UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

LABORATORIO DE BIOLOGIA DEL DESARROLLO

Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza

Contenido de noradrenalina ovárica en respuesta a la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGA

PRESENTA:

GEORGINA DANIELA CORTÉS RUIZ

DIRECTORA DE TESIS

M. EN IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN215513

México, DF., 25 de febrero de 2014

ÍNDICE

RESUMEN **1**

MARCO TEÓRICO **3**

Sistema noradrenérgico 3

Sistema noradrenérgico y secreción de GnRH 9

Eje hipotálamo-hipófisis-ovario 11

Inervación del ovario 15

Receptores adrenérgicos 17

Regulación de la foliculogénesis 19

Regulación de la ovulación 20

Regulación de la esteroidogénesis 21

Asimetrías 24

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA **27**

HIPÓTESIS **28**

OBJETIVO **29**

MATERIALES Y MÉTODOS **30**

RESULTADOS **35**

ANÁLISIS DE RESULTADOS **42**

CONCLUSIONES **48**

BIBLIOGRAFÍA **49**

ANEXO **57**

Biosíntesis y almacenaje de noradrenalina 57

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS **59**

RESUMEN

Las funciones de los ovarios, esteroidogénesis y ovulación, son reguladas por el eje neuroendocrino Hipotálamo-Hipófisis-Ovario y moduladas por la inervación extrínseca sensorial, parasimpática y simpática. Esta última llega por vía del Nervio del Plexo Ovárico y por el Nervio Ovárico Superior (NOS); este nervio transporta en sus fibras al péptido intestinal vasoactivo y a la noradrenalina (NA). El NOS es la vía neural que lleva la mayor concentración de dicha amina a las gónadas pero no se conoce cuánto aporta a cada ovario durante la mañana del ciclo estral de la rata adulta. Por tanto, se utilizaron ratas hembras de tres meses de edad, vírgenes y cíclicas de la cepa CIIZ-V que a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral fueron sometidas bajo anestesia con éter a la sección del NOS izquierdo (NOS-I) o derecho (NOS-D); como grupos control se utilizaron animales intactos o sometidos a laparotomía ventral.

Por otra parte, se ha evidenciado que la extirpación de un ovario modifica los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del ovario remanente, pero se desconoce si en esa respuesta participa el NOS. Por ello, a los animales se les realizó la sección del NOS-I seguida de la extirpación del ovario derecho (NOS-I+Ovx-D) o la sección del NOS-D seguida de la extirpación del ovario izquierdo (NOS-D+Ovx-I); como grupos control se utilizaron animales con Ovx-D u Ovx-I. Los animales fueron sacrificados una hora después de la cirugía (8:00 h) por decapitación. Se diseccionaron y pesaron los ovarios, en los que se cuantificó NA por la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución. Se aceptaron como diferencias significativas aquellos grupos en los que la probabilidad fue igual o menor al 0.05.

En los animales intactos la concentración de NA en ambos ovarios es similar en las etapas de Estro al Diestro-2 y aumenta en el Proestro; sólo en la etapa del Diestro-1 se presenta asimetría entre los ovarios. La laparotomía ventral en las etapas del Estro y diestro resultó en incremento de la concentración de NA en el ovario izquierdo (Estro: 0.77±0.13 *vs.* 0.28±0.04, Diestro-1: 0.48±0.06 *vs.* 0.30±0.02, Diestro-2: 0.58±0.06 *vs.* 0.29±0.06) y en las etapas del Estro y Diestro-2 en el ovario derecho (Estro: 0.67±0.08 *vs.* 0.26±0.04, Diestro-2: 0.86±0.07 *vs.* 0.32±0.07) comparada con la del grupo intacto.

En comparación con el grupo con laparotomía, la sección del NOS-I resultó en menor concentración de la catecolamina en el ovario izquierdo cuando la cirugía se realizó en Estro (0.32±0.03 *vs.* 0.77±0.13), Diestro-2 (0.09±0.01 *vs.* 0.58±0.06) o Proestro (0.79±0.05 *vs.* 0.98±0.09) y en el derecho al realizarla en Estro (0.36±0.03 *vs.* 0.67±0.08) y Diestro-2 (0.48±0.04 *vs.* 0.86±0.07). En contraste, la NOS-I en el Proestro trajo consigo mayor concentración de la amina en el ovario derecho (0.99±0.07 *vs.* 0.78±0.03). El grupo con sección del NOS-D en Estro mostró menor concentración de NA en el ovario izquierdo (0.46±0.04 *vs.* 0.77±0.13). La respuesta es semejante en el ovario derecho cuando la sección se realizó en Diestro-2 (0.54±0.05 *vs.* 0.86±0.07), pero inversa cuando la sección se realizó en el Diestro-1 (0.62±0.08 *vs.* 0.42±0.03). En animales con el ovario derecho *in situ* se registró menor concentración de NA cuando la Ovx-I se realizó en Estro (0.33±0.04 *vs.* 0.67±0.08), Diestro-2 (0.63±0.07 *vs.* 0.86±0.07) o Proestro (0.56±0.06 *vs.* 0.78±0.03) respecto a la observada en los animales con laparotomía. Un resultado similar se observó en animales con el ovario izquierdo *in situ* cuando la Ovx-D se realizó en Estro (0.25±0.05 *vs.* 0.77±0.13) y Proestro (0.44±0.07 *vs.* 0.98±0.09). En el grupo de animales con NOS-I+Ovx-D en la etapa de Estro y Proestro se observó mayor concentración de NA en el ovario izquierdo *in situ* respecto a la del ovario izquierdo *in situ* de aquellos con Ovx-D (0.76±0.04 *vs.* 0.25±0.05, 0.88±0.12 *vs.* 0.44±0.07, respectivamente). Lo contrario ocurrió en el grupo con NOS-D+Ovx-I en Diestro-2 sobre el ovario derecho (0.43±0.05 *vs.* 0.63±0.07).

Con base en los resultados se propone que la participación de cada NOS en el aporte de la concentración de NA ovárica varía a lo largo del ciclo estral. La respuesta aguda del ovario derecho e izquierdo a la falta de la información proveniente del ovario extirpado es asimétrica, lo que depende de la diferente inervación que recibe cada ovario, de la integridad del NOS y de la etapa del ciclo estral en estudio.

MARCO TEÓRICO

Sistema noradrenérgico

Por medio de análisis anatómicos y funcionales se evidenció que la red noradrenérgica del Sistema Nervioso Central (SNC) tiene una distribución extensa que se divide en dos sistemas neurales: el locus coeruleus y el tegmental lateral. El núcleo del locus coeruleus está compuesto predominantemente de neuronas noradrenérgicas (1500 neuronas de cada lado del cerebro) y se le considera como el núcleo noradrenérgico más grande en el cerebro de los mamíferos porque tiene el 43% del total de neuronas noradrenérgicas. Sus terminales nerviosas se proyectan a diferentes zonas tales como el hipotálamo y la médula espinal (Moore y Bloom, 1979).

El sistema neural noradrenérgico tegmental lateral está compuesto por grupos celulares. Uno de ellos, localizado en las proximidades del núcleo reticular lateral, se conoce como A1. Otro que está dentro del accesorio dorsal olivar inferior es el A3, un grupo que comienza sobre el nivel de la raíz descendente del nervio facial y que se extiende rostral a él es el A5, y un grupo de neuronas dispersas ventrales al locus coeruleus que se extienden rostral y lateral a él es el A7 (Moore y Bloom, 1979).

Los grupos celulares del sistema noradrenérgico tegmental lateral envían densa inervación noradrenérgica al hipotálamo (Figura 1). Se ha evidenciado que la noradrenalina (NA) está presente en casi todos los núcleos hipotalámicos, pero los que presentan mayor concentración son el núcleo dorsomedial, el núcleo paraventricular y el área retroquiasmática. Una parte de la inervación hipotalámica noradrenérgica proviene de las neuronas del locus coeruleus (Figura 2) ya que, con el método de trazado autorradiográfico, se mostró su proyección al núcleo periventricular, al núcleo paraventricular, al núcleo supraóptico y al núcleo dorsomedial (Moore y Bloom, 1979).

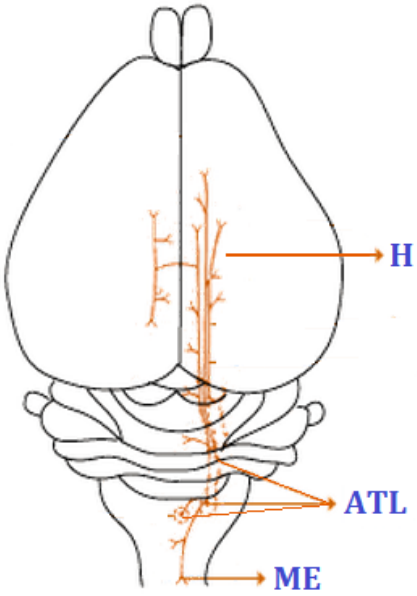


Figura 1. Diagrama de la localización y proyecciones de los grupos neurales noradrenérgicos del tronco cerebral. H, hipotálamo; ATL, área tegmental lateral; ME, médula espinal (Tomada y modificada de Moore y Bloom, 1979).

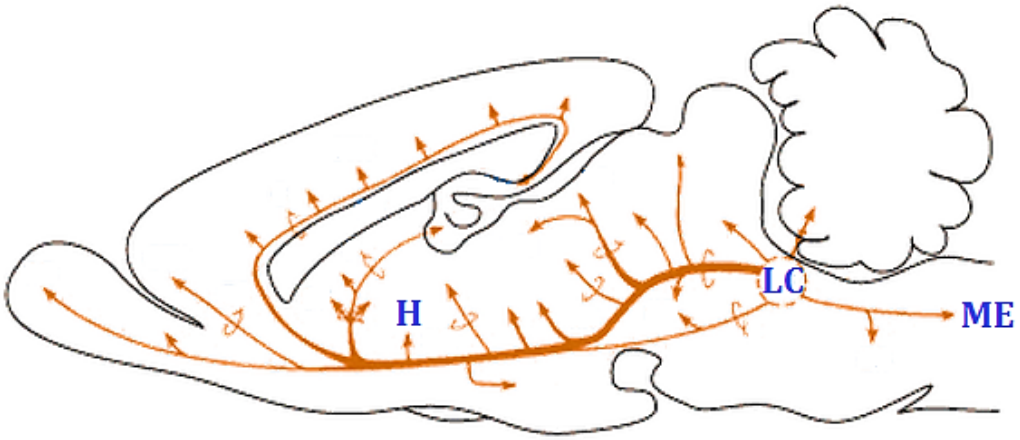


Figura 2. Diagrama de las proyecciones del locus coeruleus visto en plano sagital. H, hipotálamo; LC, locus coeruleus; ME, médula espinal (Tomada y modificada de Moore y Bloom, 1979).

En el hipotálamo medial todo el complejo periventricular, de rostral a caudal incluyendo el componente arcuato, muestra una densa inervación noradrenérgica, alguna de la cual proviene del locus coeruleus. La eminencia media, el área preóptica medial y el área hipotalámica anterior reciben inervación noradrenérgica tegmental lateral (Moore y Bloom, 1979).

Con técnicas de trazadores retrógrados, Wright y Jennes (1993) mostraron que sólo las neuronas noradrenérgicas de la médula ventrolateral (grupo celular A1) y las

del núcleo del tracto solitario (grupo celular A2) se proyectan a las inmediaciones de los somas de las neuronas GnRHérgicas en el área preóptica rostral de la rata.

La presencia de fibras noradrenérgicas en ciertas áreas del hipotálamo fue descrita desde el día 19 al 20 de gestación en la rata por Hyyppa (1969), mientras que Olson y Seiger (1972) detectaron neuronas noradrenérgicas en el cerebro de embriones de 11 mm (Figura 3). En otros estudios, se observaron axones inmunoreactivos a NA en los niveles cervical y torácico superior de la médula espinal desde el día 16 del desarrollo embrionario y en el día 18 se presentaron pocas fibras a nivel torácico en la columna celular intermediolateral. El crecimiento de los axones a través del cuerno dorsal de la médula espinal es progresivo hasta el día 14 y 20 postnatal, donde se observa distribución de las neuronas al cuerno ventral y a la columna celular intermediolateral. A partir del día 30 postnatal la inervación noradrenérgica en la médula espinal es similar a la observada en ratas adultas (Rajaofetra *et al*., 1992).

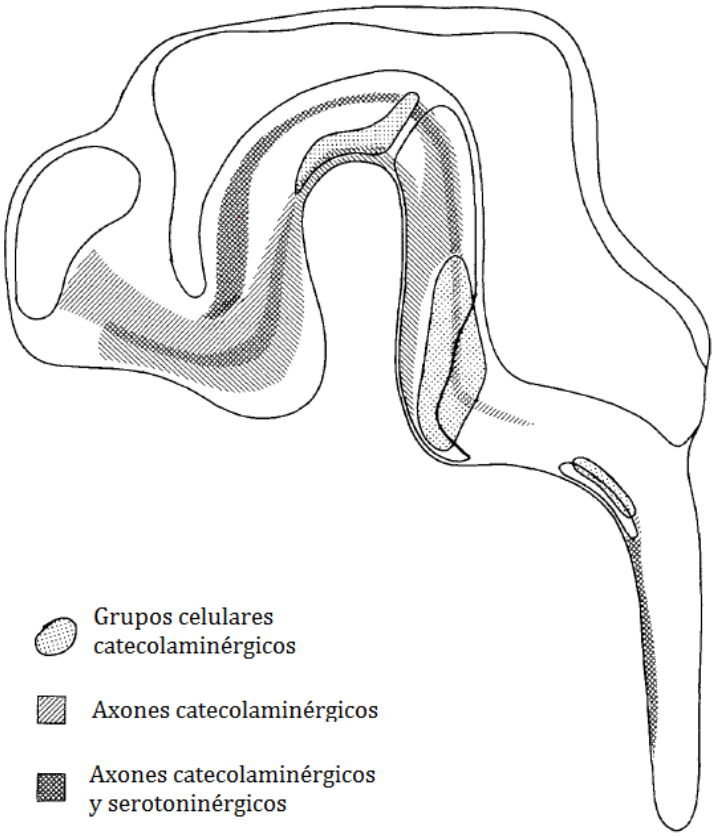


Figura 3. Representación esquemática de neuroblastos y axones que contienen monoaminas en el embrión de 11 mm (Tomada y modificada de Olson y Seiger, 1972).

Gracias a la administración de virus neurotrópicos en órganos periféricos se ha podido observar que la conexión del SNC con el ovario se da por medio de vías neurales multisinápticas visualizadas en la médula espinal, mayormente representada en la columna celular intermediolateral (Figura 4) (Carlsson *et al.,* 1964; Moore y Bloom, 1979; Loewy, 1981; Gerendai *et al*., 1998; Gerendai, 2004). Algunos autores han mostrado que, en especial, el grupo celular A5 aporta densas fibras noradrenérgica hacia la columna intermediolateral (Loewy, 1981; Gerendai *et al*., 1998).

En el ovario de la rata adulta, esta técnica permite observar el marcaje de las neuronas en la médula ventrolateral, el núcleo gigantocelular, el área postrema, el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del vago, los grupos celulares noradrenérgicos A1 y A5, el núcleo caudal del rafé y el locus coeruleus. También fueron marcadas neuronas del diencéfalo localizadas en el núcleo paraventricular hipotalámico e hipotálamo lateral (Gerendai *et al*., 1998; Gerendai *et al*., 2002; Tóth *et al*., 2007; Toth *et al*., 2008;).

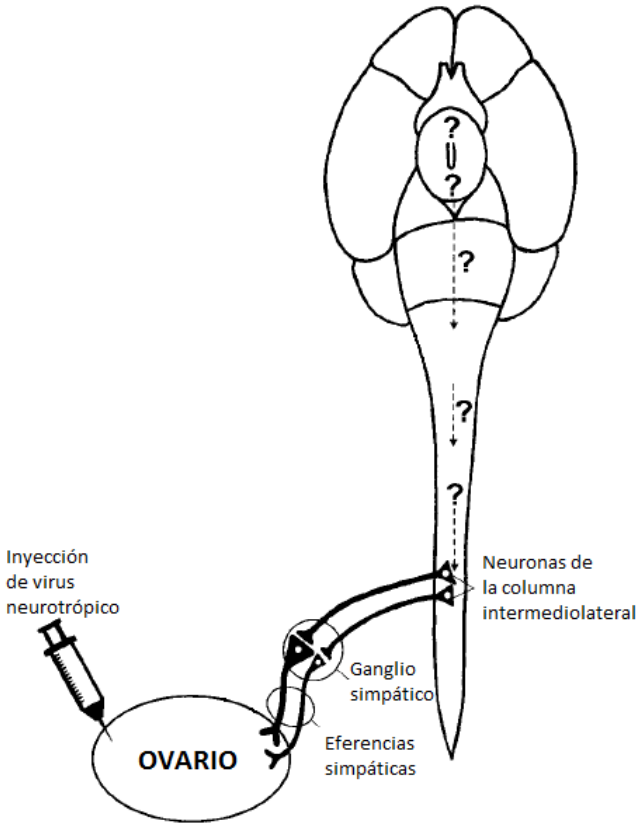


Figura 4. Ilustración esquemática del marcaje de las vías multisinápticas por medio de la técnica de marcaje viral transneuronal (Tomada y modificada de Gerendai *et al.,* 2002).

Gerendai y colaboradores (1998), mediante la técnica de marcaje viral transneuronal, detectaron células marcadas en segmentos torácicos (T4-T13) y lumbares (L1-L3) del área intermediolateral correspondientes a la ubicación de neuronas preganglionares simpáticas. Estas neuronas preganglionares se proyectan al ganglio celíaco (Figura 5), el cual se incluye en la cadena simpática prevertebral y posee gran variedad de receptores específicos y neurotransmisores; entre ellos las catecolaminas, los neuropéptidos, el óxido nítrico y la acetilcolina (Berthoud y Powley, 1996). Los ganglios prevertebral, paravertebral y pélvico dan origen a las fibras postganglionares que inervan los órganos reproductores (Klein y Burden, 1988; Gerendai, 2004). Por lo tanto, el ganglio celíaco mesentérico superior (GCMS) es el origen de la mayoría de las fibras postganglionares que llegan al ovario (Klein y Burden, 1988; Toth *et al*., 2007).

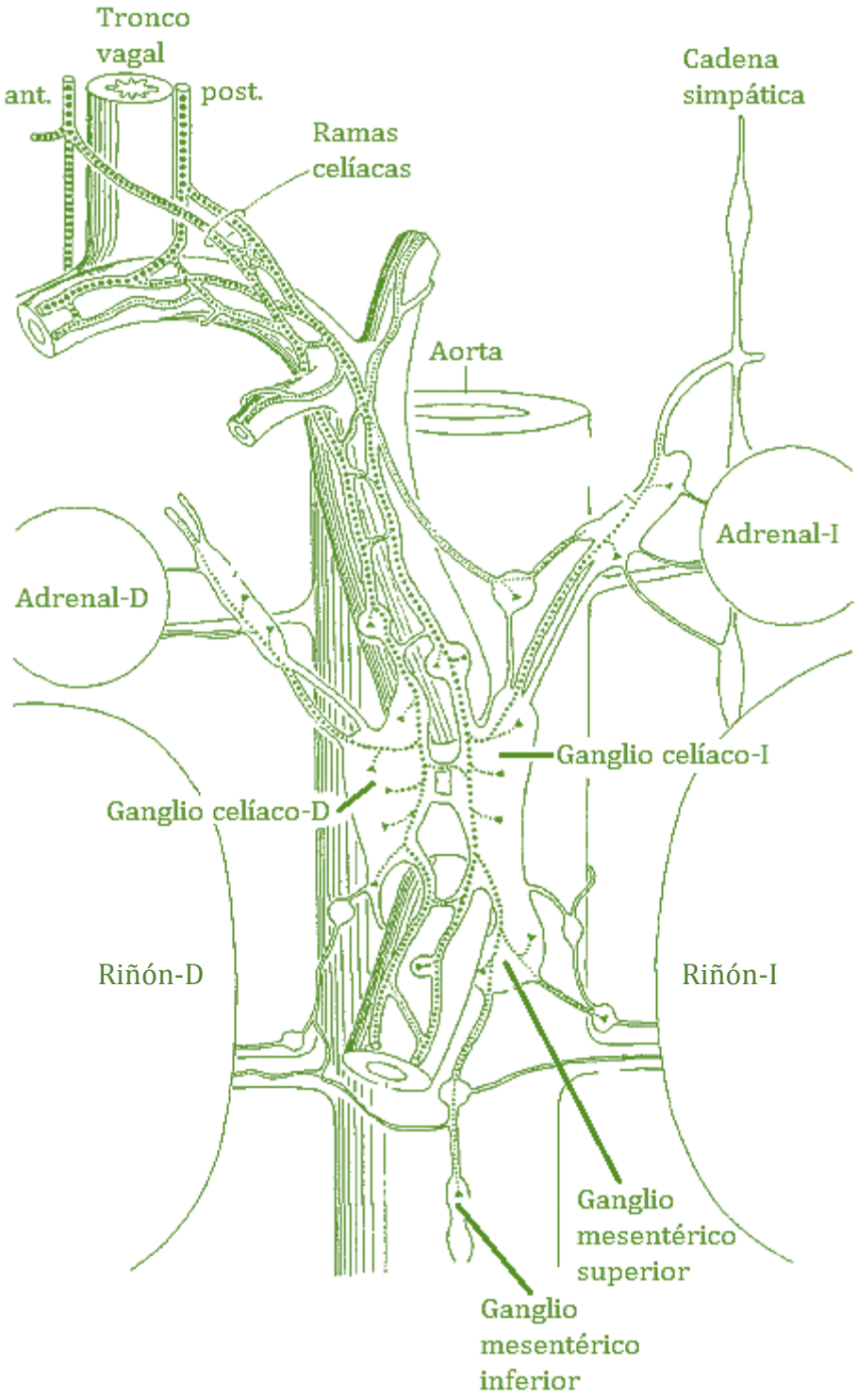


Figura 5. Representación esquemática de los ganglios (Tomada y modificada de Berthoud y Powley, 1996).

Sistema noradrenérgico y secreción de GnRH

Se ha evidenciado la presencia inmunoreactiva de receptores α-adrenérgicos en neuronas que secretan la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) (Lee *et al*., 1995), así como la participación noradrenérgica en la regulación de la secreción de las gonadotropinas (Moore y Bloom, 1979).

La detección de Fos, una proteína producto de la expresión temprana del gen *c-fos*, es utilizada como marcador de actividad neuronal. Se ha reportado que la NA induce la expresión de *c-fos* en el área preóptica, dicha expresión está mediada por los receptores a estrógenos en las células noradrenérgicas del área A1. Con base en dicho resultado se propuso que la NA tiene influencia en las neuronas GnRHérgicas y que depende de las concentraciones de los estrógenos (Jennes *et al.,* 1992; Condé *et al*., 1996).

Otro sitio potencial en el cual la NA puede actuar es en la eminencia media, donde las terminales nerviosas GnRHérgicas liberan directamente el decapéptido a la circulación portal-hipofisiaria, y aunque todavía no existe evidencia ultraestructural de una regulación presináptica directa de las terminales GnRHérgicas en ratas, estudios *in vitro* muestran que la liberación de NA en esta área modula la secreción de GnRH (Figura 6) (Herbison, 1997).

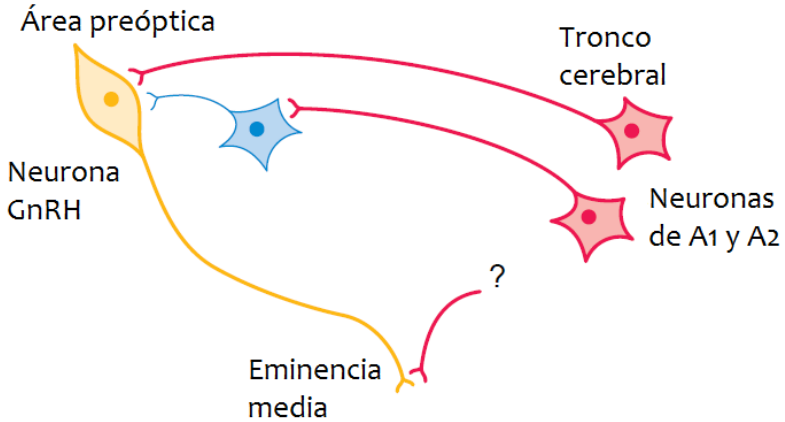


Figura 6. Vías noradrenérgicas hacia las neuronas GnRHérgicas (Tomada de Herbison, 1997).

En la rata, existen neuronas noradrenérgicas específicas receptivas a estrógenos. Estudios con autorradiografía de receptores mostraron que muchas neuronas de los grupos celulares A1 y A2 expresan receptores a estrógenos (Heritage *et al*., 1977).

Se ha mostrado que los estrógenos incrementan: la excitabilidad eléctrica de las neuronas A1 que se proyectan al área preóptica (Kaba *et al*., 1983), la expresión del gen *c-fos* (Jennes *et al.,* 1992) y el contenido de ARNm de tirosina hidroxilasa (TH) en las células A2 (Liaw *et al.,* 1992), por lo tanto, se propuso que los estrógenos modulan la transmisión noradrenérgica dentro de la red GnRHérgica (Herbison, 1997).

La influencia de la NA sobre la secreción de la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés) en ratas hembras depende de las concentraciones de los esteroides gonadales del animal, ya que la infusión de NA dentro del tercer ventrículo redujo la secreción de LH en ratas ovariectomizadas pero promovió la liberación de LH en animales tratados con esteroides gonadales (Leung *et al*., 1982).

La mañana del Proestro está asociada con el ascenso en las concentraciones plasmáticas de 17 β-estradiol (E_2), antes del pico preovulatorio de gonadotropinas. El incremento en la liberación de NA en las cercanías de los cuerpos celulares y terminales de GnRH, antes y en el momento del pico de LH en Proestro (Herbison, 1997) resulta, en parte, por la activación biosintética y eléctrica de las neuronas A2 receptivas a estrógenos cuando las concentraciones de esta hormona aumentan. Esto coincide con el incremento en el número de neuronas A2 positivas a Fos observado en la mañana del Proestro (Condé *et al*., 1995), ya que se sabe que los estrógenos inducen la expresión temprana del gen Fos en las neuronas A2 (Jennes *et al*., 1992).

Aunque la función precisa de la actividad noradrenérgica en la red de neuronas GnRHérgicas no se ha esclarecido, existe una clara asociación del papel modulador de la NA con los perfiles de liberación de GnRH, por lo cual, parece razonable pensar que

los componentes noradrenérgicos de la red son parte de la maquinaria neural utilizada por los estrógenos bajo condiciones normales que estimulan los eventos eléctricos y de biosíntesis que resultan en el pico de GnRH y LH (Figura 7) (Herbison, 1997).

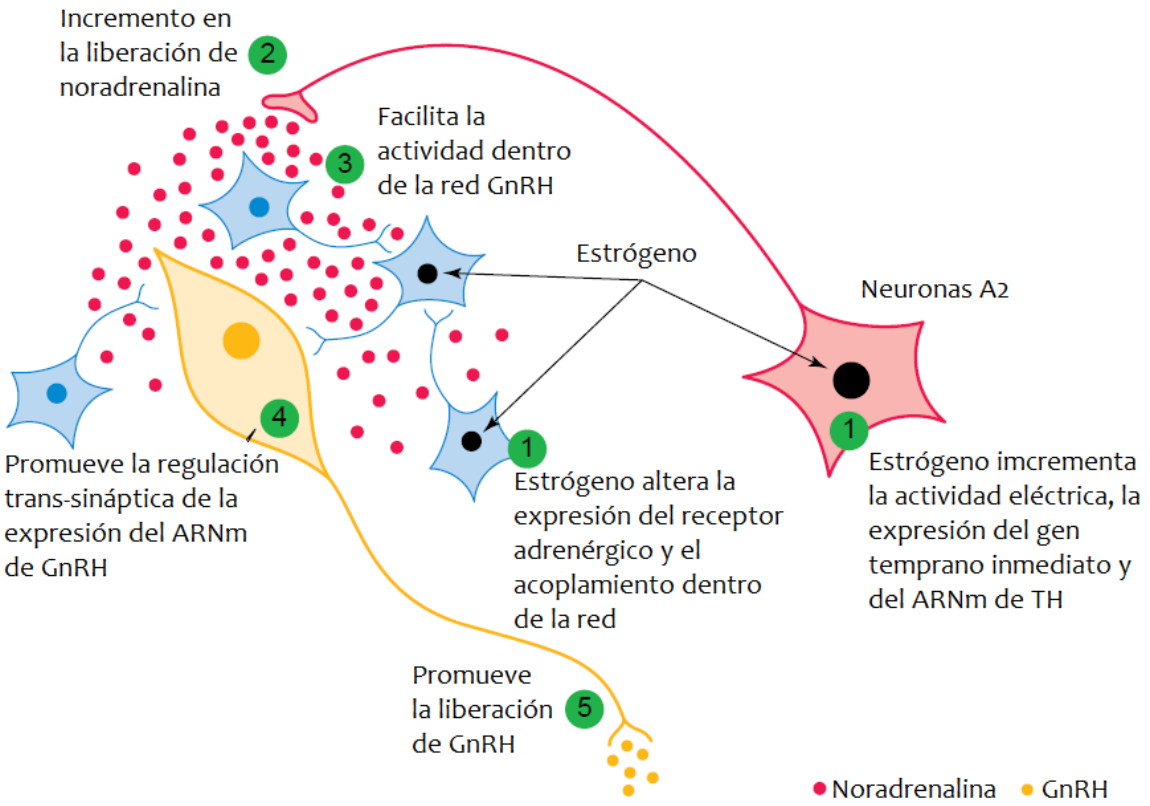


Figura 7. Propuesta de la secuencia de eventos y vías por las cuales la NA facilita la biosíntesis y secreción de GnRH (Tomada y modificada de Herbison, 1997).

Eje hipotálamo-hipófisis-ovario

Las funciones de los ovarios, liberación de ovocitos y secreción de hormonas, son reguladas por señales químicas provenientes del hipotálamo y la adenohipófisis. El hipotálamo secreta de manera pulsátil GnRH, que al ser liberada en el sistema portal hipotalámico-hipofisiario llega a las células gonadotropas de la adenohipófisis y se une a sus receptores en la membrana plasmática, lo que activa la secreción de las gonadotropinas: hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) y LH. Éstas son vertidas al torrente sanguíneo y en las gónadas estimulan sus funciones, lo

que habilita al organismo para la reproducción (Figura 8) (Prieto-Gómez y Velázquez-Paniagua, 2002).

La LH estimula la producción de andrógenos en las células de la teca interna de los folículos ováricos en crecimiento. Durante las etapas finales del crecimiento folicular regula la producción de progesterona (P_4) por las células de la granulosa de los folículos preovulatorios y también estimula la ruptura del folículo que liberará al ovocito (ovulación). El folículo que nutrió por algún tiempo al ovocito, por efecto de esta hormona da origen al cuerpo lúteo el cual, como ya se mencionó secreta P_4, hormona indispensable en la preñez. Si el ovocito no es fecundado, el cuerpo lúteo involuciona gradualmente, deja de secretar P_4 y se inicia un nuevo ciclo (Prieto-Gómez y Velázquez-Paniagua, 2002; Bliss *et al.,* 2010).

La FSH, al unirse a sus receptores en la membrana plasmática de las células de la granulosa, estimula el crecimiento de los folículos y la expresión de la enzima aromatasa que convierte a los andrógenos provenientes de la teca interna en E_2 (Prieto-Gómez y Velázquez-Paniagua, 2002; Bliss *et al.,* 2010).

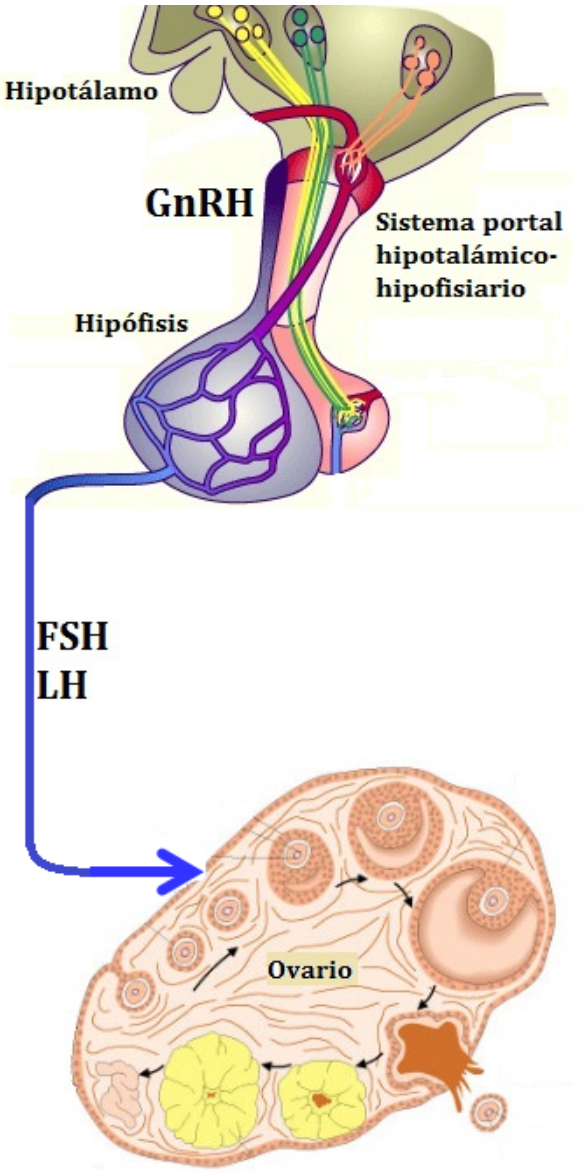


Figura 8. Diagrama del eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario (Tomada y modificada de Mestre, 2012).

Las variaciones en las concentraciones de GnRH, gonadotropinas y hormonas esteroides son consecuencia de un conjunto de acontecimientos fisiológicos que se producen a intervalos de tiempo específicos que en la rata han sido estudiados a lo largo de su ciclo estral. Éste se denomina así por el periodo conspicuo de "calor" (Estro) durante la ovulación que es el único periodo durante el cual la hembra es receptiva al macho (Ganong, 2006).

En el ciclo estral se distinguen dos fases, una fase folicular o estrogénica y una fase luteínica que constituye dos tercios de la duración del ciclo estral. La fase folicular consta a su vez de dos etapas (Proestro y Estro) y la fase luteínica de otras dos (Diestro-1 y Diestro-2) (Caravaca *et al.,* 2003).

Los ovarios, desde el punto de vista histológico, están rodeados por epitelio germinal y tiene tres compartimentos endócrinos: el folicular que contiene a los folículos en diferentes etapas de crecimiento y diferenciación celular y secretan P_4, testosterona y E_2; el luteal conformado por los cuerpos lúteos en diferentes grados de desarrollo y secretan P_4; y la glándula intersticial que secreta andrógenos. Los vasos sanguíneos y linfáticos entran y salen de los ovarios por el hilio y se distribuyen a través de las células de tejido conjuntivo denso denominadas estroma que contiene células hiliares (Figura 9) (William, 1996).

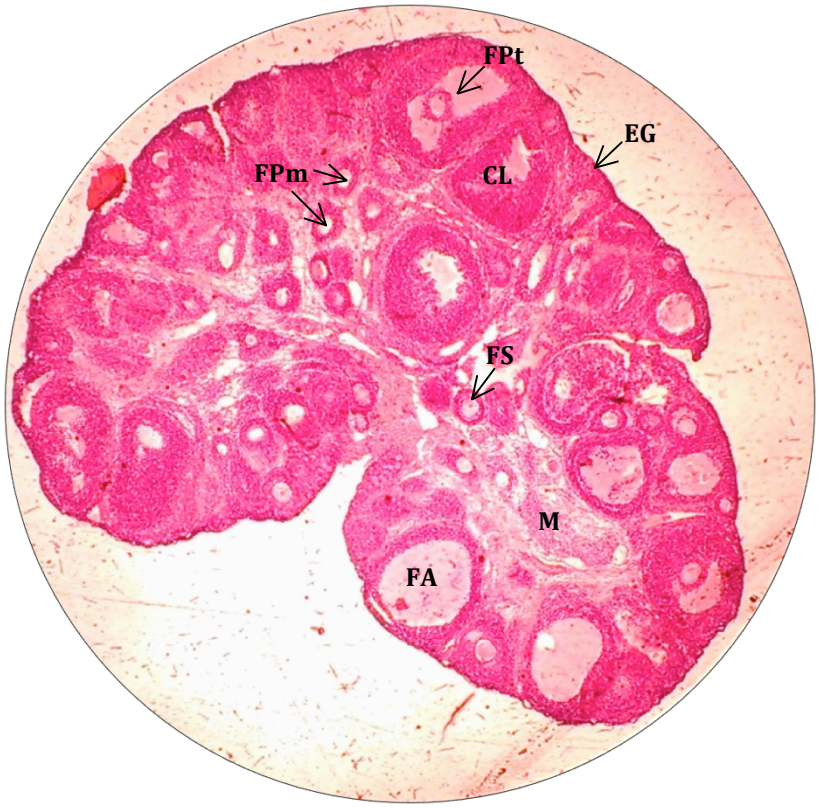


Figura 9. Corte histológico de ovario de rata. FPm, folículo primordial; FPt, folículo preovulatorio; CL, cuerpo lúteo; EG, epitelio germinal; FS, folículo secundario; M, médula; FA, folículo atrésico (Tomada por Georgina Daniela Cortés Ruiz).

El folículo es la unidad funcional del ovario que contiene al gameto femenino y es uno de los tejidos del organismo que experimenta una de las mayores tasas de crecimiento celular y diferenciación, ya que a partir de él se origina el cuerpo lúteo y la glándula intersticial (Domínguez *et al.,* 1991; Chedrese, 2003).

Inervación del ovario

Diversos estudios han evidenciado que aunado al componente hormonal, la inervación que llega a las gónadas modula la acción de las gonadotropinas sobre el desarrollo folicular, la liberación de ovocitos, la secreción de hormonas, la hipertrofia ovárica compensatoria y la edad de la pubertad (Domínguez y Cruz-Morales, 2011).

Por medio de estudios anatómicos, histológicos e histoquímicos se ha mostrado que esta inervación está conformada por fibras sensoriales, parasimpáticas y simpáticas que llegan a la gónada por medio del Nervio vago (Nv), del Nervio del Plexo Ovárico (NPO) y del Nervio Ovárico Superior (NOS) (Figura 10) (Bahr *et al*., 1974; Dissen y Ojeda, 1999; Ricu *et al*., 2008). Estas fibras derivan de neuronas del sistema nervioso periférico, que a su vez, están conectadas mediante vías multisinápticas a las redes neuronales del SNC (Klein y Burden, 1988; Gerendai *et al*., 1998).

Los somas de las fibras nerviosas que forman parte del NOS se localizan en el ganglio celíaco (Klein y Burden, 1988) y sus axones se localizan en el borde libre del ligamento suspensorio que desciende por el límite inferior de la caja torácica para insertarse en el ovario, oviducto y útero (Figura 10) (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999). El NOS ingresa al ovario por el hilio y llega a diferentes compartimentos, como la vasculatura, el tejido intersticial y forma una red estrechamente relacionada con los folículos primordiales y en desarrollo, termina en las células de la teca interna sin tener contacto con células de la granulosa o del cuerpo lúteo (Burden, 1972; Morimoto *et al*., 1982; Dissen y Ojeda, 1999).

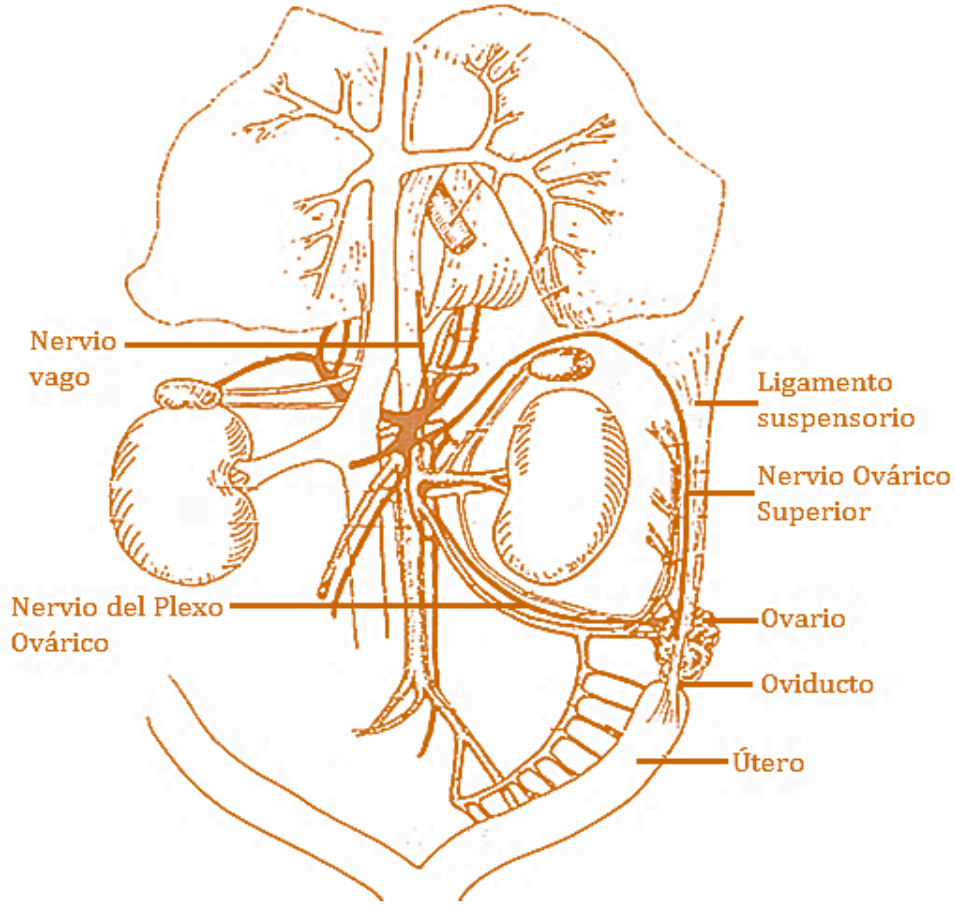


Figura 10. Esquema anatómico de los nervios ováricos y de los órganos inervados por el NOS (Tomada y modificada de Lawrence y Burden, 1980).

Las fibras del NOS y del NPO son fundamentalmente catecolaminérgicas, pero por estos nervios también transcurren fibras peptidérgicas; en el caso del NOS se localizan fibras que son inmunoreactivas al péptido intestinal vasoactivo (VIP, por sus siglas en inglés) (Dissen y Ojeda, 1999). Las fibras del NOS y del NPO aportan casi el 90% de la NA que se encuentra en el ovario ya que se ha mostrado que aun después de la denervación quirúrgica de ambos nervios la concentración de ésta permanece por encima del 10-15% (Lawrence y Burden, 1980). El otro porcentaje es aportado por las catecolaminas circulantes producidas en la médula adrenal y las sintetizadas por las células de la granulosa (Domínguez *et al*., 1991).

En el ovario de la rata, la NA es la principal catecolamina localizada en el fluido folicular en altas concentraciones (Morimoto *et al*., 1982; Ben-Jonathan *et al*., 1984) y

debido a que Itoh y Ishizuka (2005) confirman la presencia de receptores α-adrenérgicos en dicho órgano, estos autores propusieron que esta amina tiene un papel modulador sobre la acción de las gonadotropinas en las funciones ováricas.

Receptores adrenérgicos

Los receptores adrenérgicos son estructuras moleculares que en las células del organismo reciben selectivamente la señal de la adrenalina y la NA, y responden transformándola en una respuesta celular específica. Son glucoproteínas de membrana de 64-68 kD, cuyas cadenas polipeptídicas (402-525 aminoácidos) poseen secuencias extracelulares (terminal-NH_2) en la membrana celular (siete hélices transmembranales) y en el citoplasma (terminal-COOH). Estas estructuras poseen los grupos funcionales para fijar agonistas y son los encargados de activar la transducción de señales por medio de proteínas G (Meana y García-Sevilla, 1997).

Ahlquist (1948) clasificó a los receptores adrenérgicos en dos clases, α y β, con base en las respuestas obtenidas a las catecolaminas naturales (adrenalina y NA) y a la sintética (isoprenalina) en diversos órganos.

Se definieron como receptores α-adrenérgicos los que eran estimulados por las tres catecolaminas con el orden de potencia: adrenalina > NA > isoprenalina, y como receptores β-adrenérgicos a los que eran estimulados con el orden de potencia: isoprenalina > adrenalina > NA (Ahlquist, 1948). Posteriormente se confirmó la existencia de estos receptores por la elaboración de fármacos antagonistas que bloquearon de manera selectiva las acciones α (ergotamina y fenoxibenzamina) o las β (dicloroisoprenalina y propranolol) (Meana y García-Sevilla, 1997).

Cuando el neurotransmisor se une al receptor β-adrenérgico se activa el sistema de la adenilato ciclasa que estimula la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) y la consiguiente activación de la proteín-cinasa AMPc-dependiente

(proteín-cinasa A, PKA), la cual se encarga de fosforilar otras proteínas intracelulares que desencadenan una función biológica (Meana y García-Sevilla, 1997).

El α-receptor está acoplado a la proteína G y asociado al sistema de la fosfolipasa C, situado en la membrana celular, que induce la formación de dos moduladores: el inositoltrifosfato (IP_3) y el diacilglicerol (DAG). La respuesta molecular se caracteriza principalmente por el aumento y la movilización de Ca^{2+} intracelular (Meana y García-Sevilla, 1997).

Otra de las vías de señalización intracelular que se activa al unirse NA al receptor α, se asocia con la inhibición de la adenilato ciclasa y la reducción de la concentración del AMPc. Su acción, por lo tanto, es contraria a la provocada por la activación de los receptores β, por lo que, las respuestas fisiológicas son opuestas (Meana y García-Sevilla, 1997).

Con el uso de agonistas y antagonistas de los receptores adrenérgicos, así como de análisis inmunohistoquímicos, se ha mostrado que los receptores α y β-adrenérgicos están presentes en el cúmulus oophorus, en células de la teca de los folículos maduros, cuerpo lúteo y tejido intersticial; en estos tres últimos se localizan principalmente en las células que rodean a los vasos sanguíneos (Itoh y Ishizuka, 2005).

Por medio de estudios en rata se ha mostrado que la expresión de los receptores adrenérgicos en el ovario dependen de la edad del animal y de la etapa del ciclo estral (Jordan, 1981; Aguado *et al.,* 1982; Ferruz *et al.*, 1991), la cual es mayor en la etapa del Proestro (Jordan, 1981; Ferruz *et al.*, 1991).

Regulación de la foliculogénesis

Los folículos primordiales comienzan su crecimiento a un ritmo relativamente constante, independientemente de la etapa del ciclo estral. El número total de folículos en crecimiento de tamaño pequeño (350-449 µ) y mediano (450-549 µ) no fluctúa a lo largo del ciclo, sin embargo, el número y tamaño de los folículos grandes (más de 650 µ) sí varía a lo largo de éste (Mandl y Zuckerman, 1952).

Los primeros folículos que comienzan a crecer son aquellos ubicados cerca del hilio ovárico (Hirshfield y Midgley, 1978), la cual es la primera región que presenta inervación durante la vida fetal (día 19), por lo que se ha concluido que la inervación del ovario es un evento fetal que antecede la iniciación postnatal de la foliculogénesis. Algunas de esas fibras son de tipo catecolaminérgico ya que se ha evidenciado la presencia de TH, enzima que participa en la síntesis de catecolaminas (ver Anexo 1) (Malamed *et al*., 1992).

La estimulación de los receptores β-adrenérgicos induce la formación de AMPc en ovarios de ratas con 2 días de edad, lo que incrementa la concentración de ARNm que codifica para P-450 aromatasa y la formación de receptores a FSH. Así, la NA participa en el proceso de diferenciación por el cual los folículos recién formados adquieren los receptores a FSH y por ende la respuesta a la hormona (Domínguez *et al*., 2012).

Por lo tanto, las funciones ováricas están sujetas al control de las gonadotropinas a partir del final de la primera semana de vida postnatal (aproximadamente en el día 4) (Figura 11), ya que los receptores a gonadotropinas son detectados hasta ese momento (Schwartz, 1974; Peluso *et al*., 1976; Ben-Jonathan *et al*., 1984; Malamed *et al*., 1992).

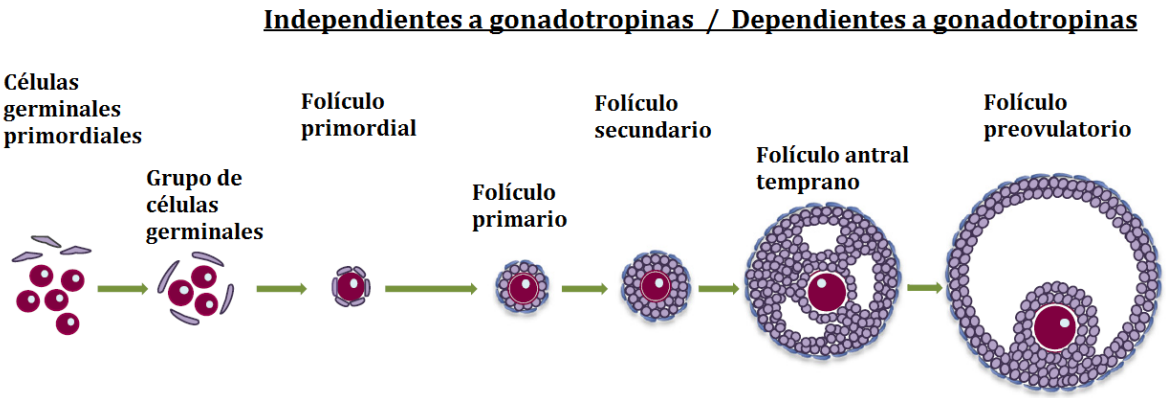


Figura 11. Representación esquemática del crecimiento y desarrollo folicular (Tomada y modificada de Sánchez y Smitz, 2012).

El ovocito de los folículos antrales posee receptores α-adrenérgicos, por lo que se propuso que la NA acumulada en el fluido folicular ovárico actúa directamente en él, quizá modulando la acción de las gonadotropinas en su maduración (Itoh e Ishizuka, 2005).

Regulación de la ovulación

Algunos de los primeros experimentos para mostrar que la inervación está involucrada en la regulación de la ovulación fue la utilización de fármacos adrenérgicos como la α-metil-para-tirosina (MPT) y la α-metil-meta-tirosina (MMT), inhibidores de la síntesis de catecolaminas y del agente bloqueador de los receptores α-adrenérgicos, la dibencilina (DB). El bloqueo de los receptores de tipo α o de la síntesis de catecolaminas en un tiempo crítico inhibe la ovulación y a pesar de ese bloqueo, la inyección de gonadotropinas, de AMPc dibutiril o de catecolaminas la restaura, por lo que los autores concluyeron que las catecolaminas participan en el proceso de ovulación (Bahr *et al*., 1974).

En otros estudios con ratas de 26 días de edad tratadas con gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y posteriores inyecciones de NA y terbutalina (β-agonista) en la bursa ovárica, se mostró que en el número de ovocitos liberados incrementó significativamente comparado con los ovarios del grupo control

inyectados únicamente con el vehículo, con base en esto se concluyó que la estimulación de receptores α y β-adrenérgicos interfiere en el proceso de ovulación (Kannisto *et al.,* 1985).

Mediante la técnica de inmunohistoquímica se mostró que las células de la teca externa contienen proteínas contráctiles (miosina y actina) (Walles *et al*., 1978) con lo cual se propuso que esta musculatura lisa está involucrada en la contracción de los folículos preovulatorios en el proceso de ovulación y que es estimulada por la NA al unirse a los receptores α (Walles *et al*., 1978; Itoh y Ishizuka, 2005). Además, se observó que la concentración de NA en los folículos preovulatorios es mucho mayor que en los cuerpos lúteos recién formados (Ben-Jonathan *et al*., 1982) y también se detectó inmunoreactividad a los receptores α-adrenérgicos en el epitelio germinal de la circunferencia de los folículos antrales (Figura 12). Con base en esto propusieron que los receptores de tipo α participan en la ruptura del folículo en la ovulación (Itoh y Ishizuka, 2005).

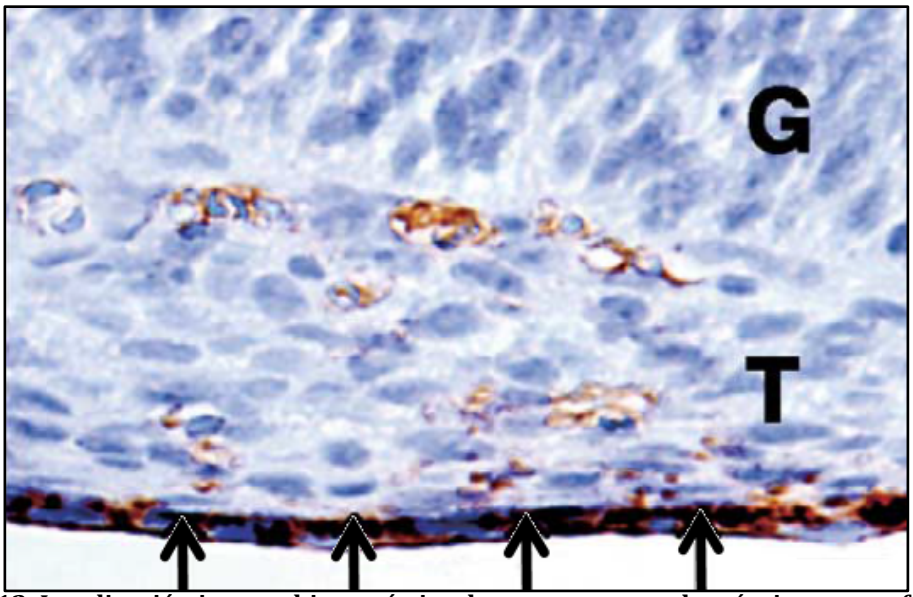


Figura 12. Localización inmunohistoquímica de receptores α-adrenérgicos en un folículo antral. G, células de la granulosa; T, células de la teca. Las flechas indican el epitelio germinal. La inmunoreactividad está indicada por la coloración café (Tomada y modificada de Itoh y Ishizuka, 2005).

Regulación de la esteroidogénesis

Aunque las gonadotropinas juegan un papel importante en la actividad secretora de la gónada, no son las únicas que afectan esta función vía la activación de mecanismos dependientes de AMPc, ya que la NA y el VIP estimulan la esteroidogénesis mediante dicha vía (Kliachko y Zor, 1981; Davoren y Hsueh, 1985).

Por medio del uso de agonistas y antagonistas de los receptores β-adrenérgicos, en tejido ovárico *in vitro* de ratas prepúberes se determinó que la NA al unirse a este tipo de receptores participa en la modulación de la producción de P_4 en las células de la granulosa y luteales (Ratner *et al*., 1980). Además, cuando se administra un agonista de los receptores β-adrenérgicos, el zinterol, se activan las enzimas que participan en la vía Δ^4 de la esteroidogénesis (Aguado *et al*., 1982).

Aguado y Ojeda (1984) mostraron que en la rata prepúber, la sección del NOS resulta en descenso de la concentración de NA acompañado por incremento casi al doble en el número de receptores β-adrenérgicos en el ovario, cuya afinidad es similar al del grupo control. También observaron que en células de la granulosa *in vitro* aumenta el número de receptores β-adrenérgicos, mientras que, cuando se adicionan diferentes concentraciones de catecolaminas al medio de cultivo se observó un decremento en el número de dichos receptores. Cuando a células preincubadas con FSH se les adiciona zinterol (β-agonista) incrementa la secreción de P_4, resultado que no ocurrió en ausencia de la gonadotropina.

Con base en esto, los autores propusieron que la hipersensibilidad es un efecto que adquiere el ovario después de la denervación, que la respuesta de las células esteroideas a las catecolaminas aumenta en los ovarios denervados y que bajo condiciones fisiológicas *in vivo*, el sistema adrenérgico modula las funciones ováricas del animal prepúber, ya que por un lado, las catecolaminas circulantes pueden incrementar la respuesta esteroidogénica ante concentraciones basales de gonadotropinas y por el otro lado, la inervación adrenérgica regula el número de receptores β funcionales en el ovario (Aguado y Ojeda, 1984).

Los resultados observados por Aguado y Ojada (1984) concuerdan con los mostrados por Kliachko y Zor (1981) donde células de la granulosa *in vitro* presentaron incremento en el número de receptores β-adrenérgicos, respuesta que propusieron se debió, en parte, a la pérdida del aporte adrenérgico.

En cultivos de células de la granulosa de ratas prepúberes, el zinterol no estimula la secreción de P_4 y E_2 por sí solo, sin embargo, la preincubación de estas células con FSH y la subsecuente exposición al zinterol resulta en incremento de la secreción de P_4, no así en la secreción de E_2; por lo que propusieron que entre las hormonas hipofisiarias directamente involucradas en la regulación del desarrollo ovárico prepuberal (como la LH, FSH y prolactina), sólo la FSH aunada a la estimulación de los β-receptores estimula la secreción de P_4 en las células de la granulosa (Aguado y Ojeda, 1986).

Se ha mostrado que, en la rata neonata, la sección bilateral del NOS resulta en: retraso en la canalización vaginal, interrupción en la ciclicidad estral, incremento en el número de cuerpos lúteos, descenso en las concentraciones séricas de FSH, prolactina y hormona del crecimiento; e incremento de E_2, con lo cual, se concluyó que la información transportada por el NOS en edades tempranas es fundamental en la regulación del desarrollo ovárico (Forneris y Aguado, 2002).

En ratas adultas, la inyección intracerebroventricular de un agonista de los receptores β-adrenérgicos (isoproterenol) en la etapa de Diestro-2 disminuye la concentración de P_4 ovárica, sin embargo, este efecto no se observó cuando se realizó la sección del NOS previa a la inyección. Cuando se inyectó el antagonista β-adrenérgico propranolol, la concentración de P_4 incrementó, efecto que nuevamente no se observó al seccionar el NOS. Estos resultados permitieron sugerir que el aporte de NA por el NOS es la principal señal neural que modula la secreción de P_4 al unirse a los receptores β-adrenérgicos (De Bortoli *et al*., 2002).

En células del cúmulus oophorus de folículos maduros, los receptores α-adrenérgicos modulan el efecto esteroidogénico de la NA, ya que se ha mostrado que ésta aumenta el flujo sanguíneo ovárico, probablemente abasteciendo a los sitios esteroidogénicos con suero derivado de lipoproteínas como una fuente de colesterol para la esteroidogénesis (Itoh e Ishizuka, 2005).

Por medio de la remoción del sistema Ganglio Celíaco-NOS-Ovario (GC-NOS-O), el cual se mantiene en compartimentos separados (uno para el ovario y otro para el ganglio, conectados por el NOS), se mostró que la actividad del ganglio es modificada por estímulos noradrenérgicos (tratamiento con agonistas y antagonistas) ya que resultó en diferentes perfiles de secreción de androstenediona en el ovario. Con lo cual se concluyó que el NOS es un modulador en este mecanismo homeostático (Bronzi *et al*., 2011).

Asimetrías

Existen evidencias de que la mayoría de los órganos endocrinos pares presentan diferentes respuestas entre el órgano izquierdo y derecho ante el mismo estímulo, esto se conoce como asimetría. Dichas diferencias, entre órganos izquierdo y derecho, pueden ser observadas en humanos y en animales; y son muy evidentes como consecuencia de condiciones patológicas o cuando los animales son sometidos a ciertos procedimientos experimentales (Domínguez *et al*., 2003).

Se sabe que las monoaminas en el cerebro participan en la regulación hipotalámica del eje hipófisis-ovario. La lesión derecha del locus coeruleus, producida por la inyección local de ácido kaínico, impide el desarrollo de la hipertrofia ovárica compensatoria independientemente del lado en que se haya realizado la ovariectomía.

La lesión neuroquímica del locus coeruleus izquierdo no afecta el crecimiento ovárico compensatorio. Con estos resultados se concluyó que existe una participación del

locus coeruleus derecho, y no el izquierdo, en la hipertrofia ovárica compensatoria de ambos ovarios (Gerendai y Halasz, 1997).

También se sabe que en la mitad derecha del hipotálamo medial basal hay mayor concentración de GnRH que en la mitad izquierda (Gerendai y Halasz, 1997).

En ratas cíclicas se ha observado que en el día del Estro, el ovario izquierdo libera un promedio de 6 ovocitos, mientras que el derecho libera sólo 4 (Domínguez *et al*., 2003). Asimismo, el tratamiento local con 6-hidroxidopamina (simpatectomía química) incrementa la masa del ovario contralateral, no así el del ipsilateral (Gerendai y Halasz, 1997).

En estudios con ratas adultas, la sección de alguno de los NOS resultó en la disminución o falta total de la ovulación por el ovario denervado, estos efectos variaron de acuerdo al día del ciclo estral en que se realizó la cirugía (Domínguez *et al*., 2003).

González (2010) al realizar la sección del NOS izquierdo (NOS-I) o derecho (NOS-D), así como ovariectomía izquierda (Oxv-I) o derecha (Ovx-D) a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata obtuvo una hora después (8:00 h), que el NOS izquierdo modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el porcentaje de animales ovulantes en Estro, Diestro-1 y Proestro; así como el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en Diestro-2 y Proestro, y por el ovario derecho en Diestro-1 y Proestro. Su participación es de tipo inhibitoria sobre el número de ovocitos liberados del ovario izquierdo en Estro y del ovario derecho en Diestro-2.

El NOS derecho modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el

ovario derecho en Estro y Diestro-1, y por el ovario izquierdo en Proestro. Su participación es de tipo inhibitorio sobre el número de ovocitos liberados por ambos ovarios en Diestro-2 (González, 2010).

La Oxv-I en Diestro-1 resultó en el bloqueo de la ovulación pero en Estro y Diestro-2 se obtuvo una cuota ovulatoria mayor, al igual que los animales con Ovx-D en Estro y Diestro-1 (González, 2010).

Al tomar todos los resultados, el autor sugirió que la participación del NOS, en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados en el Estro vaginal, varía con base en la etapa del ciclo estral, el nervio y el ovario en estudio (González, 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La secreción de hormonas esteroides y la liberación de ovocitos, además de estar reguladas por el eje neuroendocrino Hipotálamo-Hipófisis-Ovario, están moduladas por fibras sensoriales, simpáticas y parasimpáticas que llegan a la gónada.

El Nervio Ovárico Superior es la vía neural que aporta la mayor concentración de noradrenalina al ovario, cuando se une a los receptores adrenérgicos en los distintos compartimentos de la gónada modula la acción de las gonadotropinas sobre las funciones ováricas.

A la fecha se desconoce cuanta noradrenalina aporta el Nervio Ovárico Superior a cada ovario durante la mañana del ciclo estral de la rata adulta, si depende de la etapa del ciclo, del ovario analizado o de ambos. Por otra parte, se ha evidenciado que la extirpación de un ovario modifica los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación del ovario remanente, pero se desconoce si en esa respuesta participa la noradrenalina que transporta el Nervio Ovárico Superior a la gónada. Es por ello que en el presente estudio se analizó los efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior en la mañana (7:00 h) de cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la concentración de noradrenalina ovárica.

HIPÓTESIS

Se ha evidenciado en animales enteros o con ovariectomía unilateral que el Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h de cada etapa del ciclo estral modula la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación, lo que depende del nervio, del ovario *in situ* y de la etapa del ciclo estral. Ya que dicho nervio aporta la mayor fuente de noradrenalina a los ovarios, entonces su ausencia afectará la concentración de noradrenalina lo que dependerá del nervio, el ovario *in situ* y de la etapa del ciclo estral en estudio.

OBJETIVO

Analizar la participación del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral en el aporte de la concentración de noradrenalina en los ovarios de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se utilizaron ratas hembras de tres meses de edad, vírgenes y cíclicas de la cepa CIIZ-V. Los animales fueron mantenidos en una sala con condiciones controladas de temperatura de 22±1 °C y fotoperiodo de 14 horas de luz y 10 de obscuridad (luces encendidas de las 5:00 a las 19:00 h) con libre acceso a alimento y agua.

Se monitoreó el ciclo estral de las ratas mediante la toma de frotis vaginal diario y únicamente animales que mostraron dos ciclos consecutivos de cuatro días cada uno (Estro, Diestro-1, Diestro-2 y Proestro) fueron utilizados para realizar este estudio. Las intervenciones quirúrgicas se realizaron bajo anestesia con éter, de las 6:50 a las 7:10 h en las distintas etapas del ciclo estral.

Grupos experimentales (n=7)

I. Efecto de la sección del Nervio Ovárico Superior sobre la concentración de noradrenalina ovárica

Con el propósito de analizar la concentración de noradrenalina ovárica que aporta cada Nervio Ovárico Superior, a un grupo de ratas anestesiadas con éter se les realizó una incisión ventral horizontal un centímetro por debajo de la última costilla que incluyó piel, músculo y peritoneo. Mediante el uso de pinzas de disección se buscó y sujetó el ligamento suspensorio, sin manipular órganos, para exteriorizar el ovario e identificar el Nervio Ovárico Superior que se cortó un centímetro craneal a la gónada (Figura 13). El ovario se regresó a la cavidad, se suturó la herida y se colocó sobre ella yodo como antiséptico.

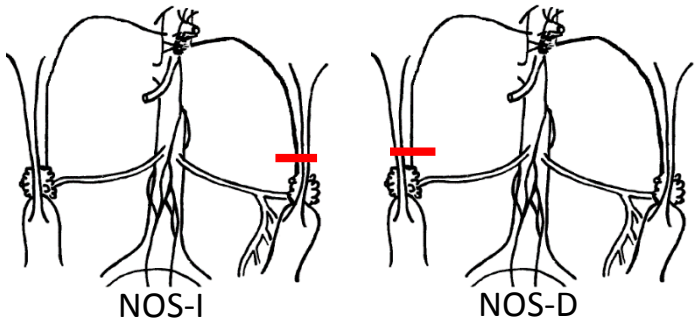


Figura 13. Representación esquemática de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior.

II. Efecto de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior seguida de la ovariectomía unilateral en la concentración de noradrenalina ovárica

Para conocer el aporte del Nervio Ovárico Superior en la concentración de noradrenalina ovárica en un animal con ovariectomía unilateral, a ratas anestesiadas con éter se les seccionó el Nervio Ovárico Superior izquierdo y enseguida se extirpó el ovario derecho (NOS-I+Ovx-D) y en otro grupo de ratas se seccionó el Nervio Ovárico Superior derecho y se extirpó el ovario izquierdo (NOS-D+Ovx-I) (Figura 14). Al finalizar se suturó la herida y se colocó sobre ella yodo como antiséptico.

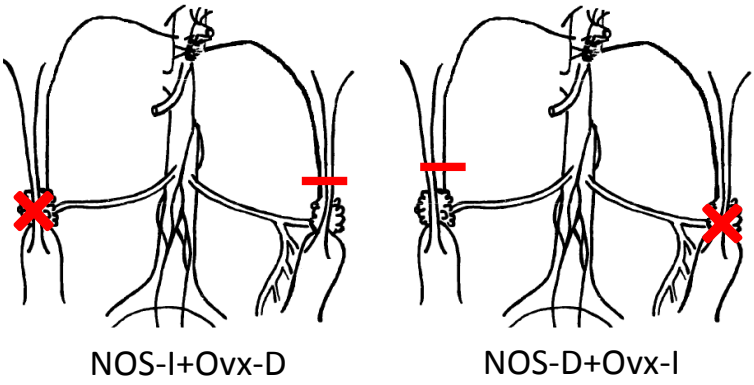


Figura 14. Representación esquemática de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior seguida de la Ovariectomía unilateral contralateral a la denervación.

Grupos de comparación:

a) Intactos: se utilizaron animales que sin ninguna manipulación, más que haberles tomado frotis vaginal diario, fueron sacrificados entre las 7:50 y las 8:10 h en cada etapa del ciclo estral.

b) Laparotomía: con el fin de distinguir entre el efecto de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior y de las vías nerviosas de la pared abdominal ocasionada por la incisión sobre la concentración de noradrenalina ovárica, se utilizaron animales en los que se realizó un corte ventral horizontal en piel, músculo y peritoneo un centímetro por debajo de la última costilla y sin tocar órganos se suturó la herida y se colocó sobre ella yodo como antiséptico.

c) Ovariectomía unilateral (Ovx-I y Ovx-D)

Con el propósito de conocer la concentración de noradrenalina que se localiza en el ovario remanente de los animales con ovariectomía unilateral, a un grupo de animales con previa 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*) (Figura 15). Al finalizar se suturó la herida y se colocó sobre ella yodo como antiséptico.

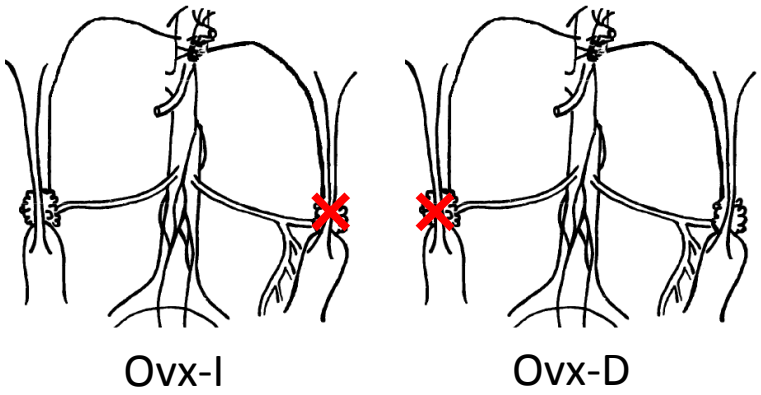


Figura 15. Representación esquemática de la Ovariectomía unilateral.

Procedimiento de sacrificio y autopsia

Una hora después de la cirugía (de las 7:50 a las 8:10 h) todos los animales fueron sacrificados por decapitación con guillotina.

Los ovarios fueron rápidamente removidos, diseccionados sobre una placa de hielo y almacenados a -70 °C hasta la cuantificación del neurotransmisor.

Cuantificación de noradrenalina ovárica

La cuantificación de la catecolamina presente en los ovarios se realizó por la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) modificada de Ayala *et al.,* (1998). Para ello, se pesó cada ovario en una balanza de precisión y se colocó en un tubo eppendorf de 1.5 mL. A cada tubo se le agregó 500 µL de ácido perclórico ($HCLO_4$) 0.1 N (Sigma Chemical Co., St Louis, MO, EUA) y se homogeneizó mediante sonicación en frío. Posteriormente, se centrifugó a 12 500 rpm a -4 °C durante 30 minutos y el sobrenadante se filtró a través de una membrana de celulosa (poro de 0.45 µm), este paso se realizó dos veces. Del extracto se introdujeron 20 µL en la válvula de inyección de HPLC.

El sistema de HPLC consistió en una bomba isocrática (Perkin Elmer, modelo LC-250), una válvula de inyección (Rheodyne, modelo 7125) con una capacidad de 20 µL y una columna de fase reversa C-18 (4.6 mm x 25 cm) con partícula esférica de 10 µm de diámetro (Perkin-Elmer) acoplada a un detector amperométrico (Bionalytical Systems, modelo LC-4C). Los datos fueron procesados por un integrador Nelson 1020 (Perkin-Elmer).

La fase móvil consistió de un buffer de citrato (0.1 M) (pH=3) con 100 mg de ácido 1-octanosulfónico y 0.005 g de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). La solución se filtró a través de una membrana de celulosa (poro de 0.22 µm) y fue

degaseada a vacío. Posteriormente, se agregó 7.5 mL de acetonitrilo y 7.6 mL de tetrahidrofurano (OmniSolve, EM Science, Canadá), con lo que se obtuvo un volumen total de 250 mL. La fase fue bombeada a una velocidad de 1.2 mL/min.

En el día de la cuantificación se utilizó una solución estándar de NA diluida en $HCLO_4$ 0.1 N y se preparó una curva de calibración con las siguientes concentraciones 0.1, 0.5 y 1 ng. Se aceptó un factor de calibración para cada uno de los estándares mayor o igual a 0.98. La sensibilidad del ensayo para el neurotransmisor estuvo por encima de 0.01 ng. La NA fue identificada por el tiempo de retención relativo. La concentración se expresó en nanogramos por miligramos de tejido (ng/mg de tejido).

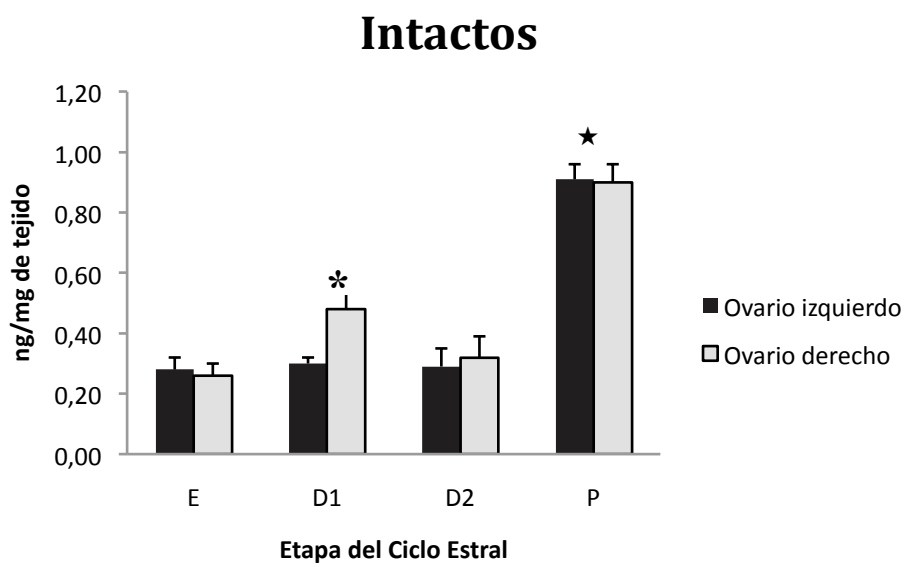
Análisis estadístico

La concentración de noradrenalina ovárica fue analizada con la prueba de "t" de Student. En todos los casos se consideraron significativas las diferencias menores o iguales a 0.05 ($p \leq 0.05$). El programa estadístico utilizado en todas las pruebas fue el GraphPad InStat versión 2.05 (GraphPad InStat Software, 2003). Los resultados fueron expresados como la media ± e.e.m. de la concentración de NA.

RESULTADOS

Animales Intactos

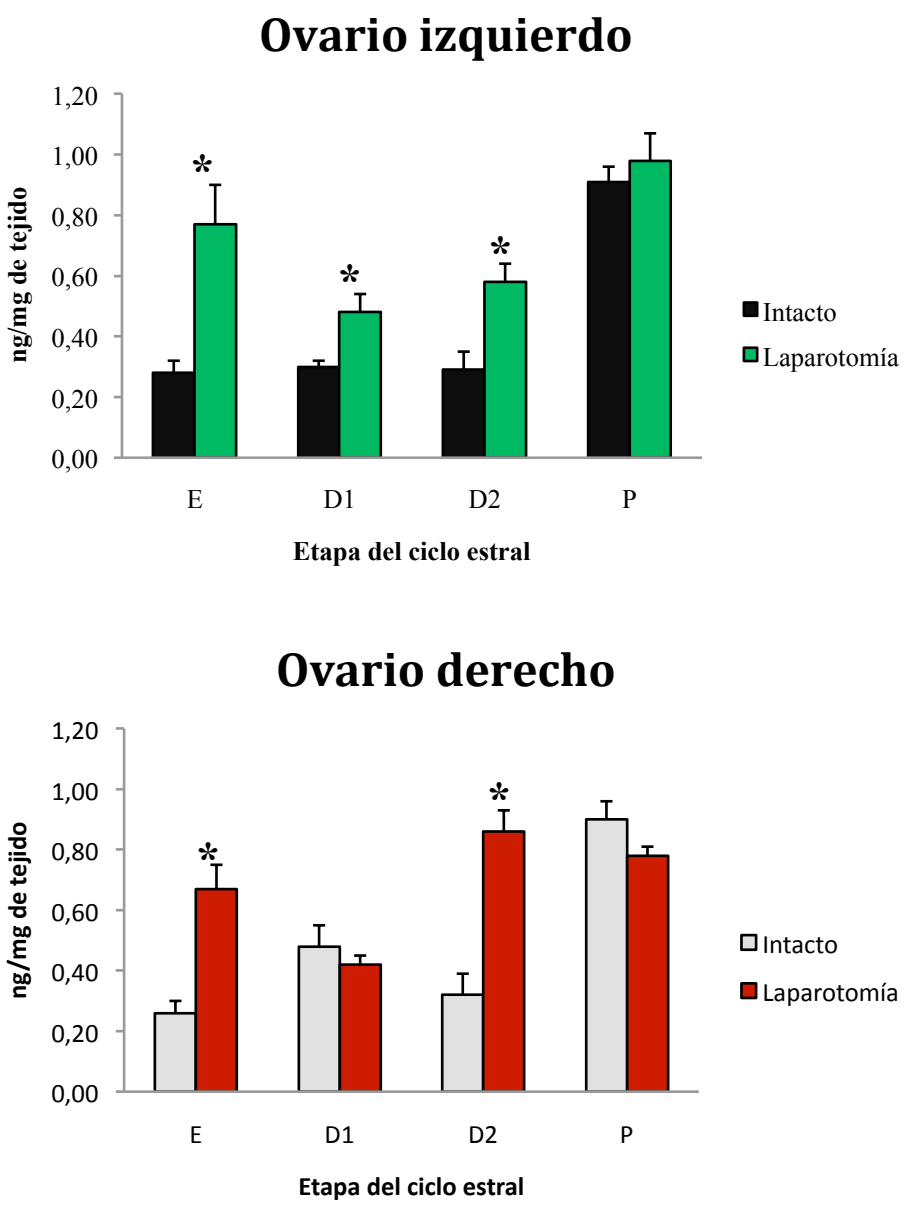
La concentración de noradrenalina en el ovario izquierdo y derecho de los animales intactos en las etapas de Estro y de diestro fue similar y sólo aumentó en la etapa de Proestro. En Diestro-1 la concentración de la catecolamina en el ovario derecho fue mayor que en el izquierdo (Gráfica 1).



Gráfica 1. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica en animales intactos en las diferentes etapas del ciclo estral. ★p<0.05 *vs.* Estro y los días de diestro, *p<0.05 *vs.* Ovario izquierdo

Animales con Laparotomía ventral

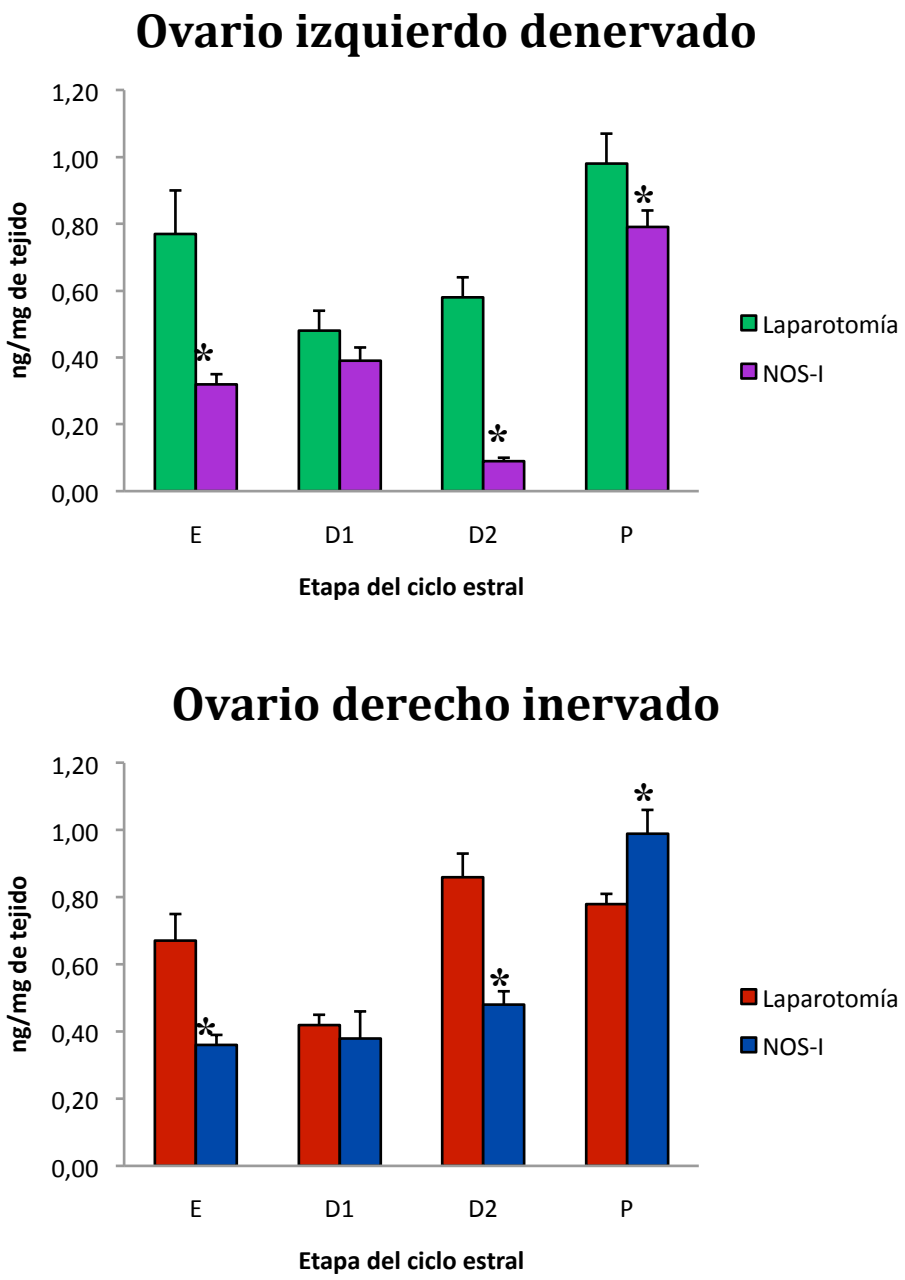
La laparotomía ventral realizada en las etapas de Estro y de diestro resultó en el aumento de la concentración de noradrenalina en la gónada izquierda (Gráfica 2), mientras que en la derecha se observó el mismo efecto sólo en Estro y Diestro-2, respecto al registrado en los animales intactos (Gráfica 2); en el día del Proestro no se presentaron cambios.



Gráfica 2. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. *p<0.05 *vs*. Intacto respectivo

Animales con sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo (NOS-I)

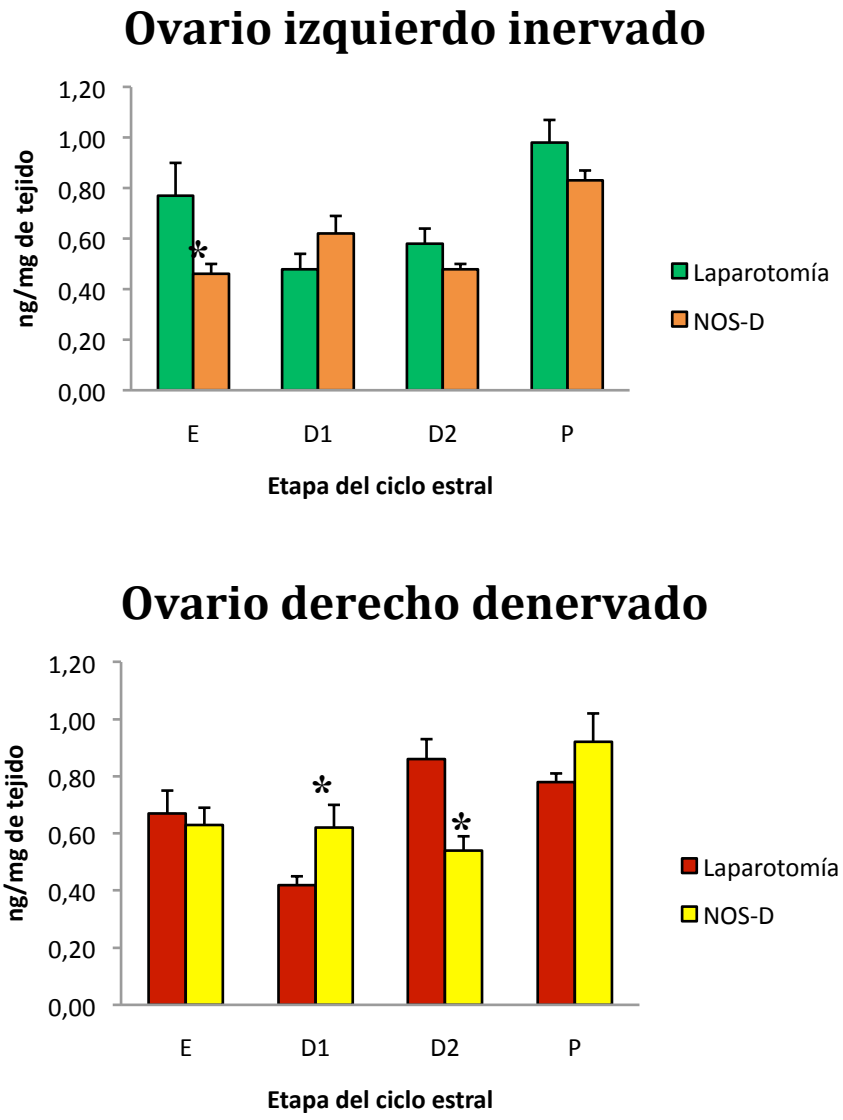
Los animales con sección del NOS-I en las etapas de Estro y Diestro-2 presentaron menor concentración de noradrenalina en ambos ovarios. Cuando se realizó en el día de Proestro, la concentración del neurotransmisor disminuyó en el ovario ipsilateral al nervio seccionado (ovario izquierdo) y aumentó en el contralateral (ovario derecho), respecto a lo observado en animales con laparotomía (Gráfica 3).



Gráfica 3. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. NOS-I=Nervio Ovárico Superior Izquierdo. *p<0.05 *vs*. Laparotomía ventral

Animales con sección del Nervio Ovárico Superior Derecho (NOS-D)

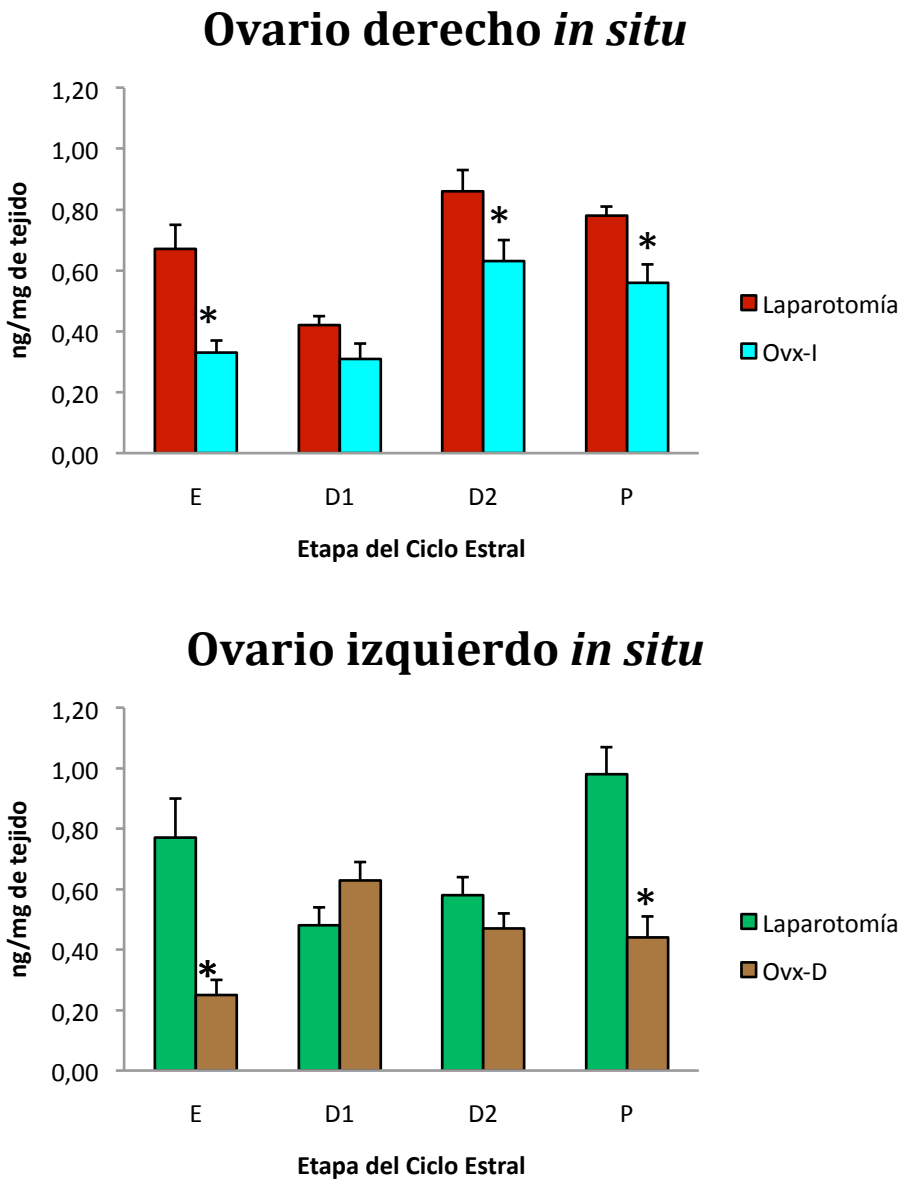
La concentración de noradrenalina ovárica en animales con sección del NOS-D en la etapa de Estro fue menor en el ovario contralateral a la denervación (ovario izquierdo) (Gráfica 4). A diferencia de ello, en el ovario ipsilateral a la sección del nervio (ovario derecho) se observó mayor concentración del neurotransmisor cuando ésta se realizó en Diestro-1 y se obtuvo lo contrario cuando se realizó en Diestro-2, respecto a la de animales con laparotomía ventral (Gráfica 4).



Gráfica 4. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. NOS-D=Nervio Ovárico Superior Derecho. *p<0.05 *vs*. Laparotomía ventral

Animales con Ovariectomía unilateral

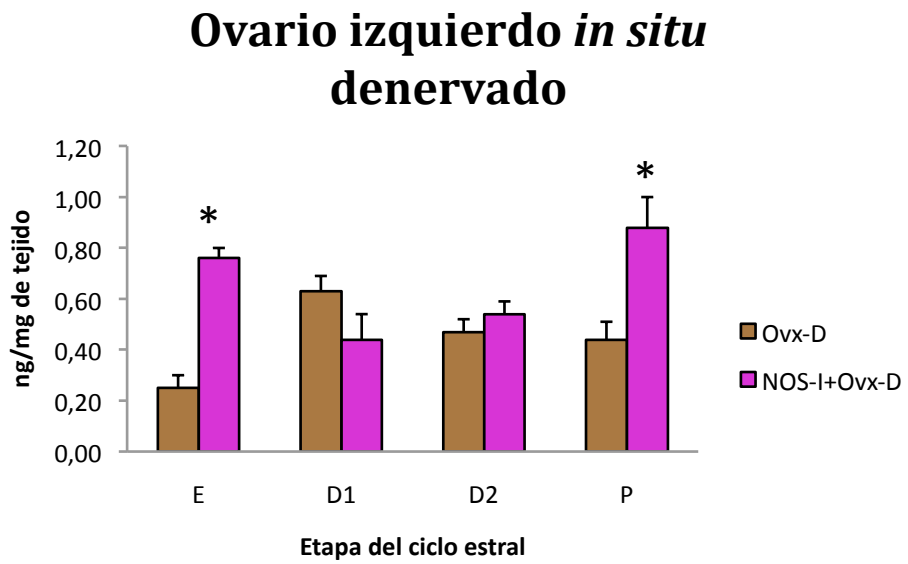
La extirpación de la gónada izquierda (Ovx-I, gónada derecha *in situ*) en las etapas de Estro, Diestro-2 y Proestro resultó en disminución de la concentración de la amina respecto a la del grupo con laparotomía ventral (Gráfica 5). Este resultado fue semejante en animales con Ovariectomía derecha (Ovx-D, gónada izquierda *in situ*) sólo en las etapas de Estro y Proestro (Gráfica 5).



Gráfica 5. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. Ovx-I=Ovariectomía Izquierda, Ovx-D=Ovariectomía Derecha. *p<0.05 *vs.* Laparotomía ventral

Animales con sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo y Ovariectomía Derecha (NOS-I+Ovx-D)

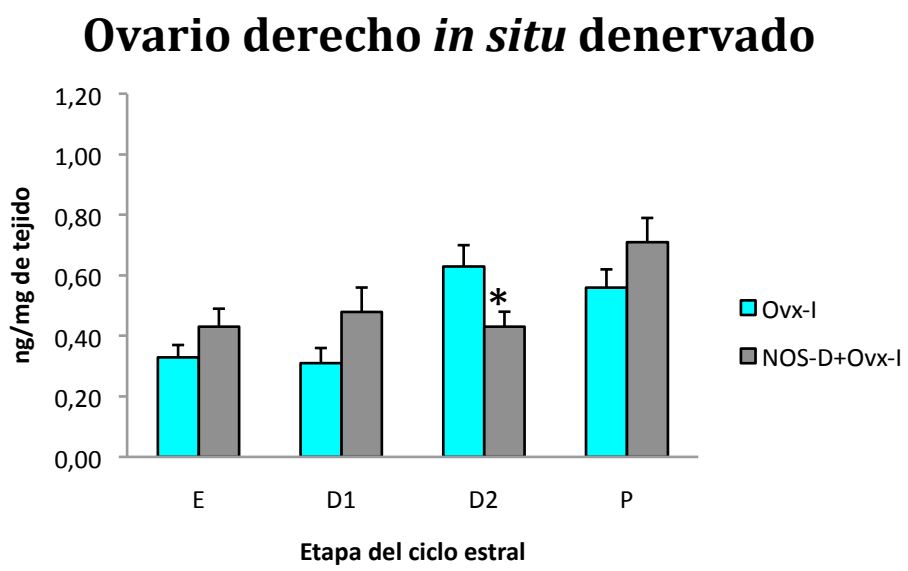
La sección del NOS-I seguida de la extirpación de la gónada derecha en las etapas de Estro y Proestro resultó en aumento de la concentración del neurotransmisor, respecto a la de los animales con Ovariectomía Derecha (Gráfica 6).



Gráfica 6. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. *p<0.05 *vs*. Ovx-D

Animales con sección del Nervio Ovárico Superior Derecho y Ovariectomía Izquierda (NOS-D+Ovx-I)

En los animales con el ovario derecho *in situ* denervado se observó menor concentración de noradrenalina cuando la sección del NOS-D se realizó en la etapa de Diestro-2, respecto al de los animales con Ovariectomía Izquierda (Gráfica 7).



Gráfica 7. Media ± e.e.m. de la concentración de noradrenalina ovárica. *p<0.05 *vs.* Ovx-I

ANÁLISIS DE RESULTADOS

La concentración de NA ovárica registrada en el grupo de animales intactos de este estudio concuerda con la obtenida por Wolf y colaboradores (1986) quienes al utilizar un sistema de perfusión para cuantificar catecolaminas en el ovario de ratas adultas también obtuvieron bajos niveles del neurotransmisor en las etapas de Estro y Diestro-2, e incremento en la etapa del Proestro. Ellos propusieron que los cambios en la concentración de NA ovárica se deben a la activación preovulatoria de las neuronas simpáticas noradrenérgicas del ovario lo que podría regular la maduración folicular y la ovulación.

Haywood y colaboradores (1999) mencionan que el aumento de la NA ovárica observado en Proestro puede ser resultado de la activación estrogénica de las neuronas simpáticas que inervan los ovarios, ya que observaron que la expresión de los receptores a estrógenos α (ERα) y a P_4 en las neuronas noradrenérgicas del grupo celular A2 fluctúan durante el ciclo estral, con incremento significativo en la mañana del Proestro. Con base en ello, propusieron que los cambios en la expresión de los receptores a esteroides gonadales en las neuronas noradrenérgicas del grupo celular A2 pueden representar eventos moleculares que muestran la capacidad de los estrógenos y la P_4 de alterar la transmisión noradrenérgica en el hipotálamo y en las diferentes áreas del cerebro.

En el ovario se ha mostrado que la concentración de los receptores β-adrenérgicos varía a lo largo del ciclo estral de la rata adulta; durante el Proestro está elevada (268±13 fmoles/mg de proteína), por la mañana del Estro disminuye a un 50% (135±10 fmoles/mg de proteína), seguido de un incremento en el Diestro-1; la concentración de receptores permanece igual del Diestro-1 al Diestro-2 (Jordan, 1981; Ferruz *et al.,* 1991), lo que implica que la NA en el ovario (de origen neural o adrenal) puede estar involucrada en las funciones de la gónada.

En apoyo a dicha idea, se ha evidenciado que el periodo preovulatorio del ciclo estral está caracterizado por aumento en la sensibilidad de los folículos ováricos a las gonadotropinas. La NA, además de modular la respuesta de las células de la teca y de la granulosa a la FSH y la LH, participa en los mecanismos que regulan el crecimiento y la diferenciación folicular, así como la ovulación (Domínguez *et al.,* 1991).

En ratas hembras la inyección de un marcador retrógrado (True Blue) en la bursa ovárica derecha o izquierda resulta en un marcado positivo de las neuronas del GCMS cuatro días después de la aplicación del trazador. El número de células aumenta desde el Diestro-1 hasta el Proestro y Estro. La inyección del trazador en el ovario izquierdo da como resultado la aparición de neuronas marcadas en el GCMS izquierdo y derecho, mientras que la inyección en la bursa derecha muestra células positivas al marcador sólo en el GCMS ipsilateral. Los autores sugirieron que ganglio izquierdo como el derecho reciben información del ovario izquierdo, mientras que el ovario derecho se comunica sólo con el ganglio ipsilateral (Morán et al., 2005).

Ya que los cambios cíclicos en el número de receptores β-adrenérgicos en el ovario y de neuronas activas del GCMS concuerdan con los cambios agudos en las concentraciones de NA ovárica obtenidos, sugerimos que el incremento en el número de células activas que contienen y liberan NA al ovario explicaría el aumento en la concentración de la catecolamina. Es de esperarse que las gónadas se hiper-sensibilicen, con el aumento de los receptores adrenérgicos hacia el Proestro debido a la participación de la NA en el proceso preovulatorio.

Se ha mostrado que entre los órganos pares existen asimetrías morfológicas, bioquímicas y funcionales que dependen de la inervación que llega a cada uno de ellos (Domínguez *et al.,* 2003). El equipo de Tóth (2007) mostró que las conexiones neurales entre el ovario izquierdo y estructuras del SNC (como el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del vago, los grupos celulares noradrenérgicos A1 y A5, el locus coeruleus, el núcleo rafé caudal, el núcleo paraventricular hipotalámico y el

hipotálamo lateral, entre otras), son más abundantes que aquellas entre estos grupos celulares y el ovario derecho, lo que puede explicar que el ovario izquierdo de las ratas adultas libera más ovocitos que el derecho (Domínguez *et al.,* 2003). Sin embargo, en nuestro estudio no tenemos un sustento para explicar que en Diestro-1 la concentración de NA en el ovario derecho fue mayor que en el izquierdo.

El aumento en la concentración de NA ovárica en los animales sometidos a laparotomía ventral en la mayoría de las etapas del ciclo estral (Estro, Diestro-1 y Diestro-2) podría ser resultado de la activación de sistemas de respuesta a factores estresantes inducido por la sección de la inervación que llega al peritoneo. Éste es una membrana serosa, extensa y húmeda que reviste la cavidad abdominal y cubre los órganos situados en ella, incluyendo la mayoría de los órganos digestivos. En el peritoneo de la pared abdominal se distribuyen nervios aferentes de los cuales la mayoría se originan en el ganglio de la raíz dorsal entre los niveles torácico-1 y lumbar-4, y otros cuantos del ganglio nodoso (por debajo del diafragma) (Tanaka *et al.,* 2002). Con base en dicha información proponemos que la estimulación nerviosa causada por la incisión del peritoneo, así como de la piel y el músculo, activó los sistemas de respuesta ante dichos factores estresores.

Asimismo, se ha evidenciado que el equilibrio dinámico interno, conocido como homeostasis, constantemente es desafiado por fuerzas adversas intrínsecas o extrínsecas o factores estresantes. El equilibrio se restablece por una serie de respuestas de adaptación fisiológicas y conductuales que son el resultado de la integración de una diversidad de señales que activan distintas vías neurales centrales. La capacidad del cerebro para movilizar la respuesta da como resultado la activación de la secreción de vasopresina, hormona liberadora de corticotropina (CRH, por sus siglas en inglés) y del sistema noradrenérgico en el locus coeruleus (Ferin, 2006).

El eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y el SNC son los sistemas efectores que regulan la homeostasis en el organismo durante la exposición a estímulos estresores (Axelrod y Reisine, 1984; Pacak *et al.,* 1995). Los componentes centrales están

localizados en el hipotálamo y en el tronco cerebral e incluyen neuronas del núcleo paraventricular del hipotálamo, neuronas CRH de los núcleos paragigantocelular y parabranquial de la médula y el locus coeruleus, así como otros grupos celulares principalmente noradrenérgicos en el bulbo raquídeo y la protuberancia (Pacak *et al.,* 1995).

Se ha evidenciado que la inhalación de éter activa al sistema noradrenérgico central (Mermet y Gonon, 1988). El sistema nervioso simpático también responde a los factores estresantes y es una parte integral de la respuesta al estrés. Un área especialmente relevante que se estimula ante los factores estresantes es el locus coeruleus que da lugar a vías eferentes que proporcionan una fuente importante de noradrenalina en el cerebro, incluyendo el hipotálamo y el núcleo paraventricular, el cual se encuentra densamente inervado por fibras adrenérgicas y noradrenérgicas y contiene receptores adrenérgicos (Ferin, 2006).

La actividad de estos sistemas resulta en: la descarga de adrenalina y NA hacia el torrente sanguíneo, cambios en la actividad de las enzimas que participan en su síntesis, al igual que en las concentraciones de estas aminas en el cerebro. La actividad de TH incrementa considerablemente en respuesta a algún estímulo de estrés y esta actividad parece ser de origen neural y no así del eje hipófisis-adrenal (Axelrod y Reisine, 1984). La fuente principal de la NA que llega a los ovarios (mediante el NOS) es de SNC, lo que explicaría el aumento en la concentración de este neurotransmisor.

La disminución en la concentración de NA del ovario izquierdo denervado en los animales con sección del NOS izquierdo en las etapas del Estro y Diestro-2 hace evidente que el NOS izquierdo aporta la mayor parte del neurotransmisor a dicho ovario. Resultados similares fueron observados por Lawrence y Burden (1980) y Aguado y Ojeda (1984) cuando mostraron que después de la sección del nervio, la concentración de la catecolamina ovárica disminuyó significativamente sin importar la edad del animal. En contraste, en la etapa del Proestro la amina proviene principalmente del NPO, la médula adrenal o ambos; aunada a la del NOS.

La reducción de la concentración de NA en el ovario derecho después de la sección del NOS izquierdo en las etapas de Estro y Diestro-2, puede ser explicada por una posible comunicación neural entre los ovarios, hipótesis que ha sido planteada por otros autores en los cuales proponen que esta comunicación nerviosa es unidireccional (del ovario izquierdo al derecho) (Chávez *et al.,* 1994; Domínguez *et al.,* 1998). Asimismo, esto se apoya con la propuesta de Morán y colaboradores (2005) en que el ovario izquierdo envía una señal hacia la columna celular intermediolateral por los nervios simpáticos y llega al derecho por medio del NOS.

Al parecer en la etapa de Diestro-1 la falta de una conexión neural (NOS) entre el ovario izquierdo y el GCMS, no afecta la concentración de NA en ningún ovario. Con base en esto, se sugiere que el origen de NA en esta etapa del ciclo estral es de los propios ovarios, de las fibras noradrenérgicas que se localizan en el NPO, de la médula adrenal o de las tres fuentes.

El hecho de que en los animales con sección del NOS-D, la concentración de NA en el ovario ipsilateral denervado disminuyó sólo en la etapa de Diestro-2, nos sugiere que la amina proviene del NPO, de la médula adrenal o de ambas, además del NOS; mientras que el NOS en las etapas del Estro y Proestro no participa en el aporte del neurotransmisor. El resultado observado en la etapa de Diestro-1 nos permite sugerir que la NA sólo proviene del NPO, de la médula adrenal o de ambos.

La extirpación de un ovario produce estimulación neural aguda de los nervios que llegan al ovario *in situ* y modifica la sensibilidad de las células endocrinas a las señales hormonales. La sección de algún nervio extrínseco ovárico causa estimulación neural aguda sobre el ovario denervado y las áreas del SNC con conexiones neurales a las gónadas (Domínguez y Cruz-Morales, 2011). Esto explicaría el incremento de NA en el grupo de NOS-I+Ovx-D, en Estro y Proestro, ya que la estimulación provocada sobre el ovario *in situ* (por la extirpación del ovario contralateral) y a pesar de que éste está denervado, llega a él por las otras dos vías posibles, el NPO, el Nv o por

ambos. Esta respuesta es diferente en los animales con NOS-D+Ovx-I en Diestro-2 donde se observó disminución de la amina, por lo que se sugiere que la concentración de noradrenalina ovárica es regulada por información nerviosa que se origina en el ovario contralateral y depende de la integridad del NOS.

CONCLUSIONES

En la rata adulta sólo en la etapa de Diestro-1, la concentración de noradrenalina es asimétrica entre el ovario izquierdo y derecho, mientras que en las demás etapas ambos ovarios tienen la misma concentración.

La participación de cada Nervio Ovárico Superior en el aporte de la concentración de noradrenalina ovárica varía a lo largo del ciclo estral, con una mayor concentración en la etapa del Proestro.

El aporte noradrenérgico de cada Nervio Ovárico Superior a los ovarios es principalmente ipsilateral.

BIBLIOGRAFÍA

Abell CW. 1986. Synthesis, function and degradation of catecholamine neurotransmitters. Progress in Brain Research, 65:139-152.

Aguado LI, Ojeda SR. 1984. Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. Endocrinology, 114(5):1845-1853.

Aguado LI, Ojeda SR. 1986. Prepubertal rat ovary: hormonal modulation of beta-adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. Biology of Reproduction, 34(1):45-50.

Aguado LI, Petrovic SL, Ojeda SR. 1982. Ovarian β-adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. Endocrinology, 110(4):1124-1132.

Ahlquist RP. 1948. A study of the adrenotropic receptors. American Journal of Physiology, 153(3):586-600.

Axelrod J, Reisine TD. 1984. Stress hormones: Their interaction and regulation. Science, 224:452-459.

Ayala ME, Monroy J, Morales L, Castro ME, Domínguez R. 1998. Effects of a lesion in the dorsal raphe nuclei performed during the juvenile period of the rat, on puberty. Brain Research Bulletin, 47(3):211-218.

Bahr J, Kao L, Nalbandov AV. 1974. The role of catecholamines and nerves in ovulation. Biology of Reproduction, 10(2):273-290.

Ben-Jonathan N, Arbogast LA, Rhoades TA, Bahr JM. 1984. Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and *de novo* synthesis. Endocrinology, 115(4):1426-1431.

Ben-Jonathan N, Braw RH, Laufer N, Reich R, Bahr JM, Tsafriri A. 1982. Norepinephrine in Graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. Endocrinology, 110(2):457-461.

Berthoud HR, Powley TL. 1996. Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia: morphological evidence for vagal efferent

innervation of ganglion cells in the rat. Microscopy Research and Technique, 35(1):80-86.

Bliss SP, Navratil AM, Xie J, Roberson MS. 2010. GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. Frontiers in Neuroendocrinology, 31(3):322-340.

Bronzi D, Orozco AV, Delgado SM, Casais M, Rastrilla AM, Sosa ZY. 2011. Modulation of the noradrenergic activity index by neural stimulus, and its participation in ovarian androstenedione release during the luteal phase. Fertility and Sterility, 95(4):1211-1216.

Burden HW. 1972. Adrenergic innervation in ovaries of the rat and guinea pig. American Journal of Anatomy, 133(4):455-461.

Caravaca R, Castiel G, Guzmán G, Delgado P, Mena G, Alcalde A, Gonzales R. 2003. Bases de la Reproducción Animal. RC IMPRESORES S.C.A. España. p. 66.

Carlsson A, Falck B, Fuxe K, Hillarp NA. 1964. Cellular localization of monoamines in the spinal cord. Acta Physiologica Scandinavica, 60:112-119.

Chávez R, Morales L, González ME, Domínguez R. 1994. Ovarian norepinephrine content in prepubertal rats with superior ovarian nerve section: temporal studies. Medical Science Research, 22:789-790.

Chedrese J. 2003. Regulación autocrina y paracrina del desarrollo folicular: efecto de los esteroides. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 16:171-182.

Condé GL, Bicknell RJ, Herbison AE. 1995. Changing patterns of Fos expression in brainstem catecholaminergic neurons during the rat oestrous cycle. Brain Research, 672(1-2):68-76.

Condé GL, Herbison AE, Fernandez-Galaz C, Bicknell RJ. 1996. Estrogen uncouples noradrenergic activation of Fos expression in the female rat preoptic area. Brain Research, 735(2):197-207.

Davoren JB, Hsueh AJ. 1985. Vasoactive intestinal peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. Biology of Reproduction, 33(1):37-52.

De Bortoli MA, Garraza MH, Aguado LI. 2002. Involvement of beta-adrenoceptors in a central regulation of the ovarian progesterone release in rats. Neuro Endocrinology Letters, 23(1):27-31.

Dissen GA, Ojeda SR. 1999. Ovarian innervation. p. 583-589. In: Knobil E, Neill JD. (eds.) Encyclopedia of Reproduction. Vol. 3. Academic Press, USA.

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

Domínguez R, Cruz ME, Morán C. 1998. Differential effects of ovarian local anaesthesia during pro-oestrus on ovulation by the right or left ovary in normal and hemi-ovariectomized adult rats. Journal of Reproduction and Fertility, 113(2):185-190.

Domínguez R, Cruz-Morales SE. 2011. The ovarian innervation participates in the regulation of ovarian functions. Endocrinology and Metabolic Syndrome, S4:001. doi:10.4172/2161-1017.S4-001.

Domínguez R, Flores A, Cruz-Morales SE. 2012. Hormonal and neural mechanisms regulating hormone steroids secretion. p. 3-34. *In:* Steroids – Basic Science. Abduljabbar H. (ed.). InTech.

Domínguez R, Morales L, Cruz ME. 2003. Ovarian asymmetry. Annual Review of Biomedical Sciences, 5:95-104.

Ferin M. 2006. Stress and the reproductive system. Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Ed. 3a. p. 2627-2696.

Ferruz J, Barria A, Galleguillos X, Lara HE. 1991. Release of norepinephrine from the rat ovary: local modulation of gonadotropins. Biology of Reproduction, 45(4):592-597.

Forneris ML, Aguado LI. 2002. Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 82(1):75-82.

Ganong W. 2006. Fisiología Médica. 20ª ed. Ed. El Manual Moderno. México. p. 222-223, 236, 373, 397, 411-412 y 417.

Gerendai I, Halász B. 1997. Neuroendocrine Asymmetry. Frontiers in Neuroendocrinology, 18:354-381.

Gerendai I, Kocsis K, Halász B. 2002. Supraespinal connections of the ovary: structural and functional aspects. Microscopy Research and Technique, 59(6):474-483.

Gerendai I, Tóth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I, Halász B. 1998. Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. Neuroendocrinology, 68(4):244-256.

Gerendai I. 2004. New data on the neural control of gonadal functions. Supraespinal innervation of the gonads. Timisoara Medical Journal, 54(3):218-224.

González LE. 2010. Respuesta ovulatoria en ratas con denervación simpática a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral. Servicio Social de la Carrera de Biología, No. de clave: 2010-12/48-222.

Goridis C, Rohrer H. 2002. Specification of catecholaminergic and serotonergic neurons. Nature Reviews Neuroscience, 3(7):531-541.

GraphPad InStat Software. 2003. GraphPad InStat version 2.05 para Windows 95. USA.

Haywood SA, Simonian SX, van der Beek EM, Bicknell RJ, Herbison AE. 1999. Fluctuating estrogen and progesterone receptor expression in brainstem norepinephrine neurons through the rat estrous cycle. Endocrinology, 140(7):3255-3263.

Herbison AE. 1997. Noradrenergic regulation of cyclic GnRH secretion. Reviews of Reproduction, 2(1):1-6.

Heritage AS, Grant LD, Stumpf WE. 1977. ^{3}H estradiol in catecholamine neurons of rat brain stem: combined localization by autoradiography and formaldehyde-induced fluorescence. Journal of Comparative Neurology, 176(4):607-630.

Hirshfield AN, Midgley AR Jr. 1978. Morphometric analysis of follicular development in the rat. Biology of Reproduction, 19(3):597-605.

Hyyppä M. 1969. A histochemical study of the primary catecholamines in the hypothalamic neurons of the rat in relation to the ontogenetic and sexual differentiation. Zeitschrift für Zellforschung und Mikrokopische Anatomie, 98(4):550-560.

Itoh MT, Ishizuka B. 2005. α_1-Adrenergic receptor in rat ovary: presence and localization. Molecular and Cellular Endocrinology, 240(1-2):58-63.

Jennes L, Jennes ME, Purvis C, Nees M. 1992. C-fos expression in noradrenergic A2 neurons of the rat during the estrous cycle and after steroid hormone treatments. Brain Research, 586(1):171-175.

Jordan AW. 1981. Changes in ovarian β-adrenergic receptors during the estrous cycle of the rat. Biology of Reproduction, 24(2):245-248.

Kaba H, Saito H, Otsuka K, Seto K, Kamakami M. 1983. Effects of estrogen on the excitability of neurons projecting from the noradrenergic A1 region to the preoptic and anterior hypothalamic area. Brain Research, 274(1):156-159.

Kannisto P, Owman C, Walles B. 1985. Involvement of local adrenergic receptors in the process of ovulation in gonadotrophin-primed immature rats. Journal of Reproduction and Fertility, 75(2):357-362.

Klein CM, Burden HW. 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. Neuroscience Letters, 85(2):217-222.

Kliachko S, Zor U. 1981. Increase in catecholamine-stimulated cyclic AMP and progesterone synthesis in rat granulosa cells during culture. Molecular and Cellular Endocrinology, 23(1):23-32.

Lawrence IE Jr, Burden HW. 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. Anatomical Record, 196(1):51-59.

Lee A, Talley E, Rosin DL, Lynch KR. 1995. Characterization of alpha 2A-adrenergic receptors in GT1 neurosecretory cells. Neuroendocrinology, 62(3):215-225.

Leung PC, Whitmoyer DI, Sawyer CH. 1982. Electrophysiologic correlates of steroid modulation of luteinizing hormone release. American Journal of Physiology, 242(3):E164-170.

Liaw JJ, He JR, Hartman RD, Barraclough CA. 1992. Changes in tyrosine hydroxylase mRNA levels in medullary A1 and A2 neurons and locus coeruleus following castration and estrogen replacement in rats. Brain Research, 13(3):231-238.

Loewy AD. 1981. Descending pathways to sympathetic and parasympathetic preganglionic neurons. Journal of the Autonomic Nervous System, 3(2-4):265-275.

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

Mandl AM, Zuckerman S. 1952. Cyclical changes in the number of medium and large follicles in the adult rat ovary. Journal of Endocrinology, 8(4):341-346.

Meana JJ, García-Sevilla JA. 1997. Transmisión catecolaminérgica. Fármacos agonistas catecolaminérgicos. p. 235-260. *En:* Farmacología humana. Flórez J. (Ed). 3a ed. Ed. Masson, S.A. España.

Mestre C. 2012. Hormonas sexuales. [en línea] Disponible en www.reproduccionasistida.org/hormonas-sexuales/ (revisado el 2 de febrero del 2014).

Mermet CC, Gonon FG. 1988. Ether stress stimulates noradrenaline release in the hypothalamic paraventricular nucleus. Neuroendocrinology, 47(1):75-82.

Moore RY, Bloom FE. 1979. Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. Annual Review of Neuroscience, 2:113-168.

Morán C, Franco A, Morán JL, Handal A, Morales L, Domínguez R. 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. Endocrine, 26(2):147-152.

Morimoto K, Okamura H, Tanaka C. 1982. Developmental and periovulatory changes of ovarian norepinephrine in the rat. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 143(4):389-392.

Nagatsu T, Levitt M, Udenfriend S. 1964. Tyrosine hydroxylase. The initial step in norepinephrine biosynthesis. Journal of Biological Chemistry, 239:2910-2917.

Olson L, Seiger A. 1972. Early prenatal ontogeny of central monoamine neurons in the rat: fluorescence histochemical observations. Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte, 137(3):301-316.

Pacak K, Palkovits M, Kopin IJ, Goldstein DS. 1995. Stress-induced norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus and pituitary-adrenocortical and sympathoadrenal activity: *in vivo* microdialysis studies. Frontiers in Neuroendocrinology, 16(2):89-150.

Peaston RT, Weinkove C. 2004. Measurement of catecholamines and their metabolites. Annals of Clinical Biochemistry, 41(1):17-38.

Peluso JJ, Steger RW, Hafez ES. 1976. Development of gonadotrophin-binding sites in the immature rat ovary. Journal of Reproduction and Fertility, 47(1):55-58.

Prieto-Gómez B, Velázquez-Paniagua M. 2002. Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. Revista de la Facultad de Medicina UNAM, 45(6):252-257.

Rajaofetra N, Poulat P, Marlier L, Geffard M, Privat A. 1992. Pre- and postnatal development of noradrenergic projections to the rat spinal cord: an immunocytochemical study. Brain Research. Developmental Brain Research, 67(2):237-246.

Ratner A, Sanborn CR, Weiss GK. 1980. Beta-adrenergic stimulation of cAMP and progesterone in rat ovarian tissue. American Journal of Physiology, 239(2):E139-143.

Ricu M, Paredes A, Greiner M, Ojeda SR, Lara HE. 2008. Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. Endocrinology, 149(1):50-56.

Roth RH, Stjärne L, von Euler US. 1967. Factors influencing the rate of norepinephrine biosynthesis in nerve tissue. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 158(3):373-377.

Sánchez F, Smitz J. 2012. Molecular control of oogenesis. Biochimica et Biophysica Acta, 1822(12):1896-1912.

Santiago ML. 2010. Concentración sérica de 17 β-estradiol en respuesta a la denervación simpática a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta. Servicio Social de la Carrera de Biología. No. de clave: 2010-12/48-222.

Schwartz NB. 1974. The role of FSH and LH and their antibodies on follicle growth and on ovulation. Biology of Reproduction, 10(2):236-272.

Tanaka K, Matsugami T, Chiba T. 2002. The origin of sensory innervation of the peritoneum in the rat. Anatomy and Embryology, 205(4):307-313.

Tóth IE, Banczerowski P, Boldogkoi Z, Tóth JS, Szabó A, Halász B, Gerendai I. 2008. Cerebral neurons involved in the innervation of both the adrenal gland and the ovary: a double viral tracing study. Brain Research Bulletin, 77(5):306-311.

Tóth IE, Boldogkoi Z, Bálint K, Tapaszti Z, Gerendai I. 2007. Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. Microscopy Research and Technique, 70(8):710-718.

Walles B, Gröschel-Stewart U, Owman C, Sjöberg NO, Unsicker K. 1978. Fluorescence histochemical demonstration of a relationship between adrenergic nerves and cells containing actin and myosin in the rat ovary, with special reference to the follicle wall. Journal of Reproduction and Fertility, 52(1):174-178.

William J. 1996. Endocrinología Clínica. Ed. El Manual Moderno. S.A. de C.V. México, p. 2-5, 15-18.

Wolf R, Meier-Fleitmann A, Düker EM, Wuttke W. 1986. Intraovarian secretion of catecholamines, oxytocin, beta-endorphin, and gamma-amino-butyric-acid in freely moving rats: development of a push-pull tubing method. Biology of Reproduction, 35(3):599-607.

Wright DE, Jennes L. 1993. Origin of noradrenergic projections to GnRH perikarya-containing areas in the medial septum-diagonal band and preoptic area. Brain Research, 621(2):272-278.

ANEXO

Biosíntesis y almacenaje de noradrenalina

El grupo de catecolaminas incluye a la NA, la dopamina (DA) y la adrenalina; este nombre se deriva porque su estructura química incluye un grupo catecol y un grupo amino. Su precursor es el aminoácido tirosina que puede ser sintetizada a partir de otro aminoácido, la fenilalanina, o bien provenir de la dieta y penetrar en la neurona por transporte activo (Meana y García-Sevilla, 1997). La primera reacción es catalizada por la enzima TH, el cofactor tetrahidrobiopterina y el oxígeno, para convertir a la tirosina en 3, 4-dihidroxi-L-fenilalanina (L-DOPA), que por medio de la L-amino ácido aromático descarboxilasa (AADC o DOPA descarboxilasa) y el fosfato de pirodoxal, la L-DOPA es convertida en DA, éste es el paso final en aquellas neuronas que utilizan esta molécula como neurotransmisor. En cambio, en las neuronas que liberan a la NA como neurotransmisor, contienen la enzima dopamina β-hidroxilasa (DBH) que junto con el ácido ascórbico como cofactor, convierte la DA en NA (esta reacción ocurre dentro de la vesícula sináptica) (Figura 14) (Nagatsu *et al*., 1964; Abell, 1986; Goridis y Rohrer, 2002).

El paso limitante en la biosíntesis de NA es la conversión de tirosina a DOPA, ya que en estudios se mostró que no se ve acelerada por la estimulación nerviosa (Roth *et al*., 1967) y porque la actividad enzimática de la TH es de 100 a 1000 veces menor que la de otras enzimas de la vía biosintética (Meana y García-Sevilla, 1997).

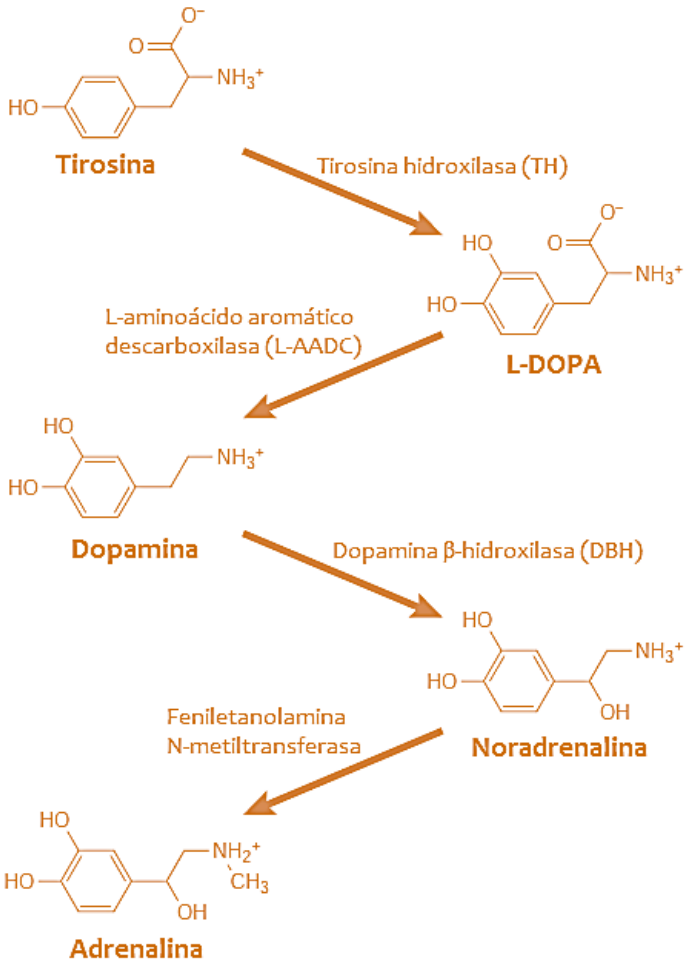


Figura 15. Síntesis de catecolaminas (Tomada y modificada de Goridis y Rohrer, 2002).

Una vez sintetizadas, las catecolaminas son almacenadas sin cambios dentro de los gránulos cromafínicos de la médula adrenal y en las neuronas postganglionares, en vesículas de almacenamiento unidas a la membrana. Dentro de estas vesículas, las catecolaminas son acopladas a proteínas no difusibles (cromograninas) que sirven para inactivar y prevenir la degradación enzimática hasta la liberación por exocitosis del contenido de las vesículas. Con una vida media en plasma de aproximadamente de 1-2 minutos, las catecolaminas ejercen sus diversos efectos biológicos por unión a receptores α y β, presentes en la membrana plasmática, que son conocidos como receptores adrenérgicos, clasificados de acuerdo a su afinidad por varios agonistas o antagonistas (Peaston y Weinkove, 2004).

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

Otorga la presente

Constancia

SMCF

A: Cortés GD, Monroy J, Silva CC, Domínguez R, Flores A

Por la presentación del **cartel** titulado:

La concentración de noradrenalina ovárica es regulada por información nerviosa que se origina en el ovario contralateral y depende de la integridad del nervio ovárico superior

Dra. Gabriela González Mariscal Muriel
Presidenta

Dra. Gina Lorena Quirarte
Secretaria

Dra. Yolanda Cruz Gómez
Tesorera

56 congreso nacional de ciencias fisiológicas

Tlaxcala, Tlax. Septiembre 1-5 2013