

51261  
rej. 2



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

“ZARAGOZA”

**ESTUDIO DE LA PARTICIPACION DE LA INERVACION  
VAGAL SOBRE EL CICLO ESTRAL Y LA OVULACION  
EN LA RATA ADULTA**

**TESIS**

Que para obtener el Grado de:  
**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:  
**REBECA CHAVEZ GENARO**

**TESIS CON  
FOLIA EL ORIGEN**

México, D. F. 1988



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Resumen	3
Lista de trabajos publicados	6
Introducción	7
Estudios anatómicos sobre la inervación del ovario	
Concentración de catecolaminas, receptores adrenérgicos y péptidos en el ovario	
Efecto de la desnervación sobre el ovario y el proceso de hipertrofia compensadora (HCO)	
Hipótesis y Objetivos	20
Material y Métodos	21
Animales experimentales	
Administración de hormonas y fármacos	
Procedimientos quirúrgicos	
Procedimiento de autopsia	
Análisis morfométrico	
Determinaciones hormonales	
Análisis estadístico	
Resultados	26
Discusión	44
Conclusiones	50
Bibliografía	52
Agradecimientos	58
Publicaciones	59

## RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados del estudio de los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio vago sobre la función del ovario. Los experimentos se realizaron en animales enteros y hemicastrados. En algunos grupos se indujo la ovulación por la administración de gonadotropinas; en otros se analizaron las interacciones de la deservación catecolaminérgica provocada por la administración de reserpina, la sección de los nervios vago y la ovulación inducida.

En el animal entero, la sección bilateral del nervio vago no modificó el ciclo estral, pero el número de ovocitos liberados fue mayor que en los animales sin tratamiento ( $11.8 \pm 0.3$  vs  $9.2 \pm 0.6$ ,  $P < 0.05$ ). Los efectos de la sección unilateral sobre la ovulación y el ciclo estral dependieron del nervio vago seccionado (derecho o izquierdo), del día del ciclo en que se realizaron las manipulaciones experimentales y del período postoperatorio. El 48% de los animales con sección unilateral del nervio vago perdió su patrón de ciclicidad, las secciones realizadas en el día del diestro I fueron las que provocaron mayores alteraciones, ya que el 90% de los animales se volvieron acíclicos. Los niveles circulantes de la hormona estimulante del folículo (FSH) en los animales con Operación simulada fueron semejantes a los encontrados en los animales con sección unilateral del nervio vago realizada en cualquiera de los días del ciclo estral.

En el grupo testigo, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue mayor que en el derecho ( $6.0 \pm 0.3$  vs  $4.3 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ), diferencia que se mantuvo cuando se seccionaron ambos nervios vago y se eliminó tanto en los animales con operación simulada como con sección unilateral de dicho nervio. Luego de cuatro días de la intervención, el número de ovocitos liberados por los animales con sección del nervio vago izquierdo en el día del estro se redujo a menos de la mitad del observado en los animales con operación simulada ( $4.6 \pm 0.8$  vs  $9.9 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ). La administración de FBH en animales con bloqueo del sistema catecolaminérgico por reserpina, duplicó el número de ovocitos liberado ( $11.1 \pm 0.8$  vs  $21.5 \pm 3.0$ ,  $P < 0.05$ ), y el peso de los ovarios ( $44.9 \pm 3.9$  vs  $66.2 \pm 4.4$ ,  $P < 0.05$ ). Estos efectos fueron abolidos por la sección bilateral del nervio vago. No se observaron cambios en el número de ovocitos o del peso del ovario cuando la reserpina fue administrada antes de la hormona luteinizante (LH).

En el animal hemicastrado del ovario derecho, la tasa de ovulantes fue menor que en aquellos en que el ovario extirpado fue el izquierdo ( $16/38$  vs  $27/32$ ,  $P < 0.05$ ). No se observaron diferencias significativas en el número de ovocitos liberado, ni en el porcentaje de hipertrofia compensadora (HCO) entre ambos grupos. La sección bilateral de nervio vago provocó reducción del porcentaje de HCO sólo en los animales hemicastrados del ovario derecho ( $44.6\%$  vs  $30.6\%$ ,  $P < 0.05$ ). Los resultados de la vagotomía unilateral dependieron del vago seccionado y del ovario

resanente estudiado. La sección del nervio vago izquierdo provocó aumento de la tasa de animales ovulantes (7/7 vs 16/38,  $P < 0.05$ ) y del número de ovocitos liberado en el animal hemicastrado del ovario derecho ( $11.6 \pm 0.7$  vs  $8.9 \pm 0.7$ ,  $P < 0.05$ ), mientras que dichos parámetros disminuyeron cuando la gónada extirpada fue la izquierda (2/8 vs 27/32,  $P < 0.05$ ). La sección del nervio vago derecho provocó reducción de la HCD tanto en los animales hemicastrados del ovario derecho como del izquierdo.

En este modelo experimental la administración de gonadotropinas y la sección de ambos vagos redujo tanto la tasa de animales ovulantes (6/11 vs 15/16,  $P < 0.05$ ) como el número de ovocitos liberado ( $6.2 \pm 1.1$  vs  $12.2 \pm 1.3$ ,  $P < 0.05$ ); la administración de reserpina antes de FBH ó LH no modificó el número de ovocitos liberado pero disminuyó la tasa de animales ovulantes (15/30, 4/10 vs 15/16,  $P < 0.05$ ). Los resultados indican que la naturaleza de la información que transcurre por ambos nervios vago es diferente y apoyan la hipótesis de lateralización periférica de los sistemas de regulación neuroendócrina.

**TRABAJOS PUBLICADOS EN LOS QUE SE BASA ESTA TESIS**

I.- CRUZ, Ma. E., CHAVEZ, R., and DOMINGUEZ, R. (1986) Ovulation follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. La Revista de Investigación Clínica 38: 167-171

II.- CHAVEZ, R., CRUZ, Ma. E. and DOMINGUEZ, R. (1987) Modifications on the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamines depletion in vagotomized adult rats. La Revista de Investigación Clínica. 39:149-153

III.- CHAVEZ, R., BANCHEZ, B., ULLOA-AGUIRRE, A. and DOMINGUEZ, R. (1988) Effects of unilateral section of the vagus nerve performed on each day of the oestrus cycle on oestrus cyclicity and ovulation. Journal of Endocrinology (mandado a)

IV.- CHAVEZ, R., CRUZ, Ma. E. and DOMINGUEZ, R. (1987) Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. J. Endocr. 113:397-401

V.- CHAVEZ, R., CRUZ, Ma.E. and DOMINGUEZ, R. (1987) Ovulation and compensatory hypertrophy response to gonadotropins depends on the vagus nerve and catecholaminergic ovarian innervation. Medical Science Research. 15:1529-1530

## INTRODUCCION

Estudios histológicos realizados desde 1891, mostraron la presencia de nervios intraováricos, no sólo en el lecho vascular sino también en la pared de los folículos (14, 49). Sin embargo, es hasta 1949 cuando Hill (38) plantea que además de las hormonas hipofisarias, la inervación también participa en la regulación de la función del ovario. Estudios posteriores realizados por diferentes investigadores han mostrado que para interpretar diversos resultados experimentales es necesario tomar en consideración la sugerencia inicial de Hill, (7, 27, 34, 39).

El ovario de los mamíferos recibe inervación catecolaminérgica a través del plexo ovárico y del nervio ovárico superior. El plexo ovárico se origina en los plexos aórtico y renal, cuyos cuerpos celulares preganglionares se localizan en los segmentos T10 y T11 de la médula espinal. El nervio ovarico superior, es rama del plexo celíaco y transita en el borde del ligamento suspensorio (43). La inervación parasimpática llega al ovario por el nervio vago y, según algunos autores, por el plexo hipogástrico a partir de B2-B4, lo cual es negado por otros (14, 38, 42). El plexo ovárico está constituido por paquetes de fibras nerviosas que acompañan tanto a la arteria como a la vena ovárica. Estas fibras llegan a las trompas de Falopio y al ligamento ancho junto con el plexo uterino, a través de los cuales inervan al útero. Se ha observado que las fibras que provienen del plexo ovárico son no mielínicas, de calibre pequeño



y acompañan a los vasos sanguíneos hasta el estroma, donde los grandes paquetes nerviosos se ramifican en estrecha relación con el lecho vascular. Estudios histológicos han revelado que algunas de estas fibras inervan a los vasos, otras al músculo liso y otras terminan libremente. Estas últimas no penetran al folículo ni tienen relación directa con las células de la granulosa (64).

Estudios histoquímicos muestran que los nervios adrenérgicos intrínsecos que derivan del plexo ovárico son perivasculares, en tanto que los derivados del nervio ovárico superior inervan tanto a los vasos sanguíneos como a las células de la glándula intersticial (43, 62). La densidad del plexo adrenérgico parece ser mayor en la pared folicular que en el estroma adyacente, particularmente en los ovarios de la vaca y la oveja. La presencia de fibras nerviosas en la glándula intersticial ha sido también demostrada en el ratón, la cobaya y la rata (14, 44, 51). En esta última especie, la densidad de la inervación adrenérgica aumenta durante la preñez (14). Utilizando la técnica del ácido glióxicico, se ha mostrado que las tecas de los folículos en distintos estadios de desarrollo, están inervadas. En un estudio realizado en diez especies de mamíferos, se describe que el patrón de distribución de las fibras adrenérgicas es similar en todas las especies analizadas, aunque la intensidad de la fluorescencia y su densidad varían (62). Así, los ovarios de la gata, la cobaya, la oveja y la vaca reciben gran cantidad de fibras adrenérgicas, mientras que en el ratón y

la coneja la inervación simpática está dispersa. En la vaca y la oveja la fluorescencia es de color amarillo y no verde, como corresponde a la noradrenalina, pero según los autores, no hay razón para pensar en la presencia de dopamina (62). Trabajos realizados por Baljet (10) señalan que en la rata los nervios ováricos derivan de tres fuentes: el plexo celíaco; el plexo intermesentérico y el nervio esplácnico lumbar superior cuyas contribuciones varían hacia ambos lados de los ovarios dependiendo de la especie estudiada. La contribución desde otras partes del plexo celíaco difieren sobre ambos lados: para el nervio ovárico izquierdo son al azar a lo largo de la arteria ovárica, pero provienen principalmente de los plexos mesentérico y ganglionar, en tanto que las fuentes de los nervios ováricos derechos son el plexo celíaco, el plexo inermesentérico y el nervio esplácnico superior.

En el ovario de los mamíferos los axones acetilcolinesterasa positivos forman un plexo bien definido en el estroma, cuyo patrón de distribución es semejante al de las fibras adrenérgicas aunque su número es menor. La presencia de colinesterasa en el ovario no implica que dichos nervios sean colinérgicos, ya que estudios específicos muestran que dichos axones contienen pseudocolinesterasa. Además, se ha demostrado que en el nervio vago no sólo existen fibras acetilcolinesterasa positivas sino que también hay fibras que contienen somatostatina, sustancia P, péptido intestinal vasoactivo (VIP), colecistoquinina y metionina encefalina (25, 35, 46, 57). En el ovario de ratas prepóberas se

ha detectado la presencia de fibras peptidérgicas que contienen tanto sustancia P como péptido intestinal vaso activo (VIP), estas fibras inervan los vasos, el tejido intersticial esteroideogénico y las tecas de los folículos en desarrollo pero no llegan al cuerpo lúteo (25). Las fibras con sustancia P se observan fundamentalmente alrededor de los vasos sanguíneos, mientras que las que contienen VIP predominan en el tejido intersticial. Su distribución sugiere que estos péptidos también participan en la regulación del flujo sanguíneo del órgano, formando parte de la llamada inervación sensorial del ovario (4, 24, 25, 47). También se ha descrito la presencia de ganglios autónomos en el hilio del ovario y de células cromargentafín en la corteza, a las cuales se les considera análogas a las de la glándula suprarrenal (14).

Existen numerosas evidencias de que la inervación del ovario participa en la regulación de las diversas funciones del órgano. El bloqueo o la estimulación de los nervios que le llegan provocan modificaciones que dependen de la vía nerviosa y del modelo experimental utilizado.

#### Concentraciones de catecolaminas, receptores adrenérgicos y péptidos en el ovario

Jordan (40) ha mostrado que el ovario de la rata adulta posee sólo una clase de receptores beta adrenérgicos, cuya afinidad es semejante a lo largo del ciclo estral. Las concentraciones del receptor son más altas durante el proestro,

caen al 50% de este valor en la mañana del estró y aumentan nuevamente a niveles semejantes a los del proestro en las etapas de metaestro y diestro, lo que sugiere que los cambios en la concentración de receptores puede deberse a modificaciones en los niveles circulantes de noradrenalina, al contenido intraovárico de las catecolaminas o a ambos. El ovario de la rata prepóber contiene una población de receptores beta adrenérgico del subtipo beta dos, similar al descrito en los ovarios de la rata adulta (1, 2). Durante la pubertad, estos receptores duplican su concentración entre la última etapa de este estadio y la mañana del primer proestro y disminuyen drásticamente a las 16.00 hrs de ese día, permaneciendo bajos hasta el día del primer estró (2).

En la cerda adulta, las concentraciones de noradrenalina y adrenalina del licor folicular muestran variaciones a lo largo del ciclo, donde los valores más elevados fueron observados durante la fase folicular. En esta especie, las concentraciones de noradrenalina fueron 6 a 10 veces más elevadas que las de adrenalina (8, 31). En la vaca, las catecolaminas que presentan variaciones en su concentración a lo largo del ciclo son la dopamina y la noradrenalina, siendo más bajas en la mañana del proestro que en el diestro, mientras que las concentraciones de adrenalina no varían.

La inervación que llega al ovario a través del nervio ovárico superior (noradrenérgico) es fundamental para que la secreción de estrógenos sea normal (24, 43). Además, se ha mostrado que las propias células foliculares son capaces de

sintetizar catecolaminas de novo (12). Según los datos experimentales disponibles hasta el presente, las catecolaminas que actúan sobre el ovario tendrían cuatro orígenes diferentes: las catecolaminas plasmáticas secretadas por la médula suprarrenal (principalmente adrenalina); las catecolaminas que se liberan en las terminaciones nerviosas de los nervios que llegan con los vasos sanguíneos en el propio ovario (principalmente noradrenalina); las sintetizadas por las propias células foliculares; y las catecolaminas (o indolaminas) secretadas por las células del sistema cromocargafin. Aunque en la actualidad no se conoce el sitio de terminación intraovárico de las fibras nerviosas que transcurren en el nervio vago (54) o en el nervio ovárico superior, es posible suponer que están vinculadas de alguna manera con las tres fuentes de catecolaminas intraováricas antes mencionadas.

La función del ovario varía según los niveles de catecolaminas circulantes: en ratas prepúberes la extirpación de la médula adrenal provocó retraso en la edad de la apertura vaginal, alteraciones del ciclo estral y disminución del número de ovocitos liberado, efectos que parecen estar mediados por receptores adrenérgicos beta-2 (3, 20, 37, 50, 54, 56, 66). El estudio de la ontogenia de la noradrenalina en el ovario de la rata, ha mostrado que sus concentraciones aumentan de manera significativa entre los 20 y 25 días de vida posnatal. El ovario de estos animales es capaz de sintetizar noradrenalina de novo y la velocidad de síntesis es mayor a medida que los animales crecen (15).

## Efectos de la deservación quirúrgica o farmacológica del ovario sobre el crecimiento folicular, la atresia y la ovulación

### Sistema Catecolaminérgico

En los mamíferos, durante el crecimiento del folículo ovárico la estimulación gonadotrópica inicia una serie de eventos que incluyen la esteroidogénesis y el reinicio de la meiosis. El crecimiento y la diferenciación del folículo culmina en su ruptura y liberación del ovocito (ovulación) o en la atresia (29, 39).

Dado que el ovario está inervado por terminaciones que llegan a la pared de los folículos y que se han identificado fibras musculares lisas en el estroma cortical del ovario, algunos autores plantean que esta inervación puede regular la contractilidad de la pared del folículo y el proceso de crecimiento folicular, modificando de esta forma la ovulación (9, 41, 51, 52, 64, 65, 66). La estimulación eléctrica de las fibras adrenérgicas provoca contracción de la pared folicular, la cual está mediada por receptores alfa adrenérgicos. El aumento de esta actividad ha sido también provocado por la administración de agentes colinérgicos y prostaglandinas (63, 64, 69).

La concentración de catecolaminas ováricas está regulada por los niveles circulantes de gonadotropinas hipofisarias. En ratas prepúberes, la administración de PMBG (Gonadotropina sérica de yegua preñada) provoca disminución de la concentración de noradrenalina en el ovario, mientras que en ratas adultas se ha observado que tal disminución es provocada por el tratamiento con

FSH más que con LH o Prolactina (8, 13)

La destrucción de las fibras simpáticas del ovario de cobayas prepúberes por la administración de 6-hidroxi dopamina (6OHDA) dentro de la bursa ovárica, provoca disminución significativa del número de folículos preantrales y aumento de los atresicos, lo que sugeriría que la inervación adrenérgica participa en la regulación del desarrollo folicular y que la influencia neural varía con el estadio del desarrollo de éste (22). Esta interpretación es apoyada por el hecho que la desnervación quirúrgica del ovario del ratón prepúber provoca la detención del crecimiento folicular (36).

La sección del nervio ovárico superior provoca la desaparición del 50% de las terminales adrenérgicas, el 100% de toda tinción positiva a fibras que contienen VIP, así como todas las terminaciones nerviosas libres (25, 43). La sección del plexo ovárico superior tiene efectos menos drásticos sobre la desaparición de fibras noradrenérgicas, pero es totalmente selectivo sobre las que contienen Substancia P; la sección de ambos nervios elimina la presencia de todas las terminaciones noradrenérgicas observables por histofluorescencia (24). Siete días después de haber sido seccionados ambos nervios, el contenido de noradrenalina disminuye, pero no desaparece, lo que es explicable porque el ovario contiene elementos intrínsecos capaces de sintetizar y almacenar catecolaminas (12, 43, 63, 67).

La desnervación simpática unilateral o bilateral del ovario, producida por la congelación del pedículo ovárico y del ligamento

suspensorio, no afectan el mecanismo de ruptura folicular (60, 69). La deservación parcial del ovario por sección del ligamento suspensorio en ratas de 25 días de edad, no modificó la capacidad ovulatoria de los animales al estímulo con PMSG. Sin embargo, dado que el contenido total de noradrenalina en el ovario no es totalmente eliminado, no se puede descartar la posibilidad de que la inervación adrenérgica participe en la regulación de este proceso (61).

La importancia del sistema noradrenérgico en la respuesta del folículo ovárico al complejo gonadotrópico que regula su crecimiento y diferenciación, fue mostrado en animales a los que se les provocó la deservación noradrenérgica periférica crónica, por la administración de guanetidina (6). En este caso, el número de ovocitos liberados espontáneamente por animal ovulante disminuyó de manera significativa, lo que se acompaña del enlentecimiento en el desarrollo folicular, así como de los mecanismos de retroalimentación ("feedback") estimulatorio de los estrógenos. Además, según resultados de nuestro laboratorio (28) y de otros (3) es posible suponer que la participación del sistema catecolaminérgico en esta regulación depende de la edad del animal en estudio. Al parecer, en el animal prepúber el sistema catecolaminérgico del ovario modula principalmente los efectos de la LH, mientras que en el adulto lo haría sobre los de FBH. No se puede descartar que en ambos casos, la participación de dicho sistema sea a través de la modulación de los efectos de la FBH, ya que los receptores ováricos a LH dependen de la acción previa de la FBH (7, 8).



### Bistema Vagal

Los mecanismos por los cuales la sección del nervio vago afecta la regulación de la función del ovario no son bien conocidos. En el ovario de la rata adulta, se ha mostrado que la vagotomía no afecta los nervios acetilcolinésterasa positivos, esta misma intervención no modifica las fibras que contienen substancia P o VIP en el ovario del animal prepúbber, por lo que se sugiere que las fibras peptidérgicas y las motoras parasimpáticas que inervan al ovario no derivan del nervio vago (14, 25).

Cuando la sección del nervio vago en estro, diestro 1 o diestro 2 provocó modificaciones del ciclo de los animales, pero no lo afectó cuando la sección se realizó en proestro (16). En ratas prepúberes, la sección bilateral indujo el retraso en la edad de la apertura vaginal, sin que se observaran cambios en los niveles plasmáticos de FSH, LH o TSH, ni en los de receptores ováricos a gonadotropinas. En cambio, en los ovarios de estos animales observó disminución la actividad de la aromatasa y como consecuencia, aumento en la cantidad de andrógenos disponibles, lo cual se tradujo en la disminución en la liberación de estrógenos (50). La vagotomía bilateral impide la respuesta decidual que normalmente sigue a la estimulación cervical, así como el aumento del peso del útero y de los niveles plasmáticos de progesterona (18). Cuando la vagotomía se realizó en proestro, se impidió la inducción de pseudopreñez por estimulación cervical (16).

En ratas preñadas, la vagotomía provocó disminución del número de fetos vivos, de la actividad de la 3,5 hidroxisteroideshidrogenasa (3,5 HSD) en el ovario y de las concentraciones plasmáticas de progesterona, así como de los niveles plasmáticos de LH, lo que sugiere que la sección de estos nervios alteró el funcionamiento normal del cuerpo lúteo (44). En ratas adultas, la vagotomía en el día del proestro no indujo la activación del cuerpo lúteo (17, 44).

En ratas macho castradas, la sección de los nervios vago suprime el aumento de la liberación de gonadotropinas que sigue a la castración, lo que sugiere que el nervio vago constituye una de las vías que vinculan a las gónadas con el Sistema Nervioso Central, hipótesis que se apoya en el hecho de que las fibras sensoriales que forman la vía aferente visceral del vago tiene sus cuerpos celulares localizados en los núcleos del tracto solitario, el cual a su vez tiene conexiones con centros hipotalámicos que regulan la liberación de las gonadotropinas (19, 23, 45, 53, 55, 58).

**Efectos de la deservación quirúrgica o farmacológica sobre el proceso de hipertrofia compensadora del ovario**

La remoción de uno de los ovarios provoca la hipertrofia compensadora del ovario remanente (HCO). Diversos autores sugieren la posibilidad de que entre los mecanismos que regulan este proceso participan tanto componentes hormonales como neurales (6, 15, 21, 26, 34).

### Sistema Catecolaminérgico

En el cobayo adulto, el inicio del proceso de HCO ha sido temporalmente asociado con el contenido de noradrenalina en el ovario y se sugiere que los nervios adrenérgicos ejercen una influencia inhibitoria en la selección de folículos a madurar y ovular (30). La neurectomía pélvica o el tratamiento con 6OHDA, en el animal hemicastrado, provocan disminución del porcentaje de HCO. Cuando ambos tratamientos fueron combinados, sólo se alcanzó el 50% de la hipertrofia esperada (15). Estos resultados indican la participación de la inervación en el proceso de HCO y sugieren la necesidad de la integridad de componentes neurales específicos en la regulación del crecimiento compensador.

En la rata, la administración local de 6OHDA en el ovario, bloquea el proceso de HCO y aumenta el número de folículos sanos de 510 a 700  $\mu$ m de diámetro pero disminuye el número total de folículos por ovario. Este hecho sugiere que los nervios adrenérgicos juegan un papel modulador en la dinámica folicular del ovario remanente del animal hemicastrado, pero que no son necesarios en el aumento compensatorio de peso y el número de folículos preovulatorios (21, 34). Dado que este fármaco produce degeneración irreversible de las terminaciones nerviosas catecolaminérgicas, se sugiere además la existencia de un "mecanismo neural reflejo" que participa en la regulación del proceso de HCO. Estudios semejantes realizados en el cobayo, no confirman la existencia de dicho mecanismo (21). Por otra parte, la hemicastración realizada en los distintos días del ciclo

estral provoca modificaciones en la población folicular del ovario remanente, las cuales no se correlacionan directamente con los cambios en la concentración de gonadotropinas circulantes (32). Estos hechos sugieren que la reactividad de los folículos a las gonadotropinas no sólo depende del estímulo hormonal hipofisiario, sino también de otros factores entre los que se encuentra la inervación.

#### Sistema Vagal

En la rata, adulta la sección del nervio vago a nivel abdominal redujo el porcentaje de HCO, así como los niveles de FBH 5 horas después de la sección de los nervios (2, 15). El análisis histológico de los ovarios remanentes mostró escaso desarrollo folicular y de los cuerpos lúteos y aumento de la glándula intersticial.

Según los resultados antes citados, en la regulación neuroendocrina del proceso de crecimiento folicular y ovulación participarían las gonadotropinas, las hormonas ováricas y los neurotransmisores (catecolaminas, indolaminas y quizás polipéptidos), los cuales tendría características propias en el ovario derecho y el izquierdo (5, 12, 16, 17, 21, 44, 60, 61, 68). Además, la capacidad ovulatoria de los ovarios frente al estímulo gonadotrópico, dependería del día del ciclo estral en que éste se realizara, al igual que la participación de los diferentes sistemas de neurotransmisores que regulan los mecanismos de control de la secreción de gonadotropinas (27, 28).

## HIPOTESIS DE TRABAJO.

La participación del nervio vago derecho o izquierdo en los mecanismos de regulación de la función del ovario son diferentes. Los efectos de su sección dependerán en parte del día del ciclo en que se realice la intervención y del periodo postquirúrgico en que se estudien los animales. Los efectos en el animal hemicastrado serán diferentes a los que se observen en el entero.

## OBJETIVOS

1.- Estudiar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio vago sobre el ciclo estral, la ovulación y el crecimiento folicular.

2.- Estudiar la reactividad del ovario a la administración de gonadotropinas en la rata adulta con sección unilateral o bilateral del nervio vago.

3.- Estudiar la reactividad del ovario a las gonadotropinas en la rata adulta con sección de ambos nervios vago y desnervación catecolaminérgica.

4.- En la rata adulta hemicastrada estudiar los efectos de la desnervación del ovario sobre la ovulación espontánea o inducida.

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas hembra de la cepa C 112-V adultas de 90 a 120 días de edad, mantenidas en fotoperiodo controlado de 14/10 h luz/obscuridad, con luces encendidas de 05:00 a 19:00 h y libre acceso al agua y al alimento. El ciclo estral fue monitoreado por la toma diaria de frotis vaginales entre las 09.00 y 10.00 h. Sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron tres ciclos consecutivos de 4 días de duración. Los grupos testigo estuvieron formados por animales sometidos a operaciones simuladas en los mismos días que los animales tratados y autopsiados en las mismas condiciones que los animales experimentales. Un grupo de animales sin intervención, conformaron el grupo de animales testigo absoluto. Todas las intervenciones quirúrgicas se realizaron anestesia con éter.

### Administración de hormonas y fármacos.

En algunos de los experimentos realizados se indujo la ovulación con gonadotropinas, según el siguiente modelo de administración: a ratas en el día del diestro se inyectaron por vía subcutánea 45 UI de FSH (Prolán A, Bayer México), 56 horas después recibieron 30 UI de LH-CG (Prolán E, Bayer México) y fueron autopsiados 20 horas más tarde. Este modelo fue combinado con la administración de reserpina (RSP) 1 mg/Kg peso corporal (CIBA-Geigy, México) 3 horas antes de inyectar FSH ó 3 horas antes de LH (esquema 1). Los animales fueron autopsiados como en los grupos a los que se les aplicaron gonadotropinas.

ESQUEMA DE ADMINISTRACION DE HORMONAS Y FARMACOS

Inducción de la ovulación

45 U.I FSH — 56h —> 30 U.I LH-hCG — 20h —> Autopsia

Bloqueo Catecolaminérgico

RSP (1mg/Kg) — 3h —> 45 U.I FSH — 56h —> 30 U.I LH-hCG — 20h —> Autopsia

45 U.I FSH — 53h —> RSP (1mg/Kg) — 3h —> 30 U.I LH-hCG — 20h —> Autopsia

### Procedimientos quirúrgicos.

- Operación Bimulada (OB).- A los animales se les practicó incisión de piel y músculo, se abrió cavidad abdominal sin tocar órganos y se suturó inmediatamente.

- Sección del Nervio Vago. La sección se practicó a nivel subdiafragmático según la metodología descrita por Burden y Lawrence (15). Se realizó una incisión ventral que abarcó piel y músculo. A través de ella se exteriorizó el estómago, el hígado fue cuidadosamente reflejado y el esófago expuesto. Con la ayuda de pinzas finas se seccionó el nervio vago izquierdo (BNVI), derecho (BNVD) o ambos (BBNV) (fig.1).

-Hemicastración. En el mismo acto de la sección del nervio vago, se localizó el ovario izquierdo o derecho, se ligó el pedículo ovárico correspondiente y se seccionó por delante de la ligadura. El ovario extirpado fue diseccionado y pesado en balanza analítica.

### Procedimiento de Autopsia.

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación. El cuerpo obtenido se almacenó a -20 C hasta el momento de la cuantificación hormonal. En todos los casos se diseccionaron y pesaron los ovarios, las suprarrenales y se buscó la presencia de ovocitos en los oviductos. El peso de los órganos fue expresado en miligramos por 100 gramos de peso corporal (mg/100 gr p.c.). En los animales hemicastrados, la hipertofia compensadora del ovario (HCO) se calculó a partir de la siguiente fórmula:

$$HCO = \frac{\text{Peso de Ovario remanente} - \text{Peso del Ovario extirpado}}{\text{Peso del Ovario extirpado}} \times 100$$



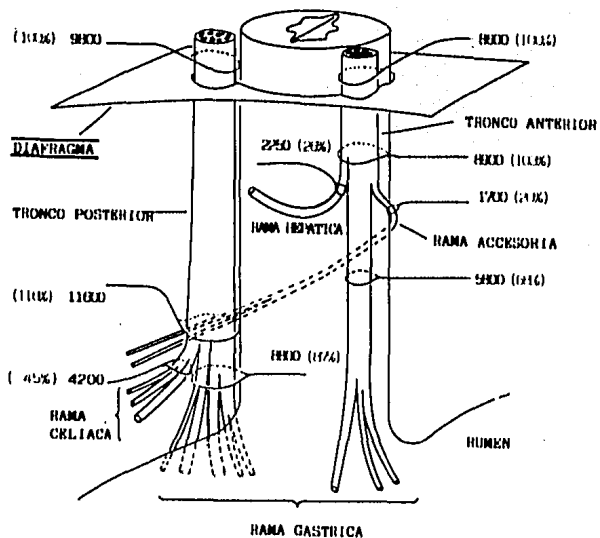


Fig. 1- Representación esquemática de la distribución subdiafragmática del nervio Vago en la rata (55)

#### Análisis de la población folicular

Los ovarios fueron fijados en Bouin, incluidos en parafina y cortados en forma seriada a 10  $\mu$ m. Los cortes fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina. Los diámetros máximos de los folículos, se midieron con la ayuda de un ocular micrométrico. El volumen de los folículos fue calculado por la fórmula:

$$\text{volumen folicular} = 4/3 (\pi \times r_1 \times r_2 \times r_3)$$

donde  $r_1 = 1/2$  diámetro 1;  $r_2 = 1/2$  diámetro 2;  $r_3 = (r_1 + r_2)/2$

#### Determinaciones hormonales.

En el suero se midió la concentración de la hormona folículo estimulante (FSH) por radioinmunoanálisis (RIA) (11). La concentración de la hormona fue expresada en ng/ml en términos del estándar del NIAMDD-Rat-FSH-RP1.

#### Análisis de resultados.

Los resultados obtenidos fueron evaluados por análisis de varianza múltiple, prueba de "t" de Student, prueba de probabilidad exacta de Fisher, prueba de U de Mann-Whitney y prueba de chi cuadrada. En todos los casos sólo se aceptaron como válidas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al 5%.

Dado que los resultados en los que se apoya esta tesis fueron obtenidos utilizando metodologías comunes y que los parámetros evaluados fueron similares entre sí, a continuación se presenta el análisis global de los datos obtenidos, haciendo referencia (con números romanos) a cada una de las publicaciones en las que se hallan reportados resultados sobre el mismo tópico.

## RESULTADOS

### MODELO DEL ANIMAL ENTERO (I,II,III)

#### Ciclicidad

En la tabla I, se presentan los resultados globales del análisis de la ciclicidad de los animales con sección unilateral de los nervios vago.

En el primer ciclo que siguió a la cirugía, la sección unilateral modificó de manera significativa el ciclo estral respecto a los animales con operación simulada (39/135 vs 10/69,  $P<0.05$ ). El aumento del periodo postoperatorio agravó esta alteración ya que 71 de 109 animales fueron acíclicos (71/109 vs 39/135 con un ciclo postoperatorio,  $P<0.05$ ). En ambos casos, los resultados de la sección del nervio vago derecho fueron semejantes a los de la sección izquierda. La sección unilateral realizada en el día del diestro I provocó que el 93 y 100 % de los animales con uno o cinco ciclos de periodo postoperatorio modificaran su patrón de ciclicidad. La sección bilateral de los nervios vago eliminó los efectos provocados por la operación simulada, ya que el 95% de los animales presentaron ciclos estrales normales después de realizada la intervención quirúrgica (52/58 vs 17/44 con operación simulada con 20 o más días,  $P<0.05$ )

Tabla 1. Efectos de la sección unilateral del nervio vago realizada en los distintos días del ciclo estral, sobre la ciclicidad [número de animales acíclicos/número de animales tratados] luego de uno o cinco ciclos postoperatorios.

	UN CICLO		CINCO CICLOS	
Operación simulada	10/69		17/44	
Sección del nervio vago derecho	20/70*		44/63**	
Sección del nervio vago izquierdo	19/65*		27/46**	
	UN CICLO			
	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro
Operación simulada	5/24	0/16	5/14	0/15
Sección del nervio vago izquierdo	4/26	12/15*	2/16	2/13
Sección del nervio vago derecho	3/19	14/15*	0/16	2/15
	CINCO CICLOS			
	Estro	Diestro 1	Diestro 2	Proestro
Operación simulada	7/16	5/8	2/13	3/7
Sección del nervio vago izquierdo	15/18*	17/17*	5/19	5/7
Sección del nervio vago derecho	12/15*	8/8*	6/15	1/8*

\* P<0.05 vs Operación simulada (prueba de Xi cuadrada)

\*\* P<0.05 vs 1 ciclo (prueba de Xi cuadrada)

& P<0.05 vs Sección del nervio vago izquierdo mismo día (prueba de Fisher)

### Tasa de animales ovulantes

La operación simulada no modificó la tasa de animales ovulantes (número de animales que ovula/ número de tratados) comparada con la de animales testigo absoluto, independientemente del día en que se realizó la intervención (35/40 vs 40/40 NB). La sección unilateral del nervio vago realizada en el día del diestro provocó alargamiento del ciclo estral de 4 a 5 días y retraso de 24 horas en la ovulación (BNVI: 4/8; SNVD: 6/8 vs OB: 0/8,  $P < 0.05$ ). Cuando los animales fueron autopsiados en el día del estro vaginal, luego de 20 días de realizada la sección del nervio vago izquierdo, la tasa de animales ovulantes disminuyó significativamente (35/54 vs 28/32 en OB,  $P < 0.05$ ), mientras que la sección del vago derecho no la modificó (25/32 vs 28/32, NB). No se observaron diferencias que fueran dependientes del día del ciclo en que se halla realizado la deservación. El 93% de los animales con sección de ambos vagos y autopsiados en el día del estro vaginal luego de 20 ó más días de la sección ovularon (53/57 vs 35/40 con operación simulada, NB)

### Concentración de FBH en suero

La concentración de FBH en suero de los animales sometidos a operación simulada con periodos postoperatorio de 5 ó 20 días no fue diferente a la de grupo testigo (tabla 2). En tanto que la sección del vago derecho la eleva a mayor periodo postoperatorio (1 ciclo:  $201 \pm 58$  vs 5 ciclos  $538 \pm 91$  ng/ml,  $P < 0.01$ ), no se observaron diferencias significativas que dependieran del día del ciclo en que se halla realizado la sección.

Tabla 2. Concentración en suero de FBH (ng/ml) en ratas con sección unilateral del nervio vago y con uno o cinco ciclos de periodo postoperatorio.

GRUPO	Periodo postoperatorio	
	Un ciclo	Cinco Ciclos
Control	328 ± 31	328 ± 31
Operación Bimulada	497 ± 191	444 ± 53
Sección Vago Izquierdo	378 ± 66	474 ± 71
Sección Vago Derecho	201 ± 58	538 ± 91

\* P < 0.05 vs 1 ciclo de evolución.

#### Número de ovocitos.

En la tabla 3 se presentan los resultados del número de ovocitos liberados por animal ovulante en los grupos sometidos a sección uni o bilateral de los nervios vago.

Los resultados globales sobre el número de ovocitos liberados en los animales con operación simulada o sección unilateral, no fueron diferentes a los del grupo testigo absoluto, mientras que la sección bilateral provocó aumento significativo. En el grupo de animales testigo, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue mayor que los liberados por el ovario derecho, diferencia que se mantuvo sólo en los animales a los que se les seccionaron ambos nervios vago. El número de ovocitos

liberado por el ovario izquierdo presentó modificaciones que dependieron del tipo de manipulación realizada; la operación simulada o la sección unilateral del nervio vago disminuyó este parámetro, mientras que la sección bilateral los incrementó. Los resultados de la sección unilateral del nervio vago analizados según la etapa del ciclo en que se realizó la desnervación y el periodo postoperatorio se presentan en la tabla 3a. Aunque los resultados globales no muestran diferencias significativas comparados con los de operación simulada, existen variaciones del número de ovocitos liberados que dependieron del día en que se realizaron las desnervaciones. Los efectos agudos (después de cuatro días de realizada la sección) fueron los más drásticos ya que la sección del nervio vago izquierdo realizada en estro, provocó reducción del número de ovocitos a menos de la mitad. En estos grupos, la diferencia entre los ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho se conservó tanto en los animales con operación simulada como en los que se seccionó el nervio vago izquierdo.

#### Peso de ovarios.

El peso de los ovarios de los animales con sección unilateral del nervio vago fue semejante a los que se sometieron a operación simulada (OB:  $26.44 \pm 0.85$  vs BNVI:  $24.32 \pm 0.80$ ; BNVD:  $28.90 \pm 1.19$ , NS), en tanto que la sección de ambos nervios provocó disminución significativa del peso de las gónadas (OB:  $26.44 \pm 0.85$  vs BBNV:  $23.59 \pm 0.67$ ,  $P < 0.05$ )

TABLA 3.- MEDIA  $\pm$  e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADO EN ANIMALES CON SECCION UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVIIO VAGO.

GRUPO	Ovocitos Totales	Ovocitos OI	Ovocitos OD
Testigo Absoluto	10.59 $\pm$ 0.30	5.96 $\pm$ 0.33#	4.27 $\pm$ 0.49
Operación Simulada	9.24 $\pm$ 0.62	4.27 $\pm$ 0.49*	4.97 $\pm$ 0.43
Sección Vago Izquierdo	9.58 $\pm$ 0.52	4.63 $\pm$ 0.35*	4.89 $\pm$ 0.45
Sección Vago Derecho	9.32 $\pm$ 0.77	4.60 $\pm$ 0.61*	4.52 $\pm$ 0.45
Sección Bilateral Vago	11.74 $\pm$ 0.33&	6.18 $\pm$ 0.28&#	5.16 $\pm$ 0.34*

\* P < 0.05 vs Testigo Absoluto misma columna (prueba de "t" después de MANOVA)

# P < 0.05 vs Ovario Derecho (OD) (prueba de "t" después de MANOVA)

& P < 0.05 vs Operación Simulada (prueba de "t" después de MANOVA)



TABLA 3a.- MEDIA  $\pm$  e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADO EN ANIMALES CON SECCION UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVIIO VAGO EN CADA UNO DE LOS DIAS DEL CICLO ESTRAL Y PERIODO POSTOPERATORIO, AUTOPSIADOS EN EL DIA DEL ESTRO.

	GRUPO	ESTRO	DIESTRO 1	DIESTRO 2	PROESTRO
CRONICO	Operación Simulada	7.11 $\pm$ 0.65	6.87 $\pm$ 1.75	12.83 $\pm$ 0.79*	8.71 $\pm$ 1.86
	Sección Vago Izquierdo	8.50 $\pm$ 1.56	9.16 $\pm$ 1.01	11.14 $\pm$ 1.09	10.44 $\pm$ 1.09
	Sección Vago Derecho	8.60 $\pm$ 1.12	8.87 $\pm$ 1.56	11.00 $\pm$ 0.87	7.40 $\pm$ 1.69
AGUDO	Operación Simulada	9.90 $\pm$ 0.50	-	-	-
	Sección Vago Izquierdo	4.60 $\pm$ 0.80*	8.30 $\pm$ 1.80	-	-
	Sección Vago Derecho	7.00 $\pm$ 1.20	9.50 $\pm$ 1.20	-	-

\* P < 0.05 vs Operación Simulada en Estro (prueba de "t" después de MANOVA)

## Prueba ovulatoria y administración de Reserpina.

### Tasa de animales ovulantes.

La administración secuencial de FSH-LH indujo ovulación en el 90% de los animales tratados (tabla 4)

### Número de ovocitos liberados.

El número de ovocitos liberados en los animales tratados con FBH y LH fue similar al del grupo de animales testigo autopsiados en estro (tabla 4). La sección bilateral del nervio vago modificó la respuesta del ovario a la FSH-LH ya que el número de ovocitos disminuyó de manera significativa. Cuando los animales fueron inyectados con reserpina tres horas antes de iniciar la prueba ovulatoria, el número de ovocitos liberados se duplicó, respuesta que fue bloqueada tanto por la sección del tronco izquierdo o la bilateral del nervio vago (tabla 4). La administración de reserpina antes de la LH no provocó cambios en la respuesta de ovulación inducida en los animales enteros, ni en aquellos en los que se seccionaron los nervios vago. En ninguno de los grupos experimentales se presentaron diferencias entre el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o el derecho.

### Peso de los ovarios.

El peso de los ovarios de los animales tratados con gonadotropinas aumentó de manera significativa respecto a los animales con ovulación espontánea. Los efectos de la FSH-LH sobre el peso del ovario fueron bloqueados de manera parcial por la

acción conjunta de la sección bilateral del vago y la administración de reserpina (tabla 4).

Tabla 4.-Media  $\pm$ e.e.m. del número de ovocitos y peso de los ovarios de animales con operación simulada ó sección bilateral del nervio vago sometidos a ovulación inducida y administración de Reserpina.

Grupo	n	Ovocitos	Masa ovárica
Control		10.6 $\pm$ 0.3	25.7 $\pm$ 0.7
+FBH-LH	9/10	11.1 $\pm$ 0.8	49.9 $\pm$ 3.9
+RBP-FBH-LH	11/12	21.5 $\pm$ 2.9	66.2 $\pm$ 4.4
+FBH-RBP-LH	12/12	12.6 $\pm$ 1.7	50.0 $\pm$ 1.8
<b>Sección</b>			
Bilateral	52/58	11.8 $\pm$ 0.3	25.4 $\pm$ 0.7
+FBH-LH	8/9	6.4 $\pm$ 1.2 <sup>§</sup>	49.8 $\pm$ 4.0
+RBP-FBH-LH	6/8	5.2 $\pm$ 1.5 <sup>^</sup>	35.1 $\pm$ 3.0 <sup>§</sup>
+FBH-RBP-LH	7/8	9.7 $\pm$ 2.0	56.3 $\pm$ 4.3
<b>Sección Vago</b>			
Izquierdo	5/8	9.6 $\pm$ 0.5	23.7 $\pm$ 0.7
+FBH-LH	9/10	11.4 $\pm$ 1.8 <sup>§</sup>	50.9 $\pm$ 3.4
+RBP-FBH-LH	11/11	12.9 $\pm$ 2.5	50.6 $\pm$ 2.5

§ P < 0.01 vs BBNV

§ P < 0.01 Control+FBH-LH

^ P < 0.001 vs Control-RBP-FBH-LH

§ P < 0.01 vs Control-RBP-FBH-LH, BBNV-RBP-FBH-LH

§ P < 0.05 vs Control-FBH-LH (prueba de "t" en todos los casos)

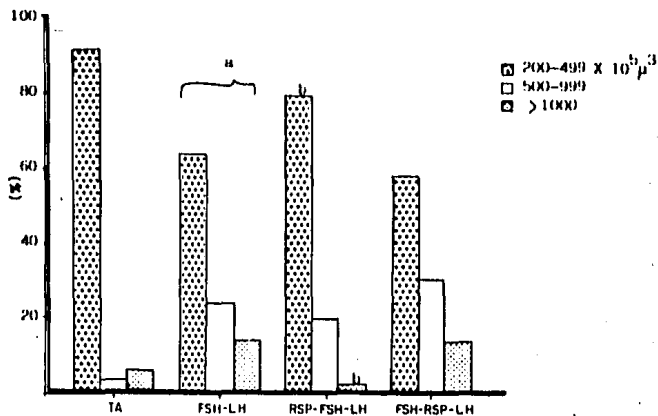
### Población Folicular (figura 2)

En los animales intactos, el 90% de los folículos en crecimiento corresponde a los de tamaño entre  $200 - 499 \times 10^3 \mu$ . La administración de gonadoropinas y de reserpina provocaron aceleración del crecimiento folicular, ya que el porcentaje de folículos de tamaño mediano ( $500 - 999 \times 10^3 \mu$ ) y preovulatorio se incrementó de manera significativa. En aquellos animales en que se aplicó reserpina antes de la secuencia FBH-LH, el número de folículos preovulatorios fue el menor; en este grupo de animales el número de ovocitos liberado fue el doble del encontrado en el grupo testigo (tabla 4).

La sección de ambos nervios vago provocó aumento de la población de folículos de tamaño mediano, con disminución no significativa de la de los pequeños y ausencia de preovulatorios. La administración de reserpina en estos animales indujo, como en el de los intactos, aceleración del crecimiento folicular, pero en este caso el número de folículos preovulatorios se incrementó de manera significativa (1.61 % vs 22.58 %,  $P < 0.01$ ). La sección del nervio vago izquierdo aceleró el proceso de crecimiento folicular. Sin embargo en el ovario izquierdo ("desnervado") el número de folículos preovulatorios fue la mitad del encontrado en el ovario derecho ("inervado") (figura 3).

El estudio de la población folicular en ovarios de animales con sección del nervio vago derecho no fue realizado.

Fig. 2.- POBLACION FUJICILAN DEL MARIO DE RATAS RESERVADAS POR LA SECCION DEL NERVI0 VAGO (SBNV) Y SU RESPUESTA A GONADOTROPINAS EXOGENAS 6 A LA ADMINISTRACION DE RESERPINA (RSP) ANTES DE FSH 6 DE LH.



- a P < 0.05 vs TA (prueba de  $\chi^2$ )  
 b P < 0.05 vs FSH-LH (prueba de  $\chi^2$ )  
 c P < 0.05 vs SBNV-FSH-LH (prueba de  $\chi^2$ )

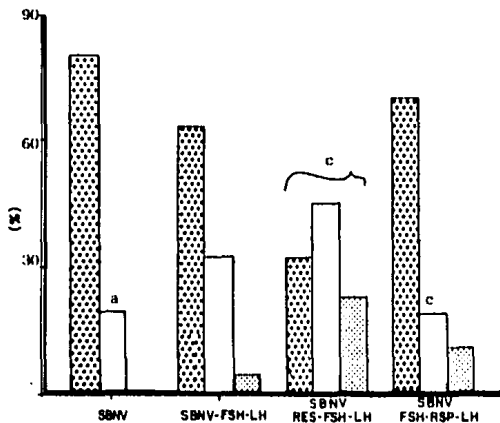
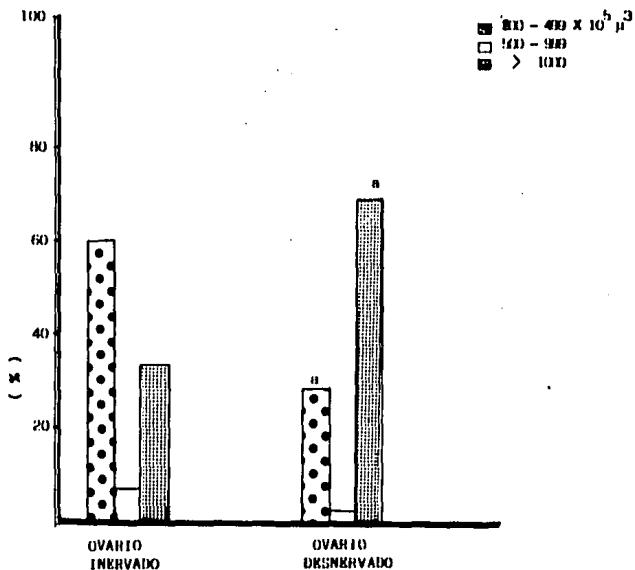


Fig.3.- POBLACION FOLICULAR DEL OVARIO EN RATAS ENTERAS CON SECCION DEL NERVI VAGO IZQUIERDO (SNVI) DESPUES DE 20 DIAS DE PERIODO POST OPERATORIO, AUTOPSIADAS EN EL DIA DEL ESTRO.



a P < 0.05 vs Ovario Inervado (prueba de  $\chi^2$ )

## MODELO DEL ANIMAL HEMICASTRADO (IV,V).

### Ciclicidad

Tanto los animales con operación simulada como aquellos a los que se les extirpó un gónada, recobraron su ciclo estral entre 8-15 días después de realizada la intervención quirúrgica.

### Tasa ovulatoria e Hipertrofia compensadora del ovario.

La resección de la gónada derecha, provocó disminución significativa del número de animales ovulantes comparado con los que se les extirpó el ovario izquierdo (16/38 vs 27/32,  $P < 0.05$ ) o los sometidos a operación simulada (16/38 vs 16/20,  $P < 0.05$ ). En ambos grupos de animales hemicastrados se presentó ovulación compensatoria; el número de ovocitos liberado por la gónada remanente en los animales hemicastrados del ovario derecho fue semejante a la observada en los animales con operación simulada ( $10.6 \pm 0.7$  vs  $8.9 \pm 0.7$  NB), en cambio, en los que se extirpó el ovario izquierdo el número de ovocitos liberado fue menor ( $10.6 \pm 0.7$  vs  $8.0 \pm 0.5$ ,  $P < 0.05$ ). El porcentaje de hipertrofia compensadora alcanzado por el ovario fue semejante en ambos grupos (50.8% vs 44.6%, NB).

### Efectos de la sección del nervio Vago.

La tabla 5 muestra los resultados sobre la tasa de animales ovulantes cuando además de realizar la hemicastración del ovario derecho o izquierdo se seccionó el nervio vago ipsi o contralateral al ovario remanente o ambos. La vagotomía bilateral no modificó los efectos provocados por la hemicastración sobre el

número de animales ovulantes al día del estro esperado. En cambio, en los animales hemicastrados del ovario derecho, la sección del nervio vago izquierdo indujo aumento significativo en la tasa de animales ovulantes. Cuando el ovario extirpado fue el izquierdo, y el nervio vago seccionado fue el contralateral al ovario remanente, el número de animales ovulantes se redujo de manera significativa.

El proceso de ovulación compensatoria de los animales hemicastrados con sección de ambos nervios vago fue semejante al observado en aquellos en los que sólo se realizó hemicastración (Tabla 6). La sección del nervio vago izquierdo provocó aumento del número de ovocitos liberado en los animales en que la gónada remanente fue la izquierda. En aquellos en que el ovario in situ fue el derecho sólo dos animales ovularon (1 y 10 ovocitos respectivamente). La sección del vago derecho no provocó modificaciones significativas independientemente de cual halla sido la gónada remanente (Tabla 6).

La vagotomía bilateral redujo el porcentaje de hipertrofia compensadora en las ratas hemicastradas del ovario derecho, en cambio no la modificó en aquellas en que la gónada extirpada fue la izquierda. La sección del nervio vago derecho provocó disminución de la hipertrofia compensadora alcanzada por el ovario remanente tanto en los animales hemicastrados del ovario derecho como en los hemicastrados del ovario izquierdo. En cambio la sección del nervio vago izquierdo provocó aumento de la hipertrofia compensadora alcanzada por el ovario izquierdo y su disminución cuando la gónada remanente fue la derecha (Tabla 6b).



**TABLA 6.- MEDIA  $\pm$  e.e.m. DEL NUMERO DE OVOCITOS LIBERADO EN ANIMALES HEMICASTRADOS DEL OVARIO DERECHO O IZQUIERDO Y CON SECCION UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVIIO VAGO AUTOPSIADAS EN EL ESTRO VAGINAL, DESPUES DE TRES CICLOS CONSECUTIVOS DE CUATRO DIAS DE DURACION.**

GRUPO	NUMERO DE OVOCITOS POR ANIMAL OVULANTE	
	Ovario Derecho in situ	Ovario Izq in situ
Control	4,8 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 0,6
Operación Simulada	4,3 $\pm$ 0,7	6,3 $\pm$ 0,7
Hemicastreción (HC)	8,0 $\pm$ 0,5	8,9 $\pm$ 0,7
HC + Vagotomía Bilateral	8,0 $\pm$ 1,8	10,3 $\pm$ 0,3
HC + Vagotomía Ipsilateral	7,8 $\pm$ 1,3	11,6 $\pm$ 0,7*
HC + Vagotomía Contralateral	1, 10	10,1 $\pm$ 0,5

\* P < 0,05 vs Ovario Derecho in situ (prueba de "U")

† P < 0,01 vs Hemicastreción misma columna (prueba de "U")

**TABLA 6b.- PORCENTAJE DE HIPERTROFIA COMPENSADORA DEL OVARIO**

GRUPO	% HIPERTROFIA COMPENSADORA	
	Ovario Derecho in situ	Ovario Izq in situ
Hemicastreción (HC)	50,8	44,6
HC + Vagotomía Bilateral	41,2	30,6*
HC + Vagotomía Ipsilateral	33,3**	67,3**
HC + Vagotomía Contralateral	39,2*	21,2*

\* P < 0,05, \*\* P < 0,01 vs Hemicastreción misma columna (prueba de U Mann Whitney)

**TABLA 5.- TASA DE OVULANTES EN ANIMALES HEMICASTRADOS DEL OVARIO DERECHO 6 IZQUIERDO CON SECCION UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVI0 VAGO AUTOPSIADOS EN EL DIA DEL ESTRO VAGINAL, DESPUES DE TRES CICLOS CONSECUTIVOS DE 4 DIAS DE DURACION**

GRUPO	TASA DE ANIMALES OVULANTES	
	Ovario Derecho in situ	Ovario Izquierdo in situ
Control	20/20	20/20
Operación Simulada	16/20	16/20
Hemicastración (HC)	27/32	16/38*+
HC + Vagotomía Bilateral	6/8	3/11**
HC + Vagotomía Ipsilateral	6/7	7/7 #
HC + Vagotomía Contralateral	2/8 &	7/9

\* P < 0.01 vs Control y Operación Simulada (prueba de  $\chi^2$ )

+ P < 0.01 vs Ovario Derecho in situ (prueba de  $\chi^2$ )

\*\* P < 0.05 vs Vagotomía Ipsilateral o Contralateral en la misma columna (prueba de Fisher)

# P < 0.01 vs Hemicastración en la misma columna (prueba de  $\chi^2$ )

& P < 0.05 vs animales con Ovario Izquierdo in situ (prueba de Fisher)

#### Administración de gonadotropinas y bloqueo catecolaminérgico.

La administración secuencial de gonadotropinas en el animal hemicastrado del ovario derecho aumentó la tasa de animales ovulantes, respecto a los que no recibieron FBH-LH (15/16 vs 16/38,  $P < 0.05$ ), al igual que el número de ovocitos liberado ( $8.9 \pm 0.7$  vs  $12.2 \pm 1.31$ ,  $P < 0.05$ ). La hipertrofia compensadora fue mayor en aquellos que recibieron gonadotropinas (44.6% vs 121.43%,  $P < 0.05$ ). La tabla 7 muestra los resultados de la administración de Reserpina antes de la secuencia FBH-LH. Como puede observarse, la tasa de animales ovulantes disminuyó tanto por la administración del fármaco antes de la FBH como de LH. No se presentaron diferencias significativas ni en el número de ovocitos liberado ni en la hipertrofia compensadora alcanzada por la gónada remanente.

La sección de ambos nervios vago provocó efectos más drásticos sobre la tasa de animales ovulantes, ya que sólo 3 de 11 animales ovularon. Cuando en los animales hemicastrados se seccionaron los nervios vago y fueron sometidos a la prueba de ovulación inducida, la tasa de animales ovulantes se elevó al doble, pero el número de ovocitos liberado disminuyó de manera significativa. La gónada remanente alcanzó mayor hipertrofia compensadora que la observada en los animales a los que sólo se les administraron gonadotropinas. La administración de reserpina antes de FBH ó de LH no provocó modificaciones sobre la tasa de ovulantes, ni en la hipertrofia compensadora (tabla 7).

TABLA 7.- TASA DE ANIMALES OVULANTES, NUMERO DE OVOCITOS LIBERADO Y PORCENTAJE DE HIPERTROFIA COMPENSADORA (HCO) EN ANIMALES HEMICASTRADOS DEL OVARIO DERECHO Y SECCION BILATERAL DEL NERVI VAGO (SBNV) CON ADMINISTRACION DE RESERPINA (RSP) ANTES DE FSH 6 DE LH.

GRUPO	TASA DE OVULANTES	NUMERO DE OVOCITOS	% HCO
HC- FSH-LH	15/16	12.2 $\pm$ 1.3	121
HC-RSP-FSH-LH	15/30*	8.7 $\pm$ 1.3	142
HC-FSH-RSP-LH	4/10*	7.5 $\pm$ 2.9	106
HC-SBNV	3/11*	10.3 $\pm$ 1.3	31
HC-SBNV-FSH-LH	6/11*	6.2 $\pm$ 1.1*	162
HC-SBNV-RSP-FSH-LH	5/7	8.4 $\pm$ 1.4	161
HC-SBNV-FSH-RSP-LH	6/8	7.0 $\pm$ 1.7	185

\*  $P < 0.05$  vs HC-FSH-LH (prueba de  $\chi^2$ , Fisher y de "t")

## DISCUSION

Los resultados presentados en este trabajo indican que la inervación vagal que llega al ovario modula la función del órgano, aunque cuando dicha inervación es eliminada los mecanismos de regulación son capaces de compensar su falta y de mantener el ciclo estral y la ovulación. Además, que la información que transcurre por el nervio vago izquierdo y el derecho sería diferente y por último, que la capacidad del ovario derecho y el izquierdo para mantener la ovulación son diferentes cuando uno de los dos ha sido extirpado.

En el animal prepúber, la sección bilateral de los nervios vago modifica la capacidad esteroidogénica del ovario (2, 3), en el animal adulto altera su ciclicidad (16) y en el preñado induce resorción fetal y disminución de la capacidad de síntesis hormonal por el ovario (17). Nuestros resultados indican que la falta de inervación vagal altera inicialmente el ciclo estral, pero que éste se recupera. Dado que la normalidad del ciclo estral depende del modelo de secreción de las hormonas ováricas, en los animales adultos con deservación vagal, éste se recuperaría a diferencia de lo que aparentemente sucede en el animal prepúber (2). Es interesante señalar que las modificaciones de la esteroidogénesis en el animal prepúber se presentaron sin que se observaran variaciones en los niveles circulantes de gonadotropinas. En nuestro caso, la sección unilateral del nervio vago no modificó los niveles circulantes de FSH en el día del estro y según Burden y Lawrence (16), la

vagotomía bilateral no modifica los niveles de FBH ni de LH, por lo que las variaciones que se presentaron en el ciclo estral y la ovulación de los animales con sección vagal serían una respuesta a la deservación y sus efectos sobre la función del ovario, más que a modificaciones de la secreción de las gonadotropinas.

Dado que la sección realizada en los primeros días del ciclo estral (Estro y Diestro 1), provocó que un mayor número de animales modificara su ciclo estral que cuando la vagotomía se realizó en la segunda mitad del ciclo (Diestro 2 y Proestro), es posible suponer que los cambios observados dependieran del ambiente hormonal en que se encontraban los animales al momento de la sección de los nervios. La operación simulada realizada en el día del estro o diestro 1 provoca cambios significativos en los niveles circulantes de FBH y el crecimiento folicular, los que no se observaron en los animales tratados en diestro 2 y proestro (32). El día del Diestro 1 parece ser el más sensible ya que las manipulaciones realizadas en esta etapa del ciclo estral, tanto en el presente estudio como en otros (27, 28) alteraron de manera considerable la ciclicidad y el proceso ovulatorio.

En el animal entero, el ovario izquierdo liberó mayor número de ovocitos que el derecho, lo que indicaría ciertas diferencias en el crecimiento y la diferenciación folicular entre ambos ovarios. Con base a los presentes resultados, no es posible adelantar una explicación completa sobre la diferente capacidad ovulatoria del ovario derecho y el izquierdo, pero sí la presencia de lateralización. Sin embargo, en el animal

hemicastrado hemos observado diferencias ováricas en la capacidad para mantener el proceso ovulatorio las que dependen de la integridad de su inervación. Al parecer la capacidad ovulatoria del ovario izquierdo es más sensible a las manipulaciones experimentales que la del derecho (29).

La sección del nervio vago derecho no modificó la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberado, mientras que la sección del nervio izquierdo provocó disminución significativa del número de ovocitos liberado. Estos efectos fueron más drásticos sobre el ovario derecho que sobre el izquierdo. Los resultados apoyan la hipótesis de que la información que transcurre por el nervio vago izquierdo es diferente de la del derecho y que varía en función del medio ambiente hormonal del animal.

La lateralización de los mecanismos neuroendócrinos que regulan la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada a sido mostrada por varios autores (33, 34, 48). Nuestros resultados sugieren que los nervios vago podrían participar como una de las vías que comunican al BNC y el ovario en los mecanismos generales de regulación. Dado que al parecer hay diferencias entre el nervio vago derecho y el izquierdo, la lateralización observada podría ser en respuesta a la que presentan los nervios vago y los ovarios.

En los animales con sección de ambos nervios vago, el número de ovocitos liberado aumentó significativamente y en los ovarios se presentó incremento en el porcentaje de folículos

preovulatorios. Estos resultados sugieren la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas endógenas aumentó y que el nervio vago participaría de manera inhibitoria en la regulación del crecimiento folicular. Sin embargo, cuando el animal vagotomizado fue sometido al sobreestímulo con gonadotropinas, el número de ovocitos liberado por animal ovulante se redujo de manera considerable. Estos resultados indican que la reactividad del ovario a las gonadotropinas dependen de la integridad de su inervación. Los resultados obtenidos por la desnervación catecolaminérgica producida por la administración de reserpina, apoyan dicha interpretación.

Según varios autores, en el animal adulto la inervación catecolaminérgica del ovario participa en la regulación de la respuesta del órgano a la FBH, mientras que en el animal prepóber lo estaría más con la LH (7, 8, 28). En nuestro estudio, el bloqueo del sistema catecolaminérgico antes de la inyección de FBH duplicó el número de ovocitos liberado luego del estímulo con LH. Este efecto no se observó cuando el bloqueo se realizó después del estímulo con FBH por lo que nuestros resultados apoyan lo señalado por otros autores en el sentido que la inervación catecolaminérgica del ovario del animal adulto estaría directamente vinculada con la modulación de los efectos de la FBH.

La sección bilateral del nervio vago eliminó los efectos de desnervación catecolaminérgica antes del estímulo con FBH sobre la ovulación y el peso de los ovarios. Estos resultados sugieren que la inervación vagal podría tener como un amplificador de



señales al sistema catecolaminérgico intraovárico, el cual habría sido afectado por la sección de los vagos. Como hipótesis de trabajo podemos suponer que en este caso, la depleción de catecolaminas inducida por la reserpina no se tradujo en un aumento del número de receptores a FSH como suponemos que sucedió en los animales con su inervación vagal intacta.

Las diferencias en la capacidad ovulatoria de ambos ovarios se hicieron más evidentes en el modelo del animal hemicastrado. Si bien el ovario izquierdo libera mayor número de ovocitos que el derecho, su capacidad para mantener la ovulación es menor que la del derecho cuando falta la otra gónada. La acción inhibitoria del nervio vago izquierdo sobre el ovario izquierdo es evidente, ya que cuando se le seccionó en el modelo del animal hemicastrado el número de ovocitos liberados aumentó, el de animales ovulantes y la hipertrofia compensadora del ovario remanente.

Las diferencias entre la información que transcurre por el nervio vago derecho e izquierdo, respecto a la regulación de la función del ovario, son evidentes cuando se observa que en el animal hemicastrado del ovario izquierdo (ovario derecho in situ) la sección del nervio vago ipsilateral al ovario remanente sólo modificó la hipertrofia compensadora, mientras que la sección del nervio vago contralateral (izquierdo) disminuyó todos los parámetros.

Con base a lo anterior, es posible suponer que la información que envía y recibe el ovario derecho desde y hacia el SNC es diferente a la del ovario izquierdo.

La sección de ambos nervios vago inhibió parcialmente el proceso de hipertrofia compensadora, resultado semejante al observado por otros autores (15). Sin embargo, dicho resultado sólo se presentó en los animales con el ovario izquierdo in situ, lo que confirmaría nuestra hipótesis de la existencia de diferencias significativas entre ambos ovarios. Al parecer, al igual que en el hipotálamo, en los ovarios existe lateralización de los mecanismos neuroendocrinos (48).

## CONCLUSIONES

- El nervio vago es una de las vías tanto aferente como eferente entre el ovario y el Sistema Nervioso Central, al parecer, la información que transcurre por el nervio vago derecho es diferente de la que viaja por la rama izquierda.

- El nervio vago ejerce una acción moduladora inhibitoria en la respuesta del ovario a las gonadotropinas, cuyas participación depende del ambiente hormonal del animal en estudio.

- Los resultados obtenidos indican la existencia de una relación estrecha entre la inervación vagal que llega al ovario y su sistema catecolaminérgico, el cual parece ejercer un efecto inhibitorio sobre los receptores a la hormona foliculo estimulante.

- El día del Diestro parece ser el más sensible a las manipulaciones experimentales a que se someten los animales, la reactividad del ovario a su medio ambiente hormonal depende además de la integridad de su inervación.

- Los resultados obtenidos con el modelo del animal entero son diferentes a los encontrados en el animal hemicastrado. En el animal hemicastrado, el ovario derecho parece tener mayor

capacidad de regulación compensatoria de la función de la gónada remanente que el ovario izquierdo.

- Al parecer los sistemas que controlan el crecimiento compensatorio del ovario y la ovulación en el animal hemicastrado dependen tanto de la información neural que es enviada por el ovario derecho o izquierdo, como del lado del hipotálamo (derecho o izquierdo) al que llegue dicha información.

- La hemicastración altera la sensibilidad del eje hipotálamo hipófisis-gónada, las catecolaminas y la inervación vagal participan en la regulación de este cambio y dependen del parámetro en estudio.

- Los resultados apoyan la idea de la existencia de lateralización en los mecanismos neuroendócrinos a nivel periférico.

- El modelo del animal hemicastrado es algo más que un animal sin una gónada.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- AGUADO, L.I., DJEDA, B.R. (1984) Effect of selective removal of the adrenal medulla on female sexual development. *Biology of Reproduction* 31:605-618.
- 2.- AGUADO, L.I., T.PETROUK, L., DJEDA, B.R. (1982) Ovarian b-adrenergic-receptors during the onset of puberty: characterization, distribution and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 110:1124-1132.
- 3.- AGUADO, L.I., DJEDA, B.R. (1986) Prepubertal rat ovaries: hormonal modulation of b-adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. *Biology of Reproduction* 34:45-50.
- 4.- AHMED, C.E., DEEB, W.L., DJEDA, B.R. (1986) The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP) containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology* 118:1682-1689.
- 5.- ALLEN, L.J., LAWRENCE, I.E.Jr., BURDEN, H.W., HODSON, C.A. (1985) Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 74:87-94.
- 6.- AYALA, M.E. (1985) Respuesta a la hemicastración en animales desnervados por guanetidina. Tesis de licenciatura. ENEP-Zaragoza UNAM. 80 pp.
- 7.- BAHR, J.M., BEN-JONATHAN, N. (1981) Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in rat. *Endocrinology* 108:1815-1820.
- 8.- BAHR, J.M., BEN-JONATHAN, N. (1985) Elevated catecholamines in porcine follicular fluid before ovulation. *Endocrinology* 117:620-622.
- 9.- BAHR, J.M., KAO, L., NALVANDOV, A.V. (1974) The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biology of Reproduction* 10:273-290.
- 10.- BALJET, B., DRUKKER, J. (1979) The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anatomica*. 104:243-267.
- 11.- BAST, J.D. GREENWALD, G.S. (1974) Serum profiles of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone and prolactin during the estrous cycle of the hamster. *Endocrinology* 94:1295-1299.
- 12.- BEN-JONATHAN, N., ARBOGAST, L.A., RHOADES, T.A., BARR, J.M. (1984) Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and the novo synthesis. *Endocrinology* 115:1426-1431.

- 13.- BEN-JONATHAN, N., BRAW,R.H., REICH,L.R., BAHR,J.M., TBAFIRI,A. (1982) Norepinephrine in graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110:457-461.
- 14.- BURDEN,W.H. (1978) Ovarian Innervation in: *The vertebrate ovary: Comparative Biology*. R.E. Jones Ed. Plenum Press Ch.18:615-638.
- 15.- BURDEN,H.W., I.E. LAWRENCE Jr. (1977) The effect of denervation on compensatory hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23:360-378.
- 16.- BURDEN,H.W., LAWRENCE,I.E.Jr., LOUIS,T.,HODSON,C.A. (1981) Effects of abdominal vagotomy on the oestrus cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology* 33:218-222.
- 17.- BURDEN, H.W., LAWRENCE, I.E.Jr. LOUIS,M.T. HODSON, C.A. (1983) Abdominal vagotomy does not activate the corpus luteum in rats. *Neuroendocrinology* 37:288-290.
- 18.- CARLSON, R.R. , De FEO, J.V. (1965) Role of the pelvic nerves vs the abdominal sympathetic nerves in the reproductive function of the female rat. *Endocrinology* 77:1014-1022.
- 19.- CARPENTER,H.B. (1976). *Human Neuroanatomy*. Baltimore, Williams & Wilkins p.310.
- 20.- CURRIE, N.G., BLACK, D.I., ARMSTRONG, D.T. and GREEP, R.D. (1969) Blockade of ovulation in the rabbit with catecholamines and sympathomimetics. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 130:598-602.
- 21.- CURRY,T.E.Jr., LAWRENCE,I.E.Jr., BURDEN,H.W. (1984) Effect of ovarian sympathectomy on follicular development during compensatory ovarian hypertrophy in the guinea pig. *Journal of Reproduction and Fertility* 71:39-44.
- 22.- CURRY, T.E.Jr., LAWRENCE,I.E.Jr., BURDEN,H.W. (1984) Ovarian sympathectomy in the guinea pig. II Effects on follicular development during the prepubertal period and following exogenous gonadotropin stimulation. *Cellular Tissue Research* 236:593-596.
- 23.- CHARPAK,B., ARMSTRONG,W.E., MUMLETHALER,M., DREIFUSS,J.J. (1984) Stimulatory action of oxytocin on neurones of the dorsal motor nucleus of the vagus nerve. *Brain Research* 300:83-89.
- 24.- DEEB,W.L., AHMED,C.E., DJEDA,B.R. (1986) Substance P and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology* 119:638-641.

- 25.- DEEB, W.L., KOZLOWSKI, G.P., DEY, R., OJEDA, S.R. (1985) Evidence for the existence of substance P in the prepubertal rat ovary. II. Immunocytochemical localization. *Biology of Reproduction* 33:471-476.
- 26.- DOMINGUEZ, R., RIBONI, L. (1971) Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7:164-170.
- 27.- DOMINGUEZ, R., RIBONI, L., ZIPITRIA, D. & REVILLA, R. (1982) Is there a cholinergic rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat. *Journal of Endocrinology* 95:175-180.
- 28.- DOMINGUEZ, R., GAITAN, C.M., MENDEZ, B.A., ULLOA-AGUIRRE, A. (1987) Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotropin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113:37-44.
- 29.- DOMINGUEZ, R., CHAVEZ, R. & CRUZ, M.E. (1987). Crecimiento y maduración folicular. En *Biología de la Reproducción*. Ed. Sociedad Mexicana de Fisiología. (en publicación).
- 30.- FARRAR, J.A., HANDBERG, B.N., HARTLEY, M.L. & PENNEFATHER, J.N. (1980) Catecholamine levels in the guinea pig ovary, myometrium and costo-uterine muscle during the ovary remaining after unilateral ovariectomy. *Biology of Reproduction* 22: 473-479.
- 31.- FERNANDEZ-PRADAL, J., GIMENO, M.F. and GIMENO, A.L. (1986) Catecholamines in sow graafian follicles at prooestrus at diestrus. *Biology of Reproduction* 34:439-445.
- 32.- FLORES, A., y MORALES, L. (1985) Mecanismos que participan en el proceso de hipertrofia compensadora del ovario. Tesis de licenciatura ENEP Zaragoza UNAM. 88p.
- 33.- FUKUDA, M., YAMANOUCHI, K., NAKANO, Y., FURUYA, H., ARAI, Y. (1984) Hypothalamic laterality in regulating gonadotropin function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51:365-370.
- 34.- GERANDAI, I., MARCHETTI, B., MAUGERI, J., AMICO ROXAS, M., SCAPAGNINI, U. (1978) Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 60HDA. *Neuroendocrinology* 27:272-278.
- 35.- GILBERT, R.F.T., EMBSON, P.C., FAHRENKRUG, J., LEE, C.M., PENMAN, E., and WABB, J. (1980) Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *Journal of Neurochemistry* 34:108-113.

- 36.- GROB, H.B. (1969) Effect of denervation of the mouse ovary. *Am. Zool.* 9:1086.
- 37.- HARWOOD, J.P., RICHERT, N.D., DUFAU, M.L. and CATT, K.J. (1980) Gonadotropin-induced desensitization of epinephrine action in the luteinized rat ovary. *Endocrinology* 107:280-288.
- 38.- HILL, T.R. (1962) Paradoxical effects of ovarian secretion in the ovary. Zuckerman and Weir. Academic Press. pp1231-261.
- 39.- HOPKINS, T. and PINCUS, G. (1963) Effects of reserpine on gonadotropin induced ovulation in immature rats. *Endocrinology* 73:775-780.
- 40.- JORDAN, A.W. (1981) Changes in ovarian  $\beta$ -adrenergic receptors during the estrous cycle of the rat. *Biology of Reproduction* 24:245-248.
- 41.- KANNISTO, P., OHMAN, CH., and WALLEB, B. (1985) Involvement of local adrenergic receptors in the process of ovulation in gonadotropin-primed immature rats. *Journal of Reproduction & Fertility* 75:357-362.
- 42.- KUNTZ, A. (1945). The autonomic nervous system. Bailliere, Tindall & Cox, London. pp1340-350.
- 43.- LAWRENCE, E.I. Jr. and BURDEN, H.W. (1980) The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record* 196:51-59.
- 44.- LAWRENCE, E.I. BURDEN, H.W. and LOUIS, M.T. (1978) Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and Progesterone concentrations and fetal resorption. *Journal of Reproduction & Fertility* 53:131-136.
- 45.- LEBLIE, R.A. (1985) Neuroactive substances in the dorsal vagal complex of the medulla oblongata: nucleus of the tractus solitarius, area postrema and dorsal motor nucleus of the vagus. *Neurochemistry Interdisciplinary* 7:191-211.
- 46.- McLEAN, D.B., LEWIS, B.E. (1984) Axoplasm transport of somatostatin and substance P in the vagus nerve of the rat, guinea pig and cat. *Brain Research* 307:135-145.
- 47.- MORI, T., IRAHARA, M., SAITO, H., OHNO, Y. and HOSOI, E. (1985) Inhibitory action of somatostatin on meiotic maturation of cultured porcine follicular ova. *Acta Endocrinologica* 10:408-412.
- 48.- NANCE, D.M., WHITE, J.P., and MOGER, W.H. (1983) Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* 10:353-355.



- 49.- NEILSON, D., SEEGAR, G., WOODRUFF, D. and GOLBERG, B. (1970) The innervation of the ovary. *Obstetric and Gynecology Survey* 25:889-904.
- 50.- DJEDA, B.R., HITE, B.B., AGUADO, I.L., ADVIS, J.P., ANDERSEN, J.M. (1983) Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36:261-267.
- 51.- DSHEA, J.D. (1970) An ultrastructural study of smooth muscle like cells in the theca externa of ovarian follicles in the rat. *Anatomical Record* 167:127-132.
- 52.- OMMAN, CH., ROBENGRN, E., BJOBERG, N-O (1967) Adrenergic innervation of the human female reproductive organs: a histochemical and chemical investigation. *Obstetric and Gynecology* 30:763-773.
- 53.- PALKOVITS, M., ZABORSKI, L. (1979) Neural connections of the hypothalamus in Morgane P.J. Panksepp J. ed. *Handbook of the hypothalamus. Anatomy of the hypothalamus.* New York Dekker 1:397.
- 54.- PEPLER, R.D., JACOBS, J.J. (1976) The effect of adrenalectomy on ovulation and follicular development in the rat. *Biology of Reproduction* 15:173-178.
- 55.- POMLEY, T.L., PRECHTL, C.J., FOX, A.E., BERTHOUD, R.H. (1983) Anatomical considerations for surgery of the rat abdominal vagus: distribution, paraganglia and regeneration. *Journal of Autonomic Nervous System* 9:79-97.
- 56.- RAMALEY, J. (1974) Minireview adrenal gonadal interactions at puberty. *Life Sciences* 14:1623-1633.
- 57.- REHFELD, F.J. (1983) Gastrin and cholecystokinin in the vagus. *Journal of Autonomic Nervous System* 9:113-118.
- 58.- RICARDO, J.A., KOH, E.T. (1978) Anatomical evidens of direct projection from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in rat. *Brain. Research* 153:1-26.
- 59.- RICHARDS, J.B. (1980) Maturation of ovarian follicles actions and interaction of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiological Review* 60:51.
- 60.- ROCHE, P.J., PARR, KINGTON, H.C., GIBSON, W.R. (1985) Pregnancy and parturition in rats after sympathetic denervation of the ovary oviduct and utero-tubal junction. *Journal of Reproduction & Fertility* 73:653-661.

- 61.- BELSTAM, G., NORVAJAARA, E., TEGENFELT, T., LUNDBERG, S.,  
 BADNSTRÖM, C., PERSSON, B. (1985) Partial denervation of the  
 transection of the suspensory ligament does not inhibit ovulation  
 in rats treated with pregnant mare serum gonadotropin. *The  
 Anatomical Record* 213: 392-395.
- 62.- STEFENSON, A., ÖNMAN, CH., SJOBERG, N-O., SPORRÖNG, B.,  
 WALLEB, B. (1981) Comparative study of the autonomic innervation  
 of the mammalian ovary; with particular regard to the follicular  
 system. *Cell Tissue Research* 215:47-62.
- 63.- WALLEB, B., EDVINSSON, L., ÖNMAN, CH., SJOBERG, N-O.,  
 SPORRÖNG, B., STEFENSON, A. (1977) Influence of sympathetic  
 nerves, alpha receptors and antiadrenergic drugs on follicular  
 contractility and ovulation. *Acta Physiologica Scandinava*  
 Suppl. 452:113-120.
- 64.- WALLEB, B., ÖNMAN, CH., SJOBERG, N-O (1982) Contraction of  
 the ovarian follicle induced by local stimulation of its  
 sympathetic nerves. *Brain Research Bulletin* 9:757-760.
- 65.- WALLEB, B., GROSCHEL-STERWART, V., ÖNMAN, CH., SJOBERG, N-O.,  
 UNBICKER, K (1978) Fluorescence histochemical demonstration of a  
 relationship between adrenergic nerves and cell containing actin  
 and myosin in the rat ovary, with special reference to the  
 follicle wall. *Journal of Reproduction & Fertility* 52:175-178.
- 66.- WEISS, G.K., DAIL, G.W., RATNER, A. (1982) Evidence for  
 direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats.  
*Journal of Reproduction & Fertility* 65:507-511.
- 67.- WRRUTNIAK-ZOLNOWSKA, T. (1980) Changes of the secretory  
 activity of ovarian chromaffin cells during the sex cycle of  
 female white rats. *Endokrinologie, Band 76, Heft 3:279-287.*
- 68.- WYLIE, B.N., ROCHE, P.J., GIBSON, W.R. (1985) Ovulation after  
 sympathetic denervation of the rat ovary produced by freezing its  
 nerve supply. *Journal of Reproduction & Fertility* 75:369-373.
- 69.- YOSHIMURA, Y., WALLACH, E. (1987) Studies of the mechanism(s)  
 of mammalian ovulation. *Fertility and Sterility* 47:22-34.

## AGRADECIMIENTOS

Los datos presentados en este trabajo, fueron obtenidos en el Laboratorio de Biología de la Reproducción de la ENEP-Zaragoza UNAM. Numerosas personas contribuyeron para la obtención de esta tesis. Quiero agradecer de manera especial a las siguientes:

Dr. Roberto Domínguez Casalá por su constante estímulo, confianza y acertada dirección de tesis.

M. en C. Ma. Esther Cruz Beltrán por su apoyo constante, invaluable colaboración, pero principalmente por su amistad.

Dr. Domingo Zipitria y a todos los trabajadores del Bioterio de la ENEP-Zaragoza, especialmente al Sr. Abelardo García, por su valiosa colaboración.

Al Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, al Dr. Alfredo Ulloa-Aguirre y los Biólogos Pablo Matzumura y Ricardo Espinosa, por su asesoría y las facilidades otorgadas para la realización de la técnica de radioinmunoanálisis.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio de Biología de la Reproducción por su constante estímulo y por todas las horas que hemos convivido.

A la Ing. Bióloga Ingrid Reich por la alegría con que me enseñó a vivir cada día.

A mi familia por todo el apoyo, el cariño y la paciencia que me han otorgado y que han hecho posible la culminación de este trabajo, esperando les quede aún un poco más para lo que falta.

## OVULATION, FOLLICULAR GROWTH AND OVARIAN REACTIVITY TO EXOGENOUS GONADOTROPINS IN ADULT RATS WITH UNILATERAL OR BILATERAL SECTION OF THE VAGI NERVES\*

MA. ESTHER CRUZ\*\*, RENEGA CHÁVEZ\*\* & ROBERTO DOMÍNGUEZ\*\*

The effects of the section of the left or right vagus nerve (RLVN and SRVN) or bilateral section of the vagi (BSVN) on estrous cycle, ovulation rate and ovulation induced by FSH and LH administration were studied in adult rats. BSVN did not alter estrous cyclicity and 89% of the animals ovulated the expected estrus day (NS vs controls). The number of ova shed by BSVN ovulating animals was larger than in the control group (11.8 ± 0.3 vs 10.2 ± 0.4,  $P < 0.01$ ). When the RLVN was performed, all the animals had normal estrous cycles, but only 3 out of 7 ovulated. The SRVN did not alter the estrous cycle, nor ovulation rate or number of ova shed. The ovulatory response to exogenous FSH and LH was lower (number of ova shed and increase in the weight of the ovaries) in BSVN animals than in non operated or RLVN ones. The results point out the possibility that, normally, the vagi have an "inhibitory modulator" role in the reactivity of the ovary to gonadotropins, that both vagi innervate the ovaries, and the possible existence of differences in the information carried by the left and right vagus nerve from the ovary to hypothalamus and from it to the ovaries.

## OVULACION, CRECIMIENTO FOLICULAR Y REACTIVIDAD OVARICA A GONADOTROPINAS EXOGENAS EN RATAS ADULTAS CON SECCION UNICO BILATERAL DE LOS VAGOS

Varios autores plantean que la innervación que recibe el ovario modula los efectos de las gonadotropinas y las hormonas ováricas sobre el órgano. Asimismo, la innervación eferente del ovario llevaría información "rápida" sobre su funcionamiento al Sistema Nervioso Central (SNC). En el presente trabajo se analizaron las modificaciones que la sección bilateral (BSNV) o unilateral derecha (SSNV) o izquierda (SNVI) del nervio vago (NV) provocaron sobre el ciclo estral, la ovulación, la población folicular y su respuesta a las gonadotropinas exógenas. Todos los animales con SSVB, SNVI, o SRNV recuperaron su ciclo estral. En los animales con SBNV autopsiados en estró, la tasa de animales ovulantes fue semejante al grupo testigo, mientras que el número de ovocitos liberados por animal ovulante fue mayor (11.80 ± 0.3 vs 10.2 ± 0.4,  $P < 0.01$ ). En los animales con SBNV no se observaron diferencias en los parámetros estudiados respecto al testigo. En cambio, en los animales con SNVI la tasa ovulatoria disminuyó (3.7 vs 10/10,  $P < 0.025$ ), y el número de ovocitos liberados fue semejante al control. La respuesta a FSH y LH en los animales con SBNV fue menor que en el grupo testigo (ovocitos: 6.1 ± 1.1 vs 11.8 ± 1.8,  $P < 0.02$ ; peso ovárico: 35.1 ± 3.0 vs 19.9 ± 3.9,  $P < 0.01$ ).

En los animales con SBNV aumentó la población de folículos grandes, mientras que en los animales con SNVI el porcentaje de folículos ovulatorios fue mayor en el ovario "inervado" que en el "desnervado" (69.1% vs 33.0%,  $P < 0.01$ ).

Nuestros resultados indican que: 1.—Los NV tienen un papel "modulador inhibitorio" en la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas. 2.—El NV derecho y el NV izquierdo participan de manera diferente en la regulación de la ovulación. 3.—El NV es una de las vías nerviosas eferente del ovario hacia el SNC.

\*\* Laboratorio de Biología de la Reproducción, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México Apartado Postal 94039, 15000 México, D.F.

\*Partially supported by Programa Universitario de Investigación Científica UNAM and CONACYT grant PCSABNA 021124 Recibido el 6 de septiembre de 1985. Aceptado para publicación el 9 de enero de 1986.

Previous results from this and other laboratories indicate that ovarian innervation plays a role in modulating the reactivity of the ovarian compartments to gonadotropins (1-4). The majority of the results show an inverse relationship between noradrenaline and FSH (5, 6). The age of the rats also seems to be an important factor in regulating the ovarian reactivity to gonadotropins as well as to "pharmacological denervation" induced by catecholaminergic depleting drugs (7, 8).

Results by Nance et al (9) indicate the existence of an hypothalamic asymmetry in terms of endocrine control of the compensatory ovarian hypertrophy. The existence of a direct pathway between the central nervous system (CNS) and the ovary is also suggested by the results of Kawakami et al (10, 11) and Grandal et al. (12, 13).

Ojeda et al (14) observed a delay in vaginal opening in prepubertal vagotomized rats, without changes in FSH, LH and prolactin plasma levels, but with an augmented secretion of androgens by the ovaries of vagotomized animals.

Since no differences in FSH and LH release in rats with bilateral section of the vagi nerves have been reported, but conversely, changes in the capability of the ovaries to secrete hormones have been demonstrated, it was decided to study the effects of unilateral (left or right) or bilateral section of the vagi nerves on the estrous cycle and ovulation, as well as in the responsiveness of this gland to exogenous gonadotropin.

#### MATERIAL AND METHODS

Adult virgin rats of the C: H 2-V strain were maintained under light controlled conditions (14/10 h, lights on from 0500 to 1900 h) with free access to food and tap water. The length of the estrous cycle was monitored by daily vaginal smears, and only those animals having 4-day cycle were used. All animals were autopsied on the expected estrus day after three consecutive 4-day cycles.

Anesthetized animals were laparotomized, the liver was reflected, the esophagus exposed and the anterior (left) and posterior (right) vagal trunks were cut with fine forceps (BSVN) (15). The control animals were laparotomized, the stomach manipulated but the vagi nerves were untouched. An untouched control group was also included.

In a second experiment, a group of animals was subjected to section of the left (SLVN) or right (SRVN) vagus nerve only, following the same procedure as in the first experiment. A group of ten non-operated animals was used as control.

Vagotomized animals (bilateral or unilateral) were kept at rest for five days; thereafter vaginal smears were taken again daily. The interval between vagotomy and autopsy was 25 to 40 days in all groups.

In order to test the ovarian responsiveness to exogenous gonadotropins, rats with bilateral or left vagus nerve section as well as the untouched controls, were injected during the day of diestrus with 45  $\mu$ l of ovine FSH (Profan A, Bayer, Mexico); 56 hours later they received 30  $\mu$ l of LH-CG (thorion gonadotropin, Profan E, Bayer, Mexico), and were autopsied 20 hours later.

All the animals were killed by bleeding under ether anesthesia. The severed vagal trunks were observed using a dissecting microscope to examine whether contact between the two endings had occurred. Animals exhibiting ending contacts were eliminated. Oviducts were dissected and ova count performed. The ovaries were removed and weighed in a precision balance, fixed in Bouin's fluid, and embedded in paraffin. Serial sections of 10  $\mu$ m were stained with hematoxylin-eosin. Follicular population in three ovulating animals (control and BSVN) and in three non-ovulating ones (SLNV) chosen at random was determined according to Weischen's method (16).

Data were analyzed by the unpaired Student's t test, the chi square test, the Fisher's exact probability test or the U-Mann Whitney test.

#### RESULTS

##### *1.- Effects of Bilateral or Unilateral (left or right) section of the vagi nerves on estrous cycle, ovulation rate and ovarian weight (table 1).*

No differences were observed in animal weight, nor in the feeding behavior between rats with unilateral or bilateral section of the vagi and controls. Estrous cyclicity was recovered in all vagus-sectioned animals.

Fifty two out of 50 rats with BSVN ovulated in a similar fashion to sham operated and untouched control animals. The number of ova shed by the ovulating animals with BSVN was higher than in the untouched or sham-operated controls.

In ovulating animals with BSVN, more ova were released from the left ovary than from the right one. Such difference was not observed in untouched control animals.

In the group of rats with SLVN, three out of seven animals ovulated; besides, all of them showed three consecutive 4-day cycles. No differences were observed in the number of ova shed per ovulating animal, nor in their ovarian weights.

No differences in ovulating rate, number of ova shed or ovarian weights were observed in the SRVN

TABLE 1

Ovulation rate and mean  $\pm$  s.e.m. of ova shed and the weight of the ovaries (mg/100 g body weight) in control rats, with sham operation or bilateral or unilateral (left or right) section of the vagi trunks, autopsied on the oestrous day after three consecutive 4-day cycles.

GROUP	number of ovulating number of treated rats	number of ova shed ovulating animal			weight of the ovaries
		total	left ovary	right ovary	
CONTROL	40/40	10.2 $\pm$ 0.4	5.6 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.4	24.7 $\pm$ 0.8
SHAM	14/20	10.5 $\pm$ 0.5	6.4 $\pm$ 0.5	4.4 $\pm$ 0.6	25.3 $\pm$ 0.5
BILATERAL VAGOTOMY	52/58	11.8 $\pm$ 0.3**	6.4 $\pm$ 0.4	5.2 $\pm$ 0.4	25.1 $\pm$ 0.7
CONTROL	10/10	9.5 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 0.9	4.3 $\pm$ 0.9	25.3 $\pm$ 2.8
LEFT VAGOTOMY	5/7*	10.3 $\pm$ 1.2	4.3 $\pm$ 0.9	6.0 $\pm$ 0.6	20.9 $\pm$ 2.1
RIGHT VAGOTOMY	13/16	10.4 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 0.8	5.2 $\pm$ 0.7	21.6 $\pm$ 0.9

\*  $P < 0.025$  to proper control in the same column.

\*\*  $P < 0.01$  to proper control in the same column.

†  $P < 0.005$  to the left ovary.

group as compared with the controls. When the ovulation rates of rats with BSVN was compared with those having unilateral section of vagus nerve (left + right), it was found that the animals with BSVN presented higher ovulation rates than those with unilateral vagotomy (52/58 vs. 16/23,  $P < 0.05$ ).

2.- Follicular population in control animals and in those with left or bilateral section of vagi nerves (Figure 1).

Figure 1 represents the follicular population observed in the ovaries examined. BSVN provoked an increase in the population of large size follicles ( $500-999 \times 10^3$

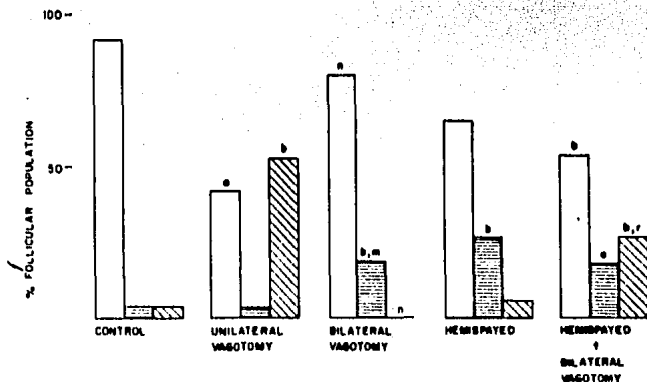


Figure 1. Follicular population in control, unilateral or bilaterally vagotomized rats and hemispayed with or

without vagi nerve section autopsied on oestrous day. □ 200-499  $\times 10^3 \mu^2$ ,

▨ 500-999  $\times 10^3 \mu^2$ , ▤ 1000  $\times 10^3 \mu^2$ .

a,  $P < 0.01$ , b,  $P < 0.001$  compared to control group

m,  $P < 0.01$ , n,  $P < 0.001$  compared to unilateral vagotomized group

r,  $P < 0.001$  compared to hemispayed group.

$\mu\text{m}^3$ ) without significant changes in medium ( $200 \pm 199 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ ) or prevulatory (larger than  $1000 \times 10^3 \mu\text{m}^3$ ) follicular distribution as compared with the control animals.

In animals with SLVN, the follicular distribution differed between the left (denervated) and the right (innervated) ovaries. Both presented an increase in the number of prevulatory follicles; however, such increase was higher in the right ovary (innervated) than in the left (denervated).

3.- *Ovulatory response to FSH and LH administration in rats with bilateral or left section of the vagal trunk.*

Eleven out of 12 rats treated with FSH and LH ovulated. No differences were observed in the number of ovulating animals among control, BSVN or SLVN rats. Rats with BSVN, however, released fewer ova than control or SLVN groups. The increase in ovarian weight induced by FSH and LH was lower in the BSVN than in the remaining groups (Table 2).

#### DISCUSSION

The present results indicate that unilateral or bilateral section of vagi nerves did not interrupt the estrous cycle of the animals, thus suggesting that the control of the ovarian cycle was not affected by those manipulations. These results do not agree with those previously published (15). Differences may be related to the interval between vagotomy and autopsy; in our study it was longer than that employed by Burder and Lawrence (15).

In the animals with bilateral section of the vagi we observed an increase in the number of ova shed and in the population of large follicles. Since these follicles can ovulate by exogenous gonadotropins (16), our results suggest the existence of an increased sensitivity of the ovary to gonadotropins, induced by vagotomy. Vagi nerves could be acting as inhibitor modulators upon the reactivity of the ovarian follicles to endogenous gonadotropins.

The results obtained in the ovulatory test with FSH and LH in animals with BSVN, are in agreement with previous results obtained in animals with chronic peripheral catecholaminergic system denervation (17, 18). Both, vagal and chronic catecholaminergic denervation reduce the ovulation rate induced by exogenous gonadotropins and modify the ovarian weight. Therefore, the reactivity of the ovary to gonadotropins might depend on the integrity of its innervation.

The differences observed between the number of ova shed by the left and right ovaries in rats with BSVN, might be explained by a different responsiveness of both ovaries to vagi denervation. This interpretation is supported by the changes observed in the follicular population within the "innervated" and "denervated" ovaries in SLVN animals.

The results obtained by unilateral (left or right) section of the vagus nerve suggest the existence of differences in the information carried by the vagal trunks from the ovary to the hypothalamus and from the latter to the former. Based on the present results, it is possible to speculate that the neural information carried by the left vagus is more related to the ovulatory process than that carried by the right one.

TABLE 2

Mean  $\pm$  s.e.m. of ova shed and the weight of the ovaries (mg/100 g body weight) in control rats or with bilateral section of the vagal trunks or with section of the left vagus trunk, treated on diestrus with 45 i.u. of FSH, 56 hours later with 10 i.u. of LH, autopsied 20 hours later.

GROUP	number of ovulating number of treated rats	number of ova shed ovulating animal	weight of the ovaries
UNTREATED CONTROL	40/40	10.2 $\pm$ 0.4	25.1 $\pm$ 3.04
FSH-LH TREATED CONTROL	11/12	11.0 $\pm$ 1.6	49.9 $\pm$ 3.98
BILATERAL VAGOTOMY + FSH-LH	8/9	6.1 $\pm$ 1.1*	25.1 $\pm$ 3.10**
LEFT VAGI SECTION + FSH-LH	8/10	11.1 $\pm$ 1.8	50.9 $\pm$ 3.3

\*  $P < 0.01$  related to non treated control

\*\*  $P < 0.02$  related to FSH-LH control and non treated control

\*\*\*  $P < 0.01$  related to FSH-LH control and to non treated control

## REFERENCES

- Dominguez, R. & Riboni, I. Failure of ovulation in ovariectomized ovarioid in hypoparathyroid rat. *Neuroendocrinology*, 7: 161, 1971.
- Bahr, J. M., Kao, T. & Nathanson, A. L.: The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol. Reprod.* 10: 271, 1974.
- Burden, H. D.: Ovarian innervation. In Jones, R. E.: The vertebrate ovary. Comparative biochemistry. Plenum Press, New York 1978 p. 615.
- Dominguez, R., Zepirio, D., Aguilar, I. & Riboni, I.: Effects of unilateral destruction of the cervico-ovarian plexus on ovulation in the rat. *J. Endocr.* 91: 363, 1981.
- Bahr, J. M. & Ben-Jonathan, N.: Preovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Endocrinology*, 108: 1015, 1981.
- Ben-Jonathan, N., Bao, R. H., Lauter, N., Reich, R., Bahr, J. M. & Tsafur, S.: Norepinephrine in Graafian follicles is depleted by follicle stimulating hormone. *Endocrinology* 110: 457, 1981.
- Hopkins, I. K. & Pincus, G.: Effects of norepinephrine on gonadotropin-induced ovulation in immature rats. *Endocrinology*, 71: 775, 1964.
- Franco, F. V.: Reversal by paroxetine of reversion block of induced ovulation. Direct ovarian effects. *Neuroendocrinology*, 6: 71, 1970.
- Nance, D. W., White, J. P. & Mager, W. H.: Neural regulation of the ovary: Evidence for hypothalamic asymmetry in embryonic control. *Braz. Res. Bull.* 10: 553, 1981.
- Kanokami, M., Kubo, K., Uemura, T. & Hayashi, R.: Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. *Endocrinology*, 109: 136, 1981.
- Kanokami, M.: Interactions of supra-ovarian ascending neural system and forebrain-hypothalamic structures in regulating gonadotropin release in female rats. *Acta morph. hungarica*, 71: 117, 1983.
- Grandai, I., Kiss, J., Molnar, J. & Haldiz, B.: Further data on the existence of a neural pathway from the adrenergic bundle to the hypothalamus. *Cell Tissue Res.* 151: 359, 1974.
- Grandai, I. & Haldiz, B.: Hemicondectomy-induced unilateral changes in the post-synthesizing activity of the rat hypothalamic aviculate nucleus. *Neuroendocrinology*, 21: 111, 1976.
- Ojeda, S. R., Smith-White, A., Aguado, J. I., Adin, J. P. & Anderson, J. M.: Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology*, 36: 261, 1981.
- Burden, H. & Lawrence, J. E. P.: The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology*, 21: 368, 1977.
- Welschen, R.: Amounts of gonadotropins required for normal follicular growth in hypophysectomized adult rat. *Acta Endocrin.* 72: 417, 1975.
- Chávez, R., Cruz, Ma E. & Dominguez, R.: Diferencias en la respuesta ovulatoria inducida en animales enteros o hemiatactados con "denervación quirúrgica o farmacológica". En: Libro de Resúmenes de la VIII Reunión de la Academia de Investigación de Biología de la Reproducción. A. C. México, 3:21 1981.
- Dominguez, R. & Zepirio, D.: Longterm effects of neuroleptide administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS Medical Science*, B: 52, 1980.



## MODIFICATIONS ON THE OVARIAN RESPONSE TO GONADOTROPINS INDUCED BY CATECHOLAMINE DEPLETION IN VAGOTOMIZED ADULT RATS\*

REBLCA CHÁVEZ,\*\* MA. ESTHER CRUZ\*\* AND ROBERTO DOMÍNGUEZ\*\*

The reactivity of the ovaries to exogenous FSH and LH was studied in rats with catecholaminergic (CA) blockade induced by reserpine (RSP) administration (1 mg/kg) injected 3 hours before FSH or LH. In another experiment, the effects of previous bilateral section (20 days) of the vagus nerve upon the ovarian reactivity to gonadotropins in CA blocked animals were studied.

The blockade of the CA system performed before administration of FSH was followed by and increase in the number of ova shed ( $21.19 \pm 2.87$  vs.  $11.81 \pm 1.58$ ,  $P < 0.01$ ) and the weight of the ovaries ( $66.20 \pm 4.11$  vs.  $49.79 \pm 3.99$  mg/100 g body weight,  $P < 0.01$ ). Interestingly, the number of preovulatory follicles in RSP treated animals was significantly ( $P < 0.025$ ) reduced. When RSP was injected 3 hours before LH, no changes in the ovulatory response nor in the ovarian weight were observed. The effects of RSP injection before FSH administration were reversed in those animals with bilateral section of the vagus nerve. Once again, no changes were observed when RSP was injected before LH administration.

The present results underline the possibility that catecholamines normally have an inhibitory role on FSH follicular receptors. It seems that a direct relationship also exists between the information carried by the vagus nerve to the ovary and the CA innervation.

## MODIFICACIONES DE LA RESPUESTA OVARICA A GONADOTROPINAS, INDUCIDA POR DEPLECIÓN DE GATECOLAMINAS EN RATAS ADULTAS VAGOTOMIZADAS

Con el fin de estudiar la participación de los catecolaminas (CA) en el proceso del crecimiento folicular y la ovulación en el animal adulto, se analizaron los efectos de la depleción aguda de CA por la administración de reserpina (RSP) (1 mg/kg) sobre la respuesta ovulatoria de animales tratados con FSH y LH. Dado que previamente se mostró que la sección bilateral de los nervios vago provoca aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovariante se analizaron los efectos de la vagotomía bilateral previa a la desensación aguda provocada por RSP.

La inyección de RSP 3 horas antes de la administración de FSH provocó aumento del número de ovocitos liberados ( $21.19 \pm 2.87$  vs.  $11.81 \pm 1.58$ ,  $P < 0.01$ ), del peso de los ovarios ( $66.20 \pm 4.11$  vs.  $49.79 \pm 3.99$  mg/100 g peso corporal,  $P < 0.01$ ) y disminución del número de folículos preovulatorios. En los animales tratados con RSP 3 horas antes que recibieran LH (53 horas después que fueron tratados con FSH) no se observaron cambios significativos en el número de ovocitos, ni en el peso de los ovarios, en relación con los testigos tratados con FSH y LH. La sección previa (20 días) de los nervios vago bloqueó los efectos de la administración de RSP antes de la FSH (ovocitos  $5.31 \pm 1.51$  vs.  $21.19 \pm 2.87$ ,  $P < 0.001$ ); peso de los ovarios  $36.51 \pm 2.58$  vs.  $66.20 \pm 4.11$  mg/100 g,  $P < 0.001$ ). La sección bilateral de los ner-

\* Supported by CONACYT, grant PCSABNA 24324 and Programa Universitario de Investigación Clínica, UNAM.  
\*\* Laboratorio de Biología de la Reproducción, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.  
Apóstrofo Postal 9-020, 15000 México, D. F.  
Recibido el 11 de abril de 1986. Aceptado para publicación el 3 de marzo de 1987.

vago vago no modificó los resultados obtenidos por la administración de RSP<sup>1</sup> antes de L.H.

Los resultados del presente estudio sugieren que en condiciones normales las CA tendrían efectos inhibitorios sobre el número de receptores foliculares a FSH, mientras que no parecen intervenir en los receptores a LH vinculados al proceso de ovulación. El hecho que la sección bilateral de los nervios vago revierta los efectos de la inyección de RSP<sup>1</sup> antes de la FSH sugiere que en condiciones normales la información que llevan los nervios vago al ovario es agonista con las CA.

The participation of the ovarian innervation in the mechanisms modulating the ovarian function has been demonstrated by several authors using different approaches (1-3). Even though the pathways connecting the central nervous system (CNS) and the ovaries are still under study, several results indicate that the vagus nerve constitutes one of these pathways (4-6).

The participation of catecholamines (CA) on the regulation of the ovarian response to gonadotropins has been demonstrated through different experimental approaches. In the adult rat it has been shown that an inverse relationship between CA and FSH, exists at the ovarian level (7, 8). According to Aguado and Ojeda (9, 10), CA denervated ovaries in proestrus had less capacity to secrete estradiol and progesterone, without clear changes in LH secretion, and no changes were observed when denervation was performed on estrus. Furthermore, Dominguez and Zipaira (11), have shown that chronic non-adrenergic denervation induced by guanethidine alters the reactivity of the ovary to endogenous and exogenous gonadotropins and France (12) in the prepubertal animal demonstrated that CA depletion induced by reserpine resulted in a lower response of the ovary to LH. Further, our group has shown that blockade of beta-adrenergic receptors caused different effects on the ovulatory response to gonadotropins both in the prepubertal and in the postpubertal rat (13).

Since ovarian innervation is accomplished through several pathways, and the vagus nerve section modifies the reactivity of the ovary to exogenous and endogenous gonadotropins (6) it was of our interest to analyze the ovarian effects of exogenous FSH and LH in rats whose catecholaminergic system was previously blocked by reserpine before hormone administration. The participation of the vagi nerves in this experimental model was also studied.

#### MATERIAL AND METHODS

Adult virgin rats (170-220 g) of the C 57 B 6-V strain, maintained under light controlled conditions (lights on from 05.00 to 19.00 h) were used. The animals had free access to food and tap water. In some animals, 20 days before they received another treatment,

vagotomy was performed under ether anaesthesia using the methodology previously described (6).

#### Ovulatory test

Diestrus animals were injected with 45 IU of ovine FSH (Profan A, Bayer, Mexico) at 00.00 h; 56 hours later they received 30 IU of LH-hCG (Profan F, Bayer, Mexico) and were autopsied 20 hours later. At autopsy, the uterine tubes were dissected and the ova were counted. Ovaries were dissected and weighed with the aid of a precision balance.

#### Experimental groups

Control group. Twelve rats submitted to the ovulatory test with FSH-LH were included in this group.

Reserpine before FSH. Twelve rats received 1 mg/kg body weight of reserpine (RSP) (Ciba-Geigy, Mexico) three hours before they were injected with FSH. The ovulatory test was then performed as described above.

Reserpine before LH. Twelve rats were injected with the same dose of RSP 53 hours after they received FSH; three hours later they were injected with LH-hCG and were autopsied as previously described.

A group of 16 rats with bilateral section of the vagi nerves underwent an ovulatory test in the same manner as those groups receiving RSP before FSH or LH.

The ovaries were fixed in Bouin's solution and embedded in paraffin wax. Follicular population in three ovulating animals chosen at random was determined according the method described by Hirschfield and Mittley (14).

Data were analyzed by one-way analysis of variance, Student's "t" test, the Fisher's exact probability test and the chi square test.

#### RESULTS

No differences in the ovulation rate (number of ovulating animals/number of treated) were observed in all experimental groups as compared with controls.

#### 1. EFFECTS OF RESERPINE ADMINISTRATION BEFORE FSH OR LH STIMULATION ON THE NUMBER OF OVA SHED, OVARIAN WEIGHT AND FOLLICULAR POPULATION.

TABLE 1

EFFECTS OF ICESERPINE (RSP) ADMINISTRATION (1 mg/kg) ON THE OVLATION RATE, NUMBER OF OVULATING ANIMALS, NUMBER OF TREATED ONES AND OVULATORY RESPONSE (MEAN  $\pm$  S.E.M. OF THE NUMBER OF OVA SHED BY OVULATING ANIMALS) TO FSH-LH AND MEAN  $\pm$  S.E.M. OF THE WEIGHT OF THE OVARIES WHEN RSP WAS ADMINISTERED 3 HOURS BEFORE FSH OR LH

Group	Ovulation rate	Ovulatory response	Weight of the ovaries (mg/100 x body weight)
FSH-LH control	12/12	11.01 $\pm$ 1.58	49.79 $\pm$ 3.99
RSP-FSH-LH	11/12	21.49 $\pm$ 2.07**	66.20 $\pm$ 4.41*
FSH-RSP-LH	12/12	12.59 $\pm$ 1.70	50.02 $\pm$ 1.02

\* P<0.01 and \*\* P<0.001 vs. control

The number of ova shed per ovulating animal was significantly higher (P < 0.005) in those rats treated with RSP before they were injected with FSH; the weight of the ovaries was also increased (table 1). These changes were accompanied by an increase in the number of follicles with diameter between 400-499  $\mu$ m and a decrease in the proportion of preovulatory follicles (> 500  $\mu$ m indiameter) (figure 1).

In the group of animals receiving RSP before LH, neither differences in the number of ova shed, nor in the weight of the ovaries were observed (table 1). An increase in the proportion of preovulatory follicles was also observed (figure 1).

II. EFFECTS OF VAGOTOMY ON THE NUMBER OF OVA SHED, OVARIAN WEIGHT AND FOLLICULAR POPULATION IN RATS TREA-

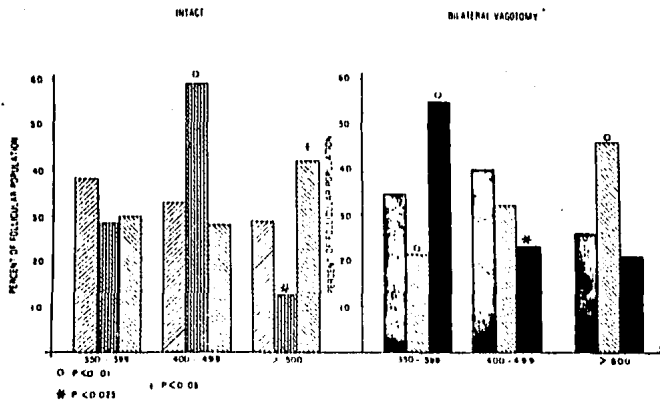


Figure 1. Percent distribution of follicles > than 400  $\mu$ m of diameter in rats treated with FSH-LH, with or without bilateral section of the vagus nerves, treated with reserpine (RSP) 3 hours before FSH or LH administration.

- Control + FSH-LH
- RSP-FSH-LH
- FSH-RSP-LH
- Vagotomy + FSH-LH (based on results published by Cruz et al 66)
- Vagotomy + RSP-FSH-LH
- Vagotomy + FSH-RSP-LH

TABLE 2

EFFECTS OF BILATERAL VAGOTOMY BEFORE THE BEGINNING OF THE OVULATORY TEST WITH FSH-LH ON OVULATION RATE, NUMBER OF OVULATING ANIMALS/NUMBER OF TREATED ONES) AND ON OVULATORY RESPONSE (MEAN  $\pm$  S.E.M. OF THE NUMBER OF OVA SHED BY OVULATING ANIMAL) AND MEAN  $\pm$  S.E.M. OF THE WEIGHT OF THE OVARIES IN RATS RECEIVING RESERPINE (RSP) (1 mg/kg) 1 HOUR BEFORE FSH OR LH

Group	Ovulation rate	Ovulatory response	Weight of the ovaries (mg/100 g body weight)
FSH-LH control	12/12	11.04 $\pm$ 1.30	19.79 $\pm$ 3.99
Bilateral vagotomy + RSP-FSH-LH	6/8	5.21 $\pm$ 1.51*	16.51 $\pm$ 2.38*
Bilateral vagotomy + FSH-RSP-LH	7/8	9.72 $\pm$ 2.01	56.31 $\pm$ 4.31

\*  $P < 0.01$ .

#### TED WITH RESERPINE BEFORE FSH OR LH ADMINISTRATION.

In bilateral vagotomized animals, administration of RSP before FSH injection did not induce any increase in the number of ova shed, nor in the weight of the ovaries as compared with intact animals (table 2). However, a diminution in both, the number of ova shed and the weight of the ovaries were observed compared with controls ( $P < 0.01$ ) (table 2). Decreases in the population of follicles between between 350-399  $\mu$ m ( $P < 0.025$ ) and in those  $> 500 \mu$ m (proovulatory follicles) were also observed ( $P < 0.01$ ) (figure 1).

When RSP was injected before LH, neither the number of ova shed nor the weight of the ovaries were different, as compared to control animals (table 2). An increase in the population of follicles between 350-399  $\mu$ m ( $P < 0.01$ ) compared with control group and a decrease in those between 400-499  $\mu$ m ( $P < 0.01$ ) was observed in the ovaries of this animal group (figure 1).

#### DISCUSSION

The results obtained in this study further support the concept that CA participate in the modulation of the response of ovarian compartments to gonadotropin. It seems that a direct relationship also exists between the information carried by the vagi nerves to the ovary and the CA innervation.

The increase in the number of ova shed and ovarian weight in animals treated with RSP before the administration of FSH, suggest that an amplification of the FSH effects upon ovarian follicular growth induced by CA depletion had occurred. Since the number of ovulating follicles depends on the number of follicles reaching the proovulatory stage (a process under the control

of FSH), it can be suggested that the increased number of ova shed could be due to an increased number of follicles capable to ovulate. Based in our results and those of Bahr and Ben-Jonathan (7) and Ben-Jonathan et al. (8) we suggest that CA depletion is followed by an increase in the number of FSH receptors, and therefore on the rate of follicular maturation.

In this study, CA depletion induced by RSP before LH administration was not followed by any effect of LH on the ovulatory response, despite the presence of an increased population of follicles larger than 500  $\mu$ m. The disagreement between our results and those published by Franke (12) may be explained by differences in the age of animals. Indeed we have previously shown that the ability of beta-adrenergic blocking agents upon the ovarian response to exogenous gonadotropins is mainly dependent on age (13).

The results presented herein strongly suggest that CA are more related with the effects of FSH upon the ovary. Furthermore, results from our laboratory (6) have indicated the existence of an important relationship between the ovarian innervation by the vagus nerve and its agonistic participation with the catecholaminergic system. In the present study an increase in the number of ova shed by RSP treatment before FSH administration was not present when animals had both vagus nerves sectioned. However, an important decrease in the number of ova shed was observed, suggesting that the vagus nerve section might interfere with the effects of FSH at the ovarian level.

Based in our results and those from other laboratories (3, 5, 7, 8) we suggest that among the mechanisms controlling the ovarian function, including the ovulatory process, the neurotransmitters play a critical role in modulating the actions of gonadotropins at the ovarian level.

## REFERENCES

1. Dominguez R & Riboni L: Failure of ovulation in autografted ovary in hemiparal rat. *Neuroendocrinology*, 7: 164, 1971.
2. Bahr JM, Kao I, & Nalbandov AV: The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biol Reprod*, 10: 273, 1974.
3. Burden HW: Ovarian innervation. In Jones RG: The vertebrate ovary. Comparative biology. Plenum Press, New York 1970, p 615.
4. Burden HW & Lawrence IR Jr: The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology*, 2:1: 368, 1977.
5. Ojeda SR, Smith-White S, Aguado LI, Ades JP & Anderson JM: Abdominal vasectomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology*, 36: 261, 1983.
6. Cruz ME, Chavez R & Dominguez R: Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Rev Invest Clin (Mex)*, 38: 167, 1986.
7. Bahr JM & Ben-Jonathan N: Proovulatory depletion of ovarian catecholamines in the rat. *Neuroendocrinology*, 10B: 1815, 1981.
8. Ben-Jonathan N, Draw RH, Laufer N, Bahr JM & Tsafiri A: Norepinephrin in antral follicles is depleted by follicle stimulating hormone. *Endocrinology*, 110: 457, 1982.
9. Aguado LI & Ojeda SR: Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*, 114: 1818, 1984.
10. Aguado LI & Ojeda SR: Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining proovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114: 1914, 1984.
11. Dominguez R & Zepeda D: Longterm effects of guanethidine administration on the ovulatory response of the rat. *IRCS Med Sci*, 8: 352, 1980.
12. Frances ES: Reversal by pargyline of reserpine blockade of induced ovulation. Direct ovarian effects. *Neuroendocrinology*, 9: 77, 1970.
13. Dominguez R, Gaitan GM, Quintanar JL & Mendez SA: Diferente respuesta de la ovulación inducida en rata prepuberal al bloquear beta-adrenergico antes de la administración de FSH o LH. *Soc Mex Nutric Endocr Libro de resúmenes*, 23: 71, 1983.
14. Hershfield AN & Mideley AR Jr: Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biol Reprod*, 19: 597, 1978.

Effects of unilateral section of the vagus nerve performed on each day of the oestrous cycle on oestrous cyclicity and ovulation

‡                    ‡                    #                    ‡  
R.Chávez, S.Sánchez, A.Ulloa-Aguirre and R.Domínguez

‡ Laboratory of Biology of Reproduction Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zaragoza UNAM AP 9-020, CP 15000 México DF, México

# Department of Biology of Reproduction. Instituto Nacional de la Nutrición "S.Zubirán". México.

Supported by CONACYT, grants PCSARNA 21424 and PCSACNA 50972 and Programa Universitario de Investigación Clínica UNAM

It was previously proposed that in the regulation of the hypothalamus-pituitary-ovary axis, the central nervous system (CNS) receives information on ovarian performance by two routes: afferent nervous pathways and the bloodstream (Dominguez & Riboni, 1971). On the other hand, the participation of the innervation of the ovary in the regulation of its function has been showed by various investigators (Bahr, Kao & Nalbandov, 1974; Burden, 1978, 1982; Gerandai, Marchetti, Manqeri et al. 1978).

The vagus nerve is one of the pathways proposed to be used by the CNS to send and receive information from the ovary (Mull, 1962; Burden, 1978; Djeda, Smith-White, Aguado et al. 1983; Cruz, Chavez & Dominguez, 1986; Chavez, Cruz & Dominguez, 1987). In the adult intact rat, bilateral section of the vagi nerves induced differences in the spontaneous ovulatory response by the right and left ovary (Cruz et al. 1986). In the hemispayed rat, the spontaneous ovulatory ability and compensatory ovarian hypertrophy depend of the remaining ovary and the integrity of the vagi nerves (Burden & Lawrence, 1977; Chavez et al. 1987).

There are several reports indicating that the responsiveness of the neuroendocrine mechanisms related to ovulation control varies along the oestrous cycle (Dominguez & Smith, 1974; Dominguez, Riboni, Zipitria & Revilla, 1982; Dominguez, Zipitria, Riboni & Revilla, 1985; Dominguez, Gaytan, Méndez & Ulloa-Aquirre, 1987). Also, the response of gonadotropin serum levels to acute hemispaying varies along the oestrous cycle (Dominguez, Morales, Flores & Ulloa-Aquirre, 1986).

Based on previous statements it was hypothesized that the influence of the vagi nerves on spontaneous ovulation presents lateralization, which varies along the oestrous cycle. To test this hypothesis, the effects of unilateral section of the vagus nerve on spontaneous ovulation performed on each day of the oestrous cycle, were studied.

#### MATERIALS AND METHODS

Adult (190-225 g) virgin rats of the C II Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water. Oestrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with 4-day cycles were used.

Animals in each day of the oestrous cycle were ether-anaesthetized, laparotomized and the left (anterior) or right (posterior) vagal trunk was cut (Cruz et al. 1986). An intact control and a laparotomized sham-operated (on each day of the oestrous cycle) group were also included. After surgery the animals were kept at rest for five days, and vaginal smears taken. All the animals were autopsied on the morning of the first day of

vaginal oestrus when it appeared between 25 to 35 days after surgery. Those animals which did not presented vaginal oestrus during this period were not included in the evaluation of the ovulation rate [12 in the sham group, 14 in those with left and 14 with right vagus nerve section]. A group of animals with unilateral section of the vagus nerve or sham operated at oestrus or dioestrus 1 were autopsied 96 h after surgery.

The animals were killed by decapitation, blood of the trunk collected, let coagulate 1 h at room temperature, centrifugate at 1000 g and the serum stored at -20 °C, until follicle-stimulating hormone by radioimmunoassay, using NIAMID reagents, was measured as previously (Dominguez et al.1987). The oviducts were dissected and ova counted using a dissecting microscope. The ovaries were dissected and weighed in a precision balance.

Data were analyzed by multifactorial analysis of variance, (MANOVA) Student's t test and Fisher's exact probability test.

### RESULTS

Oestrous cyclicity was modified by unilateral section of the vagus nerve and no differences between right and left section were observed. When the surgery was performed on oestrus or dioestrus 1, the alterations in the oestrus cycle were more drastic than when the section was on dioestrus 2 or pro-oestrus (table 1).

Ovulation rate (number of ovulating/ number of treated rats) diminished in those animals with left vagus sectioned, and it was not modified when the right vagus was severed. No differences were observed when the lesion was done on each day of the oestrous cycle (table 2). However, in those animals with right vagus nerve sectioned on oestrus ovulation rate was lower than those treated on dioestrus 1, 2 and pro-oestrus (5 out of 10 vs 20 out of 22,  $p < 0.05$ ). Also, when ovulation rate in rats with left vagus nerve section on dioestrus 1 and 2 is compared with right section in the same days, significant differences were observed (left section 13 out of 22 animals ovulated vs right section 15 out of 16,  $p < 0.05$ ). Such lateralization was not observed when the section of the nerve was done on oestrus or pro-oestrus.

No differences in the total number of ova shed and weight of the ovaries were induced by unilateral section of the vagus nerve. Differences in the ovulation ability by the left and right ovary, were observed in untouched control group (the left ovary released more ova than the right one). Such difference was abolished by surgery, since the number of ova shed by the left ovary diminished in all treated animals (table 3).

When the ovulatory ability of the animals was analyzed as a



function of the day of the cycle when surgery was performed, the section of the left vagus nerve on dioestrus 1 induced a significant diminution in the number of ova shed by the left ovary. Such modification was not observed by nerve cut performed on the other days of the oestrous cycle (table 4).

When the animals were treated on oestrus or dioestrus 1 and autopsied 96 h after surgery (next expected oestrus and dioestrus 1), ovulation was delayed by 24 h in those animals treated on dioestrus 1 (10 out of 16 animals ovulated vs zero out of 8 in sham operated group,  $p < 0.05$ ), while no differences were observed when the unilateral section of the vagus was performed on oestrus (12 out of 16 ovulated vs 7 out of 8 in sham operated, NS). No differences in the ovulation rate between those animals with left or right vagus nerve sectioned were observed. The number of ova shed diminished in those animals with section of the left vagus nerve performed on oestrus ( $4.6 \pm 0.8$  vs  $9.9 \pm 0.5$ ,  $p < 0.05$ ). The ovulation was particularly affected in the right ovary, since the mean of ova shed was  $0.6 \pm 0.6$ . The section of the left or right vagus nerve on dioestrus 1 did not affect the number of ova shed by ovulating animal.

No differences in the serum levels of FSH in animals autopsied on oestrus were observed.

#### DISCUSSION

Results presented herein are consistent with previous results from this laboratory showing that the unilateral section of the left vagus nerve diminishes the ovulation rate, while section of the right one does not (Cruz et al. 1986). According with Burden, Lawrence, Louise & Hodson (1981), bilateral section of the vagus nerve performed on metoestrus and oestrus induced more drastic changes in the oestrous cycle than the same section made on dioestrus or pro-oestrus. We obtained similar results when an unilateral section of the vagus nerve was performed. Since no differences between the section of the left or right vagus nerve were observed, it seems that both vagal trunks carry information necessary to keep normal ovarian function cyclicly, and the presence of one of them is not enough to compensate the lack of information carried by the other nerve.

The ovulatory ability of the ovary seems to depend on the presence of both vagi nerves. The lack of information carried by the left or right vagus nerve would be compensated by the other (Cruz et al. 1986). According with present results on dioestrus 1 the presence of the left vagus nerve is necessary for the left ovary to maintain a normal ovulatory process, while the right ovary keeps its ability to compensate ovulation.

In the hemispayed rat when the remaining ovary was the left one, its ovulatory ability was significantly lower than the right

ovary [Chavez et al. 1987]. Results presented herein add further support to the idea that the right and left ovary have different capacity of adaptation to neuroendocrine changes. The ovulatory adaptability of the left ovary seems to be significantly lower than the right one, and more dependent of the integrity of the information carried by the vagus nerves. This possibility is supported by the fact that in those animals with left vagus sectioned on oestrus the ovulation was significantly lowered in the right ovary, but it was recovered 20 days after.

Present results suggest the existence of differences in the participation of the vagus nerve on the regulation of ovarian function, along the oestrous cycle. The beginning of the oestrous cycle (oestrus and dioestrus 1) is more sensible to the changes induced by surgery and/or vagus nerve section than dioestrus 2 and pro-oestrus, both in oestrous cyclicity and ovulation rate.

In summary, present results add further support to the idea of peripheral lateralization on the neuroendocrine mechanisms regulating ovarian function, and to the differences between the days of the oestrous cycle.

#### Bibliography

- Bahr, J.M., Kao, J. & Naibandov, A.V. (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biology of Reproduction* 10, 273-290.
- Bakalkin, G.Y., Tsibezov, V.V., Sjutkin, E.A., Veselova, S.P., Novilov, I.D. and Krivosheev, O.G. Lateralization of LH-RH in the rat hypothalamus. *Brain Res.* 296 (1984): 361-364.
- Burden, H.W. (1978). Ovarian innervation. In *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology*, pp. 615-638. Ed. R.E. Jones. New York: Plenum Press
- Burden, H.W. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. In *Catecholamines as Hormone Regulators* pp. 261-277. Eds. N. Ben-Jonathan, J.M. Bahr & R.I. Weiner. New York: Raven Press
- Burden, H.W. & Lawrence, I.E. Jr. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23, 368-378
- Burden, H.W., Lawrence, I.E. Jr., Louis, T.M. & Hodson, C.A. (1981). Effects of abdominal vagotomy on the oestrous cycle of the rat and the induction of the pseudopregnancy. *Neuroendocrinology* 33, 218-222.

- Chávez, R., Cruz, M.E. & Domínguez, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113, 397-401.
- Cruz, M.E., Chávez, R. & Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagus nerves. *La Revista de Investigación Clínica* 38, 167-171.
- Domínguez, R., Baitán, C.M., Méndez, B.A. & Ulloa-Aguirre, A. (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology* 113, 37-44.
- Domínguez, R., Morales, I., Flores, A. & Ulloa-Aguirre, A. (1985). Modificaciones inducidas por la hemicastriación sobre la ovulación y los niveles plasmáticos de FSH, en ratas autopsiadas en el día del estro. XXV Meeting of the Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, Mazatlán, México, 4-7 December, 63.
- Domínguez, R. & Riboni, L. (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7, 164-170.
- Domínguez, R., Riboni, L., Zipitria, D. & Revilla, R. (1982) Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *Journal of Endocrinology* 95, 175-180.
- Domínguez, R. & Smith, E.R. (1974). Barbiturate blockade of ovulation on days other than proestrus in the rat. *Neuroendocrinology* 14, 212-223.
- Domínguez, R., Zipitria, D., Riboni, L. & Revilla, R. (1985). Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrous cycle of the rat. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research* 16, 63-72.
- Gerandai, I., Marchetti, B., Maugeri, J., Amico Roxas, M. & Scapagnini, V. (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA. *Neuroendocrinology* 27, 272-278.
- Hill, T.R. (1962). Paradoxical effects of ovarian secretion. In *The Ovary* pp.231-261. Ed. S.Zuckerman. New York: Academic Press
- Ojeda, S.R., Smith-White, G., Aguado, L.I., Advis, J.P. & Andersen, J.M. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36 261-267.

Table 1. Oestrous cyclicity (number of cyclic/number of treated rats) in animals with sham operation and subdiaphragmatic section of the left or right vagus nerve trunk, performed on each day of the oestrous cycle

Group	total	oestrus	dioestrus 1	dioestrus 2	pro-oestrus
sham	27/44	9/16	3/8	11/13	4/7
left vagus sectioned	19/61*	3/18*	0/17*	14/19	2/7
right vagus sectioned	19/46*	3/15*	0/8*	9/15	7/8*

\*  $p < 0.05$  vs sham (chi square test)

#  $p < 0.05$  vs left vagus sectioned on the same column (Fisher's test)

Table 2. Ovulation rate (number of ovulating/ number of treated rats) in animals with sham operation, and subdiaphragmatic section of the left or right vagus nerve trunk, autopsied on the oestrus day after 20 days of vagal section.

Group	total	oestrus	dioestrus 1	dioestrus 2	pro-oestrus
sham	28/32	9/11	6/8	6/6	7/7
left vagus sectioned	32/47#	10/15	6/11	7/11	9/10
right vagus sectioned	25/32	5/10	8/9	7/7	5/6

\*  $p < 0.05$  vs sham (chi square test)

Table 3. Mean±s.e.m. of the number of ova shed by right and left ovary and weight of the right and left ovary (mg/100 g) of control rats, and animals with sham operation, and subdiaphragmatic section of the left or right vagus nerve trunk autopsied on the oestrus day after 20 days of vagal section.

Group	ova shed by ovary		weight of the ovary	
	left	right	left	right
control	6.0±0.3	4.3±0.5*	12.8±0.4	12.8±0.3
sham	4.3±0.5*	5.0±0.4	13.9±0.5	13.6±0.6
left vagus sectioned	4.6±0.4*	4.9±0.5	12.2±0.4**	11.8±0.5**
right vagus sectioned	4.6±0.6*	4.5±0.5	14.4±0.6*	14.0±0.6*

\* p<0.05 vs left control (t test after ANOVA)

\*\* p<0.05 vs left sham (t test after ANOVA)

Table 4. Mean±s.e.m. of the number of ova shed (total and by left and right ovary) in control untouched (C) rats, and with sham operation (B) or subdiaphragmatic section of the left (L) or right (R) vagus nerve trunk, autopsied on oestrus day after 20 days of vagal section.

Group	Total							
	Oestrus		Dioestrus 1		Dioestrus 2		Pro-oestrus	
C	10.6±0.3							
B	7.1±0.7*		6.9±1.8		12.8±0.8*		8.7±1.9	
L	8.5±1.6		9.2±1.0		11.1±1.1		10.4±1.1	
R	8.6±1.1		8.9±1.6		11.0±0.9		7.4±1.7	
	By left and right ovary							
	Oestrus		Dioestrus 1		Dioestrus 2		Pro-oestrus	
	left	right	left	right	left	right	left	right
C	6.0±0.5	4.4±0.6						
B	3.4±0.7	3.7±0.6	3.4±1.2	3.4±1.1	5.0±0.8	7.8±0.7	3.6±1.5	5.1±0.9
L	4.3±0.6	4.2±1.0	3.2±0.9	6.0±0.8	6.1±0.5	5.0±0.8	5.7±0.6	4.8±1.0
R	3.6±1.1	4.8±1.4	4.4±1.2	4.5±0.7	5.6±0.7	5.4±0.6	4.4±2.1	3.0±1.1

\* p<0.05 vs control

# p<0.05 vs sham on oestrus (t test after ANOVA)

\*\* p<0.05 vs left ovary of the control group (Student's t test after MANOVA)

§ p<0.05 vs left ovary of the same group (Student's t test after MANOVA)

# Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary

R. Chávez, M. E. Cruz and R. Domínguez

Laboratory of Biology of Reproduction, Escuela Nacional de Estudios Profesionales-Zaragoza, UNAM, Apdo. Postal 9-020, C.P. 15000, Mexico D.F., Mexico

REVISID MANUSCRIPT RECEIVED 28 October 1986

## ABSTRACT

The possible existence of peripheral asymmetry in the neuroendocrine mechanisms participating in the response of the ovary to gonadotrophins, and the participation of the vagus nerve, was investigated. At oestrus, the ovulation rate (number of ovulating/number of treated rats) of the left ovary in right unilaterally ovariectomized rats was lower than that in the right ovary in left unilaterally ovariectomized rats (42 vs 84%). No differences in the number of ova shed per ovulating animal nor in compensatory ovarian hypertrophy (COH) were observed. Bilateral section of the vagus nerve resulted in reduced COH only in those animals with the left ovary *in situ* (right unilaterally ovariectomized). Section of the left vagus nerve

induced different effects depending upon which ovary was left *in situ*. When the left ovary was *in situ* an increase in ovulation rate, COH and number of ova shed was observed, however, when the right ovary was left in place the above three parameters decreased. Section of the right vagus nerve produced a decrease only in COH in both right and left unilaterally ovariectomized animals. It is concluded that in the unilaterally ovariectomized rat the right ovary seems more able to react to compensatory regulatory systems than does the left. The character of the information carried by the left and right vagus nerve is different.

*J. Endocr.* (1987) **113**, 397-401

## INTRODUCTION

A possible role of the vagus nerve in control of the action of gonadotrophins in the ovary has been suggested by several authors (Burden, 1978; Ojeda, Smith-White, Aguado *et al.* 1983; Cruz, Chávez & Domínguez, 1986). Bilateral vagotomy of prepubertal rats with normal serum levels of gonadotrophin produces an abnormality in the ability of the ovary to secrete androgens (Ojeda *et al.* 1983). In adult rats, bilateral or unilateral section of the vagus nerve does not interrupt the oestrous cycle; the number of ova shed, however, was found to increase in those animals with bilateral section of the vagus nerve (Cruz *et al.* 1986).

Burden & Lawrence (1977) have shown that bilateral section of the vagus nerve blocks the compensatory ovarian hypertrophy (COH) which occurs in unilaterally ovariectomized adult animals. They exhibit a decrease in plasma concentrations of follicle-stimulating hormone (FSH) during the first 5 h after

unilateral ovariectomy and vagotomy, but normal levels thereafter. Previous results from our laboratory have shown that the increase in plasma concentrations of FSH and luteinizing hormone (LH) which occurs after unilateral ovariectomy depends on the day of the oestrous cycle on which unilateral ovariectomy is performed (Domínguez, Morales, Flores & Ulloa-Aguirre, 1985; Morales, Flores, Ulloa-Aguirre & Domínguez, 1985).

Several workers have proposed the existence of central lateralization of the mechanism controlling COH in the rat (Nance, White & Moger, 1983; Fukuda, Yamanouchi, Nakano *et al.* 1984). Central lateralization seems to be different in prepubertal and adult animals (Nance *et al.* 1983). In adult rats, lesion of the right side of the hypothalamus blocked COH regardless of the side of unilateral ovariectomy (Fukuda *et al.* 1984).

Since COH does not seem to be related directly to increased plasma concentrations of gonadotrophins (Burden & Lawrence, 1977; Domínguez *et al.* 1985;

Morales *et al.* 1985), it was decided to study whether the lateralization proposed to act centrally by Nance *et al.* (1981) and Fukuda *et al.* (1984) also occurs peripherally. Also, the role of the vagus nerve was studied since the vagus nerve seems to modulate COH.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals

Adult (185–230 g) virgin rats of the C 11 Z-V strain from our own stock were maintained in conditions of controlled lighting (lights on from 05.00 to 19.00 h) with free access to food and tap water. Oestrous cycles were monitored by daily vaginal smears and only those animals with 4-day cycles were used. All animals were autopsied on the morning of the expected day of oestrus after three consecutive 4-day oestrous cycles.

### Vagotomy

Ether-anaesthetized animals were laparotomized, the liver was reflected, the oesophagus exposed and the anterior (left), posterior (right) or both vagal trunks were cut with fine forceps immediately below the diaphragm (Cruz *et al.* 1986).

### Unilateral ovariectomy

Rats were anaesthetized with ether, laparotomized and the left or right ovary was extirpated and weighed with a precision balance. In those groups in which section of the vagus nerve was performed, unilateral ovariectomy was carried out at the same time. An intact control and a laparotomized sham-operated group were also included.

After surgery the animals were kept at rest for 5 days and vaginal smears taken daily; the interval between unilateral ovariectomy, vagotomy and autopsy was 28–35 days in all groups.

The animals were grouped as follows: group 1, intact control; group 2, sham-operated; group 3, unilateral ovariectomy—right ovary extirpated; group 4, unilateral ovariectomy—right ovary extirpated—plus bilateral section of the vagus nerve; group 5, unilateral ovariectomy—right ovary extirpated—plus section of the left vagus nerve (ipsilateral to the *in-situ* ovary); group 6, unilateral ovariectomy—right ovary extirpated—plus section of the right vagus (contralateral to the *in-situ* ovary); group 7, unilateral ovariectomy—left ovary extirpated; group 8, unilateral ovariectomy—left ovary extirpated—plus bilateral section of the vagus nerve; group 9, unilateral ovariectomy—left ovary extirpated—plus section of the right vagus nerve (ipsilateral to the *in-situ* ovary); group 10, unilateral ovariectomy—left ovary

extirpated—plus section of the left vagus nerve (contralateral to the *in-situ* ovary).

All animals were killed by exsanguination under ether anaesthesia. Oviducts were dissected and ova counted using a dissecting microscope. The remaining ovary was removed, weighed and COH calculated as described previously (Dominguez & Riboni, 1977):  $COH = (\text{weight of the ovary } in\ situ / \text{weight of the ovary extirpated}) / (\text{weight of the ovary extirpated}) \times 100$ . All weights are expressed as mg/100 g body weight.

The cut vagal trunks were observed using a dissecting microscope to be sure that contact between the two ends had not occurred. Two animals in which contact had occurred were excluded. In three rats with bilateral section of the vagus nerve, selected at random, the lesioned area was dissected, fixed in Bouin's fluid, embedded in paraffin and serial sections (10  $\mu$ m thick) were stained with haematoxylin and eosin; completeness of the transection was corroborated histologically.

Data were analysed by analysis of variance, Student's *t*-test, Fisher's exact probability test or chi square test.

## RESULTS

No differences were observed in body weight nor in the feeding behaviour between animals with unilateral or bilateral section of the vagus nerve and controls. All unilaterally ovariectomized animals with or without section of the vagus nerve, as well as the sham-operated rats, recovered their oestrous cycles between 8 and 15 days after surgery.

Effects of bilateral or unilateral (ipsi- or contralateral) section of the vagus nerve on ovulation rate (number of ovulating/number of treated rats) in right or left unilaterally ovariectomized animals are shown in Table 1. The ovulation rate diminished in rats with the left ovary left *in situ* (right unilaterally ovariectomized) but was normal in those with the right ovary *in situ*. Bilateral section of the vagus nerve did not change the ovulation rate. When the left vagus nerve was sectioned, rats with the left ovary *in situ* (ipsilateral) exhibited a significant increase in ovulation rate. In those animals with the right ovary left *in situ* and with contralateral vagotomy, a decrease in ovulation rate was observed. Section of the right vagus nerve did not induce changes in either the right or left unilaterally ovariectomized animals.

Effects of bilateral or unilateral (ipsi- or contralateral) section of the vagus nerve on compensatory ovulation in unilaterally ovariectomized rats are shown in Table 2. Compensatory ovulation (an increase in the number of ova shed by an ovulating

TABLE 1. Ovulation rate (number of ovulating animals/number of rats treated) in right or left unilaterally ovariectomized rats with unilateral or bilateral section of the vagus nerve and autopsied on the day of oestrus after three consecutive 4-day oestrous cycles. Percentage ovulation rates are shown in parentheses

Group	Ovulation rate	
	Right ovary <i>in situ</i>	Left ovary <i>in situ</i>
Intact control	20/20 (100)	20/20 (100)
Sham-operated	16/20 (80)	16/20 (80)
Unilaterally ovariectomized	27/32 (84)	16/38 (42)*†
Unilaterally ovariectomized + bilateral vagotomy	6/8 (75)	3/11 (27)‡
Unilaterally ovariectomized + ipsilateral vagotomy	6/7 (86)	7/7 (100)‡
Unilaterally ovariectomized + contralateral vagotomy	2/8 (25)§	7/9 (78)

\* $P < 0.01$  compared with intact and sham-operated (chi square test).  
† $P < 0.01$  compared with the right ovary *in situ* (chi square test).  
‡ $P < 0.05$  compared with ipsilateral and contralateral group in the same column (Fisher's test).  
§ $P < 0.01$  compared with unilaterally ovariectomized group in the same column (chi square test).  
|| $P < 0.01$  compared with animals with the left ovary *in situ* (Fisher's test).

animal) was similar in both right or left unilaterally ovariectomized animals. Bilateral section of the vagus nerve did not provoke significant changes.

Section of the left vagus nerve induced an increase in the number of ova shed in those animals with the left ovary *in situ* (ipsilateral) and a profound change in those with the right ovary *in situ* (one rat shed ten ova and the other only one). No changes in the number of ova shed were induced by section of the right vagus nerve in either right or left unilaterally ovariectomized animals.

The percentage of COH was similar in both right and left unilaterally ovariectomized animals (Table 3). Bilateral vagotomy induced a decrease in COH in those animals with the left ovary in place, and no modification in those with the right ovary in place. Section of the right vagus nerve induced a decrease in the percentage of COH in both unilaterally ovariectomized groups. In contrast, rats with the left vagus nerve cut had an increase in the percentage of COH when the left ovary (ipsilateral) was in place, and a decrease with the right ovary in place.

A summary of the results for ovulation rate, compensatory ovulation and COH is presented in Table 4. Section of the left vagus nerve induced opposite effects on the left and right ovary (ipsi- and contra-

TABLE 2. Mean ( $\pm$  S.E.M.) number of ova shed/ovulating animal in right or left unilaterally ovariectomized rats with unilateral or bilateral section of the vagus nerve. Rats were autopsied on the day of oestrus after three consecutive 4-day oestrous cycles. Numbers of animals are given in parentheses

Group	Number of ova/ovulating rat	
	Right ovary <i>in situ</i>	Left ovary <i>in situ</i>
Intact control	4.8 $\pm$ 0.4 (20)	5.5 $\pm$ 0.6 (20)
Sham-operated	4.3 $\pm$ 0.7 (16)	6.1 $\pm$ 0.7 (16)
Unilaterally ovariectomized	8.0 $\pm$ 0.5 (27)	8.9 $\pm$ 0.7 (16)
Unilaterally ovariectomized + bilateral vagotomy	8.0 $\pm$ 1.8 (6)	10.3 $\pm$ 0.3 (3)
Unilaterally ovariectomized + ipsilateral vagotomy	7.8 $\pm$ 1.3 (6)*	11.6 $\pm$ 0.7 (7)†
Unilaterally ovariectomized + contralateral vagotomy	1.10 (2)	10.1 $\pm$ 0.5 (7)

\* $P < 0.01$  compared with group with the left ovary *in situ*.  
† $P < 0.01$  compared with unilaterally ovariectomized group in the same column (F-test).

TABLE 3. Percentage of compensatory ovarian hypertrophy (weight of the ovary *in situ* - weight of the ovary extirpated)/(weight of the ovary extirpated)  $\times$  100 in right or left unilaterally ovariectomized rats with unilateral or bilateral section of the vagus nerve. Rats were autopsied on the day of oestrus after three consecutive 4-day oestrous cycles

Group	Compensatory ovarian hypertrophy (%)	
	Right ovary <i>in situ</i>	Left ovary <i>in situ</i>
Unilaterally ovariectomized	50.8	44.6
Unilaterally ovariectomized + bilateral vagotomy	41.2	30.6*
Unilaterally ovariectomized + ipsilateral vagotomy	33.3**	67.3**
Unilaterally ovariectomized + contralateral vagotomy	38.2*	21.2**

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  compared with unilaterally ovariectomized group in the same column (chi square test).



TABLE 4. Summary of the results on ovulation rate (OR), compensatory ovulation (CO) and compensatory ovarian hypertrophy (COH) in right or left unilaterally ovariectomized rats with unilateral or bilateral section of the vagus nerve. Rats were autopsied on the day of oestrus after three consecutive 4-day oestrous cycles

Group	Right ovary <i>in situ</i>			Left ovary <i>in situ</i>		
	OR	CO	COH	OR	CO	COH
Bilateral vagotomy	normal	normal	normal	normal	normal	lower
Ipsilateral vagotomy	normal	normal	lower	higher	higher	higher
Contralateral vagotomy	lower	lower	lower	normal	normal	lower

lateral to the sectioned vagus nerve). However, when the right vagus nerve was cut the three parameters increased or decreased at the same time.

#### DISCUSSION

Results obtained in the present study add further support to the concept of lateralization of the neuroendocrine mechanisms controlling the responsiveness of the ovary to gonadotrophins, both at central (Nance *et al.* 1983; Fukuda *et al.* 1984) and peripheral levels.

These results confirm that bilateral section of the vagus nerve decreases COH (Burden & Lawrence, 1977). Such a blockade was observed only in those animals in which the right ovary was extirpated. When the right ovary was left *in situ*, section of both vagus nerves did not modify COH, however, ipsi- or contralateral section of vagus nerves reduced COH.

With the left ovary *in situ*, section of the ipsilateral vagus nerve induced an increase in the ovulation rate, number of ova shed and COH. These results can be interpreted as demonstrating an inhibitory modulatory effect by the left vagus nerve. It is possible that the right vagus nerve also carries modulatory information to the left ovary, since contralateral section of the vagus nerve partially inhibited COH, without any modification of ovulatory rate, or compensatory ovulation.

With the right ovary *in situ*, however, section of the ipsilateral vagus nerve induced partial inhibition of COH, suggesting that the right vagus nerve carries modulatory information to the right ovary. Since the contralateral section reduced ovulation rate, compensatory ovulation and COH, it is possible that the left vagi also carries stimulatory information to the right ovary. In the adult rat the effects of section of the right or left vagus nerve are different (Cruz *et al.* 1986).

In the adult rat, COH seems to be related to the existence of a normal right hypothalamus (Nance *et al.* 1983; Fukuda *et al.* 1984) which may correspond to

the differences in the concentration of gonadotrophin-releasing hormone observed between the right and left hypothalamus (Gierandai, Rotsyem, Marchetti & Scapanini, 1979; Bakalkin, Tsiberov, Sjutkin *et al.* 1984). Most of the studies on COH have been carried out regardless of the day of the oestrous cycle on which the animals were autopsied. From our results, it seems that the degree of COH and compensatory ovulation does not depend on which ovary is extirpated.

When the ovulation rate is considered, however, the presence of the right ovary seems to be very important. It also seems that more important than which vagus nerve is sectioned, is the ovary left *in situ*, since the ovulation rate depends on the ovary removed. The fact that removal of the right ovary resulted in a lower ovulation rate suggests that different information is provided by the left and right ovary to the central nervous system.

It is possible, therefore, that in the unilaterally ovariectomized animal the neuroendocrine systems controlling ovarian compensatory growth and ovulation are organized differently depending on whether the neural information arises from the left or right ovary and arrives at the left or right hypothalamus. The existence of direct pathways between the hypothalamus and the ovary is suggested by the results of Kawakami, Kubo, Uemura *et al.* (1981) and Kawakami (1983).

The present results suggest that in the unilaterally ovariectomized rat the right ovary is more capable of maintaining normal ovulation (almost all animals ovulated) than the left. The vagus nerve is one of the pathways between the ovary and the central nervous system and the character of the information carried by the left and right vagus nerve seems to be different.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a grant from CONACYT, PCSABNA 21424 and Program Universitário de Investigación Clínica, A.N.A.M., Mexico.

## REFERENCES

- Bakalyn, G. Y., Tisbezev, V. V., Sjutkin, E. A., Veselova, S. P., Novikov, I. D. & Krivosheev, G. G. (1984). Lateralization of LH-RH in rat hypothalamus. *Brain Research* **296**, 361-364.
- Burden, H. W. (1978). Ovarian innervation. In *The Vertebrate Ovary*. *Comparative Biology*, pp. 615-638. Ed. R. E. Jones. New York: Plenum Press.
- Burden, H. W. & Lawrence, I. E., Jr. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology* **23**, 368-378.
- Cruz, M. I., Chávez, R. & Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica* **38**, 167-171.
- Domínguez, R., Morales, L., Flores, A. & Ulloa-Aguirre, A. (1985). Modificaciones inducidas por la hemicastración sobre la ovulación y los niveles plasmáticos de FSH en ratas autoperiadas en el día de estrus. *XXV Meeting of the Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología*, Mazatlán, Mexico, 4-7 December, 63.
- Domínguez, R. & Riboni, I. (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* **7**, 164-170.
- Fukuda, M., Yamamoto, K., Nakano, Y., Furuya, H. & Arai, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotrophic function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* **51**, 365-370.
- Garandhi, I., Rosystein, W., Marchetti, B. & Scapanus, U. (1979). LH-RH content change in the medio basal hypothalamus after unilateral ovariectomy in *Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*, *Proceedings of Serrano Symposia*, vol. 19, pp. 97-102. Eds A. Polleri & R. MacLeod. New York: Academic Press.
- Kawakami, M. (1981). Interactions of spino-medullary ascending neural system and forebrain hypothalamic structures in regulating gonadotropin release in female rats. *Acta Morphologica Hungarica* **31**, 117-136.
- Kawakami, M., Kubo, K., Uemura, T., Nagae, M. & Hayashi, R. (1981). Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. *Endocrinology* **109**, 136-143.
- Morales, L., Flores, A., Ulloa-Aguirre, A. & Domínguez, R. (1985). Modificaciones de los niveles de FSH y LH inducidos por la hemicastración en los distintos días del ciclo estral. *XXV Meeting of the Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas*, Puebla, Mexico, 11-17 August, 29C.
- Nanco, D. W., White, J. P. & Moger, W. H. (1983). Neural regulation of the ovary: evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin* **10**, 353-355.
- Ojeda, S. R., Smith-White, S., Aguado, I. J., Advis, J. P. & Anderson, J. M. (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* **36**, 261-267.

1987

Editorial

Editorial

Volume 1, Number 1  
January 1987  
Page 1-20

Dr. R. Chavez Genaro,  
Laboratorio de Biología de  
la Reproducción,  
E.N.E.P. Zaragoza,  
A.P. 0-020, C.P. 15000,  
Mexico D.F., Mexico

1987

Reference

1987

1. Ovarian and compensatory ovarian hypertrophy response to gonadotropin  
effects on the vagus nerve and catecholaminergic ovarian innervation

Dear Dra Chavez Genaro,

I am pleased to advise you that your paper has been accepted for publication in *Medical Science Research*.

Your paper will appear in the full edition of the journal and in the relevant specialist sections. It will bear the same volume and page number in all the sections in which it appears, and should therefore always be cited simply in the form *Med. Sci. Res.* followed by the volume and page number.

If you have already ordered and paid for reprints of your paper the reprints will be despatched shortly. If you would like to receive reprints and have not yet ordered them please use the enclosed form. Please note that reprints cannot be despatched before we receive payment or an institutional purchase order.

Please complete and return the Copyright Transfer Form overleaf.  
Your paper will appear in one of the December 1987 issues.

Yours sincerely,



Dr S Johnson,  
Editor

Ovulation and compensatory ovarian hypertrophy response to gonadotropins depends on the vagus nerve and catecholaminergic ovarian innervation

Rebeca Chávez, Ma. Esther Cruz and Roberto Domínguez

Laboratorio de Biología de la Reproducción,  
Escuela Nacional de Estudios Profesionales Zeregozo, Universidad  
Nacional Autónoma de México, AP 9-020, CP 15000 México, D.F.

In unilaterally ovariectomized animals (HOV), the compensatory ovarian hypertrophy (COH) and compensatory ovulation do not depend on the increase in circulating levels of gonadotrophins, and there are some indications that to accomplish it is necessary the integrity of the vagus nerves [1, 2]. It has also been shown that bilateral vagotomy (BV) or catecholaminergic blockade by reserpine administration modify the reactivity of the ovaries to exogenous gonadotrophins [3, 4]. Since the effects of unilateral or bilateral vagotomy on ovulation have been different [2, 3], it was decided to study the reactivity of the left ovary to the sequential administration of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) in HOV with or without bilateral section of the vagus nerve. In addition, since catecholamines also modify the reactivity of the ovaries to FSH and LH, their participation was also evaluated through the administration of reserpine before FSH or LH as previously reported [4].

**Material and methods:** Adult virgin female rats from the C II 7-V strain of our own laboratory, maintained under controlled lighting conditions (lights on from 05.00 to 19.00), with free access to food and tap water were used. The right ovary was extirpated and weighed in a precision balance. In some animals, a BV was performed under ether anaesthesia as previously described [3]. Twenty days after surgery, those animals in dioestrus I (with or without BV) were treated with 45 i.u. of ovine follicle stimulating hormone (FSH), 56 h later with 30 i.u. of luteinizing hormone (LH) and were autopsied 20 h later. A group of rats (with or without BV) were injected with reserpine (1 mg/kg, s.c) 3 h before they were treated with FSH (in dioestrus I) or LH (on the expected prooestrus day, 53 h after

they received FSH). The animals were killed by bleeding under ether anaesthesia; at autopsy, the ovarian tubes were dissected and ova count performed; the remanent ovary was dissected, weighed and COH was calculated as previously described (2).

$$\text{COH} = \frac{(\text{weight of the left ovary} - \text{weight of the right ovary})}{(\text{weight of the right ovary})} \times 100$$

Ova count results were analyzed by analysis of variance and Student's *t* test, ovulation rate by Chi square test or Fisher's exact probability test, and degree of COH by U Mann-Whitney test.

**Results and discussion:** Table I shows the results obtained from the parameters evaluated. Ovulation rate (number of ovulating animals/number of treated animals) decreased in those groups of animals with BV or with catecholaminergic blockade produced by reserpine administration before FSH or LH. However, when reserpine was injected prior to the administration of FSH or LH in BV animals, such diminution in ovulation rate was not observed. In rats with both ovaries, BV or reserpine administration did not modify the ovulation rate in those animals treated with FSH and LH (3, 4). The number of ova shed diminished in all the groups with ovarian denervation when compared with IOV animals treated with FSH-LH. The differences were significant only in those animals with BV or with BV treated with reserpine before LH. The increase in the number of ova shed in rats with both ovaries treated with reserpine before FSH (4), was not observed in IOV animals. Since it has been shown that unilateral ovariectomy induces changes in the hypothalamus (5), our results suggest that the catecholaminergic blockade effects on FSH actions would partially depend on the integrity of the hypothalamus. The percentage of COH in animals treated with

FSH-IH was significantly increased by RU, in contrast to the effects on IOV animals without hormone injection where a significant diminution has been described (11, 21). Since in the animals injected with gonadotrophins, catecholaminergic blockade did not modify the changes in OOH as observed, both in IOV animals or in those with RU, it is possible that the acute depletion of catecholamines does not affect the ability of the ovary to respond to exogenous gonadotrophins by increasing its weight. In addition, other parameters such as capacity of ovulation and number of ova shed were modified by reserpine treatment.

The results observed in IOV animals add further support to the hypotheses that unilateral ovariectomy alters the sensitivity of the hypothalamus-pituitary-ovarian axis and that the catecholamines and vagal innervation have participate differently in its regulation depending on the parameter under study.

1. Burden, H.W. and Lawrence, L.D. (1977) *Neuroendocrinology*, 23, 368-378
2. Chávez, R., Cruz, M.E. and Domínguez, R. (1987). *J. Endocrinol.*, 113, 397-401
3. Cruz, M.E., Chávez, R. and Domínguez, R. (1986). *Rev. Inv. Clin.*, 28, 167-171
4. Chávez, R., Cruz, M.E. and Domínguez, R. (1987). *Rev. Inv. Clin.*, 29, 149-153
5. Garandai, I. (1980) *Neuroendocrinol. Letters* 2, 39

Table 1 Oviposition rate (number of ovulating animals/number of treated ones), mean  $\pm$  sem of the number of ova shed/ovulating animal and the degree of compensatory ovarian hypertrophy of unilaterally ovariectomized rats (OIV) with or without bilateral vagotomy (BV), treated with follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH), injected or not with reserpine (RSP 1 mg/kg) before FSH or LH.

Group	Oviposition rate	Number of ova shed	Degree of COH (%)
OIV + FSH-LH	15/16	12.2 $\pm$ 1.3	121 $\pm$ 15.1
OIV + BV FSH-LH	<sup>a</sup> 6/11	<sup>c</sup> 4.2 $\pm$ 1.1	<sup>d</sup> 162 $\pm$ 12.2
OIV + RSP + FSH-LH	<sup>a</sup> 15/30	8.7 $\pm$ 1.3	129 $\pm$ 16.8
OIV + FSH- RSP-LH	<sup>a</sup> 4/10	7.5 $\pm$ 2.9	106 $\pm$ 16.8
OIV + BV + RSP FSH-LH	5/6	8.4 $\pm$ 1.4	161 $\pm$ 20.1
OIV + BV + FSH + RSP-LH	6/8	<sup>b</sup> 7.0 $\pm$ 1.7	<sup>d</sup> 185 $\pm$ 29.9

In comparison with OIV + FSH-LH group p (<: a 0.05 (chi squared test and Fisher's exact probability test); b 0.05 ( $\bar{t}$  test); c 0.01 ( $\bar{t}$  test); d 0.01 (II Mann-Whitney test).