneo por la aorta abdominal que llega al ovario a lo largo del mesovario, rama que entra a través del hilio, por donde salen las venas (Fawcett 1995; Yao y Bahr, 1999).

En el ovario se distingue una médula y una corteza. La médula está formada por estroma, nervios, abundantes vasos sanguíneos arteriales y venosos con poco tejido conectivo y la glándula intersticial. En la corteza se localizan los folículos en diferentes estadios de crecimiento y maduración embebidos en estroma. La parte más externa de la corteza está tapizada por el epitelio germinal escamoso o cuboide que se apoya en la túnica albugínea, una capa de tejido conectivo denso, que da al ovario su color. El estroma está compuesto de al menos tres tipos celulares diferentes: células de tejido conectivo (fibroblastos) con funciones de soporte, células del músculo liso, que regulan las contracciones de los folículos y células intersticiales que incluyen células de la teca y foliculares que provienen de folículos atrésicos así como cuerpos lúteos en regresión (Yao y Bahr, 1999).

El folículo ovárico es la unidad anatómico-funcional del ovario, a partir del cual se originan los tres compartimientos del órgano; el folicular, el luteal y el intersticial. La mayoría de los folículos corresponden a folículos primordiales que consisten de un ovocito esférico rodeado de una capa de células foliculares planas o cilíndricas bajas y la membrana basal. Algunos de los folículos primordiales se desarrollan y se

convierten en folículos primarios en los que el ovocito adquiere un tamaño mayor y aparece rodeado por dos o más capas de células foliculares que ahora reciben el nombre de células de la granulosa (Figura 6, Domínguez y col., 1991; Fawcett, 1995). 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 una capa glucoprotéica que se condensa gradualmente formando la zona pelúcida (Fawcett, 1995).

Las funciones de los ovarios (secreción de hormonas y ovulación) son reguladas por las gonadotropinas cuya secreción es estimulada a su vez por la GnRH (Arimura, 2000; Delarue y col., 2001; Fink, 2000; Halász, 2000; Levine, 2000).

En el folículo en crecimiento, las células de la granulosa proliferan rápidamente por estímulo de la FSH, evento en el cual los estrógenos actúan de manera sinérgica. Una trama densa de capilares perifoliculares, acompañados de células fusiformes del estroma, se agrupan alrededor del folículo y forman una capa llamada teca folicular que se divide en interna y externa. La teca interna tiene una gran cantidad de capilares y células epiteliales que adquieren características de células secretoras de esteroides mientras que la teca externa está formada por un complejo sistema de fibras colágenas, células de tejido conectivo y fibras musculares lisas (Domínguez y col., 1991; Fawcett, 1995; Yao y Bahr, 1999).

Los vasos sanguíneos y los nervios sólo llegan a la teca interna ya que no penetran a la granulosa en ningún estadio del desarrollo folicular. Las células tecointersticiales tienen receptores a LH, prolactina, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), NA, GnRH y estrógenos (Domínguez y col., 1991; Roby y Terranova, 1999).

Cuando el folículo se encuentra rodeado por 6 a 10 filas de células de la granulosa, se comienza a acumular un líquido claro en los espacios intercelulares de diferentes formas y tamaños que quedan entre las células de la granulosa (Fawcett, 1995). Este líquido llamado "líquido folicular" se origina por extravasación de

componentes plasmáticos y por la secreción de células de la granulosa. En él se encuentran proteínas, polipéptidos, FSH, LH, prolactina, progesterona, andrógenos, estrógenos, gonadocrininas y NA, cuyas concentraciones varían durante el ciclo estral (Domínguez y col., 1991).

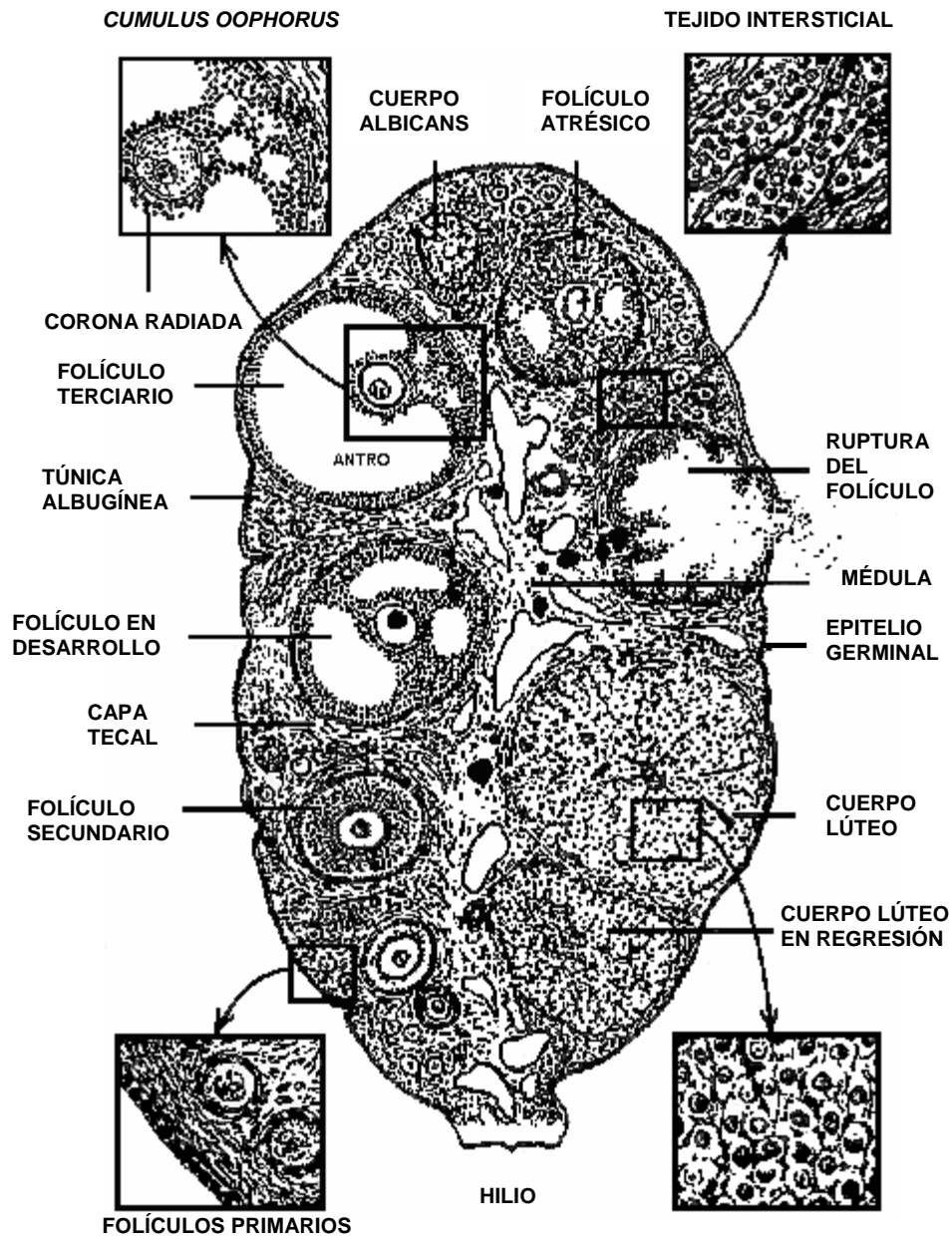


Figura 6. Esquema de la morfología del ovario de la ratona durante el periodo de desarrollo folicular, formación del cuerpo lúteo y su regresión (Tomada de Yao y Bahr, 1999).

A medida que el folículo aumenta su volumen antral, los espacios que ocupan confluyen y forman una única “cavidad antral” con forma de semiluna. Después de su aparición, el folículo se denomina “folículo secundario o antral”. Algunos de estos folículos adquieren carácter dominante y continúan su desarrollo hasta alcanzar un diámetro que los hace sobresalir en la superficie del ovario (Domínguez y col., 1991; Fawcett, 1995).

El crecimiento folicular culmina en uno de dos procesos: atresia el más frecuente o la ovulación. La atresia es un proceso que se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular en el cual, el ovocito pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Las células de la granulosa pierden gradualmente los receptores a FSH y LH, disminuyendo la capacidad de aromatización de andrógenos, por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo. También disminuye la capacidad de síntesis de andrógenos por las células tecales, por pérdida de la actividad de la C 17-20 liasa. Sin embargo, estas células mantienen la capacidad de síntesis de progesterona hasta etapas avanzadas del mismo proceso (Domínguez y col., 1991; Wong y Adashi, 1999).

La ovulación es considerada como el resultado de un proceso inflamatorio localizado, ya que antes que se produzca la salida del ovocito hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento de las prostaglandinas en el área. Para que se produzca la ovulación, son necesarios varios cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células de la granulosa y las tecales. Es posible que las células musculares de la teca participen en la contracción del folículo y la expulsión del ovocito durante la ovulación (Domínguez y col., 1991).

Durante la última etapa del crecimiento y diferenciación folicular y a consecuencia de la disminución de estrógenos en el líquido folicular se produce la desaparición de los desmosomas producidos por las células de la granulosa y las tecales así como la ruptura de los nexos entre estas células. Por otro lado, ocurre la degradación de las fibras colágenas provocada por la fibrinolisis activada por el

plasminógeno, producto de las células de la granulosa y la concentración de progesterona aumenta (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 E (Domínguez y col., 1991). La plasmina degrada la colágena de la pared folicular y en consecuencia disminuye su rigidez. La actividad de esta enzima es estimulada directamente por la LH y los efectos de esta 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. La ovulación se produce 10 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de las gonadotropinas; una vez que éste ha alcanzado el tamaño y el grado de diferenciación adecuado, según la especie en estudio (Domínguez y col., 1991; Espey, 1999; Roby y Terranova, 1999).

Luego de la ovulación, la sangre de los vasos sanguíneos de la pared folicular se infiltra a los folículos colapsados y resulta en la formación de un cuerpo hemorrágico, el cual se reorganiza para convertirse en cuerpo lúteo. Las células luteinizadas de la granulosa y las células de la teca se dividen de manera acelerada e invaden la cavidad antral. Desde la teca interna los vasos sanguíneos crecen y penetran la masa de células luteales. Si la preñez no ocurre, el cuerpo lúteo degenera (Yao y Bahr, 1999). Las células de la teca interna de aquellos folículos que van a la atresia y que ya tienen receptores a la LH forman la glándula intersticial (Domínguez, 1997).

Los ovarios son responsables de la síntesis de hormonas esteroideas sexuales (progesterona, andrógenos y estrógenos) y péptidos (inhibina, activina, entre otros) necesarios para la regulación de las funciones reproductivas (Domínguez, 1997; Espey, 1999; Yao y Bahr, 1999).

La actividad hormonal cíclica del ovario durante el crecimiento folicular, la ovulación, formación del cuerpo lúteo y su regresión se reflejan en todos los órganos que presentan receptores a las hormonas ováricas. Esta actividad cíclica recibe el nombre de “ciclo ovárico” y los cambios cíclicos celulares que se producen en la vagina y en la receptibilidad de las hembras reciben el nombre de ciclo estral (Kilen y Schwartz, 1999; Schwartz, 2000). Freeman, en 1994, mostró el perfil de secreción de progesterona, estradiol, prolactina y gonadotropinas durante el ciclo estral (Figura 7).

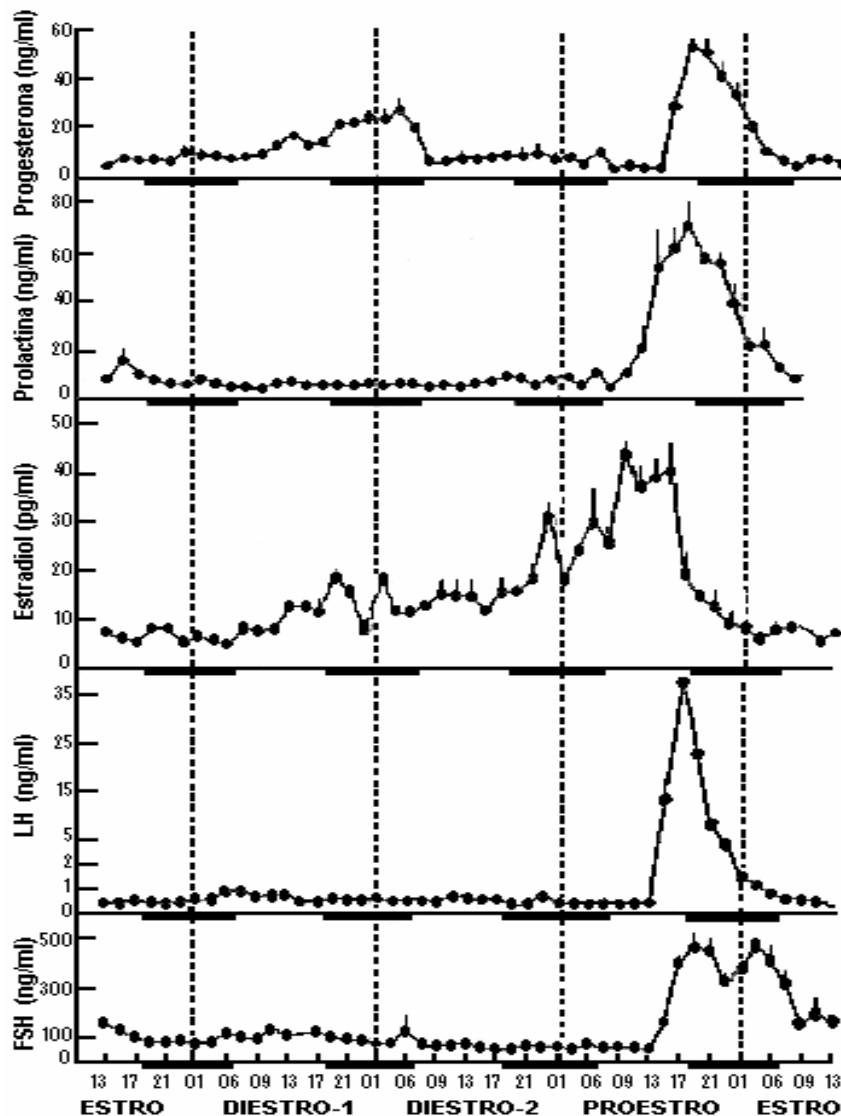


Figura 7. Perfil de las concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH y FSH durante los cuatro días del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el periodo de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 - 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

5) RELACIONES FUNCIONALES ENTRE LOS OVARIOS Y LAS ADRENALES

Numerosos estudios muestran que el aumento en la concentración de glucocorticoides como respuesta al estrés, afecta la secreción hormonal y la ovulación. La adrenalectomía bilateral quirúrgica o patológica afecta de manera inhibitoria las funciones de los ovarios. (Fink, 2000; Halász, 2000; Levine, 2000; Malven, 2000). Jacobs y Pepler (1980) mostraron que la adrenalectomía bilateral resulta en disminución del número de ovocitos liberados, cuantificados 30 días después de la intervención quirúrgica.

Cuando se someten ratas adultas a estrés durante tres semanas, los ovarios desarrollan quistes. La adrenalectomía aumenta la secreción de noradrenalina por los ovarios, el contenido de receptores β -adrenérgicos y la secreción basal de andrógenos. El estrés provoca aumento en la secreción de noradrenalina, disminución del contenido de receptores β -adrenérgicos y no modifica la secreción basal de andrógenos (Galvez y col., 1999; Paredes y col., 1998). La actividad de las adrenales varía durante el ciclo estral (Figueiredo y col., 2002).

Otro estudio que apoya la relación funcional existente entre los ovarios y las adrenales es el de Barco y col. (2003), quienes mostraron que la extirpación de ambas adrenales en el día del estro, inhibe la secreción de progesterona, pero aumenta la de testosterona y estradiol por parte de los ovarios. En la rata con adrenalectomía y ovariectomía unilateral analizadas 24 horas después de la cirugía, el ovario izquierdo secreta más testosterona y estradiol que el ovario derecho (Barco, 2005).

La adrenalectomía bilateral en animales con ovariectomía unilateral izquierda (ovario derecho *in situ*), realizada en el día del diestro-2 resulta en aumento en la concentración de estradiol. Cuando la adrenalectomía se realiza en animales con ovariectomía unilateral derecha (ovario izquierdo *in situ*), en los días de diestro no se observan diferencias significativas en la concentración de estradiol respecto a los animales ovariectomizados unilateralmente (Flores y col., 2004; Rodríguez, 2003).

En los animales castrados en la tarde del día del proestro sacrificados una hora después de la cirugía, se observa aumento en la concentración de progesterona y disminución de la de testosterona y estradiol. A diferencia de ello, la adrenalectomía bilateral resulta en disminución de la concentración de progesterona, sin cambios en la concentración de testosterona o estradiol. Estos resultados son interpretados como prueba de que en el día del proestro, las adrenales son la principal fuente de progesterona que llega a la circulación, mientras que los ovarios son quienes sintetizan testosterona y estradiol (Cruz y col., 2005; Flores y col., 2005b; 2006).

La adrenalectomía bilateral en las ratas con ovariectomía unilateral, indujo disminución en la concentración de progesterona respecto a la del grupo de animales ovariectomizados unilateralmente. Estos resultados apoyan la idea de que en el día del proestro, la secreción de progesterona proviene principalmente de las glándulas adrenales (Flores y col., 2005b).

En los días de diestro, el ovario izquierdo secreta más estradiol que el derecho, mientras que en el día del proestro, el ovario derecho es el que secreta más estradiol. La capacidad de secreción de estradiol por parte de los ovarios es regulada por las adrenales y varía durante el ciclo estral: en diestro-2 sería de tipo inhibitorio sobre el ovario derecho y en el día del proestro estimulante sobre el ovario izquierdo. Esta regulación podría depender, en parte, de la inervación de las adrenales, en particular la que recibe del nervio vago, y su vinculación con el sistema nervioso central. Tomados en conjunto estos resultados concuerdan con la hipótesis de que la regulación que ejercen los mecanismos neuroendocrinos sobre las funciones de los ovarios es asimétrica y varía durante el ciclo estral (Barco y col., 2003; Flores y col., 2004; Palafox, 2003).

Al igual que para los ovarios, se ha propuesto la existencia de una conexión neural directa entre el cerebro y las glándulas endocrinas, particularmente las adrenales, ya que la adrenalectomía unilateral resulta en engrosamiento del núcleo ventromedial hipotalámico contralateral a la adrenalectomía unilateral y su

encogimiento sobre el lado ipsilateral. La adrenalectomía unilateral induce incremento en la síntesis de proteínas en las neuronas del núcleo arcuato hipotalámico contralateral a la adrenal que se extirpó, así como cambios metabólicos unilaterales en las neuronas hipotalámicas seguidas de la ovariectomía unilateral (Gerendai y Halász, 1997).

6) PARTICIPACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

Los ovarios de los mamíferos están inervados por neuronas simpáticas parasimpáticas y sensoriales, que alcanzan los componentes estructurales de la glándula, incluyendo la vasculatura, el tejido intersticial y los folículos en desarrollo que llegan al ovario por medio del plexo ovárico (PO), el nervio ovárico superior (NOS) y el nervio vago. Particularmente los nervios de naturaleza simpática inervan al ovario por medio del NOS y el PO (Dissen y Ojeda, 1999).

En el ovario de la rata la inervación sensorial está representada por fibras que contienen SP y el CGRP (Kannisto y col., 1986). Los somas neurales que se proyectan al ovario por el nervio ovárico superior y por el plexo ovárico se localizan en ganglios prevertebrales (Ganglio celiaco y Ganglio mesentérico superior) y pequeños ganglios localizados cerca del origen de las arterias renal y ovárica (Mc Neil y Burden, 1987). La porción simpática de la inervación ovárica se origina en los segmentos de la torácica-11 a la lumbar-4 (T-11 a L-4) de la cadena ganglionar simpática y hace sinapsis en el ganglio celiaco y mesentérico. La porción sensorial del ovario de la rata deriva del ganglio nodoso y el ganglio de la raíz dorsal localizado entre los segmentos craneales dorsales (T-9 a T-11) y el segmento lumbar craneal del cordón espinal (L-2 a L-4) (Dissen y Ojeda, 1999). Tanto el NOS como el PO poseen componentes nerviosos aferentes de la cadena de la raíz dorsal (Mc Neil y Burden, 1987).

En la rata, el PO corre a lo largo de la arteria y vena ovárica y sus fibras inervan principalmente la vasculatura ovárica (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999).

El NOS es un nervio predominantemente noradrenérgico, y se encuentra en el borde libre del ligamento suspensor e inerva al ovario, al oviducto y la porción rostral del útero (Figura 8, Lawrence y Burden, 1980; De Bortoli y col., 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y Halász, 1997).

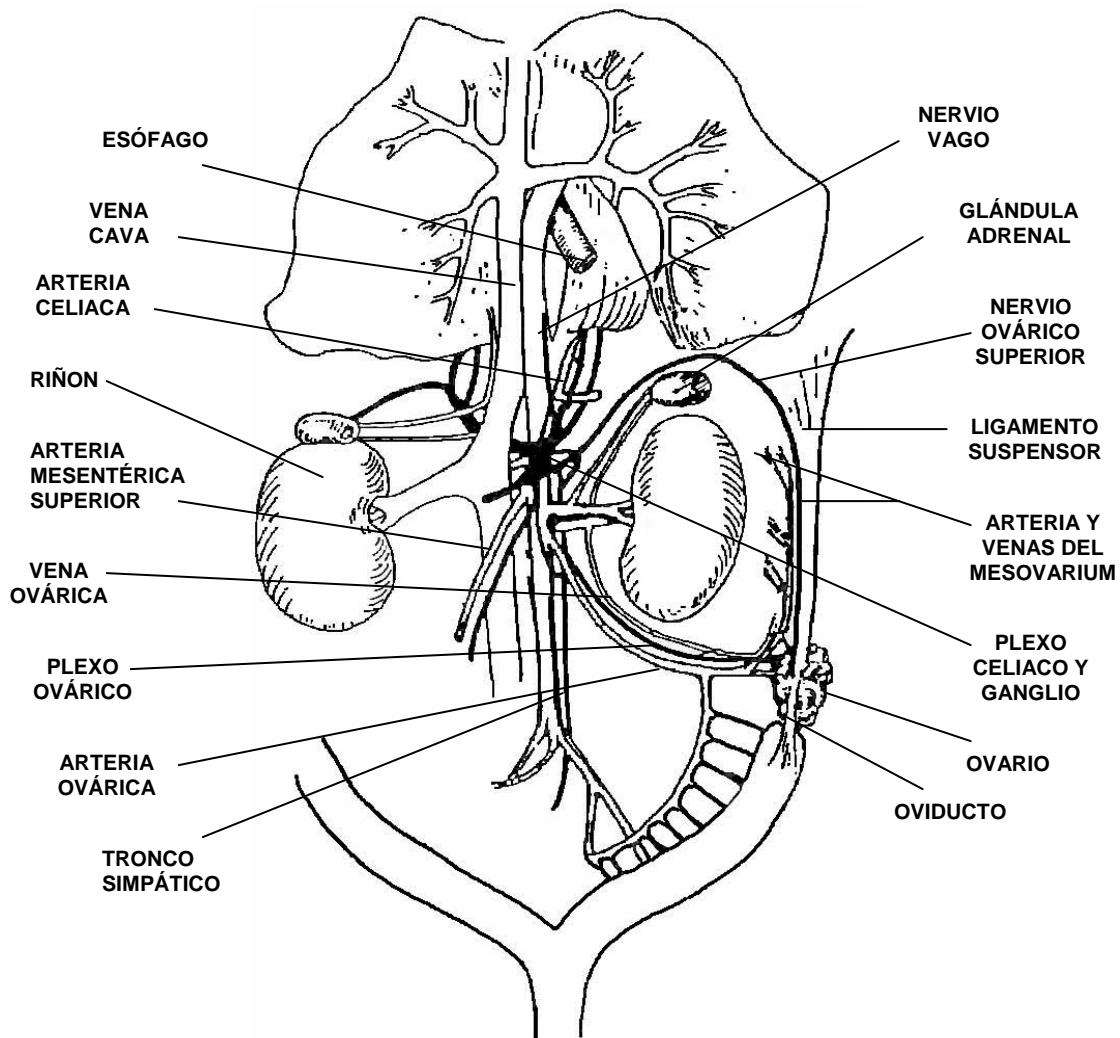


Figura 8. Representación esquemática de la trayectoria del nervio ovárico superior (NOS) desde su origen en neuronas posganglionares localizadas en el complejo ganglionar celiaco-mesentérico superior y extendiéndose a lo largo del ligamento suspensor para arribar al ovario. El NOS forma parte de la información simpática que recibe el ovario y es su principal vía de inervación noradrenérgica (Tomada de Lawrence y Burden, 1980).

Las fibras del NOS están distribuidas principalmente en la teca perifolicular, en relación íntima con las células de la teca interna y las células intersticiales secundarias. Por otro lado, las células de la granulosa, las células luteales y las células de la teca externa no están directamente inervadas (Aguado, 2002).

Las fibras simpáticas que contienen NA y NPY alcanzan el ovario vía el NOS y el PO, mientras que las fibras que contienen VIP alcanzan el ovario sólo por vía del NOS. Las fibras VIPérgicas inervan los tres compartimientos del ovario prepuberal; tejido intersticial, folículos y vasculatura ovárica. Las fibras que contienen SP y CGPR alcanzan al ovario vía el PO, las fibras inervan todos los compartimientos, pero predominantemente la vasculatura (Dissen y Ojeda, 1999).

La información que llega al ovario por el NOS modula la respuesta del ovario a las gonadotropinas, tanto en la secreción de hormonas ováricas como en la ovulación (Aguado y Ojeda, 1984; Chávez y Domínguez, 1994).

Algunos estudios que respaldan este concepto son los de Aguado y Ojeda (1984) quienes analizaron los efectos de la denervación del NOS realizada en la mañana del proestro en ratas adultas; sus resultados mostraron que la secreción de progesterona y estradiol disminuye significativamente a los 4 minutos, hasta cerca de un 50-60% de los valores registrados antes de la sección. A las 14:00 horas del proestro, si bien la sección del NOS produce disminución transitoria (8 min) en la concentración de progesterona, lo cual es seguido por un aumento significativo; la concentración de estradiol permanece baja. La sección del NOS durante el estro no altera las concentraciones de esteroides ni el flujo sanguíneo.

La estimulación eléctrica del NOS causa la liberación de progesterona del ovario de ratas en el día del diestro. Inversamente, cuando se realiza la sección del NOS en ratas en el día del proestro, resulta en una repentina caída en la concentración de progesterona y estradiol en el afluyente de la vena ovárica (Aguado, 2002).

Montiel (2005), Montiel y col. (2005) y Gallegos (2005a, 2005b) analizaron los efectos de la denervación del ovario *in situ* sobre la secreción de hormonas esteroides evaluadas una hora después de realizar las cirugías respectivas y mostraron que en el día del diestro 1, el NOS izquierdo lleva información que regula de forma inhibitoria la concentración de progesterona y estradiol secretadas por el ovario denervado, mientras que el NOS derecho regula de forma estimulante la secreción de progesterona y no participaría en la regulación de la secreción de estradiol. En el día del proestro, el NOS del lado derecho regula en forma estimulante la secreción de estradiol y testosterona.

Intervenciones quirúrgicas similares realizadas en el día del proestro evaluadas 24 horas después, muestran disminución de la tasa de animales ovulantes y del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (Velasco, 2005).

7) ASIMETRÍAS MORFOLÓGICAS Y FUNCIONALES

Existen evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. El término asimetría funcional hace referencia a las diferentes respuestas que presentan el órgano derecho y el izquierdo ante el mismo estímulo. Tales diferencias entre los órganos derecho e izquierdo, pueden observarse en humanos y animales. También se ponen de manifiesto en condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a algún tipo de experimento (Domínguez y col., 2003).

Es bien conocido que en las aves sólo el ovario izquierdo es funcional; la gónada derecha se reduce a una capa de tejido localizado por debajo de la vena cava inferior. La extirpación del ovario izquierdo resulta en la activación de la gónada derecha. En los murciélagos, la ovulación ocurre predominantemente en la gónada derecha, el ovario contralateral tiene la capacidad de funcionar, sólo si se extirpa el ovario dominante (Domínguez y col., 2003; Gerendai y Halász, 1997).

En el humano, la sangre venosa del ovario derecho llega a la vena cava inferior, mientras que la vena ovárica del lado izquierdo entra en la vena renal izquierda. Así mismo, el ovario derecho se desarrolla más temprano que el izquierdo (Gerendai y Halász, 1997).

En la rata, la glándula izquierda pesa más que la derecha; lo mismo ocurre en el cobayo (Gerendai y Halász, 1997).

Algunos estudios clínicos en humanos indican que la presencia de alteraciones morfofuncionales, son diferentes en las adrenales derecha e izquierda. Así, los tumores que se acompañan de hiperaldosteronismo son más frecuentes en la adrenal izquierda que en la derecha, mientras que los tumores adrenales que resultan en la aparición del síndrome de Cushing son más frecuentes en la adrenal derecha (Gerendai y Halász, 1997).

La extirpación de un ovario se utiliza frecuentemente como una herramienta experimental para analizar la existencia de asimetría entre los ovarios. En la rata, el ovario izquierdo libera más ovocitos que el derecho. Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovulan en el día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Cruz y col., 2001).

En estudios previos se ha mostrado que los efectos agudos (una hora postoperación) de la anestesia, perforación uni o bilateral del peritoneo dorsal, así como los de la ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral sobre las concentraciones plasmáticas de estradiol, progesterona y testosterona varían durante el ciclo estral (Barco y col., 2003; Flores y col., 2004; Flores y col., 2005a, 2005b). Además, que los efectos dependen del lado que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual indica la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y las adrenales (Cruz y col., 2004; Domínguez y col., 2004; Meléndez y col., 2003; Palafox y col., 2003; Rodríguez, 2003; Rodríguez y col., 2003; Rodríguez y col., 2004).

La ovariectomía unilateral en el día del diestro-2 no modifica la concentración de testosterona. La extirpación del ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*) en cualquier día del ciclo estral no provoca modificaciones en la concentración de progesterona. En los días del diestro y estro no se observan modificaciones sobre la concentración de estradiol. A diferencia de ello, cuando el ovario remanente fue el derecho, en los días del diestro-2 y proestro, hay incremento de la concentración de progesterona, y disminución en la de estradiol. En los animales con ovariectomía unilateral, la adrenalectomía bilateral resulta en disminución en la concentración de progesterona. Cuando el ovario remanente fue el izquierdo resulta en una mayor concentración de testosterona que en aquellos que mantuvieron el ovario derecho *in situ* (Flores y col., 2004; Palafox, 2003; Rodríguez, 2003; Barco y col., 2003).

8) HIPOTÁLAMO

El hipotálamo se localiza en la base del cerebro bajo el tálamo y está dividido por el tercer ventrículo en hipotálamo derecho e hipotálamo izquierdo. Las neuronas se agrupan en núcleos y por su disposición y para su estudio se le divide en hipotálamo anterior (HA), hipotálamo medio basal (MBH), eminencia media e hipotálamo posterior (HP) (Brown, 1994).

El hipotálamo tiene conexión con la corteza cerebral, el tálamo, el sistema límbico (hipocampo, amígdala y septum) y el cordón espinal. Muchas de las neuronas del hipotálamo presentan receptores a hormonas (Brown, 1994).

El hipotálamo participa en la regulación de algunas funciones como las viscerales, la temperatura corporal, los ritmos biológicos, el balance electrolítico, el comportamiento emocional (enojo, miedo, euforia, agresividad, ira, etc) (Brown, 1994).

El hipotálamo regula las funciones de la adenohipófisis por medio de neurohormonas que llegan por el sistema porta hipofisiario. Estas son: la GnRH, La

hormona inhibidora de las gonadotropinas (GnIH), la hormona liberadora de la tirotropina (TRH), la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH), la hormona inhibidora de la liberación de la hormona de crecimiento (GHIH), hormona liberadora de la corticotropina (CRH), factor liberador de la prolactina (PRF) y el factor inhibidor de la liberación de la prolactina (PIF), (Arimura, 2000; Brown, 1994; Halász, 2000; Kriegsfeld y col., 2006).

La GnRH es la hormona clave en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas, y por ende de la secreción de las hormonas gonadales y la producción de gametos. Es un decapeptido cuya estructura primaria es Glp-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ (PM 1182.4). En los roedores la GnRH se sintetiza en neuronas del área preóptica y el área anterior del hipotálamo (POA-AHA), mientras que en primates los cuerpos celulares se encuentran localizados en el MBH (Arimura, 2000; Brown, 1994; Domínguez, 1997; Halász, 2000).

La liberación de la GnRH está regulada por neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas ováricas. Este múltiple mecanismo de control permite una gran variedad de estímulos internos y externos que influyen sobre el control de la secreción de la hormona (Brown, 1994).

Las células que presentan receptores a estrógenos y andrógenos están concentradas en el área preóptica medial, hipotálamo anterior medial, núcleo ventromedial, núcleo arcuato y núcleo premamilar ventral (Halász, 2000). En la rata hembra, las células que secretan la GnRH desde POA-AHA a la adenohipófisis estimulan la secreción preovulatoria de la LH en respuesta a una retroalimentación estimulante de los estrógenos ováricos (Brown, 1994).

La GnRH se une a su receptor en la membrana plasmática, lo que incrementa el AMPc intracelular al activar el adenilato ciclasa que actúa como segundo mensajero en la regulación de la síntesis de FSH y LH. La GnRH regula la secreción

de las gonadotropinas por un mecanismo que provoca la generación de fosfato inositol con movilización de calcio y la formación de diacilglicerol con la activación de la proteína cinasa C (Arimura, 2000).

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

La CRH está formada por 41 aminoácidos con la siguiente secuencia: Ser-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-Ala-His-Ser-Asn-Arg-Lys-Leu-Met-Glu-Ile-Ile-NH₂ (PM 4757.5) (Arimura, 2000). La síntesis de la CRH se lleva a cabo principalmente en el núcleo paraventricular (PVN) y en el núcleo periventricular (Pva) del hipotálamo. Otros núcleos del hipotálamo incluyendo el supraóptico (SON), el dorsomedial (DMN) y el ventromedial (VMN) también sintetizan CRH el cual es liberado de las terminales axónicas a la eminencia media en respuesta al estrés (Brown, 1994).

La interacción de la CRH con sus receptores sobre la 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).

9) HIPÓFISIS

La hipófisis se encuentra en la base del cerebro alojada en el esfenoides y cubierta por la duramadre (Fink, 2000). Está unida al hipotálamo por el tallo hipofisario el cual contiene el sistema portal hipofisario de vasos sanguíneos. Es un órgano complejo dividido en tres partes: el lóbulo anterior (parte distal), el lóbulo intermedio (parte

intermedia) y el lóbulo posterior (parte nerviosa). El lóbulo anterior y el intermedio forman una glándula endocrina verdadera llamada adenohipófisis. El lóbulo posterior también llamado neurohipófisis es una extensión del hipotálamo (Arimura, 2000).

La adenohipófisis produce y secreta diferentes hormonas: la hormona del crecimiento (GH), la ACTH, las hormonas LH y FSH, la prolactina, la hormona estimulante de los melanocitos o melanotropina (MSH), oxitocina y vasopresina (Brown 1994).

Las hormonas hipofisiarias se liberan a la circulación y estimulan la secreción hormonal de otras glándulas endocrinas. La FSH y la LH estimulan las funciones de los ovarios. Su secreción se ve influenciada por la concentración de hormonas esteroides y el patrón de secreción de la GnRH, entre otros (Figura 9, Arimura, 2000; Brown, 1994; Guyton y Hall, 2001).

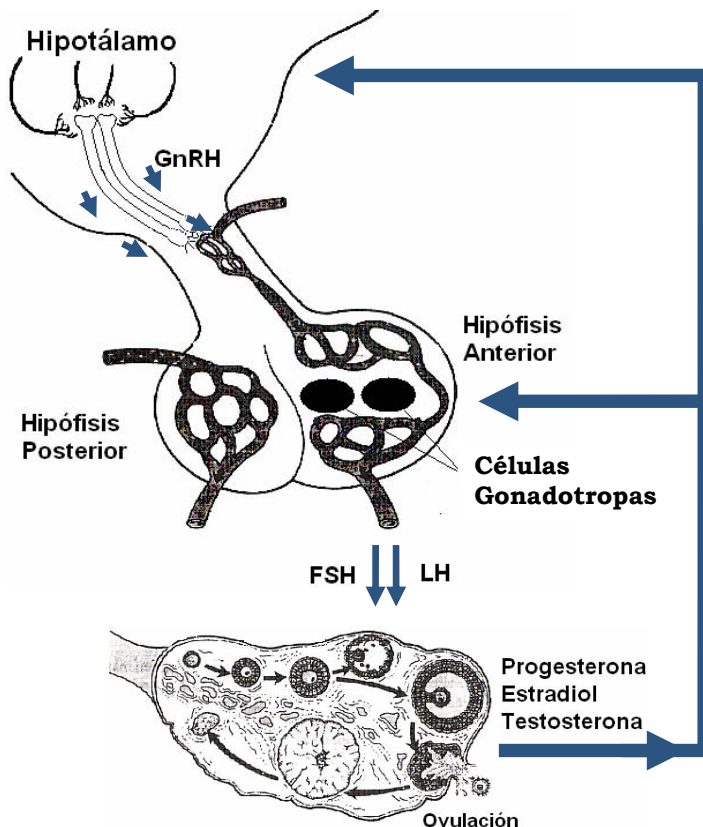


Figura 9. Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y en la hipófisis estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas llegan a los ovarios y estimulan la secreción de progesterona, testosterona y estradiol (Tomada de Berne y Levy, 1992).

La ACTH interactúa con sus receptores en las glándulas adrenales donde estimula la secreción de corticosteroides, progesterona y testosterona. Los corticosteroides ejercen un mecanismo de retroalimentación inhibitoria sobre el hipotálamo y la hipófisis (Figura 10, Arimura, 2000; Berne y Levy, 1992; Halász, 2000; Schwartz, 2000).

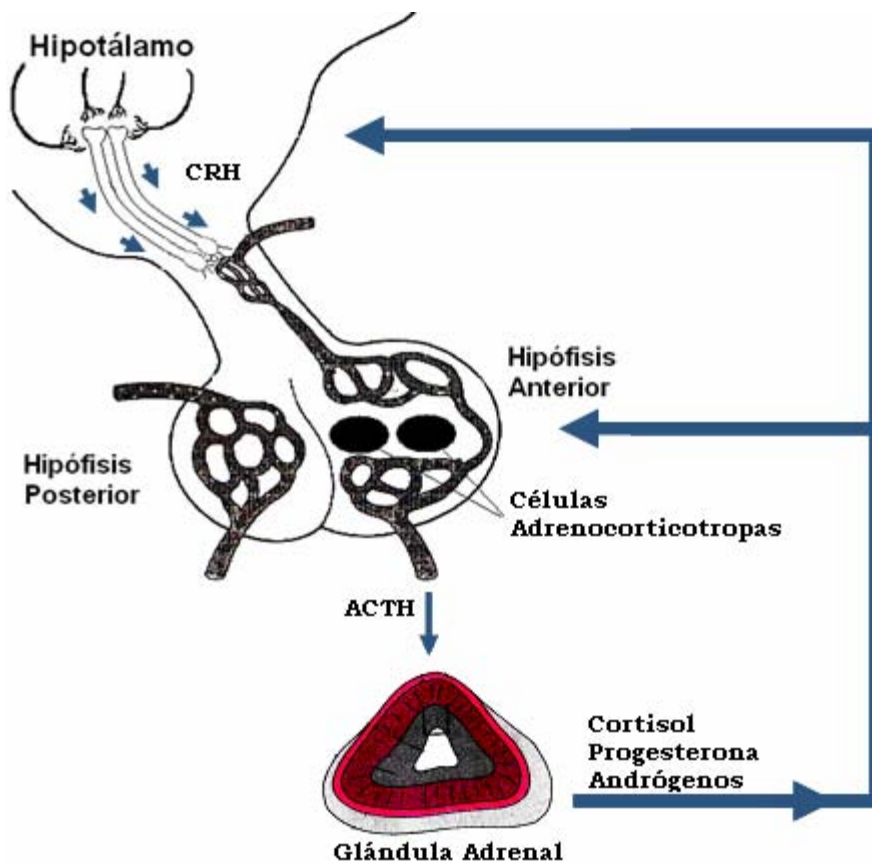


Figura 10. Eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la que a su vez estimula que las células corticotropas de la adenohipófisis liberen la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). Esta hormona llega a las glándulas adrenales y estimula la secreción de glucocorticoides, mineralocorticoides y gonadocorticoides (progesterona, testosterona). Estos ejercen una retroalimentación negativa tanto a nivel del hipotálamo como hipofisiario (Tomada de Berne y Levy, 1992).

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

En estudios previos se ha mostrado que los efectos agudos de la anestesia, la perforación uni o bilateral del peritoneo, así como los de la ovariectomía o adrenalectomía uni o bilateral sobre las concentraciones plasmáticas de progesterona, testosterona y estradiol varían durante el ciclo estral. Además, que los efectos dependen del lado en que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual indica la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y las adrenales.

Existen evidencias de que los órganos pares reciben distinta información nerviosa y por ende, para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de los órganos pares, se ha propuesto que las funciones de los ovarios y las adrenales son reguladas en parte por la inervación que reciben.

Numerosos estudios señalan la existencia de interacciones funcionales entre los ovarios y las adrenales en la regulación de la concentración de hormonas esteroides que varían a lo largo del ciclo estral. El NOS es una de las vías nerviosas que comunican al ovario con el sistema nervioso central, por medio del ganglio celiaco-mesentérico superior, lo que hace posible suponer que esta vía nerviosa participa en la regulación de los cambios en la secreción hormonal que se suceden al extirpar uno de los ovarios y dado que las adrenales y los ovarios reciben información nerviosa proveniente del ganglio celiaco-mesentérico superior, se supone que este ganglio puede servir como puente de comunicación nerviosa entre ambos órganos.

Puesto que la participación de la inervación en los mecanismos que regulan las funciones del ovario varía en función del día del ciclo estral, en este estudio se propuso analizar los efectos agudos de la sección unilateral del NOS en animales a los que se les extirpa un ovario o una adrenal en el día del diestro-2 de la rata adulta, sobre la secreción de progesterona y estradiol.

HIPÓTESIS:

Dado que el nervio ovárico superior inerva al ovario y modula su respuesta a las gonadotropinas, que dicho nervio es una vía de comunicación entre ellos y el SNC, que existe una interacción funcional endocrina entre los ovarios y las adrenales y que ambos órganos reciben inervación que se origina en el ganglio celíaco-mesentérico superior, entonces, la denervación de un ovario producida por la sección del nervio ovárico superior afectará de manera diferente e inmediata la secreción de progesterona y estradiol.

OBJETIVO GENERAL:

Analizar los efectos agudos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en animales, con ovariectomía o adrenalectomía unilateral en el día del diestro-2 de la rata adulta, sobre la secreción de progesterona y estradiol.

Objetivos específicos:

Objetivo 1.- Analizar los efectos agudos de la anestesia o la laparotomía practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 2.- Analizar los efectos agudos de la ovariectomía unilateral o bilateral practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 3.- Analizar los efectos agudos de la adrenalectomía unilateral o bilateral practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 4.- Analizar los efectos agudos de la ovariectomía unilateral en animales con adrenalectomía bilateral practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 5.- Analizar los efectos agudos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 6.- Analizar los efectos agudos de la ovariectomía unilateral en animales con sección unilateral del nervio ovárico superior practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 7.- Analizar los efectos agudos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en animales con ovariectomía unilateral practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 8.- Analizar los efectos agudos de la adrenalectomía unilateral en animales con sección unilateral del nervio ovárico superior practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

Objetivo 9.- Analizar los efectos agudos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en animales con adrenalectomía unilateral practicada en el día del diestro-2 sobre la secreción de progesterona y 17 β -estradiol.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se utilizaron ratas hembras adultas vírgenes de la cepa CIIZ-V de tres meses de edad (200 a 250 g de peso), mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luz de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al agua y al alimento (Purina S.A., México). A los animales se les tomó el frotis vaginal diariamente y solo se utilizaron aquellos animales que presentaron dos ciclos consecutivos de cuatro días. A las 13:00 h del día del diestro-2, los animales fueron destinados a alguno de los siguientes grupos experimentales y fueron sacrificados una hora después de la intervención quirúrgica (14:00 h).

Grupos Experimentales (10 animales en cada grupo):

Grupo testigo: Ratas cíclicas intactas en el día del diestro-2 fueron sacrificadas a las 14:00 horas.

Grupo con Anestesia: Con el fin de analizar los efectos provocados por la anestesia sobre la concentración de progesterona y estradiol, un grupo de animales fue anestesiado con éter durante 3 a 4 minutos que es el tiempo que se necesitó para realizar cualquiera de las cirugías de los diversos grupos experimentales.

Grupo con Laparotomía: Para estudiar el efecto de la anestesia seguida de la laparotomía sobre la concentración de progesterona y estradiol, un grupo de ratas fueron anestesiadas con éter y se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) atravesando la piel, el músculo y el peritoneo, sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía se procedió a suturar la herida por planos.

Grupos con Ovariectomía unilateral: Con el propósito de analizar los efectos agudos de la extirpación de un ovario sobre la concentración de progesterona y estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les

extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I, permaneció el ovario derecho *in situ*) o el ovario derecho (Ovx-D, permaneció el ovario izquierdo *in situ*).

Grupos con Ovariectomía bilateral: a fin de conocer la capacidad secretora de las adrenales sobre la concentración de progesterona y estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirparon ambos ovarios (Castración CAS).

Grupos con Adrenalectomía unilateral: Con el propósito de analizar los efectos agudos de la extirpación de una adrenal sobre la concentración de progesterona y estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirpó la adrenal izquierda (ADX-I, permaneció la adrenal derecha *in situ*) o la adrenal derecha (ADX-D, permaneció la adrenal izquierda *in situ*).

Grupos con Adrenalectomía bilateral: a fin de conocer la capacidad secretora de los ovarios sobre la concentración sérica de progesterona y estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les extirparon ambas adrenales (ADX-B).

Grupos con adrenalectomía bilateral y ovariectomía unilateral: a fin de conocer la capacidad secretora de uno u otro ovario se utilizaron animales a los cuales se les extirparon ambas adrenales y en seguida se realizó la ovariectomía unilateral (ADX-B+Ovx):

Grupos con sección del Nervio Ovárico Superior (NOS): Con el fin de analizar los efectos agudos de la sección del NOS sobre la secreción de progesterona y estradiol, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía se les seccionó el NOS del lado izquierdo (NOS-I), del lado derecho (NOS-D) o de ambos lados (NOS-B).

Grupos con sección del Nervio Ovárico Superior y ovariectomía unilateral: con el propósito de analizar los efectos de la sección del NOS sobre la secreción de las hormonas esteroides en el ovario *in situ* previa o posterior a la ovariectomía unilateral (sección del NOS ipsilateral al ovario *in situ*), a los animales se les realizó la sección del NOS derecho y enseguida se les extirpó el ovario izquierdo (NOS-D + Ovx-I; permanece el ovario derecho *in situ*), o se realizó la sección del NOS izquierdo seguida de la extirpación del ovario derecho (NOS-I + Ovx-D; permanece el ovario izquierdo *in situ*). A otros grupos se les extirpó el ovario izquierdo y enseguida se realizó la sección del NOS del lado derecho (Ovx-I + NOS-D; ovario derecho *in situ*) o la extirpación del ovario derecho seguida de la sección del NOS izquierdo (Ovx-D + NOS-I; ovario izquierdo *in situ*).

Grupos con sección del Nervio Ovárico Superior y adrenalectomía unilateral: Con el fin de analizar los efectos de la sección del NOS sobre la secreción de progesterona y estradiol en la adrenal *in situ* previa o posterior a la adrenalectomía unilateral (sección del NOS ipsilateral a la adrenal *in situ*), a los animales se les seccionó el NOS derecho y posteriormente se extirpó la adrenal izquierda (NOS-D + ADX-I; permanece la adrenal derecha *in situ*) o sección del NOS izquierdo seguida de la extirpación de la adrenal derecha (NOS-I + ADX-D; permanece la adrenal izquierda *in situ*). A otros grupos se les extirpó la adrenal izquierda y en seguida se realizó la sección del NOS del lado derecho (ADX-I + NOS-D; adrenal derecha *in situ*) o la extirpación de la adrenal derecha seguida de la sección del NOS izquierdo (ADX-D + NOS-I; adrenal izquierda *in situ*).

Procedimiento de autopsia:

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación, se colectó la sangre del tronco, la que se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos. Posteriormente fue centrifugada a 3000 rpm durante 15 minutos y se separó el suero del botón celular. El suero fue almacenado a -20°C hasta la cuantificación de la concentración de las hormonas.

Cuantificación de Progesterona y Estradiol en suero:

La cuantificación de la concentración sérica de progesterona y estradiol se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida para la cual se utilizó un estuche (Coat-A-Count, USA), que consistió en 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: 10, 20, 50, 150, 250, 500, pg/ml). A cada tubo se le adicionaron 100µl de suero problema, mas 1000 µl de la hormona marcada, todos los tubos se agitaron e incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrante de cada tubo, se secaron las paredes del mismo y se colocaron en un contador de centelleo gama para su análisis. La concentración de progesterona fue expresada en ng/ml y la de estradiol en pg/ml de suero.

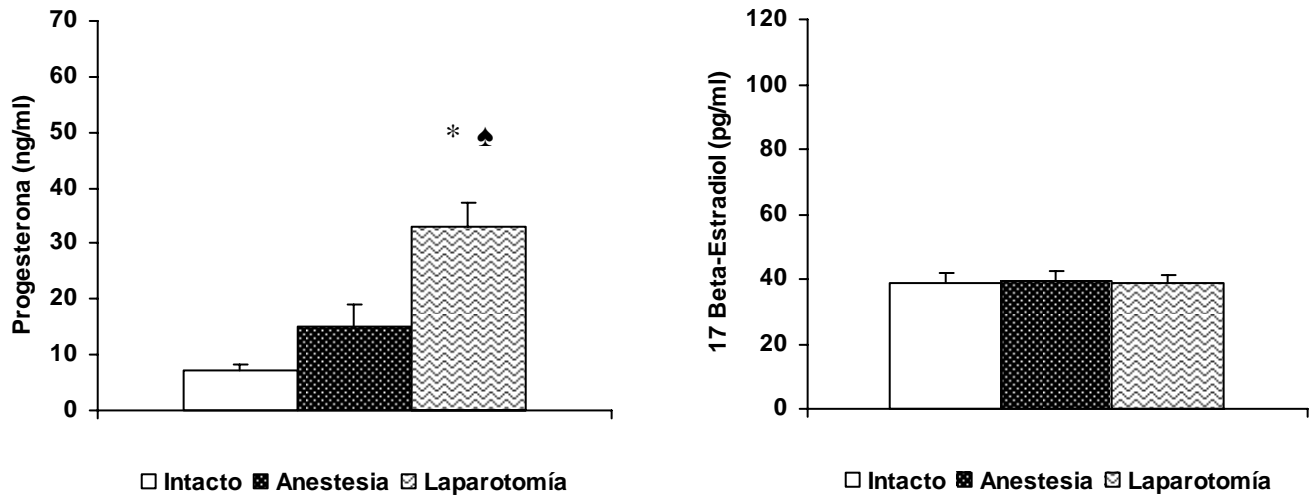
Análisis estadístico:

Los resultados de las concentraciones séricas de las hormonas se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando fue necesario comparar los resultados de dos grupos se utilizó la prueba “t” de Student. En todos los casos fueron consideradas como significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue menor o igual al 5%.

RESULTADOS:

Efectos de la anestesia y la laparotomía:

En los animales sometidos a anestesia, la concentración sérica de progesterona fue similar a la del grupo intacto, mientras que fue mayor en los animales con laparotomía. Ambos tratamientos no resultaron en cambios en la concentración de estradiol (Gráfica 1).



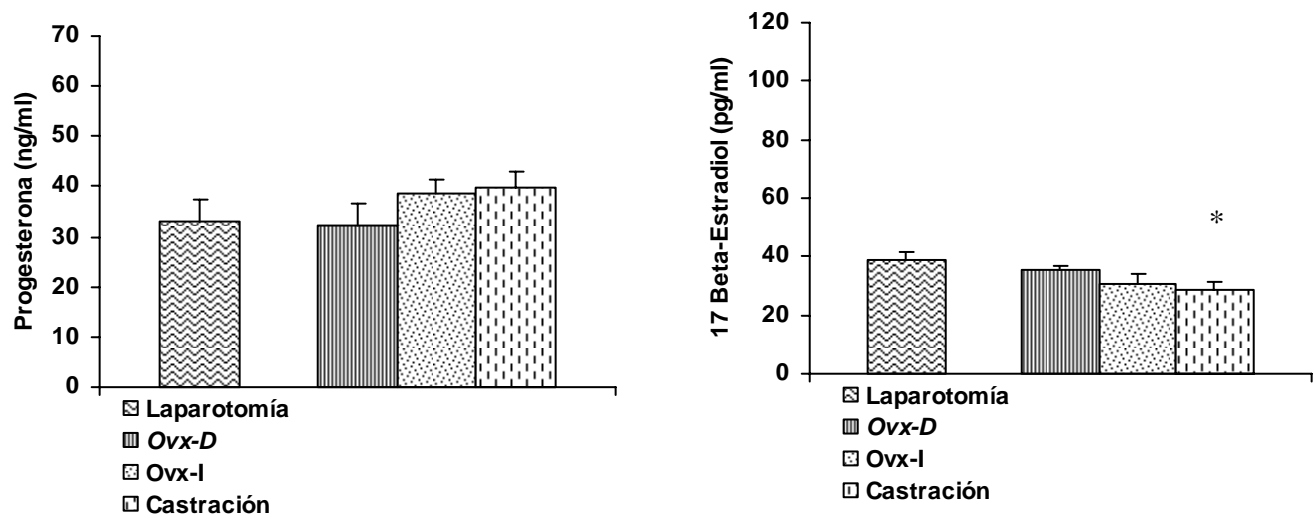
* $p < 0.05$ respecto a la del grupo intacto

♠ $p < 0.05$ respecto a la del grupo con anestesia (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Gráfica 1. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales intactos, anestesiados con éter o con laparotomía a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados una hora después de la cirugía.

Efecto de la ovariectomía unilateral o bilateral:

La extirpación de un ovario no resultó en modificaciones en la concentración de progesterona y estradiol respecto a la del grupo con laparotomía. En los animales con extirpación de ambas gónadas, la concentración de estradiol fue significativamente menor (Gráfica 2).

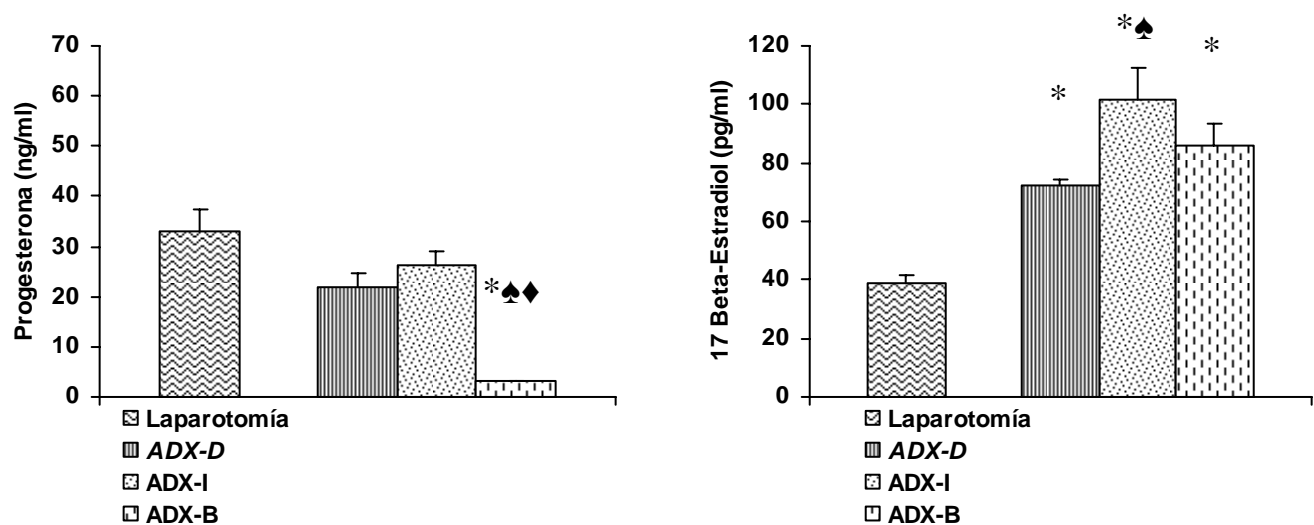


* p<0.05 vs respecto a la del grupo con laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Gráfica 2. Media ± eem de la concentración sérica de progesterona y 17-β estradiol en animales con laparotomía, sometidos a la extirpación del ovario del lado derecho (Ovx-D), izquierdo (Ovx-I) o ambos (Castración) a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados una hora después de la cirugía.

Efecto de la adrenalectomía unilateral o bilateral:

La extirpación de una adrenal no modificó la concentración sérica de progesterona. En cambio la adrenalectomía bilateral resultó en menor concentración de progesterona que en los animales con laparotomía. La adrenalectomía unilateral o bilateral resultó en una mayor concentración de estradiol (Gráfica 3).



* $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con laparotomía.

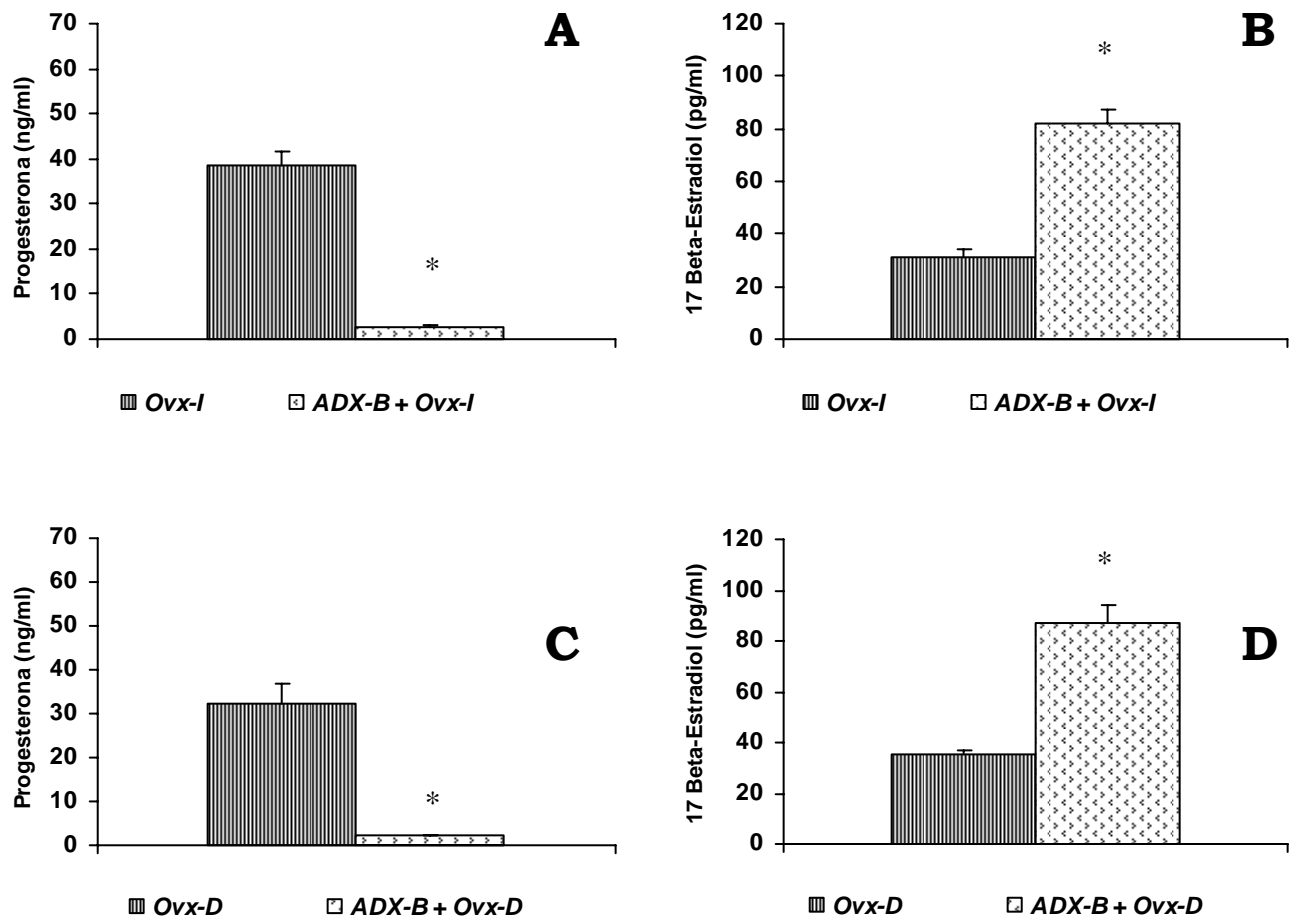
♠ $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con ADX-D.

◆ $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con ADX-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Gráfica 3. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales con laparotomía, sometidos a la extirpación de la adrenal del lado derecho (ADX-D), izquierdo (ADX-I) o ambos (ADX-B) a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados una hora después de la cirugía.

Efectos de la ovariectomía unilateral en el animal con adrenalectomía bilateral:

En comparación con el grupo de animales con ovariectomía unilateral, la extirpación del ovario derecho o izquierdo en animales con adrenalectomía bilateral resultó en una menor concentración de progesterona (Panel A y C), y una mayor concentración de estradiol (Panel B y D) (Gráfica 4).

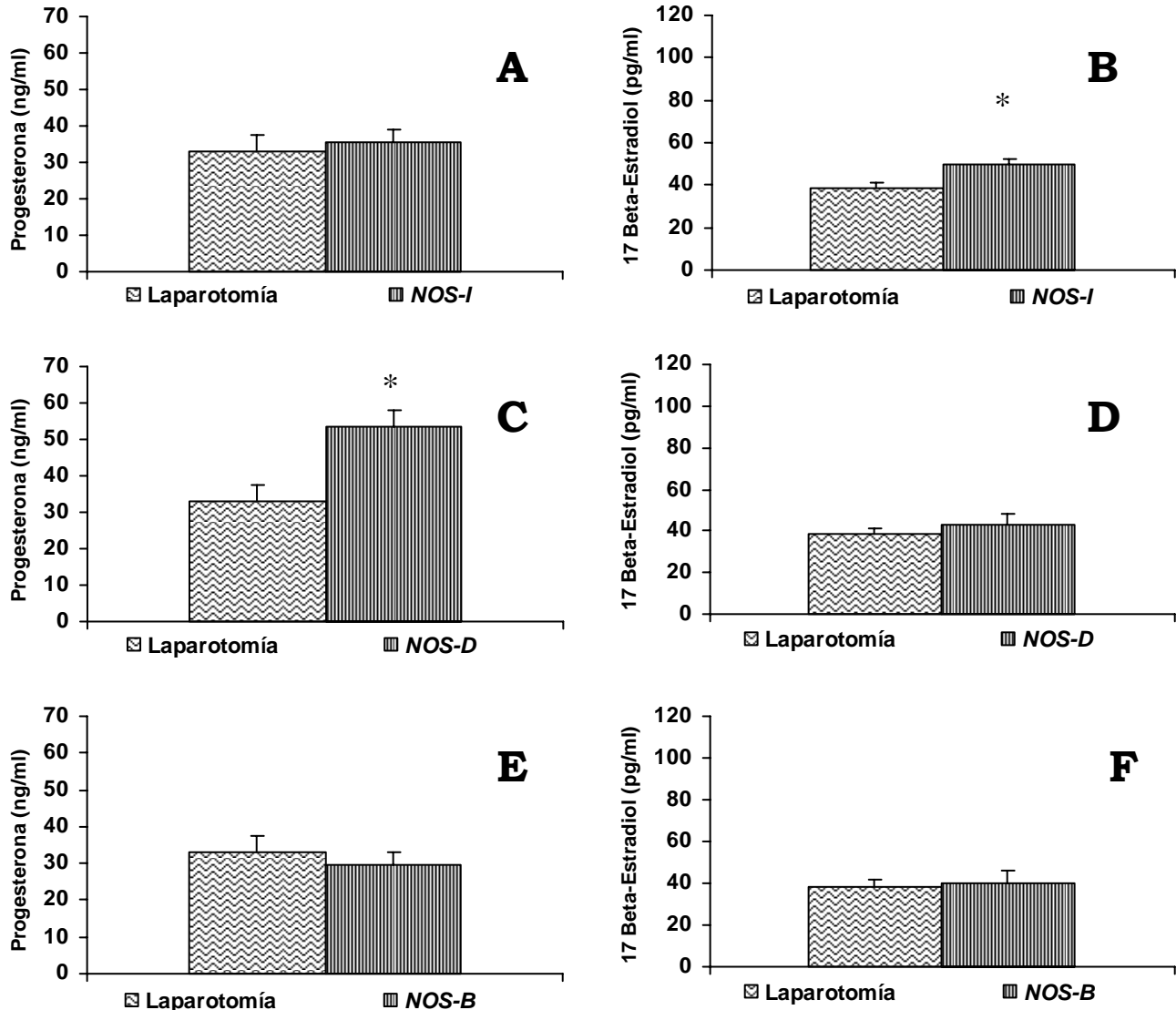


* $p < 0.05$ respecto a la del grupo con Ovariectomía unilateral (Prueba "t" de Student).

Gráfica 4. Efectos de la ovariectomía del lado izquierdo (ADX-B + Ovx-I) (Panel A y B) o derecho (ADX-B + Ovx-D) (Panel C y D), en animales con adrenalectomía bilateral realizadas a las 13:00 h del diestro-2 sobre la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol, sacrificadas una hora después de la cirugía.

Efectos de la sección unilateral o bilateral del NOS

La sección del NOS izquierdo resultó una mayor concentración de estradiol en comparación con la del grupo de animales con laparotomía (Panel B), mientras que, la sección del lado derecho resultó en una mayor concentración de progesterona (Panel C). La sección bilateral del NOS no modificó la concentración de ambas hormonas (Paneles E y F) (Gráfica 5).

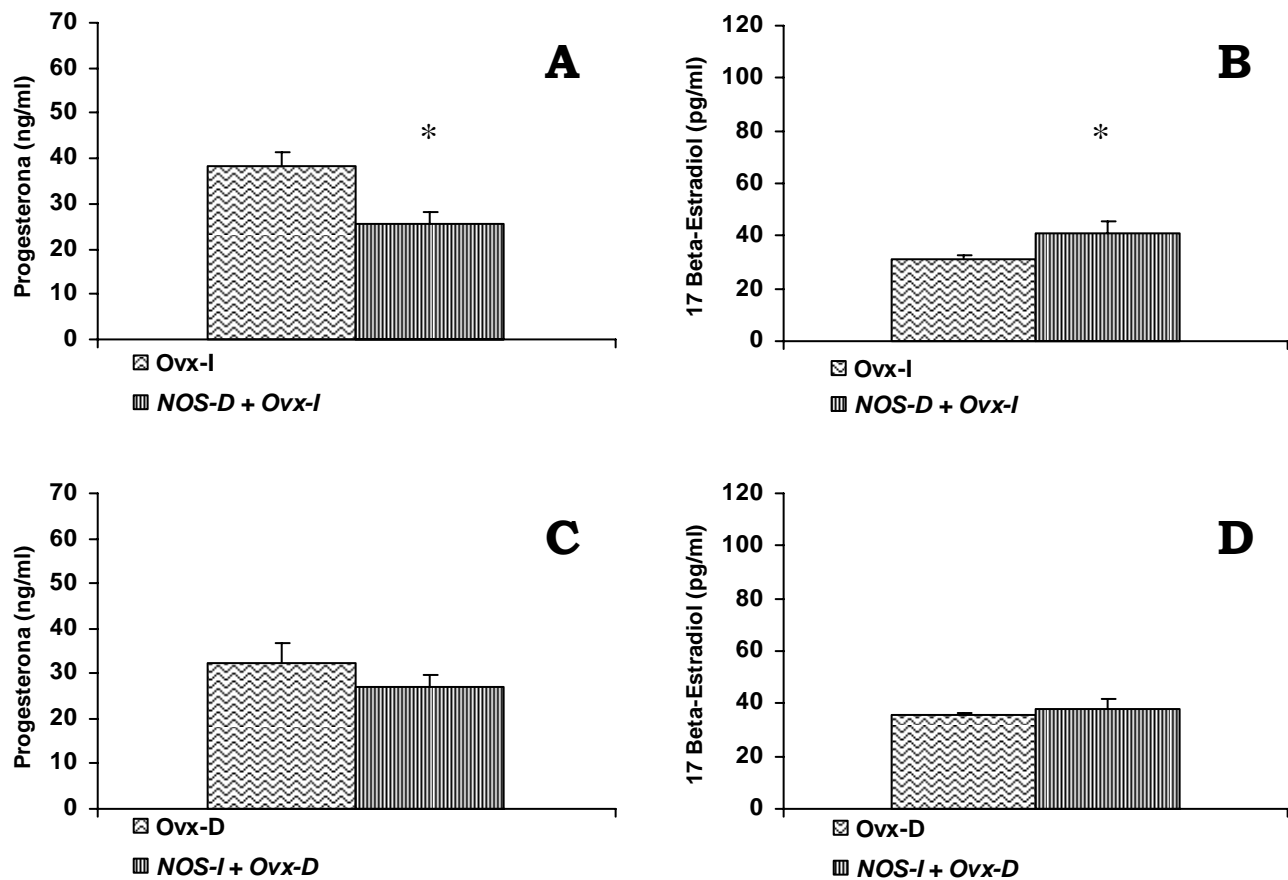


* $p < 0.05$ respecto a la del grupo con Laparotomía (Prueba "t" de Student).

Gráfica 5. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales con laparotomía o sometidos a sección del NOS del lado izquierdo (NOS-I) (Panel A y B) o sección del NOS del lado derecho (NOS-D) (Panel C y D) o sección bilateral del NOS (NOS-B) (Panel E y F), realizadas a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados una hora después de la cirugía.

Efectos de la ovariectomía unilateral en el animal con sección unilateral del NOS

La ovariectomía izquierda en animales con sección del NOS del lado derecho resultó en una menor concentración de progesterona y una mayor concentración de estradiol respecto a la del grupo de animales con ovariectomía unilateral (Panel A y B). La ovariectomía unilateral derecha en animales con sección del NOS del lado izquierdo no modificó la concentración de ambas hormonas (Panel C y D) (Gráfica 6).

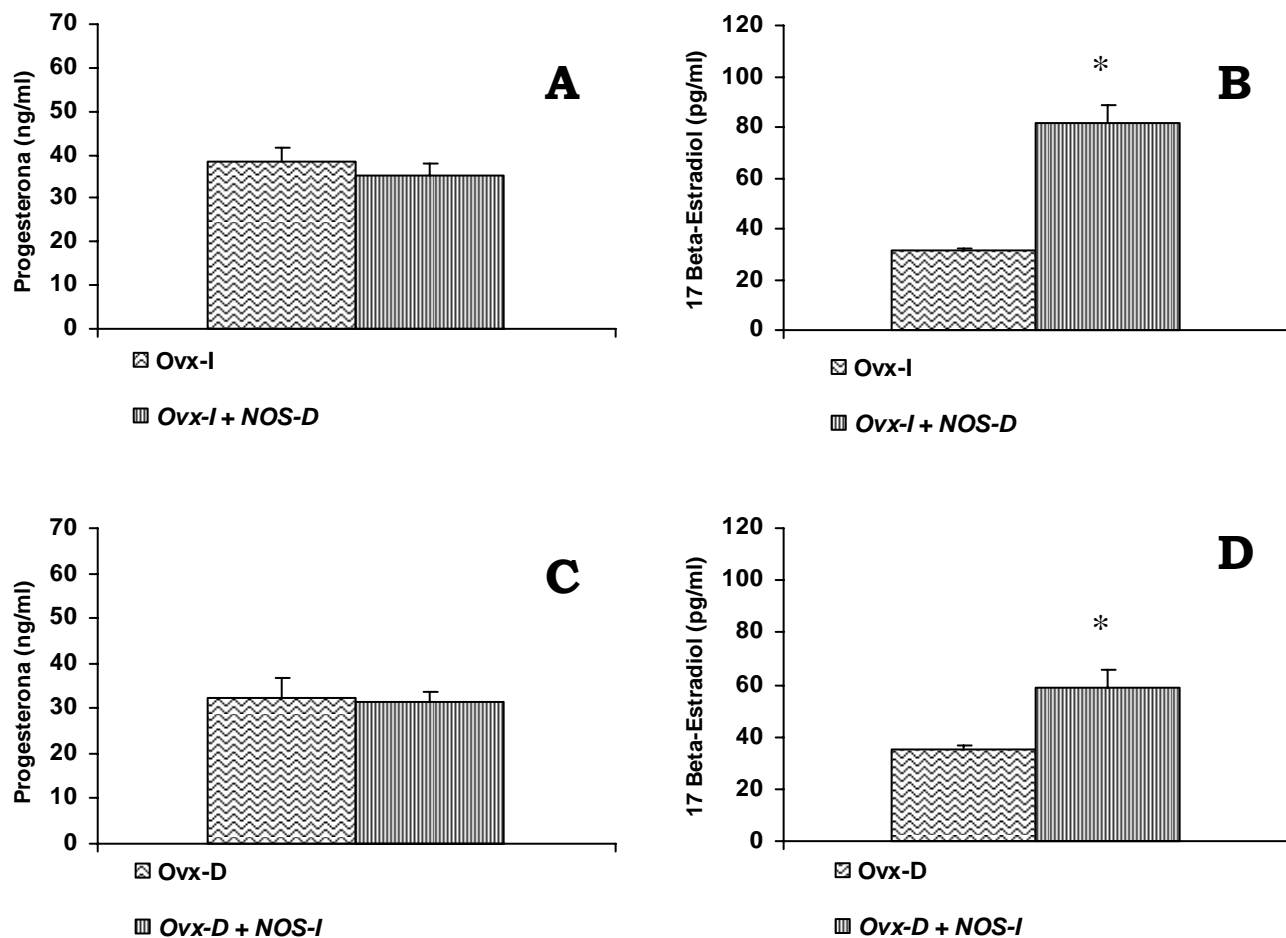


* p < 0.05 vs respecto a la del grupo con Ovx (Prueba "t" de Student).

Gráfica 6. Media ± eem de la concentración sérica de progesterona y 17-β estradiol en animales sometidos a sección del NOS del lado derecho previo a la ovariectomía del lado izquierdo (NOS-D+Ovx-I) (Panel A y B) o sección del NOS del lado izquierdo previo a la ovariectomía del lado derecho (NOS-I+Ovx-D) (Panel C y D), realizadas a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificadas una hora después de la cirugía.

Efectos de la sección unilateral del NOS en el animal con ovariectomía unilateral

La sección unilateral del NOS en animales con ovariectomía unilateral no modificó la concentración de progesterona (Panel A y C), mientras que, la de estradiol fue mayor (Panel B y D) que la del grupo con ovariectomía unilateral (Gráfica 7).

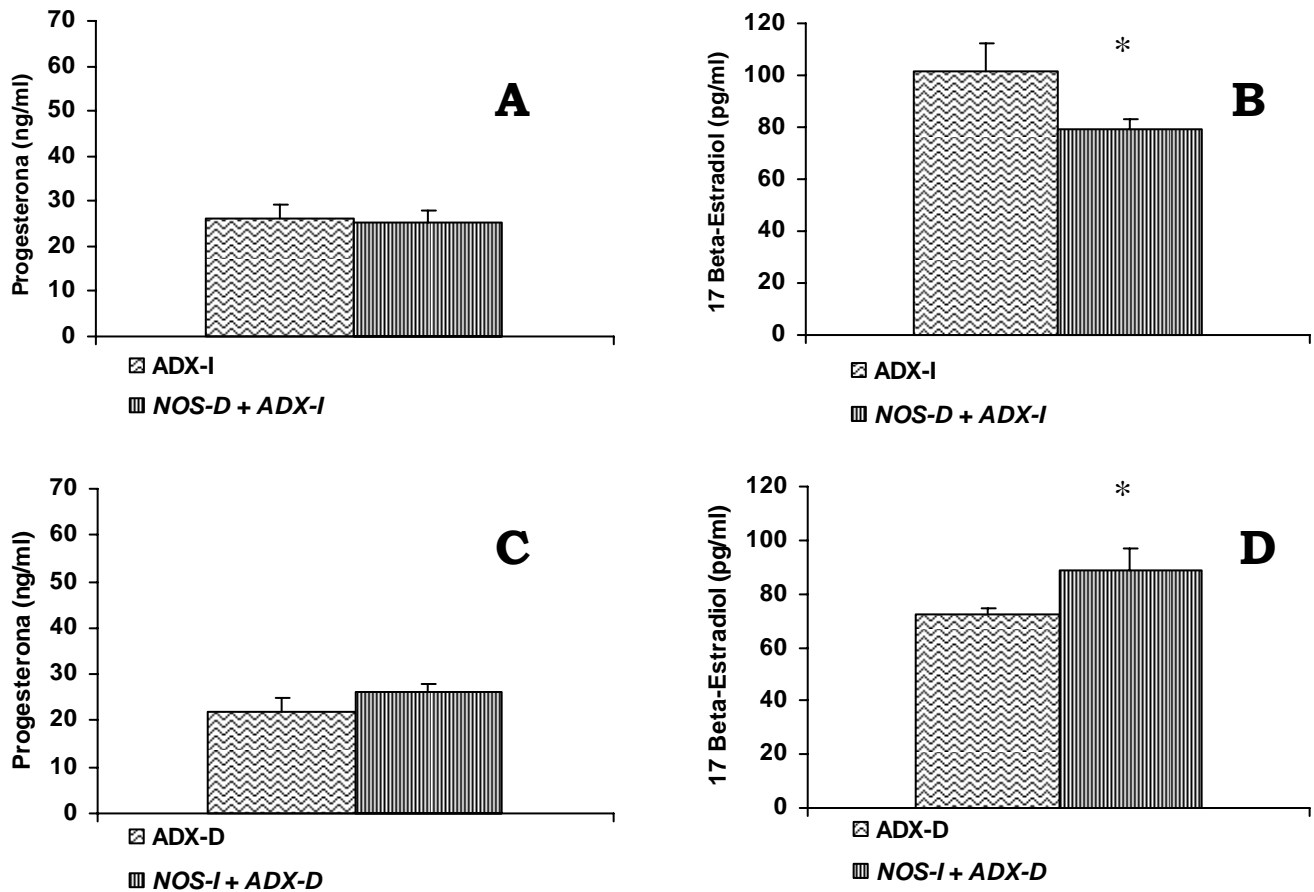


* $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con Oxv (Prueba “t” de Student).

Gráfica 7. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales sometidos a sección del NOS del lado derecho posterior a la ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I+NOS-D) (Panel A y B), o sección del NOS del lado izquierdo posterior a la ovariectomía del lado derecho (Ovx-D+NOS-I) (Panel C y D), realizadas a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificadas una hora después de la cirugía.

Efectos de la adrenalectomía unilateral en el animal con sección unilateral del NOS

La adrenalectomía unilateral en animales con sección unilateral del NOS no modificó la concentración progesterona (Panel A y C). La adrenalectomía izquierda en animales con sección del NOS derecho resultó en una menor concentración estradiol, mientras que la adrenalectomía derecha en animales con sección del NOS izquierdo resultó en una mayor concentración de estradiol respecto a la del grupo de animales con adrenalectomía unilateral (Panel B y D) (Gráfica 8).

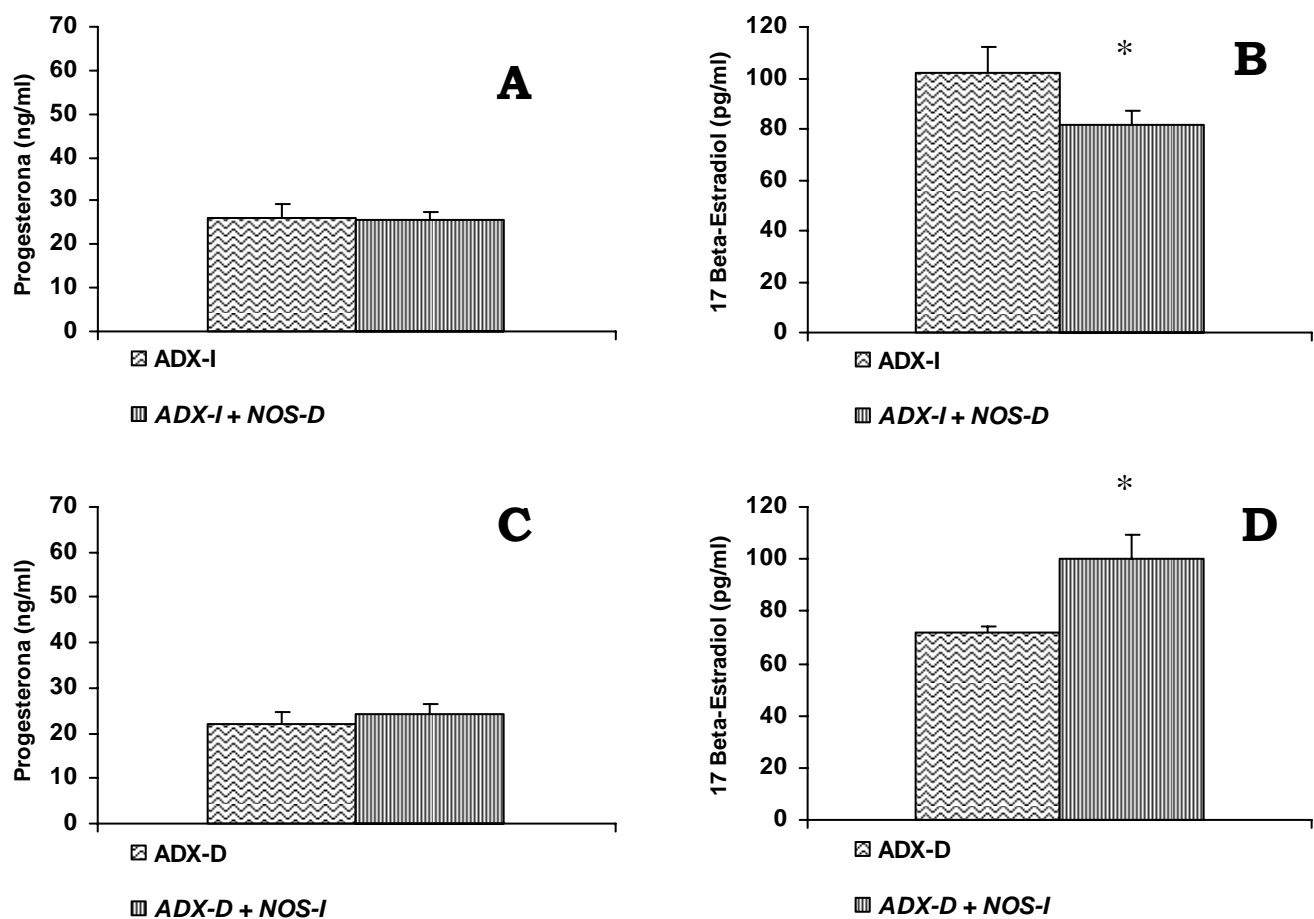


* $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con ADX (Prueba "t" de Student).

Gráfica 8. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales sometidos a sección del NOS del lado derecho previo a la adrenalectomía del lado izquierdo (NOS-D + ADX-I) (Panel A y B), o sección del NOS del lado izquierdo previo a la adrenalectomía del lado derecho (NOS-I + ADX-D) (Panel C y D), realizadas a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificadas una hora después de la cirugía.

Efectos de la sección unilateral del NOS en el animal con adrenalectomía unilateral.

La sección unilateral del NOS en animales con adrenalectomía unilateral no modificó la concentración progesterona (Panel A y C). La sección del NOS derecho en animales con adrenalectomía izquierda resultó en una menor concentración estradiol, mientras que la sección del NOS izquierdo en animales con adrenalectomía derecha resultó en una mayor concentración de estradiol respecto a la del grupo de animales con adrenalectomía unilateral (Panel B y D) (Gráfica 9).



* $p < 0.05$ vs respecto a la del grupo con ADX-D ((Prueba "t" de Student).

Gráfica 9. Media \pm eem de la concentración sérica de progesterona y 17- β estradiol en animales sometidos a sección del NOS del lado derecho posterior a la adrenalectomía del lado izquierdo (ADX-I + NOS-D) (Panel A y B), o sección del NOS del lado izquierdo posterior a la adrenalectomía del lado derecho (ADX-D + NOS-I) (Panel C y D), realizadas a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificadas una hora después de la cirugía.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS:

Los resultados del presente estudio muestran que los efectos del estrés modifican de manera diferencial la secreción de progesterona y estradiol.

Flores y col. (2005b), mostraron que la laparotomía dorsal no modifica la concentración de progesterona en animales tratados en los diferentes días del ciclo estral. El incremento en la concentración de progesterona observada en los animales con laparotomía ventral puede ser explicada por la participación de otras señales diferentes que regulan la secreción de progesterona provenientes de la inervación que recibe el peritoneo. Al respecto, Tanaka y col. (2002) 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 por parte de los nervios espinales y del nervio vago.

En animales con ovariectomía unilateral realizada por vía dorsal, en el día del diestro-2 (ovario izquierdo *in situ*), se observó mayor concentración de progesterona que en el grupo con perforación peritoneal, lo que no sucedió en los animales tratados en los otros días del ciclo, ni en los que mantuvieron el ovario derecho *in situ*. Otro hecho importante es que durante el ciclo estral hay diferencias en la capacidad secretora de estradiol por parte de los ovarios (Flores y col., 2005b; Flores y col., 2004, Palafox, 2003, Rodríguez, 2003 y Barco y col., 2003). Las diferencias observadas en la secreción de progesterona y estradiol entre el presente estudio y los de otros autores puede explicarse por la diferencia en la vía de abordaje utilizada: ventral en el presente estudio y dorsal en el anterior.

La castración disminuye de manera significativa la secreción de estradiol. Cruz y col. (2005) y Flores y col. (2005b, 2006), mostraron que hay disminución en la concentración de estradiol en animales castrados en la tarde del día del proestro. Nuestros resultados y los previamente descritos son interpretados como prueba de que en el día del diestro-2 y proestro, la fuente principal de estradiol son los ovarios.

En los días del proestro y estro las adrenales son la principal fuente de progesterona (Barco y col., 2003; Cruz y col., 2005; Flores y col., 2005b; 2006). Los resultados obtenidos con adrenalectomía unilateral nos llevan a pensar que en el día del diestro-2 cada adrenal contribuye con concentraciones similares de progesterona a la circulación. Dado que la extirpación de ambas adrenales disminuyó la concentración de la hormona, proponemos que en el día del diestro-2, el aporte de progesterona proviene principalmente de las adrenales.

La ovariectomía unilateral en ratas con adrenalectomía bilateral en los días del diestro-1 y proestro, resulta en una menor concentración de progesterona que en los animales ovariectomizados unilateralmente (Flores y col., 2005b). Nuestros resultados son congruentes con lo anterior descritos ya que en este grupo experimental, la concentración de la hormona fue menor. Es decir, que en el día del diestro-2, las adrenales son la principal fuente de progesterona tanto en el animal entero como en aquellos con sólo un ovario.

El aumento en la concentración de estradiol en animales con adrenalectomía unilateral, así como la ovariectomía unilateral en animales con adrenalectomía bilateral se explica por la relación funcional que existe entre los ovarios y las adrenales (Domínguez y col., 2003). Flores y col. (2004) mostraron que existe una regulación de las adrenales sobre la secreción de estradiol, la cual varía durante el ciclo estral. Nuestros resultados apoyan esta hipótesis e indican que en el día del diestro-2 las adrenales modulan de manera inhibitoria la secreción de estrógenos ováricos en el animal entero y en aquellos con sólo un ovario. Es posible que en tal comunicación esté implicada la inervación que reciben los ovarios y las adrenales, la que podría ejercerse por intermedio del ganglio celiaco mesentérico superior y module la respuesta de las glándulas (Gabella, 1985). Esta regulación de los ovarios por parte de las adrenales podría depender, en parte, de la inervación de las adrenales, en particular la que recibe del nervio vago y su vinculación con el sistema nervioso central (Gerendai y Halasz, 1997; Domínguez y col., 2003).

Morán y col. (2005), mostraron que durante el ciclo estral existen variaciones en la actividad de las neuronas del ganglio celiaco que reciben información de los ovarios, y que está vinculado a los efectos tróficos de las hormonas ováricas lo que pudiera estar relacionado con variaciones en las concentraciones de hormonas esteroides.

La NA y el VIP contenidos en el NOS, amplifican los efectos de gonadotropinas circulantes sobre la esteroidogénesis ovárica, Sin embargo en el análisis de los efectos de la estimulación o la sección del NOS uni o bilateral, se ha mostrado que estos efectos dependen del día del ciclo estral en que se realizan los estudios, (Dissen y Ojeda, 1999; Weiss y col., 1982; Trzeciak y col., 1986; Aguado y Ojeda, 1984; Chávez y Domínguez, 1994; Aguado 2002). Nuestros resultados difieren de los antes descritos en el sentido de que la participación del NOS en la regulación de la esteroidogénesis ovárica sea de tipo estimulante, ya que la sección unilateral del NOS derecho o izquierdo en el día del diestro-2, provoca un aumento significativo en la concentración de progesterona y estradiol respectivamente e indican que la información nerviosa que transcurre a través del NOS del lado derecho regula de manera inhibitoria la secreción de progesterona, mientras que el NOS del lado izquierdo participa de forma inhibitoria sobre la secreción de estradiol.

Sosa y col. (2000) y De Bortoli y col. (1998), mediante sistemas *in vitro*, confirmaron que la estimulación del ganglio celiaco-mesentérico superior con noradrenalina tiene un efecto a través del NOS que la produce sobre la activación del cuerpo lúteo y la secreción de progesterona. En los días del proestro, estro y diestro-1, la inervación ejerce un efecto estimulante y se puede interpretar como un indicador de que la estimulación ganglionar causa la descarga de noradrenalina que estimula la secreción de progesterona en el ovario durante estos días del ciclo (Dissen y col., 1993; Aguado y Ojeda 1984a,b). Sin embargo, en el día del diestro-2, la noradrenalina añadida al ganglio celiaco tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de progesterona ovárica. Estos resultados y los obtenidos en este estudio, indicarían que durante el día del diestro-2, la noradrenalina no sería el neurotransmisor

secretado en el ovario, y que otras moléculas inhibitorias participan en la regulación de la secreción de progesterona por el ovario.

La GnRH actúa sobre múltiples sitios extrahipofisarios donde regula algunas funciones reproductivas. En condiciones *in vivo* e *in vitro*, tiene efectos inhibitorios sobre la secreción de progesterona en células luteales (Clayton y col., 1979; Jones y Hsueh, 1980, 1981, 1982 a,b; Massiccote y col., 1981). En el ovario existen receptores de alta afinidad para GnRH en células de la granulosa y de la teca. La GnRH ha sido encontrada en ganglios simpáticos, razón por la cual suponemos que podría alcanzar el ovario vía el NOS o que su presencia en el ganglio pudiera modular la secreción de noradrenalina en el ovario.

Otro factor que puede influir en la regulación esteroidogénica durante el diestro-2 es el GABA, ya que incrementa el flujo sanguíneo ovárico y disminuye la secreción de progesterona ovárica (Erdö y col., 1985). Los factores de crecimiento epidermal y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) tienen un efecto inhibitorio sobre la esteroidogénesis ovárica y testicular ya que disminuyen la capacidad de las células de la granulosa para expresar el AMPc inducido por LH (Huseh y col., 1981; Kim y Fazleabas, 1999). Este evento pudiera provocar también la inhibición en la regulación de estradiol por parte del ovario observada en nuestro estudio.

Montiel (2005), Montiel y col. (2005) y Gallegos (2005 a, b), mostraron que en el animal con ovariectomía unilateral, el NOS regula la secreción de progesterona y estradiol, la cual varía durante el ciclo estral y es asimétrica. Nuestros resultados apoyan esta hipótesis y muestran que en el día del diestro-2, la secreción de progesterona es regulada de manera estimulante por parte del NOS del lado derecho que a su vez participa de forma inhibitoria en la de estradiol, mientras que el NOS izquierdo no participa en la regulación de estas hormonas, toda vez que la ovariectomía izquierda en animales con sección del NOS derecho resulta en una menor concentración de progesterona y un aumento en la de estradiol, mientras que

la ovariectomía derecha en animales con sección del NOS izquierdo no modifica la concentración de progesterona y estradiol.

Este estudio muestra que la sección unilateral del NOS afecta de manera diferencial la secreción de hormonas esteroides cuando se realiza antes o después de la ovariectomía unilateral, pero de igual manera, las respuestas dependen de la integridad del NOS y del ovario remanente. Esto queda de manifiesto toda vez que la sección unilateral del NOS en animales con ovariectomía unilateral resulta en una mayor concentración de estradiol sin cambios en la de progesterona y en este caso sugiere que el NOS regula de forma inhibitoria la secreción de estradiol y no participaría en la de progesterona.

El hecho de que en el día del diestro-2 los ovarios sean influidos de manera diferencial por la falta de información que transcurre por el NOS ipsilateral al ovario *in situ* previa o posterior a la ovariectomía unilateral, sugiere que la información que llega y sale del ovario por medio del NOS es diferente para el ovario derecho e izquierdo.

Nuestros resultados y otros aquí mencionados apoyan la propuesta en el sentido de que el NOS es una de las vías nerviosas que comunican a los ovarios con el sistema nervioso central, que la información que llega a los ovarios por parte del NOS modula la respuesta de los tres compartimientos ováricos a las gonadotropinas, lo cual se traduce en la capacidad secretora de hormonas por parte de los ovarios y que la información que se origina en cada ovario es diferente y varía durante el ciclo estral (Aguado y Ojeda, 1984; Chávez y Domínguez, 1994; Domínguez y col., 1988, 2003).

Si bien se ha descrito que el animal con ovariectomía unilateral, el NOS regula la concentración de progesterona, para el caso del animal con adrenalectomía unilateral, la secreción de la hormona no es regulada por la influencia de este nervio. En este modelo animal, la participación por parte del NOS se pone de manifiesto

cuando el parámetro cuantificado es estradiol e indica que la secreción de esta hormona es regulada de manera estimulante por parte del NOS del lado derecho, mientras que el NOS izquierdo lo hace de forma inhibitoria, toda vez que en animales con adrenalectomía izquierda, la sección del NOS derecho resulta en disminución de la concentración de estradiol, mientras que en animales con adrenalectomía derecha, la sección del NOS izquierdo resultó en aumento en la concentración de la hormona.

Debido a que el NOS tiene una influencia sobre los mecanismos que regulan la secreción de estradiol en el animal adrenalectomizado unilateralmente, sugerimos que una posible interacción entre los ovarios y las adrenales pudiera tener como vía de comunicación este nervio.

Si bien la sección del NOS afecta de manera diferencial la secreción de hormonas esteroides cuando se realiza antes o después de la ovariectomía unilateral, esto no sucede cuando se lleva a cabo en el animal con adrenalectomía unilateral, ya que independientemente de que la sección del nervio se efectúe previa o posterior a la adrenalectomía, la concentración de hormonas esteroides es influenciada de manera similar.

CONCLUSIONES:

- En el día del diestro-2 la fuente principal de estradiol son los ovarios.
- El aporte de progesterona a la circulación proviene principalmente de las adrenales.
- En el animal entero y en aquellos con sólo un ovario, las adrenales modulan de manera inhibitoria la secreción de estradiol.
- En el animal entero, el NOS derecho regula de manera inhibitoria la secreción de progesterona, mientras que el NOS izquierdo la de estradiol.
- Hay asimetría en la información que llega y sale del ovario por medio del NOS.
- En el animal con adrenalectomía unilateral, la secreción de estradiol es regulada de manera estimulante por el NOS derecho, mientras que el NOS izquierdo la regula de manera inhibitoria.
- La influencia reguladora del NOS en el animal con adrenalectomía unilateral indica que este nervio es parte de la comunicación nerviosa entre las adrenales y los ovarios.

BIBLIOGRAFÍA:

Aguado LI. (2002). Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microscopy Research and Technique* 59: 462-473.

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

Aguado LI, Ojeda SR. (1984b). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences: role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*. 114: 1845-1853.

Arimura A. (2000). Hypotalamic hormones. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Editores: Conn PM, Freeman ME. Humana Press inc.. Totowa, New Jersey, USA, capítulo 3: 41-58.

Barco AI. (2005). Posible papel asimétrico de los ovarios y del sistema colinérgico sobre la secreción de hormonas esteroides en el día del estro. La rata adulta como modelo. Tesis de Maestría. Carrera de biología. FES Zaragoza, UNAM.

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.

Berne RM, Levy MN. (1992). La corteza suprarrenal. En: *Fisiología*. 1a Ed. Mosby/Doyma Libros. España. pp: 558-571.

Borel JP, Randoux A, Maquqrt FX, Le Peuch C, Valeyre J. (1989). *Bioquímica dinámica*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires Argentina, pp: 417-422.

Brown RE. (1994). The hypothalamic hormones. En: Introduction to Neuroendocrinology. Cambridge University Press, Great Britain, pp: 40-55.

Brown RE. (1994). The pituitary gland and its hormones. En: Introduction to Neuroendocrinology. Cambridge University Press, Great Britain, pp: 30-39.

Burden HW. (1985). The adrenergic innervation on mammalian ovaries. En: Catecholamines as hormone regulator. Editores: N. Ben-Jonathan, J.M Bahr, R.I Weiner. Ed Raven Press New York, pp: 261-278.

Burden HW. (1978). Ovarian innervation. En: The vertebrate ovary: Comparative Biology. Editor: Jones R. Ed. Plenum Press, New York USA, pp: 615-638.

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

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. *Journal of Endocrinology* 140: 197-201.

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

Clayton RN, Harwood JP, Catt KJ. (1979). Gonadotropin releasing hormone analogue binds to luteal cells and inhibits progesterone production. *Nature*. 282: 90-92.

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-Seven*

annual meeting of the Society for the Study of Reproduction. Publicado en las memorias de la sociedad p.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, Sánchez MA, Domínguez R. (2001). Asimetrías funcionales del sistema reproductor. En: Biología de la Reproducción II. Editor: Velásquez Moctezuma J. UAM. PUIS, México, pp: 75-91.

D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dees WL, Ojeda SR. (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech.* 15; 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. *Neuroendocrinol 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, Vaundry H. (2001). Role of neurotransmitters and neuropeptides in the regulation of the adrenal cortex. *Rev Endocr Metab Disord.* 2: 253-267.

Dissen GA, Les Dees WL, Ojeda SR. (1993). Neural and neurotrophic control of ovarian development. In: *The Ovary*. Eds. Adashi EY, Leung CK. New York: Raven Press. pp 1-18.

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

Domínguez R. (1997). Endocrinología de las gónadas. En: *Curso internacional precongreso. Actualización en Fisiología*. Ed. SMCF y PUIS-UNAM, México, pp: 271-279.

Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Editor: Domínguez R. Ed. UNAM-Porrúa, México, capítulo 7: 161-192.

Domínguez R, Cruz ME, Chávez R. (1988). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. In: *Growth Factors and the Ovary*: Editor: Hirshfield AN. Plenum Press: New York. 39: 321-325.

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-Seven annual meeting of the Society for the Study of Reproduction. Publicado en las memorias de la sociedad: p.119 (No. 117). Vancouver, Canadá.

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

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. *Medical Science Research*. 26: 545-547.

Erdö SL, Varga B, Horvath E. (1985). Effect of local GABA administration on rat ovarian blood flow and on progesterone and estradiol secretion. *European Journal of Pharmacology*. 111: 397-404.

Ericsson GF. (1987). The ovarian biochemistry of the menstrual cycle In: *Ovulation*. The Parthenon Publishing Group Printed in Great Britain: 3-23.

Espey LL. (1999). Ovulation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Editores: Knobil E, Neill JD. Ed Academic Press, USA, vol. 3: 605-614.

Fawcett DW. (1995). *Tratado de Histología*. 12a. Edición. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, pp: 885-893.

Ferruz J, Ahmed CE, Ojeda SR, Lara HE. (1992). Norepinephrine release in the immature ovary is regulated by autoreceptors and neuropeptide-Y. *Endocrinology*. 130: 1345-1351.

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

Fink G. (2000). Neuroendocrine regulation of pituitary function. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press inc. Totowa, N.J., pp: 107-133.

Flores A, Meléndez G, Rodríguez J, Palafox MT, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME. (2004). Efectos de la hemiovariectomía realizada durante el ciclo estral de la rata sobre la concentración plasmática de hormonas esteroides. 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, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad, pp: 121-137. Oaxaca, Oaxaca.

Flores A, Flores K, Madrigal G, Orozco EM, Everardo PM, Chavira R, Cruz ME, Domínguez R. (2005a). 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. (2005b). The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. *Endocrine* 28: 145-152.

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

Freeman ME. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. 2a. ed. Editores: Knobil E, Neill JD. Raven Press, New York, USA, Vol. 2, capítulo 46: 613-658.

Gabella G. (1985). Autonomic nervous system. En: The Rat Nervous System, George Paxinos. Academic Press, vol.2, capítulo 46: 613-658.

Gallegos AI. (2005a). Efectos de la sección ipsilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro previo a la hemiovariectomía (Hovx) sobre las concentraciones de progesterona (P4), testosterona (T) y estradiol (E2) en ratas adultas. Evento: XXI Foro de Investigación en Salidas Terminales. Carrera de Biología, FES Zaragoza, UNAM.

Gallegos AI. (2005b). Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Galvez 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.

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 vital transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology* 68: 244-256.

Gerendai Toth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I, Halász B. (2000). SNC structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal Autonomical Nervous System* 80: 40-45.

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.* 34: 108-113.

Gonzales F (1999). Adrenarche. En: *Enciclopedia of Reproduction*. Editores: Knobil E, Neil JD. Academic Press, USA, pp: 51-61.

Guyton AC, Hall JE. (2001). *Tratado de Fisiología Médica*. 10ª. Edición. Mc Graw Hill Interamericana. 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.

Hsueh AJ, Welsh TH, Jones PBC. (1981). Inhibition of ovarian and testicular steroidogenesis by epidermal growth factor. *Endocrinology*. 108: 2002-2004.

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

Jones PB, Hsueh AJ. (1980). Direct inhibitory effect of gonadotropin-releasing hormone upon luteal luteinizing hormone receptor and steroidogenesis in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 107: 1930-1936.

Jones PB, Hsueh AJ. (1981). Direct stimulation of ovarian progesterone-metabolizing enzyme by gonadotropin-releasing hormone in cultured granulosa cells. *Journal of Biology and Chemistry*. 256: 1248-1254.

Jones PB, Hsueh AJ. (1982a). Pregnenolone biosynthesis by cultured granulosa cells: modulation by follicle-stimulating hormone and gonadotropin releasing hormone. *Endocrinology* 111: 713-721.

Jones PB, Hsueh AJ. (1982b). Regulation of ovarian 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity by gonadotropin-releasing hormone and follicle-stimulating hormone in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 110: 1663-1671.

Kannisto P, Ekblad E, Helm G, Owman CH, Sjoberg NO, Stjernquist M, 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*. Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, vol 2: 127-136.

Kim JJ, Fazleabas TA. (1999). Growth Factors En: *Encyclopedia of Reproduction*, Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, En: *Encyclopedia of Reproduction* Vol. 2 pp 573-583.

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.

Kriegsfeld LJ, Mei DF, Bentley GE, Ubuka T, Mason AO, Inoue K, Ukena K, Tsutsui K, Silver R. (2006). Identification and characterization of a gonadotropin inhibitory system in the brains of mammals. *Proc Natl Acad Sci USA.* 103: 2410-2415.

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

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

Litwack G, Schmidt TJ. (2000), Bioquímica de las hormonas II: Las hormonas esteroideas en: Bioquímica. Editor: Devlin MT. 3ª Edición, Ed. Reverte S.A. España, pp: 893-917.

López-Calderón BA. (1999). Glándulas suprarrenales. En: Fisiología Humana. Editor. Tresguerres JAF. 2ª Ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana. España, pp: 947-967.

Malven PV. (2000). Neurotransmitters as regulators of hypothalamic function. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Editores: Conn PM, Freeman ME. Humana Press inc, Totowa, New Jersey, USA, capítulo 4: 59-73.

Massicote J, Borgus JP, Lachance R, Labrie F. (1981). Inhibition of HCG-induced cyclic AMP accumulation and steroidogenesis in rat luteal cells by an LHRH agonist. Journal of Steroid Biochemistry. 14: 239-242.

McNeil D, Burden HW. (1987). Neuropeptides in sensory perikarya projecting to the rat ovary. American Journal of anatomy. 179: 269-276.

Meléndez G, Rodríguez J, Palafox MT, Barco AI, Chavira R, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. (2003). Los efectos agudos de la hemiovariectomía (Hovx) y la hemiadrenalectomía (HADx) sobre la concentración de progesterona (P4) en la rata adulta. XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las memorias de la sociedad, C-25. Aguascalientes, Ags.

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 diestro 1 (D1) sobre la concentración sérica de estradiol (E2) y progesterona (P4) 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.

Montiel C. (2005). Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del diestro-1 sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

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

Noback ChR. (1980). Sistema Nervioso Autónomo. En: Sistema Nervioso Humano Fundamentos de Neurobiología. 1a edición McGraw-Hill, México, Capítulo 6: 149-167.

O'Malley BW, Strott CA. (2001). Hormonas esteroides: metabolismo y mecanismo de acción. En: *Endocrinología de la reproducción*. 4ª ed., Editores: Yen SSC, Jaffé RB, Barbieri RL. Ed. Médica-Panamericana. Argentina, capítulo 4: 122-141.

Palafox MT. (2003). Papel de las glándulas suprarrenales en la secreción de hormonas ováricas esteroides en el día del proestro. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Palafox MT, Rodríguez J, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. (2003). Los efectos de la hemiovariectomía o la hemiadenectomía derecha (Hovx-D; ADx-D) sobre el estradiol sérico varían durante el ciclo estral XLVI Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las memorias de la sociedad, C-21. Aguascalientes, Ags.

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. *Endocrine* 8: 309-315.

Pedernera E. (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. En: *Comunicación neuroendócrina. Bases celulares y moleculares*. Editor: Pedernera E. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C., México, pp: 33-46.

Pérez PG, Larrea F, Cerbón MA, Vilchis F. (1995). Mecanismo de acción de hormonas esteroides. En: *Bioquímica, 2ª Ed.* Editores: Díaz JC, Hicks JJ. Rd. McGraw-Hill Interamericana. México, Capítulo 33: 640-666.

Roby KF, Terranova F. (1999). Theca cells. En: *Encyclopedia of Reproduction*, Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA. Vol 4: 790-803.

Rodríguez J (2003). Papel de las glándulas suprarrenales en la secreción de hormonas ováricas esteroides en el día del diestro-2. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza. UNAM.

Rodríguez J, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. (2003). Participación de los ovarios y las adrenales en la secreción de testosterona en la rata, en los días del diestro-1, diestro-2 o proestro. XLVI. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las memorias de la sociedad, C-24. Aguascalientes, Ags.

Rodríguez J, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Flores A, Domínguez R, Cruz ME. (2004). Contribución de las adrenales y los ovarios en la concentración plasmática de progesterona, testosterona y estradiol, durante el ciclo estral de la rata. XLVII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las memorias de la sociedad, C-207. Veracruz, Ver.

Schwartz, N. (2000). Neuroendocrine regulation of reproductive cyclicity. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Editores: Conn M, Freeman M.. Humana Press. U.S.A., pp: 135-145.

Sosa ZY, Casais M, Rastrilla AM, Aguado LI. (2000). Adrenergic influences on coeliac ganglion affect the release of progesterone from cyclin ovaries: characterisation of an *in vitro* system. Journal of Endocrinology. 166: 307-318.

Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. (2002). The origin the sensory innervation of the peritoneum in the rat. Anat. Embryol. 205: 307-313.

Trzeciak HW, Ahmed CE, Simpson ER, Ojeda SR. (1986). Vasoactive intestinal peptide induces the synthesis of the cholesterol side-chain cleavage enzyme complex in cultured rat ovarian granulosa cells. Proc Natl Acad Sci. USA. 83: 7490-7494.

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.

Velasco (2005). Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro sobre la tasa de animales ovulantes y el numero de ovocitos liberados en el día del estro. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

Weiss GH, Dail WG, Ratner A. (1982). Evidence for direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats. J Reprod Fertil. 65: 507-511.

Wong KHH, Adashi EY. (1999). Granulosa Cells. En: Encyclopedia of Reproduction, Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, 3: 569-571.

Yao HHC, Bahr JM. (1999). Ovary, overview. En Encyclopedia of Reproduction. Editores: Knobil E, Neill JD. Academic Press, USA, vol. 3: 590-597.

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