



# Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

## “Efecto de la Capsaicina 1 nM y AMG9810 1nM en la fertilidad y el desarrollo gestacional de la rata Wistar”

Tesis que para obtener el título de

**Licenciada en Químico Farmacobiólogo**

Presenta

**pQFB Cecilia Berenice Méndez Navarro**

Director de tesis

**D. C Victorino G. S. Alatraste Bueno**

**Laboratorio de Neuroendocrinología**

**Departamento de Análisis Clínicos FCQ-BUAP**

Codirectora de tesis

**M.C. Joaquina De la Rosa Priego**

**Laboratorio de Neuroendocrinología**



Puebla, Puebla octubre 2023

Porque Jehová da la sabiduría, y de su boca viene el conocimiento y la inteligencia.  
Proverbios 2: 6

## Agradecimientos

Primeramente, a Dios por darme la oportunidad de poder estudiar una carrera tan noble e interesante.

Este trabajo fue apoyado con fondos asignados al proyecto VIEP -2019 00043

Los experimentos fueron realizados en el laboratorio de Neuroendocrinología, FQC-BUAP y las fotografías fueron capturadas en el laboratorio de Neuroendocrinología y Neurofarmacología de la FCQ-BUAP.

A mi director de tesis:

- D.C Victorino G.S. Alatraste Bueno por su confianza y paciencia en esto este tiempo, por enseñarme que el camino de la ciencia es un mundo fascinante y de constantes preguntas

**Dedicado a**

**Mis padres que mostraron su apoyo incondicional en todo momento, por fomentarme las ganas de salir adelante en todo momento y de siempre buscar a Dios en cualquier circunstancia.**

**A mi pastor qed Armando Miranda Linares por ser muchas veces mi maestro, mi amigo una persona excepcional que en vida me enseñó a siempre dar lo mejor y sobre todo enseñarme la verdad de la palabra de Dios.**

**A mi pastora Martha Ruth Salgado por ser mi amiga en muchas ocasiones y darme consejos aun cuando estaba lejos de casa, siempre vio por mí en todo momento.**

**A mis maestros, que marcaron y dejaron huella en mi vida, por compartir el maravilloso conocimiento, por ser mis mentores y gracias por la paciencia que tuvieron para enseñarme.**

**A todos mis amigos cercanos que siempre estuvieron cuando los necesitaba, que creyeron en mí y que podía lograr este escalón, los amo mucho me han enseñado el valor de la amistad y de la confianza**

<b>Contenido</b>	
<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN ..... 1</b>
1.1	<b>Fecundación.....1</b>
1.2	<b>Gestación en mamíferos.....2</b>
1.3	<b>Hormonas que modulan la gestación en mamíferos.....2</b>
1.3.1	Progesterona ..... 3
1.3.2	Estrógenos ..... 3
1.3.3	Gonadotropina coriónica humana (hCG) ..... 3
1.3.4	Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH) ..... 4
1.3.5	Hormona Folículo Estimulante (FSH) ..... 4
1.3.6	Hormona Luteinizante (LH) ..... 4
1.3.7	Oxitocina (OT)..... 5
1.3.8	Relaxina..... 5
1.4	<b>Neurotransmisores involucrados en la gestación de mamíferos .....5</b>
1.4.1	Ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA)..... 5
1.4.2	Dopamina..... 6
1.4.3	Serotonina..... 6
1.4.4	Noradrenalina ..... 7
1.4.5	Endorfinas..... 7
1.5	<b>Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la rata Wistar.....8</b>
1.5.1	Ovarios ..... 8
1.5.2	Útero ..... 12
1.5.2.1	Función ..... 13
1.5.2.2	Histología del útero de la rata ..... 13
1.5.2.3	Irrigación del útero ..... 14
1.5.2.4	Inervación del útero ..... 15
1.6	<b>Receptor de potencial transitorio vanilloide tipo 1 (TRPV1) .....17</b>
1.6.1	Estructura molecular y función de los receptores TRPV1 ..... 17
1.6.2	Permeabilidad, selectividad y sensibilización de los receptores TRPV1 ..... 18
1.6.3	Localización de los receptores TRPV1 ..... 19
1.6.4	Capsaicina como agonista selectivo del receptor TRPV1 ..... 21
1.6.5	AMG9810 como antagonista selectivo de receptor TRPV1 ..... 22
1.6.6	Modelo de estudio: rata Wistar ..... 23
<b>2</b>	<b>JUSTIFICACIÓN..... 24</b>
<b>3</b>	<b>HIPÓTESIS ..... 25</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVO GENERAL ..... 25</b>
	Objetivos particulares.....25
<b>5</b>	<b>METODOLOGÍA ..... 26</b>
5.1	Animales.....26
5.2	Administración de Capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM.....26
5.3	Cópula .....27

5.4 Gestación y Postparto .....	28
5.5 Eutanasia y obtención de los tejidos .....	28
5.6 Tratamiento de los tejidos y análisis histológico.....	28
5.7 Análisis estadístico .....	31
<b>6 RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
6.1 Tiempo en que se preñan las ratas Wistar posterior a la administración de capsaicina o AMG9810 .....	34
6.2 Edad gestacional.....	35
6.3 Desarrollo folicular en el útero posparto de ratas Wistar .....	36
6.4 Medición del grosor de las capas uterinas y número de glándulas uterinas en ratas Wistar. ....	42
6.5 Medición del porcentaje de colágeno en el útero de ratas Wistar. ....	49
<b>7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
7.1 El efecto de la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM en el desarrollo folicular posparto de la rata Wistar.....	52
7.2 Efecto de la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM en el útero posparto de la rata Wistar .....	54
<b>8 CONCLUSIONES .....</b>	<b>57</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>58</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>67</b>

## **ABREVIATURAS**

**5-HT:** 5-Hidroxitriptamina

**BDNF:** Factor Nervioso Derivado del Cerebro

**CGRP:** Péptido Relacionado con el gen de la Calcitonina

**CL:** Cuerpo Lúteo

**DRG:** Raíz Dorsal Lumbar

**FAA:** Folículo Antral Atrésico

**FAS:** Folículo Antral Sano

**FPA:** Folículo Preantral Atrésico

**FPS:** Folículo Preantral Sano

**FSH:** Hormona Folículo Estimulante

**GABA:** Ácido gamma-aminobutírico

**GCMS:** Ganglio Celiaco Mesentérico Superior

**GnRH:** Hormona liberadora de Gonadotropina

**hCG:** Hormona Gonadotropina

**HDS:** Hidroxiesteroide deshidrogenasa)

**IT:** Células Internas de la Teca

**LH:** Hormona Luteinizante

**NA:** Noradrenalina

**NG:** Ganglios Nodosos

**OPN:** Nervio Plexo Ovárico

**OT:** Oxitocina

**PAV:** Primera Apertura Vaginal

**PKC:** Proteína C quinasa

**PIP2:** fosfatidilinositol-4,5-bifosfato

**SN:** Secretoneurina

**SNC:** Sistema Nervioso Central

**SON:** Nervio Ovárico Superior

**SP:** Sustancia P

**TG:** Ganglio Trigémico

**TRP:** Receptor de potencial Transitorio

**TRPV1:** Receptor de Potencial Transitorio tipo 1

## RESUMEN

*La gestación es un proceso mediante el cual ocurre la fusión de un gameto femenino y uno masculino, siendo de vital importancia para la perpetuación de los mamíferos. Después de la fecundación ocurre la gestación, este es un periodo de tiempo en donde suceden diferentes cambios fisiológicos que permitirán el desarrollo del feto en el útero, durante este proceso están involucradas diferentes hormonas que controlan y coordinan la fisiología materna y fetal, también están involucrados diferentes neurotransmisores que participan de manera importante para que este proceso sea exitoso. Estudios previos en el laboratorio ha propuesto que capsaicina a dosis bajas puede funcionar como un modulador positivo de los receptores TRPV1 siendo de vital importancia para la proliferación celular y desarrollo folicular. El receptor TRPV1 es un receptor de potencial transitorio vanilloide tipo 1, es un canal catiónico no selectivo dependiente de  $Ca^{+2}$ . Este receptor se ha encontrado en órganos reproductores como ovario y útero, así como en las fibras sensoriales que lo inervan, por lo cual el objetivo del trabajo fue conocer el efecto del receptor cuando se administra capsaicina 1nM y AMG9810 en la fertilización y desarrollo gestacional de la rata Wistar. Para este trabajo se utilizaron 16 ratas Wistar de las cuales eran ratas adultas jóvenes. Se clasificaron en 4 grupos experimentales, el grupo control (n=4), el grupo vehículo (administrados con solución salina isotónica, n=4), grupo capsaicina (capsaicina a 1nM/kg, n=4) y AMG9810 (AMG9810 1nM/kg, n=4). Las administraciones fueron por vía subcutánea y realizadas en el ciclo estro y diestro de las ratas. Al finalizar las administraciones se llevaron a cópula las ratas para que estas pudieran preñarse, posterior a esto se esperó a que se formara el tapón vaginal o pudiera visualizarse espermatozoides a través de un frotis vaginal. Se tomó el tiempo de gestación, y después del parto se realizó el sacrificio por medio de CO<sub>2</sub> y se perfundieron los tejidos con SSI y PBS-paraformaldehído (PBS-PF) al 4% por vía intracardiaca. Se obtuvieron los ovarios y útero los cuales se incluyeron en parafina para así realizar cortes histológicos y finalmente poder teñirlos con la tinción Hematoxilina-Eosina y otros con la tinción Tricrómica de Masson. Como resultados obtuvimos que capsaicina 1 nM ayuda a que el tiempo de preñez sea más rápido a diferencia de AMG9810 que el tiempo de preñez fue mayor. En el tiempo de gestación no hubo diferencias significativas. En los ovarios, capsaicina y AMG9810 disminuyeron la atresia folicular. En el útero la administración con capsaicina 1 nM disminuyó el perimetrio, miometrio y aumentó el grosor del endometrio. En el caso de AMG9810 no modifica el perimetrio, pero si disminuye el grosor del miometrio y endometrio. Finalmente, la administración con AMG9810 1 nM aumenta el porcentaje de colágeno en el útero. Concluimos que la administración con capsaicina 1 nM puede ayudar a que el tiempo de preñez sea más rápido y tenga una correcta implantación además de que ayude a disminuir la atresia folicular. La administración con AMG9810 1 nM retrasa el tiempo de preñez y aumenta el porcentaje de colágeno en el útero, además de ayudar a disminuir la atresia folicular en las ratas.*

# 1 INTRODUCCIÓN

La fecundación es el proceso mediante el cual ocurre la fusión de un gameto femenino y uno masculino; siendo de especial importancia para la perpetuación de los mamíferos. La fecundación varía entre cada especie de mamíferos, y es un proceso que ocurre en el útero (Herrerros, 2016).

Después de la fecundación ocurre la gestación que es el periodo de tiempo en donde suceden diferentes cambios fisiológicos que permitirán el desarrollo del feto en el útero, además de que durante este proceso se producen diferentes hormonas que controlan y coordinan la fisiología materna y fetal. Algunas de las hormonas más importantes en la etapa de la gestación son: los estrógenos, la progesterona, la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), hormona Gonadotropina coriónica humana (hCG), la oxitocina, la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH) (Herrerros, 2016). El periodo de tiempo de gestación varía entre cada especie mamífera, en la mujer, es de aproximadamente 40 semanas, mientras que las ratas el tiempo es de 21-23 días, otros ejemplos son: el de las ovejas de 152 días y el de las vacas 253 días (Herrerros, 2016).

En nuestro laboratorio (Neuroendocrinología) se ha estudiado el papel de moléculas como la capsaicina en la biología de la reproducción. La capsaicina es un agonista del Receptor de Potencial a Transitorio a Vanilloide tipo 1 (TRPV1). El receptor TRPV1 participa en diferentes procesos, como la transmisión y modulación del dolor, además de promover la maduración de los órganos sexuales como el ovario y el útero (González-Flores, 2015; Alatraste *et. al.*, 2013).

La capsaicina a través del receptor TRPV1 se ha utilizado en el tratamiento del dolor y de procesos inflamatorios, problemas del sistema nervioso como neuropatías diabéticas, problemas articulares como la osteoporosis y artritis reumatoide. (Pingle *et. al.*, 2007).

Por otro lado, el uso de la capsaicina como tratamiento en la fertilización y el desarrollo gestacional en animales aún no ha sido estudiada a profundidad. Por lo que el uso de la capsaicina en el estudio de procesos reproductivos como la fecundación y la gestación nos ayudará a entender la participación del receptor TRPV1 en estos, además de ampliar nuestro conocimiento en los mismos.

## 1.1 Fecundación

La fecundación es la unión del gameto femenino (óvulo) y el gameto masculino (espermatozoide) y se lleva a cabo en la ampolla de la trompa de Falopio (Serna, 2012).

Empecemos describiendo al óvulo maduro que se forma en el ovario y está conformado por un núcleo que contiene el material genético; un saco vitelino que es el citoplasma del óvulo, una zona pelúcida que rodea la membrana plasmática y esta se endurece cuando ocurre la fecundación, y finalmente una corona radiada formada por numerosas células foliculares que tienen la función de proteger al óvulo e intervienen en la formación de la placenta (Richards *et. al.*, 2010).

Por otro lado, los espermatozoides se desarrollan en los testículos y están formados por una cabeza ovalada que contiene el material genético, un cuerpo corto que da soporte a la cabeza y la membrana plasmática; y un flagelo o cola alargada que ayuda a que puedan desplazarse (Olivera, 2006).

Previo a la fecundación, el espermatozoide modifica la permeabilidad de su membrana plasmática para poder recorrer la cavidad uterina y penetrar la zona pelúcida del óvulo, a este cambio se le denomina capacitación. (Serna,2012).

Durante la fecundación, los espermatozoides atraviesan la corona radiada por medio del movimiento flagelado de sus colas. Posteriormente alcanzan la zona pelúcida, donde se inicia la reacción acrosómica permitiendo la liberación de enzimas como la hialuronidasa, la acrosina y colagenasa la cual ayuda a que el espermatozoide penetre y rompa el colágeno proteico de la zona pelúcida (Serna, 2012).

## **1.2 Gestación en mamíferos**

La gestación en mamíferos es un periodo de tiempo comprendido entre la fecundación y el nacimiento. Durante la gestación ocurre el desarrollo y crecimiento del feto en el interior del útero. En el útero, ocurren diversos cambios fisiológicos como la formación de la placenta que funcionará como una glándula temporal encargada de la producción de diferentes hormonas que controlarán y coordinarán la fisiología materna y fetal (Herrerros, 2016).

El tiempo de gestación es diferente para cada ser vivo, depende de la especie y de algunos factores como el clima y el entorno natural que lo rodea (Herrerros, 2016).

Existen diferentes aspectos que ayudan a la modulación de la gestación, entre ellos están las hormonas y también algunos neurotransmisores, que permitirán el correcto desarrollo del proceso de gestación (Noyola *et al.*, 2019; Montvelisky, 2013; Licheri *et al.*, 2015).

## **1.3 Hormonas que modulan la gestación en mamíferos**

En este apartado desarrollaré la importancia y función de diferentes hormonas y su importancia en la gestación.

La secreción hormonal está dada por diferentes órganos, a nivel hipotalámico se secretan hormonas como la GnRH, la LH, la FSH y la oxitocina, mientras que en el ovario se produce el estradiol y la progesterona (Conti, 1978).

Por otro lado, si bien la placenta no es un órgano totalmente endócrino autónomo cumple con la función de ayudar al crecimiento del feto en formación, además de contribuir con la biosíntesis de hormonas esteroideas como los estrógenos, progesterona y corticosteroides durante la gestación (Petragalia *et al.*, 2010; Figuero *et al.*, 2006; Montvelisky, H. 2013).

La biosíntesis de las hormonas esteroideas se produce mediante dos tipos de enzimas, los citocromos P450 (CYP) y las hidroxisteroides deshidrogenasas (HDS) ubicadas en las mitocondrias donde ocurren los procesos de oxidación o reducción para que se lleve a cabo

la biosíntesis hormonal. El proceso de biosíntesis ocurre principalmente en las glándulas suprarrenales, ovarios, placenta y el sistema nervioso central. (Noyola *et al.*,2019, Gómez *et al.*,2012).

### 1.3.1 Progesterona

La progesterona es una hormona esteroidea conformada por 21 átomos de carbono que es secretada por los ovarios luego de un estímulo a través de las gonadotropinas hipofisarias (LH y FSH). En los ovarios la progesterona es producida por las células de la teca, en su mayoría en la fase del cuerpo lúteo. Principalmente esta se ve aumentada durante la segunda mitad del ciclo menstrual en los ciclos ovulatorios y durante el embarazo, es sintetizada por la placenta a partir del tercer mes (Noyola *et al.*, 2019).

La función de la progesterona durante la gestación es estimular el engrosamiento de las paredes del útero a fin de prepararlo para la implantación del óvulo fertilizado, además ayuda a que el embrión recién implantado encuentre la nutrición adecuada. La presencia de la progesterona durante la gestación es esencial puesto que inhibe y bloquea la respuesta inmunitaria a los antígenos extraños, asimismo, favorece la decidualización del endometrio y aumenta la expresión del gen *HOXA10* que está involucrado con la embriogénesis del útero y la implantación del embrión, y finalmente incrementa la actividad de la óxido nítrico sintasa que induce la relajación de la vascularización del cordón umbilical humano de las células del músculo liso (Noyola *et al.*, 2019; Montvelisky, 2013).

### 1.3.2 Estrógenos

Los estrógenos son esteroides formados por tres anillos ciclo hexanos y un anillo de ciclopentano, consta de 18 átomos de carbono y es un derivado químico del ciclopentanoperhidrofenantreno. Los estrógenos incluyen a hormonas como la estrona, el estradiol, el estriol y el 17 beta estradiol, este último es el principal producto de la secreción endócrina del ovario. Durante la biosíntesis de los estrógenos, el estradiol ayuda a la formación de la placenta que proviene de la zona fetal. Además, promueve el crecimiento de las arterias espirales aumentando así el riego sanguíneo, además, de promover la estimulación, el crecimiento y la pigmentación de los pezones y aréolas (Montvelisky, 2013).

Los estrógenos tienen la función de producir en el endometrio una fase de proliferación. Durante esta fase el endometrio incrementa su vascularización, aumenta el espesor y las glándulas se hipertrofian. Mientras que en el miometrio los estrógenos aumentan la motilidad, contractilidad e incrementa la sensibilidad del músculo (Valsecia, 2000).

### 1.3.3 Gonadotropina coriónica humana (hCG)

Durante el embarazo, la placenta produce una glicoproteína llamada Gonadotropina coriónica humana, también conocida como hCG. La hCG es una proteína sintetizada principalmente por los tejidos embrionarios, está constituida por 2 cadenas de aminoácidos denominados  $\alpha$  y  $\beta$ . Estas dos cadenas están unidas por un enlace no covalente y tienen un

puente sulfidrilo en su estructura. La función de hCG es fundamental ya que mantiene al cuerpo lúteo y evita la ovulación, reemplazando a la LH alrededor del octavo día después de la ovulación, es decir, un día después de que ha ocurrido la implantación. También ayuda a mantener los niveles de la progesterona y los estrógenos por medio de las células de la granulosa (Velázquez, 2014).

El punto máximo de producción de hCG está entre la octava y decima semana de gestación, estabilizándose a un nivel más bajo durante el resto del embarazo (Manuales MSD. 2019; Magon, & Kumar, 2012).

#### *1.3.4 Hormona liberadora de Gonadotropinas (GnRH)*

La GnRH es un decapeptido producido por las neuronas del núcleo arqueado y área preóptica del hipotálamo. La GnRH regula la producción y secreción de la FSH y LH. La GnRH tiene la función de ayudar a liberar la producción de estrógeno y progesterona en los ovarios. La GnRH estimula la secreción de hCG por el sincitiotrofoblasto; el sincitiotrofoblasto es la capa más externa del trofoblasto la cual tiene la función de crear anticuerpos en el endometrio materno. Se sabe que los análogos de GnRH como gonadorelina tiene un efecto negativo sobre la preñez temprana de la rata y puede causar abortos por su acción sobre el cuerpo lúteo (Gohar *et al.*, 1996).

#### *1.3.5 Hormona Folículo Estimulante (FSH)*

La FSH es una glucoproteína heterodimérica que consta de dos subunidades distintas,  $\alpha$  y  $\beta$ ; la subunidad  $\alpha$  es común en la glándula pituitaria y placentaria, mientras que la subunidad  $\beta$  es específica de la hormona, en conjunto el heterodímero confiere actividad biológica. La FSH es producida en la hipófisis y placenta. Tiene la función de regular los estrógenos, controlar la producción de estradiol y ovocitos. El papel esencial de FSH es ser un regulador del proceso ovárico (Das, & Kumar, 2018; Aittomäki & Huhtaniemi, 1999).

La FSH activa la producción de estrógeno en las células de la granulosa a través de la aromatización de andrógenos producidos por las células de la teca. (Das & Kumar, 2018; Aittomäki, & Huhtaniemi, 1999).

#### *1.3.6 Hormona Luteinizante (LH)*

La LH es una glicoproteína producida en la hipófisis que al ser liberada a la circulación sanguínea y llegar a los ovarios estimula la ovulación; esto se debe a que los receptores de LH se encuentran en las células de la granulosa de los folículos preovulatorios. La activación de los receptores a LH en las células de la teca estimula la síntesis de andrógenos que posteriormente se convierten en estrógenos por las células de la granulosa. (Andersson, 2008; Richards & Ascoli, 2018).

### 1.3.7 Oxitocina (OT)

La oxitocina (OT) es una neurohormona constituida por nueve aminoácidos, tiene un grupo amino terminal y un puente de azufre entre dos cisteínas, se expresa en las neuronas hipotalámicas y es secretada por la hipófisis posterior. La principal función de la OT en el embarazo es la contractilidad uterina la cual ayuda a la expulsión del feto fuera del útero, eyección de leche y la placenta que representa una fuente novedosa y que contribuye a los mecanismos del parto (Felice *et al.*, 2010).

La OT se libera en la neurohipófisis y terminaciones nerviosas, se sintetiza periféricamente en el ovario, los testículos, las glándulas suprarrenales, el timo y el páncreas. Los valores de OT durante la gestación se incrementan lentamente hasta el parto y luego disminuye hasta 8 semanas después del parto. Se ha visto que la oxitocina también juega un papel clave en el vínculo madre-hijo y las interacciones sociales (López *et al.*, 2014).

### 1.3.8 Relaxina

La relaxina es un péptido constituido por dos cadenas, una de 23 y otra de 26 aminoácidos unidas por dos puentes de cisteína. La relaxina se produce en el cuerpo lúteo y posteriormente en la decidua y la placenta, aumenta en el primer trimestre. Tiene un fuerte efecto vasodilatador, un efecto hemodinámico y afecta la función renal. Otra de las funciones de la relaxina es la relajación de los músculos del suelo pélvico facilitando el parto, también produce una mayor elasticidad muscular en el útero que ayuda a relajar las contracciones espontáneas e inhibe la formación y depósito de colágeno. Esta hormona se incrementa cuando el parto está cerca. (Kohlhepp *et al.*, 2018, Botella *et al.*, 1993).

## 1.4 Neurotransmisores involucrados en la gestación de mamíferos

La gestación y el posparto son periodos cruciales para la vida de la mujer ya que se presentan diferentes cambios fisiológicos. Como ya se ha mencionado el estado gestacional en mamíferos es una etapa que involucra diferentes cambios fisiológicos, si bien la regulación hormonal es vital en esta etapa, también es necesario mencionar la participación de diferentes neurotransmisores que participan de manera importante para que este proceso sea exitoso (Licheri *et al.*, 2015).

A continuación, se describen algunos de ellos.

### 1.4.1 Ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA)

El neurotransmisor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) actúa en el receptor GABA<sub>A</sub> (GABA<sub>A</sub>R) y tiene un efecto sináptico inhibitorio “rápido” en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos. Deriva del ácido glutámico, mediante la descarboxilación realizada por el glutamato descarboxilasa (Licheri *et al.*, 2015).

GABA tiene una gran influencia en el estado de ánimo y en el comportamiento, además junto con la progesterona pueden regular la ansiedad, sueño, depresión y convulsiones. Algunas de las funciones relevantes de GABA son la modulación de la contractilidad uterina

bajo la influencia de estrógenos y el ciclo ovárico. Durante el embarazo se puede presentar una desregulación de este neurotransmisor lo cual puede provocar ansiedad, falta de cuidado por parte de la madre y por lo consiguiente descuidar su alimentación. (Licheri *et al.*, 2015). Los niveles de GABA durante el embarazo se mantienen bajos, esta disminución puede deberse a un aumento catabólico de las GABA-transaminasas, los niveles bajos de GABA puede provocar convulsiones de manera espontánea (Erdö *et al.*, 1989; Smolen, *et al.*, 1993).

#### 1.4.2 Dopamina

La dopamina forma parte de la familia de las catecolaminas, se sintetiza a partir del aminoácido L-tirosina además de ser un precursor de la norepinefrina y epinefrina. La dopamina se libera principalmente en el núcleo accumbens, la sustancia nigra y el estriado. Participa en la regulación de diversas funciones como la conducta motora, la emotividad y la afectividad, así como en la comunicación neuroendocrina y es un inhibidor neuroendocrino de la prolactina (Bahena-Trujillo *et al.*, 2000; Castro-Sierra *et al.*, 2005).

Niveles bajos o altos de dopamina puede influir en tener poca concentración y falta de orientación, esto puede verse reflejado en el bebé a largo plazo, la dopamina también tiene influencia en la regulación de la prolactina, y puede haber una descoordinación del movimiento motriz o de acción retardada (Bahena-Trujillo *et al.*, 2000; Castro-Sierra *et al.*, 2005).

La liberación de prolactina se inhibe por las neuronas dopaminérgicas tuberoinfundibulares, esto se debe a que en el lactotrofo la dopamina se une a los receptores de dopamina D2 e inhibe su liberación, sin embargo, cuando llega el parto los niveles de prolactina aumentan (Andrews, & Grattan, 2004).

Algunos estudios muestran que durante el embarazo la dopamina no tiene efectos sobre la presión arterial media y el hematocrito, la tasa de filtración glomerular y el flujo de tasa renal también se mantienen con valores normales, a diferencia del sodio que se ve aumentado por la resistencia a los agentes natriuréticos (Sasser, & Baylis, 2008).

#### 1.4.3 Serotonina

La 5-hidroxitriptamina (5-HT) o serotonina es un neurotransmisor que se sintetiza a partir de la transformación del aminoácido triptófano. Algunas de las funciones de la serotonina son la modulación de procesos conductuales y neuropsicológicos que incluyen el estado de ánimo, la percepción, la recompensa, la ira, la agresión, el apetito, la memoria, y la sexualidad (Cáceres, *et al.*, 2017; Berger, *et al.*, 2009).

La serotonina participa en diferentes etapas de la reproducción, durante la fase de fertilización se ha sugerido que tiene un papel en el transporte del espermatozoide hacia el oviducto mediante la regulación de la contracción uterina a través de los receptores 5-HT (Pawluski, *et al.*, 2019; Rosenfeld, 2020).

Durante la gestación los niveles altos de serotonina pueden alterar la fisiología vascular y pueden surgir problemas relacionados con la preclamsia. Algunas enfermedades pueden

estar ligadas al incremento de la serotonina. La serotonina guarda una estrecha relación con los estrógenos, y puede causar depresión, migraña, síndrome del intestino irritable y trastornos alimenticios. Los trastornos específicos del embarazo como la hiperémesis gravídica, la diabetes mellitus gestacional y la preeclampsia se asocian con un estado hiperserotoninérgico y una disminución de los niveles de estrógeno. La deficiencia de 5-HT también puede provocar anomalías neuroconductuales ya que esta es uno de los principales neurotransmisores para el desarrollo del cerebro fetal (Cáceres, *et al.*, 2017; Berger, *et al.*, 2009; Pawluski, *et al.*, 2019; Rosenfeld, 2020).

#### 1.4.4 Noradrenalina

La noradrenalina (NA) es un neurotransmisor que forma parte de las catecolaminas, contiene un grupo catecol (un anillo de benceno con dos grupos de hidroxilo) unido a un grupo amina, es sintetizada a partir del aminoácido fenilalanina, el cual por acción de la fenilalanina hidroxilasa y su cofactor el ácido ascórbico esta es convertida en tirosina (Tellez, 2000).

La NA se libera desde los extremos de las fibras nerviosas simpáticas y actúa para aumentar la fuerza de contracción del músculo esquelético y fuerza de contracción del corazón. Provoca la vasoconstricción y aumenta la presión arterial, además de que tiene la función de mantener el estado de alerta activo (Tellez, 2000; Sugam, & Kakinuma, 2021).

El papel de la NA durante la gestación es contraer los vasos sanguíneos del útero y reducir el flujo sanguíneo uterino produciendo anoxia o hipoxia fetal. Otra de las funciones de la NA es mantener un estado de alerta, puede alterar los niveles de estrógenos y progesterona, disminuir los niveles de oxitocina y alterar los niveles de glucosa en sangre (Téllez, 2000, Sugam, & Kakinuma, 2021).

#### 1.4.5 Endorfinas

Las endorfinas son un conjunto de péptidos opioides endógenos que tienen la capacidad de funcionar como neurotransmisores. Son producidas en el sistema nervioso central por el hipotálamo, la glándula pituitaria y la placenta. Tiene la función de actuar como modulador del dolor, la regulación de la temperatura corporal, el apetito y en la reproducción. Además de estas funciones también ayudan a la estimulación del aprendizaje de parte de la madre y el bebé, activan el sistema inmunitario y algunos estudios demuestran que las endorfinas ayudan a que haya un lazo amoroso fundamental durante la gestación (Chaudhry *et al.* 2021; Abboud, 1988).

Durante la gestación los niveles de endorfinas no están elevados hasta que se acerca el parto que tienden a incrementar durante el trabajo de parto ya que funcionan como una anestesia de manera natural que segrega el mismo organismo. (Chaudhry *et al.* 2021; Abboud, 1988; Dabo *et al.*, 2010).

## 1.5 Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la rata Wistar

El aparato reproductor femenino es uno de los sistemas más importantes y complejos que existen, tiene una regulación neuroendocrina hipotálamo-hipófisis-gónada. Comprende a los ovarios (gónadas femeninas), las trompas uterinas (de Falopio) u oviductos, el útero, la vagina y las glándulas mamarias que pueden ser consideradas tanto parte del sistema tegumentario como del aparato reproductor femenino. Las principales funciones del aparato reproductor femenino son la producción de óvulos por parte de los ovarios para la fertilización por el espermatozoide, que ocurre en las trompas de Falopio, además proporciona condiciones apropiadas para la implantación del embrión en el útero en donde también habrá un crecimiento y desarrollo fetal, y el nacimiento (Hershel, 2013, Gerard, 2011).

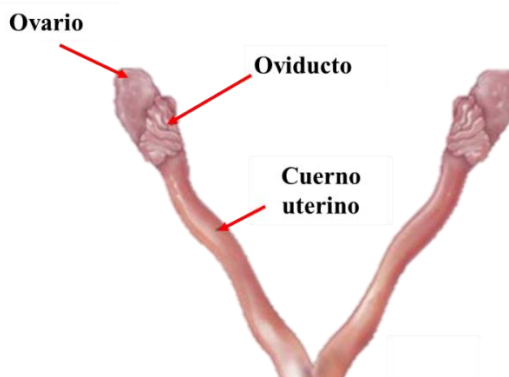
A continuación, se hablará del ovario y útero y cuál su papel en la gestación.

### 1.5.1 Ovarios

Los ovarios son glándulas sexuales femeninas, en donde se producen los óvulos, una vez que han madurado se expulsa del ovario hacia las trompas uterinas o de Falopio (Ramírez, 2011).

Los ovarios se encuentran emparejados uno en cada lado del útero, son estructuras que tienen forma de uva y varían en apariencia y tamaño dependiendo de la etapa del ciclo estral en la que se encuentren (**Figura 1**) (Auersperg *et al.*, 2001, Löw, *et al.*, 2016; Ramírez, 2011).

La anatomía del ovario de roedores consiste en una capa de mesotelio peritoneal modificado, epitelio de la superficie ovárica (OSE) que es continuo con el ligamento ancho (mesovario) que sostiene al ovario. En la rata adulta, los ovarios tienen un peso aproximado de 30 mg cada uno y miden 4.35 mm de ancho aproximadamente, 5.5 mm de largo y un grosor de 1.6 mm (Auersperg *et al.*, 2001, Löw, *et al.*, 2016; Ramírez, 2011).



**Figura 1.** Anatomía del ovario de la rata (Tomado de Boyd *et al.*, 2018)

#### 1.5.1.1 Función

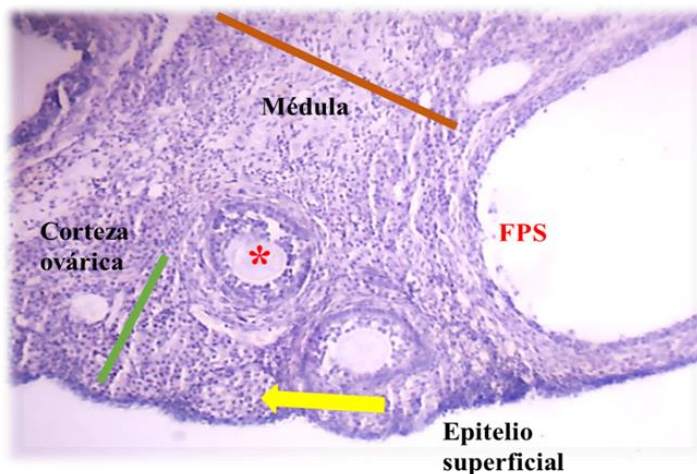
La función de los ovarios está relacionada con la regulación del ciclo menstrual mediante la retroalimentación con esteroides para ayudar a la secreción de gonadotropinas.

El ovario contiene una red intraovárica que involucra factores que ayudan a la síntesis de las hormonas FSH, LH y una modulación de la actividad de la hCG (Rosen & Cedars 2019).

### 1.5.1.2 Histología del ovario

Los ovarios tienen una cubierta compuesta de una sola capa de epitelio cuboidal llamada epitelio germinal, debajo de este epitelio hay una lámina de colágeno que es homóloga a la túnica albugínea de los testículos. El área interna es divisible en dos partes: la corteza externa, que contiene los folículos en desarrollo y los cuerpos lúteos (CL), y la médula interna, que recibe los vasos sanguíneos y los nervios del hilio. El estroma está formado por tejido conectivo especial (tejido conectivo espino celular) hecho de células fusiformes parecidas a los fibroblastos dispuestas en espirales características (la matriz extracelular casi ausente) (Auersperg *et al.*, 2001, Löw, *et al.*, 2016; Ramírez, 2011). Cada ovario se divide en las siguientes regiones: epitelio germinal, túnica albugínea, corteza y médula ováricas (**Figura 2**), a continuación, se describe cada una de ellas.

- **Epitelio germinal:** Es una capa de epitelio simple (cúbico bajo o plano) y esta cubre la superficie del ovario.
- **Túnica albugínea:** Capa blanquecina de tejido conectivo denso irregular localizada inmediatamente por debajo del epitelio germinal.
- **Corteza ovárica:** Es la región por debajo de la túnica albugínea. Está compuesta por folículos ováricos rodeados de tejido conectivo denso irregular con células musculares lisas dispersas, forman la teca interna y externa de los folículos ováricos que albergan el ovocito primario.
- **Médula ovárica:** Se encuentra por debajo de la corteza ovárica y se distingue por tener un tejido conectivo más laxo con vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. En la figura 1 se puede visualizar la médula en una rata (Megías *et al.*, 2019; Gartner, 2011).



**Figura 2.** Corte histológico de ovario de rata Wistar postparto con la tinción H&E. En la siguiente microfotografía se observa un Folículo preantral sano (FPS) marcado con un asterisco, la flecha amarilla indica el epitelio superficial, la corteza superficial está señalada con línea verde y la médula con la flecha marrón. (Foto a 10x tomada en el Laboratorio de Neuroendocrinología de la FCQ-BUAP).

### 1.5.1.3 Folículos ováricos

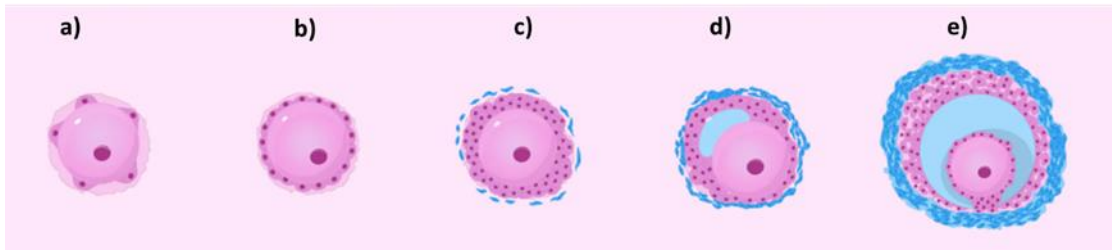
Los folículos ováricos (**Figura 3**) se encuentran en la corteza y están compuestos por los ovocitos en sus diferentes etapas de desarrollo. Para producir ovocitos maduros, los folículos se activan desde el conjunto de folículos primordiales inactivos y se desarrollan a través de primarios y secundarios antes de adquirir una cavidad antral (Adhikari, & Liu, 2009).

Los folículos ováricos están regulados por diversos factores, como las gonadotropinas, las hormonas esteroides, citosinas y factores de crecimiento. Los receptores de la hormona foliculoestimulante (FSH), estrógenos y andrógenos emergen una vez que las células de la granulosa se han desarrollado (Adhikari, & Liu, 2009; Richards, & Russel, 1998).

Las células de la teca que se desarrollan durante la etapa del folículo maduro tienen receptores a la LH y producen andrógenos. La FSH en las células de la granulosa transforma el andrógeno en estrógeno, el estrógeno incrementa el número de receptores de FSH y aumenta la sensibilidad de las células de la granulosa. Las células de la granulosa sufren un proceso de apoptosis cuando el andrógeno no puede transformarse en estrógeno. Tales cambios son cíclicos, secuenciales y están controlados por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario (Adhikari & Liu, 2009).

Los folículos experimentan las etapas de foliculogénesis, que se refiere principalmente a que el epitelio folicular se vuelve multicapa y los ovocitos tienen división meiótica (Adhikari & Liu, 2009). A continuación, se describen los folículos ováricos de acuerdo con su estadio.

- **Folículos Primordiales:** Los folículos primordiales están compuestos de una pared folicular sin capas, compuestas de células de granulosa aplanadas. Son pequeños y se encuentran en la capa más profunda de la corteza (Adhikari & Liu, 2009).
- **Folículos primarios:** Son folículos más grandes, las células del estroma que rodean el folículo comienzan a diferenciarse en células en forma de uso, que constituyen los folículos de la teca la célula de la granulosa se vuelve cuboidal y comienzan a proliferar para dar paso a los folículos secundarios (Adhikari & Liu, 2009).
- **Folículos secundarios:** Las células de la granulosa proliferan dando como resultado una pared folicular multicapa, la red folicular se vuelve multicapa y la teca se diferencia en capas internas y externas, las células internas de teca (IT) sintetizan andrógenos, y las células de la granulosa las transforman en estrógenos. Durante esta etapa se forman cavidades que unen y forman el antro, este está lleno de líquido que contiene factores de crecimiento y hormonas secretadas por la capa de la granulosa (Adhikari & Liu, 2009).
- **Folículos terciarios:** El folículo terciario tiene un antro más grande que se encuentra en la capa superficial de la corteza y causan una protuberancia en la superficie. Los tejidos entre el folículo terciario maduro (folículo de Graaf) y el epitelio germinativo del ovario erosionan hasta que el folículo se rompe (Adhikari & Liu, 2009).



**Figura 3.** Folículos ováricos. En la siguiente imagen se muestra el desarrollo de los folículos ováricos, a) Folículo primordial b) Folículo primario c) Folículo secundario d) folículo terciario o antral e) Preovulatorio. (Tomado de Rodrigo, 2018).

#### 1.5.1.4 Ovulación

La ovulación en roedores es uno de los eventos dominantes en el ciclo estral y se presenta durante el estro. Consiste en la ruptura del folículo preovulatorio que es la expulsión del ovocito secundario detenido en la etapa de diploteno de la metafase II de la meiosis, acompañado de células del cúmulo oóforo y la corona radiada (Navarrete, 2004).

En la rata, la ovulación está determinada por la concentración de estradiol ovárico y los pulsos de secreción de la GnRH y de gonadotropinas, los cuales se producen en determinadas horas y días del ciclo estral. La ovulación espontánea es dependiente de la liberación de gonadotropinas, y no del apareamiento como en aquellas especies que ovulan de manera refleja o inducida. La rata es una especie poliéstrica, es decir que cada 4 a 5 días tienen un ciclo estral completo a lo largo del año, a menos que sea interrumpida por la preñez (Navarrete, 2004).

#### 1.5.1.5 Irrigación de los ovarios

El útero y los ovarios comparten arterias y venas comunes. Una rama de la arteria uterina de la anastomosis y la arteria ovárica forman la rama ovárica de la arteria uterina. En la órbita, el suministro de sangre ovárica depende en gran medida de la arteria uterina (Macchiarelli, 2000).

El drenaje venoso de los ovarios se logra mediante las venas ováricas que están emparejadas. La vena ovárica izquierda drena en la vena renal izquierda y la vena ovárica derecha drena directamente en la vena cava inferior (Macchiarelli, 2000).

#### 1.5.1.6 Inervación de los ovarios

Los nervios ováricos en la rata se derivan del plexo celíaco, plexo inter mesentérico y la parte superior por los nervios espláncnicos lumbares. Los ganglios celíacos son conectados entre sí por asas ganglionares de fibras nerviosas (Navarrete, 2004; Pastelín et al., 2017).

El ovario recibe inervación simpática desde los segmentos espinales lumbares superiores a través de fibras nerviosas espláncnicas e inervación parasimpática a través de los nervios vagos. La inervación simpática deriva de cuerpos celulares del ganglio ovárico, con origen en la arteria ovárica y en cuerpos celulares del plexo renal y celiaco. Los nervios simpáticos son el nervio plexo ovárico (OPN) y el nervio ovárico superior (SON) que se originan en el ganglio celíaco mesentérico superior (GCMS) y ambos transportar diversos

neurotransmisores. El nervio ovárico superior tiene un trayecto con el ligamento suspensorio e inerva vasos sanguíneos, células de la glándula intersticial y células de la teca (Navarrete, 2004; Pastelín et al., 2017).

La inervación simpática juega un papel importante en el desarrollo prepuberal de la función ovárica. La inervación ovárica participa en la regulación del desarrollo folicular y la esteroidogénesis. En las ratas, los nervios autónomos llegan al ovario por dos vías: el SON en el ligamento suspensorio y el OPN que se ejecuta juntamente con la arteria y la vena ovárica. El OPN inerva el ovario, la Bursa, el oviducto y los cuernos uterinos; los axones entran por el hilio e inervan la región medular y cortical del ovario. El OPN está compuesto principalmente por fibras simpáticas y sensoriales, con una pequeña porción de fibras parasimpáticas. Las fibras simpáticas preganglionares emergen de la medula espinal en los segmentos T9 y T10 y el pericarion de las fibras simpáticas posganglionares se encuentran en los ganglios paravertebrales y prevertebral (Navarrete, 2004; Pastelín et al., 2017).

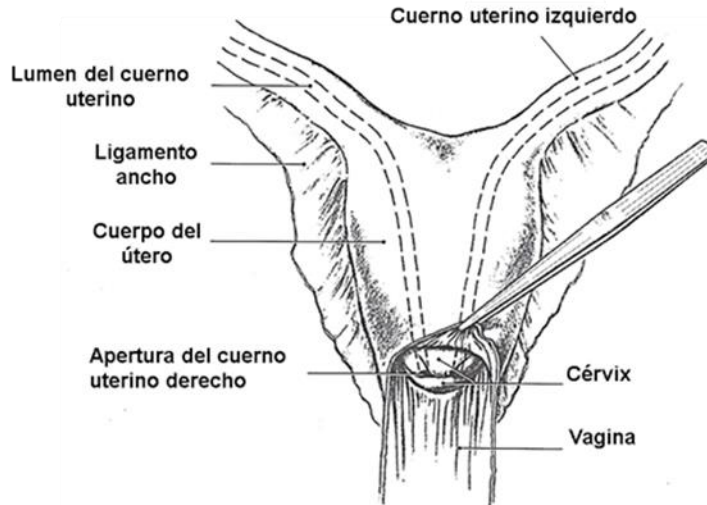
Los ovarios están rodeados de axones sensoriales que contienen péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) así como otros péptidos que están involucrados en la regulación vasomotora (Brauer & Smith, 2015; Aguado, 2002).

Las neuronas sensoriales se ubican en la parte inferior torácica y ganglios de la raíz dorsal lumbar superior (DRG) localizadas en los segmentos espinales L2-L5. Las fibras sensoriales que inervan al ovario se clasifican como nervios aferentes primarios no mielinizados o de tipo C y A $\delta$ . Se ha reportado que las fibras sensoriales expresan receptores TrkA, TrkB y CGR $\alpha$  y receptores que forman parte de la familia de receptores de potencial transitorio (TRP) como TRPV1. Los nervios que inervan al ovario contienen neurotransmisores como la sustancia P (SP), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el CGRP, galanina y neuroquinina. Las fibras parasimpáticas derivan del nervio vago. La inervación sensorial ovárica participa junto con la inervación simpática en la función ovárica regulando la secreción hormonal y esta participación varía a lo largo del ciclo estral, también se ha demostrado que la inervación sensorial juega un papel fundamental en la pubertad (Trujillo *et al.*, 2015; Morales *et al.*, 2015; Ernsberger 2009).

### 1.5.2 Útero

El útero es un órgano muscular hueco, en las mujeres tienen forma de pera y constituye parte del camino que siguen los espermatozoides depositados en la vagina hasta alcanzar las trompas de Falopio (Hershel, 2013).

El tracto genital femenino en los mamíferos surge de los conductos müllerianos, comenzando con el ostium del oviducto. En la rata, este ostium forma una cápsula completa llamada Bursa ovárica, que envuelve el ovario. Los oviductos son pequeños tubos altamente enrollados. El útero consta de dos cuernos uterinos separados, lo que permite que la rata tenga múltiples crías (Kent & Carr, 2001). Los cuernos convergen hacia una región caudal formando el cuerpo uterino, el cual continúa llegando así hasta el cuello uterino (**Figura 4**) (Mossman, 1977).



**Figura 4.** Anatomía del útero de rata (Tomado y modificado de Walker, Warren F., 1997).

Los ligamentos que sostienen el útero incluyen el ligamento útero-ovárico, el ligamento redondo, el ligamento ancho, el ligamento cardinal y los ligamentos uterosacros. Además, es apoyado (inferiormente) por el diafragma pélvico, el diafragma urogenital y el cuerpo perineal (Sosa-Stanley & Bhimji, 2011).

#### 1.5.2.1 Función

La principal función del útero es nutrir y albergar al óvulo fertilizado, que pasa a través de las trompas de Falopio. Posteriormente el óvulo es implantado en el endometrio, donde recibe nutrientes a través de los vasos sanguíneos, a medida que el embrión crece y madura, el útero se expande para acomodar al feto en desarrollo (Sosa-Stanley & Bhimji, 2011).

#### 1.5.2.2 Histología del útero de la rata

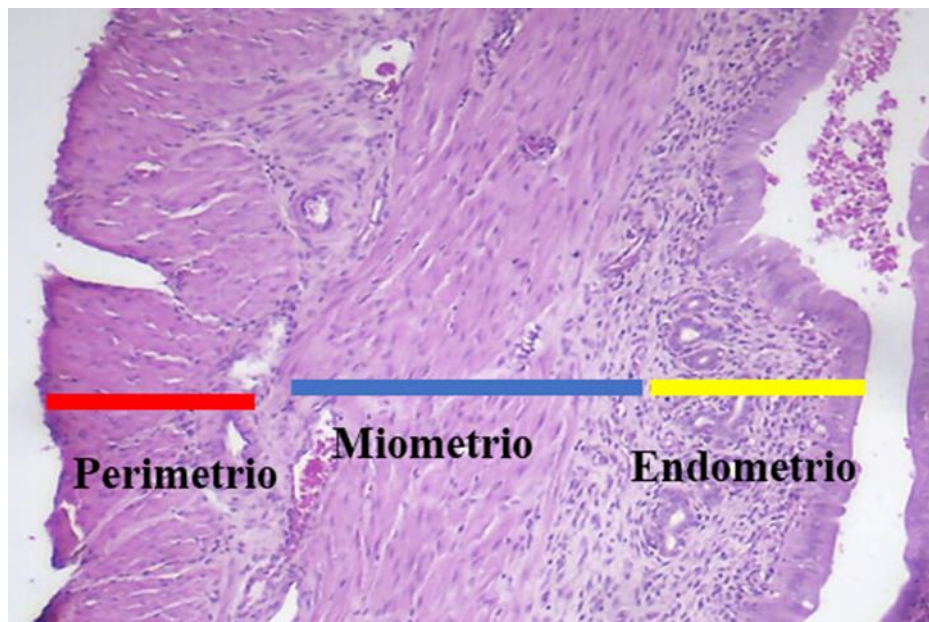
El útero comprende 3 tipos de tejidos, en la **figura 5** se puede observar una microfotografía del corte histológico de cada tejido.

**Endometrio:** Tiene dos capas, la capa superficial presenta una lámina epitelial de la mucosa, está constituido por epitelio cilíndrico simple que reviste el lumen del útero posee células cilíndricas secretorias con cilios, y una capa basal que contiene glándulas tubulares simples o ramificadas que se extienden hacia el miometrio. La capa funcional del endometrio responde a las hormonas reproductivas. Por debajo de este epitelio se lo caliza una capa de tejido conectivo laxo altamente vascularizado (Sosa-Stanley y Bhimji, 2011; Kuehnel, 2003; Valdez & García 2017).

**Miometrio:** Presenta dos capas de músculo liso, una capa circular interna muy gruesa y la otra se presenta como longitudinal externa. El número y tamaño de las fibras

musculares se relaciona en forma directa con las concentraciones de estrógenos. Cuando se produce estrógeno en abundancia, como es el caso del embarazo, las fibras musculares son más grandes y abundantes (Sosa-Stanley & Bhimji, 2011; Kuehnel, 2003; Valdez & García 2017).

**Perimetrio:** Es una capa serosa de tejido conjuntivo laxo que proporciona nutrientes al epitelio a través de vasos sanguíneos y contiene ganglios simpáticos y fibras nerviosas del plexo hipogástrico (Sosa-Stanley & Bhimji, 2011; Kuehnel, 2003; Valdez & García 2017).



*Figura 5. Corte histológico del útero de rata Wistar posparto, se puede observar las tres capas de tejido que lo conforman. Tinción H&E. El perimetrio está marcado con la línea roja, es la capa más externa del útero, el miometrio está marcada con la línea azul, es una capa compuesta de músculo liso y el endometrio está marcada de amarillo la cual es la capa interna que responde a las hormonas productivas (Foto a 10x tomada en el Laboratorio de Neuroendocrinología de la FCQ-BUAP).*

### 1.5.2.3 Irrigación del útero

En la rata, generalmente las arterias segmentadas surgen como ramas de la anastomosis arterial ovario-uterina y entran al útero a lo largo del borde mesometrial, las arterias segmentarias surgen de bucles o asas arteriales que se ramifican, circulan paralelamente y luego vuelven a unirse a la arteria ovárica-uterina (Rogers & Gannon, 1981).

Las arterias segmentarias pasan entre las capas del miometrio, estas se ramifican varias veces antes de alcanzar el músculo circular del mesometrio (Rogers & Gannon, 1981). Las ramas arteriales pueden encontrarse en la parte dorsal o ventral, justo alrededor del útero, formando las “arterias circunferenciales” o pueden dividirse formando una correa de pequeñas arterias que irrigan el endometrio en la región del mesometrio; también a esta pequeña área de tejido se le conoce como triángulo mesometrial (Rogers & Gannon, 1981).

Las arterias circunferenciales siguen una trayectoria tortuosa alrededor del útero entre las capas musculares longitudinales y circulares. Los capilares musculares longitudinales, se derivan de las arterias circunferenciales formando pequeños bucles paralelos y regulares (Rogers & Gannon, 1981).

El endometrio es suministrado por las arterias que surgen de cada arteria circunferencial, denominadas arterias espirales, su apariencia es similar a la de un sacacorchos. Algunas arterias espirales se estrechan cuando pasan a través de la capa muscular circular. En el endometrio continuarán hacia el lumen sin ramificaciones, antes de dividirse para formar el plexo capilar subepitelial o a su vez pueden ramificarse varias veces en el endometrio con cada rama subdividida aún más antes de unir el plexo capilar luminal. Los capilares del plexo subepitelial tienen un patrón complejo de conexión, con rutas largas, intermedias y cortas entre cualquier arteriola y vénula (Rogers & Gannon, 1981).

Las glándulas dentro del endometrio tienen un esqueleto vascular, contiene capilares que suministran por medio de una arteriola en un lado y drenado por una vénula en el otro lado. Los capilares de las glándulas a menudo están juntos del plexo subepitelial que rodea las bocas de las glándulas, el retorno venoso del endometrio consiste en una serie de vénulas cortas y relativamente gruesas que se unen antes de vaciarse en una vena circunferencial. A diferencia del suministro arterial, hay venas circunferenciales en dos niveles: entre el endometrio y miometrio y entre las capas musculares longitudinales y circulares del miometrio (Rogers & Gannon, 1981).

Las venas circunferenciales de los dos niveles se conectan hacia el lado mesometrial del útero, donde el vaso interno pasa a través de la capa circular músculo para unirse al vaso externo. No hay venas equivalentes a las arterias del triángulo mesometrial, lo que sugiere que la sangre de esta área drena a áreas adyacente a través del capilar su epitelial plexo. Los capilares de la capa muscular longitudinal se conectan a la vena circunferencial externa, mientras que los de la capa muscular circular se conectan a las venas circunferenciales interna y externa (Rogers & Gannon, 1981).

Las venas circunferenciales dorsales y ventrales basal al mesometrio donde se unen entre sí y con venas circunferenciales de áreas adyacentes del útero para formar las venas segmentarias. Al igual que con las arterias segmentarias, se pueden encontrar asas venosas dentro del mesometrio (Rogers & Gannon, 1981).

#### *1.5.2.4 Inervación del útero*

El útero está inervado por nervios simpáticos, parasimpáticos y sensoriales que inervan principalmente los vasos sanguíneos y el músculo liso miometrial. La inervación uterina regula la actividad contráctil del músculo liso vascular y no vascular, regula secreciones glandulares, interacciones de las células inmunes y transmiten información al sistema nervioso central. La contractilidad uterina está mediada por mecanismos hormonales. Los estrógenos, las prostaglandinas y la oxitocina producen contracción y la progesterona relajación (Brauer & Smith 2015; Gnanamanickam & Llewellyn-Smith 2011).

En la rata, el 90% de las fibras nerviosas simpáticas que inervan la parte superior del cuerno uterino se originan a partir de neuronas en los ganglios suprarrenales y de la cadena simpática T10-L3, mientras que la inervación del útero inferior y el cuello uterino se origina en los ganglios paravertebrales, principalmente en el L2- Nivel L4 (Brauer & Smith 2015; Gnanamanickam & Llewellyn-Smith 2011). Nance *et al* en 1988 demostró que en la rata las fibras que inervan la región craneal del cuerno uterino surgen de los segmentos vertebrales T13-L1, mientras que las neuronas en los ganglios L6 y S1 inervan la región caudal del cuerno uterino. Los ganglios nodosos a través del nervio vago contribuyen a la inervación aferente del útero de la rata (Brauer & Smith 2015; Gnanamanickam & Llewellyn-Smith 2011).

A diferencia de las ratas algunas especies como las cobayas y humanos tienen una inervación simpática en el cuerpo uterino y surge de las neuronas en el plexo pélvico ubicado en la unión útero-vaginal. La densidad total de la inervación varía entre una especie y otra. La densidad uterina es más pesada en el extremo del cuerno uterino y del cuello uterino que en las partes principales del cuerno (Mowa et al., 2004; Chaban, 2008).

La inervación sensorial del útero está dada por las fibras sensoriales que inervan al útero y cuello uterino; están compuestas por fibras de tipo C y A $\delta$ , las cuales provienen de las DRGs de las regiones espinales L1-L5 y S1-S3. Las fibras sensoriales del útero tienen una inervación que pasa a través de los nervios simpáticos, va de la T10 a la L1 y del cuello uterino a través de los nervios parasimpáticos y va desde la S2 a la S4, las fibras sensoriales simpáticas y para simpáticas también inervan la vejiga urinaria, vagina y el tracto gastrointestinal distal (Mowa et al., 2004; Tingaker et al., 2010; Chaban, 2008).

Las neuronas sensoriales del DRG sintetizan múltiples neurotransmisores incluidos los neuropéptidos, entre ellos el CGRP, SP, secretoneurina (SN), neuroquinina A, colecistoquinina, somatostatina, factor nervioso derivado del cerebro (BDNF) y polipéptido activador de adenilato ciclasa entre otros; SP, SN y CGRP son neurotransmisores de interés de estudio, ya que en el nacimiento se expresan en neuronas sensoriales sensibles a capsaicina que tienen terminales en los tractos reproductivos (Mowa et al., 2004; Tingaker et al., 2010; Chaban, 2008).

La inervación uterina tiene la capacidad de cambiar debido al tipo de estímulo que tenga, un ejemplo de esto son las fluctuaciones fisiológicas en los niveles de hormonas sexuales. El cuerpo uterino durante la gestación está casi desnervado es decir sufre una remodelación cervical. Aunque los tejidos del aparato reproductor están inervados por nervios de los ganglios autónomos pélvicos parasimpáticos, la raíz dorsal sensorial y los ganglios nodosos algunas de sus funciones se han atribuido en gran medida a las hormonas esteroides sexuales. Una hormona importante durante este proceso son los estrógenos ya que pueden inducir inflamación fisiológica durante la remodelación cervical al promover la expresión del factor de crecimiento del endotelio vascular, también puede producir cambio en la capacidad de respuesta de las neuronas a las neurotrofina y están mediadas por dos receptores como TrkA y p75NTR. (Mowa et al., 2004; Tingaker et al., 2010; Chaban, 2008).

A diferencia de la inervación uterina, la inervación cervical permanece durante el embarazo y parto. En ratas se ha demostrado menos conexiones entre las subdivisiones sensoriales en los segmentos de la médula espinal y el cuello uterino. El receptor TRPV1 es clave para la nocicepción, se ha identificado durante el embarazo y el parto, ayuda a la vascularización de órganos periféricos y perciben estiramiento y presión dicha información es transmitida gracias al SNC por medio de las vías nerviosas ascendentes (Aguado, 2002), sin embargo, el papel de los receptores TRPV1 en la gestación aún es desconocido.

### **1.6 Receptor de potencial transitorio vanilloide tipo 1 (TRPV1)**

Los receptores TRP son proteínas que se encuentran en diferentes especies de mamíferos, funcionan como canales catiónicos no selectivos (Tominaga & Tominaga 2005). Se expresan en las neuronas sensoriales y detectan el dolor, estímulos térmicos, cambios en el entorno, olores y sabores. Los receptores TRP se clasifican en seis subfamilias; TRPC (canonical), TRPV (vanilloide), TRPM (melastina), TRMPML (mucolipina), TRPP (poli cistina), TRPA (ankirina) (Tominaga & Tominaga 2005).

De las seis subfamilias se ha visto que el canal TRPV tiene mayor importancia farmacológica, comprende varias funciones en procesos antiinflamatorios, carcinógenos y se ha usado como diana para el tratamiento del dolor (Salazar *et al.*, 2009 Hausrate, *et al.*, 2020). El canal TRPV se divide también en seis familias TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPV5, TRPV6. Los primeros cuatro se expresan en neuronas sensibles al dolor donde actúan por estímulos térmicos y químicos, los últimos dos están involucrados en la absorción/reabsorción renal de calcio (Clapham, 2002).

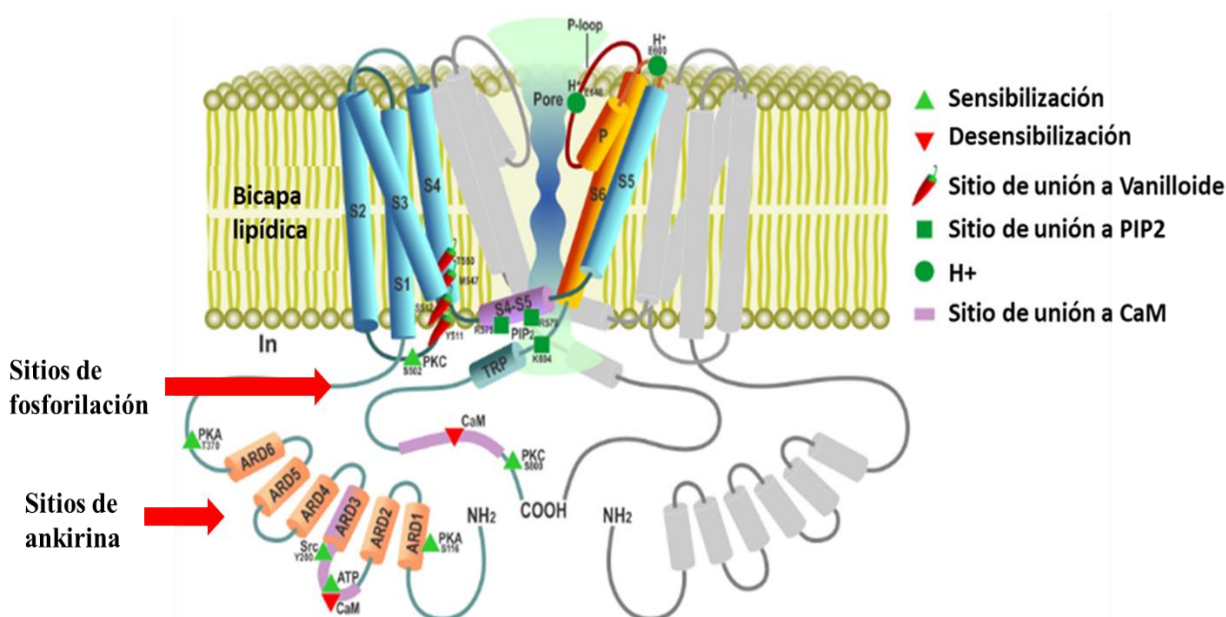
Los receptores TRPV están presentes en la fibra C sensoriales y en las fibras A $\delta$  y tiene como ligandos los capsaicinoides, los resiniferanoides, cannabinoides, los resiniferanoides y otros derivados de las plantas (Clapham *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 2020). El receptor TRPV1 es uno de los más estudiados, responde a estímulos por medio de sustancias químicas nocivas y térmicas; está involucrado en la nocicepción y la inflamación, este estímulo sucede en las terminales periféricas de las neuronas aferentes. (Clapham *et al.*, 2002; Jin *et al.*, 2020).

#### *1.6.1 Estructura molecular y función de los receptores TRPV1*

El receptor potencial transitorio vanilloide tipo 1 también conocido como TRPV1, es una proteína de 838 aminoácidos, con un peso de 95 kDa, que consta de seis dominios transmembranales (TM) (**Figura 6**). La región de los poros contiene ácidos glutámicos que intervienen en la activación del receptor dependiente del pH. El quinto y sexto dominio forman un poro que permite el paso a cationes divalentes y monovalentes (Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Na<sup>+</sup>), y tiene la característica de ser anfipático. El dominio N-terminal y C-terminal son intracelulares, el dominio N-terminal consta de 3 sitios de ankirina los cuales son importantes ya que tiene sitios de interacción proteína-proteína, mientras que el dominio C-terminal tiene sitios de fosforilación, los cuales desensibilizan o activan al receptor (Tominaga & Tominaga 2005).

Una característica del TRPV1 es la formación de canales que pueden presentarse como homo o multímeros siendo el homotetrámero la forma de expresión predominante (Pingle *et al.*, 2007; Xia *et al.*, 2011).

Los receptores TRPV1 pueden ser activados por diversos agentes como el calor (temperatura >43°), protones (acidificación), ligandos endógenos (anandamida, N-oleonil-dopamina, lipoxigenasa, bradicinina, histamina, interleucinas y neuro cininas) y ligandos exógenos como la capsaicina. En ratones “knock-out” se probó que los receptores TRPV1 son esenciales para la sensación del dolor, la hiperalgesia y la inflamación (González Flores, 2015; Tominaga, 2007).



**Figura 6.** Modelo que representa la topología de la membrana, la estructura del dominio y las regiones involucradas en regulación de la función TRPV1. En el dominio N-terminal se observan los sitios de ankirina y en el dominio C terminal los sitios de fosforilación (Tomado y modificado de Tominaga, 2007).

### 1.6.2 Permeabilidad, selectividad y sensibilización de los receptores TRPV1

El TRPV1 es un canal catiónico no selectivo, con una selectividad casi igual a Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, Cs y Rb<sup>+</sup>, tiene una selectividad moderada para cationes divalentes como Mg<sup>+2</sup> y Ca<sup>+2</sup>. El TRPV1 es conocido por ser un canal promiscuo, es decir puede ser activado por calor, es muy permeable a protones y grandes cationes polivalentes, además de ser permeable a colorantes catiónicos y antibióticos aminoglucósidos (Tominaga, 2007).

La sensibilización del TRPV1 puede deberse a la activación directa de metabolitos de algunos compuestos como la anandamida, N-araquidonoil-dopamina (NADA), N-oleoil-dopamina y el ácido 12-hidroperoxieicosatetraenoico (12-HPETE) (Benarroch, 2015). Existen muchas vías de señalización que se activan o inhiben por TRPV1, el receptor contiene múltiples sitios de fosforilación tales como la proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa A (PKA) y proteína quinasa II dependiente de calcio (Rosenbaum, 2007).

Los activadores de la PKC potencian la activación del receptor TRPV1 inducida por capsaicina, la activación de PKC intracelular da como resultado una mayor sensibilidad de TRPV1 a la capsaicina a un pH y calor bajo (6.4 y <43° C), para que se lleve a cabo la activación de PKC tiene que ocurrir una fosforilación directa del TRPV1 e hidrólisis de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2), este es un regulador negativo de TRPV1; la hidrólisis de PIP2 se da por la fosfolipasa C (PLC), la PLC cataliza la hidrólisis de PIP2 a trifosfato de inositol (IP3) y diacilglicerol (DAG) (Cortright, & Szallasi, 2004; Prescott & Julius, 2003).

La proteína quinasa A dependiente de AMP cíclico, fosforila directamente al receptor TRPV1, causando la desensibilización del canal permitiendo una mayor sensibilidad a la anandamida. El aumento de la actividad de la proteína quinasa, no sólo activa el receptor, sino que también puede desempeñar el papel de activación/sensibilización de las corrientes de TRPV1 por el factor de crecimiento nervioso y la bradicinina (Cortright, & Szallasi, 2004). Un determinante estructural de la desensibilización de TRPV1 es la interacción de CaM en sitios ubicados de las regiones N y C terminal. Esta desensibilización ocurre por las diferencias en el sitio de unión de CaM que se encuentran en el extremo C terminal, este sitio de unión es el segmento de 35 aminoácidos del TRPV1 y la interrupción del segmento de unión a CaM evita su desensibilización.

La desfosforilación por CaM de TRPV1 en respuesta a la elevación de la concentración de calcio puede inhibir la actividad del canal, por lo tanto, la retroalimentación negativa puede ser un mecanismo importante de desensibilización inducido por capsaicina (Numazaki *et al.*, 2003; Cortright, & Szallasi, 2004; Benítez-Angeles *et al.*, 2020).

Otra forma de activar a los receptores es por medio de los cannabinoides que estimulan al receptor TRPV1 aumentando la liberación de CGRP e induce la relajación vascular. Para el útero, el 55% de las fibras aferentes de los segmentos espinales T12-L2 que lo inervan expresan receptores TRPV1, P2X3, CGRP y somatostatina, importantes vías sensoriales que regulan el flujo sanguíneo y la nocicepción en DRG y ganglio trigémino (Benarroch, 2015).

### 1.6.3 Localización de los receptores TRPV1

En los últimos años, diversos estudios han mostrado la expresión y la presencia del receptor TRPV1 en tejidos periféricos como: sistema nervioso periférico, cerebro, médula espinal, lengua, piel y vejiga.

El TRPV1 está presente en los queratinocitos, las células del epitelio de la uretra y del tubo digestivo en sus diferentes segmentos como en el plexo nervioso submucoso del tracto intestinal, células parietales. También en células del endotelio vascular, en células del sistema inmune (células T y mastocitos), células musculares, fibroblastos, en el sistema respiratorio, parénquima pulmonar y hepatocitos (Tominaga, 2007; González Flores, 2015).

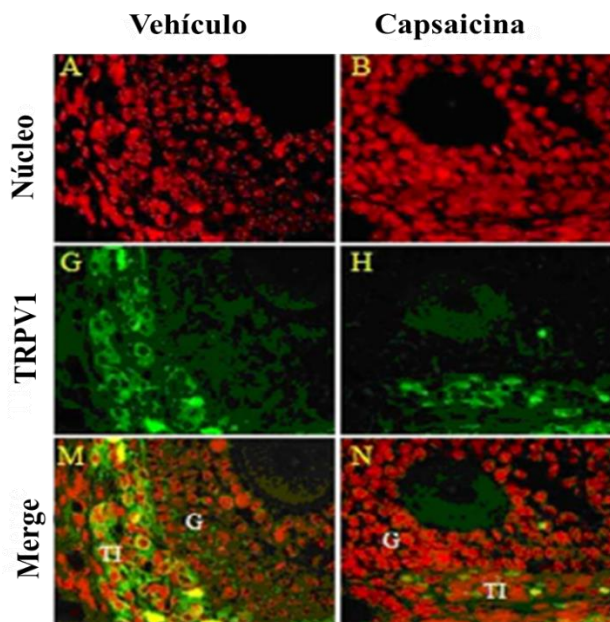
En mamíferos, TRPV1 se puede encontrar en las fibras nerviosas tipo C y fibras nerviosas sensoriales tipo A $\delta$ . La mayor expresión del receptor se encuentra en un pequeño diámetro de nociceptores aferentes de la raíz dorsal, nervio trigémino y ganglios nodosos (NG) (Tominaga, 2007; González Flores, 2015). En el sistema nervioso periférico hay una

alta expresión de los receptores TRPV1 en DRG, ganglios del trigémino (TG) y NG. El TRPV1 se expresa también en neuronas peptidérgicas, las cuales son importantes en el desarrollo del dolor y la inflamación y en neuronas no peptidérgicas, estas desempeñan un papel fundamental en la mediación del dolor crónico; en el sistema nervioso central los receptores TRPV1 se expresan en el tálamo, el cuerpo estriado y la amígdala (Tominaga, 2007; González Flores. 2015).

Como ya se ha mencionado antes, el receptor TRPV1 no sólo se encuentra en diversos órganos y tejidos periféricos, también existe evidencia de que está presente en órganos del sistema reproductor femenino como el ovario y el útero (Benarroch, 2015).

### 1.6.3.1 TRPV1 en ovario

En el laboratorio de neuroendocrinología mediante la técnica de inmunohistoquímica (**Figura 7**) se ha observado que la expresión del receptor TRPV1 es baja en las células tecales de FPS, FPA y FAA en el ovario de cobaya, mientras que, a la edad de la PAV, las células tecales de los FAS tienen alta expresión de TRPV1. Al evaluar el funcionamiento de los receptores TRPV1 y el desarrollo folicular a la edad de la PAV en cobayas administradas con capsaicina a una concentración de 30 nM en cobayas al P10, se encontró que el número de FPS y FPA y FAS disminuyó y el número de FAA aumentó (González Flores, 2015, Alatríste *et al.*, 2013).



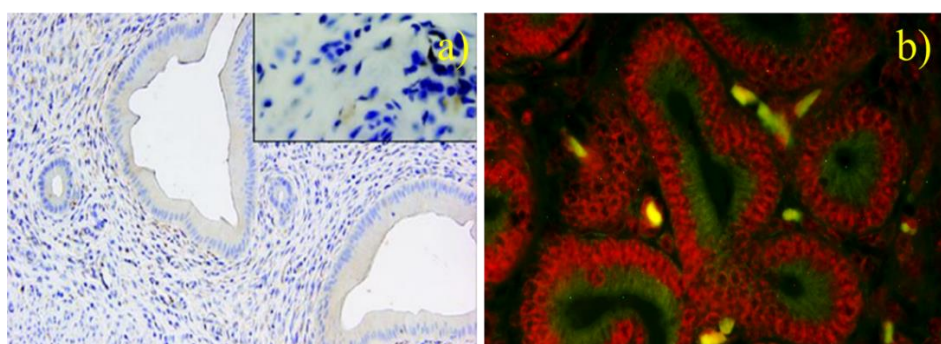
**Figura 7.** Inmunohistoquímica de los receptores TRPV1 en ovario de cobayas tratados con capsaicina en animales a los que se administró vehículo o capsaicina (30 nM) por administración subcutánea al P10. (Alatríste *et al.*, 2013)

### 1.6.3.2 TRPV1 en útero

Los receptores TRPV1 tienen expresión en el endometrio humano, estos receptores se encuentran ubicados en la región lumbar (L1) y sacra (S2-S3) de la médula espinal.

El receptor está presente en epitelios luminales y glandulares del endometrio de humanos, ratas, ratones y cerdos (González Flores, 2015). La regulación e importancia funcional en el endometrio revela que, en las fibras nerviosas del útero y el cérvix, TRPV1 está presente durante el embarazo y trabajo de parto. Los cambios en la inervación uterina están documentados mostrando una disminución de fibras nerviosas en el embarazo, pero la inervación se conserva en el cuello uterino (Tingåker, *et al.*, 2008; Pohóczky, 2016).

En la **figura 8** se muestran algunas imágenes de la presencia del receptor TRPV1 por medio de la tinción inmunohistoquímica.

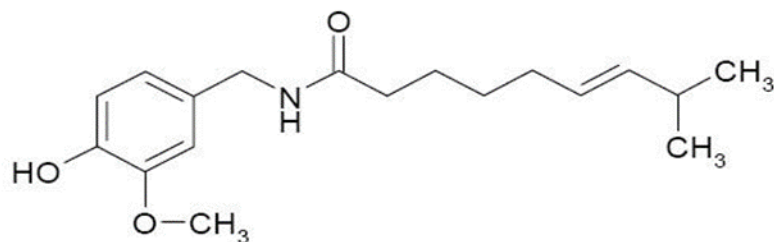


**Figura 8.** La figura a) representa una Inmunohistoquímica de los receptores TRPV1 localizado en el endometrio de ratas Wistar. (Pohoczky *et al.*, 2016), la figura b) inmunohistoquímica de la expresión del receptor TRPV1 en glándulas endometriales de cobaya. (microfotografía tomada de Zeron 2020)

### 1.6.4 Capsaicina como agonista selectivo del receptor TRPV1

La capsaicina (8-metil-N-vainillil-6-nonenamida) es el componente picante del chile y es el vanilloide más abundante y potente de la especie de *capsicum* (**Figura 9**). La capsaicina es capaz de activar la corriente de calcio de los receptores TRPV1 (Pingle *et al.*, 2007; Mora López 2015), los nociceptores C y A $\delta$  inducen la liberación de péptidos y otros transmisores desde sus terminales periféricas y centrales. (Mora, 2015; Welch *et al.*, 2000).

Se ha reportado que el receptor TRPV1 tiene dos sitios de unión a vanilloide (Pingle *et al.*, 2007; Xia *et al.*, 2011), uno se encuentra entre la subunidad 2 y 3, específicamente, en los residuos tirosina 511 y serina 512 y el otro en el dominio C-terminal de la proteína. Son altamente lipofílicos y comparten similitud estructural con varios ácidos grasos endógenos que se han identificado como agonistas de TRPV1 (Pingle *et al.*, 2007; Mora, 2015).



**Figura 9.** Molécula de capsaicina (IUPAC, 8-Metil-N-vanillil-6-nonenamida). Es una molécula con propiedades lipofílicas (Tomado de Cedron, 2013).

La activación del TRPV1 mediante capsaicina a altas dosis, tiene la capacidad de bloquear fibras aferentes primarias C y A $\delta$ , afectan el sistema nervioso periférico sensitivo (Villoria, 2007). A nivel ovárico se ha observado que una estimulación constante del TRPV1 por medio de capsaicina, causa un menor desarrollo de los folículos ováricos y puede ser resultado del bloqueo de la corriente de Ca<sup>2+</sup> por los receptores TRPV1, un fenómeno fisiológico regulado por el factor de crecimiento nervioso (NGF) (Trujillo *et al.*, 2015).

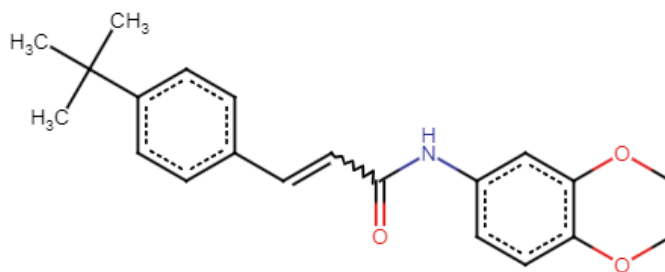
También se ha demostrado experimentalmente que la administración con capsaicina en ovarios da como resultado un aumento significativo en los niveles de noradrenalina intraovárica. Este aumento se debe a una disminución de las fibras tipo C, lo cual produce una mayor concentración de noradrenalina intraovárica (Trujillo *et al.*, 2015).

#### 1.6.5 AMG9810 como antagonista selectivo de receptor TRPV1

El AMG9810 es una molécula sintética que se ha propuesto como un antagonista selectivo a los receptores TRPV1 (**Figura 10**).

AMG9810 es un antagonista competitivo, bloquea la activación del receptor TRPV1, bloquea la despolarización provocada por la capsaicina y la liberación de péptidos relacionados con el gen de la calcitonina.

Se ha observado que en cultivos de neuronas de los DRG administradas previamente con capsaicina, el AMG9810 es capaz de revertir la respuesta de nocicepción. Mientras que, en ratones, el AMG9810 disminuyó la secreción de lágrimas producidos por la capsaicina. En otro estudio en ratas y ratones este antagonista revirtió la sensación térmica y la hiperalgesia mecánica. (Gavva *et al.*, 2004).



**Figura 10.** Molécula de AMG9810 (IUPAC, -(4-tert-butylphenyl)-N-(2,3-dihidro-1,4-benzodioxin-7-yl)prop-2-enamide). BPS Guide to pharmacology .

#### 1.6.6 Modelo de estudio: rata Wistar

Las ratas Wistar pertenecen a la especie *Rattus norvegicus*, son ratas albinas que tienen una cabeza ancha, orejas largas y una longitud de la cola que es inferior a la longitud de su cuerpo.

Esta variedad fue desarrollada en el Instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica. Las ratas tienen un ciclo reproductor poliéstrica continuo de 4-5 días. Alcanza la pubertad con la primera apertura vaginal (PAV) a los 39 días de vida con un peso de 150 a 180 g aproximadamente. El tiempo de gestación comprende de 21-22 días, con camadas de 7-14 crías por parto (Maeda *et al.*, 2000; Gonzáles *et al.*, 2011; Zakaria & Huda, 2012).

Las ratas Wistar son ratas dóciles y fáciles de manejar, su uso ha incursionado en investigaciones para pruebas de seguridad y eficacia de medicamentos, oncología, toxicología, enfermedades infecciosas, etc.

Las ratas Wistar son excelentes modelos experimentales para estudios de biología de la reproducción. En los años noventa se tomó como modelo esta cepa para estudiar la función reproductiva, ciclo estral de la rata, fue estudiada en el instituto de Biología Experimental de la Universidad de California Berkeley (Abraham, 1922).

## 2 JUSTIFICACIÓN

La gestación es un periodo que está comprendido entre la fecundación y el nacimiento. Para que se lleve a cabo el proceso, son necesarios diferentes moduladores hormonales, neurotransmisores y receptores, por lo que el tiempo de gestación puede variar entre una especie y otra. El periodo de gestación en ratas puede ir de 21 a 23 días, mientras que, en otras especies es de 3 hasta 9 meses como es el caso de perros, vacas o humanos.

Los receptores TRPV1 se expresan en diversos tejidos; como en las neuronas sensoriales, neuronas del sistema nervioso periférico, amígdala y también en órganos sexuales como ovario y útero. El receptor TRPV1 en neuronas sensoriales y sistema nervioso periférico tiene la función de detectar el dolor y estímulos térmicos mientras que en las amígdalas el receptor tiene relación con la toma de decisiones, conductas, etc. En la piel estos receptores están presentes en las fibras sensoriales C y A $\delta$  y son ligando para los capsaicinoides, los resiniferanoides, cannabinoides, y otros derivados de las plantas. Finalmente, en los órganos sexuales estimula el desarrollo celular en órganos como en el ovario y útero (Clapham *et al.*, 2002).

La expresión del receptor TRPV1 no sólo está presente en DRG, ganglios del trigémino (TG) y ganglios nodosos (NG); también se expresa en neuronas peptidérgicas, en células del epitelio de la uretra y del tubo digestivo en sus diferentes segmentos (Tominaga, 2007; González, 2015). En algunos órganos o sistemas, estos receptores han sido estudiados de manera más extensa, sin embargo, no se ha profundizado en el estudio de la expresión del receptor en el aparato reproductor femenino. Estudios previos en nuestro laboratorio se ha comprobado la expresión de los receptores TRPV1 en las células del ovario en cobayas tratados con capsaicina, dando como resultado que a una alta concentración exista retraso de la pubertad y disminución del número de células TRPV1-positivas en los folículos ováricos, en DGR y en la médula espinal (Alatraste *et al.*, 2013). Mientras que en el útero se ha demostrado la presencia de receptores TRPV1 en la región lumbar (González, 2015; Alatraste *et al.*, 2013).

La administración con capsaicina es de gran relevancia ya que al ser un agonista de los receptores TRPV1 tiene una mayor afinidad y se une al canal hacia las neuronas de DGR y neuronas del tipo sensorial del útero y ovario.

Es por ello por lo que en la presente tesis se estudia el efecto de la administración de capsaicina y AMG9810, por medio de una administración subcutánea dorsal a una concentración de 1nM y cuál es su relación con la fertilidad y la gestación. Ya que no hay estudios que demuestren cuál es el papel de la capsaicina y su relación con el receptor TRPV1 en la gestación. Por lo que, los resultados obtenidos aumentarán el conocimiento sobre la participación de los receptores TRPV1 en la fertilidad y la gestación.

### **3 HIPÓTESIS**

La administración subcutánea de capsaicina 1nM o AMG9810 1nM modula la preñez y el periodo de gestación en ratas Wistar.

### **4 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la administración subcutánea de capsaicina 1nM o AMG9810 1nM en ratas Wistar vírgenes y su participación en la preñez y gestación.

#### **Objetivos particulares**

- 1) Evaluar el efecto de la administración subcutánea de capsaicina 1nM sobre la fertilización de ratas Wistar.
- 2) Evaluar el efecto de la administración subcutánea de AMG9810 1nM sobre la fertilización de ratas Wistar.
- 3) Evaluar el desarrollo folicular ovárico posparto de ratas Wistar adultas que fueron administradas con capsaicina 1nM o AMG9810 1nM.
- 4) Evaluar el grosor de las capas uterinas de ratas Wistar adultas que fueron administradas con capsaicina 1nM o AMG9810.

## **5 METODOLOGÍA**

En este apartado se describe la metodología para el desarrollo de la parte experimental de este trabajo. Todos los procedimientos, mantenimiento y disección de los animales están especificados en la NOM-062-ZOO-1999 y el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Así mismo, se acreditó el curso de manejo y cuidado de animales de laboratorio impartido por el Bioterio Claude Bernard.


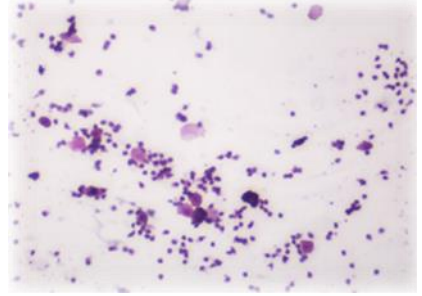
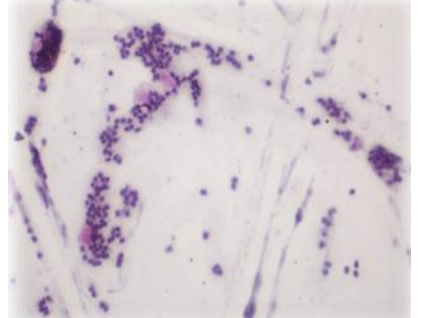
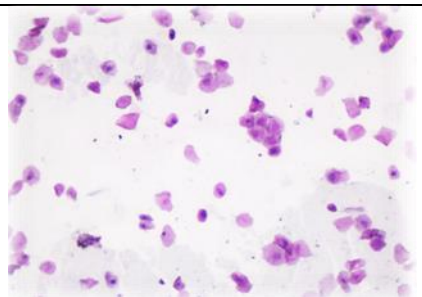
### **5.1 Animales**

Se trabajó con 16 ratas hembra de la cepa Wistar que fueron mantenidas con ciclos de luz-oscuridad de 12/12 horas, con alimento y agua a libre acceso en el Bioterio Claude Bernard de la BUAP.

Los criterios de inclusión que se tomaron en cuenta en este trabajo fue un peso mayor o igual a 180 g, además de la edad siendo estas adultas jóvenes y que cumplan con un ciclo estral estable. Se dividieron en 4 grupos experimentales, el grupo control (animales sin administrar; n=4), grupo vehículo (administradas con solución salina isotónica; n=4), grupo Capsaicina (1 nM/kg; n=4) y finalmente el grupo AMG9810 (1 nM/kg; n=4).

### **5.2 Administración de Capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM**

Antes de las administraciones se realizó el monitoreo del ciclo estral de las ratas mediante una citología vaginal para determinar que todas tuvieran un ciclo estral regular. La administración subcutánea tanto del vehículo como de la capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM se realizó en la zona dorsal. Antes de la administración se realizó la citología vaginal para comprobar que la etapa del ciclo estral correspondiera al estro y diestro y así proceder a la administración. Las administraciones fueron realizadas en dos fases del ciclo estral, en el estro y diestro, con un total de 9 administraciones de las cuales cinco fueron en estro y cuatro en diestro.

<b>Etapa</b>	<b>Descripción</b>	<b>Frotis</b>
<b>Estro</b>	Gran cantidad de células epiteliales.	
<b>Metaestro</b>	Gran cantidad de leucocitos y pocas células epiteliales.	
<b>Diestro</b>	Mayoría de leucocitos, pocas células epiteliales y pocas células nucleadas.	
<b>Proestro</b>	Gran cantidad de células nucleadas y poca de leucocitos.	

*Tabla 1. Ciclo estral de ratas jóvenes de la cepa Wistar*

### **5.3 Cópula**

Al término de las administraciones, las ratas hembra se pusieron a cópula con el macho al día siguiente, para verificar si la rata estaba preñada se realizó citología vaginal para observar la presencia de espermatozoides en la zona vaginal, tomándolo como indicativo de cópula; otra forma de evaluar la cópula fue la observación de un tapón vaginal.

#### **5.4 Gestación y Postparto**

El tiempo de gestación previsto fue de aproximadamente 23 días, durante este periodo se llevó un control del tiempo de gestación y de peso de cada rata hasta el día del parto.

Para cada rata se hizo un calendario estimando de la fecha de parto para así separarlas de las demás y que pudiesen parir sin problemas.

Después del parto se pesó a la rata y se realizó el sexado de todas las crías.

#### **5.5 Eutanasia y obtención de los tejidos**

La eutanasia de los animales se realizó posparto, para este procedimiento los animales se sometieron a una cámara de CO<sub>2</sub>, posteriormente se realizó una perfusión intracardiaca con solución salina isotónica y paraformaldehído al 4% en buffer de fosfatos (PBS) para preservar los tejidos, finalmente se prosigió a la disección del útero y los ovarios.

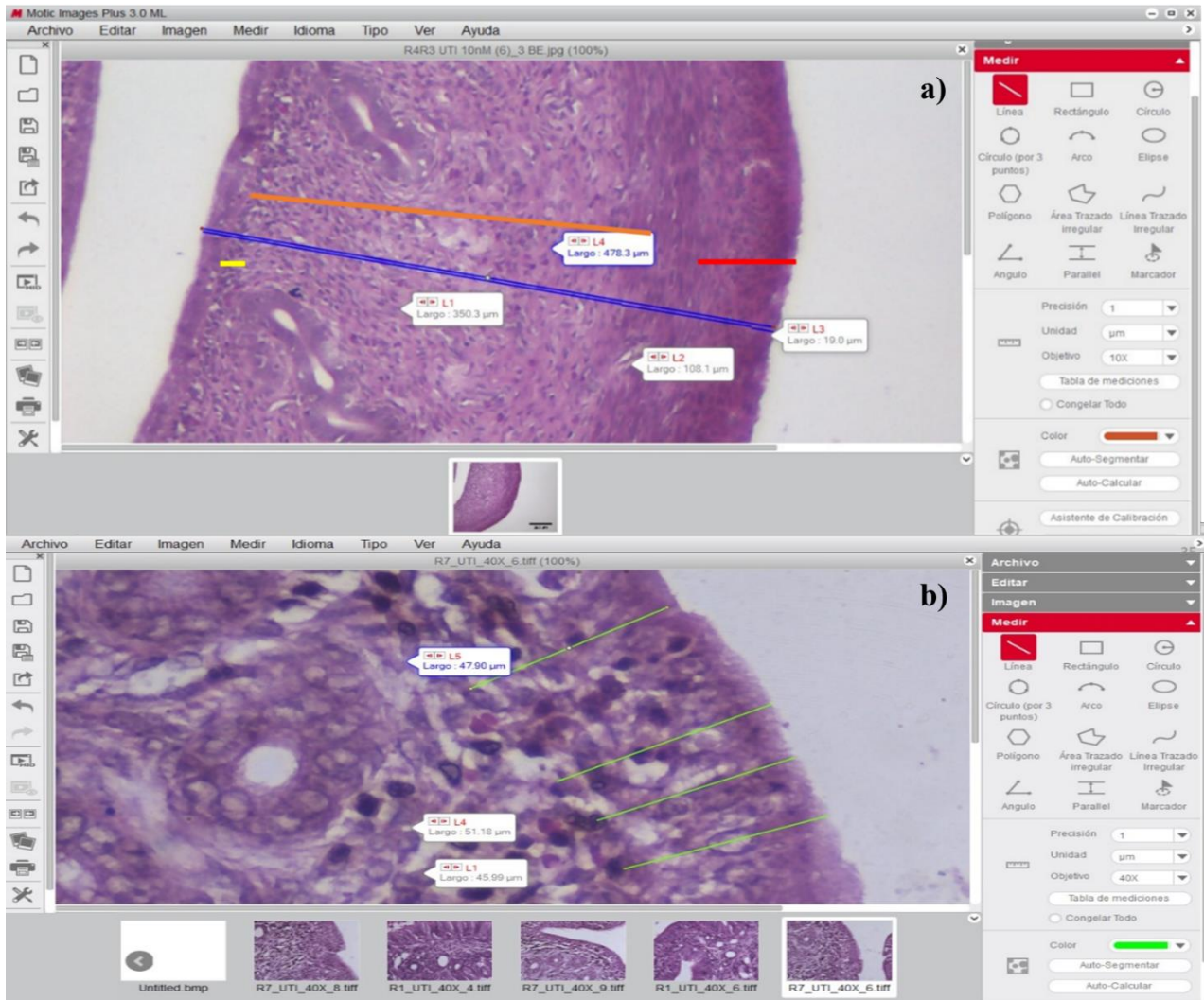
#### **5.6 Tratamiento de los tejidos y análisis histológico.**

Los tejidos obtenidos se almacenaron en paraformaldehído al 4% en PBS para continuar con la fijación del tejido. Posterior a esto se deshidrataron y se incluyeron en bloques de parafina para luego realizar cortes histológicos con un grosor de 5µm y finalmente realizar las respectivas tinciones como Hematoxilina & Eosina (H & E), Tricrómica de Masson para su análisis histológico.

La tinción de H & E es una de las tinciones más utilizadas para el estudio de los tejidos a nivel histológico, la hematoxilina nos ayuda a colorear las estructuras ácidas de un color azul-púrpura, principalmente los ácidos nucleicos en los núcleos celulares; la eosina por lo contrario tiñe las estructuras proteicas contenidas en los citoplasmas celulares, fibras y membranas de una tonalidad rosácea. Esta tinción nos permitió medir las capas uterinas, realizar el conteo folicular y el conteo de las glándulas uterinas (Marbe, 2018)

Para la medición de las capas uterinas y conteo de glándulas endometriales se tomó aleatoriamente 10 campos del cuerno izquierdo y 10 del derecho de los diferentes cortes teñidos con H & E y se realizaron 5 mediciones utilizando el Software Motic plus 3.0.

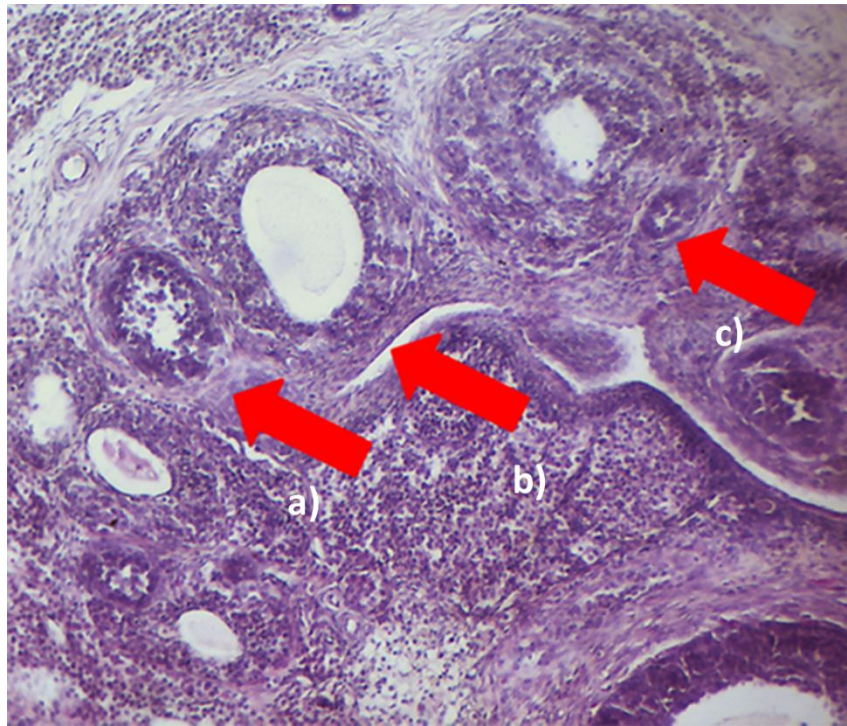
En la **figura 11** se puede observar el Software Motic plus 3.0 la cual nos muestra cómo se puede medir cada una de las capas uterinas. Se tomaron fotografías a 10x y 40x y cada una de las capas uterinas se midió a 10x con excepción del epitelio ciliar, que fue a 40x (**Figura 11 inciso b**), y el conteo de las glándulas uterinas se realizó en las fotografías de 10x.



**Figura 11.** Software Motic plus 3.0 Microfotografía de útero de rata Wistar. La figura a) corresponde a un útero donde se pueden observar las tres capas uterinas. La figura b) es una microfotografía tomada a 40x donde puede observarse el epitelio ciliar y las glándulas tubulares.

Para el conteo de folículos ováricos se tomaron microfotografías a 10x de ovarios de rata Wistar teñidos con la Hematoxilina & Eosina (H & E),

El conteo se realizó de acuerdo con los criterios de Wang, en donde se consideran las características morfológicas de las células de la teca (**Figura 12**), células de la granulosa y el ovocito. Con base en estos criterios se identificaron 4 folículos; folículos pre antrales sanos (FPS), folículos preantrales atrésicos (FPA), folículos antrales sanos (FAS) y folículos antrales atrésicos (FAA) (Wang *et al.*, 2010)



**Figura 12.** Microfotografía de ovario de rata Wistar a 10x teñida con-E. Las flechas rojas indican los folículos ováricos en sus diferentes estadios. En el inciso a) Folículo pre antral atrésico, b) folículo preantral sano, c) folículo antral atrésico.

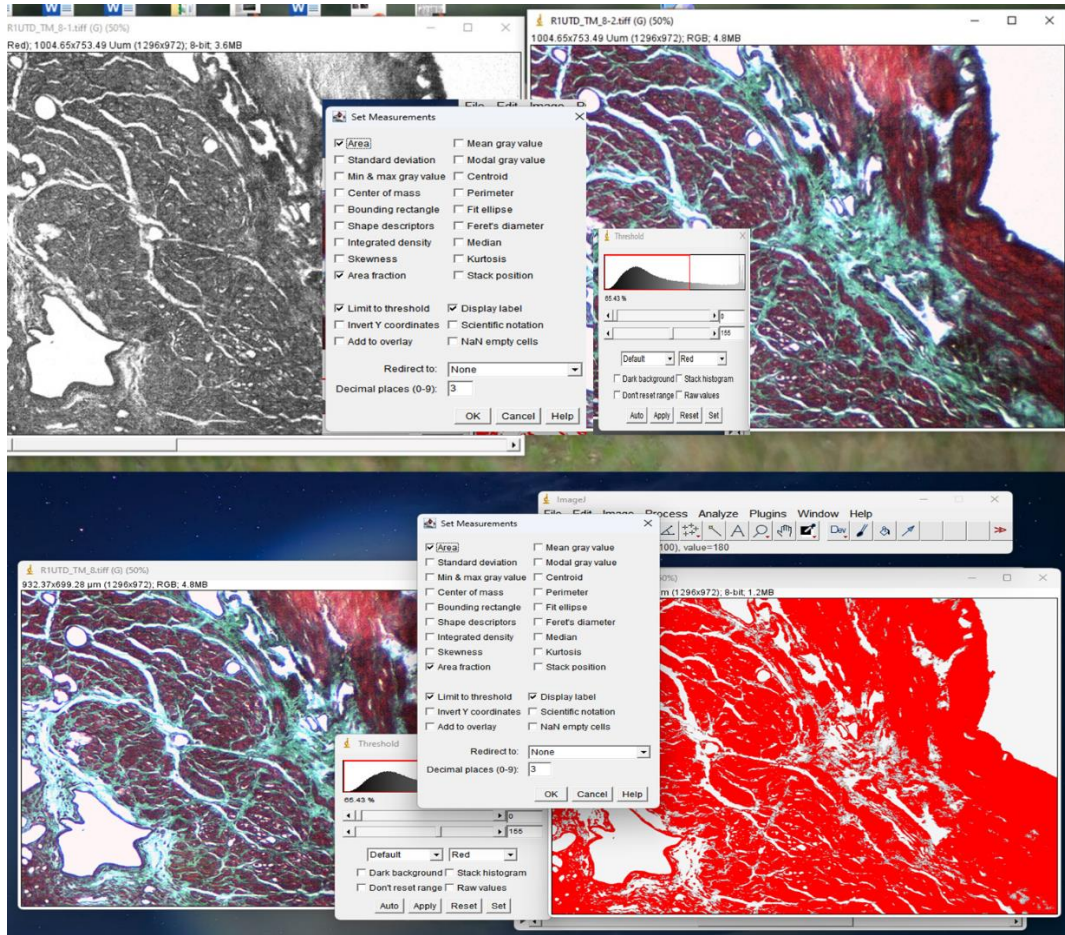
Finalmente, para la medición del colágeno de las capas uterinas se utilizó la tinción Tricrómica de Masson y se llevó a cabo en el programa de ImageJ.

La tinción Tricrómica de Masson nos permitió evaluar la funcionalidad de los tejidos en cuanto a su flexibilidad, secreción y nutrición. Esta tinción es utilizada para teñir fibras de colágeno tipo I, estas fibras de colágeno tipo I son fibras gruesas que se encuentra en los espacios extracelulares y estromas orgánicos y cumplen con la función de dar soporte al tejido. El tejido conectivo se encarga de dar sostén a los tejidos, contiene grandes cantidades de matriz extracelular, está formado por células grandes que contienen glicoproteínas adhesivas que se organizan como una red de fibras lo cual le confieren la función de dar soporte al tejido. En la tinción Tricrómica de Masson se utilizan tres colorantes, el primero tiñen las secciones con un tinte ácido es la escarlata de Biebrich, el ácido fosfotúngtico-fosfomilídico permite que difunda el colágeno y los núcleos azules por medio de la hematoxilina de Hierro de Weigert.

Se tomaron 10 campos a 10x para hacer la medición de colágeno de los diferentes cortes teñidos.

Con el programa de ImageJ se midió el porcentaje de área de colágeno que se encuentra en ambos tejidos. Se usó la misma imagen dos veces, una nos sirvió para saber el área total de la imagen, la segunda imagen nos ayudó a saber el área de los núcleos y fibras musculares (Ver **Figura 13**).

Para determinar el % de área de colágeno se realizó una regla de tres.

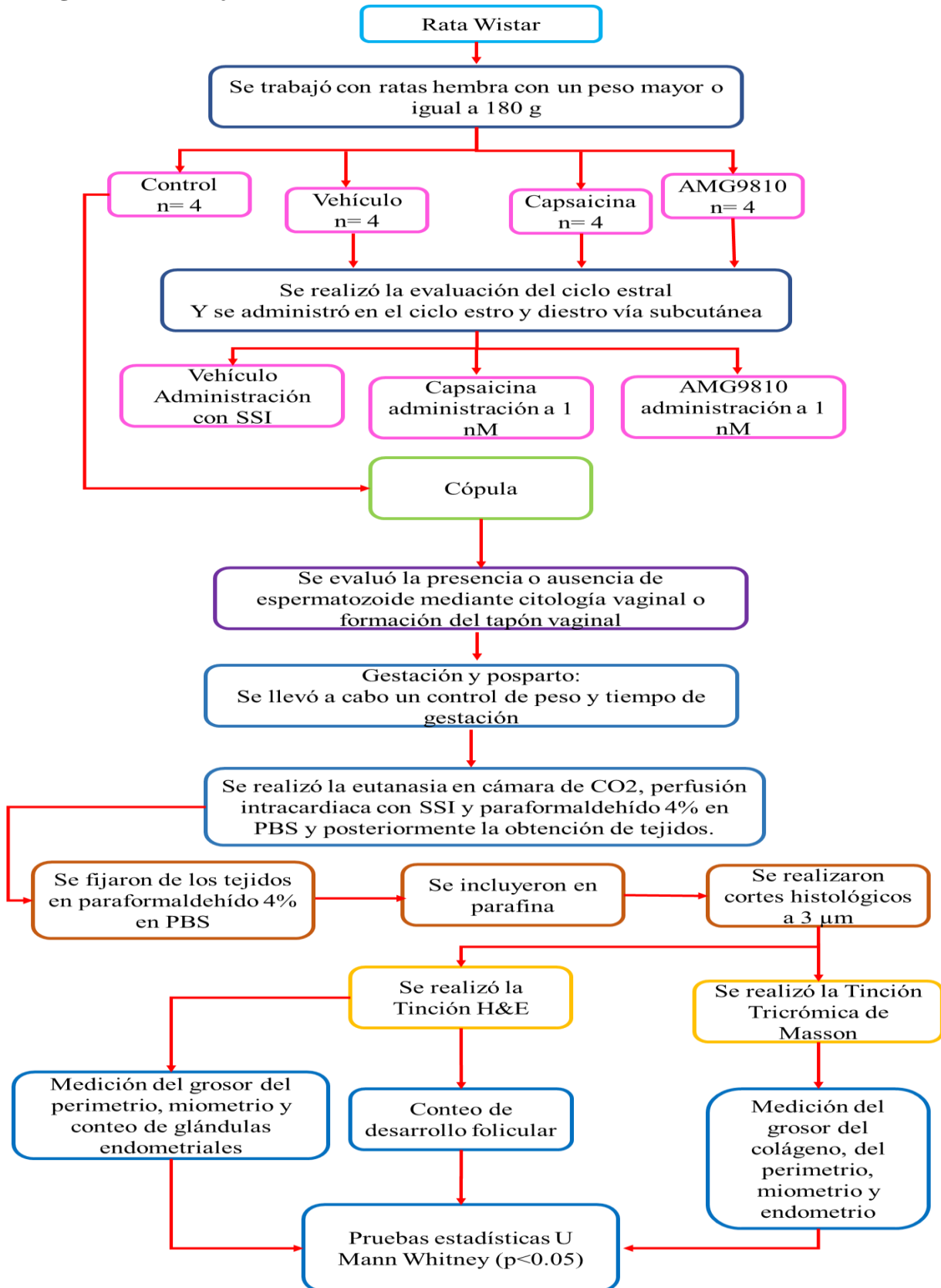


*Figura 13. Software ImageJ. Medición de colágeno en útero de rata Wistar*

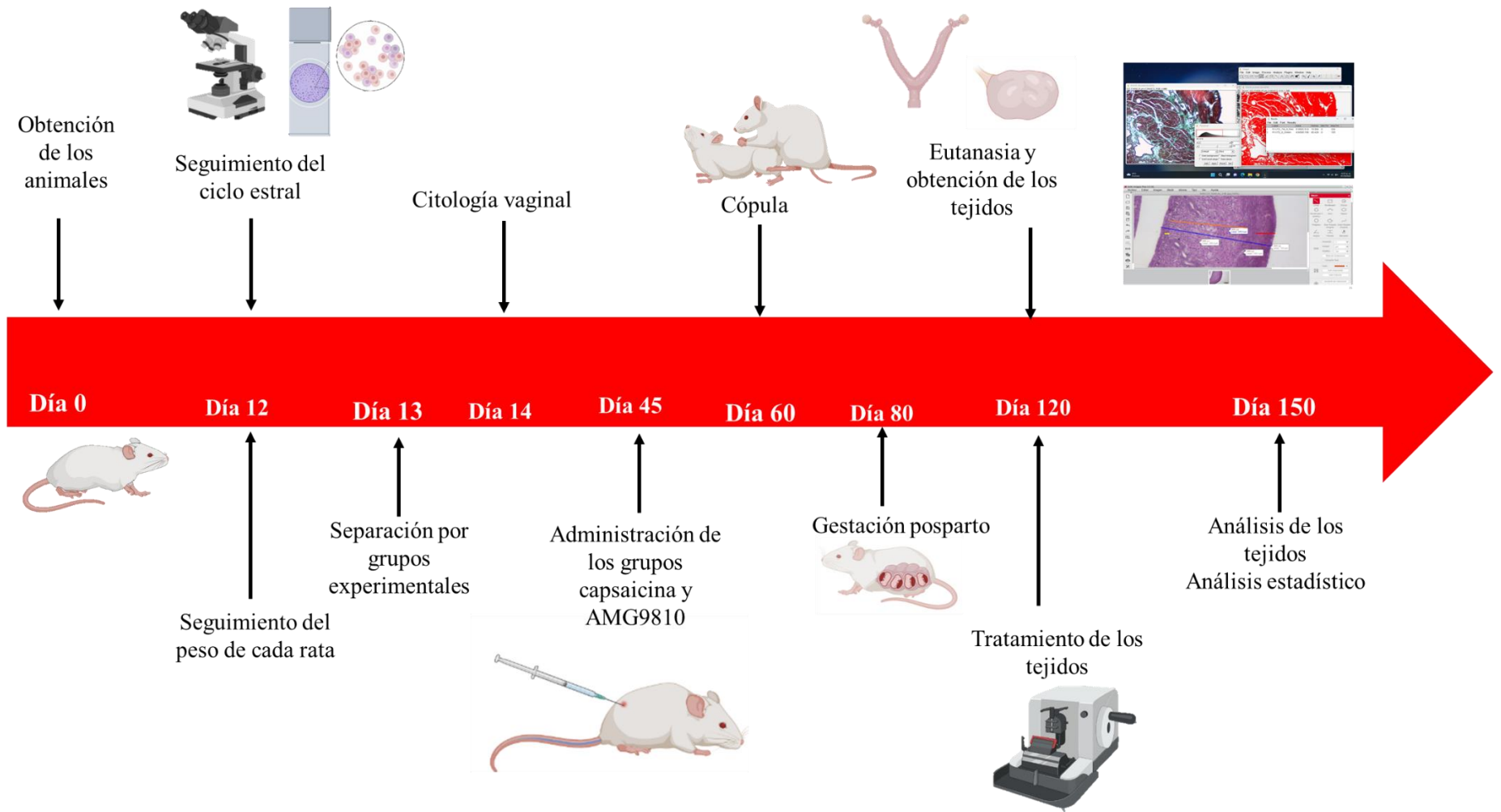
### 5.7 Análisis estadístico

Todos los datos obtenidos nos sirvieron para realizar los análisis estadísticos por medio de una prueba de ANOVA de una vía, seguida de U de Mann Whitney. Se consideraron diferentes cuando la probabilidad entre ellos fue de  $*p \leq 0.05$ .

## Diagrama de trabajo



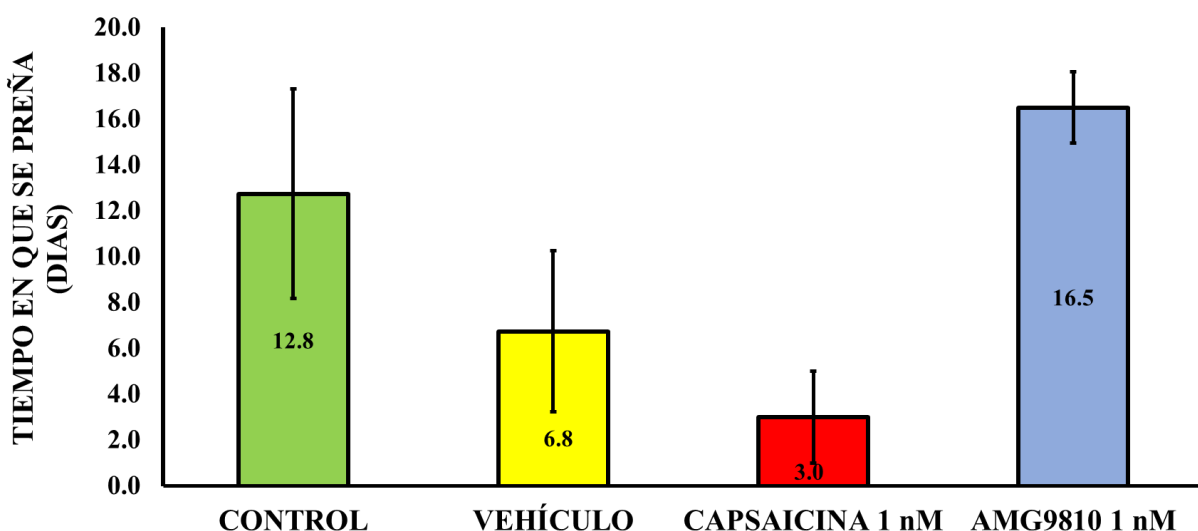
## Línea del tiempo



## 6 RESULTADOS

### 6.1 Tiempo en que se preñan las ratas Wistar posterior a la administración de capsaicina o AMG9810

El análisis estadístico mostró que para el grupo control el tiempo en el que se preña fue de  $12.8 \pm 4.6$  días, el grupo vehículo fue de  $6.8 \pm 3.5$  días y para los grupos administrados con capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM fueron de  $3 \pm 2$  días y  $16.5 \pm 1.6$  respectivamente. El análisis estadístico no muestra diferencias significativas, sólo las hay cuando se compara el grupo capsaicina y AMG9810 (Ver **figura 14**).

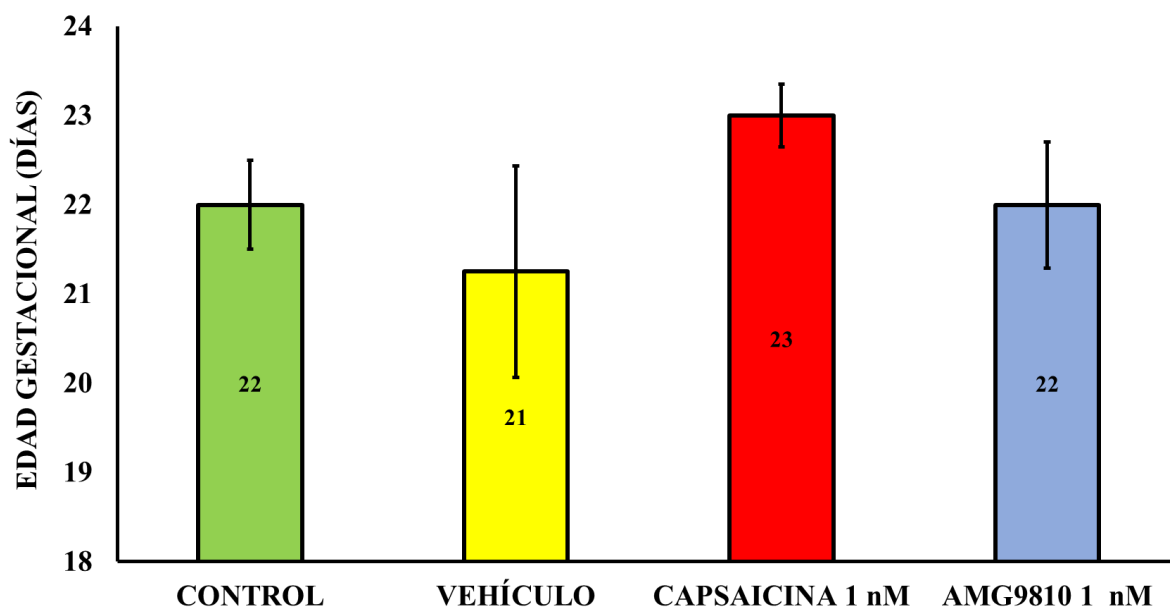


**Figura 14.** Tiempo en que se preñan las ratas (días) de los grupos control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM  $^* \leq p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

## 6.2 Edad gestacional.

En la edad gestacional (**Figura 15**) el análisis estadístico mostró que para el grupo control el tiempo de gestación fue de  $22 \pm 0.5$  días, el grupo vehículo  $21 \pm 1.18$  días, el grupo administrado con capsaicina 1 nM fue de  $23 \pm 0.4$  días y AMG9810 1 nM de  $22 \pm 0.70$  días.

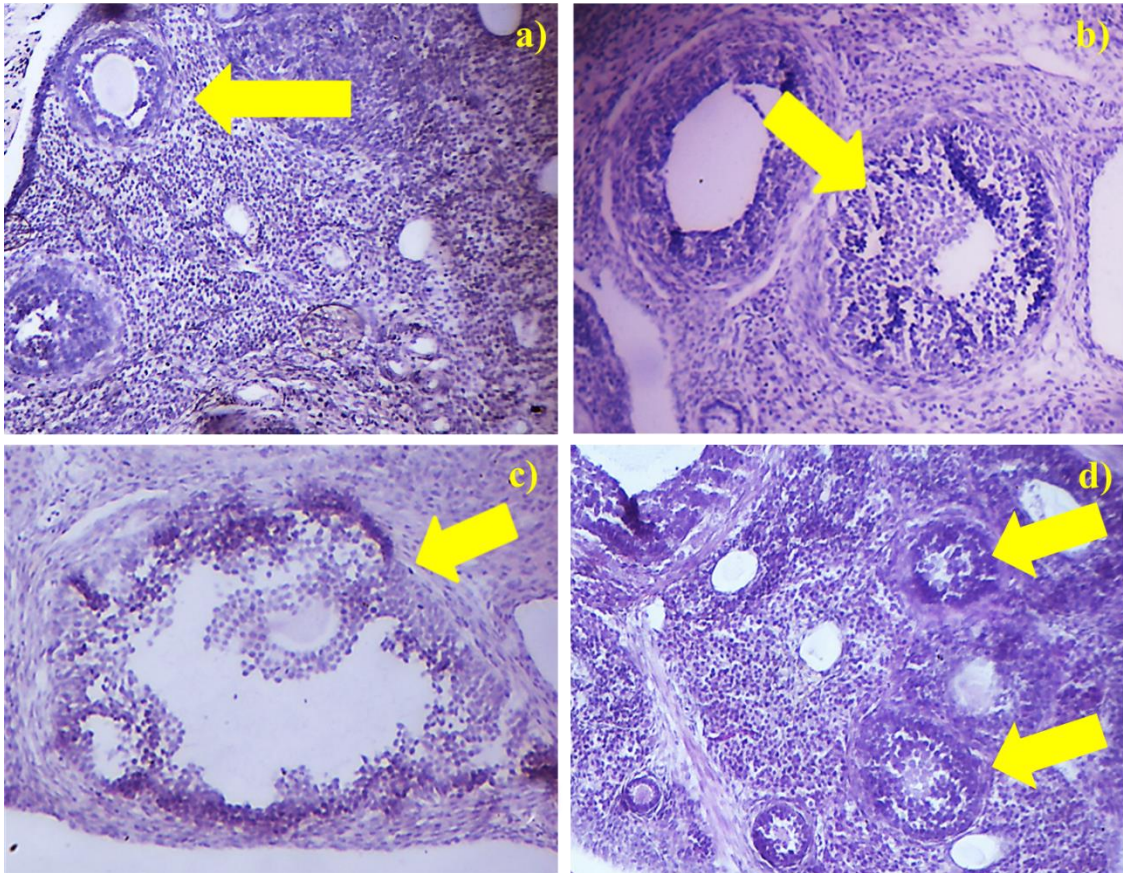
De acuerdo con los análisis estadísticos, no hay diferencias significativas en todos los grupos.



**Figura 15.** Edad gestacional (días) de los grupos ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

### 6.3 Desarrollo folicular en el útero posparto de ratas Wistar

De acuerdo con las características morfológicas descritas en el apartado de la metodología se llevó a cabo el conteo de folículos (Wang *et al.*, 2010). Las microfotografías de la **figura 16** corresponden a los diferentes folículos ováricos.

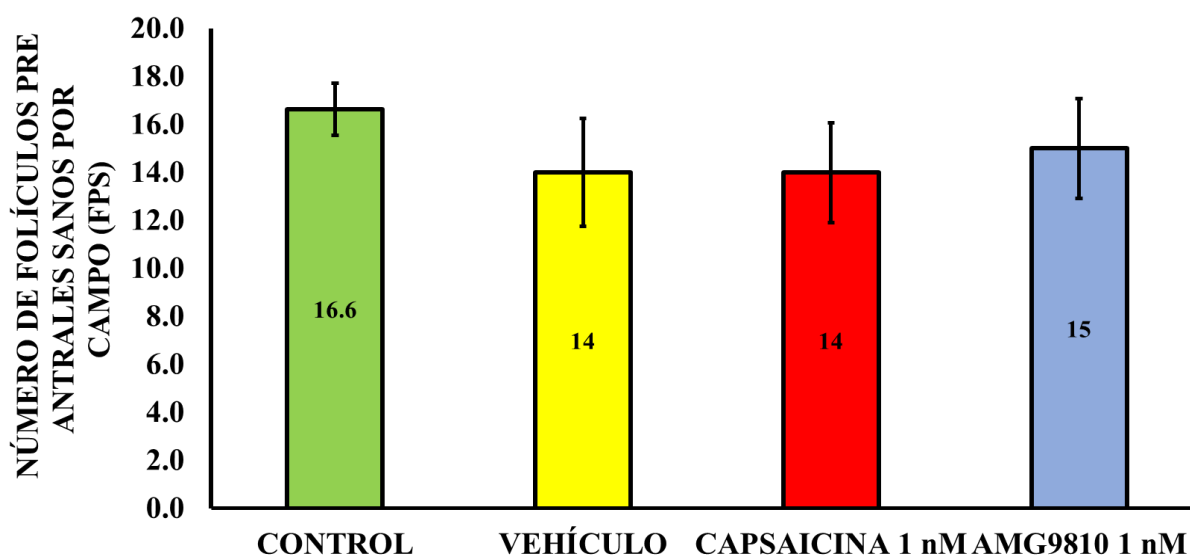


**Figura 16.** Microfotografías de cortes histológicos teñidas con H&E a 10x de Folículos ováricos de rata Wistar administrada con el vehículo. El inciso a) corresponde al Folículo preantral sano (FPS), b) Folículo antral atrésico (FPA), c) Folículo antral sano (FAS), d) Folículo antral atrésico (FAA).

### *Folículo preantral sano (FPS)*

El conteo de FPS (**Figura 17**) por campo indicó que para el grupo control se obtuvo un promedio de  $16.6 \pm 1.08$ , el grupo vehículo fue de  $14 \pm 2.23$ , para el grupo capsaicina 1nM el conteo de folículos fue de  $14 \pm 2.07$  y para el grupo AMG9810 1nM dio un promedio de  $15 \pm 2.07$ .

De acuerdo con los datos obtenidos, el análisis estadístico no muestra diferencias significativas.

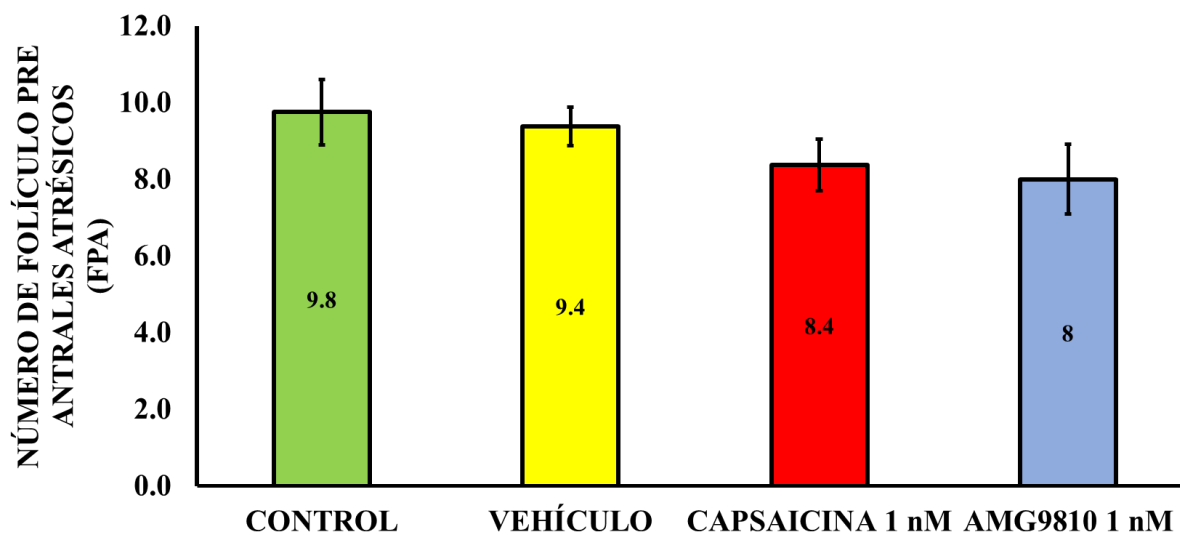


**Figura 17.** Número de folículos pre antrales sanos de rata Wistar posparto del grupo control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

*Folículo preantral atrésico (FPA)*

El conteo de FPA (**Figura 18**) por campo indicó que el grupo control tuvo un promedio de  $9.8 \pm 0.86$ , el grupo vehículo de  $9.4 \pm 0.49$ , el promedio para el grupo capsaicina fue de  $8.38 \pm 0.67$  y el grupo AMG9810 de  $8 \pm 0.90$ .

El análisis estadístico muestra que no hay diferencias significativas con respecto a cada uno de los grupos.

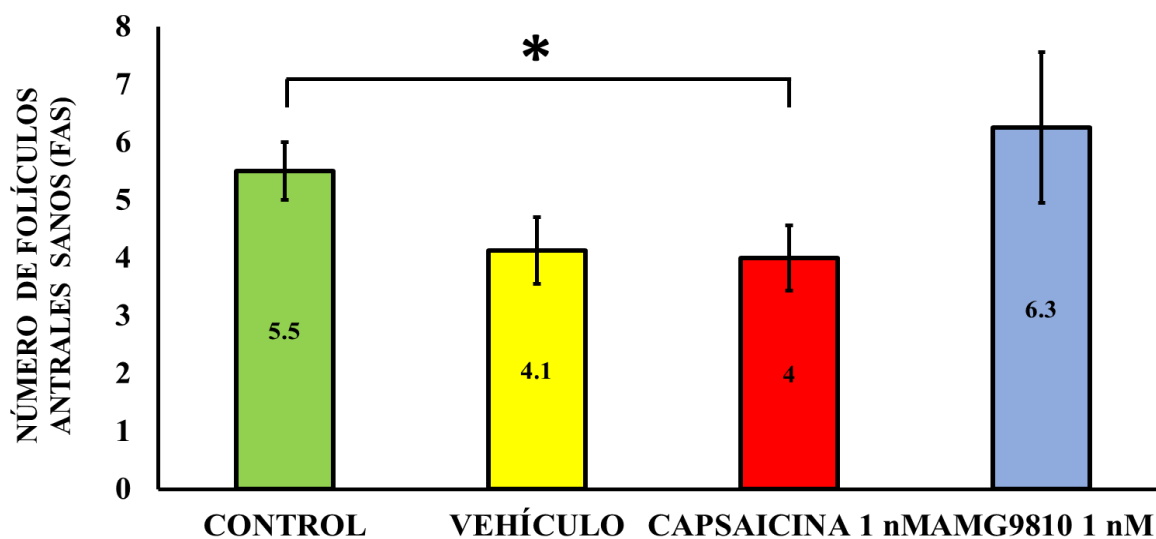


**Figura 18.** Número de folículos pre antrales atrésicos de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

### Folículo antral sano (FAS)

El conteo de FAS (**Figura 19**) por campo dio como resultado en el grupo control un promedio de  $5.5 \pm 0.5$ , el grupo vehículo de  $4.1 \pm 0.58$ , el grupo administrado con capsaicina 1nM fue de  $4 \pm 0.56$  y finalmente el grupo AMG9810 1nM se obtuvo el promedio de  $6.3 \pm 1.30$ .

El análisis estadístico mostró una disminución en el conteo de folículos antrales sanos en el grupo administrado con capsaicina 1 nM con respecto al grupo control. Con respecto al grupo capsaicina 1 nM no hay diferencias significativas al compararlo con el grupo vehículo

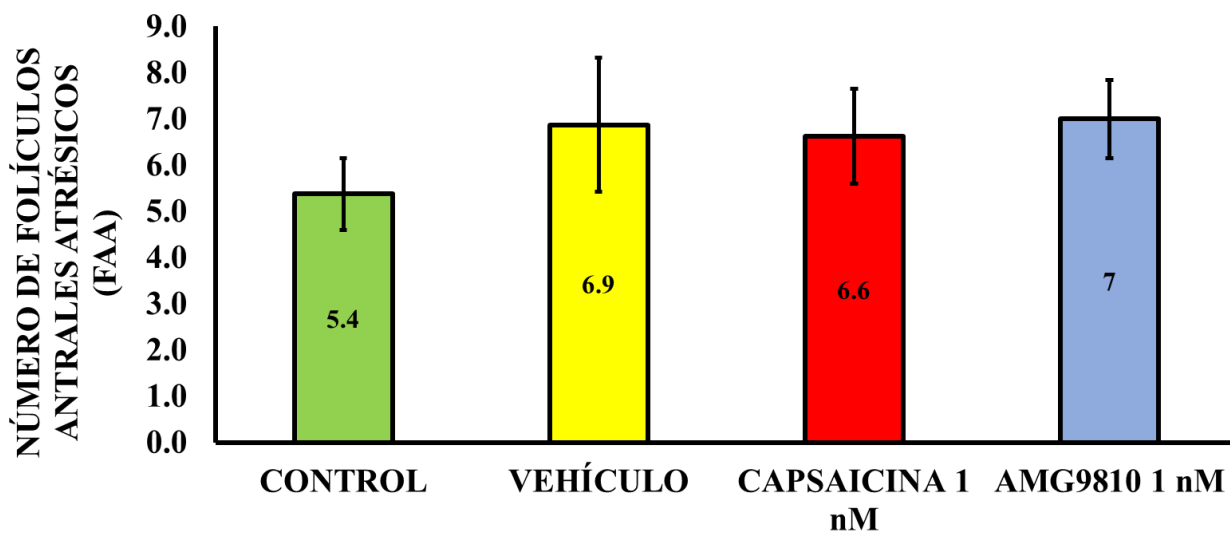


**Figura 19.** Número de folículo antrales sano de rata Wistar posparto del grupo control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

*Folículo antral atrésico (FAA)*

El conteo de FAA (**Figura 20**) por campo mostró como resultado que el grupo control obtuvo un promedio de  $5.4 \pm 0.77$ , el grupo vehículo de  $6.9 \pm 1.45$ , para el grupo administrado con capsaicina 1nM el resultado fue de  $6.6 \pm 1.03$  y el grupo AMG9810 1nM fue de  $7 \pm 0.84$ .

El análisis estadístico no indicó diferencias significativas en los grupos.

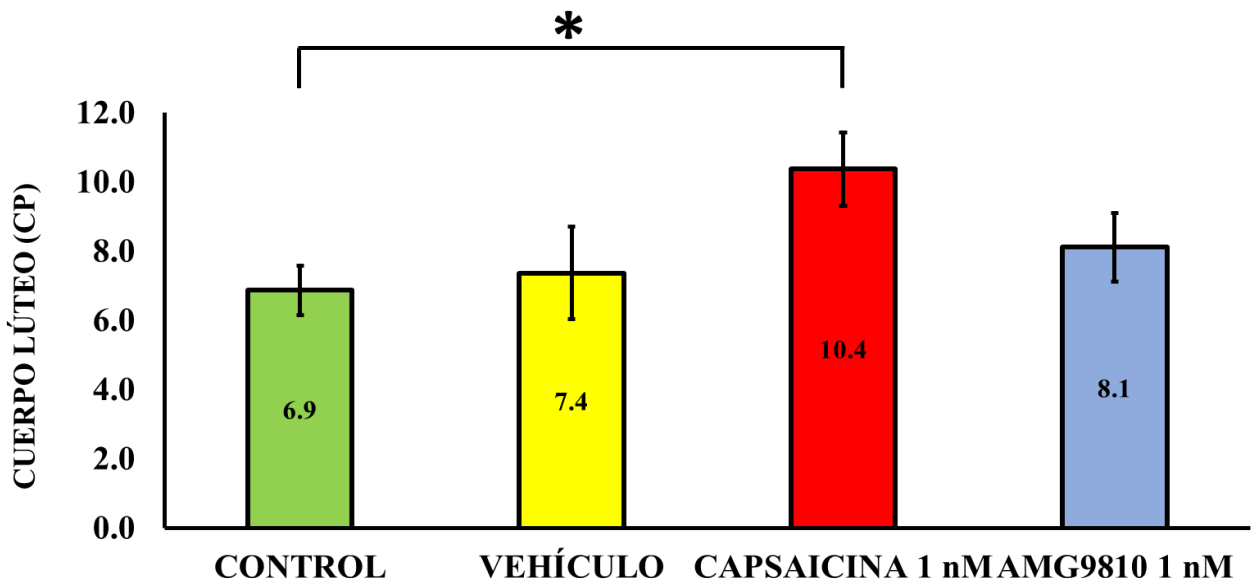


**Figura 20.** Número de folículos antrales atrésicos de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

### Cuerpo Lúteo

El conteo de cuerpos lúteos (**Figura 21**) por ovario dio como resultado los siguientes valores. Para el grupo control se obtuvo un promedio de  $6.9 \pm 0.71$ , el grupo vehículo dio como resultado un promedio de  $7.4 \pm 1.33$ , el grupo administrado con capsaicina 1nM fue de  $10.4 \pm 1.05$  y el grupo administrado con AMG9810 1nM fue de  $8.3 \pm 0.98$ .

El análisis estadístico mostró diferencias significativas únicamente al comparar el grupo administrado con capsaicina 1 nM con respecto al grupo control, dando como resultado un aumento de cuerpos lúteos en el caso del grupo administrado con capsaicina 1 nM.



**Figura 21.** Conteo de cuerpos lúteos por ovario de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

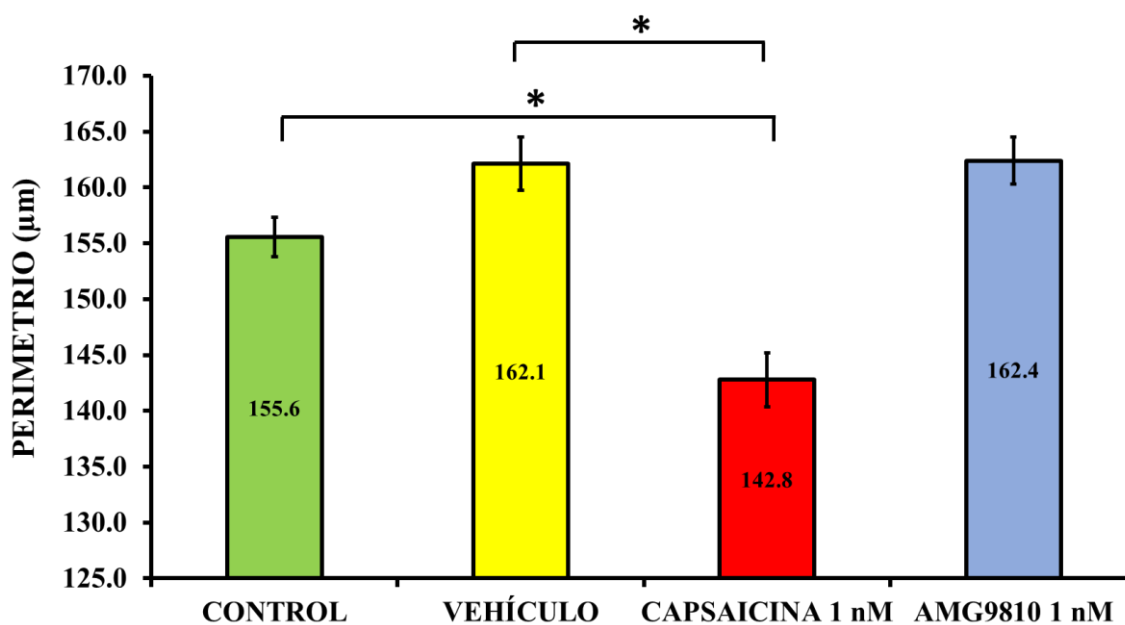
#### 6.4 Medición del grosor de las capas uterinas y número de glándulas uterinas en ratas Wistar.

Para el análisis morfométrico se tomaron fotografías a 10x, la medición se realizó de acuerdo con la metodología antes descrita. A continuación, se muestra la gráfica de los promedios de cada capa uterina y posteriormente el panel de microfotografías representativas del grosor de cada capa uterina.

##### Perimetrio

El análisis morfométrico del perimetrio mostró que para el grupo control el grosor del perimetrio es de  $155.6 \pm 1.73 \mu\text{m}$ , para el grupo vehículo de  $162.1 \pm 2.37 \mu\text{m}$ , el grupo capsaicina 1 nM fue de  $142.8 \pm 2.4 \mu\text{m}$  y para el grupo AMG9810 1 nM  $162.4 \pm 2.09 \mu\text{m}$ .

El análisis estadístico muestra una disminución significativa en el grosor del perimetrio del grupo capsaicina 1 nM con respecto al grupo vehículo y grupo control. (Ver **Figura 22**)

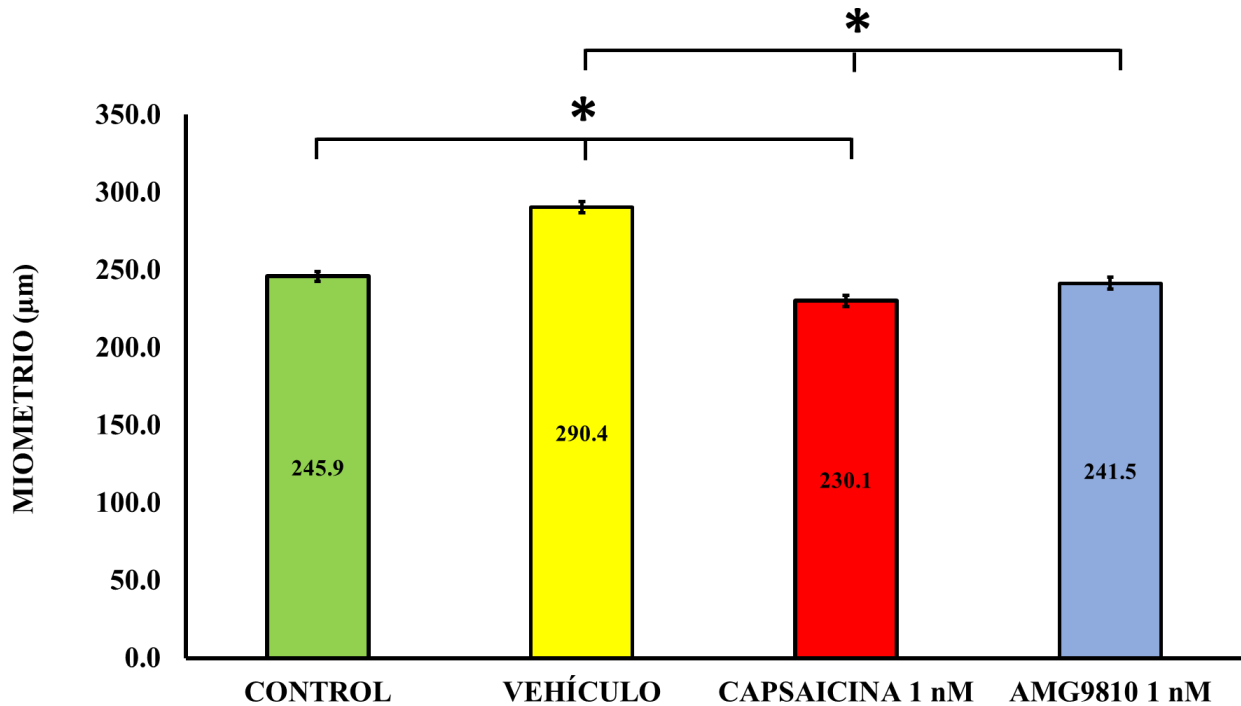


**Figura 22.** Grosor de la capa uterina del perimetrio ( $\mu\text{m}$ ) de rata Wistar posparto del grupo de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$  EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

### Miometrio

El análisis morfométrico (**Figura 23**) mostró que para el grupo control se obtuvo un promedio de  $245.9 \pm 3.14 \mu\text{m}$ , para el grupo vehículo fue de  $290.4 \pm 3.74 \mu\text{m}$ , para el grupo capsaicina 1 nM fue de  $230.1 \pm 3.59 \mu\text{m}$  y para el grupo AMG9810 1 nM fue de  $241.5 \pm 3.62 \mu\text{m}$ .

El análisis estadístico mostró que al comparar el grupo AMG9810 1nM y capsaicina 1 nM con respecto al grupo vehículo hay una disminución en el grosor del miometrio.

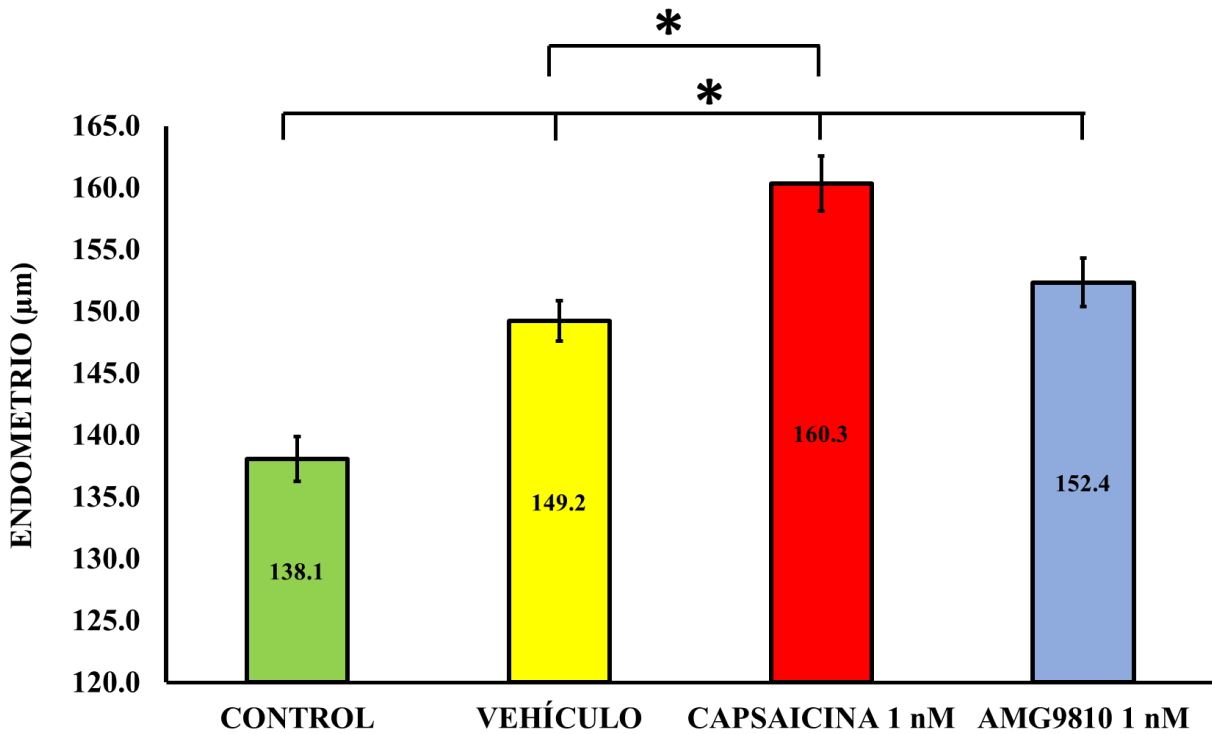


**Figura 23.** Grosor de la capa uterina del miometrio ( $\mu\text{m}$ ) de rata Wistar posparto del grupo de rata Wistar posparto del grupo control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM  $* < p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

### Endometrio

El análisis morfométrico (**Figura 24**) del endometrio dio como resultado para el grupo control un grosor de  $138.1 \pm 1.81 \mu\text{m}$ , para el grupo vehículo fue de  $149.2 \pm 1.63 \mu\text{m}$ , el grupo administrado con capsaicina 1nM fue de  $160.3 \pm 2.22 \mu\text{m}$  y para el grupo AMG9810 1nM  $152.4 \pm 1.93 \mu\text{m}$ .

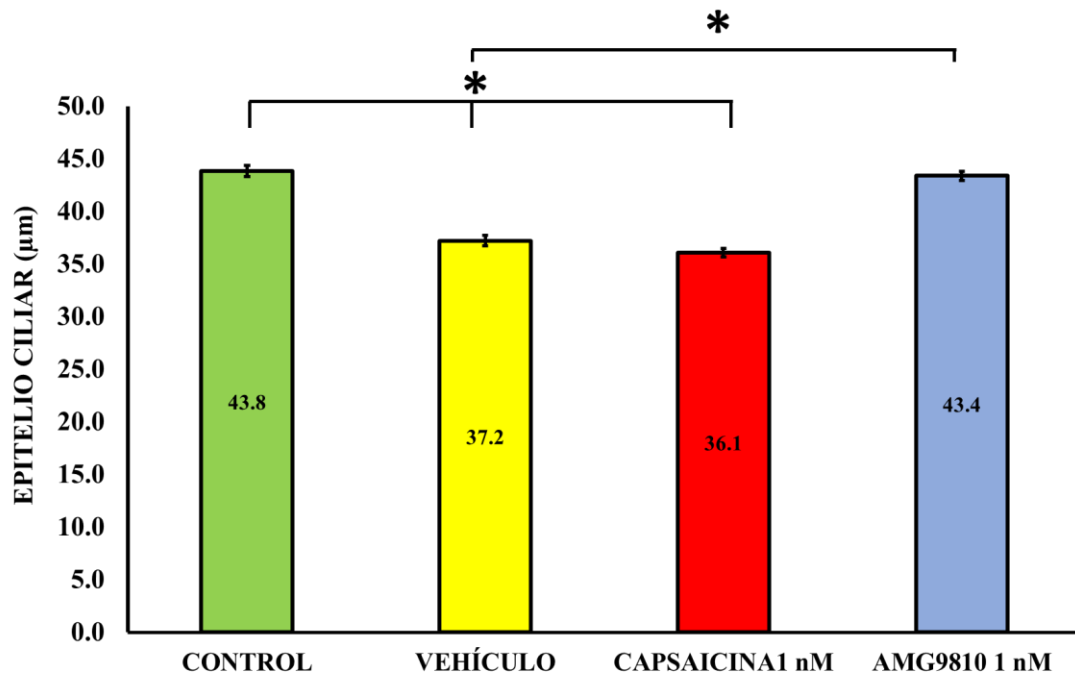
El análisis estadístico mostró que en el grupo administrado con AMG9810 1 nM hay un aumento significativo con respecto al grupo vehículo y capsaicina.



**Figura 24.** Grosor de la capa uterina del endometrio ( $\mu\text{m}$ ) de rata Wistar posparto del grupo de rata Wistar posparto del grupo control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

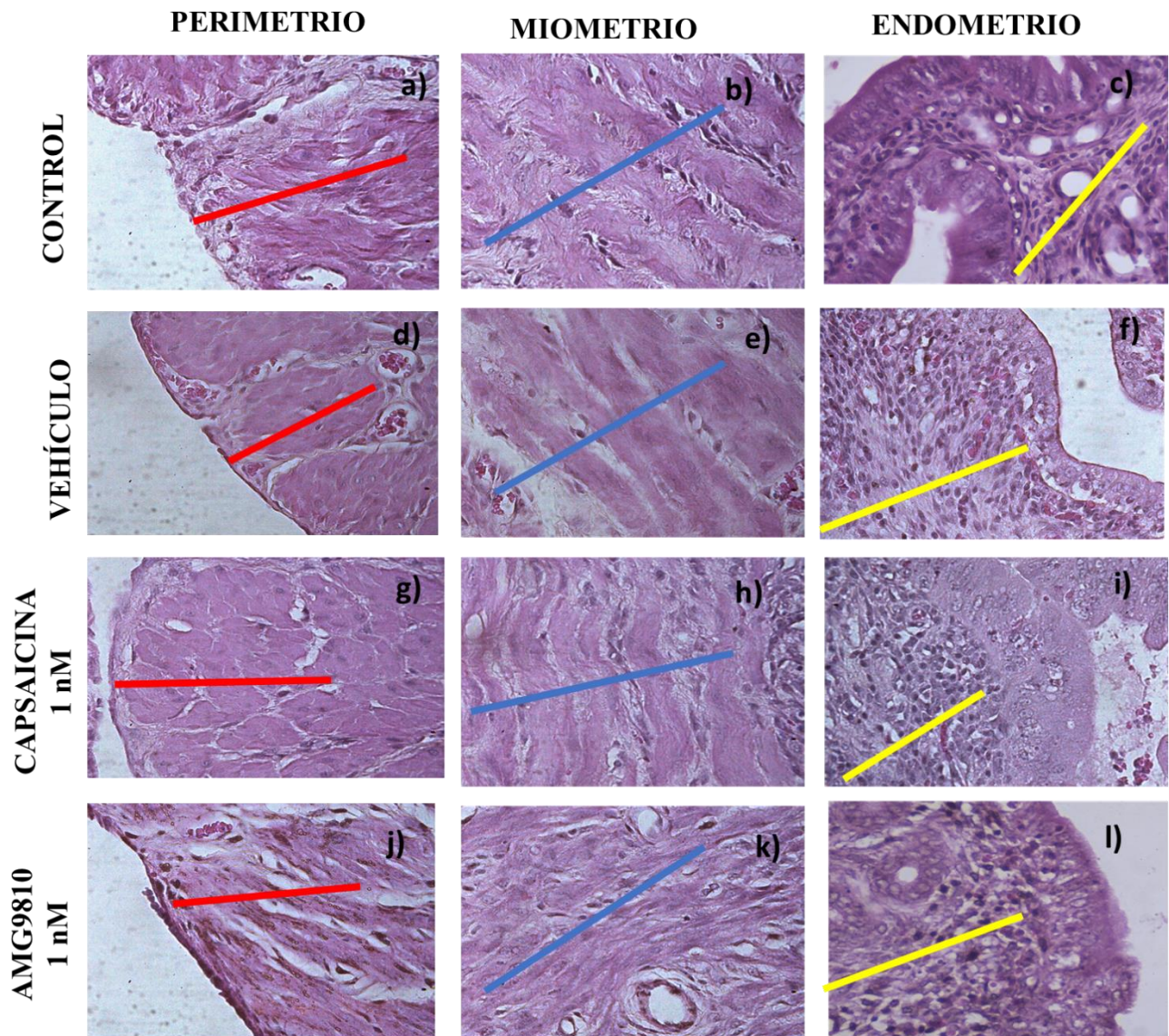
### *Epitelio ciliar*

El análisis morfométrico (**Figura 25**) del epitelio ciliar en el grupo control dio como resultado un grosor de  $43.8 \pm 0.62 \mu\text{m}$ , para el grupo vehículo el epitelio fue de  $37.2 \pm 0.51 \mu\text{m}$ , el grupo administrado con capsaicina 1nM dio como resultado un grosor de  $36.1 \pm 0.044 \mu\text{m}$  finalmente el grupo administrado con AMG9810 1nM fue de  $43.4 \pm 0.43 \mu\text{m}$ . El análisis estadístico mostró que el grupo capsaicina 1nM tuvo una disminución del epitelio ciliar con respecto al grupo control, mientras que en el grupo administrado con AMG9810 1 nM se observa un aumento del grosor del epitelio ciliar con respecto al grupo vehículo.



**Figura 25.** Grosor de la capa uterina del epitelio ciliar ( $\mu\text{m}$ ) de rata Wistar posparto del grupo de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

En la **Figura 26** se puede observar un panel de microfotografías de cortes histológicos teñidas con Hematoxilina-Eosina que corresponden a las diferentes capas uterinas de cada uno de los grupos.

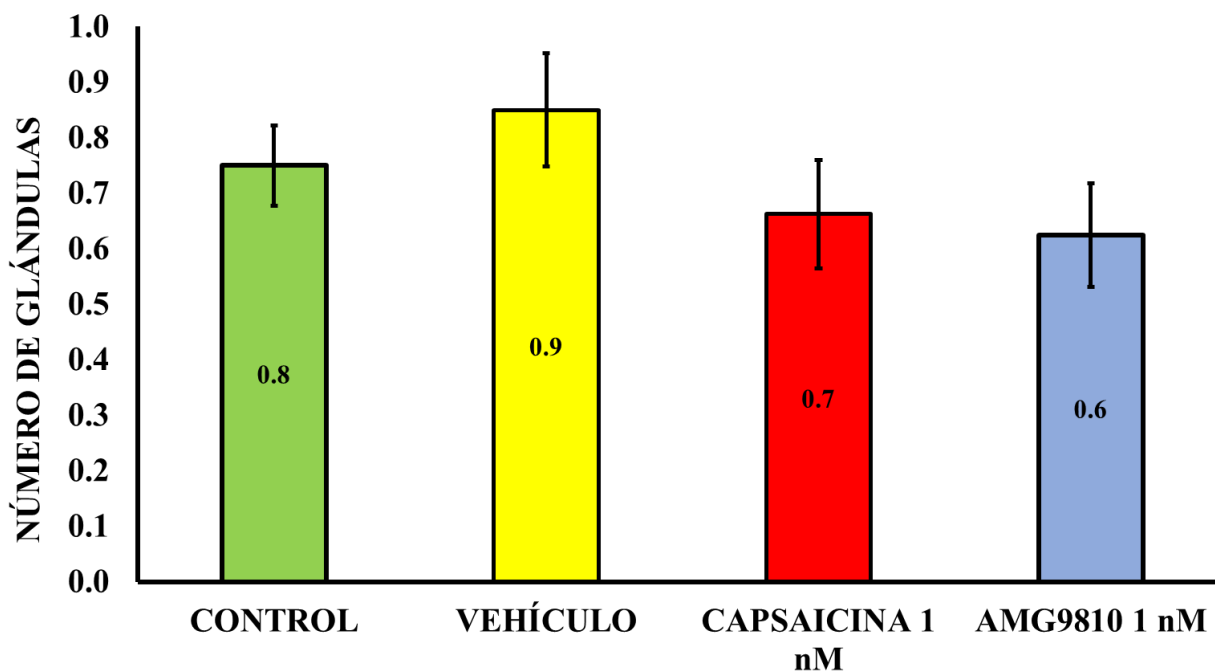


**Figura 26.** Microfotografías de cortes histológicos de las capas uterinas de rata Wistar posparto teñidas con Hematoxilina- Eosina 40x. Las figuras a), b), c) muestra las capas uterinas del grupo control, la d), e), f) muestran las del grupo vehículo, g), h) i) corresponde al grupo administrado con capsaicina 1nM y por último la imagen j),k) y l muestran las del grupo administrado con AMG9810 1nM . La línea roja indica el grosor del perimetrio, la línea azul indica el grosor del miometrio y la línea amarilla representa el grosor del perimetrio.

### Glándulas

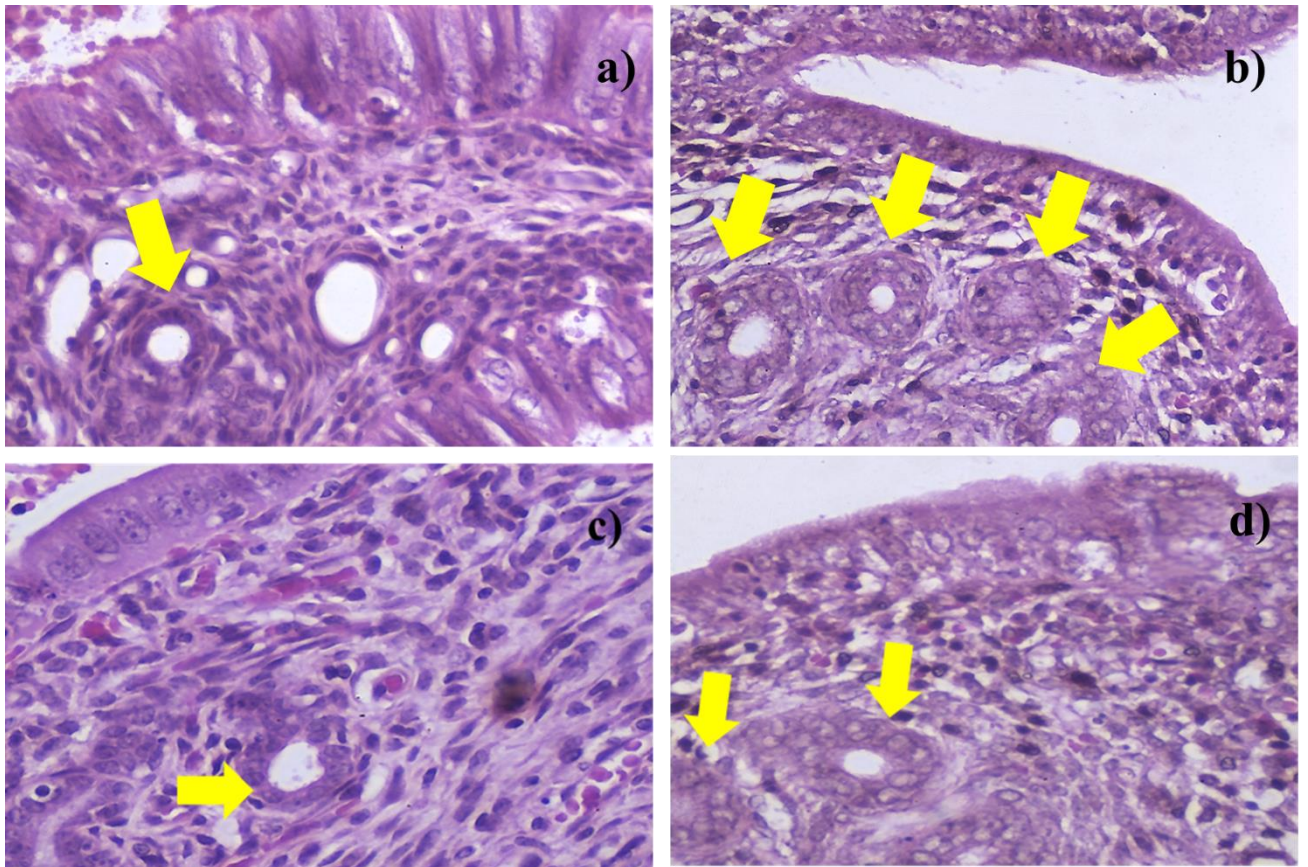
El conteo de glándulas (**Figura 27**) para el grupo control se obtuvo un promedio de  $0.8 \pm 0.07$  glándulas, el grupo vehículo  $0.9 \pm 0.1$  glándulas, para el grupo capsaicina 1 nM un promedio de  $0.7 \pm 0.09$  glándulas y para el grupo AMG9810 1 nM  $0.6 \pm 0.09$  glándulas.

Para el grupo control y vehículo hubo diferencia significativa, el grupo control presenta una disminución significativa con respecto al grupo vehículo. De acuerdo con el análisis estadístico los grupos administrados con capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM no presentan diferencias significativas.



**Figura 27.** Conteo de glándulas endometriales de rata Wistar posparto del grupo control, vehículo, capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.

En la **Figura 28** se observa un panel de microfotografías de las glándulas uterinas ubicadas en el endometrio de la rata Wistar posparto.



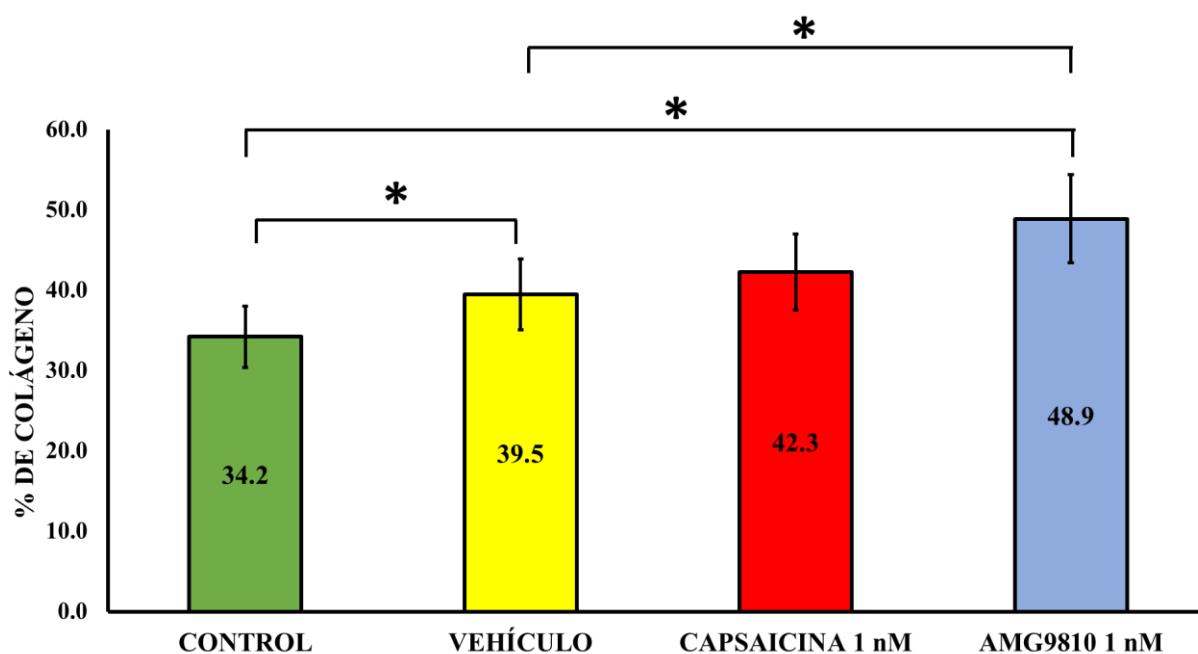
**Figura 28.** Microfotografías del endometrio de ratas Wistar posparto teñidas con H&E a 40x de los grupos control (a), vehículo (b), capsaicina (c), AMG9810 (d). Las flechas amarillas señalan las glándulas endometriales.

### 6.5 Medición del porcentaje de colágeno en el útero de ratas Wistar.

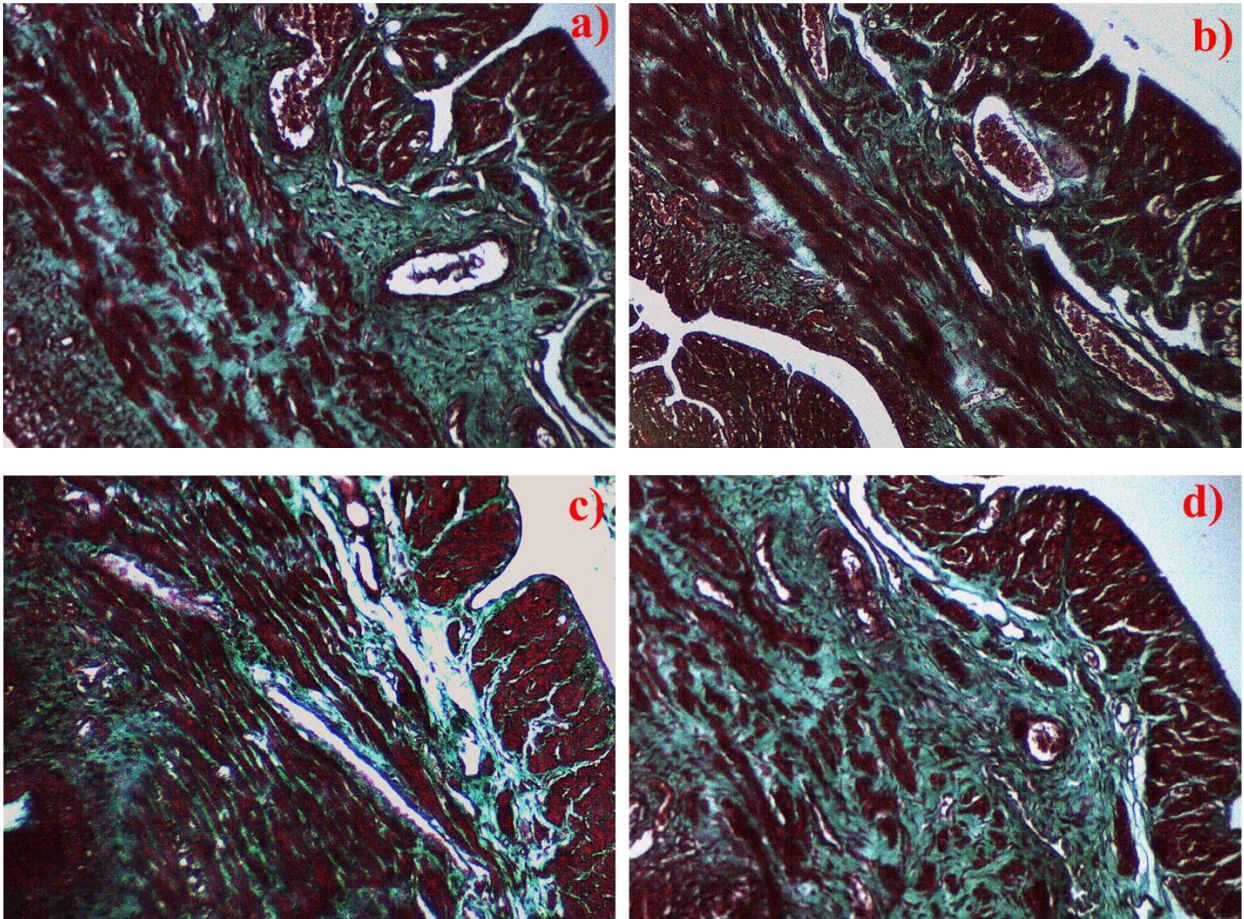
Para la medición del colágeno de las capas uterinas se tomaron fotografías a 10x (Ver **Figura 30**) y se realizó la medición como se describió en la parte metodológica. A continuación, se muestra en una gráfica el promedio del grosor de colágeno de las capas uterinas en porcentaje, y posteriormente en la **figura 29** encontramos un panel de microfotografías representativas del grosor de colágeno.

El porcentaje de colágeno indicó que para el grupo control se obtuvo un promedio de  $34.2 \pm 3.82$  %, el grupo vehículo  $39.5 \pm 4.42$  %, el grupo capsaicina 1 nM el porcentaje fue de  $42.3 \pm 4.73$  % y finalmente el grupo AMG9810 1nM el promedio dio  $48.9 \pm 5.46$  %.

De acuerdo con el análisis estadístico el grupo AMG9810 mostró un aumento en el porcentaje de colágeno con respecto al grupo control y vehículo.



**Figura 29.** Porcentaje de colágeno en el útero de rata Wistar posparto del grupo ■ control, ■ vehículo, ■ capsaicina 1nM y ■ AMG9810 1nM. Las barras representan el promedio  $\pm$ EMM \* $<p.005$ , prueba ANOVA post U Mann Whitney.



**Figura 30.** Microfotografías a 10x de cortes histológicos de las capas uterinas de ratas Wistar teñidas con Tricrómica de Masson. La figura a) muestra la capa uterina del grupo control, la figura b) muestra la del grupo vehículo, la c) corresponde al grupo administrado con capsaicina 1nM y por último la imagen d) muestra la del grupo administrado con AMG9810 1nM.

## 7 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente tesis se mostró el efecto de la administración de capsaicina 1nM y AMG9810 1nM sobre el receptor TRPV1 y su efecto en la fertilización y el desarrollo gestacional de la rata Wistar. La capsaicina es el componente picante del chile y es el vanilloide más abundante capaz de activar la corriente de calcio de los receptores TRPV1 (Pingle *et al.*, 2007; Mora López 2015), presentes en los nociceptores C y A $\delta$  que inducen la liberación de péptidos y otros neurotransmisores desde sus terminales periféricas y centrales. (Mora, 2015; Welch *et al.*, 2000). Por otro lado, el AMG9810 se ha propuesto como un antagonista competitivo y selectivo a los receptores TRVP1 bloqueando su activación y evitando la despolarización provocada por la capsaicina (Gavva *et al.*, 2004).

En este trabajo se encontró que el tiempo en el que se preña la rata se vio afectado por la administración de capsaicina 1nM y AMG9810 1nM. Si bien, existen diferentes factores involucrados durante la fertilización y gestación, tales como las hormonas y neurotransmisores. Al comparar el grupo administrado con capsaicina 1nM y AMG9810 1nM respecto al grupo vehículo, no hay diferencias significativas, tampoco las hay cuando se compara con el grupo control; sólo hay diferencias significativas cuando se compara entre ambos grupos administrados con el agonista y antagonista tal como lo muestra la **figura 14**, si bien en el análisis estadístico no se observan diferencias significativas, podemos apreciar que hay una tendencia a la baja en el grupo administrado con capsaicina respecto al grupo vehículo y un aumento del tiempo en que se preña con el grupo administrado con AMG9810 1 nM.

El resultado de esta diferencia podría estar relacionado con la administración del agonista, posiblemente capsaicina está activando la corriente de calcio y como resultado de ello la activación de los receptores TRPV1. La administración de capsaicina 1 nM promueve la activación de los receptores TRPV1 (Szallasi & Blumberg, 1999), el receptor tiene múltiples sitios de fosforilación tales como la PKC, PKA y proteína quinasa que son dependiente de calcio y pueden provocar un incremento del flujo sanguíneo (Rosenbaum,2007; Szallasi & Blumberg, 1999). La activación de los receptores guarda relación con las glándulas uterinas, las glándulas uterinas promueven la secreción de los estrógenos y progesterona, estos son importantes para regular la función endometrial y la implantación del blastocisto (Zhang *et al*, 2013; Filant and Spencer, 214; Ramírez *et al*, 2020). No sólo la administración estaría activando al receptor sino también algunas vías de señalización tales como la PKC, PKA y proteína quinasa II dependiente de calcio de las cuales podrían estar ayudando a que el tiempo en que se preña la rata sea más rápido. (Cano, 2016, Benarroch, 2015, Rosenbaum, 2007). La administración del antagonista retrasó el tiempo en que se preñan las ratas y pudo haber estado bloqueando la entrada de calcio disminuyendo la liberación de CGRP, y modificando la secreción las hormonas como progesterona, estrógenos y prolactina que son importantes para la formación del cuerpo del cuerpo lúteo y la implantación (Gavva *et al.*, 2004; Benarroch,2015;Bazer,2011)

Otro factor importante es la relación del ciclo estral de las ratas, durante el ciclo estral hay un aumento de la hormona progesterona y estradiol en los ciclos estro y diestro. En el ciclo estro hay mayor receptividad del macho hacia la hembra dando como resultado una mayor probabilidad de fertilización; en cuanto al ciclo diestro no hay tanta receptividad del macho sin

embargo hay maduración de los cuerpos lúteos (Zárate, 2012). En estudios de Ramírez *et al.*, 2020 y Bernach 2015 demostraron que el receptor TRPV1 puede ser activado por la hormona  $17\beta$ -estradiol. Su función principal es preparar al endometrio para que pueda darse la implantación, tiene otras funciones importantes como la supervivencia celular, función mitocondrial, promover la proliferación celular y brinda neuro protección a los tejidos (Ramírez *et al.*, 2020, Benarroch, 2015).

Es necesario tomar en cuenta que durante cada administración existe la posibilidad de causar estrés a los animales. Si bien aún no hay muchos estudios que confirmen como TRPV1 aumenta su expresión en el SNC en relación con el estrés, sabemos que, al tener múltiples vías de señalización, TRPV1 podría modular los niveles de calcio intracelular para movilizar la respuesta celular al estrés. Un ejemplo de cómo TRPV1 está involucrado con el estrés es que en condiciones de lesión y estrés las células de la glía se hipertrofian, y aumenta la producción y secreción de citoquinas y cambios en la expresión génica (Ho *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2017).

Otro de los datos analizados fue la edad gestacional, la cual se evaluó por medio de un calendario. De acuerdo con los análisis estadísticos mostrados en la **figura 15**, observamos que en la edad gestacional no hubo diferencias significativas y en cada grupo, los resultados fueron muy parecidos. En este caso, a pesar de que la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1nM causó que el tiempo de preñez se viera modificado. no ocasionó que el tiempo de gestación fuera más rápido comparándolo con el grupo control y vehículo, ya que durante la gestación el desarrollo embrionario es autónomo, dependiendo de la carga genética y aporte adecuado de nutrientes permitirán el desarrollo del embrión durante este periodo (Carrascosa, 2003) además existen diferentes moduladores que ayudan a que la gestación pueda darse de manera correcta, entre estos moduladores encontramos a las hormonas como GnRH, LH, FSH y los neurotransmisores (Licheri *et al.*, 2015; Conti, 1978).

Para este estudio uno de nuestros órganos de interés fue el ovario, en donde se evaluó el efecto que tuvo la administración de capsaicina 1nM y AMG9810 1nM en el desarrollo folicular de las ratas, así como el cambio morfométrico en los ovarios.

El otro órgano de estudio fue el útero, en este trabajo se muestran algunos de los cambios morfométricos que se presentó en ratas Wistar posparto.

En los siguientes párrafos hablaremos del efecto que tuvo la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM en el ovario y útero.

### **7.1 El efecto de la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM en el desarrollo folicular posparto de la rata Wistar**

De manera natural el desarrollo folicular es promovido por el sistema nervioso central a través de la GnRH que, a su vez, está regulado por las hormonas esteroideas, citocinas y factores de crecimiento como el NGF, NGF al unirse al receptor TrkA activa promotores como P1 y P2 del receptor TRV1 (Adhikari, & Liu, 2009).

Diferentes estudios han demostrado que la capsaicina puede estimular la liberación de varios neuropéptidos como la sustancia P, CGRP y el péptido intestinal, mientras que AMG9810

puede bloquear la activación del receptor TRPV1 y sus ligandos endógenos naturales (Güler & Zik, 2018; Gavva *et al.*, 2004). Gracias a los estudios de Güler y Gavva nos permitió saber si la administración con capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM ayudaba modular el desarrollo folicular de las ratas preñadas.

En este trabajo encontramos en primera instancia que no hubo diferencias significativas en el conteo de folículos preantrales sanos, pero si las hay en el conteo de los folículos antrales sanos, el análisis estadístico muestra una disminución de los folículos antrales sanos en el grupo administrado con capsaicina. El desarrollo de estos folículos está relacionado con algunos factores de crecimiento y su receptor de alta afinidad que es TrkA presente en las fibras sensoriales del ovario que tienen la función de ayudar a la proliferación y síntesis de receptores de FSH en las células de la granulosa. En este caso la administración de capsaicina 1 nM no modificó el desarrollo de los folículos preantrales sanos, algunos estudios han demostrado que al administrar capsaicina a dosis bajas (0.5 mg/kg, 1nM) estimula la sobrevivencia y la proliferación celular (Stock *et al.*, 2014, Alatraste *et al.*, 2013), y una concentración mayor (1  $\mu$ M) inhibe el crecimiento de las células cancerígenas (Caprodossi *et al.*, 2011). En cuanto al grupo administrado con AMG9810 1 nM no hubo diferencias significativas con respecto al grupo control, esto es similar a otros estudios realizados en el laboratorio por Cano *et al.*, 2016, en donde demuestra que la administración de AMG9810 1 nM no afecta el desarrollo de los folículos pre antrales sanos. De igual manera, en el trabajo de Alatraste *et al.*, 2013 mostró que la administración de AMG9810 1 nM en cobayas no modifica el número de folículos antrales sanos.

Los folículos pre antrales atrésicos son folículos maduros en donde las células de la teca tienen receptores a la LH y producen andrógenos, el aumento de los andrógenos provoca sensibilidad de las células de la granulosa. Las células de la granulosa sufren un proceso de apoptosis cuando los andrógenos no pueden transformarse en estrógeno (Adhikari & Liu, 2009).

En este trabajo el análisis estadístico mostró que en el desarrollo de folículos antrales atrésicos no hay diferencias significativas entre cada uno de los grupos, sin embargo, en el gráfico muestra una tendencia a disminuir, estos resultados podemos comprobarlos con los resultados de Alatraste *et al.*, 2014 donde menciona que a una administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM la atresia folicular disminuye. La administración con AMG9810 1 nM podría estar bloqueando los receptores TRPV1 mientras que la administración con capsaicina 1 nM dependería de la dosis esto es de acuerdo con lo que se ha reportado por estudios en el laboratorio por Alatraste *et al.*, 2014. El receptor TRPV1 de manera natural tiene ligandos endógenos, entre ellos es la anandamida (AEA) que está presente en los ovarios (Tóth *et al.* 2009; Vetter *et al.*, 2008), La AEA a través del receptor TRPV1 estaría regulando de cierta forma la atresia de los folículos produciendo un aumento de  $Ca^{+2}$  intracelular que activa a PKC-PKA y también al factor de transcripción NF-kB y TrkA estimulando a PI y P2 estimulando la proliferación de las células (Garrido *et al.*, 2020; Vetter *et al.*, 2008)

En cuanto al cuerpo lúteo, su función principal es la producción de progesterona para el establecimiento y mantenimiento de la preñez. En este trabajo no hay diferencias significativas al comparar el grupo capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM con respecto al grupo vehículo, sin

embargo, si hay diferencias significativas al comparar el grupo control con respecto a capsaicina como se observa en la **figura 21**. La administración con capsaicina estaría de cierta forma estimulando a los receptores TRPV1 de tal forma que los niveles de progesterona y estrógenos podrían verse en aumento y así ayudar a que el grosor del endometrio se viera en aumento. (Bravo et al., 2021; Gutiérrez & Gutiérrez, 2019). En el caso de AMG9810 1 nM a pesar de que gráficamente se ve un aumento en el conteo de cuerpo lúteo, este aumento no provocó un engrosamiento del endometrio.

Un aspecto importante del trabajo fue investigar si hay cambios en el desarrollo folicular al bloquear el canal TRPV1. Como resultado de esto, se obtuvo que la atresia se ve disminuida al administrar capsaicina 1 nM, parte de estos resultados guarda relación con los estudios realizados en el laboratorio de Neuroendocrinología (Alariste et al., 2013, Mora 2015), en donde se muestra que en cobayas a una administración de capsaicina a 1  $\mu$ M puede favorecer la atresia de los folículos provocando la disminución de la proliferación celular ovárica, la administración de capsaicina a una concentración de 1 y 10 nM hay una baja estimulación del desarrollo folicular ovárico por lo tanto disminuye la atresia folicular.

## **7.2 Efecto de la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM en el útero posparto de la rata Wistar**

Nuestro otro órgano de interés fue el útero debido a que aquí es donde se lleva a cabo la implantación y posteriormente el desarrollo del embrión. La capa más superficial del útero es el perimetrio. En este estudio encontramos que hay una disminución de esta capa celular en el grupo capsaicina 1 nM respecto al grupo vehículo (**figura 22**). Esto puede deberse a que en el perimetrio encontramos fibras nerviosas que provienen del plexo hipogástrico superior, las fibras sensoriales del útero pasan a través de los nervios simpáticos y va desde la S2-S4 (Sosa-Stanley & Bhimji, 2011). Al hacer una administración sostenida y después del parto pudo haber inducido la desensibilización de las fibras sensoriales y una disminución de la capa serosa del perimetrio.

En cuanto al grupo administrado con AMG9810 1 nM no hay diferencias significativas con respecto al grupo vehículo, por lo tanto, el antagonista podría no estar teniendo algún efecto sobre esta capa, y no estaría afectando a las fibras nerviosas del perimetrio.

El miometrio es la siguiente capa celular que encontramos en el útero, y se trata de una capa circular interna gruesa y otra longitudinal. Una de las funciones del miometrio durante el embarazo, es que esta se extiende y se expande para facilitar el crecimiento del individuo (Owen & Heitmann 2021). En el presente trabajo, los resultados de muestran que hay diferencias significativas en todos los grupos. Al comparar el grupo administrado con capsaicina con respecto al grupo vehículo y AMG9810 encontramos que hay una disminución del miometrio.

La disminución del miometrio está relacionada con el número y tamaño de fibras musculares además guarda una estrecha relación con las concentraciones de estrógenos; esta concentración de estrógenos aumenta durante el embarazo y ayuda al mantenimiento del individuo (Valsecia, 2000). Los estrógenos ejercen una acción trófica sobre el miometrio,

aumentando la motilidad y contractilidad del útero asociadas con el trabajo de parto, por lo tanto, no podemos inferir del todo que la acción de la concentración de los estrógenos provocaría la disminución de esta capa y las fibras musculares (Valdez & García 2017; Condon et al., 2020).

El miometrio también está inervado por nervios simpáticos, parasimpáticos y sensoriales. Estos nervios sensoriales contienen fibras del tipo C y A $\delta$  que se comunican mediante neurotransmisores como CGRP, neuroquinina A y SP (Benarroch, 2015). La administración con capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM provocaría una disminución de las fibras nerviosas sensoriales, en estas fibras se expresan algunos neuropéptidos como la SP y CGRP; la disminución del miometrio podría ser porque capsaicina estaría no sólo compitiendo con la concentración de estrógenos sino también con los receptores de CGRP y SP ya que estos neuropéptidos ayudan a la homeostasis del útero. (Klukovits *et al.*, 2004; Sánchez, 2016). En el caso del grupo control gráficamente se logra observar (**Figura 23**) que hay una disminución del grosor con respecto al grupo vehículo; podría ser que en el grupo control el grosor de la capa uterina se esté presentando de manera normal, sin embargo, este grupo no se manipuló para realizar administraciones, la disminución del grosor del miometrio pudo haberse provocado por el estrés al realizar las citologías vaginales

Finalmente encontramos al endometrio como última capa uterina. Esta capa es importante ya que una de las funciones principales del endometrio es permitir que el embrión se implante de manera correcta y pueda ocurrir el embarazo. En este trabajo, la administración con capsaicina 1 nM (**Figura 24**) mostró que al comparar el grupo vehículo y grupo control podemos observar que hay un aumento en el grosor de esta capa cuando se administra capsaicina 1 nM. Por otra parte, el grupo administrado con AMG9810 1 nM se puede observar que hay una disminución del endometrio. Estos datos podemos relacionarlo con el tiempo en se preñan las ratas; anteriormente vimos que el tiempo en el que se preñan las ratas se ve disminuido cuando se administra capsaicina 1 nM, la administración con capsaicina 1 nM estaría de cierta forma promoviendo la activación de los receptores TRPV1 (Szallasi & Blumberg, 1999), incrementando así el calcio intracelular y provocando un incremento del flujo sanguíneo (Szallasi & Blumberg, 1999), a su vez estaría promoviendo de cierta forma la transcripción de genes involucrados en procesos de diferenciación y proliferación celular (Jara-Oseguera *et al.*, 2008; Taylor *et al.*, 2009).

Otra de las razones por la cual el endometrio pudo haberse engrosado es por el aumento de la producción de estrógenos, durante la gestación estos aumentan y ayudan a una mayor proliferación de las células endometriales, incrementa su vascularización y las glándulas endometriales puedan hipertrofiarse (Sánchez *et al.*, 2007, Valsecia, 2000; Valdez & García 2017). Los estrógenos también pueden ayudar a regular el transporte de Ca<sup>+2</sup> en los receptores TRPV1, el 17 $\beta$ -estradiol aumenta la expresión de TRPV1 en las neuronas aferentes del cuello uterino, así como en neuronas de la raíz dorsal. En el caso de AMG9810 se observa que hay una disminución de la capa con respecto al grupo administrado con capsaicina 1 nM, esto tiene relación con el tiempo en que se preña ya que cuando se administra AMG9810 1 nM aumenta el tiempo en que se preñan las ratas. En el útero, el bloqueo de los canales de calcio puede retrasar el tiempo de preñez o que la implantación no sea correcta, tal es el caso del grupo

administrado con AMG9810 1 nM, ya que al ser un antagonista del receptor TRPV1 bloqueando la activación del receptor y la liberación de los péptidos como el gen de la calcitonina, Sustancia P y de cierta forma retrasa el tiempo en el que se preñan las ratas (Traurig *et al* 1984; Mowa *et al.*, 2004; Tingaker *et al.*, 2010.).

La última capa del útero contiene el epitelio ciliar, el epitelio está regulado por hormonas esteroideas ováricas que permiten el engrosamiento del epitelio (Tache *et al.*, 1969; Simón, 2009). En este trabajo el epitelio ciliar (**Figura 25**), nos dice que el grupo administrado con AMG9810 1 nM al compararla con el grupo vehículo hay un aumento del epitelio ciliado. En el caso del grupo vehículo y capsaicina 1 nM no hay diferencias significativas entre ambos grupos., sin embargo, al comparar el grupo control con capsaicina encontramos que hay una disminución del epitelio ciliar. La ausencia de las microvellosidades provoca una disminución de la corriente de fluidos en el útero y por lo tanto no ayudaría a la motilidad del espermatozoide ni a la implantación del óvulo cuando este es fecundado. En el posparto ocurre un descenso de las hormonas que permiten el engrosamiento del epitelio ciliar (Simón, 2009).

Por otra parte, se realizó el conteo de las glándulas endometriales (**Figura 27**), a pesar de que el análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre cada grupo, estas se presentan después de la ovulación, aumentan de tamaño, secretan moco y sustancias ricas en glucógeno, tienen la función de la producción, secreción de hormonas y moléculas tales como los estrógenos, progesterona y glicolina que ayudan a la nutrición e implantación del blastocito (Simón,2009). En roedores durante la gestación, las glándulas endometriales aumentan durante los primeros días de la preñez y de igual manera proporcionan los nutrientes para el embrión, posterior a los 14 días estas comienzan a decrecer. (Rojas M, 2008). Una disminución de las glándulas uterinas puede provocar un defecto en la implantación del óvulo (Filant, 2014; Cooke,2013). Las glándulas uterinas guardan relación con el  $17\beta$ - estradiol y esta a su vez está relacionada con el receptor TRPV1, ya que tiene sitios de unión a receptores de estrógenos que son inducidos por promotores de genes, cuya expresión puede estar regulada por el ciclo estral (Kumar *et al.*,2018; Ramírez *et al*, 2020).

Finalmente tenemos que el porcentaje de colágeno aumenta cuando se administra el antagonista AMG9810 1 nM con respecto al grupo vehículo, (**Figura 29**) el colágeno en primera instancia se encuentra en el tejido conectivo y se encarga de dar sostén a los tejidos, contiene una matriz extracelular que contiene glicoproteínas adhesivas que se organizan para formar una red de fibras, lo cual le confieren la función de dar soporte al tejido (Serrano, 2022).

En el caso del grupo administrado con AMG9810 1 nM podría estar de cierta forma estimulando al receptor TRPV1 y provocando un aumento en la producción de colágeno en el útero que tiene relación con la pérdida de funcionalidad del tejido, como el estiramiento y compactación del útero durante la gestación y en el caso de la implantación el aumento de colágeno podría provocar que la implantación no se de manera correcta. (Aguado, 2002, Ramos, 2017).

## 8 CONCLUSIONES

En el presente trabajo se concluyen los siguientes puntos:

Al evaluar el efecto de la administración subcutánea de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM sobre la fertilización de las ratas Wistar, el tiempo en que se preñan las ratas es menor cuando se administra capsaicina 1 nM que cuando se administra el antagonista AMG9810 1 nM, estos resultados nos ayudan a justificar que capsaicina 1 nM modula la preñez.

La administración con capsaicina disminuye los folículos antrales sanos y aumenta el número de cuerpos lúteos, mientras que al administrar AMG9810 1 nM no afecta el desarrollo de los folículos.

La administración con capsaicina 1 nM disminuyó el grosor del perimetrio y miometrio del útero, mientras que en el endometrio aumentó y hay un mayor engrosamiento de esta capa. A diferencia de capsaicina 1 nM, la administración de AMG9810 1 nM no modifica el grosor del perimetrio, pero si disminuye el grosor del miometrio y endometrio.

La administración con AMG9810 1 nM aumentó el colágeno en el útero a diferencia de la administración con capsaicina a 1 nM donde no se encontraron diferencias significativas.

Finalmente podemos concluir que la administración de capsaicina 1 nM y AMG9810 1 nM podrían estar modulando la preñez y la gestación, sin embargo, se necesitarían de más estudios para poder confirmar como estos estarían participando de manera directa en estos procesos fisiológicos.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Abboud T. K. (1988). Maternal and fetal beta endorphin: effects of pregnancy and labour. *Archives of disease in childhood*, 63(7 Spec No), 707–709. [https://doi.org/10.1136/adc.63.7\\_spec\\_no.707](https://doi.org/10.1136/adc.63.7_spec_no.707)
2. Abraham, J. (1922). *The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena: Long, J. A. (Joseph Abraham), 1879–1953: Free Download, Borrow, and Streaming* : Internet Archive. <https://archive.org/details/06120800R.nlm.nih.gov/page/n13/mode/2up>
3. Adhikari, D., & Liu, K. (2009). Molecular Mechanisms Underlying the Activation of Mammalian Primordial Follicles. *Endocrine Reviews*, 30(5), 438–464. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0048>
4. Aguado, Luis (2002). Role of the Central and Peripheral Nervous System in the Ovarian Function. Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jemt.10232>
5. Aittomäki K., Huhtaniemi I.T. (1999) FSH Resistance. In: Jameson J.L. (eds) Hormone Resistance Syndromes. Contemporary Endocrinology, vol 14. Humana Press, Totowa, NJ. [https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-1-59259-698-0\\_10](https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-1-59259-698-0_10)
6. Alatríste, V. Herrera-Camacho, I., I. Martínez, M., D. Limón, I., González-Flores, O., & Luna, F. (2013). Sensory denervation with capsaicin reduces ovarian follicular development and delays the onset of puberty in guinea pigs. *Advances in Reproductive Sciences*, 01(03), 29–37. <https://doi.org/10.4236/arsci.2013.13005>
7. Andersson, H. (2008). Clinical Reproductive Endocrinology. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 21, 635–662. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00021-0>
8. Andrews, Z. B., & Grattan, D. R. (2004). The roles of dopamine and the neurointermediate lobe of the pituitary in the regulation of prolactin secretion during late pregnancy in rats. *Journal of neuroendocrinology*, 16(10), 859–865. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2004.01241.x>
9. *APA Dictionary of Psychology*. (s. f.). American Psychological Association. <https://dictionary.apa.org/gestation-period>
10. Auersperg Nelly & Kyu-Chul, Wong. (2001). Ovarian Surface Epithelium: Biology, Endocrinology, and Pathology. *Endocrine reviews*. [https://gu.se/digitalAssets/1446/1446464\\_auersperg-n-et-al-2001.pdf](https://gu.se/digitalAssets/1446/1446464_auersperg-n-et-al-2001.pdf)
11. Bahena-Trujillo, R., Gonzalo Flores, & Arias-Montaño, J. A. (2000). Dopamina: síntesis, liberación y receptores en el Sistema Nervioso Central. *mediagraphic*, 11, 2. <https://doi.org/10.7176/ceis/11-6-06>
12. Bazer, F. W. (2011, 1 enero). *Uterine receptivity to implantation of blastocysts in mammals*. IMR Press. <https://www.imrpress.com/journal/FBS/3/2/10.2741/S184> Benítez-Angeles, M., Morales-Lázaro, S. L., Juárez-González, E. & Rosenbaum, T. (2020, 12 mayo). TRPV1: Structure, Endogenous Agonists, and Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10), 3421. <https://doi.org/10.3390/ijms21103421>
13. Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual review of medicine*, 60, 355–366. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
14. Benarroch, E. E. (2015, 19 julio). *CGRP*. *Neurology*. <https://n.neurology.org/content/77/3/281>
15. Brauer, M. M. & Smith, P. G. (2015). Estrogen and female reproductive tract innervation: cellular and molecular mechanisms of autonomic neuroplasticity. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 187, 1–17. <http://doi.org/10.1016/j.autneu.2014.11.009>

16. Bravo Benítez, J. M., Medel Rojas, A., & Mirto Aguilar, N. (2021). *El Cuerpo Lúteo, nuevos mecanismos de regulación y su asociación con la infertilidad*. Neurobiología revista electrónica. <https://www.uv.mx/eneurobiologia/vols/2021/30/Bravo-Ben%20C3%ADtez/HTML.html>
17. Botella Llusía, J., & Clavero Nuñez, J. A. (1993). *Tratado de ginecología*. Google Books. [https://books.google.com.mx/books?id=CYdfAhqjG1IC&pg=PA54&lpg=PA54&dq=relaxina+naturaleza+qu%20C3%ADmica&source=bl&ots=p9DCSwW95f&sig=ACfU3U2XHP8zqcs42bfLFGqvaukk5n\\_xAw&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiR1KSk7rz1AhUII0QIHVsFCDgQ6AF6BAgXEAM#v=onepage&q=relaxina%20naturaleza%20qu%20C3%ADmica&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=CYdfAhqjG1IC&pg=PA54&lpg=PA54&dq=relaxina+naturaleza+qu%20C3%ADmica&source=bl&ots=p9DCSwW95f&sig=ACfU3U2XHP8zqcs42bfLFGqvaukk5n_xAw&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwiR1KSk7rz1AhUII0QIHVsFCDgQ6AF6BAgXEAM#v=onepage&q=relaxina%20naturaleza%20qu%20C3%ADmica&f=false)
18. Boyd, K. L., Muehlenbachs, A., Rendi, M. H., Garcia, R. L. & Gibson-Corley, K. N. (2018). Female Reproductive System. *Comparative Anatomy and Histology*, 303-334. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-802900-8.00017-8>
19. Carrascosa, A. (2003a, junio 19). Crecimiento intrauterino: factores reguladores. Retraso de crecimiento intrauterino | Anales de Pediatría. <https://www.analesdepediatria.org/es-crecimiento-intrauterino-factores-reguladores-retraso-articulo-13048406>
20. Clapham, C Montell, Gr Schultz, D. Julius. The TRP Ion Channel Family. *IUPHAR Compendium, TRP Channels* July 10, 2002 2(6):387-96.
21. Cáceres, R., Martínez-Aguayo, J. C., Arancibia, M., & Sepúlveda, E. (2017). Efectos neurobiológicos del estrés prenatal sobre el nuevo ser. *Revista chilena de neuro-psiquiatría*, 55(2), 103–113. <https://doi.org/10.4067/s0717-92272017000200005>
22. Chaudhry, S. R., & Gossman., W. (2021). *Biochemistry, endorphin*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470306/>
23. Chaban VV. Visceral sensory neurons that innervate both uterus and colon express nociceptive TRPV1 and P2X3 receptors in rats. *Ethn Dis* 2008, 18 (2Suppl 2): S2-20-4. PMID: 24. 18646315.
25. Castro-Sierra, Eduardo, Chico Ponce de León, Fernando, & Portugal Rivera, Alison. (2005). Neurotransmisores del sistema límbico. I. Amígdala. Primera parte. *Salud mental*, 28(6), 27-32. Recuperado en 11 de enero de 2022, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S018533252005000600027&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533252005000600027&lng=es&tlng=es).
26. Caprodossi, S., Amantini, C., Nabissi, M., Morelli, M. B., Farfariello, V., Santoni, M., Gismondi, A., & Santoni, G. (2011). Capsaicin promotes a more aggressive gene expression phenotype and invasiveness in null-TRPV1 urothelial cancer cells. *Carcinogenesis*, 32(5), 686–694.
27. Cedron, Juan C (2013) Estructura química de la capsaicina (Imagen) Revista de química PUCP <https://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica>
28. Cooke, P. S., Spencer, T. E., Bartol, F. F. & Hayashi, K. (2013). Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Molecular Human Reproduction*, 19(9), 547-558. <https://doi.org/10.1093/molehr/gat031>
29. Dabo, F., Nyberg, F., Qin Zhou, Sundström-Poromaa, I., & Akerud, H. (2010). Plasma levels of beta-endorphin during pregnancy and use of labor analgesia. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, 17(8), 742–747. <https://doi.org/10.1177/1933719110370059>
30. Conti, G. F. L. (1978, 28 febrero). *Endocrinología del embarazo, parto, puerperio y lactancia* /Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología. FECOLSOG. <https://revista.fecolsog.org/index.php/rcog/article/view/2167>

31. Cortright, D. N. & Szallasi, A. (2004). Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1. An update. *European Journal of Biochemistry*, 271(10), 1814-1819. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.2004.04082.x>
32. Condon, J. C., Kyathanahalli, C., Anamthathmakula, P. & Jeyasuria, P. (2020). Estrogen/estrogen receptor action and the pregnant myometrium. *Current Opinion in Physiology*, 13, 135-140. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2019.10.017>
33. Das, N. & Kumar, R. (2018). Molecular Regulation of Follicle-Stimulating Hormone Synthesis, Secretion and Action. *Journal of Molecular Endocrinology*, 60 (3) R131-R155 <https://doi.org/10.1530/JME-17-0308>
34. Eduardo E. Benarroch, Canales iónicos en nociceptores Desarrollo reciente, Implicancias Clínicas De La Investigación Neurocientífica Department of Neurology . 2015 ;139: 267–284
35. Erdő, S. L., Villányi, P., & László, A. (1989). Gestational changes of GABA levels and GABA binding in the human uterus. *Life sciences*, 44(26), 2009–2014. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(89\)90346-9](https://doi.org/10.1016/0024-3205(89)90346-9)
36. Ernsberger U. (2009). Role of neurotrophin signalling in the differentiation of neurons from dorsal root ganglia and sympathetic ganglia. *Cell and tissue research*, 336(3), 349–384. <https://doi.org/10.1007/s00441-009-0784-z>
37. Fecundación. Serna N(Ed.), (2012). *Biología del desarrollo. Cuaderno de trabajo*. McGraw-Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1476&sectionid=95223253>
38. Felice Petraglia, Alberto Imperatore, John R. G. Challis, December 2010. Neuroendocrine Mechanisms in Pregnancy and Parturition, *Endocrine Reviews*, Volume 31, Issue 6, 1, Pages 783–816, <https://doi.org/10.1210/er.2009-0019>
39. Filant J, Spencer TE. Uterine glands: biological roles in conceptus implantation, uterine receptivity and decidualization. *Int J Dev Biol*. 2014;58(2-4):107-16. doi: 10.1387/ijdb.130344ts. PMID: 25023676; PMCID: PMC4199233.
40. F. Pastelín, C., H. Rosas, N., & Morales Ledesma, L. (2017). Anatomical organization and neural pathways of the ovarian plexus nerve in rats. *Journal of ovarian Research*. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5351206/pdf/13048\\_2017\\_Article\\_311.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5351206/pdf/13048_2017_Article_311.pdf)
41. Figuero-Ruiz, E., Prieto Prieto, I., & Bascones-Martínez, A. (2006). Cambios hormonales asociados al embarazo: Afectación gingivo-periodontal. *Avances en Periodoncia e Implantología Oral*, 18(2), 101-113. Recuperado en 26 de mayo de 2021, de [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1699-65852006000200005&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852006000200005&lng=es&tlng=es).
42. Filant, J., & Spencer, T. E. (2014). Uterine glands: biological roles in conceptus implantation, uterine receptivity and decidualization. *The International journal of developmental biology*, 58(2-4), 107–116. <https://doi.org/10.1387/ijdb.130344ts>
43. Gnanamanickam, G. J. E., & Llewellyn-Smith, I. J. (2011). Innervation of the rat uterus at estrus: A study in full-thickness, immunoperoxidase-stained whole-mount preparations. *The Journal of Comparative Neurology*, 519(4), 621-643. <https://doi.org/10.1002/cne.22515>
44. Gavva, N. R., Tamir, R., Qu, Y., Klionsky, L., Zhang, T. J., Immke, D., Wang, J., Zhu, D., Vanderah, T. W., Porreca, F., Doherty, E. M., Norman, M. H., Wild, K. D., Bannon, A. W., Louis, J. C., & Treanor, J. J. S. (2005). AMG 9810 [(E)-3-(4-t-Butylphenyl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4] dioxin-6-

- yl)acrylamide], a Novel Vanilloid Receptor 1 (TRPV1) Antagonist with Antihyperalgesic Properties. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(1), 474–484. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.079855>
45. Garrido, M. P., Torres, I., Avila, A., Chnaiderman, J., Valenzuela-Valderrama, M., Aramburo, J., Oróstica, L., Durán-Jara, E., Lobos-Gonzalez, L., & Romero, C. (2020). NGF/TRKA Decrease miR-145-5p Levels in Epithelial Ovarian Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7657. <https://doi.org/10.3390/ijms21207657>
  46. Gerard J.Tortora, B. D. (2011). APARATO REPRODUCTOR FEMENINO. En *Principios de Anatomía y Fisiología* (pág. 1077). Buenos Aires Panamá: Panamericana.
  47. González Flores, Ó. (2015). Los receptores TRPV1 en órganos del sistema reproductor y su modulación funcional por hormonas. En Á. I. Melo Salazar & F. J. Lima Hernández (Eds.), *EFEECTO DE LAS HORMONAS ESTEROIDES SOBRE PROCESOS FISIOLÓGICOS Y REPRODUCTIVOS* (2.ª ed., pp. 136–148). Universidad Autónoma de Tlaxcala.
  48. González Ramos, P., Nassar Melic, N., Herráiz Esteban, N., Boñillos Calvo, M. J., Pérez Hiraldo, P., & Ibáñez Burillo, P. (2011). La rata Wistar como modelo animal experimental, para el adiestramiento laparoscópico de residentes con entrenadores pélvicos. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 54(6), 325–329. <https://doi.org/10.1016/j.pog.2010.11.003>
  49. Gohar, J., Mazor, M. & Leiberman, J.R. GnRH in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet* 259, 1–6 (1996). <https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/BF02505301>
  50. Gómez Chang, E., Larrea, F., & Martínez Trejo, F. (2012). *VÍAS DE SEÑALIZACIÓN ASOCIADAS A LA ESTEROIDOGÉNESIS*. scielo. <http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v15n1/v15n1a3.pdf>
  51. Güler, S., & Zik, B. (2018). Effects of capsaicin on ovarian granulosa cell proliferation and apoptosis. *Cell and Tissue Research*, 372(3), 603–609. <https://doi.org/10.1007/s00441-018-2803-4>
  52. Gutiérrez Núñez, R., & Gutiérrez Alarcón., B. M. (2019). *Implantación embrionaria. Algunos aspectos moleculares en la receptividad endometrial*. medigraphic.
  53. Haustrate, A., Prevarskaya, N., & Lehen'kyi, V. (2020). Role of the TRPV Channels in the Endoplasmic Reticulum Calcium Homeostasis. *Cells*, 9(2), 317. <https://doi.org/10.3390/cells9020317>
  54. Herreros M (2016). Fisiología de la gestación. Fernández-Tresguerres J.A., & Ruiz C, & Cachofeiro V, & Cardinali D.P., & Escriche E, & Gil-Loyzaaga P.E., & Juliá V, & Teruel F, & Pardo M, & Menéndez J(Eds.), *Fisiología humana*, 4e. McGraw-Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1858&sectionid=134371076>
  55. Hershel Raff, M. L. (2013). Capítulo 68 Aparato reproductor femenino . En *FISIOLOGÍA MÉDICA Un enfoque por aparatos y sistemas*. New York: McGraw-Hill.
  56. Ho, K. W., Ward, N. J., & Calkins, D. J. (2012). TRPV1: a stress response protein in the central nervous system. *American journal of neurodegenerative disease*, 1(1), 1–14.
  57. Irene Mora López (2015). Efecto de la Capsaicina administrada en la bolsa ovárica sobre el desarrollo folicular y la pubertad de la cobaya. (Título profesional ) Recuperado de <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/10006/795015TL.pdf?sequence=1>
  58. Jin, H., Liu, J., & Lei, Q. (2020, 6 enero). Transient receptor potential vanilloid 1 promotes EGFR ubiquitination and modulates EGFR/MAPK signalling in pancreatic cancer cells. Wiley online library. Recuperado 23 de febrero de 2022, de <https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1002/cbf.3483>

59. Kelleher, A. M., DeMayo, F. J., & Spencer, T. E. (2019). Uterine Glands: Developmental Biology and Functional Roles in Pregnancy. *Endocrine reviews*, 40(5), 1424–1445. <https://doi.org/10.1210/er.2018-00281>
60. Kohlhepp LM, Hollerich G, Vo L, Hofmann-Kiefer K, Rehm M, Louwen F, Zacharowski K, Weber CF. 2018 May Physiological changes during pregnancy. *Der Anaesthesist*.;67(5):383-96.
61. Klukovits, A., Gáspár, R., Sántha, P., Jancsó, G. & Falkay, G. (2004, 1 enero). Role of Capsaicin-Sensitive Nerve Fibers in Uterine Contractility in the Rat1. *Biology of Reproduction*, 70(1), 184-190. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.017699>
62. Kuehnel, W. (2003). Uterus [Libro electrónico]. En *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy, 4th edition* (4.<sup>a</sup> ed., pp. 416–428). ThiemeMeulenhoff.
63. Kumar, S., Singh, U., Singh, O., Goswami, C., & Singru, P. S. (2017). Transient receptor potential vanilloid 6 (TRPV6) in the mouse brain: Distribution and estrous cycle-related changes in the hypothalamus. *Neuroscience*, 344, 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.12>
64. Licheri, V., Talani, G., Gorule, A. A., Mostallino, M. C., Biggio, G., & Sanna, E. (2015). Plasticity of GABAA Receptors during Pregnancy and Postpartum Period: From Gene to Function. *Neural Plasticity*, 2015, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/170435>
65. Löw, P., György, K., & Molnár, K. (2016). *Atlas of Animal Anatomy and Histology*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-25172-1>
66. Maeda, K., Ohkura, S. & Tsukamura, H. (2000). Physiology of reproduction. The laboratory Rat. 145-176
67. Macchiarelli, G. (2000, 20 agosto). The Microvasculature of the Ovary: A Review by SEM of Vascular Corrosion Casts. 2000 Society for Reproduction and Development. [https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/46/4/46\\_4\\_207/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/jrd/46/4/46_4_207/_article)
68. Magon, N., & Kumar, P. (2012). Hormones in pregnancy. *Nigerian Medical Journal*, 53(4), 179. <https://doi.org/10.4103/0300-1652.107549>
69. Manuales MSD. (2019). *Fisiología del embarazo*. Manual MSD versión para profesionales. <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/ginecolog%C3%ADa-y-obstetricia/abordaje-de-la-mujer-embarazada-y-atenci%C3%B3n-prenatal/fisiolog%C3%ADa-del-embarazo>
70. Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). Atlas de histología vegetal y animal. Órganos animales. Recuperado (13/07/20) de : [http://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada\\_o\\_a\\_inicio.php](http://mmegias.webs.uvigo.es/2-organos-a/guiada_o_a_inicio.php)
71. Megías, M. P. M. (s. f.). *Microscopio virtual. Útero*. *Atlas de Histología Vegetal y Animal*. <https://mmegias.webs.uvigo.es/7-micro-virtual/utero.php>
72. Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>. Consultado: 2022
73. Montvelisky, H. (2013). *Endocrinología de la placenta*. 2–4. <https://www.binasss.sa.cr/revistas/amc/v22n31979/art10.pdf>
74. Mossman, H. W. (1977). Comparative Anatomy. Biology of the Uterus. Elizabeth M. Ramsey (auth.), Ralph M. Wynn (eds.)-Biology of the Uterus-Springer US (1977) (1)19-34
75. Morales-Ledesma, L., Trujillo, A., & Apolonio, J. (2015). In the pubertal rat, the regulation of ovarian function involves the synergic participation of the sensory and sympathetic innervations that arrive at the gonad. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 13, 61. <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0062-8>

76. Mowa, C. N., & Papka, R. E. (2004). The role of sensory neurons in cervical ripening: effects of estrogen and neuropeptides. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 52(10), 1249–1258. <https://doi.org/10.1177/002215540405201001>
77. Navarrete Morales, M. I. (2004). Modificación de las funciones ováricas en el animal con Síndrome de Ovario Poliquístico inducido por la administración del valerato de estradiol o la exposición a estrés por frío. Tesis para obtener el título de Bióloga. [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis\\_navarrete\\_morales.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_navarrete_morales.pdf)
78. Noyola-Martínez, N., Halhali, A., & Barrera, D. (2019). Steroid hormones and pregnancy. *Gynecological Endocrinology*, 35(5), 376–384. <https://doi.org/10.1080/09513590.2018.1564742>
79. Numazaki, M., Tominaga, T., Takeuchi, K., Murayama, N., Toyooka, H. & Tominaga, M. (2003, 13 junio). Structural determinant of TRPV1 desensitization interacts with calmodulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(13), 8002-8006. <https://doi.org/10.1073/pnas.1337252100>
80. Olivera, M. (2006, septiembre). *El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización*. SciELO. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902006000400008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000400008)
81. Owen C.M., & Heitmann R.J.(2021). Anatomía del aparato reproductor femenino. DeCherney A.H., & Nathan L, & Laufer N, & Roman A.S.(Eds.), *Diagnóstico y tratamiento ginecoobstétricos*, 12e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=3087&sectionid=258537819>
82. P. Gartner, L. (2011). Female Reproductive System. En J. L. Hiatt (Ed.), *Concise Histology* (3.a ed., p. 383). SAUNDERS ELSEVIER.
83. Pawluski, J. L., Li, M., & Lonstein, J. S. (2019). Serotonin and motherhood: From molecules to mood. *Frontiers in neuroendocrinology*, 53, 100742. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2019.03.001>
84. Petragalia, F., & Imperatore, A. (2010, diciembre). Neuroendocrine Mechanisms in Pregnancy and Parturition. *Encocryne Society*. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0019>
85. Pingle S.C., Matta J.A., Ahern G.P. (2007) Capsaicin Receptor: TRPV1 A Promiscuous TRP Channel. In: Flockerzi V., Nilius B. (eds) *Transient Receptor Potential (TRP) Channels*. Handbook of Experimental Pharmacology, vol 179. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-34891-7\\_9](https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-34891-7_9)
86. Pohóczyk, K. (2016, 1 febrero). Estrogen-dependent up-regulation of TRPA1 and TRPV1 receptor proteins in the rat endometrium. *Jme*. <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/56/2/135.xml>
87. Prescott, E. D. & Julius, D. (2003, 23 mayo). A Modular PIP2 Binding Site as a Determinant of Capsaicin Receptor Sensitivity. *Science*, 300(5623), 1284-1288. <https://doi.org/10.1126/science.1083646>
88. Ramos, F. (2017). Vista de Metaloproteinasas de la matriz extracelular y su participación en el proceso de cicatrización | Médicas UIS. SciELO. <https://revistas.uis.edu.co/index.php/revistamedicasuis/article/view/6426/6624>
89. Ramírez HD. (2011) “¿La participación del nervio ovárico superior en la regulación de la ovulación y la esteroidogénesis depende del ciclo circádico? La rata adulta como modelo de estudio”. Tesis de maestría en Ciencias biológicas (Biología experimental).UNAM. FES Zaragoza.
90. Ramírez-Barrantes, R., Carvajal-Zamorano, K., Rodríguez, B., Cordova, C., Lozano, C., Simon, F., Díaz, P., Muñoz, P., Marchant, I., Latorre, R., Castillo, K. & Olivero, P. (2020). TRPV1-Estradiol Stereospecific Relationship Underlies Cell Survival in Oxidative Cell Death. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00444>

91. Richards, J. S. & Ascoli, M. (2018). Endocrine, Paracrine, and Autocrine Signaling Pathways That Regulate Ovulation. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29 (5), 313-325. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2018.02.012>
92. Richards, J. S., & Pangas, S. A. (2010). The ovary: basic biology and clinical implications. *The Journal of clinical investigation*, 120(4), 963–972. <https://doi.org/10.1172/JCI41350>
93. Rogers, P. A. & Gannon, B. J. (1981). The vascular and microvascular anatomy of the rat uterus during the oestrous cycle. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 59, 667–679.
94. Rojas, M. (2008). Evaluación Morfométrica de la Relación Embrio-Uterina de las Etapas Pre y Post Implantacional en Conejo. *scielo*. <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v26n4/art35.pdf>
95. Rosen M.P., & Cedars M.I. (2019). Endocrinología del sistema reproductor femenino e infertilidad. Gardner D.G., & Shoback D(Eds.), Greenspan. *Endocrinología básica y clínica* 10e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2745&sectionid=232231550>
96. Rodrigo, A. (2018). *Desarrollo de los folículos del ovario* [Ilustración]. Reproducción asistida ORG. <https://www.reproduccionasistida.org/reserva-ovarica/desarrollo-de-los-foliculos-del-ovario/>
97. Rosenfeld C. S. (2020). Placental serotonin signaling, pregnancy outcomes, and regulation of fetal brain development†. *Biology of reproduction*, 102(3), 532–538. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioz204>
98. Rosenbaum T, Simon SA. TRPV1 Receptors and Signal Transduction. In: Liedtke WB, Heller S, editors. *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2007. Chapter 5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5260/>
99. R., T. V. (2006). Importancia del factor de crecimiento nervioso (NGF) en la función normal del ovario y en el cáncer ovárico epitelial | *Rev. Hosp. Clin. Univ. Chile*;17(3): 207–216, 2006. | LILACS. Portal Regional de la BVS. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-531917>
100. Salazar, H., Jara-Oseguera, A., & Rosenbaum, T. (2009). El canal TRPV1 como diana para tratar el dolor [The TRPV1 channel as a target for the treatment of pain]. *Revista de neurologia*, 48(7), 357–364.
101. Sánchez Anguiano, L. F., Puente Ledesma, L. & Lares Bayona, E. F. (2007). Receptores de estrógenos en la hiperplasia y el adenocarcinoma de endometrio: estudio inmunohistoquímico con análisis de imagen. *Mediagraphic*. <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobs/mex/gom-2007/gom079b.pdf>
102. Sánchez, I. D. (2016). Expresión de las taquicinas y sus receptores en el aparato reproductor femenino y leiomiomas uterinos. *Dialnet*. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=237006>
103. Sasser, J. M., & Baylis, C. (2008). The natriuretic and diuretic response to dopamine is maintained during rat pregnancy. *American journal of physiology. Renal physiology*, 294(6), F1342–F1344. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00067.2008>
104. Simón, C. (2009). *El endometrio humano: desde la investigación a la clínica*. Ed. Médica Panamericana.
105. Serrano, C., MD. (2022, 24 octubre). Tejido conectivo laxo. *Kenhub*. <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/tejido-conectivo-laxo>
106. Sosa-Stanley J.N. & Bhimji S. S. (2011). *Anatomy, Pelvis, Uterus*. StatPearls. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470297/>
107. Soliman, E., & Van Dross, R. (2016). Anandamide-induced endoplasmic reticulum stress and apoptosis are mediated by oxidative stress in non-melanoma skin cancer: Receptor-independent

- endocannabinoid signaling. *Molecular carcinogenesis*, 55(11), 1807–1821. <https://doi.org/10.1002/mc.22429>
108. Smolen, A., Smolen, T. N., & Han, P. C. (1993). Alterations in regional brain GABA concentration and turnover during pregnancy. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 44(1), 63–69. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90281-w](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90281-w)
  109. Stock, K., Garthe, A., de Almeida Sassi, F., Glass, R., Wolf, S. A., & Kettenmann, H. (2014). The capsaicin receptor TRPV1 as a novel modulator of neural precursor cell proliferation. *Stem cells (Dayton, Ohio)*, 32(12), 3183–3195. <https://doi.org/10.1002/stem.1805>
  110. Sugam, S., & Kakinuma, Y. (2021, 1 febrero). Noradrenaline as a key neurotransmitter in modulating microglial activation in stress response. ScienceDirect. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019701862030334X>
  111. S.Richards, J., & L. Russel, D. (1998, 25 octubre). Molecular mechanisms of ovulation and luteinization. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720798001683?via%3Dihub>
  112. Szallasi, A., y Blumberg, P. M. Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol Rev.* 1999; 51(2): 159-212.
  113. Tachi, S., Tachi, C., and Lindner, H. H. Cilia-bearing stromal cells in the rat uterus. 1969 *J Anat.* 104, 295-308.
  114. Técnica de Hematoxilina-Eosina. (2018, 4 mayo). MARBE S.A. Recuperado 25 de septiembre de 2022, de <https://www.marbequimica.com.ar/tecnica-de-hematoxilina-eosina/>
  115. Tellez Vargas Jorge . (2000). La noradrenalina su rol en la depresión. *Revista Colombiana de Psiquiatría*, 29(1), 50-73. Retrieved January 11, 2022, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74502000000100006&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74502000000100006&lng=en&tlng=es).
  116. Tingåker, B. K., Ekman-Ordeberg, G., Facer, P., Irestedt, L., & Anand, P. (2008). Influence of pregnancy and labor on the occurrence of nerve fibers expressing the capsaicin receptor TRPV1 in human corpus and cervix uteri. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*, 6, 8. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-6-8>
  117. Tominaga, M., Tominaga, T. (2005). Structure and function of TRPV1. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 451, 143–150 <https://doi.org/10.1007/s00424-005-1457-8>
  118. Tominaga M. (2007) Nociception and TRP Channels. In: Flockerzi V., Nilius B. (eds) Transient Receptor Potential (TRP) Channels. Handbook of Experimental Pharmacology, vol 179. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-34891-7\\_29](https://doi-org.proxydgb.buap.mx/10.1007/978-3-540-34891-7_29)
  119. Tóth, A., Blumberg, P. M., & Boczán, J. (2009). Anandamide and the vanilloid receptor (TRPV1). *Vitamins and hormones*, 81, 389–419. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(09\)81015-7](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(09)81015-7)
  120. Traurig, H., Saria, A., & Lembeck, F. (1984). The effects of neonatal capsaicin treatment on growth and subsequent reproductive function in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 327(3), 254–259. <https://doi.org/10.1007/BF00502458>
  121. Trujillo, A., Morales, L., & Domínguez, R. (2015). The effects of sensorial denervation on the ovarian function, by the local administration of capsaicin, depend on the day of the oestrous cycle when the treatment was performed. *Endocrine*, 48(1), 321–328. <https://doi.org/10.1007/s12020-014-0299-6>
  122. Valsecia, M. (2000). Farmacología de las hormonas sexuales femeninas. Estrógenos, anti-estrógenos, progesterona, progestágenos. Anti progestágenos anticonceptivos hormonales. Facultad de

- Medicina Universidad Nacional del Nordeste.  
[https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap26\\_femen.pdf](https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap26_femen.pdf)
123. Valdez N, & García N (2017). Aparato reproductor femenino. Fortoul van der Goes D.I.(Ed.), *Histología y biología celular*, 3e. McGraw Hill. <https://accessmedicina.bibliotecabuap.elogim.com/content.aspx?bookid=1995&sectionid=150150302>
  124. Vlachová, V., Teisinger, J., Sušánková, K., Lyfenko, A., Ettrich, R., & Vyklický, L. (2003). Functional Role of C-Terminal Cytoplasmic Tail of Rat Vanilloid Receptor 1. *The Journal of Neuroscience*, 23(4), 1340–1350. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-04-01340.2003>
  125. Velázquez, Nelson. (2014). La hormona gonadotrofina coriónica humana: Una molécula ubicua y versátil. Parte I. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 74(2), 122-133. Recuperado en 09 de enero de 2022, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0048-77322014000200006&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0048-77322014000200006&lng=es&tlng=es)
  126. Vetter, I., Cheng, W., Peiris, M., Wyse, B. D., Roberts-Thomson, S. J., Zheng, J., Monteith, G. R., & Cabot, P. J. (2008). Rapid, opioid-sensitive mechanisms involved in transient receptor potential vanilloid 1 sensitization. *The Journal of biological chemistry*, 283(28), 19540–19550. <https://doi.org/10.1074/jbc.M707865200>
  127. Wang, W., Liu, H. L., Tian, W., Zhang, F. F., Gong, Y., Chen, J. W., Mao, D. G., & Shi, F. X. (2010). Morphologic observation and classification criteria of atretic follicles in guinea pigs. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 11(5), 307–314. <https://doi.org/10.1631/jzus.B0900391>
  128. Wang, S. E. (2017, 11 abril). TRPV1 Regulates Stress Responses through HDAC2. *Cell Reports*. [https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(17\)30396-0?\\_returnURL=https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124717303960?showall=true](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(17)30396-0?_returnURL=https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211124717303960?showall=true)
  129. Welch, J. M., Simon, S. A., & Reinhart, P. H. (2000). The activation mechanism of rat vanilloid receptor 1 by capsaicin involves the pore domain and differs from the activation by either acid or heat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(25), 13889–13894. <https://doi.org/10.1073/pnas.230146497>
  130. Xia, R., Dekermendjian, K., Lullau, E. y Dekker, N. (2011). TRPV1: A therapy target that attracts the pharmaceutical interests. En: Shahidul Md. (Ed). *Transient receptor potential channels*. Springer, 637-665.
  131. Zakaria Bakar Abu, Huda Yahia Hamid (2012). Reproductive characteristics of the female laboratory rat. *Academic Journal*, Huda Yahia Hamid1 and Md Zuki Abu Bakar Zakaria2, 12(19), 1. [https://academicjournals.org/article/article1380711761\\_Hamid%20and%20Zakaria.pdf](https://academicjournals.org/article/article1380711761_Hamid%20and%20Zakaria.pdf)
  132. Zárate Pérez, A. (2012). “Concentración sérica de progesterona y 17 β-Estradiol como resultado del nervio vago a las 09:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral. [https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis\\_zarate\\_perez.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/biologia/tesis/tesis_zarate_perez.pdf)
  133. Zhang, S., Lin, H., Kong, S., Wang, S., Wang, H., Wang, H., & Armant, D. R. (2013). Physiological and molecular determinants of embryo implantation. *Molecular aspects of medicine*, 34(5), 939–980. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.12.011>

## ANEXOS

### *Tinción Hematoxilina-Eosina*

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar al agua destilada

Xilol 1-----10 min  
Xilol 2----- 3 min  
Alcohol-Xilol-----1 min  
Alcohol-Absoluto-----1 min  
Alcohol Absoluto-----1 min  
Alcohol 96%-----1 min  
Alcohol 96%-----1min

2. Hematoxilina-----4 min
3. Agua corriente-----5 lavados
4. Alcohol ácido-----5 lavados
5. Carbonato de litio-----10 lavados
6. Agua destilada-----5 lavados
7. Eosina-----3 min
8. Agua destilada-----5 lavados
9. Alcohol 96%-----1 min
10. Alcohol 96%-----1 min
11. Alcohol Absoluto-----1 min
12. Alcohol Absoluto-----1 min
13. Alcohol-Xilol-----1 min
14. Xilol-----10 min
15. Xilol-----3 min
16. Montar con medio resinoso

### *Tinción Tricrómica de Masson*

1. Desparafinar e hidratar hasta llegar el agua destilada

Xilol 1-----10 min  
Xilol 2----- 3 min  
Alcohol-Xilol-----1 min  
Alcohol-Absoluto-----1 min  
Alcohol Absoluto-----1 min  
Alcohol 96%-----1 min  
Alcohol 96%-----1min

2. Tratar con la solución de Bouin por 1 h a 56° C
3. Dejar enfriar durante 10 min
4. Agua corriente-----5 lavados
5. Agua destilada-----5 lavados

6. Hematoxilina de Hierro de Weigert-----10 min
7. Agua corriente-----5 lavados
8. Agua destilada-----5 lavados
9. Fucsina ácida-escarlata de Biebrich-----15 min
10. Agua destilada-----10 lavados
11. Ácido fosfotúngtico-fosfomolibdico-----18 min
12. Verde brillante-----1 min
13. Agua destilada-----5 lavados
14. Ácido fosfotúngstico 5%-----20 min
15. Alcohol 96-----2 min
16. Alcohol 96-----2 min
17. Alcohol Absoluto-----2 min
18. Alcohol Absoluto-----2 min
19. Xilol 2-----3 min
20. Xilol 1-----3 min
21. Montar con medio resinoso.



**FEFARMEX**

La Universidad de Quintana Roo y La Federación Farmacéutica Mexicana  
a través de

la División de Ciencias de la Salud  
Otorgan la presente:

# Constancia

A:

**Cecilia Méndez, Joaquina De la Rosa , Adriana González, Sandra Cuellar,  
Alicia Martínez Lozada , Harim González, Victorino Alatriste.**

Por haber obtenido el **Tercer lugar** en el concurso de carteles con el cartel "**Evaluación de la capsaicina en la fertilización y el desarrollo de la preñez de ratas Wistar**" en el III Congreso Interpeninsular para la Integración farmacéutica con la impartido los días 20, 21 y 22 de marzo del 2019.

Chetumal, Quintana Roo, México.

  
Dra. María de Lourdes Rojas Armadillo  
Directora de la División de Ciencias de la Salud de la  
Universidad de Quintana Roo

  
Dra. Karla del Carmen García Uitz  
Jefa del Departamento de Ciencias de la Farmacia DCS-UQROO