

2  
29



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES  
UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES  
Y DE POSGRADO**

**PARTICIPACION DE LA INERVACION AFERENTE  
AL OVARIO EN LA REGULACION DEL  
CRECIMIENTO FOLICULAR Y LA OVULACION.  
LA RATA ADULTA COMO MODELO DE ESTUDIO.**

**TESIS CON  
FALSA DE ORIGEN**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS  
P R E S E N T A :  
REBECA CHAVEZ GENARO**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS**



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

## **INDICE**

<b>Indice</b>	<b>2</b>
<b>Resumen</b>	<b>3</b>
<b>Abstract</b>	<b>5</b>
<b>Introducción</b>	<b>7</b>
<b>Marco Teórico</b>	<b>8</b>
<b>Descripción anatómica de la inervación del ovario</b>	
<b>Estudios sobre la función de los nervios ováricos</b>	
<b>Control vascular del ovario</b>	
<b>Regulación de la actividad cíclica del ovario y la secreción de esteroides ováricos</b>	
<b>Modulación de la acción de las gonadotropinas sobre el ovario, el crecimiento folicular, la ovulación y el proceso de atresia</b>	
<b>Conducción de impulsos</b>	
<b>Modulación del proceso de hipertrofia compensadora</b>	
<b>Transmisión de información entre el ovario y el sistema nervioso central</b>	
<b>Hipótesis y Objetivos</b>	<b>25</b>
<b>Materiales y Método</b>	<b>26</b>
<b>Resultados</b>	<b>36</b>
<b>Discusión</b>	<b>66</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>78</b>
<b>Perspectivas</b>	<b>80</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>82</b>

## RESUMEN

La regulación de la función del ovario resulta de la interacción de los efectos de las gonadotropinas las hormonas del propio ovario y la información neural que llega. Existen evidencias de que la participación de la inervación presenta características diferenciales entre el ovario derecho e izquierdo, las cuales varían durante el ciclo estral. En este trabajo se analizó la participación de la información que llega al ovario vía del nervio ovárico superior, sobre la regulación del crecimiento folicular y la ovulación.

A ratas hembras cíclicas de la cepa CIIZ-V enteras o hemicastradas se les seccionó el nervio ovárico superior izquierdo, derecho o ambos. Un día después de realizada la denervación se reinició la toma de frotis vaginales. Los animales fueron autopsiados en el siguiente estro vaginal después de la denervación o en el primer estro vaginal 20 días después de realizada la sección del nervio. Se contó el número de ovocitos liberado, los ovarios fueron pesados, fijados en líquido de Bouin e incluidos en parafina y cortados a 10µm; en los cortes se realizó el estudio de la población folicular. Otros lotes de animales denervados fueron sometidos a una prueba de ovulación inducida o puestos a copular con machos de fertilidad probada; los animales preñados fueron sacrificados en el día 16 de gestación.

La tasa de animales ovulantes disminuyó a consecuencia de la sección del nervio ovárico superior. En los animales autopsiados en el primer estro vaginal después de la denervación, la disminución de la tasa de animales ovulantes estuvo acompañada por aumento de peso de los ovarios. En los animales con sección del nervio ovárico superior derecho o de ambos nervios disminuyó el número de folículos contados. En los animales sacrificados 20 días después de la denervación, disminuyó la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberado y aumentó el porcentaje de folículos atresícos.

En los animales hemicastrados, el proceso de hipertrofia compensadora del ovario dependió del día del ciclo en que se realizó la hemicastación y de la gónada eliminada. La sección del nervio ovárico superior no modificó la ovulación compensadora e incrementó el porcentaje de hipertrofia alcanzada por la gónada remanente.

El ovario denervado no aumentó su respuesta ovulatoria luego de ser estimulados con hCG. Los animales fueron fértiles, pero el número de fetos implantados en el cuerno uterino adyacente al ovario denervado fue menor.

Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que la información que llega al ovario vía del nervio ovárico superior, modula de manera estimulatoria y lateralizada la ovulación espontánea. Además que la inervación modula la respuesta del ovario a las gonadotropinas, y que la respuesta del ovario derecho frente a una denervación es diferente a la del izquierdo.

## ABSTRACT

The regulation of ovarian function results from the interactions between gonadotropins, ovarian hormones and neural information. Several evidences indicate that modulatory effects of innervation on ovarian function vary during the oestrus cycle, and seem to be asymmetric. Present study was designed to analyse the effects of unilateral and bilateral section of the superior ovarian nerve on ovulation and follicular growth in the adult rat.

The left, right or both superior ovarian nerve were severed in normal and hemiovariectomized cyclic female rats of C1F1Z-V strain. Rats were killed by decapitation on the day of the first vaginal oestrus after denervation, or on the first day of vaginal oestrus 20 days after surgery. At autopsy the number of ova shed were counted and the weight of the ovaries was recorded. The ovaries were fixed in Bouin's fluid, embedded in paraffin, sectioned at 10  $\mu$ m, and the follicular population was analyzed. In another experiment, rats with unilateral and bilateral section of the superior ovarian nerve were injected with hCG or kept with males until mating. The pregnant rats were killed within 16 days of pregnancy.

Ovulation rate diminished in rats with unilateral or bilateral section of the superior ovarian nerve. In the animals autopsied on the day of the first vaginal estrus after section, this effect was accompanied by increase of ovarian weight. The number of follicles counted in the ovary diminished in those animals with section of the right or both nerves. Ovulation rate and number of ova shed diminished 20 days after denervation, while the number of atretic follicles was higher than in the control group.

Compensatory ovarian hypertrophy depended on the day of the cycle when the ovary was removed and of the ovary extirpated, and increased when the superior ovarian nerve was sectioned. Compensatory ovulation was not modified by nerve sectioning.

The number of ova shed by the denervated ovary was not increased when the animals were injected with hCG. Fertility was normal, but the number of implanted fetuses was lower in the uterus ipsilateral to the superior ovarian nerve sectioned.

Based on these results, we postulate that the superior ovarian nerve modulates spontaneous ovulation in a stimulatory and lateralized way, that innervation modulates the reactivity of the ovary to gonadotropins, and that the reactivity of right and left ovaries to denervation is different.

## INTRODUCCION

Estudios previos realizados desde 1891 mostraron la presencia de nervios intraováricos no sólo en el lecho vascular, sino también en la pared de los folículos ováricos. Sin embargo, es hasta 1949 cuando Hill plantea la posibilidad de que dicha inervación participe en la regulación de la función de la gónada. Diversos estudios experimentales apoyan esta sugerencia e indican que los mecanismos neuroendócrinos que modulan la función del ovario presentan asimetría central y periférica (3, 7, 15, 32, 51).

La asimetría de los mecanismos neuroendócrinos se observa con mayor facilidad en los animales a los que se les extirpa una gónada, no obstante, en la rata hembra adulta el número de ovocitos liberado por el ovario izquierdo es diferente del que se observa en el derecho.

Con base en estos antecedentes decidimos estudiar la participación de la inervación aferente al ovario (vía el nervio ovárico superior), en la regulación del crecimiento folicular y la ovulación y si estos procesos tienen características neuroendócrinas diferentes en el ovario derecho e izquierdo que dependan del ambiente hormonal y nervioso del animal en estudio.

## MARCO TEORICO

La inervación del ovario y del sistema reproductor femenino de los mamíferos ha sido estudiada desde hace más de un siglo. Estudios anatómicos, histológicos e histoquímicos muestran que el ovario está inervado por componentes simpáticos, parasimpáticos y peptidérgicos del sistema nervioso autónomo, los cuales derivan del plexo ovárico, del nervio ovárico superior y del nervio vago (8, 14, 52, 61).

El plexo ovárico es una rama de los plexos aórtico y renal. Está formado por axones adrenérgicos, embebidos en una matriz colágena que reviste a la arteria y vena ováricas. Muchos de los paquetes de fibras nerviosas que se encuentran en este plexo derivan del ganglio ovárico y del ganglio del plexo renal, cerca del origen de la arteria ovárica. Sólo un pequeño porcentaje de fibras (5%) está mielinizado, el resto corresponde a fibras no mielinizadas. El plexo ovárico inerva a los oviductos, al ligamento ancho y al ovario; en el ligamento ancho se comunica con fibras del plexo uterino y de esta forma inerva al útero. Las fibras aferentes que inervan al ovario son componentes de T10, mientras que las que inervan a los oviductos corresponden a T11-12 y L1 (61, 62, 74).

El nervio Ovárico Superior es una rama del plexo celíaco que transita por el borde del ligamento suspensorio, ligamento muscular que ocupa un pliegue en el peritoneo y que se inserta cranealmente cerca del lado ventral de la última

costilla, inerva al ovario y al oviducto y más caudalmente a la musculatura del útero. El nervio ovárico superior posee una cubierta de peritoneo y aproximadamente 200 axones no mielinizados embebidos en una fina matriz de tejido conectivo. Los axones mielinizados son más frecuentes en el plexo ovárico que en los nervios del ligamento suspensorio (62, 74).

La inervación parasimpática que recibe el ovario proviene del nervio vago y de los niveles S2-S4 de la médula espinal, vía del plexo hipogástrico. El uso de técnicas de trazado retrógrado muestra que el soma de las neuronas de los nervios que inervan al ovario y que provienen del nervio vago, se localizan en el ganglio nodoso y en las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T10 a L2, lo que permite sugerir que parte de los nervios ováricos, especialmente los parasimpáticos, son de naturaleza sensorial (18).

#### Distribución de la inervación. aspectos histoquímicos.

Los paquetes de fibras nerviosas que llegan al ovario penetran al estroma ovárico junto con los vasos sanguíneos, donde los grandes paquetes vasculares y nerviosos se ramifican y riegan e inervan al estroma intersticial adyacente. En algunas especies, el plexo nervioso se halla en estrecha relación con los folículos primordiales y en crecimiento, pero nunca penetran a la capa granulosa de los

folículos, ni tampoco al cuerpo lúteo (13, 15). Las células del músculo liso en la teca externa de los folículos maduros están inervadas por fibras adrenérgicas formando un complejo neuromuscular (13).

Diversos estudios histoquímicos muestran que los nervios que derivan del plexo ovárico son perivasculares, en tanto que los provenientes del nervio ovárico superior inervan a los vasos sanguíneos y a las células productoras de esteroides en la glándula intersticial (6, 31, 62).

El patrón de distribución de la inervación adrenérgica del ovario es similar en las diferentes especies de mamíferos estudiadas, aunque la intensidad de fluorescencia y la densidad de fibras adrenérgicas varía entre ellas (54, 72, 83). Así, los ovarios de la gata, la cobaya, la oveja y la vaca reciben gran cantidad de fibras adrenérgicas, mientras que el ovario de la ratona, y de la coneja presentan inervación simpática dispersa (13, 54, 72). Los estudios acerca del contenido del neurotransmisor y las fibras que inervan al ovario, muestran una estrecha correlación entre la densidad de los nervios adrenérgicos y el contenido ovárico de noradrenalina (54, 82).

El ovario de los mamíferos contiene además axones acetilcolinesterasa positivos (12, 14). El patrón de distribución de estas fibras es semejante al de las fibras adrenérgicas, pero su número es menor (12, 20). En el ovario de la mona, las fibras nerviosas son butirilcolinesterasas

positivas y rodean a los folículos. Estas fibras aumentan en densidad y complejidad a medida que los folículos aumentan en tamaño; los folículos preovulatorios están inervados en la teca externa, con finas ramificaciones hacia la teca interna. No existe evidencia de que las fibras nerviosas penetren a la capa de células de la granulosa (12).

Estudios recientes muestran que en el ovario, además de las fibras adrenérgicas y acetilcolinesterasa positivas, se localizan fibras peptidérgicas que contienen sustancia P y péptido intestinal vasoactivo (VIP), las cuales inervan la vasculatura del ovario, el tejido intersticial y las tecas de los folículos en desarrollo, pero no el cuerpo lúteo. Las fibras que contienen sustancia P son fundamentalmente perivasculares, mientras que las que contienen VIP predominan en el tejido intersticial del ovario (6, 31).

#### **Aspectos funcionales.**

La amplia distribución de los nervios intraováricos y su estrecha relación con el lecho vascular del órgano, con las células tecales del folículo y las de la glándula intersticial, han motivado numerosas investigaciones que sugieren que la inervación del ovario se relaciona con: el control del flujo sanguíneo del ovario, la regulación de la actividad cíclica del ovario y de la esteroidogénesis ovárica, la modulación de la acción de las gonadotropinas

sobre el ovario, la actividad contráctil de la musculatura lisa, la modulación del proceso de la hipertrofia compensadora, y la transmisión de información entre el ovario y el sistema nervioso central; los cuáles serán abordados a continuación.

#### **Control del flujo sanguíneo**

El ovario de los mamíferos es uno de los órganos más vascularizados del cuerpo. Diversos estudios experimentales han fracasado en demostrar alguna correlación funcional entre la vascularización y la inervación ovárica, ya que ni la sección, ni la ligadura de las arterias ováricas y los nervios accesorios afectan el abastecimiento sanguíneo. Tales resultados parecen deberse a la gran cantidad de anastomosis arteriales entre la arteria uterina y las ováricas (3, 34, 52).

No obstante, se sabe que cercano al momento de la ovulación los capilares que se hallan alrededor del folículo preovulatorio son más prominentes, adquieren una apariencia sinusoidal e invaden a las capas de células de la granulosa (36). Además, la infusión de noradrenalina en la arteria ovárica provoca vasoconstricción, cuyo grado depende de la dosis (46, 69, 70).

Se ha postulado que los cambios selectivos en el flujo sanguíneo que abastece a los folículos y otras regiones del

ovario, como el cuerpo lúteo, podrían modificar las funciones de la gónada, debido a variaciones en las cantidades de hormonas que le lleguen (49, 80, 85). Así pues, aunque no se conoce con certeza la participación de la inervación en el control del flujo sanguíneo ovárico, si se sabe que las catecolaminas son uno de los elementos que modulan su irrigación.

#### **Regulación de la actividad cíclica del ovario y la esteroidogénesis ovárica**

La literatura acerca del papel fisiológico de los nervios ováricos en la regulación de la actividad cíclica de la gónada es confusa. En la ratona o la rata, la sección transtorácica de los nervios vagos modifica significativamente el ciclo estral de los animales en estudio; en cambio, cuando la vagotomía se realiza a nivel subdiafragmático, el patrón de ciclicidad se modifica dependiendo de si la vagotomía es unilateral o bilateral y del día del ciclo en que se seccionen los nervios (5, 19, 30, 57). A diferencia de lo que ocurre en los roedores, en el mandril, sin embargo, esta sección no modifica significativamente su ciclo menstrual, ni el tiempo de gestación (64).

Por otra parte, en la rata o en la ratona la administración de 6-hidroxiopamina (6-OHDA), neurotóxico que

provoca la destrucción selectiva de las terminales nerviosas noradrenérgicas, no altera el ciclo estral, mientras que en la rata, la administración crónica de guanetidina, substancia que reduce las concentraciones de catecolaminas periféricas, modifica el patrón de ciclo estral y los frotis vaginales se caracterizan por la presencia de periodos prolongados de diestro (7, 21, 65). Otros investigadores indican también, que el sistema adrenérgico del ovario es necesario para mantener el ciclo ovárico normal, y que en el criseto la inyección de 6-OHDA modifica el ciclo estral (42). Además de la sugerencia de la participación de la inervación en la regulación de la actividad cíclica de la gónada, se ha propuesto que la inervación del ovario modula el control de la secreción de hormonas esteroideas. Así se sabe que la sección del nervio ovárico superior en el diestro 1 o su estimulación en el día del proestro provoca disminución de la concentración de progesterona (1, 2, 88). Estudios *in vivo* muestran sin embargo, que la concentración de esteroides secretados por el ovario puede también reducirse por la inyección intrafolicular de fentolamina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico) y no se altera por el uso de propranolol y de dicloroisoproterenol (agentes bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos) (8).

Estudios *in vitro* en los que se utilizan células del cuerpo lúteo de bovinos muestran que la adición de agonistas  $\beta$ -adrenérgicos estimula la síntesis de progesterona, mientras

que su síntesis es inhibida por el uso de bloqueadores  $\beta$ -adrenérgicos. Dado que el cuerpo lúteo no recibe inervación adrenérgica, los autores sugieren que esta estructura posee el sistema enzimático necesario para la síntesis de catecolaminas (22). Los resultados permiten sugerir que las fibras simpáticas del ovario modulan la producción y secreción de esteroides ováricos, y que los receptores de tipo  $\alpha$ -adrenérgicos actúan de forma inhibitoria, mientras que los  $\beta$ -adrenérgicos son estimulantes (1, 88, 91, 92).

En la rata preñada, la eliminación de la inervación adrenérgica y colinérgica del ovario provocada por la sección del ligamento suspensorio y del mes ovario (pliegue del ligamento ancho que sujeta al ovario), o por la administración de 6-OHDA, reduce la actividad de la 3-beta-ol-hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -HSD) en la glándula intersticial y en el cuerpo lúteo; lo que a su vez se traduce en bajas concentraciones de progesterona ovárica y plasmática. Además, en la rata macho castrada, la vagotomía suprime el aumento de las concentraciones séricas de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH), un día después de que se han eliminado los testículos; sin embargo, en la rata hembra la vagotomía no impide la liberación preovulatoria de estas gonadotropinas (4, 5, 30).

Estos resultados y otras evidencias experimentales obtenidas por el mismo grupo de investigación, permiten

sugerir a los autores que los nervios ováricos ejerzan una función dual: modulando la secreción de gonadotropinas vía el hipotálamo y la hipófisis, y regulando la secreción de esteroides ovárico por medio de las terminales nerviosas que se encuentran cerca de las células productoras de estas hormonas ováricas (63).

#### **Modulación de la acción de las gonadotropinas sobre el ovario.**

Estudios anatómicos e histoquímicos muestran que los nervios ováricos se encuentran en estrecha relación con las células de la teca de los folículos (13). En cuanto a su función, se sugiere que la inervación modula la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas y que además participa en la selección de los folículos que inician su crecimiento, así como en los procesos de ovulación y atresia.

La sección transtorácica de ambos nervios vagos, además de interrumpir la ciclicidad de la rata (5, 19, 30), aumenta el número de cuerpos lúteos en el ovario, y parece reducir el porcentaje de folículos con antró, respecto a los que se pueden observar en el ovario de un animal testigo (52). En cambio la sección subdiafragmática de uno de los nervios vagos aumenta el número de folículos preovulatorios en ambos ovarios; este aumento es mayor para el ovario inervado que para el no inervado (23). El número de ovocitos liberado en

el grupo de animales a los que se les secciona el nervio vago izquierdo es semejante al encontrado en el grupo de animales testigo, mientras que en aquellos en que se eliminan ambos nervios vagos el número de ovocitos liberado es mayor (23).

En el ratón, la sección unilateral del mesovario disminuye significativamente el número de folículos maduros en el ovario en que se elimina la inervación. Estos efectos son acentuados por la administración de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG) y de gonadotropina coriónica humana (hCG), mientras que el ovario intacto es estimulado de forma normal (11). Además, si en la ratona prepúber se secciona el nervio ovárico superior y al mismo tiempo se elimina la hipófisis, la tasa de incorporación de timidina marcada en los folículos de tamaño pequeño y grande se reducen. Los resultados pueden ser invertidos si se administra noradrenalina 3 horas antes de que se aplique el marcador. Estos datos son interpretados como indicadores de que la noradrenalina modula el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos (51). Otros resultados muestran que la administración de PMSG disminuye significativamente la concentración de catecolaminas ováricas y permiten sugerir que en el animal adulto las concentraciones de noradrenalina en los folículos preovulatorios dependen de las concentraciones de FSH (9, 10). A diferencia de lo que ocurre en el animal adulto, en la rata prepúber, la sección del nervio ovárico superior no modifica la ovulación inducida

por la administración de PMSG (81).

El estudio de la participación de la inervación en la regulación de la función del ovario, ha sido también abordado utilizando drogas o fármacos que modifican la funcionalidad de la inervación. Los resultados indican que en la cobaya prepúber la simpatectomía local, provocada por la administración de 6-OHDA en el día 20 de edad, disminuye el número de folículos preantrales, incrementa el índice de atresia en los de tamaño mediano (310- 500  $\mu\text{m}$ ); y estimula el crecimiento de los folículos que alcanzan un diámetro igual o mayor a 700  $\mu\text{m}$  al día 28 de edad. El aumento del número de folículos sanos mayores de 700  $\mu\text{m}$  permite sugerir a los autores que la inervación adrenérgica ejerce un papel inhibitorio sobre el desarrollo de los folículos antrales y que la influencia de los nervios sobre el desarrollo folicular varía con el tamaño del folículo (27). Otros autores han también observado que la simpatectomía química causada por la administración de guanetidina provoca aumento del número de folículos medianos (7).

La ovulación puede ser bloqueada por la inyección intrafolicular de dibenzilina (bloqueador  $\alpha$ -adrenérgico) o de alfa metil-tirosina (inhibidor de la síntesis de catecolaminas), siempre y cuando los fármacos sean inyectados entre 14 y 15 horas antes de la expulsión del ovocito. Estos resultados indican que las catecolaminas participan en algunos eventos bioquímicos indispensables para que se lleve

a cabo la ovulación (8).

#### **Actividad contráctil**

Las células de la teca externa de los folículos ováricos de los mamíferos están rodeadas por terminales nerviosas adrenérgicas, las cuales se supone controlan la actividad contráctil de la pared folicular (54, 67, 87). Los ovarios de la coneja, la gata y la cuya presentan contracciones "espontáneas", cuya frecuencia aumenta por la administración de la noradrenalina o de adrenalina; el uso de agonistas  $\beta$ -adrenérgicos como el isoproterenol reducen o suprimen la frecuencia de contracción (8, 78).

En general, se considera que los nervios autónomos del ovario facilitan la ovulación y en la rata se ha mostrado que tanto el número de contracciones como su magnitud, son mayores durante el intervalo preovulatorio que durante el proestro temprano y el diestro. Además, durante el estro o el proestro tardío el ovario izquierdo muestra una actividad contráctil mucho mayor que la del ovario derecho (84, 86). La contractilidad del ovario, en respuesta a la administración de noradrenalina durante el proestro temprano, se inhibe cerca del momento de la ovulación, estos datos son interpretados como una prueba de que las catecolaminas pueden jugar un papel significativo en los mecanismos neuromusculares de la contracción, modificando la

sensibilidad del ovario a las gonadotropinas (84).

En el conejo, el bloqueo de los receptores adrenérgicos por la inyección de dibenzilina, o su estimulación por el isoproterenol, altera el proceso de crecimiento folicular. Al parecer la dibenzilina promueve un mayor crecimiento folicular al causar vasodilatación y previene la ovulación al inhibir la actividad del músculo liso (85). Sin embargo, el mecanismo por el cual la inervación del ovario participa en el proceso ovulatorio no es conocido, ya que se ha mostrado que la contractilidad ovárica no es un factor absolutamente necesario para que se realice la expulsión del ovocito (36).

#### **Modulación de la hipertrofia compensadora del ovario**

En los mamíferos, la remoción de uno de los ovarios provoca aumento del tamaño y de la actividad secretora del ovario remanente. Esta hipertrofia compensadora que experimenta el ovario *in situ* después de la hemicastración es considerada como un proceso hormono-dependiente, en el que la disminución de las concentraciones de esteroides ováricos provoca aumento de la secreción de gonadotropinas (71, 33). En los últimos años se ha sugerido que los nervios ováricos participan en la regulación de este proceso y se ha mostrado que la remoción de una de las gónadas en el animal hipofisectomizado no impide el proceso de hipertrofia compensadora del ovario, a pesar de que la sola eliminación

de la hipófisis provoca atrofia de los ovarios (46).

Por otra parte, la inyección de novocaína en el mesovario, antes de la hemicastración, suprime el mecanismo que produce la hipertrofia compensadora del ovario y la sección de los nervios vagos a nivel abdominal o la vagotomía combinada con la administración de 6-OHDA, inhiben el aumento de peso del ovario remanente. En este último tipo de animales, el bloqueo del proceso de hipertrofia compensadora del ovario se acompaña de disminución de las concentraciones plasmáticas de la FSH y de la LH, cinco horas después de la hemicastración (16). Al parecer el nervio vago participa en el mecanismo de aumento de la concentración sérica de estas gonadotropinas después de la remoción de una de las gónadas.

En el animal hemicastrado, el porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, (derecho o izquierdo) es semejante y el porcentaje de folículos atrésicos está disminuido (53). Si además de la hemicastración se realiza sección de ambos nervios vagos, el porcentaje de hipertrofia compensadora en los animales hemicastrados del ovario derecho disminuye, y no hay modificación si el ovario extirpado es el izquierdo. La sección del nervio vago derecho reduce el porcentaje de hipertrofia compensadora tanto en las ratas hemicastradas del ovario derecho como del izquierdo, en cambio cuando se secciona el vago izquierdo, el ovario ipsilateral a la sección aumenta de peso y el contralateral disminuye. Estos datos permiten sugerir que en el animal

hemicastrado los sistemas neuroendócrinos que regulan el proceso de hipertrofia compensadora del ovario son diferentes dependiendo del ovario que es eliminado y de la información que envíe la gónada remanente hacia el hipotálamo (28, 43, 44).

En el animal entero, la administración local de 6-OHDA en uno de los ovarios provoca hipertrofia compensadora del otro. En la rata o la cobaya hemicastradas la aplicación del mismo fármaco sobre el ovario remanente, impide su aumento de peso (26, 45). Tales resultados indican que para que el ovario desarrolle el proceso de hipertrofia compensadora, son necesarios los elementos neurales tanto aferentes como eferentes.

#### **Transmisión de información entre el ovario y el sistema nervioso central**

La existencia de una vía neural de retroalimentación entre el ovario y el sistema nervioso central ha sido sugerida por diversos resultados experimentales. Así, el autoinjerto del ovario en el animal hemicastrado no ovula, aún cuando el animal sea tratado con gonadotropinas, mientras que en el animal castrado, los ovarios injertados ovulan de forma normal (7, 32). En el hipotálamo, el contenido del factor liberador de las gonadotropinas (LHRH) es asimétrico y las modificaciones que provocan algunas lesiones en uno de

los lados del sistema nervioso central o las provocadas por las secciones de uno de los nervios vagos son más efectivas para alterar las funciones ováricas que las realizadas en el otro lado (48).

La hemicastración produce también cambios asimétricos en la síntesis de proteínas del núcleo arcuato, tanto en el macho como en la hembra aumenta significativamente el contenido de LHRH en el hipotálamo del lado ipsilateral a la gónada extirpada (43, 44, 47, 66). El desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario remanente en los animales a los que se les extirpa una gónada puede bloquearse por la deafferentación unilateral del hipotálamo o por lesiones unilaterales de estructuras hipotalámicas que se sabe están relacionadas con el control de la función gonadal (24, 25, 41). La lesión unilateral del área preóptica provoca aumento significativo en la actividad del receptor a LHRH en el ovario ipsilateral a la cirugía, lo que ha permitido sugerir que el control neural de la función ovárica es lateralizada (43).

La estimulación de áreas discretas del hipotálamo en ratas hipofisectomizadas y adrenalectomizadas provoca disminución de las concentraciones ováricas de estradiol y progesterona, por lo que se propone la existencia de una vía neural eferente desde el cerebro al ovario, la cual actuaría de forma suplementaria a los mecanismos hormonales existentes en el eje hipotálamo-hipófisis- gónada (66).

Por otra parte, la inyección intraovárica de peroxidasa de rábano produce el marcado de algunos soma neuronales de los ganglios nodosos, por lo que se sugiere que las fibras aferentes del ovario por intermedio del nervio vago, pueden enviar reflejos viscerales que modulan la función ovárica (18). Ya que el ganglio nodoso tiene proyecciones nerviosas al núcleo del tracto solitario y dado que existen conexiones entre este núcleo y núcleos hipotalámicos que controlan la función reproductora (77), se postula que el nervio vago puede constituir una vía anatómica por la cuál se regule la función de la gónada (17, 18).

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en los resultados antes citados, se puede sugerir que los mecanismos neuroendócrinos del crecimiento folicular y la ovulación están regulados por las gonadotropinas, las hormonas ováricas, los neurotransmisores (catecolaminas e indolaminas) y los polipéptidos cuya participación presenta características diferenciales entre el ovario derecho e izquierdo, las que varían durante el ciclo estral.

## **HIPOTESIS**

La hipótesis del presente trabajo establece que: 1) el nervio ovárico superior (NOS), forma parte de las vías de comunicación entre el sistema nervioso central y el ovario; 2) que su participación en la regulación de la función gonadal es estimulatoria y lateralizada y 3) que su forma de regulación varía con el ambiente neuroendócrino del animal en estudio.

## **OBJETIVO**

Analizar la participación del nervio ovárico superior en la modulación de los procesos de ovulación espontánea e inducida en la rata adulta.

## **METAS**

- Estudiar durante cada una de las etapas del ciclo estral, los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, sobre la ciclicidad, la ovulación, y el crecimiento folicular en animales con ovulación espontánea.

- Estudiar los efectos de la sección del nervio ovarico superior sobre el proceso de hipertrofia compensadora de ovario.

-Estudiar los efectos crónicos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, sobre la ovulación inducida y la preñez.

## **MATERIALES y METODO**

### **Procedimientos Generales**

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CIIZ-V de 90 a 120 días de edad, mantenidas en fotoperiodo controlado (14 h luz/ 10 h oscuridad), con luces encendidas de 05:00 a 19:00 hrs y con libre acceso al agua y al alimento. Sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron tres ciclos estrales consecutivos de 4 días de duración. Como grupos testigo se utilizaron animales sometidos a operaciones falsas (OS), (realizadas en las mismas condiciones que los animales tratados; véase mas adelante) y animales sin tratamiento (TA).

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron bajo anestesia con éter, entre las 09:00 y 11:00 hrs. La operación falsa consistió en una laparotomía en que se abrió cavidad abdominal y sin tocar órganos se suturó inmediatamente.

Todos los animales fueron sacrificaron por decapitación entre las 09:00 y 10:30 h, en el día del estro esperado, según los protocolos utilizados. Durante la autopsia, se diseccionaron y pesaron los ovarios y el útero. Sus pesos se expresaron en mg/100 gr de peso corporal.

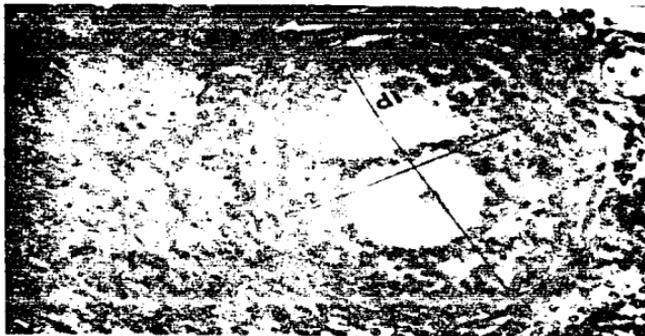
### **Análisis histológico.**

Los ovarios de los animales testigo, con operación simulada o denervados en el día del estro y sacrificados en

el siguiente estro vaginal esperado, o en en el primer estro vaginal después de 20 días de realizada la denervación fueron fijados en líquido de Bouin, incluidos en parafina y cortados en forma seriada a 10  $\mu$ m. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina-eosina. El análisis de la población folicular se realizó en los ovarios (derecho e izquierdo) de tres animales ovulantes de cada grupo experimental. Los cortes fueron revisados cada 100  $\mu$ m y en el corte seleccionado se midieron, con ayuda de un ocular micrométrico, los diámetros de todos los folículos que presentaron núcleo y nucleolo del ovocito. Perpendicular al diámetro de cada folículo seleccionado se midió un segundo diámetro. Los diámetros medidos para cada folículo fueron utilizados para calcular un diámetro promedio (fig.1), y una vez obtenido para clasificar a los folículos en las siguientes categorías: pequeños (70 a 390  $\mu$ m), medianos (391-500  $\mu$ m) y preovulatorios (> 500  $\mu$ m). Los datos de los diámetros foliculares fueron también utilizados para calcular el diámetro promedio de los folículos.

Independientemente de su diámetro, los folículos fueron clasificados como sanos o atrésicos. Los folículos se consideraron como atrésicos cuando se encontró al menos una de las siguientes características : descamación de las células de la granulosa (más de cinco células); picnosis nuclear (más de cinco figuras de picnosis en las células de la granulosa); engrosamiento de las tecas o alteración del ovocito (23, 53).

Fig.1 Esquema representativo del modelo utilizado para la medición de diámetros foliculares.



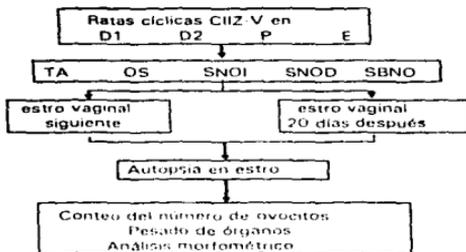
$$D_3 = \frac{D_1 + D_2}{2}$$

**Experimento 1.- Estudio de los efectos de la sección del nervio ovárico superior, sobre la ciclicidad, la ovulación, y el crecimiento folicular.**

Este experimento fue diseñado para analizar en cada uno de los días del ciclo estral, la participación del nervio ovárico superior en la regulación de la ovulación y del crecimiento folicular en la rata adulta y en el periodo postoperatorio siguiente a la denervación o 20 días postcirugía.

En cada uno de los días del ciclo estral, grupos de 8 ratas fueron sometidas a la sección del nervio ovárico superior izquierdo, derecho o de ambos nervios ováricos superiores, siguiendo la técnica propuesta por Selstam y col. (80). La toma de frotis vaginales se reinició al siguiente día de realizada la denervación. Los animales fueron sacrificados en el primer día de estro vaginal, posterior a la intervención quirúrgica (efectos agudos), o bien en el primer día de estro vaginal 20 días después de haber sido denervadas (efectos crónicos). Los oviductos fueron disectados y colocados entre dos portaobjetos, la preparación en fresco, fue revisada bajo un microscopio estereoscópico para verificar la presencia de ovocitos. Los ovocitos liberados al oviducto, fueron sacados con ayuda de una aguja de disección y contados bajo el microscopio estereoscópico (fig. 2)

**Fig. 2** Esquema de metodo utilizado en el experimento 1 y fotomicrografia que muestra la apariencia de los ovocitos.



Apariencia de los ovocitos al microscopio estereoscópico



**Experimento 2.-Estudio de los efectos de la sección del nervio ovarico superior sobre el proceso de hipertrofia compensadora del ovario.**

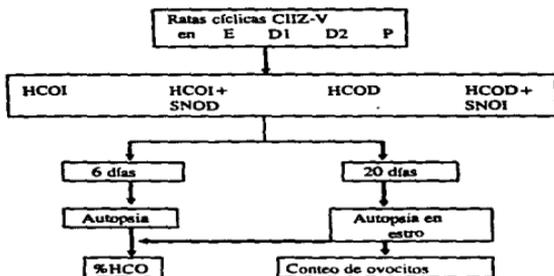
Este experimento fue diseñado para analizar en cada uno de los días del ciclo estral, la participación del nervio ovárico superior en la regulación de la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario y su modulación a corto (6 días) o largo plazo (20 días).

En cada uno de los días del ciclo estral, grupos de 8 animales fueron hemicastrados del ovario derecho o del ovario izquierdo, . Durante el mismo acto quirúrgico se seccionó el nervio ovárico superior del ovario remanente (contralateral al ovario extirpado). Los animales fueron sacrificados seis días después de realizada la denervación o en el primer día del estro vaginal 20 días después de la intervención. Como grupo testigo se utilizaron animales hemicastrados del ovario derecho o izquierdo. En los oviductos se verificó la presencia de ovocitos, y se contaron como en el experimento 1 (fig. 3).

El peso del ovario remanente se expresó como Hipertrofia Compensadora del Ovario (HCO), y se calculó de la siguiente manera:

$$\begin{array}{r}
 \text{Peso del ovario} \\
 \text{in situ} \\
 \text{HCO} = \frac{\text{Peso del ovario} - \text{Peso del ovario extirpado}}{\text{Peso del ovario extirpado}} \times 100
 \end{array}$$

Fig.3 Esquema del método utilizado en el experimento 2.



**Experimento 3.- Estudio de los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, sobre la ovulación inducida y la preñez.**

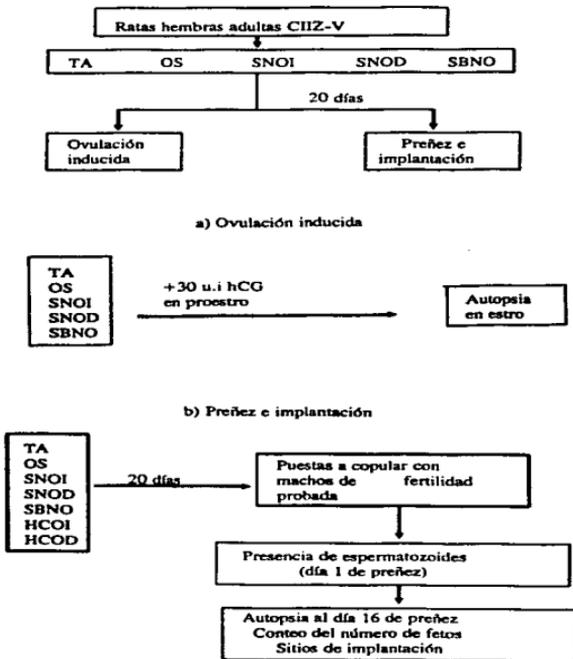
Esta experiencia fue planteada para conocer la respuesta del animal denervado a un sobreestímulo gonadotrópico y si los ovocitos liberados por los animales con sección del nervio ovárico superior pueden ser fertilizados; así como para estudiar si la denervación provoca modificaciones a la preñez y la implantación.

A ratas adultas en cualquier etapa del ciclo estral se les seccionó el nervio ovárico superior derecho, izquierdo o ambos nervios ováricos superiores utilizando la misma técnica que en el experimento 1. Como grupos testigo se utilizaron animales sin tratamiento y con operación simulada. Veinte días después de realizada la denervación, las hembras fueron sometidas a una prueba de ovulación inducida o colocadas en presencia de machos de fertilidad probada (dos hembras por cada macho). La prueba de ovulación inducida se realizó administrando 30 u.i de hCG (Sigma Chem. Co.EEUU) en el día del proestro vaginal observado (fig. 4a).

En el caso de las hembras puestas con macho, los animales fueron revisados diariamente hasta la presencia de tapón espermático (día 1 de preñez); y sacrificadas en el día 16 de gestación. A la autopsia se cuantificó el número de fetos implantados y puntos de reabsorción; así como la distribución espacial de los sitios de implantación (cuerno

derecho o izquierdo). Los fetos fueron pesados y los datos expresados en miligramos (fig. 4b).

Fig. 4 Esquema del método utilizado en el experimento 3.



### **Análisis estadístico.**

Los resultados de la tasa de animales ovulantes (número de ratas que ovulan/número de animales tratados) se analizaron por la prueba de probabilidad exacta de Fisher o Ji cuadrada, dependiendo del número de animales por tratamiento. Los datos del número de ovocitos liberado, del de fetos y del número de folículos fueron analizados por la prueba de análisis de varianza de un factor por rangos, (Kruskal-Wallis), seguida por una prueba de suma de rangos. Los datos del peso de los ovarios y del útero fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza (ANDEVA), seguida de la prueba de Duncan. En todos los casos se aceptaron como válidas aquellas diferencias en las que la probabilidad fue igual o menor al cinco por ciento.

## **RESULTADOS**

**Experimento 1.-** Estudio de los efectos de la sección del nervio ovárico superior, sobre la ciclicidad, la ovulación y el crecimiento folicular.

### **PERIODO POSTOPERATORIO AGUDO**

#### **Ciclicidad**

Cinco de siete ratas con sección del nervio ovárico superior derecho en el día del diestro 1 cambiaron su patrón de ciclo estral de cuatro a 5 días con la adición de un día de diestro. La ciclicidad no fue modificada por la sección del nervio ovárico derecho, izquierdo o la de ambos nervios ováricos en ninguno de los otros días del ciclo estral.

#### **Tasa de animales ovulantes.**

El 100% de los animales testigo (sin tratamiento o sometidos a operación simulada) ovularon en el día de estro vaginal esperado, en ambos grupos el ovario derecho presentó la misma probabilidad de ovular que el izquierdo. En cambio, en los animales con sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior la frecuencia de ovulación del ovario denervado disminuyó significativamente (tabla 1).

**Tabla 1. Tasa de animales ovulantes en ratas testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.**

	TA	OS	SNOI	SNOD	SBNO
OI	19/20	25/26	8/26a	20/27	5/25a
OD	19/20	22/26	24/26b	6/27ab	4/25a

Se muestra la tasa de animales que ovula por el ovario izquierdo (OI) y por el ovario derecho (OD).  
a, P<0.05 vs OS mismo ovario (Ji cuadrada)  
b, P<0.05 vs OI mismo grupo (Ji cuadrada)

Los efectos de la sección del nervio ovárico superior sobre la tasa de animales ovulantes fueron semejantes, independientemente del día del ciclo en que se halla realizado la denervación (tabla 2).

**Tabla 2. Tasa de animales ovulantes en ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en cada uno de los días del ciclo estroal y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.**

Grupo		ESTRO	DIESTRO1	DIESTRO2	PROESTRO
OS	OI	5/5	5/5	6/7	9/9
	OD	5/5	5/5	5/7	7/9
SNOI	OI	2/7a	0/4a	4/7	2/8a
	OD	7/7b	2/4	7/7	8/8b
SNOD	OI	5/7	6/7	5/7	4/6
	OD	2/7a	1/7ab	1/7	2/6
SBNO	OI	1/8a	2/4	1/5	1/8a
	OD	1/8a	1/4a	2/5	0/8a

Los valores corresponden a la tasa de animales ovulantes por ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).  
a, P< 0.05 vs OS misma columna (Prueba exacta de Fisher)  
b, P< 0.05 vs OI mismo grupo (Prueba exacta de Fisher)

### Número de ovocitos

El número total de ovocitos liberado por los animales con operación simulada o con sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior fue semejante a la del grupo sin tratamiento. En los animales testigo la cuota ovulatoria del ovario izquierdo fue semejante a la del derecho, mientras que en los que se realizó sección del nervio ovárico superior izquierdo, el número de ovocitos liberado por el ovario denervado disminuyó y se incrementó en el ovario que mantuvo intacta su inervación. No se observaron modificaciones significativas de éste parámetro en los animales en que se realizó sección del nervio ovárico superior derecho o de ambos nervios (tabla 3).

**Tabla 3.** Media  $\pm$  e.e.m del número de ovocitos liberados en ratas testigo (TA), con operación simulada, sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.

	n	Totales	Ovario Izquierdo	Derecho
TA	19	9.5 $\pm$ 0.2	5.3 $\pm$ 0.6	4.2 $\pm$ 0.5
OS	25	10.0 $\pm$ 0.5	5.2 $\pm$ 0.6	4.8 $\pm$ 0.7
SNOI	24	9.8 $\pm$ 0.6	3.3 $\pm$ 0.5a	8.3 $\pm$ 0.7a
SNOD	20	8.1 $\pm$ 0.6	6.5 $\pm$ 0.9	4.0 $\pm$ 0.5
SBNO	5	7.7 $\pm$ 1.7	6.0 $\pm$ 1.0	5.5 $\pm$ 0.4

Se muestra el número de ovocitos total liberado y el que corresponde al ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).  
a.  $P < 0.05$  vs OS misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

Los efectos de la denervación no dependieron del día del ciclo en que se realizó la denervación (tabla 4).

Tabla 4. Media  $\pm$  e.e.m del número de ovocitos liberados en ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en cada uno de los días del ciclo estral, y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.

Grupo		ESTRO	DIESTRO1	DIESTRO2	PROESTRO
OS	OI	5.4 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.3	6.2 $\pm$ 0.9	5.8 $\pm$ 1.2
	OD	5.0 $\pm$ 0.6	5.6 $\pm$ 1.0	5.8 $\pm$ 1.0	5.6 $\pm$ 1.0
SNOI	OI	3, 3	0	2.7 $\pm$ 0.9a	2, 4
	OD	8.6 $\pm$ 1.2a	15, 6	8.7 $\pm$ 0.8ab	8.6 $\pm$ 1.0a
SNOD	OI	7.4 $\pm$ 2.2	7.0 $\pm$ 0.7	7.6 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 0.6
	OD	4, 3	5	5	2, 5
SBNO	OI	4	9, 5	9	6
	OD	1	8	4, 8	0

Los valores corresponden al número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).  
a, P < 0.05 vs OS misma columna; b, P < 0.05 vs OI mismo grupo (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

#### Peso de Órganos

El peso de los ovarios de los animales con sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior fue mayor que el de los de operación simulada, mientras el del útero fue menor (tabla 5).

Tabla 5.- Media  $\pm$  e.e.m. del peso de los ovarios (mg/100 gr) de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.

Grupo	n	Izquierdo	Derecho	Ambos	Utero
OS	26	13.3 $\pm$ 0.8	12.5 $\pm$ 0.7	25.8 $\pm$ 1.4	188 $\pm$ 7
SNOI	26	15.9 $\pm$ 0.7	14.6 $\pm$ 0.5	30.6 $\pm$ 0.9a	162 $\pm$ 5a
SNOD	27	15.1 $\pm$ 0.9	17.0 $\pm$ 1.2a	31.6 $\pm$ 1.6a	163 $\pm$ 7a
SBNO	25	15.9 $\pm$ 1.0	15.8 $\pm$ 1.2a	31.0 $\pm$ 1.9a	162 $\pm$ 11a

a, P<0.05 vs OS misma columna (Duncan después de ANDEVA)

#### Población folicular

En el grupo de animales sin tratamiento el número promedio de folículos cuantificado en el ovario izquierdo fue semejante al del derecho. Resultados semejantes fueron obtenidos al contar los folículos de los animales con operación simulada o sección del nervio ovárico superior izquierdo, en cambio que en aquellos en los que se seccionó el nervio ovárico superior derecho o ambos nervios, el número de folículos del ovario derecho fue menor (tabla 6).

La distribución de los folículos por tamaño mostró que en el ovario derecho de los animales sin tratamiento tenía mayor número de folículos preovulatorios (>500  $\mu$ m) que en el izquierdo, mientras que en los ovarios de los animales sometidos a operación simulada no se observaron folículos de este tipo. El número de folículos preovulatorios contados en los animales con sección del nervio ovárico superior

izquierdo fue semejante al del testigo absoluto, mientras que en aquellos en que se seccionó al nervio ovárico superior derecho estuvo disminuido. El número de folículos preovulatorios cuantificados en el ovario derecho de los animales con sección de ambos nervios ováricos superiores fue mayor que el observado en los animales sin tratamiento; en el ovario izquierdo, no se encontraron folículos de este tamaño. En los ovarios de los animales con sección del nervio ovárico superior derecho o de ambos nervios, el número de folículos menores de 390  $\mu$ m fue menor al del grupo testigo o con operación simulada (tabla 6).

Tabla 6.- Media  $\pm$  e.e.m. del número de folículos en los ovarios de ratas testigo (TA), con operación simulada (OS), con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en el día del estro, y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.

Grupo		Folículos totales	Distribución por rango		
			<390 $\mu$ m	391-500 $\mu$ m	>500 $\mu$ m
TA	OI	12.0 $\pm$ 2.6	10.6 $\pm$ 2.6	1.0 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.2
	OD	13.0 $\pm$ 2.7	10.6 $\pm$ 2.3	1.0 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.5
OS	OI	12.0 $\pm$ 2.3	10.7 $\pm$ 2.3	1.3 $\pm$ 0.3	0
	OD	11.3 $\pm$ 1.7	9.2 $\pm$ 2.3	2.3 $\pm$ 0.3	0
SNOI	OI	9.0 $\pm$ 4.7	8.3 $\pm$ 4.4	0.3 $\pm$ 0.3	0.3 $\pm$ 0.3
	OD	13.0 $\pm$ 2.0	12.3 $\pm$ 1.9	0	0.7 $\pm$ 0.3
SNOD	OI	14.5 $\pm$ 5.5	13.5 $\pm$ 5.5	1.0 $\pm$ 0.0	0
	OD	4.8 $\pm$ 1.3a	4.0 $\pm$ 1.4a	0.5 $\pm$ 0.5	0.3 $\pm$ 0.3
SBNO	OI	12.3 $\pm$ 6.3	9.7 $\pm$ 5.2	0.7 $\pm$ 0.7	2.0 $\pm$ 1.5
	OD	5.0 $\pm$ 0.9a	5.0 $\pm$ 2.9	0	0

Se muestran los datos del número de folículos contados en el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD) de tres ratas ovulantes. a, P<0.05 vs Testigo, OS, SNOI misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

Menos del 10% de los folículos medidos en los ovarios derecho o izquierdo de los animales sin tratamiento fueron atrésicos. En cambio, en el ovario derecho de los animales con operación simulada o con sección de ambos nervios ováricos superiores el porcentaje de este tipo de folículos se duplicó (fig.5).

En los animales con sección unilateral del nervio ovarico superior el diámetro promedio de los folículos medidos fue semejante al de los grupos testigo. En cambio en aquellos en que se realizó sección bilateral el diámetro de los folículos del ovario derecho fue menor (tabla 7).

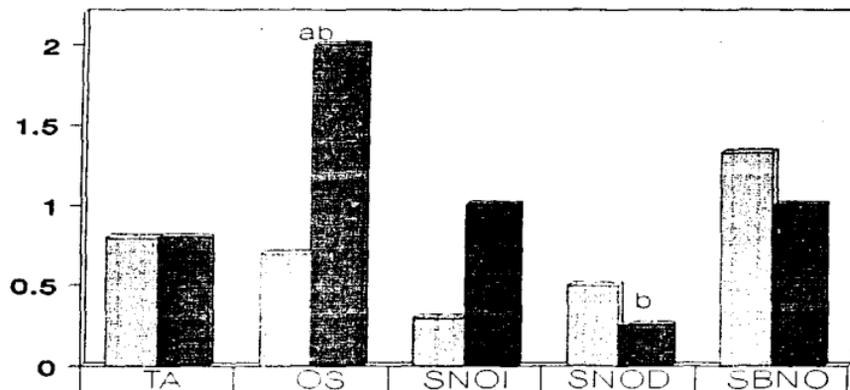
Tabla 7.- Media  $\pm$  e.e.m. del diámetro de los folículos ováricos en ratas testigo (TA), con operación simulada (OS) ó con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en el día del estro, y sacrificadas en el primer estro vaginal después de realizada la manipulación experimental.

	TA	OS	SNOI	SNOD	SBNO
OI	273 $\pm$ 14	226 $\pm$ 18	210 $\pm$ 32	213 $\pm$ 18	264 $\pm$ 37
OD	330 $\pm$ 21	249 $\pm$ 20	194 $\pm$ 14	236 $\pm$ 24	173 $\pm$ 16a

Los valores corresponden a los diámetros de los folículos medidos en el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD) de tres animales ovulantes.

a,  $P < 0.05$  vs TA, OS (Suma de rangos, después de ANOVA)

Fig. 5 Número de folículos atrésicos en animales testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) en el día del estro y sacrificadas en el primer estro vaginal después de la cirugía.



<b>Ovario Izquierdo</b>	0.8 ± 0.5	0.7 ± 0.3	0.3 ± 0.3	0.5 ± 0.5	1.3 ± 0.8
<b>Ovario Derecho</b>	0.8 ± 0.5	2.0 ± 0.0	1.0 ± 0.6	0.3 ± 0.3	1.0 ± 1.0

a, P < 0.05 vs TA; b, P < 0.05 vs OS

## **PERIODO POSTOPERATORIO DE 20 DIAS**

### **Ciclicidad**

Todos los animales utilizados en este experimento recobraron su ciclo estral, no obstante que durante los 20 días posteriores a la realización de la operación simulada el 15% de los animales presentaron variaciones en la duración del ciclo estral y que en aquellos en que se seccionó el nervio ovárico superior este porcentaje se incrementó hasta un 70% ( $P < 0.01$ ). En el 40% de los animales denervados el cambio en el patrón de ciclo estral estuvo caracterizado por la adición de un día de diestro.

### **Tasa de animales ovulantes**

Veinte días después de realizada la cirugía el 100% de los animales con operación simulada y el 90% de los sometidos a la sección del nervio ovárico superior izquierdo ovularon en el día de estro vaginal esperado. En cambio, sólo el 77% en los que se les seccionó el nervio ovárico superior derecho y el 74% de los animales a los que se realizó sección bilateral ovularon (34/34; 36/40 vs 28/36 y 28/38;  $P < 0.05$ , ji cuadrada).

En los animales con operación simulada o con sección del nervio ovárico superior izquierdo la probabilidad de ovulación de ambos ovarios fue semejante. En cambio, en los animales con sección del nervio ovárico superior derecho la probabilidad de ovulación del ovario denervado disminuyó

significativamente; en las ratas con sección bilateral la disminución se presentó en ambos ovarios (tabla 8).

**Tabla 8.** Tasa de animales ovulantes en ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) y sacrificadas en el primer estro vaginal después de 20 días de realizada la manipulación experimental.

	OS	SNOI	SNOD	SBNO
OI	28/34	26/40	27/36	24/38a
OD	31/34	31/40	18/36ab	20/38a

Se muestran los datos de la tasa de animales ovulantes por ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).  
a,  $P < 0.05$  vs OS mismo ovario (Ji cuadrada)  
b,  $P < 0.05$  vs OI mismo grupo (Ji cuadrada)

Los efectos de la sección fueron más evidentes cuando la denervación se realizó en el día del estro (tabla 9).

**Tabla 9.** Tasa de animales ovulantes en ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) realizada en cada uno de los días del ciclo estral, y sacrificadas en el primer estro vaginal después de 20 días de realizada la manipulación experimental.

Grupo		ESTRO	DIESTRO1	DIESTRO2	PROESTRO
OS	OI	8/11	7/8	6/8	7/7
	OD	9/11	8/8	8/8	6/7
SNOI	OI	3/11a	8/10	9/10	6/9
	OD	8/11	8/10	7/10	8/9
SNOD	OI	6/9	9/9	6/9	6/9
	OD	3/9a	6/9	4/9	5/9
SBNO	OI	3/8	7/10	5/10	9/10
	OD	2/8a	3/10a	6/10	6/10

Se muestran los valores del número de animales que ovulan por el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).  
a,  $P < 0.05$  vs OS misma columna (Prueba exacta de Fisher)

### Número de ovocitos

El número total de ovocitos liberado en los animales con operación simulada fue semejante al de los testigo absoluto, mientras que en aquellos en que se seccionó el nervio ovárico superior izquierdo o ambos nervios disminuyó. En los grupos testigo, la cuota ovulatoria liberada por el ovario izquierdo fue similar a la del derecho, en cambio en los animales con sección unilateral del nervio ovárico superior, el número de ovocitos liberado por el ovario denervado disminuyó, y no se observaron cambios significativos en el ovario que mantuvo intacta su inervación. Los animales con sección de ambos nervios ováricos presentaron disminución del número de ovocitos liberado por el ovario derecho (tabla 10).

Tabla 10. Media  $\pm$  e.e.m del número de ovocitos liberado en ratas testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) y sacrificadas en el primer estro vaginal después de 20 días de realizada la manipulación experimental.

	n	Totales	Isquiereo	Ovario	Derecho
TA	20	9.5 $\pm$ 0.2	5.3 $\pm$ 0.6		4.2 $\pm$ 0.5
OS	31	8.8 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.4		4.8 $\pm$ 0.4
SNOI	36	6.3 $\pm$ 0.6a	2.7 $\pm$ 0.4a		3.6 $\pm$ 0.4
SNOD	28	7.5 $\pm$ 0.7	4.8 $\pm$ 0.5		2.6 $\pm$ 0.5a
SBNO	28	7.0 $\pm$ 0.7a	4.0 $\pm$ 0.5		2.9 $\pm$ 0.4a

a, P < 0.05 vs TA misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

Los efectos de la sección del nervio ovárico superior fueron similares independientemente del día del ciclo estral en que se realizó la denervación (tabla 11).

Tabla 11.- Media  $\pm$  e.e.m del número de ovocitos liberados en ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en cada uno de los días del ciclo estral, y sacrificadas en el primer estro vaginal después de 20 días de realizada la manipulación experimental.

Grupo		ESTRO	DIESTRO1	DIESTRO2	PROESTRO
OS	OI	4.1 $\pm$ 0.9	3.3 $\pm$ 0.6	3.1 $\pm$ 0.8	5.4 $\pm$ 0.3
	OD	4.5 $\pm$ 0.9	5.5 $\pm$ 0.4	4.8 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 0.8
SNOI	OI	1.8 $\pm$ 0.9a	2.9 $\pm$ 0.7	4.1 $\pm$ 1.0	1.9 $\pm$ 0.6a
	OD	3.9 $\pm$ 0.6	3.9 $\pm$ 0.9	2.9 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 0.9
SNOD	OI	3.0 $\pm$ 0.8	4.6 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 0.4a	5.8 $\pm$ 0.7
	OD	2.1 $\pm$ 1.1	3.0 $\pm$ 1.3	2.5 $\pm$ 0.8b	2.8 $\pm$ 0.9b
SBNO	OI	3.0 $\pm$ 1.5	5.9 $\pm$ 1.0	2.3 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 0.7
	OD	2.2 $\pm$ 1.3	1.9 $\pm$ 0.9ab	2.5 $\pm$ 0.7	4.6 $\pm$ 0.5

Se muestran los datos de ovocitos liberados por ovario izquierdo (OI) y derecho (OD).

a,  $P < 0.05$  vs OS misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

b,  $P < 0.05$  vs OI mismo grupo (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

#### Peso de órganos

No hubo diferencias significativas en el peso de los ovarios o del útero en ninguno de los grupos estudiados (tabla 12).

Tabla 12.- Media  $\pm$  s.e.m. del peso de los ovarios (mg/100gr) de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en cada uno de los días del ciclo estral, y sacrificadas en el primer estro vaginal después 20 días de realizada la manipulación experimental.

Grupo	n	Ovario			Utero
		Izquierdo	Derecho	Ambos	
OS	34	14.4 $\pm$ 0.6	14.7 $\pm$ 0.6	29.0 $\pm$ 0.9	216 $\pm$ 13
SNOI	40	13.9 $\pm$ 0.7	14.6 $\pm$ 2.2	28.8 $\pm$ 1.0	229 $\pm$ 9
SNOD	36	14.7 $\pm$ 0.5	12.7 $\pm$ 0.5	27.4 $\pm$ 0.7	219 $\pm$ 8
SBNO	38	15.6 $\pm$ 0.6	13.9 $\pm$ 0.6	29.1 $\pm$ 0.9	222 $\pm$ 10

#### Población folicular

Veinte días después de realizada la laparotomía el número promedio de folículos ováricos fue cuatro veces mayor que el cuantificado en los testigo absoluto. En los animales denervados también aumentó el número de folículos, pero en menor cantidad que los del grupo con operación simulada. En los animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo se observó aumento del número total de folículos en el ovario denervado; en cambio en las ratas con sección del nervio ovárico derecho o con sección bilateral, el número de folículos incrementó en ambos ovarios. En los ovarios de los animales con sección del nervio ovárico superior derecho o de ambos nervios ováricos no se observó aumento del número de folículos pequeños (<390  $\mu$ m) (tabla 13).

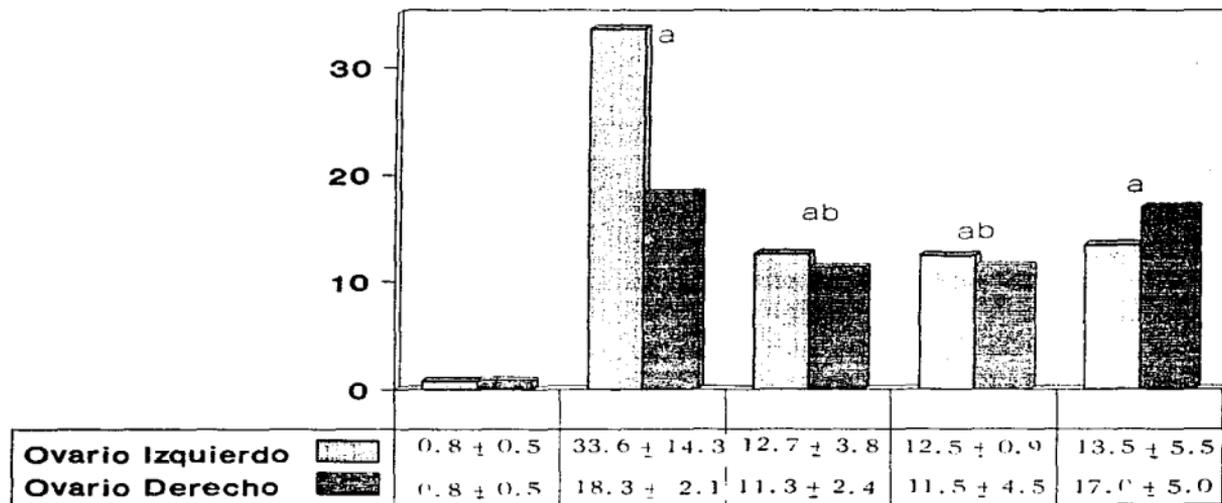
Tabla 13.- Media  $\pm$  e.e.m. del número de folículos en ovarios de ratas testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en el día del estro, y sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de realizada la manipulación experimental.

grupo		Folículos totales	Distribución por rango		
			<390 $\mu$ m	391-500 $\mu$ m	>500 $\mu$ m
TA	OI	12.0 $\pm$ 2.6	10.6 $\pm$ 2.6	1.0 $\pm$ 0.5	0.4 $\pm$ 0.2
	OD	13.0 $\pm$ 2.7	10.6 $\pm$ 2.3	1.0 $\pm$ 0.3	1.2 $\pm$ 0.5
OS	OI	69.3 $\pm$ 14.7a	59.3 $\pm$ 13.0a	6.0 $\pm$ 1.2a	4.0 $\pm$ 1.6a
	OD	40.3 $\pm$ 4.3a	20.5 $\pm$ 7.3	6.5 $\pm$ 2.2a	13.3 $\pm$ 3.3ab
SNOI	OI	27.7 $\pm$ 2.9c	18.6 $\pm$ 1.5c	6.7 $\pm$ 0.7a	2.3 $\pm$ 1.2a
	OD	17.3 $\pm$ 4.9	13.3 $\pm$ 5.4	2.7 $\pm$ 1.2	1.3 $\pm$ 0.7
SNOD	OI	21.5 $\pm$ 1.2c	11.0 $\pm$ 1.1	4.8 $\pm$ 0.6a	5.8 $\pm$ 2.1a
	OD	22.0 $\pm$ 1.0c	10.0 $\pm$ 0.1	6.0 $\pm$ 0.1a	6.0 $\pm$ 1.0c
SBNO	OI	27.0 $\pm$ 0.1c	12.6 $\pm$ 0.5	10.0 $\pm$ 3.0a	4.3 $\pm$ 2.5a
	OD	34.7 $\pm$ 9.7c	16.7 $\pm$ 4.3	15.3 $\pm$ 3.8a	4.0 $\pm$ 1.0a

Se muestran los datos del número de folículos contados en el ovario izquierdo (OI) y derecho (OD) de tres ratas ovulantes. a, P < 0.05 vs Testigo misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis) b, P < 0.05 vs OI mismo grupo (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis) c, P < 0.05 vs Testigo, OS (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

Tanto en los ovarios de los animales con operación simulada, como en los denervados, el porcentaje de folículos atrésicos fue mayor que el del grupo sin tratamiento; la mayor proporción de folículos atrésicos se observó en los ovarios de los animales con sección bilateral (fig. 6).

Fig.6 Número de folículos atrésicos en ratas testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) en el día del estro y sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de la cirugía



a,  $P < 0.05$  vs TA; b,  $P < 0.05$  vs OS ambos ovarios

En los animales con sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior el diámetro promedio de los folículos del ovario izquierdo fue mayor que el de los animales testigo o con operación simulada. En los animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo, el diámetro de los folículos del ovario derecho disminuyó (tabla 14).

Tabla 14.- Media  $\pm$  e.e.m. del diámetro de los folículos ováricos en ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en el día del estro, y sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de realizada la manipulación experimental.

	TA	OS	SNOI	SNOD	SBNO
OI	273 $\pm$ 14	260 $\pm$ 17	347 $\pm$ 12a	405 $\pm$ 17a	391 $\pm$ 13a
OD	330 $\pm$ 21	375 $\pm$ 17	316 $\pm$ 17a	391 $\pm$ 22	410 $\pm$ 39

a,  $P < 0.05$  vs OS mismo ovario (Duncan después de ANDEVA)

#### Resumen de resultados

Los resultados de este experimento muestran que en la rata adulta, la sección del nervio ovárico superior disminuyó la capacidad ovulatoria del ovario denervado. En los animales autopsiados en el primer estro vaginal después de la denervación, la reducción en la tasa de animales ovulantes estuvo acompañada por aumento del peso de los ovarios y disminución del peso del útero, además el número de folículos estuvo disminuido en los ovarios de los animales con sección del nervio derecho o ambos nervios. Cuando el tiempo

posoperatorio fue mayor (cinco ciclos), no sólo disminuyó la tasa de animales ovulantes, sino también el número total de ovocitos liberado. En este grupo de animales no se observaron cambios en el peso del útero, ni de los ovarios; el porcentaje de folículos atrásicos fué mayor que el de el grupo testigo.

**Experimento 2.- Estudio de los efectos de la sección del nervio ovárico superior sobre el proceso de hipertrofia compensadora.**

#### **PERIODO POSTOPERATORIO AGUDO**

**Ciclicidad, tasa de animales ovulantes y ovulación**

Durante los seis días posteriores a la remoción de una de las gónadas no se observaron cambios significativos en el patrón de ciclo estral de ninguno de los grupos estudiados.

La ovulación se cuantificó sólo en los animales hemicastrados en el día del proestro, ya que el término del periodo postoperatorio coincidió con el día de estro esperado. Los resultados muestran que el 90% de los animales a los que se les eliminó un ovario (derecho o izquierdo) ovularon el día del estro esperado con una cuota de ovocitos liberados de  $8.9 \pm 1.0$ . En aquellos en que se eliminó el ovario derecho y seccionó el nervio ovárico superior izquierdo sólo uno de cinco animales ovuló (1 ovocito). En cambio cuando se extirpó el ovario izquierdo y se denervó el ovario derecho, cuatro de cinco animales ovularon con una cuota ovulatoria menor al del hemicastrado ( $4.8 \pm 2.0$ , NS).

#### **Hipertrofia compensadora**

En los animales hemicastrados del ovario izquierdo, el peso del ovario remanente (derecho) aumentó de forma significativa sólo cuando la hemiovariectomía se realizó en

diestro 2 o proestro. En cambio, cuando se eliminó la gónada derecha el aumento de peso observado no fue estadísticamente significativo. La sección del nervio ovárico superior provocó incremento del peso del ovario remanente cuando los animales fueron hemicastrados y denervados en estro o diestro 1 (tabla 15).

Tabla 15 .- Media  $\pm$  e.e.m. del peso de los ovarios (mg/100gr) hemicastradas del ovario izquierdo (HCOI) o derecho (HCOD) en cada etapa del ciclo estral y con sección del nervio ovárico superior del ovario remanente, sacrificados 6 días después de la hemicastración.

Peso del ovario

Grupo	removido	in situ	in situ-denervado
	(izquierdo)	(derecho)	(derecho)
HCOI en ESTRO	13.6 $\pm$ 0.5	13.5 $\pm$ 1.2	18.2 $\pm$ 1.2a
DIESTRO1	12.3 $\pm$ 0.5	13.5 $\pm$ 1.5	15.7 $\pm$ 1.2
DIESTRO2	12.8 $\pm$ 1.4	17.9 $\pm$ 0.8a	14.1 $\pm$ 1.9
PROESTRO	11.7 $\pm$ 0.9	18.0 $\pm$ 1.6a	14.5 $\pm$ 1.7
	(derecho)	(izquierdo)	(izquierdo)
HCOD en ESTRO	11.3 $\pm$ 0.7	15.3 $\pm$ 1.5	17.3 $\pm$ 1.2a
DIESTRO1	14.6 $\pm$ 1.0	16.0 $\pm$ 1.2	20.3 $\pm$ 2.0a
DIESTRO2	12.2 $\pm$ 0.6	15.2 $\pm$ 0.6	13.1 $\pm$ 3.2
PROESTRO	15.0 $\pm$ 1.2	18.1 $\pm$ 3.2	18.0 $\pm$ 4.0

a, P < 0.05 vs removido mismo día (Duncan después de ANDEVA)

Cuando los resultados fueron expresados en función del porcentaje de aumento de peso, los animales hemicastrados del ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*) en diestro 2 o proestro presentaron hipertrofia compensadora, la que no se observó en los animales hemicastrados en estro o diestro 1. En cambio, cuando se extirpó la gónada derecha (ovario izquierdo *in situ*), la hipertrofia fue similar en los grupos operados en estro, diestro 2 o proestro y no se observó en las tratadas en diestro 1. En los animales en que se seccionó el nervio ovárico superior en el día del estro, el porcentaje de hipertrofia compensadora alcanzada, estuvo incrementada (fig 7).

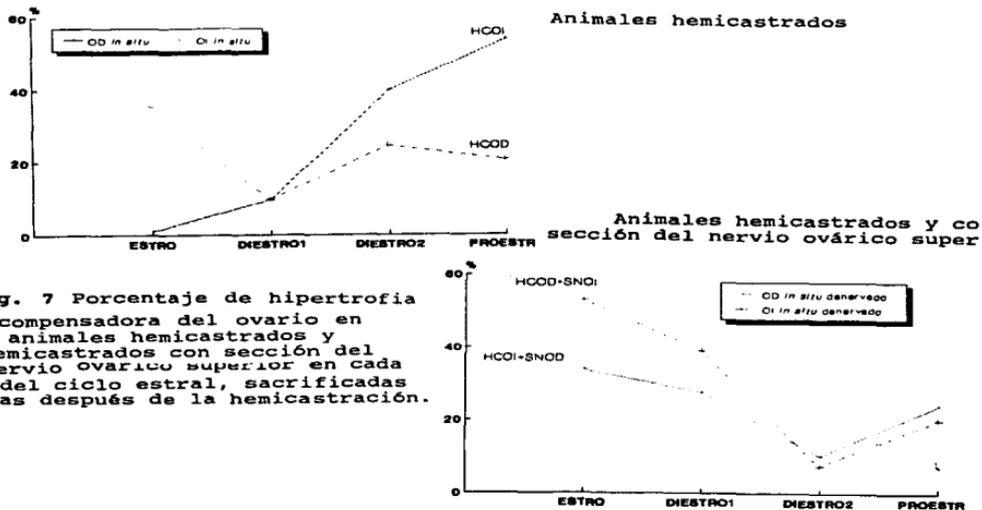


Fig. 7 Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario en animales hemicastrados y hemicastrados con sección del nervio ovárico superior en cada día del ciclo estral, sacrificadas 6 días después de la hemicastración.

## PERIODO POSTOPERATORIO DE 20 DIAS

### Tasa de animales ovulantes y ovulación.

Después de 20 días de la remoción de una de las gónadas todos los animales hemicastrados ovularon el día del estro vaginal esperado. La sección del nervio ovárico superior no modificó este parámetro.

El número de ovocitos liberado por los animales hemicastrados, fue similar al observado en un animal entero. La sección del nervio ovárico no modificó los efectos provocados por la hemicastración (tabla 16).

Tabla 16 .- Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberado en ratas hemicastradas del ovario derecho (HCOD) o izquierdo (HCOI) en cada etapa del ciclo estral y con sección del nervio ovárico superior del ovario remanente, sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de la hemiovariectomía.

		Ovario		
Grupo		removido	in situ	in situ+denervado
		(derecho)	(izquierdo)	(izquierdo)
HCOI en	ESTRO	5.3 $\pm$ 0.4	10.4 $\pm$ 0.4	9.6 $\pm$ 0.7
	DIESTRO1		9.0 $\pm$ 3.2	9.4 $\pm$ 1.3
	DIESTRO2		11.1 $\pm$ 0.9	8.4 $\pm$ 1.5
	PROESTRO		9.3 $\pm$ 1.4	8.9 $\pm$ 1.4
		(izquierdo)	(derecho)	(derecho)
HCOD en	ESTRO	6.4 $\pm$ 0.5	9.9 $\pm$ 0.8	9.7 $\pm$ 0.7
	DIESTRO1		9.7 $\pm$ 0.6	9.6 $\pm$ 0.8
	DIESTRO2		10.3 $\pm$ 0.5	9.3 $\pm$ 0.5
	PROESTRO		11.5 $\pm$ 0.9	10.8 $\pm$ 0.9

### Hipertrofia compensadora del ovario

Después de 20 días de la remoción de una de las gónadas el peso del ovario remanente incrementó de manera significativa, independientemente de la etapa del ciclo estral en que se hemicastró al animal y del ovario extirpado. El aumento del peso del ovario remanente fue mayor en casi todos los animales a los que se les seccionó el nervio ovárico superior (tabla 17).

Tabla 17.- Media  $\pm$  e.e.m. del peso de los ovarios (mg/100 gr) de ratas hemicastradas del ovario derecho (HCOd) o izquierdo (HCOI) en cada etapa del ciclo estral y con sección del nervio ovárico superior del ovario remanente, sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de la hemiovariectomía.

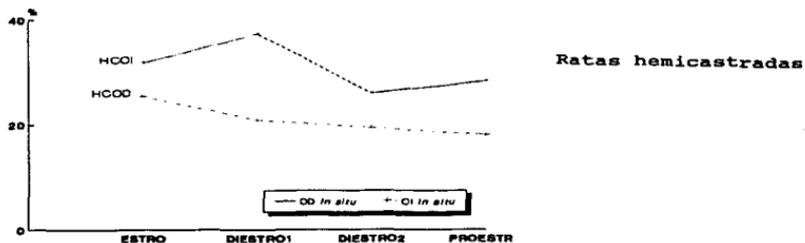
Grupo		Ovario		
		removido (derecho)	in situ (izquierdo)	in situ-denervado (izquierdo)
HCOI en	ESTRO	15.4 $\pm$ 0.6	20.3 $\pm$ 1.2a	20.5 $\pm$ 1.0a
	DIESTRO1	15.0 $\pm$ 0.6	20.6 $\pm$ 3.2a	20.3 $\pm$ 1.6a
	DIESTRO2	15.4 $\pm$ 0.6	19.4 $\pm$ 1.2a	24.4 $\pm$ 2.2ab
	PROESTRO	13.5 $\pm$ 0.6	17.3 $\pm$ 0.9a	27.8 $\pm$ 4.6ab
		(izquierdo)	(derecho)	(derecho)
HCOd en	ESTRO	16.9 $\pm$ 0.9	21.2 $\pm$ 1.1	21.2 $\pm$ 2.2a
	DIESTRO1	15.8 $\pm$ 1.0	19.1 $\pm$ 0.4a	24.0 $\pm$ 1.0ab
	DIESTRO2	16.0 $\pm$ 0.6	19.1 $\pm$ 1.7a	23.4 $\pm$ 1.3ab
	PROESTRO	15.5 $\pm$ 0.7	18.3 $\pm$ 0.6a	25.8 $\pm$ 1.7ab

a,  $P < 0.05$  vs ovario removido mismo grupo (Duncan después de ANDEVA)

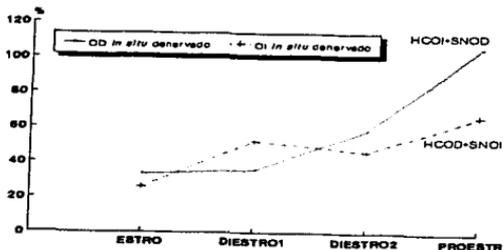
b,  $P < 0.05$  vs ovario in situ mismo grupo (Duncan después de ANDEVA).

Este efecto se aprecia mejor cuando los resultados se expresan como el porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario (fig. 8).

Fig. 8 Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario en animales hemicastrados y hemicastrados con sección del nervio ovárico superior en cada uno de los días del ciclo estral y sacrificadas en el primer estro vaginal después 20 días de realizada la operación.



Ratas hemicastradas y con sección del nervio ovárico superior



### Población folicular

En los animales hemicastrados en estro y sacrificados 20 días después en la misma etapa del ciclo estral, el número promedio de folículos del ovario derecho fue de  $15.7 \pm 2.7$  y de  $11.3 \pm 1.8$  para el izquierdo. Aproximadamente el 10% de ellos fueron preovulatorios y sanos. La sección del nervio ovárico superior (derecho o izquierdo) no modificó el número de folículos cuantificados por ovario. Sin embargo en los animales a los que se denegó el ovario derecho no se encontraron folículos preovulatorios, lo que fue compensado por el aumento de los de tamaño mediano (tabla 18). El 100% de los folículos medidos fueron sanos .

Tabla 18.- Media  $\pm$  e.e.m. del número de folículos en ovarios de ratas hemicastradas y con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) en el día del estro, y sacrificadas en el primer estro vaginal 20 días después de realizada la manipulación experimental.

Grupo		Folículos totales	Distribución por rangos		
			<390 $\mu$ m	391-500 $\mu$ m	>500 $\mu$ m
HCOI	OD	$11.3 \pm 1.8$	$8.0 \pm 1.5$	$1.0 \pm 0.6$	$1.3 \pm 0.9$
HCOD	OI	$15.7 \pm 2.7$	$11.3 \pm 2.4$	$0.7 \pm 0.3$	$1.7 \pm 0.7$
HCOI+SNOD	OD	$14.0 \pm 3.2$	$11.0 \pm 2.3$	$0.3 \pm 0.3$	$2.3 \pm 0.9$
HCOD+SNOI	OI	$13.7 \pm 1.2$	$11.0 \pm 0.6$	$2.3 \pm 0.7$	0

Se muestran los datos del número de folículos contados en el ovario in situ derecho (OD) e izquierdo (OI) de tres animales ovulantes.

### **Resumen de resultados**

Los resultados de este experimento muestran que el proceso de hipertrofia compensadora del ovario en la rata adulta, dependieron del día del ciclo en que se eliminó el ovario y de la gónada removida. La sección del nervio ovárico superior no modificó la ovulación compensadora, y aumentó el porcentaje de aumento de peso en los animales con periodo postoperatorio de 20 días.

**Experimento 3.-** Estudio de los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior, sobre la ovulación inducida y la preñez.

**Ovulación inducida**

Todos los animales tratados con 30 u.i de hCG en el día del proestro ovularon, mientras que sólo 1 de cuatro con sección de ambos nervios ováricos superiores lo hizo. No se observaron diferencias entre el número total de ovocitos liberados por los animales testigo o los denervados. En los animales con sección del nervio ovárico izquierdo, la cuota ovulatoria del ovario denervado disminuyó significativamente y la del inervado se incrementó, en los animales con sección del nervio derecho también se redujo la cuota ovulatoria del ovario denervado pero no se observaron cambios en el inervado (tabla 19).

Tabla 19.- Media  $\pm$  e.e.m del número de ovocitos liberados y tasa de ovulantes en ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO), tratadas con 30 u.i de hCG 20 días después de realizada la manipulación experimental.

Grupo	Tasa de Ovulantes	Totales	Número de ovocitos/ovario	
			Izquierdo	Derecho
TA + hCG	6/6	10.5 $\pm$ 0.9	5.0 $\pm$ 0.8	5.5 $\pm$ 1.3
OS + hCG	6/6	10.8 $\pm$ 0.7	5.3 $\pm$ 0.5	5.5 $\pm$ 0.8
SNOI + hCG	7/7	9.3 $\pm$ 1.6	0	9.3 $\pm$ 1.6ab
SNOD + hCG	8/8	8.4 $\pm$ 1.1	6.5 $\pm$ 1.1	1.9 $\pm$ 0.9ab
SBNO + hCG	1/4	6	3	3

a, P < 0.05 vs TA, OS (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)  
 b, P < 0.05 VS Ovario Izquierdo (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

### Peso de Órganos

Sólo el peso del ovario derecho y del útero de los animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo y tratados con hCG aumentaron significativamente (tabla 20).

Tabla 20.- Media  $\pm$  e.s.m del peso de los ovarios y del útero (mg/100 gr) en animales testigo (TA), con operación simulada (OS), sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO), tratadas con 30 u.i de hCG 20 días después de realizada la manipulación experimental.

Grupo	n	Ovario		Útero
		Izquierdo	Derecho	
TA + hCG	6	11.1 $\pm$ 0.7	13.0 $\pm$ 1.1	166 $\pm$ 13
OS + hCG	6	12.4 $\pm$ 0.9	12.7 $\pm$ 0.6	161 $\pm$ 7
SNOI + hCG	7	9.4 $\pm$ 2.0	19.8 $\pm$ 2.4a	201 $\pm$ 14a
SNOD + hCG	8	16.5 $\pm$ 2.2	14.8 $\pm$ 2.0	189 $\pm$ 11
SBNO + hCG	4	9.7 $\pm$ 3.2	14.6 $\pm$ 5.3	160 $\pm$ 10

a,  $P < 0.05$  vs OS o TA (Duncan después de ANDEVA)

### Preñez e implantación

Todas las hembras tratadas (operación simulada, hemicastradas o enteras-denervadas) puestas a copular con machos de fertilidad probada fueron preñadas.

En el grupo de animales con operación simulada el número promedio de fetos implantados fue de 10.5 $\pm$ 0.7. Resultados semejantes fueron obtenidos en los animales hemicastrados. El número de fetos totales en los grupos con sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior fue menor que el del grupo con operación simulada (tabla 21).

En las ratas con operación simulada el número de fetos implantados en el cuerno uterino izquierdo fue semejante al del derecho, mientras que en las hemicastradas los fetos sólo se implantaron en el cuerno uterino en que encontraba presente el ovario. En los animales con sección unilateral del nervio ovárico superior el número de fetos implantados en cuerno uterino adyacente al ovario denervado fue menor. Cuando se seccionaron ambos nervios ováricos, el número de fetos implantados en el cuerno uterino izquierdo disminuyó. No se observaron diferencias en el peso de los fetos en ninguno de los grupos tratado (tabla 21).

Tabla 21 .- Media  $\pm$  e.e.m. del número y peso de fetos (mg) implantados en ratas con operación simulada (OS), hemicastradas (HC), o con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) 20 días después de la denervación y sacrificados en el día 16 de preñez.

Grupo	n	Totales	Número de fetos por cuerno		Peso
			Isquiereo	Derecho	
OS	11	10.5 $\pm$ 0.7	4.5 $\pm$ 0.6	6.0 $\pm$ 0.4	30.2 $\pm$ 3.0
HCOI	7	10.4 $\pm$ 0.7	0	10.4 $\pm$ 0.7a	32.9 $\pm$ 2.3
HCOD	7	8.0 $\pm$ 1.2	8.0 $\pm$ 1.2a	0	35.8 $\pm$ 1.8
SNOI	8	6.9 $\pm$ 0.8a	1.3 $\pm$ 0.3a	6.6 $\pm$ 0.4	32.4 $\pm$ 2.2
SNOD	9	6.9 $\pm$ 0.5a	5.1 $\pm$ 0.5	2.7 $\pm$ 0.4a	32.5 $\pm$ 1.0
SBNO	9	8.0 $\pm$ 0.6a	2.8 $\pm$ 0.6a	6.0 $\pm$ 1.0	27.8 $\pm$ 2.0

a, P < 0.05 vs OS misma columna (Suma de rangos, después de Kruskal-Wallis)

El número de animales que presentaron reabsorciones y el número de fetos reabsorbidos fueron semejante en todos los grupos estudiados (tabla 22).

**Tabla 22** .- Tasa de animales con reabsorción y número de reabsorciones en ratas con operación simulada (OS), hemicastradas (HC) o con sección del nervio ovarico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO) 20 días después de la denervación y sacrificados en el día 16 de preñez.

Grupo	OS	HCOI	HCOD	SNOI	SNOD	SBNO
Tasa de ratas con reabsorción	4/11	0/7	2/7	2/8	5/9	4/9
Reabsorciones	1.5±0.5	0	1,1	1,1	1.8±0.4	2.5±0.8

En los animales con operación simulada el peso del ovario izquierdo fue semejante al del derecho y en las hemicastradas se observó hipertrofia compensadora. El peso de los ovarios de los animales denervados aumentó, aunque no de manera significativa (tabla 23).

**Tabla 23** .- Media ± e.e.m. del peso de ovarios (mg/100 gr) en animales con sección del nervio ovarico superior y puestos a copular con machos de fertilidad probada 20 días después de la denervación y sacrificados en el día 16 de preñez.

	OS	HCOI	HCOD	SNOI	SNOD	SBNO
OI	15.8±0.7	-----	22.1±1.8	12.7±1.6	18.3±1.9	18.1±2.1
OD	15.8±0.7	18.8±2.8	----	20.5±1.7	16.3±2.0	17.7±2.4

### **Resumen de resultados**

En los animales con sección del nervio ovárico superior y con administración de hCG la cuota ovulatoria del ovario denervado fue menor que en los testigos. Cuando los animales fueron puestos a copular, 20 días después de haber sido denervados, quedaron preñados; el número de fetos implantados en el cuerno uterino adyacente al ovario denervado fue menor.

## **DISCUSION**

Los resultados presentados en este trabajo muestran que la inervación aferente al ovario por intermedio del nervio ovárico superior participa de manera estimuladora y lateralizada (ipsilateral) en los mecanismos que regulan la ovulación y el crecimiento folicular.

Nuestros resultados muestran que, en la rata adulta, la sección del nervio ovárico superior provoca modificaciones transitorias sobre el patrón de ciclo estral (caracterizadas por la adición de un día de diestro), y que la frecuencia de alteración se presenta con mayor frecuencia en animales con periodos postdenervación largos (20 días). Diversos estudios experimentales muestran que ni la simpatectomía quirúrgica, ni la farmacológica, afectan drásticamente el patrón de ciclo estral de la rata, la ratona o el mandril; mientras que en otras especies como el criseto, la integridad de la inervación adrenérgica es necesaria para mantener la ciclicidad. La discrepancia de resultados acerca de la participación de la inervación en la regulación de la ciclicidad puede deberse a que en la interpretación de los datos no se considera ni el día del ciclo estral en que se realizan las manipulaciones experimentales, ni el tiempo postdenervación en que se sigue la citología vaginal de los animales, y tal y como lo muestran nuestros resultados, éstas variables resultan de gran importancia en el análisis de la participación de la inervación en la función del ovario.

El hecho de que la frecuencia de animales que presentan alteraciones en su ciclo sea mayor en los grupos con periodos postdenervación más largos, y que posterior a este cambio los animales recobren su ciclicidad, nos permite sugerir que si bien en la rata adulta la inervación que llega al ovario vía del nervio ovárico superior no regula de manera directa los mecanismos hormonales que definen el patrón de ciclo estral, es posible que este componente neural actúe como modulador de la respuesta del ovario a las gonadotropinas.

Los cambios en la ciclicidad ovárica no pueden ser explicados por modificaciones en el flujo sanguíneo, ya que incluso en los animales denervados el peso de los ovarios aumenta, y algunos autores han mostrado que la sección bilateral del nervio ovárico superior no altera el flujo sanguíneo y si la secreción de esteroides ováricos y el contenido de noradrenalina en el ovario (3, 58).

Ya que la sección del nervio altera el patrón del ciclo estral de 4 a 5 días (lo que no sucede en los animales con operación simulada), podemos suponer que la denervación modifica de forma transitoria la liberación de esteroides ováricos, en particular la de progesterona. Estudios realizados por Everett (37), en ratas con patrón de ciclo estral de 4 días, indican que la administración de progesterona en el día del diestro 1, retrasa la aparición del estro por 24 horas y dado que el nervio ovárico superior inerva a las células productoras de esteroides y modula la

liberación de progesterona (76, 88) es probable que la sección del nervio haya modificado su síntesis, su liberación o ambas. En este sentido debe considerarse además que el nervio ovárico superior contiene fibras péptido intestinal vasoactivo positivas que inervan al ovario, y que el péptido es capaz de estimular la producción de progesterona (6).

Los resultados muestran además que la inervación que llega al ovario por el nervio ovárico superior modula de manera estimulatoria y lateralizada la respuesta del ovario a las gonadotropinas, ya que su sección provoca disminución de la frecuencia de ovulación y del número de ovocitos liberado por el ovario denervado. Esta afirmación es parcialmente diferente a la propuesta por Wylie y col. (90), quien indica que la sección bilateral del nervio ovárico superior no interfiere con la ovulación de la rata adulta, y a la de Selstam y col. (81), quienes muestran que la sección bilateral del nervio no modifica la ovulación inducida. En nuestros animales y de manera semejante a lo reportado por Wylie y col. (90), la sección del nervio ovárico superior no altera el número total de ovocitos liberado al estro siguiente al día en que se realiza la denervación, sin embargo, cuando los animales son estudiados luego de un mayor tiempo de denervación (20 días), la falta de información proveniente del nervio ovárico superior provoca disminución del número total de ovocitos liberado, modificaciones del patrón de crecimiento folicular y aumento del porcentaje de folículos atrésicos. Además, en los animales con sección

unilateral del nervio ovárico superior, el número de ovocitos liberado disminuye en el ovario denervado, mientras que la respuesta del ovario que mantiene intacta su inervación es diferente en el ovario derecho y el izquierdo. Así, en los animales autopsiados en el mismo ciclo en que se realiza la denervación, la sección del nervio ovárico superior izquierdo provoca aumento del número de ovocitos liberado por el ovario derecho; en cambio, cuando se denerva el derecho, este fenómeno compensador no se observa. Estos hechos confirman la existencia de lateralización en los mecanismos neuroendócrinos que participan en la regulación del ovario, la que ha sido mostrada en diversos modelos experimentales en los que se elimina una de las vías que inervan al ovario o a una de las gónadas (14, 36, 55, 74, 75, 89).

El aumento del número de ovocitos por el ovario que mantiene intacta su inervación, podría ser explicado por la existencia de un mecanismo de tipo neural reflejo de comunicación entre ambos ovarios, tal y como ha sido sugerido por Gerendai (45), o como lo indican los resultados de la sección del nervio ovárico superior en el animal prepúbear, en los que la denervación de uno de los ovarios provoca aumento del número de ovocitos liberados por el ovario inervado, independientemente de si se trata del ovario derecho o izquierdo (68). Las evidencias de la existencia de una vía neural de comunicación entre ambos ovarios ha sido sugerida no sólo en mamíferos sino incluso en otras clases del reino

animal (55). El hecho de que a pesar de observar una disminución de la cuota ovulatoria por el ovario denervado, el número total de ovocitos sea normal (fenómeno semejante al observado en el animal hemicastrado), apoyan esta idea.

No obstante de que el animal con un ovario denervado y autopsiado en el siguiente estro vaginal después de la denervación es capaz de liberar un número de ovocitos semejante al del animal intacto, la falta del nervio en un periodo mayor se traduce en disminución del número de ovocitos liberado sin compensación por parte del ovario innervado. Estos resultados apoyan la idea de que las señales que llegan al ovario por medio del nervio ovárico superior ejercen un efecto de tipo estimulatorio y lateralizado sobre el proceso de ovulación, y muestran que la disminución del número de ovocitos liberado por el ovario denervado no es la consecuencia de una sobrestimulación provocada por la sección o la manipulación del nervio.

Por otra parte, dado que los ovocitos fueron encontrados en los oviductos y que el estudio de la población folicular no reveló la presencia de ovocitos atrapados, es posible sugerir que la denervación simpática del ovario provocada por la sección del nervio ovárico superior no afecta la expulsión del ovocito, tal y como ha sido suferido por otros autores (79).

En el ratón, la sección unilateral de ligamento no afecta el abastecimiento vascular del ovario, aunque provoca

una disminución significativa del número de folículos maduros en el ovario denervado (50). En nuestro caso, la sección unilateral del nervio, modifica la población folicular de manera diferencial según el ovario tratado. Así, en los animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo, el número de folículos de ambos ovarios es semejante al del grupo con operación simulada, mientras que se reduce cuando el nervio seccionado es el derecho. Cuando ambos nervios son seccionados, el ovario que presenta más alteraciones es también el derecho. Estos resultados indican que el ovario derecho recibe una mayor cantidad de señales provenientes del nervio ovárico superior y que un mismo tipo de manipulación provoca distintas respuestas entre ambos ovarios. Los estudios con trazadores retrógrados muestran que el ovario derecho recibe mayor número de fibras provenientes del nervio ovárico superior que el izquierdo, aunque no de manera significativa (60). Esta evidencia aunada a otras que muestran que las vías neurales que llegan al ovario tienen diferente densidad de fibras del lado derecho que del izquierdo (75), debe de ser considerada como el sustrato anatómico que explica la respuesta asimétrica que se observa tanto en el ovario intacto como en el que se somete a diferentes manipulaciones experimentales.

Las diferencias en la traducción de información por el ovario derecho o izquierdo es apoyada por el hecho de que el patrón de crecimiento folicular de los folículos

preovulatorios es diferente entre ambos ovarios, que el número de ovocitos liberado es mayor para el ovario izquierdo que para el derecho, que en la rata adulta con sección del nervio vago, el ovario denervado presenta mayor número de folículos preovulatorios que el inervado y cuando el animal además de denervado es hemicastrado los resultados del porcentaje de ovulación e hipertrofia compensadora del ovario dependen tanto del ovario in situ, como del nervio vago seccionado (derecho o izquierdo). En otras especies, como en la coneja, el patrón de registro de contracciones espontáneas y de respuesta al tratamiento con agonistas adrenérgicos es mayor para el ovario izquierdo que para el derecho (85, 86). Además, las manipulaciones a nivel gonadal modifican la síntesis de hormonas y proteínas a nivel hipotalámico dependiendo de que gónada sea removida (24, 44, 47, 59, 66).

Los resultados muestran que en animal denervado el crecimiento folicular está acelerado y que es posible que tal y como lo indican diferentes autores, la falta de inervación se traduzca en un aumento de la sensibilidad del ovario a las gonadotropinas (27, 50). Los datos pueden también ser interpretados como "falta de regulación" o "ausencia de un freno fisiológico" que permita el paso del folículo del "pool" de reserva al de crecimiento. Esta interpretación estaría apoyada por el hecho de que a pesar de que mayor número de folículos crece, muchos de ellos presentan signos de atresia y que el número de ovocitos está disminuido. El

mecanismo por el cuál el folículo se sensibiliza a las gonadotropinas o por el que se eliminaría el freno que permite su entrada al "pool" de crecimiento no es conocido, pero se sabe que la principal hormona involucrada es la FSH y que el proceso no implica cambios en la síntesis de AMP cíclico (2). El hecho de que la mayoría de los folículos en crecimiento sean atrésicos podría indicar también un aumento en la síntesis de andrógenos provocada por la denervación, o bien una disminución en la tasa de conversión de andrógenos a estrógenos, eventos que han sido observados en otros modelos en que se realiza denervación (2, 52).

Si bien la sección del nervio ovárico superior modifica la respuesta del ovario a la FSH, altera también la de la LH, ya que cuando los animales son tratados con hCG el ovario denervado es incapaz de responder con un aumento del número de ovocitos liberados. El hecho de que la gónada denervada disminuya su reactividad a las gonadotropinas ha sido ya mostrada por otros autores (11, 50). En nuestro modelo, y a diferencia de lo que ocurre con una denervación farmacológica en la que se observa que la inervación catecolaminérgica modula la respuesta del ovario a la FSH, la inervación que llega a la gónada por el nervio ovárico superior estaría vinculada con la respuesta del ovario tanto a la FSH como a la LH. Dado que los resultados de la sección del nervio ovárico superior son diferentes a los obtenidos por la administración de reserpina (29), en los que la

denervación catecolaminérgica seguida por la aplicación de FSH aumenta el número de ovocitos liberado; es posible sugerir que es la información peptidérgica la que modula la respuesta del ovario a la LH, o bien y tal como ha sido indicado por Weiss y col. (88), la inervación simpática desempeña un papel permisivo (modulando el efecto de la hormonas tróficas, particularmente LH), sobre la esteroidogénesis ovárica y que los efectos neurales no se den sólo en las células de la glándula intersticial, sino también sobre otros compartimentos del ovario.

Es importante señalar que en los animales con estímulo gonadotropico también se observa respuesta asimétrica de los ovarios y que se presenta tanto en el ovario denervado como en el inervado. Así, cuando el ovario derecho mantiene su inervación, el número de ovocitos liberado por este ovario en respuesta a la hCG es del doble del que se libera en un animal testigo con ambas gónadas inervadas. En cambio, el ovario izquierdo no aumenta su cuota ovulatoria frente al mismo estímulo.

Estos hechos apoyan también la idea de comunicación entre ambos ovarios y de diferencias en la traducción de la información que llega al ovario a través del nervio ovárico superior. Al parecer la gónada derecha posee una "mayor capacidad de respuesta" a diferentes estímulos que la izquierda, tal y como ha sido mostrado con anterioridad (28, 40).

Nuestros resultados muestran que la eliminación de una de las gónadas en el día del proestro resulta en una ovulación compensadora, tal y como ha sido reportado por diversos autores (33, 39, 71), y que la sección del nervio ovárico superior bloquea el proceso de compensación, al menos en los primeros días postdenervación. En este modelo se evidencia nuevamente que el ovario presenta respuestas diferenciales, ya que sólo uno de los animales con el ovario izquierdo *in situ* y denervado ovula, mientras que cuando el ovario que queda es el derecho el 80% de los animales lo hace. Indican además que en el animal hemicastrado y sacrificado 6 días después la remoción del ovario derecho da como resultado un proceso de hipertrofia compensadora del ovario remanente que depende del día del ciclo en que se realiza la hemiovariectomía, mientras que la eliminación del izquierdo da aumentos de peso semejantes, independientemente del día del ciclo en que se hemiovariectomiza al animal. No obstante que en las primeros días después de la extirpación de una de las gónadas se observa una respuesta diferencial en el porcentaje de hipertrofia compensadora alcanzada por el ovario derecho o izquierdo, esta diferencia no se mantiene. Estos resultados y los de otros autores permiten suponer que la modulación de los mecanismos que resultan en la hipertrofia compensadora presenta una fase inicial, en la que el ovario *in situ* se "entera" de la falta del otro ovario y en la que se originan los procesos de compensación, los

cuales van a depender tanto de la gónada remanente como de la integridad de su inervación. Y otra fase, en la que el ovario in situ ha aumentado de peso y modificado su respuesta a las gonadotropinas y es capaz de liberar un número de ovocitos semejante al del animal intacto. Este planteamiento es apoyado por el hecho de que los cambios en las concentraciones plasmáticas de gonadotropinas se observan sólo entre las primeras 5 a 12 horas posthemicastración y que dichas variaciones pueden ser eliminadas por la denervación (16).

Los resultados de Gerendai y col. (45) muestran que, la degeneración de elementos neuronales del ovario inducidos por la administración de 6-OHDA bloquean el desarrollo de hipertrofia compensadora que sigue a la hemicastración y postulan la participación de un elemento neural en la regulación de dicho proceso (46).

En nuestro caso, los efectos de la sección del nervio ovárico superior sobre el proceso de hipertrofia compensadora del ovario dependen del día del ciclo en que se realiza la hemicastración y sus resultados son inversos a los que se observan en el animal que sólo es hemicastrado (aumento cuando la intervención se realizó al comienzo del ciclo, estro y diestro 1 y disminución cuando se realizó al final del mismo, diestro 2 y proestro). Esta diferencia de respuesta a la hemicastración en cada uno de los días del ciclo estral puede estar asociada tanto con la variación de

la cantidad de receptores adrenérgicos durante este periodo (56), como con el propio contenido de noradrenalina ovárica al momento de la hemicastración. Los resultados de Farrar y col. (38), apoyan esta idea ya que en el cobayo, el inicio del aumento de peso del ovario remanente está asociado con una disminución en el contenido de noradrenalina ovárica.

Al igual de lo que ocurre en la coneja, en la rata, la denervación simpática no modifica la fertilización de los ovocitos ni la preñez (73, 89). Estos datos apoyan la idea de que el ligamento ancho (también conocido como ligamento uterino) no juega un papel determinante en la expulsión y transporte de ovocitos maduros, así como tampoco en el proceso de implantación ni de conservación de la preñez, tal y como ha sido reportado en ratas gestante en que se seccionan ambos nervios ováricos a los 7, 10, 14 y 18 días de preñez y en los que se demuestra la ausencia de fibras noradrenérgicas (79). El hecho de que en el animal hemicastrado la implantación se realice sólo en el cuerno uterino adyacente al ovario *in situ* y que no se presente migración de fetos hacia el otro cuerno uterino apoyan también esta observación.

Aunque en nuestros experimentos no se cuantificó la conducta de lordosis, los resultados obtenidos confirman las observaciones realizadas por Ersinke y Weaver (35), quienes indican que la sección del nervio modifica la receptividad de las hembras sólo en las primeras horas postdenervación para

después ser semejante al del animal normal. En nuestro caso, todas las hembras puestas con machos fértiles 20 días después de la denervación quedaron preñadas en el día del proestro observado.

En los animales denervados y preñados, el número de fetos totales corresponde al número total de ovocitos liberado después de un periodo postoperatorio de cinco ciclos; sin embargo, en el caso de los animales con sección del nervio izquierdo o de ambos nervios ováricos, el número de fetos implantado en el cuerno uterino derecho es mayor que el de ovocitos liberado. Este hecho permite sugerir que la cópula estimula la liberación de ovocitos y pone nuevamente de manifiesto la diferencia de respuesta entre ambos ovarios ya que es la gónada derecha, la que es capaz de compensar las modificaciones provocada por la falta de inervación.

#### **CONCLUSIONES**

Los resultados de este trabajo muestran que:

- el nervio ovárico superior participa en los mecanismos de regulación de la función del ovario, ya que su sección modifica el proceso ovulatorio
- en el animal adulto con ambas gónadas, el nervio ovárico superior modula de manera estimuladora la ovulación y la respuesta del compartimento folicular a las gonadotropinas

- los resultados del número de ovocitos liberados por el ovario derecho o el izquierdo llevan a pensar en la posibilidad de la existencia de un mecanismo de regulación que afecta a cada ovario
- las modificaciones sobre el proceso ovulatorio dependen del día del ciclo en que se elimine la información que llega al ovario por el nervio ovárico superior
- la información que llega al ovario vía el nervio ovárico superior, modula de forma inhibitoria el proceso de hipertrofia compensadora del ovario en el animal hemicastrado
- que la expulsión del ovocito, la fertilización y la preñez no dependen de la integridad de la inervación aferente al ovario vía el nervio ovárico superior.
- y que al parecer existe una vía de comunicación neural entre ambos ovarios, la que al menos en parte, es de tipo catecolaminérgico y peptidérgico.

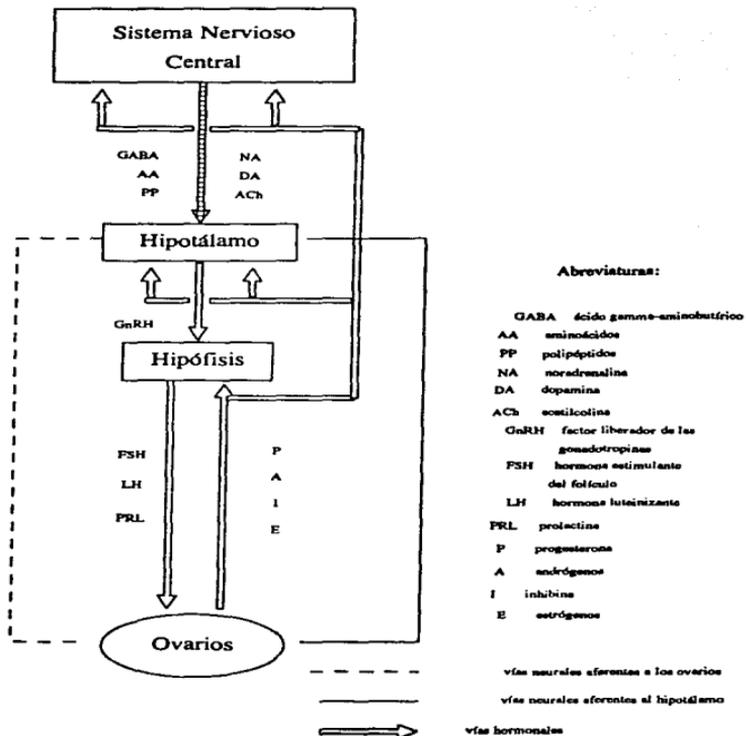
**ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

## PERSPECTIVAS DE TRABAJO

Numerosas interrogantes surgen de los resultados obtenidos en este trabajo, algunas de ellas se plantean a continuación como temas de trabajo futuro.

- ¿ Existe realmente una comunicación entre ambos ovarios? ¿Cuál es su naturaleza: neural, hormonal o ambas?
- ¿ Es acaso que la respuesta diferencial de cada una de las gónadas estriba en diferencias intrínsecas de cada ovario, es decir, poseen diferente cantidad de receptores, o la cantidad de hormonas que llega a cada ovario es diferente, o que el contenido de neurotransmisores en cada gonada difiere? - ¿ Desde que momento de la vida del animal se presentan estas diferencias?
- ¿ La lateralización de los mecanismos que regulan la función del ovario se presenta sólo en la rata o en toda la escala del reino animal?
- ¿ Cuáles son los mecanismos neurales que activan el proceso de hipertrofia compensadora de los órganos pareados?
- ¿ Cómo se relacionan los mecanismos de lateralización periférica con los que ocurren a nivel del Sistema Nervioso Central?
- ¿Cuál es la vía de información neural que utiliza el ovario para comunicarse con el Sistema Nervioso Central?
- ¿ Cómo varía con el ambiente neuroendócrino del animal en estudio?

El modelo de trabajo que engloba éstas y muchas otras interrogantes es el siguiente:



## BIBLIOGRAFIA

- 1.- ADASHI, E. Y., y HSUEH, A.J. W. (1981). Stimulation of  $\beta_2$ -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells *in vitro* and *in vivo*. *Endocrinology* 108:2170-2178.
- 2.- AGUADO, L.I. y OJEDA, S.R. (1986). Prepubertal rat ovary: hormonal modulation of  $\beta$ -adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. *Biology of Reproduction* 34:45-50.
- 3.- AGUADO, L.I. y OJEDA, S.R. (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114:1944-1946.
- 4.- ALLEN, L.G., HODSON, A.C., BURDEN, W.H. y LAWRENCE, E.I. (1983). Effect of vagotomy on postcastration gonadotropin secretion in male rats. *Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine*. 173:613-619.
- 5.- ALLEN, L.G., LAWRENCE, I.E. Jr., BURDEN, H.W. y HODSON, C.A. (1985). Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentration in female rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 74:87-94.
- 6.- AHMED, C.E., DEES, W.L. y OJEDA, S.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.
- 7.- AYALA, M.E. y DOMINGUEZ, R. (1988). Ovulatory response to the sequential administration of follicle stimulating hormone and human chorionic gonadotropin by autografted ovary in unilaterally denervation in induced by guanethidine treatment. *Revista de Investigación Clínica* 40:149-155.
- 8.- BAHR, J.M., KAO, L. y NALVANDOV, A.V. (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biology of Reproduction* 10:273-290.
- 9.- BEN-JONATHAN, N., ARBOGAST, L.A., RHOADES, T.A. y BAHR, J.M. (1984). Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and  $\alpha$  novo synthesis. *Endocrinology* 115:1426-1431.
- 10.- BEN-JONATHAN, N., BRAW, R.H., REICH, L.R., BAHR, J.M. y TSAFIRI, A. (1982). Norepinephrine in graafian follicles is depleted by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 110:457-461.

- 11.- BRINK, C.E. y GROB, H.S. (1972). Response of the denervated mouse ovary to exogenous gonadotropins. *Biology of Reproduction* 9:108.
- 12.- BULMER, D. (1965). A histochemical study of ovarian cholinesterases. *Acta Anatomica* 62:254-265.
- 13.- BURDEN, W.H. (1972). Adrenergic innervation in ovaries of the rat and guinea pig. *American Journal of Anatomy* 133:455-462.
- 14.- BURDEN, W.H. (1978). Ovarian Innervation. En: *The Vertebrate ovary: Comparative Biology*. R.E. Jones Ed. Plenum Press. Cap. 18:615-638.
- 15.- BURDEN, W.H. (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines as hormone regulators*. Ed. Nira Ben-Jonathan and Richard Weir. Raven Press. New York 261-267.
- 16.- BURDEN, H.W., I.E. y LAWRENCE Jr. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23:360-378.
- 17.- BURDEN, H.W., LAWRENCE, I.E. Jr. y HODSON, C. (1980). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on pituitary content of prolactin and gonadotropins. *IRCS Medical Science* 8:809.
- 18.- BURDEN, H.W., LEONARD, M., SMITH, C.P. y LAWRENCE, I.E. Jr. (1983). The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record* 207:623-627.
- 19.- BURDEN, H.W., LAWRENCE, I.E. Jr., LOUIS, T. M. y HODSON, Ch.A. (1981). Effects of abdominal vagotomy on the oestrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology* 33:218-222.
- 20.- BURDEN, H.W. y LAWRENCE, I.E. Jr. (1978). Experimental studies on the acetylcholinesterase-positive nerves in the ovary of the rat. *The Anatomical Record* 190:233-242.
- 21.- CASTREN, O., AIRAKSINEN, M. M., FRISTROM, S. y SAARIKOSKI, S. (1973). Decrease of litter size and fetal monoamines by 6-hydroxidopamine in mice. *Experientia* 29:576-578.
- 22.- CONDON, W.A. y BLACK, D.L. (1976). Catecholamine-induced stimulation of progesterone by the bovine corpus luteum in vitro. *Biology of Reproduction* 15:573-578.

- 23.- CRUZ, M.E., CHAVEZ, R. y DOMINGUEZ, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *Revista de Investigación Clínica* 38:167-171.
- 24.- CRUZ, Ma. E., JARAMILLO, L.P. y DOMINGUEZ, R. (1989). Asymmetric ovulatory response induced by unilateral implant of atropine in the anterior hypothalamus of the cyclic rat. *Journal of Endocrinology* 123:437-439.
- 25.- CRUZ, M.E., MORAN, J.L., JARAMILLO, L.P. and DOMINGUEZ, R. (1989). Differential effects of unilateral hypothalamic lesion on ovulatory and compensatory ovarian hypertrophy in hemiovariectomized adult rats. *Journal of Endocrinology* 124:37-41.
- 26.- CURRY, T.E. Jr., LAWRENCE, I.E. Jr. y 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.
- 27.- CURRY, T. E. Jr., LAWRENCE, I. E. Jr. y BURDEN, H.W. (1984). Ovarian sympathectomy in the guinea pig. II Effects on follicular development during the prepubertal period and following exogenous gonadotropin stimulation. *Cell Tissue Research* 236:593-596.
- 28.- CHAVEZ, R., CRUZ, M.E. y DOMINGUEZ, R. (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerve on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology* 113:397-401.
- 29.- CHAVEZ, R., CRUZ, Ma. E. y DOMINGUEZ, R. (1987). Modifications of the ovarian response to gonadotropins induced by catecholamine depletion in vagotomized adult rats. *Revista de Investigación Clínica* 39:149-153.
- 30.- CHAVEZ, R., SANCHEZ, S., ULLOA-AGUIRRE, A. y DOMINGUEZ, R. (1989). Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrous cycle in the rat. *Journal of Endocrinology* 123:441-444.
- 31.- DEES, W.L., AHMED, C.E. y OJEDA, S.R. (1986). Substance P- and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology* 119:638-641.
- 32.- DOMINGUEZ, R. y RIBONI, L. (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology* 7:164-170.

- 33.- EDGREN, R.A., PARLOW, A.F., PETERSON, D.L. y JONES, R.C. (1965). On the mechanism of ovarian hypertrophy following hemicastration in rats. *Endocrinology* 76:97-102.
- 34.- ELLINWOOD, W.E., NETT, T. M. y NISWENDER, G.D. (1978). Ovarian vasculature: structure and function. in *The Vertebrate Ovary. Comparative Biology* ed. R.E. Jones Plenum Press :538-614.
- 35.- ERSKINE, M.S.y WEAVER, C.E. Jr. (1988). The role of ovarian sympathetic innervation in the control of oestrous responsiveness in the rat. *Hormones and Behavior* 22:1-11.
- 36.- ESPEY, L.L. (1978). Ovarian contractility and its relationship to ovulation: a review. *Biology of Reproduction* 19:540-551.
- 37.- EVERETT, J.W. (1948). Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 43:389-405.
- 38.- FARRAR, J.A., HANDBERG, G.N., HARTLEY, M.L. y 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.
- 39.- FLORES, A., MORALES, L., ULLOA-AGUIRRE, A. y DOMINGUEZ, R. (1990). Acute changes in serum levels of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrus cycle of the rat. *Medical Science Research* 18:819-821.
- 40.- FRANKEL, A.I., CHAPMAN, J.C. y COOK, B. (1989). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. *Journal of Endocrinology* 122:485-488.
- 41.- FUKUDA, M., YAMANOUCHI, K., NAKANO, Y., FURUYA, H. y ARAI, Y. (1984). Hypothalamic laterality in regulating gonadotropin function: unilateral hypothalamic lesion and ovarian compensatory hypertrophy. *Neuroscience Letters* 51:365-370.
- 42.- GELRDED, J.B. y PEPPLER, R.D. (1979). Effect of spinal cord transection on the reproductive system in the female rat. *Neuroendocrinology* 29:293-299
- 43.- GERENDAI, I. (1986). Laterality in the neuroendocrine system. in: *Duality unit of the brain*. Ed. by David Ottoson Mc Millan Cap.2:17-25.

- 44.- GERENDAI, I. y HALASZ, B. (1976). Hemigonadectomy-induced unilateral changes in the protein-synthesizing activity of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology* 21:331-337.
- 45.- GERENDAI, I., MARCHETTI, B., MAUGERI, S., AMICO ROXAS, M. y SCAPAGNINI, U. (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA. *Neuroendocrinology* 27:272-278.
- 46.- GERENDAI, I., MARCHETTI, B. y SCAPAGNINI, U. (1979). Monoaminergic peripheral regulation of compensatory ovarian hypertrophy. Proceedings of Sero Symposium. New York Academic Press 103-113.
- 47.- GERENDAI, I. NEMESKERI, A. y CSERNUS, U. (1986). The effect of neonatal vasectomy on testicular function. *Andrologia* 13:275-282.
- 48.- GERENDAI, I., ROTSZTEJN, W., MARCHETTI, B. y SCAPAGNINI, U. (1979). LHRH content changes in the mediobasal hypothalamus after unilateral ovariectomy. *En: Neuroendocrinology: Biological and Clinical Aspects*. Academic Press, London 97-102
- 49.- GRAHAM, J.D.P. y SANI, D.A. (1971). Effect of stilbestrol on the response of the perfused uterine or ovarian vessels of the rabbit to catecholamine and acetylcholine. *Journal of Physiology (London)* 218:64P-65P.
- 50.- GROB, H.S. (1969). Effect of denervation of the mouse ovary. *American Zoology* 9:1086.
- 51.- GROB, H.S. (1974). Follicle growth in denervated ovaries of hypophysectomized mice. *Federation Proceedings* 33:213.
- 52.- HILL, T.R. (1962). Paradoxical effects of ovarian secretion. *En: The ovary*. Zuckerman and Weir. Academic Press. pp:231-261.
- 53.- HIRSFIELD, A.N. (1983). Compensatory ovarian hypertrophy in the long-term hemicastrate rat: size and distribution of growing and atretic follicles. *Biology of Reproduction* 28:271-278.
- 54.- JACOBOWITZ, D. y WALLACH, H.E. (1967). Histochemical studies of the autonomic innervation of the ovary. *Endocrinology* 81:1132-1139.
- 55.- JONES, R.E., DESAN, P.H., LOPEZ, K.H. y AUSTIN, H.B. (1990). Assymetry in diencephalic monoamine metabolism is related to side of ovulation in a reptile. *Bain research* 506:187-191.

- 56.- JORDAN, A.W.(1981). Changes in ovarian b-adrenergic receptors during the estrous cycle of the rat. *Biology of Reproduction* 24:245-248.
- 57.- KAO, L.W.L. y NALBANDOV, A.V. (1972). The effect of antiadrenergic drugs on ovulation in hens. *Endocrinology* 90:1343-1349.
- 58.- KAWAKAMI, M., KUBO, K., UEMURA, T., NAGASE, M. y HAYASHI, R.(1981). Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. *Endocrinology* 109:136-145.
- 59.- KAWAKAMI, M. and VISESSUVAN, S. (1979). The differing responsiveness of the anterior - and the middle- anterior hypothalamic area to estradiol benzoate implant. Inhibition of compensatory ovarian hypertrophy. *Endokrinologie, Band 74, Heft 3-272-286.*
- 60.- KLEIN, C.M. y BURDEN, H.W. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neuroscience Letters* 85:217-222.
- 61.- KUNTZ, A. (1945). *The autonomic nervous system.* Bailliere, Tindall & Cox, London. pp:340-350.
- 62.- LAWRENCE, I. E.Jr. y BURDEN, H.W. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record* 196:51-59.
- 63.- LAWRENCE, I. E. y BURDEN, H.W. and LOUIS, T.M (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. *Journal of Reproduction and Fertility* 53:131-136.
- 64.- LePERE, R.H., BENOIT, R.E., HARDY, R.C. y GOLZICHER, J.W. (1966). The origin and function of the ovarian nerve supply in the baboon. *Fertility and Sterility* 17:68-75.
- 65.- MacDONALD, E.J. y AIRAKSINEN, M.N. (1974). The effect of 6-hydroxidopamine on the oestrus cycle and fertility of rats. *Journal of Pharmacology and Pharmacol* 26:518-521
- 66.- MIZUNUMA, H., DePALATIS, L, R. y McCANN, S. (1983). Effect of unilateral orchidectomy on plasma FSH concentration: evidence for a direct neural connection between testes and CNS. *Neuroendocrinology* 37:291-296.
- 67.- MOSHIN, S. y PENNEFATHER, J.N. (1979). The sympathetic innervation of the mammalian ovary. A review of pharmacological and histological studies. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 6:335-354.

- 68.- MORALES, L., CHAVEZ, R. y AYALA, Ma. E. (1990). Differences in spontaneous ovulation after unilateral or bilateral section of the superior ovarian nerve in prepubertal rat. XV Reunión Anual AIBIR, 78-82.
- 69.- NISWENDER, G.D., MOORE, R.T., AKBAR, A., NETT, T. y DIECKMAN, M. (1975). Flow of blood to the ovaries of ewes through the estrous cycle. *Biology of Reproduction* 13:381-388.
- 70.- NISWENDER, G., REIMERS, T., DIECKMAN, M. y NETT, T.M. (1976). Blood flow: a mediator of ovarian function. *Biology of Reproduction* 14:64-81.
- 71.- OTANI, T. y SASAMOTO, S. (1982). Plasma and pituitary hormone changes and follicular development after unilateral ovariectomy in cyclic rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 65:347-353.
- 72.- OWMAN, CH., ALM, P. y SJOBERG, N-O (1983). Pelvic autonomic ganglic structure, transmitters, function and steroid influence. *Autonomic Ganglia* 125-143
- 73.- PATON, D., WIDDICOMBE, J.H., RHEAUME, D.E. y JOHNS, A. (1978). The role of adrenergic innervation of the oviduct in the regulation of mammalian ovum transport. *Pharmacology Review* 29:67-102.
- 74.- PAYER, A.F. (1978). Ultrastructural study of the nerve plexus accompanying the ovarian artery and vein in the rat. *The Anatomical Record* 190:47-64.
- 75.- POWLEY, T.L., PRECHTL, C.J., FOX, A.E. y 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.
- 76.- RATNER, A., SANBORN, C.R. y WEISS, G.K. (1980).  $\beta$ -adrenergic stimulation of cAMP and progesterone in rat ovarian tissue. *American Journal of Physiology* 239:E139-E143.
- 77.- RICARDO, J.A. y KOH, E.T. (1978). Anatomical evidence of direct projection from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in the rat. *Brain. Research* 153:1-26.
- 78.- ROCERETO, T., JACOBOWITZ, D. y WALLACH, E.E. (1969). Observations of spontaneous contractions of the cat ovary *in vitro*. *Endocrinology* 84:1336-1341.

- 79.- ROCHE, P.J., PARKINGTON, H.C. y GIBSON, W.R.(1985). Pregnancy and parturition in rats after sympathetic denervation of the ovary oviduct and utero-tubal junction. *Journal of Reproduction and Fertility* 75:653-661.
- 80.- SELSTAM, G., GAFVELS, M., NORJAVAARA, E. y DAMBER, J-E. (1985). Acute increase of noradrenaline on vascular resistance in the corpus luteum of the pseudopregnant rat. *Journal of Reproduction and Fertility* 75:351-356.
- 81.- SELSTAM, G., NORVAJAARA, E., TEGENFELT, T., LUNDBERG, S., SADMSROM, C. y PERSSON, S. (1985). Partial denervation of the transection of the suspensory ligament does not inhibit ovulation in rats treated with pregnant mare serum gonadotropin. *Anatomical Record* 213: 392-395.
- 82.- SJOBERG, N-O. (1969). New considerations on the adrenergic innervation of the cervix and uterus. *Acta Obstetricia et Gynecologica XLVIII:28-32.*
- 83.- STEFENSON, A., OWMAN, CH., SJOBERG, N-O., SPORRONG, B. y WALLE, 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.
- 84.- STERIN-BORDA, L., BORDA, E., GIMENO, M.F. y GIMENO, A.L. (1976). Spontaneous and prostaglandin -or oxytocin- induced motility of rat ovaries isolated during different stages of the estrous cycle: effects of norepinephrine. *Fertility and Sterility* 27:319-327.
- 85.- VIRUTAMASEN, P., HICKOK, R.L. y WALLACH, E.E. (1971). Local ovarian effects of catecholamines on human chorionic gonadotropin-induced ovulation in the rabbit. *Fertility and Sterility* 22:235-243.
- 86.- VIRUTAMASEN, P., WRIGHT, K.H. y WALLACH, E.E. (1972). Effects of catecholamines on ovarian contractility in the rabbit. *Obstetrics and Gynecology* 39:225-236.
- 87.- WALLE, B., GROSCHEL-STEWART, U., OWMAN, CH., SJOBERG, N-O. y UNSICKER, 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 follicle wall. *Journal of Reproduction and Fertility* 52:175-178.
- 88.- WEISS, G.K., DAIL, W.G. y RATNER, A. (1982). Evidence for direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats. *Journal of Reproduction and Fertility* 65:507-511.

89.- WEINER, S., WRIGHT, K.H. y WALLACH, E.E. (1975). Lack of effect of ovarian denervation on ovulation and pregnancy in the rabbit. *Fertility and Sterility* 26:1083-1087.

90.- WYLIE, S.N., ROCHE, P.J. y GIBSON, W.R. (1985). Ovulation after sympathetic denervation of the rat ovary produced by freezing its nerve supply. *Journal of Reproduction and Fertility* 75:369-373.

91.- YOSHIMURA, Y. y WALLACH, E. (1987). Studies of the mechanism(s) of mammalian ovulation. *Fertility and Sterility* 47:22-34.

92.- ZSOLNAI, B., VARGA, B. y HORVATH, E. (1982). Increase of ovarian progesterone secretion by  $\beta_2$ -adrenergic stimulation in oestrus rats. *Acta Endocrinologica* 101:268-272.