

6



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
* ZARAGOZA *

ESTUDIO DE LA PARTICIPACIÓN DEL NERVI VAGO EN LOS MECANISMOS NEUROENDÓCRINOS QUE REGULAN EL INICIO DE LA PUBERTAD ESPONTÁNEA DE LA RATA HEMBRA

294819

T E S I S

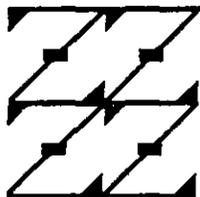
Que para obtener el título de

B I Ó L O G O

Presenta:

ROCÍO BETANZOS GARCÍA

Directora de tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma



LO HUMANO
EJE
DE NUESTRA REFLEXION

MEXICO, D.F.

2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
" ZARAGOZA "**

**Estudio de la participación del nervio vago en los
mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio
de la pubertad espontánea de la rata hembra**

Autora: Rocío Betanzos García

Directora de tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva que pertenece a la Unidad Investigación en Biología de la Reproducción de la FES Zaragoza y en el Laboratorio de Hormonas Esteroides del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo financiero de CONACyT proyecto 29006N y de la Fundación UNAM a través del Programa de Becas para Tesis de Licenciatura en Proyectos de Investigación. (PROBÉTEL).

Con amor para mi abuelita Juana, mi gratitud por el apoyo
incondicional que siempre me ha brindado
y sin el cual no hubiera podido realizar este trabajo

A mi tía Galdina, por la sensibilidad que la
caracteriza y porque siempre puedo contar
con su ayuda

Agradezco

A los miembros del jurado:

M. en B. R. A. Ma. Judith Villavicencio Macías
Dra. Leticia Morales Ledesma
Dra. Patricia Patricia Rosas Saucedo
M. en C. Luis Sánchez Sánchez
Biól. Carolina Morán Raya

Por dedicar tiempo a la revisión de éste trabajo y compartir sus conocimientos para enriquecerlo

A la Dra. Leticia Morales Ledesma por su acertada dirección, infinita paciencia, apoyo constante y por tratar de que seamos autosuficientes en todo momento

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá por transmitimos el deseo de realizar investigación

Al Biól. Roberto Chavira por su colaboración en la cuantificación de las hormonas esteroides

Al M. en C. Ubaldo Quiróz López por sus valiosas sugerencias

Al Biól. Alejandro D. Domínguez González por la ayuda en la realización de los esquemas

A la Sra. Ma. Luisa Ilescas por la realización de los cortes histológicos y a todos los trabajadores del bioterio de la Facultad por cuidar de los animales

A mis padres, como un pequeño reconocimiento por la tenacidad y el deseo de superación con que han enfrentado los problemas a lo largo de su existencia

Con cariño para Ana Lilia, Claudia, Laura, Agustín
y Juan Pablo, esperando que cada uno
encuentre *un camino con corazón*.

A David por llenar mi vida de
alegrías, tristezas, locuras y sueños

ÍNDICE

RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
• Pubertad.....	4
• Desarrollo del folículo ovárico.....	13
• Regulación neuroendócrina del inicio del crecimiento folicular.....	20
• Aspectos anatómicos del nervio vago.....	22
• Participación de la información vagal en las funciones reproductivas.....	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	37
HIPÓTESIS	38
OBJETIVOS	39
MATERIAL Y MÉTODOS	40
RESULTADOS	45
<i>Experimento 1.</i> Efectos de la laparotomía realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre inicio de la pubertad espontánea.....	45
<i>Experimento 2.</i> Efectos de la sección uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre inicio de la pubertad espontánea.....	49
• Denervación realizada a los 24 días de edad.....	49
• Denervación realizada a los 28 días de edad.....	54

Experimento 3. Efectos de la estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre inicio de la pubertad espontánea..... 59

- Estimulación mecánica realizada a los 24 días de edad..... 59
- Estimulación mecánica realizada a los 28 días de edad..... 64
- Comparación de la respuesta ovulatoria de los animales con sección vs. estimulación mecánica del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil..... 69

Experimento 4. Efectos de la denervación o de la estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago, realizada al inicio o al final de la etapa juvenil, sobre la concentración sérica de las hormonas esteroides evaluadas al primer estro vaginal..... 73

- Sección uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil..... 74
- Estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil..... 76
- Efectos de la sección vs. estimulación mecánica del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre la concentración sérica de las hormonas esteroides..... 78

Experimento 5. Efecto de la sección bilateral del nervio vago realizada al final de la etapa juvenil sobre la dinámica del crecimiento y la diferenciación del folículo ovárico..... 82

DISCUSIÓN	90
CONCLUSIONES	102
BIBLIOGRAFÍA	104
APÉNDICE A	120
APÉNDICE B	122

RESUMEN

La ovulación es un proceso regulado por las hormonas provenientes del hipotálamo y de la hipófisis, así como por las sintetizadas por la propia gónada; la acción que ejercen estas hormonas es modulada por la inervación extrínseca e intrínseca del ovario. Por estudios inmunohistoquímicos se ha mostrado que el ovario de los mamíferos es inervado por el nervio vago cuyos somas neuronales se localizan a nivel de los segmentos T10 y L1 de la médula espinal. Se han detectado en el vago fibras colinérgicas; sin embargo, la naturaleza de la información que viaja por los troncos vagales es predominantemente sensorial. Entre los péptidos que transporta se encuentran: la sustancia P, el polipéptido intestinal vasoactivo y el neuropéptido Y.

Se ha reportado que en la rata prepúber de 24 días de edad, la sección bilateral del nervio vago provoca retraso en el inicio de la pubertad, *in vitro* reduce la síntesis de estrógenos e incrementa la de andrógenos. Sin embargo, a la fecha se desconoce si la participación de los nervios en estos procesos es asimétrica. Por lo anterior, en el presente trabajo se planteó analizar los efectos de la denervación o de la estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios, realizadas al inicio o al final de la etapa juvenil, sobre el inicio de la pubertad, la primera ovulación espontánea y las concentraciones séricas de las hormonas esteroides.

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV de 24 ó 28 días de edad (inicio o final de la etapa juvenil) a las cuales se les practicó una denervación o estimulación mecánica unilateral (izquierda o derecha) o bilateral del nervio vago (ambos nervios), como grupos testigo se utilizaron animales con operación simulada (laparotomía) o sin ningún tratamiento. Todos los animales fueron sacrificados por decapitación al presentar el primer estro vaginal.

Tanto la denervación unilateral como la bilateral del nervio vago realizada a los 24 días de vida retrasaron, en comparación con los animales laparotomizados, el inicio de la pubertad medido como la edad (en días) de la apertura vaginal (Sección del Nervio Vago Izquierdo, SNVI: 42.33 ± 1.31 ; Sección del Nervio Vago Derecho, SNVD: 46.10 ± 0.85 ; Sección Bilateral del Nervio Vago, SBNV: 52.56 ± 2.36 vs. Operación Simulada, OS: 38.78 ± 1.01 , $p < 0.05$) así como la edad del primer

estro vaginal (SNVI: 42.78 ± 1.32 ; SNVD: 46.30 ± 0.83 ; SBNV: 52.78 ± 2.37 vs. OS: 38.78 ± 1.01 , $p < 0.05$). Estos eventos se acompañaron por una disminución en las concentraciones séricas (pg/ml) de 17β -estradiol (SNVI: 18.33 ± 1.15 , SNVD: 17.20 ± 1.36 , SBNV: 15.83 ± 2.04 vs. OS: 24.40 ± 0.87 , $p < 0.01$).

A los 28 días de edad, tanto la sección unilateral derecha como la bilateral del nervio vago provocaron retraso en la edad (en días) de la apertura vaginal (SNVD: 43.92 ± 0.51 , SBNV: 47.25 ± 0.65 vs. OS: 40.80 ± 0.59 , $p < 0.05$) y en la aparición del primer estro (SNVD: 44.15 ± 0.49 , SBNV: 48.13 ± 0.81 vs. OS: 40.80 ± 0.59 , $p < 0.05$) así como reducción en la síntesis de estradiol por parte de los ovarios (SNVD: 25.71 ± 2.46 , SBNV: 18.66 ± 0.78 vs. OS: 37.48 ± 3.42 , $p < 0.001$). Dado que únicamente la sección de ambos nervios aumentó el número total de ovocitos liberados al estro (11.50 ± 0.56 vs. 8.67 ± 0.44 , $p < 0.05$) se decidió conocer la dinámica del crecimiento folicular en este grupo experimental. Tanto en el ovario izquierdo como en el derecho de los animales denervados se observó, en comparación con el grupo laparotomizado, incremento en el número total de folículos (ovario izquierdo: 315.5 ± 34.5 vs. 164.0 ± 21.7 ; ovario derecho: 346.50 ± 19.50 vs. 237.0 ± 15.9 , $p < 0.02$) así como en el de aquellos cuyo diámetro se encontró en el rango de 50 a 99 μm (ovario izquierdo: 151.5 ± 12.5 vs. 40.7 ± 2.9 ; ovario derecho: 169.5 ± 3.5 vs. 81.0 ± 6.2 , $p < 0.001$).

Al inicio de la etapa juvenil, tanto la estimulación mecánica unilateral (izquierda o derecha) como la ambos nervios nervio vago, provocaron retraso en la edad (en días) de canalización de la vagina (Estimulación del Nervio Vago Izquierdo, ENVI: 41.67 ± 0.78 ; Estimulación del Nervio Vago Derecho, ENVD: 43.50 ± 1.89 ; Estimulación Bilateral del Nervio Vago, EBNV: 43.44 ± 1.03 vs. OS: 38.78 ± 1.01 , $p < 0.05$) y en la aparición del primer estro (ENVI: 42.11 ± 0.98 , ENVD: 43.50 ± 1.89 , EBNV: 43.56 ± 1.06 vs. OS: 38.78 ± 1.01 , $p < 0.05$). Todos los animales con estimulación presentaron al estro disminución significativa en las concentraciones séricas (pg/ml) de 17β -estradiol (ENVI: 6.25 ± 0.75 , ENVD: 11.50 ± 1.56 , EBNV: 10.00 ± 0.89 vs. OS: 24.40 ± 0.87 , $p < 0.001$).

La estimulación bilateral realizada a los 28 días de edad, provocó retraso en la edad (en días) en la que se presentó la canalización vaginal (44.40 ± 1.29 vs. 40.80 ± 0.59 , $p < 0.05$). En estos animales el inicio de la pubertad se acompañó del primer estro vaginal y de una marcada disminución en la concentración (pg/ml) sérica de estradiol (7.12 ± 0.66 vs. 37.48 ± 3.42 , $p < 0.001$).

Los resultados de este trabajo nos permiten sugerir que:

- 1) La información neural que transcurre por los nervio vago modula de manera estimulante los procesos neuroendócrinos que culminan con el inicio de la pubertad y la síntesis de 17β -estradiol y que esta modulación depende del ambiente neuroendócrino del animal.
- 2) Al final de la etapa juvenil la información neural que transcurre por ambos nervios vago regula de manera inhibitoria el proceso ovulatorio y el crecimiento de los folículos pequeños.

INTRODUCCIÓN

La función reproductora está regulada por un conjunto de factores endócrinos y neuroendócrinos que modulan el proceso que culmina con la ovulación. En la parte frontal del hipotálamo existen unas neuronas que secretan a la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) que al llegar a los gonadotropos localizados en la adenohipófisis a través de un sistema de capilares denominado sistema porta-hipofisiario, estimula la síntesis de las gonadotropinas: la hormona luteinizante y la hormona estimulante del folículo (LH y FSH, por sus siglas en inglés) (Freeman, 1994).

Las gonadotropinas al llegar a los ovarios, estimulan el crecimiento y la diferenciación de los folículos que ovularan así como la síntesis de las hormonas esteroideas (andrógenos, progesterona y estrógenos). A la fecha, se han sumado las evidencias experimentales que indican que la inervación que recibe el ovario, modula la acción de las hormonas esteroideas y la de las gonadotropinas (Burden, 1985; Gerendai y Hálaz, 1997; Morales y col., 1993; 1998; Ojeda, 1997).

El ovario de los mamíferos recibe inervación simpática (catecolaminérgica y peptidérgica) por el plexo ovárico y el nervio ovárico superior (Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980) mientras que la inervación parasimpática (predominantemente peptidérgica) es aportada por el nervio vago (Burden, 1985; Burden y Lawrence, 1978; Burden y col., 1982; 1983; Dissen y Ojeda, 1999; Hill, 1962).

Desde la década de los 60's se reportó que el nervio vago es una de las vías utilizadas por el sistema nervioso central para enviar y recibir información del y hasta el ovario (Burden, 1978; Burden y Lawrence, 1977; Chávez y col., 1987; Cruz y col., 1986; Hill, 1962).

La participación del nervio vago en las funciones reproductivas ha sido estudiada por medio de la denervación quirúrgica, utilizando principalmente como modelo de estudio a la rata adulta. Debido a lo anterior, en este trabajo se decidió estudiar, en el animal prepúber, la participación de la información neural que transcurre por los nervios vago sobre el inicio de la pubertad y la primera ovulación espontánea.

MARCO TEÓRICO

Por definición un ser vivo es aquel que después de nacer, crecer y desarrollarse se reproduce y muere. La reproducción es el mecanismo por medio del cual las especies se perpetúan a lo largo del tiempo.

En las hembras, el aparato reproductor está constituido por los ovarios, las trompas uterinas, el útero y la vagina, la morfología de cada uno de estos órganos depende de la especie, así como de la etapa de desarrollo del animal. Las funciones principales del aparato reproductor femenino son: la producción de óvulos, la recepción de los espermatozoides, el proporcionar un medio adecuado para la fertilización de los óvulos, así como para el desarrollo del feto. Todas estas funciones son moduladas por diversos mecanismos neuroendócrinos (Clark y Shailaja, 1994; Lesson y col., 1988).

El ovario se encarga tanto de la producción de óvulos como de las hormonas esteroideas (progesterona, andrógenos y estrógenos) que regulan el crecimiento y la diferenciación de los órganos del aparato reproductor (Clark y Shailaja, 1994; Domínguez y col., 1991).

En el ovario de los mamíferos pueden distinguirse dos zonas: una capa externa llamada corteza y una porción interna denominada médula, ambas se fusionan con el tejido conectivo vascular del mesovario en el hilio (Lesson y col., 1988). En la corteza, formada por estroma compacto, se localizan los folículos ováricos en todas las etapas de desarrollo, desde el folículo primordial hasta el preovulatorio. En el estroma ovárico se ha podido identificar la presencia de fibras musculares lisas dispersas alrededor de los folículos. La médula está formada por tejido conectivo fibroelástico laxo que contiene numerosos vasos sanguíneos, los que se encuentran acompañados por terminales nerviosas (Lesson y col., 1988; Ross y col., 1992).

En los vertebrados la producción de los gametos y de las hormonas esteroides es regulada por el sistema nervioso central y por el sistema nervioso autónomo a través de las fibras simpáticas y parasimpáticas que llegan a las gónadas. En el ovario los mecanismos hormonales y neurales actúan de manera sincrónica regulando el crecimiento y la maduración de los folículos que van a culminar en la ovulación (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999; Domínguez y col., 1991).

PUBERTAD

La pubertad se define como la etapa biológica posnatal del individuo entre la inmadurez y la madurez sexual, donde una serie de cambios neuroendócrinos, fisiológicos y fenotípicos determinan el inicio de la actividad reproductora (Adams y Steiner, 1988). Algunos de estos cambios se originan desde la etapa embrionaria (Ojeda y Urbanski, 1994).

En la rata hembra transcurren aproximadamente entre 35 y 40 días desde el nacimiento hasta el inicio de la pubertad, este intervalo de tiempo depende de la cepa. La canalización de la vagina es el único signo exterior que señala el comienzo de la pubertad y normalmente ocurre el día posterior al pico preovulatorio de gonadotropinas. En este momento, en el frotis vaginal predomina la presencia de células anucleadas que caracterizan al estro (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

El inicio de la pubertad es el resultado de una serie de interacciones funcionales entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, a través de las hormonas sintetizadas por éstas glándulas.

Las funciones del ovario (crecimiento folicular y producción de hormonas) son reguladas por las hormonas que libera la hipófisis (FSH y LH) y por las sintetizadas por la propia gónada (progesterona, andrógenos y estrógenos). A la fecha, se han sumado las evidencias que apoyan que la acción de estas hormonas es modulada por la inervación simpática, parasimpática y sensorial que recibe el ovario. Se ha postulado que la participación de esta inervación depende del ambiente neuroendócrino del animal (Flores y col., 1990) y que existe una homeostásis entre la información neural a nivel del sistema nervioso central y el periférico. De esta manera se propone que la información simpática sería la encargada de llevar los "mensajeros químicos" al ovario, mientras que la fibras parasimpáticas, vía el nervio vago, se encargarían de conducir la información generada en el ovario para llevarla al sistema nervioso central (Burden, 1985; Burden y col., 1983; Domínguez y col., 1998; Morales y col., 1993; 1998; Stefenson y col., 1981).

Para estudiar los cambios neuroendócrinos que culminan con la pubertad, el grupo de Ojeda ha utilizado como modelo de estudio a la rata (Ojeda y col., 1980; Ojeda y Urbanski, 1994). En función de los eventos morfológicos y fisiológicos que ocurren en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, se ha dividido en cuatro etapas al tiempo que transcurre entre el nacimiento y el inicio de la pubertad. Estas etapas son la neonatal, la infantil, la juvenil y la peripuberal (Figura 1). Sin embargo, algunos de estos eventos se inician durante la vida fetal.

Desarrollo fetal

En el cerebro de la rata de 12 días de vida intrauterina, se ha podido detectar por medios inmunoreactivos la presencia de un polipéptido llamado factor liberador de la hormona luteinizante (LHRH por sus siglas en inglés) y de sus receptores en la adenohipófisis. La LHRH participa en la diferenciación de los gonadotropos, los que se van a encargar de sintetizar a las gonadotropinas (Ojeda y Urbanski, 1994).

Alrededor del día 17 y 18 del desarrollo fetal, la concentración de LHRH hipotalámica desciende y al momento del nacimiento, se registra un incremento en la concentración del polipéptido. A partir del día 17 del desarrollo embrionario, la LHRH comienza a estimular la síntesis de LH por parte de la adenohipófisis; en tanto que la concentración de FSH comienza a detectarse a partir del día 19 (Aubert y col., 1985; Nemeskéri y col., 1983; Watanabe y Daikoku, 1979). Poco antes del nacimiento, la concentración plasmática de FSH es baja y a partir de este momento comienza a elevarse (Döhler y Wuttke, 1974).

Etapas neonatales

Comprende desde que el animal nace hasta el día 7 de vida. Cinco días después del nacimiento el ovario presenta receptores para la FSH. Cuando la hormona se une a su receptor, estimula la producción de estradiol a partir de testosterona (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). Alrededor del día 12, la concentración de FSH en sangre alcanza su valor máximo y posteriormente comienza a disminuir gradualmente (Döhler y Wuttke, 1974; Kragt y Dahlgren, 1972; Ojeda y Ramírez, 1972).

En cuanto a la concentración de LH en plasma, ésta es más elevada en la etapa neonatal o infantil que en la juvenil (Döhler y Wuttke, 1974; Meijs-Roelofs y col., 1973; Ojeda y Ramírez, 1972).

Durante la fase neonatal-infantil de la rata hembra, la concentración plasmática de α -fetoproteína (AFP) es extremadamente alta. Esta proteína tiene una gran afinidad por los estrógenos, de manera que la cantidad libre de esta hormona capaz de actuar sobre el sistema nervioso es baja. Por ello se dice que durante estas etapas del desarrollo, la retroalimentación negativa ejercida por los estrógenos es relativamente ineficiente (Andrews y Ojeda, 1977; Ojeda y Ramírez, 1973). Es a partir del día 16 de vida que comienza a declinar la concentración de AFP y a operar la retroalimentación negativa sobre el sistema nervioso central (Ojeda y Urbanski, 1994).

Diversos autores han mostrado que en los primeros días de vida, el ovario de la rata no responde a la estimulación gonadotrópica (Hunzicker-Dunn y Birnbaumer, 1976; Lamprecht y col., 1976), estas evidencias han permitido sugerir que el inicio del crecimiento folicular es independiente de la LH y de la FSH (Lunenfeld y col., 1975; Peters, 1979).

Etapas infantil

Esta etapa abarca del día 8 al 21 de vida y durante ella, el hipotálamo secreta LHRH de manera pulsátil, como resultado de una propiedad intrínseca de las neuronas LHRHérgicas (Melrose, 1987).

La secreción de LH en la etapa infantil es moderadamente elevada y se caracteriza por presentar picos esporádicos en su liberación (Döhler y Wuttke, 1974; McKinnon y col., 1975). A finales de esta etapa la secreción de LH es

pulsátil, con un intervalo de 30 minutos entre cada pulso (Urbanski y Ojeda, 1985). A medida que aumenta la frecuencia de descarga de LHRH se incrementa la producción de LH, pero no la de FSH.

La respuesta de la hipófisis a la LHRH es mucho más alta en la etapa infantil (Debeljuk y col., 1972; Ojeda y col., 1977) que en la juvenil. Este efecto puede deberse a que la hipófisis de los animales más jóvenes, contiene un gran porcentaje de gonadotropos (Deneff y col., 1978).

Durante la etapa infantil se produce un aumento en la concentración plasmática de FSH (Döhler y Wuttke, 1974; McKinnon y col., 1975) y se produce un cambio en la actividad biológica de la hormona, de manera que pasa de una forma inactiva a una activa (Chappel y col., 1983) lo que facilita el reclutamiento y el crecimiento de los folículos que ovularan a la pubertad (Hage y col., 1978; Ojeda y col., 1980).

Al parecer, el incremento en la concentración de FSH depende de al menos tres factores:

1. Disminución en la frecuencia de la liberación de LHRH.
2. La secreción de gonadotropinas es facilitada por los andrógenos 5α -reducidos.
3. La retroalimentación negativa de los estrógenos aún no es del todo funcional.

Al finalizar el período infantil las concentraciones plasmáticas de FSH bajan marcadamente, en tanto que las de α -fetoproteína se toman prácticamente indetectables, por lo que aumenta la eficacia de la retroalimentación negativa ejercida por el estradiol.

Al inicio de la etapa infantil, los folículos sólo poseen receptores a la FSH, la cual estimula en las células de la granulosa la aparición de sus propios receptores (Zelevnik y Fairchild-Benyo, 1994). Durante la segunda semana de vida posnatal, el crecimiento folicular se acelera (Hage y col., 1978) y muchos de los folículos que comienzan a crecer y a madurar durante este período de tiempo, pueden estar destinados a ovular (Ojeda y Urbanski, 1994). Existen evidencias experimentales que indican que a la mitad de la etapa infantil (día 14 de vida) los folículos ováricos están sujetos al control ejercido por la FSH y la LH (Lunenfeld y col., 1975; Peters, 1979).

Etapa juvenil

Se inicia en el día 22 y termina el día 32 de vida. El contenido hipotalámico de LHRH se incrementa marcadamente entre el día del nacimiento y el final del desarrollo juvenil (Aubert y col., 1985; Nemeskéri y col., 1983). En este período es cuando la unidad hipotálamo-hipófisis puede responder completamente a la retroalimentación positiva ejercida por los estrógenos.

La actividad de los sistemas de neurotransmisión involucrados en el control de la secreción de LHRH cambia durante el desarrollo juvenil. En esta etapa del desarrollo se observa aumento en la actividad de las neuronas dopaminérgicas y noradrenérgicas (Höhn y Wuttke, 1979; Raum y col., 1980). Se ha mostrado que las monoaminas modulan la secreción de las gonadotropinas en función de la edad del animal (Moguilovsky y col., 1985; 1990). Así, las catecolaminas inhiben la secreción de LHRH en los animales jóvenes y tienen un efecto estimulador conforme el animal se aproxima al inicio de la pubertad (Ojeda y Urbanski, 1994).

A lo largo de esta etapa, las concentraciones plasmáticas de FSH como de LH continúan bajando (Döhler y Wuttke, 1975; Mckinnon y col., 1975) y al final del periodo juvenil la concentración de FSH es una quinta parte de la presente en el día 12 (Döhler y Wuttke, 1974; Ojeda y Ramírez, 1972).

El modo de liberación de la LH es claramente pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981a; Kimura y Kawakami, 1982; Urbanski y Ojeda, 1985) y a nivel ovárico, aumentan los receptores a la hormona (Smith-White y Ojeda, 1981) lo que se traduce en aumento de la esteroidogénesis. Al finalizar el período juvenil, aumenta la liberación de LH en respuesta a los estrógenos plasmáticos y se establece el ritmo circádico de liberación.

Conforme el animal madura, la unidad hipotálamo-hipófisis llega a ser más sensible al efecto estimulante de los estrógenos. Durante la etapa juvenil la concentración de AFP declina aún más, ocasionando un aumento en la capacidad de los estrógenos para suprimir la secreción de las gonadotropinas (Andrews y Ojeda, 1981b; Meijs-Roelofs y Kramer, 1979; Ojeda y col., 1975; Steele, 1977). Por el contrario, la capacidad de los andrógenos aromatizables para inhibir la secreción de LH y de FSH permanece relativamente constante durante el desarrollo infantil y juvenil (Andrews y Ojeda, 1981b) esto indica que el sistema de retroalimentación negativo ejercido por los esteroides cambia de un control predominantemente androgénico durante la etapa infantil, a un control dual androgénico-estrogénico durante el periodo juvenil.

En el ovario se observa un aceleramiento del crecimiento folicular, de manera que ya se pueden observar folículos maduros capaces de responder pocos días después al primer pico preovulatorio de gonadotropinas (Ojeda y Urbanski, 1994).

Etapas peripuberal

Esta etapa es de duración variable y depende de la cepa de animales en estudio. En la rata, generalmente se inicia en el día 33 de vida y termina el día anterior a la apertura vaginal.

La secreción pulsátil de LH incrementa y la producción de estradiol del ovario es capaz de producir una retroalimentación positiva ("minipicos" vespertinos de LH) del eje hipotálamo-hipófisis (Urbanski y Ojeda, 1986).

En la etapa peripuberal el número de receptores ováricos a la FSH-LH y la respuesta esteroideogénica es mayor respecto a las otras etapas del desarrollo (Ojeda y Urbanski, 1994). La serie de cambios neuroendócrinos que se han venido sucediendo a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario culmina con la canalización vaginal.

Cuando se alcanza el umbral de los estrógenos, éstos actúan sobre el hipotálamo y estimulan la descarga de LHRH. Al llegar a la hipófisis, esta hormona induce la primera liberación preovulatoria de las gonadotropinas que permitirán que se produzca la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

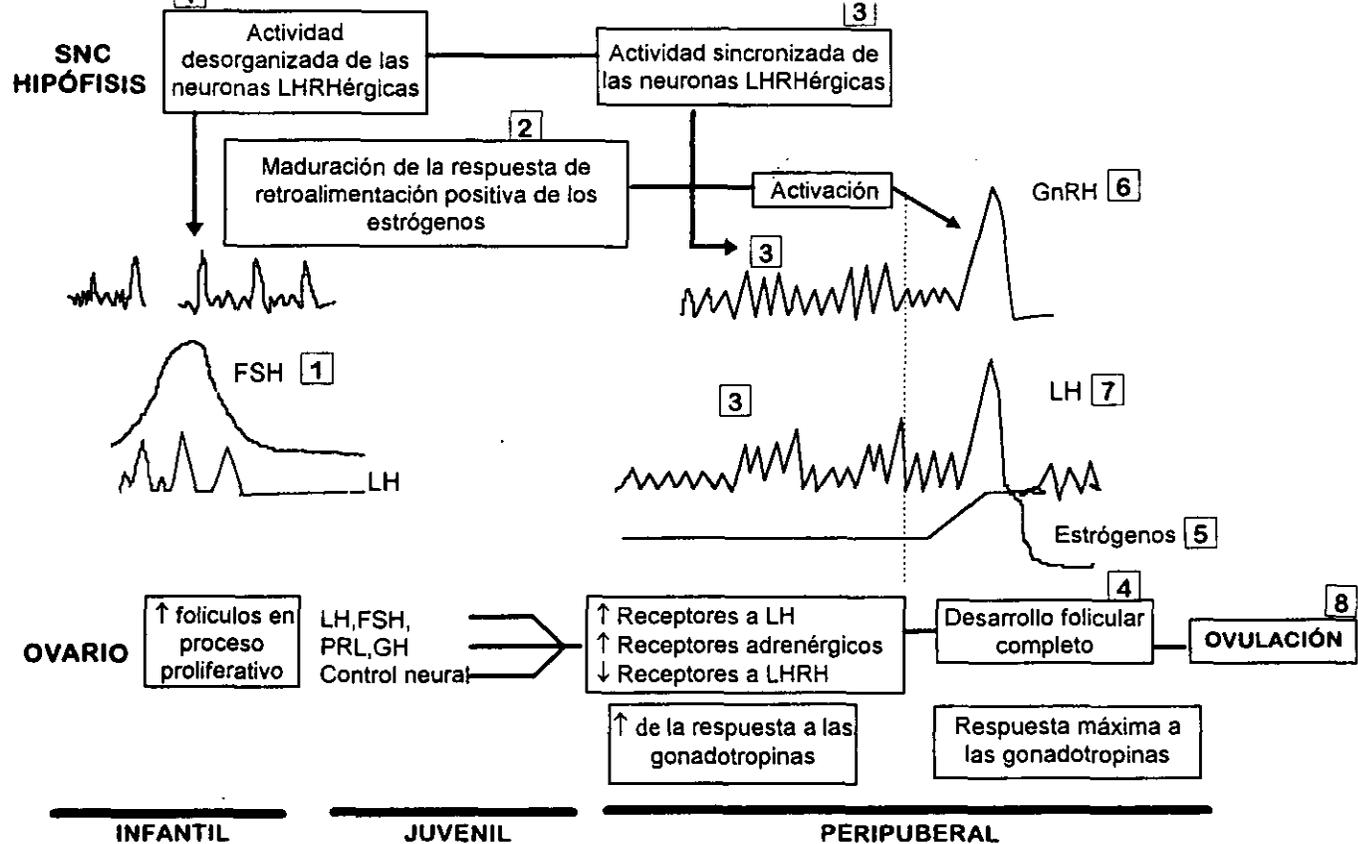


Figura 1. Secuencia de eventos que se suceden en el Sistema Nervioso Central (SNC), la hipófisis y el ovario previos al pico preovulatorio de las gonadotropinas en la rata hembra. Los números indican la secuencia en la cual se producen estos eventos. La línea discontinua representa las 12:00 h del primer proestro. LHRH: hormona liberadora de las gonadotropinas, LH: hormona luteinizante, FSH: hormona estimulante del folículo, PRL: prolactina, GH: hormona de crecimiento (Tomado de Ojeda y Urbanski, 1994).

DESARROLLO DEL FOLÍCULO OVÁRICO

Foliculogénesis

Aunque se ha mostrado que el inicio de la foliculogénesis es independiente de las gonadotropinas, el mantenimiento del desarrollo folicular depende de la presencia continua de estas hormonas (Funkenstein y Nimrod, 1982). No se ha determinado aún que factores activan el crecimiento de cualquier ovocito, durante el estado temprano del crecimiento folicular se expresan los genes que codifican para los receptores a FSH, a LH (Richards, 1980) a factores de crecimiento neural (Dissen y col., 1991) y posiblemente a sustancias inhibitorias mulerianas (Hirobe y col., 1992).

En la rata el comienzo de la foliculogénesis tiene lugar poco después del nacimiento (Rajah y Hirshfield, 1991) observándose muy pocos folículos primordiales durante las primeras 24 horas de vida posnatal y un marcado incremento al día dos de vida (Malamed y col., 1992).

El folículo ovárico

En la figura 2 se presenta un esquema del ovario de los mamíferos, en él pueden distinguirse tres compartimentos: el *folicular*, constituido por los folículos en todas las etapas de desarrollo (desde el primordial hasta el preovulatorio); el *luteal* o *cuerpo lúteo*, derivado de los folículos que liberaron al ovocito y el llamado *intersticial* o *glándula intersticial*, formado a partir de las células de la teca interna de los folículos que no llegaron a ovular y que culminaron en la atresia (Harrison y Weir, 1977).

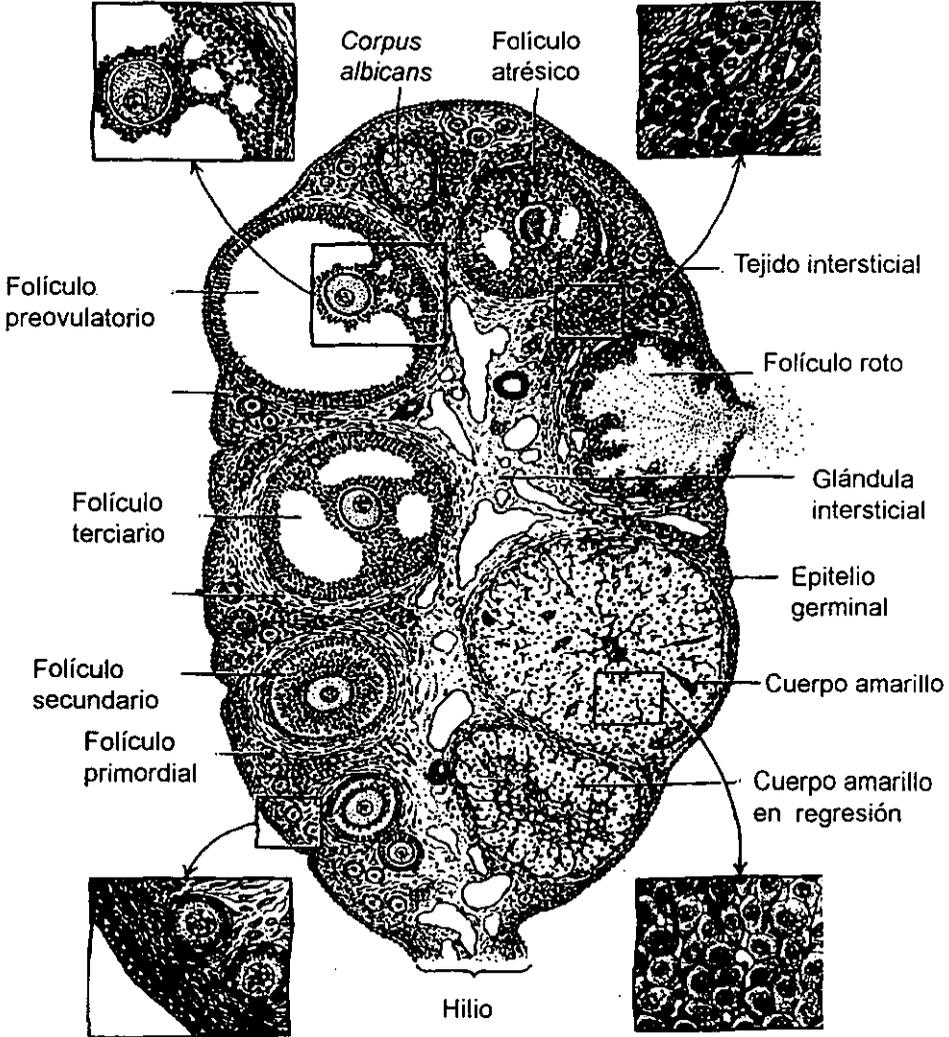


Figura 2. Esquema del ovario de los mamíferos, donde se aprecian los tres compartimentos: folicular, luteal e intersticial. Tomado Freeman ME, 1994.

El folículo ovárico es la unidad anátomo-funcional del ovario y lo constituyen el *ovocito I*, las *células de la granulosa* que rodean al ovocito, la *membrana basal* que aísla a las células de la granulosa de los demás componentes del folículo y las *células de la teca interna* y de la *teca externa* que rodean a la membrana basal. A medida que el folículo crece, aparecen entre el ovocito y las células de la granulosa adyacentes, espacios discontinuos denominados *cuerpos de call-exner* los que al unirse formarán el *antro folicular*, estructura que contiene al *licor folicular* (compuesto por mucopolisacáridos, proteínas y hormonas) (Figura 3). Se ha descrito que las fibras neurales que inervan al ovario así como los capilares sanguíneos que llegan a la gónada no penetran la membrana basal del folículo (Dominguez y col., 1991; Freeman, 1994; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

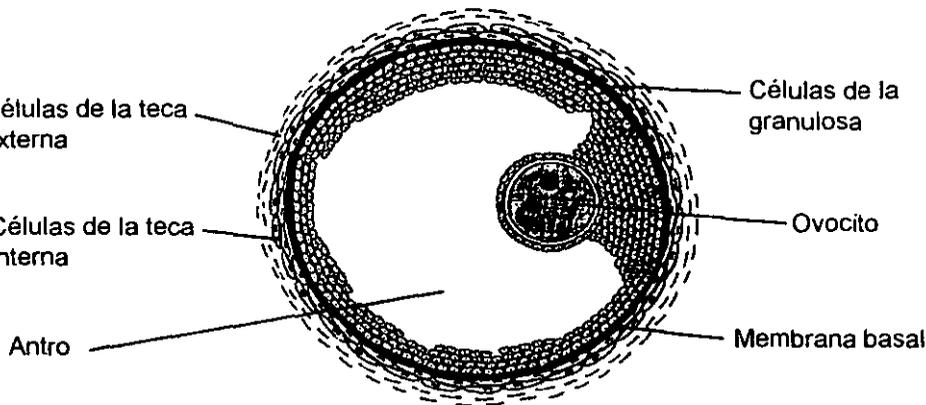


Figura 3. Representación esquemática de los tipos celulares que conforman al folículo preovulatorio.

Los **folículos primordiales** (o folículos pequeños) localizados en el estroma de la corteza ovárica están rodeados por una única capa de células foliculares aplanadas que descansan sobre la membrana basal. Cuando el folículo primordial comienza su transición hacia folículo en crecimiento (en maduración o activo) las células aplanadas proliferan adquiriendo un aspecto cúbico y el ovocito aumenta de tamaño, en este estadio la estructura recibe el nombre de **folículo primario**. Por una serie de divisiones mitóticas, la capa unilaminar cúbica prolifera hasta formar dos o tres capas, alrededor del ovocito se forma la zona pelúcida y algunas células del estroma ovárico se organizan para formar las capas tecales, en este estadio el folículo se conoce como **folículo secundario** (o folículo de tamaño mediano). A los folículos primarios y secundarios también se les denomina preantrales. En los ovocitos de los mamíferos la síntesis de ARN aumenta durante el crecimiento del folículo y alcanza un "pico" antes de que se forme la cavidad antral. Con la aparición del antro el folículo secundario se convierte en un **folículo terciario** (preovulatorios o de Graff) cuyo ovocito maduro es rodeado por varias capas de células de la granulosa, la teca interna y externa están bien diferenciadas. Los folículos preovulatorios alcanzan su diámetro máximo y pueden responder a la elevación preovulatoria de las gonadotropinas (Greenwald y Roy, 1994; Hsueh y col., 1994).

La capacidad esteroidogénica de los folículos está íntimamente relacionada con su tamaño y su vascularización, así se ha observado que en el mono rhesus, la teca de los folículos dominantes está más vascularizados que la de los folículos pequeños (Hsueh, 1994).

Atresia Folicular

Una vez que el crecimiento de los folículos primordiales se ha iniciado, este no se detiene hasta que el folículo expulsa al ovocito, o bien, termina en la atresia. En todas las especies de mamíferos estudiadas degeneran alrededor del 70 al 90% de los folículos presentes en el ovario de un individuo al nacer (Dominguez y col., 1991; Hsueh y col., 1994).

La atresia es el proceso degenerativo por medio del cual los folículos son eliminados antes de llegar a ovular. La palabra atresia (del griego a = no; tresia = perforado) se refiere a los cambios degenerativos que sufren los folículos antrales antes de la ovulación. Sin embargo, el termino ha sido utilizado comúnmente por los fisiólogos para describir los cambios degenerativos que tienen lugar durante el desarrollo ovárico (Hsueh y col., 1994).

Este fenómeno se produce tanto en el ovario de los mamíferos como en las gónadas de los vertebrados no mamíferos, aunque se produce en cualquier etapa de la vida de los organismos y en cualquier fase del desarrollo folicular, el estudio de los procesos que conllevan a la atresia se estudian principalmente durante la vida posnatal del individuo y en los folículos terciarios y preovulatorios (Greenwald y Roy, 1994; Hsueh y col., 1994).

Con base en criterios morfológicos, Hsueh y col. (1994) han dividido la atresia de los folículos antrales en tres estados:

Estado I. Menos del 10% de los núcleos de las células de la granulosa tienen núcleo picnótico (indica la fragmentación del ácido desoxirribonucleico o ADN). Las células de la granulosa incorporan menos timidina [³H], mientras que otras han detenido la mitosis.

Estado II. Del 10 al 30% de las células de la granulosa presentan picnosis, otras se encuentran en el antro folicular (descamación), disminuye la incorporación de timidina y pocas células de la granulosa están en mitosis. La integridad de la membrana basal es afectada por lo que se presenta infiltración de leucocitos hacia la capa granulosa. En este estado de alteración el folículo ya no es capaz de responder al estímulo gonadotrópico por lo que degenera.

Estado III. La mitosis se ha detenido por completo en las células de la granulosa por lo que su número se reduce. En la rata, la capa tecal se hipertrofia.

Greenwald y Roy (1994) postulan que las células de la granulosa de los folículos atrésicos pierden gradualmente los receptores a LH y a FSH provocando disminución en la actividad de las aromatasas, lo que conduce al folículo a la pérdida de su capacidad funcional (Greenwald y Roy, 1994).

Aunado a lo anterior, evidencias experimentales permiten sugerir que los folículos terciarios de los mamíferos expuestos a FSH pueden desarrollarse hasta el estado preovulatorio, por lo que se ha propuesto a las gonadotropinas como un factor capaz de suprimir el proceso de fragmentación de ADN (Chung y col., 1994).

Diversas evidencias experimentales, donde se ha utilizado como modelo de estudio a la rata, han permitido postular a los autores que algunas hormonas y factores de crecimiento pueden ayudar a los folículos a escapar de la atresia, en tanto que otros, llamados factores atretogénicos son capaces de inducirla. Así, se ha sugerido que son supresores de la fragmentación de ADN las gonadotropinas, el factor de crecimiento epidermal (EGF, por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento transformante α (TGF α , por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF, por sus siglas en inglés) y el factor de crecimiento semejante a la insulina I (IGF-I, por sus siglas en inglés). Entre los factores atretogénicos se encuentran los andrógenos, la interleucina 6 (IL-6, por sus siglas en inglés) y la GnRH ovárica (Billig y col., 1994; Chung y col., 1994; Hsueh y col., 1994).

Actualmente se desconocen los factores que inician el proceso de degeneración folicular pero se ha descrito que afecta principalmente a los folículos terciarios y preovulatorios (Fortune, 1994).

Para que los folículos preovulatorios puedan ovular es necesario que se desencadene la cascada de eventos neuro-hormonales que facilitan la ruptura del folículo (Hsueh y col., 1994).

REGULACIÓN NEUROENDÓCRINA DEL INICIO DEL CRECIMIENTO FOLICULAR

El crecimiento folicular se inicia con cambios en el propio ovocito, que son seguidos con el crecimiento y la posterior proliferación de las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991). Al parecer, el conjunto formado por las gonadotropinas y las células de la teca y la granulosa, aseguran el continuo crecimiento de los folículos pequeños durante el ciclo reproductivo (Richards, 1994). La FSH y la LH se unen a los receptores que se encuentran en las células de la granulosa, en la teca se encuentran expresados sólo los receptores a la LH (Richards, 1980). En estados tempranos del crecimiento folicular, las gonadotropinas estimulan la actividad mitótica (Hirshfield, 1986) mientras que durante los estados finales del desarrollo preovulatorio, la LH y la FSH provocan el cese de la división celular (Richards, 1980).

El ovario de la rata de cuatro días de vida carece de receptores a gonadotropinas, se desconoce cuales son los factores neuro-hormonales que participan en el inicio del desarrollo del folículo ovárico (Ojeda y Urbanski, 1994). En las últimas décadas se han sumados las evidencias que permiten sugerir que la inervación extrínseca de las gónadas participa en la modulación del inicio del crecimiento del folículo ovárico (Malamed y col., 1992; Ojeda, 1997, Ojeda y col., 1995).

En el ovario de la rata, desde las últimas etapas del desarrollo embrionario, se han detectado fibras nerviosas reactivas a la tirosina hidroxilasa (enzima encargada de transformar a la tirosina en el metabolito de la dopamina). Estas evidencias experimentales han permitido sugerir a los autores que la información neural que transcurre por estas vías modula el crecimiento de los folículos primordiales (Malamed y col., 1992).

El inicio de la foliculogénesis y de la actividad esteroideogénica de la gónada son modulados por un complejo "neuroendocrinotrófico" que esta constituido por la inervación extrínseca de la gónada, una fuente intrínseca de catecolaminas y algunos péptidos pertenecientes a la familia de las neurotrofinas (Ojeda, 1997; Ojeda y col., 1995).

Por estudios de inmunohistoquímica se ha observado en el ovario de la rata la presencia de fibras simpáticas que contienen péptido intestinal vasoactivo (VIP, por sus siglas en inglés). Este péptido puede detectarse en la gónada incluso antes de la aparición de los folículos primarios (Advis y col., 1989) y puede estimular la producción de AMPc (adenosin monofosfato cíclico) e inducir así la actividad aromatasa, aún antes de que los folículos respondan a la FSH (George y Ojeda, 1987). Con base en estas evidencias se ha postulado que el VIP puede participar en los mecanismos neuroendócrinos involucrados en la foliculogénesis (Ahmed y col., 1986).

En el ovario de rata de 2 días de vida cultivado en presencia de isoproterenol (un agonista β -adrenérgico) o de VIP, se acelera la diferenciación molecular de las células foliculares con la formación de receptores a FSH biológicamente activos, capaces de iniciar el crecimiento folicular. Es así como los neurotransmisores que llegan al ovario por medio de la inervación, facilitan la adquisición de los receptores a las gonadotropinas así como el inicio del crecimiento folicular (Ojeda, 1997; 1995).

El desarrollo folicular es modulado por la presencia de factores neurotróficos (Lara y col., 1990a). La inmunosimpatectomía inducida por la administración del anticuerpo contra el factor de crecimiento neural (NGF por sus siglas en inglés) produce retardo en la maduración folicular y disminución de la secreción de estrógenos (Lara y col., 1990b).

ASPECTOS ANATÓMICOS DEL NERVI VAGO

Los nervios craneales del sistema somatosensorial se clasifican en tres grupos principales: un grupo superior constituido por los nervios motor ocular externo (V) y el trigémino (VI) un grupo medio formado por los nervios facial (VII) intermediario de Wrisberg (VII bis) y el auditivo (VIII) y un grupo inferior compuesto por los nervios glosofaríngeo (IX) el vago o neumogástrico (X) y el espinal (XI) (Bouchet y Cuilleret, 1978).

El nervio vago se origina a partir del núcleo ambiguo, del núcleo cardioneumoentérico, del núcleo motor dorsal del vago y de la parte inferior del núcleo del fascículo solitario (Figura 4) (Bouchet y Cuilleret, 1978).

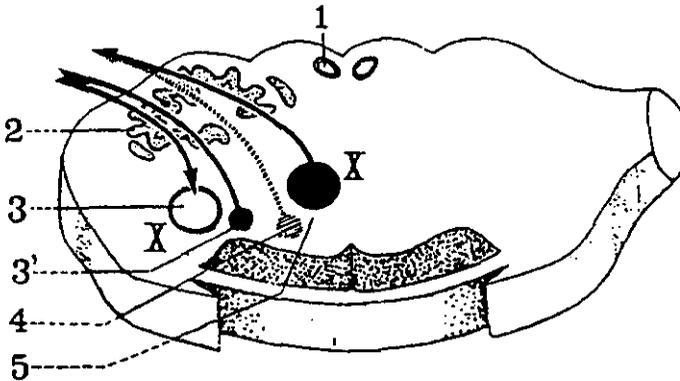


Figura 4. Esquema de un corte de bulbo raquídeo en su parte media, donde se indica los orígenes del nervio vago. 1) Núcleo arciforme del bulbo raquídeo; 2) Oliva bulbar; 3) Núcleo del fascículo solitario; 3') Núcleo sensitivo dorsal del vago; 4) Núcleo cardioneumoentérico; 5) Núcleo ambiguo. Tomado de Bouchet y Cuilleret, 1978.

El nervio vago es el décimo par craneal, uno de los llamados nervios mixtos pues se compone de fibras motoras, sensitivas y parasimpáticas de tipo colinérgico. Su nombre se debe a que inerva muchas regiones del cuerpo; como se observa en la figura 5, envía fibras motoras colinérgicas al corazón, pulmones, estómago, duodeno, hígado, páncreas, intestino delgado, a la parte alta de los uréteres y a las gónadas (Brown, 1994; Guyton, 1984). Agostoni y col. (1957) mostraron que más del 90 % de las fibras vagales que pasan por debajo del diafragma, son de naturaleza sensorial.

Se ha propuesto que las fibras aferentes viscerales del ovario, contenidas en el tronco anterior y posterior del vago median algunos reflejos que pueden modular algunas funciones del ovario (Burden y col., 1983).

Evidencias anatómicas muestran la existencia de conexiones entre el núcleo del tracto solitario y los centros hipotalámicos (área preóptica, núcleo arcuato, núcleo dorsomedial y núcleo paraventricular) que regulan la liberación de gonadotropinas (Contreras y col., 1980; Ricardo y Koh, 1978). Así, el control ejercido por el hipotálamo y por regiones extrahipotalámicas confluye en la regulación de la secreción de LHRH y de gonadotropinas por parte de la hipófisis. El ovario envía información por medio de las fibras aferentes que se proyectan al ganglio sensorial autónomo y de ahí al cordón espinal, donde la información sensorial es acarreada al núcleo del tracto solitario, y de ahí, al hipotálamo y al sistema límbico (Brown, 1994; Contreras y col., 1980; Domínguez, 1992).

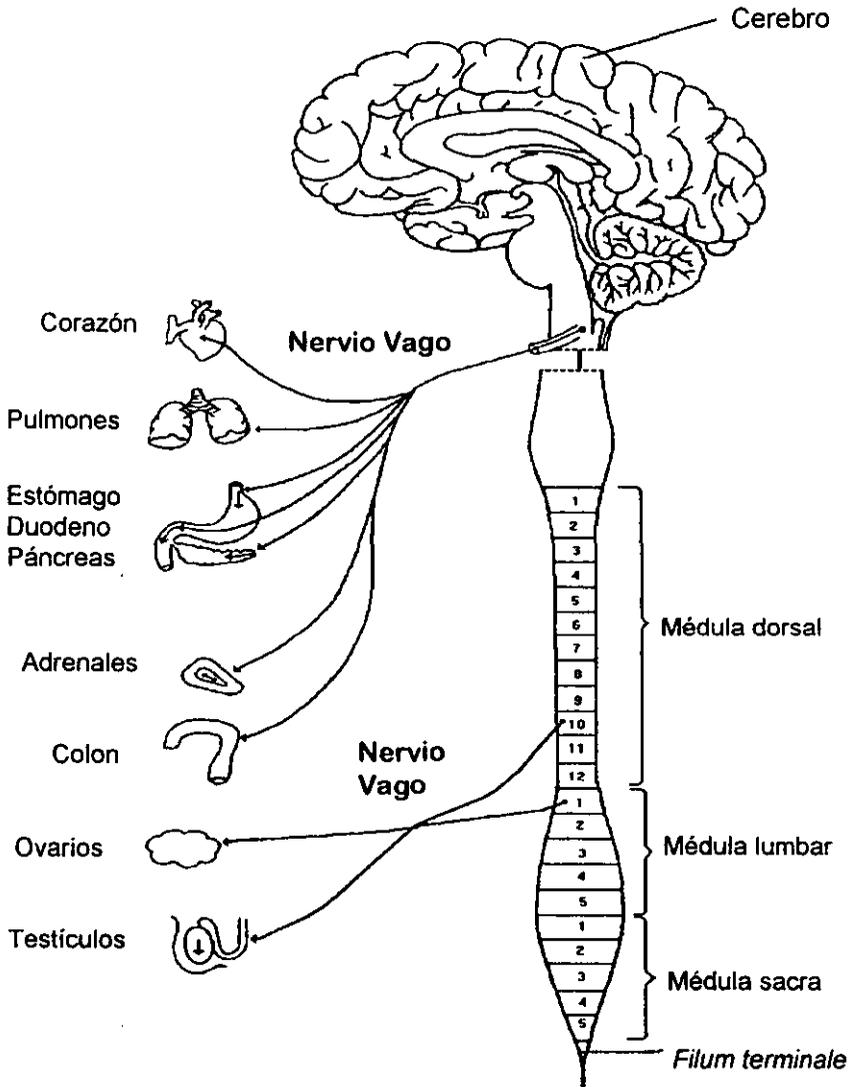


Figura 5. Esquema que muestra la trayectoria de las fibras vagales en el cuerpo humano. Modificado de Brown, 1994.

Técnicas histológicas como la autoradiografía y la de trazadores retrógrados como la peroxidasa de rábano, han revelado una mezcla heterogénea de tipos y tamaños de células en el núcleo motor dorsal del nervio vago (Lewis y col., 1970; Ritchie y col., 1982). Así, se ha mostrado que éste nervio vago esta compuesto por fibras mielínicas y amielínicas (Kalia y Sullivan, 1982; Leslie y col., 1982).

Los axones de las células preganglionares del núcleo motor dorsal del nervio vago, viajan en el X par craneal y terminan en el ganglio parasimpático del tórax y de las vísceras abdominales (Kalia y Sullivan, 1982; Leslie y col., 1982).

En la figura 6 se observa la compleja distribución de los troncos vagales subdiafragmáticos de la rata descrita por Powley y col. en 1983:

1. Tronco Anterior Izquierdo. Su forma es ovoide, se encuentra adherido a la superficie ventral del esófago, y a nivel del diafragma contiene 8592 ± 445 fibras. Burden y col (1986) reportan que las fibras que corren por el tronco anterior inervan principalmente hígado, estómago y páncreas. El tronco anterior izquierdo se subdivide en las siguientes ramas:

a) Rama Hepática. Corre caudalmente en dirección al hilio hepático y se compone aproximadamente de 2250 ± 224 fibras.

b) Rama Celíaca Accesoria. Su trayectoria es opuesta a la de la rama hepática, rodea al esófago y pasa por detrás del tronco posterior, se dirige hacia la rama celíaca del nervio vago posterior. Más adelante esta rama se divide en dos paquetes que contienen 1712 ± 172 fibras.

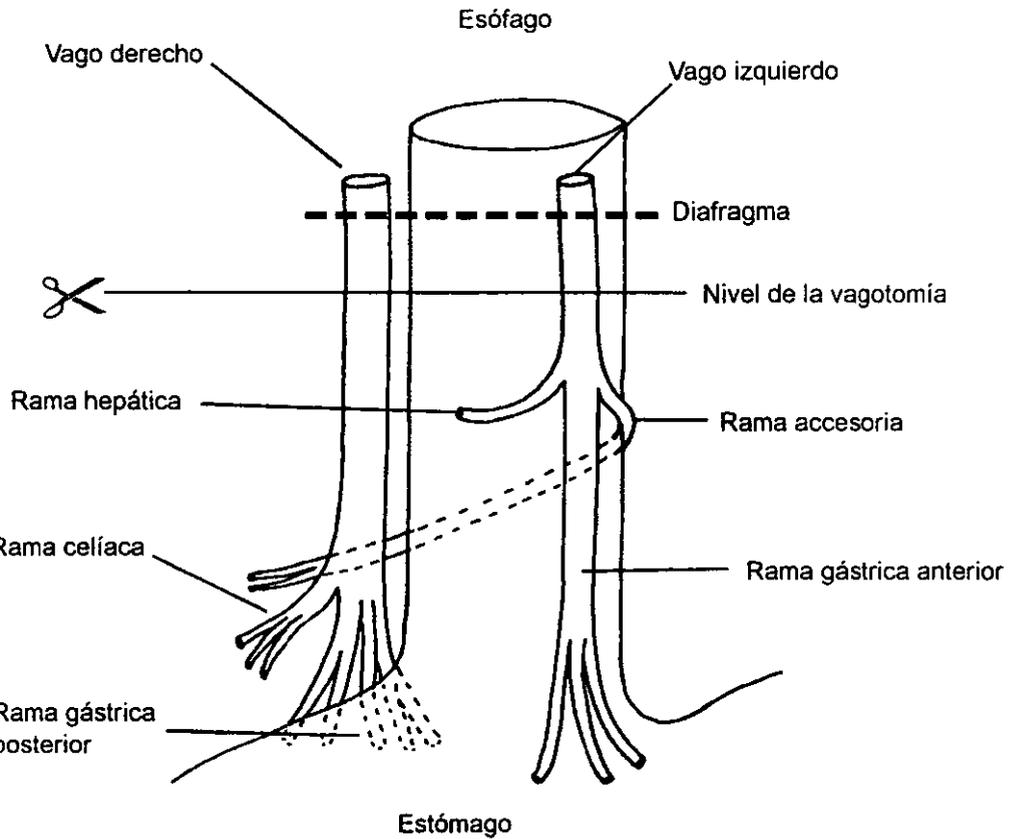


Figura 6. Esquema de la distribución que siguen los troncos vagales a nivel subdiafrágico en la rata. Tomada de Powley y col., 1983

c) **Rama Gástrica Anterior.** Posee 5840 ± 477 fibras, a nivel del estómago se divide de dos a cuatro ramas.

2. **Tronco Posterior o Derecho.** Su forma varía de circular a ovoide, se encuentra poco adherido al esófago del que esta separado por tejido adiposo; es ligeramente más largo que el tronco anterior. El tronco vagal posterior llega al ganglio celíaco y posteriormente inerva vísceras más caudales (Burden y col, 1986). A nivel del diafragma se bifurca dando lugar a las siguientes dos ramas:

a) **Rama Celíaca.** Contiene 4230 ± 365 fibras que se ramifican al finalizar el esófago. La rama celíaca emerge junto con la arteria gástrica y se divide en paquetes separados.

b) **Rama Gástrica Posterior.** Contiene 8784 ± 842 fibras, que se ramifican en seis paquetes por debajo de la rama celíaca.

Por estudios histológicos Agostoni y col. (1957) establecieron que por el nervio vago transcurren aproximadamente el 75% de las fibras nerviosas parasimpáticas que inervan la región torácico-abdominal.

Como se puede observar en la tabla 1, el número de axones en el nervio vago varía con la especie, lo mismo sucede con la proporción de axones mielínicos y amielínicos. Se ha reportado que la proporción de axones mielínicos del nervio vago a nivel abdominal es de 0.9% en la rata (Gabella y Pease, 1973) de 0.25% en el conejo (Evans y Murray, 1954) y de 1.3% en el gato (Agostoni y col., 1957).

Tabla 1. Número aproximado de axones presentes en el nervio vago del gato y del conejo.

Especies	Número de axones a nivel		Autor
	cervical	abdominal	
Gato	30420	31244	Agostoni y col., (1957)
Conejo	3000	26000	Evans y Murray (1954)

El diámetro de los axones amielínicos varía entre 0.25 y 1.0 μm . Estos axones se encuentran agrupados en un número superior a 14 y son cubiertos por la célula de Schwann, la cual está rodeada por una lámina basal que raras veces hace contacto con el axolema ya que se encuentran separados por una capa delgada de citoplasma de la célula de Schwann (Gabella y Pease, 1973).

PARTICIPACIÓN DE LA INFORMACIÓN VAGAL EN LAS FUNCIONES REPRODUCTIVAS

Tradicionalmente se ha considerado que las funciones del ovario (la gamética y la endócrina) son reguladas por las hormonas que libera la hipófisis (FSH y LH) y por las sintetizadas por la propia gónada (andrógenos, progesterona y estrógenos). Actualmente es bien aceptado que la acción de estas hormonas es modulada por la inervación intrínseca del ovario (Bahr y col., 1974; Burden, 1985; Burden y col., 1983; Domínguez y Riboni, 1971; Gerendai y Hálasz, 1997; Gerendai y col., 1978; Lawrence y Burden, 1976; Morales y col., 1993; 1998; Ojeda, 1997; Stefenson y col., 1981).

El ovario de los mamíferos recibe inervación simpática (catecolaminérgica y peptidérgica) por el plexo ovárico y el nervio ovárico superior (Lawrence y Burden, 1980) mientras que la inervación parasimpática (predominantemente colinérgica) es aportada por el nervio vago (Burden, 1985; Burden y Lawrence, 1978; Burden y col., 1982; 1983; Hill, 1962).

Con la ayuda de trazadores retrógrados, el grupo de Burden (1983) ha mostrado que el soma de las neuronas que inervan al ovario y que provienen del vago se localizan a nivel de los segmentos T10 y L1 de la médula espinal y que la naturaleza de estos nervios es de tipo sensorial. A la fecha, no se ha determinado el sitio intraovárico específico que inervan estas fibras nerviosas; sin embargo, se ha propuesto que las fibras viscerales sensoriales aferentes al ovario que viajan por los troncos vagales pueden modular las funciones ováricas (Burden y col., 1983).

Dado que existen diversos reportes en la literatura que indican que el nervio vago es una de las vías utilizadas por el sistema nervioso central para

enviar y recibir información del y hasta el ovario (Burden, 1978; Burden y Lawrence, 1977; Chávez y col., 1987; Cruz y col., 1986; Hill, 1962) se ha estudiado su participación en la regulación de las funciones ováricas utilizando metodologías que destruyen las fibras sensoriales por medio de la administración de fármacos (como la capsaicina) o por la denervación quirúrgica parcial o total (vagotomía unilateral o bilateral).

La vagotomía modifica algunas de las funciones relacionadas con la capacidad reproductiva, ya que se ha descrito que puede modificar la respuesta ovulatoria, el ciclo estral (Burden y col., 1981) el patrón del crecimiento folicular (Sanders y Peppler, 1982) el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983) el proceso de hipertrofia compensadora y la liberación de gonadotropinas que se presentan en el animal hemicastrado (Burden y Lawrence, 1977; Lawrence y col., 1978; Leonard y col., 1984).

Se ha establecido que los efectos causados por la vagotomía en la función reproductiva pueden deberse a efectos directos en el ovario (Ojeda y col., 1983; Sanders y Peppler, 1982) o a la disminución en la liberación de gonadotropinas (Burden y Lawrence, 1977; Lawrence y col., 1978; Leonard y col., 1984).

El grupo de Burden (1977; 1981) muestra que en la rata adulta, hemicastrada o con ambos ovarios, la vagotomía bilateral provoca alteraciones en la ciclicidad vaginal, mientras que estudios de nuestro laboratorio establecen que la sección uni o bilateral del nervio vago no modifica el patrón del ciclo estral (Cruz y col., 1986). Estas diferencias pueden deberse a que en el último caso transcurrió un periodo de tiempo mayor entre la denervación y la autopsia, lo que podría indicar que la

vagotomía provoca una alteración temporal del ciclo el cual se restablece con el tiempo.

En la literatura existen diversos reportes que indican que la participación de los mecanismos neuroendócrinos relacionados con el control de la ovulación, varían durante el ciclo estral (Chávez y col., 1989; Domínguez y Smith, 1974; Domínguez y col., 1982; 1985; 1987).

En la rata cíclica la sección uni o bilateral del nervio vago realizada en diestro 1 o estro induce cambios más drásticos en el ciclo vaginal y la ovulación que la misma sección hecha en diestro 2 o proestro. Esto ha llevado a los autores a sugerir que la modulación que ejerce el nervio vago sobre las funciones ováricas varía durante el ciclo estral (Burden y col., 1981; Chávez y col., 1989).

En la rata adulta la vagotomía practicada en la mañana del proestro no bloquea el pico preovulatorio de LH, sin embargo, posteriormente los animales entran en un período de aciclicidad (Allen y col., 1985; Burden y col., 1981) en el cual la secreción basal de LH es significativamente suprimida (Leonard y col., 1984).

Las alteraciones en el patrón de ciclicidad vaginal, no necesariamente van acompañadas de modificaciones en el peso de las gónadas. Diversas evidencias experimentales indican que el peso del ovario no es afectado por la vagotomía uni o bilateral, por lo que han sugerido que la información neural que transcurre por éste nervio no juega un papel importante en el mantenimiento del peso del órgano (Burden, 1978; Burden y Lawrence, 1977).

Estudios previos de nuestro laboratorio indican que la sección unilateral derecha y la bilateral del nervio vago no afectan la proporción de animales que ovulan al estro, en tanto que, la sección del nervio vago izquierdo la disminuye (Chávez y col., 1989; Cruz y col., 1986). Estos resultados indican que la respuesta de las gónadas a la vagotomía depende del nervio que se secciona. Por lo que los autores sugieren la existencia de una diferencia intrínseca entre los nervios (Cruz y col., 1986).

Se ha sugerido que cuando se realiza una sección unilateral del nervio vago, el nervio que queda intacto es capaz de compensar la falta de información (Cruz y col., 1986). Chávez y col. (1989) muestran que en el diestro 1, es necesaria la presencia del nervio vago izquierdo para que el ovario ipsilateral mantenga un proceso normal de ovulación, mientras que el ovario derecho mantiene esta habilidad por ovulación compensatoria.

No sólo se ha planteado la existencia de una asimetría funcional entre los nervios vagales, sino que al parecer también existe a nivel del propio ovario. Así, en la rata adulta intacta, el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo es mayor que el liberado por el ovario derecho (Domínguez y col., 1989). Esta diferencia es abolida si el animal es sometido a la sección del nervio vago izquierdo o derecho (Chávez y col., 1989).

La sección bilateral del nervio vago induce aumento en el número de ovocitos liberados por animal ovulante. En donde el ovario izquierdo libera más ovocitos que el derecho (Cruz y col., 1986). Estas evidencias hacen pensar que la respuesta del folículo a las gonadotropinas, mediada por la inervación vagal, es diferente entre los ovarios.

El hecho que la vagotomía provoque alteraciones en el número de ovocitos liberados, puede ser el reflejo de cambios más "finos" en el patrón de crecimiento folicular. Al respecto, Cruz y col. (1986) mostraron que en la ratona adulta, la sección del nervio vago izquierdo provoca un incremento en el número de folículos preovulatorios, el cual es mayor en el ovario derecho (inervado) que en el ovario izquierdo (denervado) por lo que se ha sugerido que la información que transcurre por el vago izquierdo, esta más relacionada con el proceso ovulatorio que la del nervio derecho (Chávez y col., 1989; Cruz y col., 1986).

La sección bilateral del nervio vago provoca un aumento en la población de folículos grandes en ambos ovarios, sin cambiar significativamente los de tamaño medio y los preovulatorios, y dado que éstos folículos grandes pueden ovular con la administración de gonadotropinas (Welschen, 1973) se postula que existe un incremento en la sensibilidad del ovario a la FSH y a la LH exógenas inducida por la vagotomía y que el nervio vago puede actuar como un modulador inhibitorio sobre la reactividad de los folículos ováricos a las gonadotropinas exógenas (Cruz y col., 1986).

Al parecer también se requiere de la integridad de la información parasimpática para que se de normalmente la implantación de los embriones. Burden y col. (1980) mostraron que la vagotomía provoca luteólisis sin que se afecten las concentraciones de FSH y PRL (prolactina) plasmáticas. La ruptura del cuerpo lúteo ocasiona la disminución en la secreción de LH y la interrupción de la preñez.

En la rata preñada, la vagotomía abdominal provoca disminución de la actividad de la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa ovárica (proteína que cataliza la transformación del colesterol a pregnenolona y la de pregnenolona a progesterona) de la concentración de progesterona en plasma y ovario, así como también de la concentración de LH en plasma e hipófisis (Burden y col., 1980). Esta cirugía también aumenta el número de reabsorciones fetales con lo que el número de fetos vivos disminuye (Burden y col., 1980; Lawrence y col., 1978). Lo anterior ha llevado a los autores a establecer que el nervio vago puede ser un componente importante del eje hipotálamo-hipófisis-gónada para el establecimiento de la preñez.

Se ha planteado que la respuesta compensatoria del ovario posterior a la hemicastración es mediada por el nervio vago (Burden y col., 1986; Burden y Lawrence, 1977; Chávez y col., 1987). El grupo de Burden (1977; 1986) mostró que independientemente del ovario que se extirpa, la vagotomía abdominal inhibe la hipertrofia compensadora, en tanto que la vagotomía cervical derecha o izquierda no altera la ganancia de peso ovárico ipsilateral y contralateral.

Se ha observado que en el animal hemicastrado, la vagotomía abdominal y la cervical derecha, inhiben en el ovario derecho, el incremento en el número de folículos antrales, en tanto que la vagotomía cervical izquierda no la modifica (Burden y col., 1986; Burden y Lawrence, 1977) por lo que se ha sugerido que el nervio vago únicamente modula en el ovario derecho el desarrollo folicular posterior a la hemicastración. Estudios previos de nuestro laboratorio muestran que en la rata hemicastrada, la tasa de ovulación es significativamente más baja cuando el ovario remanente es el

izquierdo. Estos resultados han llevado a los autores a sugerir que la función del ovario derecho es relativamente más dependiente de la inervación vagal que la gónada izquierda (Chávez y col., 1987; Cruz y col., 1986).

En la rata hembra como en el macho, la vagotomía bilateral inhibe el incremento en la liberación de gonadotropinas, que normalmente sigue a la castración. Estos resultados han permitido al grupo de Allen (1983, 1985) proponer que el nervio vago puede:

- modular la secreción de gonadotropinas, o
- ser un estimulante del Sistema Nervioso Central a nivel hipotalámico, o bien,
- actuar como un comunicador del sistema endócrino para sincronizar el mecanismo de control de la secreción de la LH y la FSH.

La mayor parte de la información disponible sobre los efectos de la vagotomía en las funciones reproductivas, se tienen utilizando como modelo experimental a la rata adulta. En 1983 el grupo de Ojeda mostró que en la rata de 24 días de edad, la vagotomía bilateral provoca un retraso en la edad de la apertura vaginal sin que se observen cambios en la concentración plasmática de las hormonas hipofisarias. Por estudios *in vitro*, se ha mostrado que el ovario de estos animales presenta una alteración en la respuesta esteroideogénica al estímulo con la gonadotropina coriónica humana (hCG por sus siglas en inglés), que se traduce en un incremento en la concentración de andrógenos y en la disminución de la concentración de estrógenos y progesterona. Estos resultados son interpretados por los autores como evidencia de la modificación de la actividad del compartimiento

tecal e intersticial del ovario y de la disminución de la actividad de las aromatasas y concluyen que el ovario de la rata prepúber es regulado por una influencia neural directa, dada por el nervio vago.

La vagotomía no sólo modifica algunas de las funciones reproductivas, sino también algunas relacionadas con el aparato digestivo, por lo que algunos investigadores consideran que se realizó de manera completa la vagotomía cuando encuentran un decremento en el peso corporal de los animales, dado por la reducción en la ingesta de alimento (Clarkson y col., 1982). Por el contrario, otros autores consideran que esto no necesariamente ocurre, ya que no observan diferencias en el comportamiento alimenticio ni en el peso corporal de las ratas adultas con sección uni o bilateral del nervio vago (Cruz y col., 1986).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en los antecedentes ya descritos, se puede postular que la acción de las gonadotropinas en el folículo ovárico, es modulada por la información neural que llega al ovario. Una de las vías involucradas en éste control, es la información aferente aportada por el nervio vago. Las evidencias experimentales disponibles al momento permiten postular que, en la rata adulta, la participación del nervio vago en las funciones reproductivas va a depender del día del ciclo estral en el que se realice la vagotomía, así como del nervio que se seccione.

Sin embargo, en el animal prepúber prácticamente se desconoce cual es la participación de los nervios vago en la regulación de la función del ovario, y dado que se conoce que durante las diversas fases del desarrollo del animal (neonatal, infantil, juvenil y puberal) se producen una serie de cambios neuroendócrinos que marcan el inicio de la pubertad, en este trabajo se decidió estudiar los efectos de la denervación, así como los de la estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos, realizada al principio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) sobre el inicio de la pubertad (edad en la que se produce la canalización espontánea de la vagina) la edad del primer estro vaginal, la primera ovulación y las concentraciones séricas de las hormonas esteroides.

HIPÓTESIS

La inervación parasimpática, aportada por el nervio vago, actúa de manera estimuladora en los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad, por lo que la eliminación o estimulación mecánica de la información neural que transcurre por este nervio, modificará la respuesta del folículo ovárico a las gonadotropinas endógenas, esta respuesta dependerá del nervio que se ha seccionado o estimulado (izquierdo, derecho o ambos nervios) y de la edad en que se realice la intervención.

OBJETIVOS

- Analizar los efectos de la *sección* del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos troncos vagales realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) sobre el inicio de la pubertad (edad de apertura vaginal) la primera ovulación espontánea y la concentración sérica de estrógenos y progesterona.
- Analizar los efectos de la *estimulación mecánica* del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos troncos vagales realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) sobre el inicio de la pubertad (edad de apertura vaginal) la primera ovulación espontánea y la concentración sérica de estrógenos y progesterona.
- Analizar los efectos de la *sección bilateral* del nervio vago realizada al final de la etapa juvenil, sobre el crecimiento y la diferenciación del folículo ovárico.

Procedimiento General

Se utilizaron ratas hembras prepúberes de la cepa CII-ZV de 24 y 28 días de edad mantenidas bajo condiciones controladas de iluminación con 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 hrs.). Desde el nacimiento (día cero), los animales se colocaron en grupos de seis crías por camada (cinco hembras y un macho) con la finalidad de evitar alteraciones en la maduración del sistema nervioso central y del aparato reproductor del animal (Salas y col., 1991). El destete se realizó el día 21 de vida, a partir de este momento los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento (Nutricubos, Ralston Rations USA).

Todas las cirugías se realizaron bajo anestesia con éter entre las 9:00 y las 12:00 hrs. y antes de iniciarla, se registró el peso corporal de los animales y se marcaron en las orejas. Los animales se asignaron al azar a alguno de los siguientes grupos experimentales.

- ***Operación Simulada (OS) o Laparotomía***

Una vez anestesiados los animales se procedió a realizar ventralmente una incisión longitudinal de la piel y del músculo de aproximadamente 2 cm a lo largo de la línea media del cuerpo, y sin tocar ningún órgano se suturó la herida inmediatamente.

- ***Sección Unilateral o Bilateral del Nervio Vago***

Se procedió como en el caso anterior, pero en ésta ocasión una vez realizada la incisión, el estómago fue exteriorizado, el hígado reflectado y el esófago expuesto. A nivel subdiafragmático se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar, con pinzas de microdissección, el nervio

vago izquierdo (SNVI) o el derecho (SNVD) cuando se trató de una deservación unilateral; en los grupos con sección bilateral del nervio vago (SBNV) se cortaron ambos nervios, según la metodología descrita por Burden y Lawrence (1977).

- ***Estimulación Mecánica Unilateral o Bilateral del Nervio Vago***

En estos grupos experimentales una vez localizados los nervios vago se procedió a manipular, con ayuda de una pinza de microdissección, el nervio vago izquierdo (ENVI), el derecho (ENVD) o ambos nervios (EBNV) sin cortarlos, se regresó el estómago a la cavidad abdominal y finalmente se suturó la herida.

A partir del día en que se realizaron las cirugías, todos los animales fueron examinados diariamente, entre las 10:00 y las 11:00 hrs. para registrar el día en el que se presentó la canalización de la vagina, momento a partir del cual se tomaron los frotis vaginales.

- ***Grupo Testigo***

Se utilizó como grupo testigo absoluto animales intactos sacrificados al primer estro vaginal.

Procedimiento de Autopsia

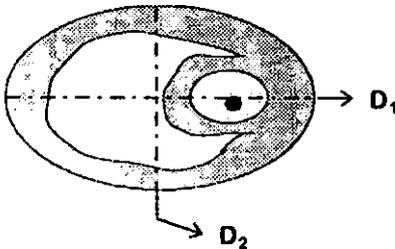
Entre la 11:00 y las 13:00 hrs. del día en el cual los animales presentaron el primer estro vaginal, se registró su peso corporal y fueron sacrificados por decapitación. La sangre del tronco se colectó en tubos de ensaye para posteriormente cuantificar por radioinmunoanálisis las hormonas esteroides: 17 β -estradiol y progesterona (apéndice A). En los grupos con vagotomía se

observó el esófago al microscopio estereoscópico para corroborar la ausencia de fibras vagales. Aquellos animales que no presentaron denervación completa no se incluyeron en el presente estudio.

A la autopsia, en todos los grupos experimentales se disecaron las trompas ováricas para buscar la presencia de ovocitos, los cuales se contaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico, siguiendo la metodología habitual del laboratorio (Morales y col., 1993). Se disecaron y pesaron por separado los ovarios, el útero y las adrenales. Los ovarios izquierdo y derecho se fijaron en líquido de Bouin para su posterior inclusión en parafina.

Análisis Morfométrico de la Población Folicular

Se cortaron a 10 μm de grosor los ovarios izquierdo y derecho de tres animales ovulantes de los grupos experimentales donde se observaron modificaciones en la respuesta ovulatoria y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Con la ayuda de un ocular micrométrico (125x) en los cortes histológicos se midieron (a partir de, y hasta la membrana basal) los diámetros (mayor y menor) de todos aquellos folículos que presentaron núcleo y nucleolo bien definido. Con estos datos se calculó el diámetro promedio del folículo ovárico.



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

D_1 = Diámetro mayor

D_2 = Diámetro menor

D_p = Diámetro promedio

En función del diámetro promedio, los folículos se agruparon en los siguientes rangos: de 50 a 99, de 100 a 199, de 200 a 349, de 350 a 499, y mayores de 500 μm .

También se clasificó a los folículos como sanos o atrésicos (Hsueh y col., 1994). Se consideró a un folículo atrésico cuando presentó alguna de las siguientes características:

- a) Picnosis de las células de la granulosa
- b) Descamación de las células de la granulosa
- c) Engrosamiento de la teca
- d) Alteración del ovocito

Análisis Estadístico

Los resultados de la edad de apertura vaginal y del primer estro, el número de ovocitos liberados y el número de folículos fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney.

El peso corporal, el peso absoluto (miligramos: mg) y el relativo (miligramos por 100 gramos de peso corporal: mg/100 g de pc) de los ovarios, del útero, y de las adrenales, así como la distribución de la población folicular y las concentraciones de las hormonas esteroideas se analizaron por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tukey.

La tasa ovulatoria (número de animales ovulantes/número total de animales) se analizó por medio de la prueba de probabilidad exacta de Fisher o de J_i^2 .

Cuando se compararon dos grupos experimentales, se utilizó la prueba de "t" de Student.

En todos los casos, cuando la probabilidad tuvo un valor igual o menor al 5%, se consideró a las diferencias estadísticamente significativas.

RESULTADOS

Experimento 1. Efectos de la laparotomía realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre el inicio de la pubertad espontánea

Dado que existen algunas evidencias experimentales que indican que el estrés puede modificar el inicio de la pubertad (Paris y Ramaley, 1974; Rivier y col., 1986), en este estudio primeramente se evaluó el efecto de la laparotomía, realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad), sobre la edad de la apertura vaginal y la edad de la primera ovulación, respecto a un grupo de animales intactos sacrificados al primer estro.

Tanto la operación simulada efectuada al inicio como al final de la etapa juvenil, provocaron disminución del peso corporal, en tanto que el inicio de la pubertad (edad de la apertura vaginal) y la presencia del primer estro vaginal sólo se adelantó en los animales laparotomizados a los 24 días de vida (Tabla 2).

Tabla 2. Media \pm e. e. m. del peso corporal, de la edad de la apertura vaginal (EAV) y del primer estro (EPE) de ratas intactas o con operación simulada (OS) realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso corporal (g)	EAV (días)	EPE (días)
Intactas	116.68 \pm 2.75	42.36 \pm 1.19	42.46 \pm 1.22
OS 24 días	104.19 \pm 3.95 †	38.78 \pm 1.01 *	38.78 \pm 1.01 *
OS 28 días	108.40 \pm 2.08 †	40.80 \pm 0.59	40.80 \pm 0.59

† $p < 0.05$ vs. Intactas (ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

* $p < 0.05$ vs. Intactas (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

En los grupos con operación simulada, aproximadamente el 100% de los animales ovularon al primer estro vaginal, semejante a lo observado en las hembras intactas (Tabla 3).

Tabla 3. Proporción de animales ovulantes por el ovario izquierdo, derecho o por ambas gónadas de ratas intactas o con operación simulada (OS) realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Tasa de Animales Ovulantes por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
Intactas	11	9/11	5/11	10/11
OS 24 días	9	8/9	6/9	9/9
OS 28 días	10	9/10	8/10	9/10

En los animales con operación simulada, realizada a los 24 días de edad, se observó que el ovario derecho liberó menos ovocitos respecto a la gónada izquierda. El número total de ovocitos liberados aumentó únicamente en los animales laparotomizados a los 28 días de edad, como consecuencia del aumento registrado en la gónada derecha (Tabla 4).

Tabla 4. Media \pm e. e. m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas intactas o con operación simulada (OS) realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Ovocitos Liberados por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
Intactas	11	4.40 \pm 0.73	2.30 \pm 0.80	6.70 \pm 0.62
OS 24 días	9	4.67 \pm 0.75	2.56 \pm 0.67 *	7.22 \pm 1.00
OS 28 días	10	3.89 \pm 0.51	4.78 \pm 0.80 †	8.67 \pm 0.44 †

* $p < 0.05$ vs. ovario izquierdo del mismo grupo (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

† $p < 0.05$ vs. Intactas (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

En los animales intactos, el peso absoluto (en miligramos: mg) del ovario derecho fue menor respecto al izquierdo. La operación simulada realizada a los 24 ó 28 días de vida no modificó ni el peso de los ovarios y ni del útero (Tabla 5).

Tabla 5. Media \pm e. e. m. del peso absoluto (mg) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas intactas o con operación simulada (OS) realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
Intactas	20.20 \pm 1.39	16.94 \pm 1.68 *	37.14 \pm 1.91	148.21 \pm 3.14
OS 24 días	20.78 \pm 1.10	17.94 \pm 0.87	38.72 \pm 1.64	160.20 \pm 5.30
OS 28 días	18.92 \pm 0.68	19.10 \pm 1.01	38.02 \pm 1.40	151.45 \pm 7.61

* $p < 0.05$ vs. ovario izquierdo del mismo grupo (ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

Cuando estos resultados se analizaron en función del peso corporal de los animales (miligramos/100 gramos de peso corporal: mg/100 g de pc), el peso del útero y la masa ovárica aumentaron en el grupo con operación simulada efectuada al día 24 de vida (Tabla 6).

Tabla 6. Media \pm e. e. m. del peso relativo (mg/100g de pc) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas intactas o con operación simulada (OS) realizada al inicio o al final de la etapa juvenil (24 ó 28 días de edad) y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
Intactas	17.29 \pm 1.05	14.52 \pm 1.34	31.82 \pm 1.42	127.53 \pm 3.36
OS 24 días	20.02 \pm 0.97	17.48 \pm 1.18	37.50 \pm 1.93 †	155.39 \pm 7.36 †
OS 28 días	17.47 \pm 0.59	17.68 \pm 1.02	35.15 \pm 1.38	140.49 \pm 8.26

† $p < 0.05$ vs. Intactas (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

Dado que dependiendo de la edad en la que se realizó la operación simulada, se modificaron algunos de los parámetros evaluados, los resultados de los grupos con sección o estimulación mecánica del nervio vago fueron comparados con los de la operación simulada correspondiente.

Experimento 2. Efectos de la sección uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre el inicio de la pubertad espontánea

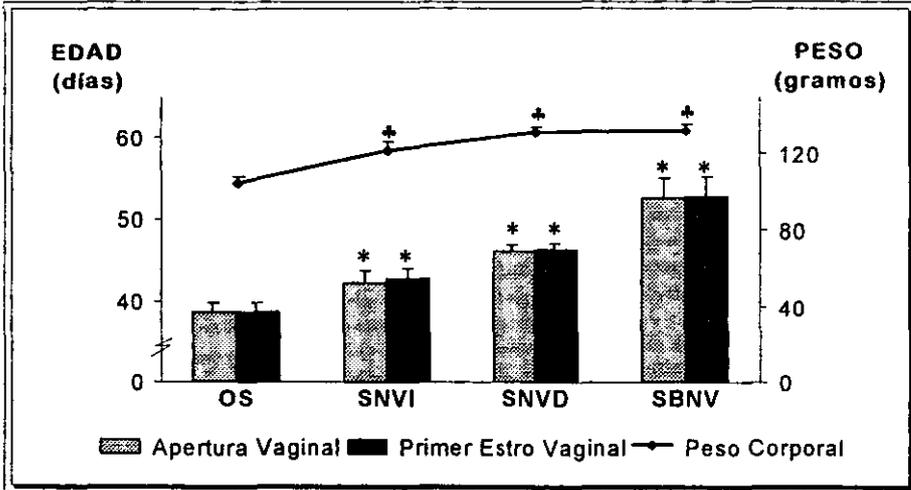
Ojeda y col. (1983) mostraron que en la rata hembra de 24 días de vida la sección bilateral del nervio vago a nivel abdominal, induce retraso en el inicio de la pubertad. Sin embargo, se desconoce si la participación del nervio vago izquierdo y el derecho es diferencial en este proceso, por lo que en este trabajo se analizaron los efectos de la sección uni o bilateral del nervio vago, realizada al comienzo o al final de la etapa juvenil sobre el peso corporal, el inicio de la pubertad (medido como la edad de la canalización vaginal) y de la primera ovulación espontánea.

• Denervación realizada a los 24 días de edad

En la figura 7 se muestra el peso corporal, la edad de la apertura vaginal (inicio de la pubertad), así como la edad del primer estro vaginal que presentaron los animales denervados al inicio de la etapa juvenil. Puede observarse que tanto la sección unilateral (izquierda o derecha) como la bilateral del nervio vago aumentaron el peso corporal, provocaron retraso de la edad de la apertura vaginal y en la aparición del primer estro (Figura 7).

La proporción de animales que ovularon al primer estro por la gónada izquierda, por la derecha o por ambos ovarios no se modificó por efecto de la denervación uni o bilateral del vago (Tabla 7).

Figura 7. Media \pm e. e. m. del peso corporal, de la edad de la apertura vaginal y del primer estro de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

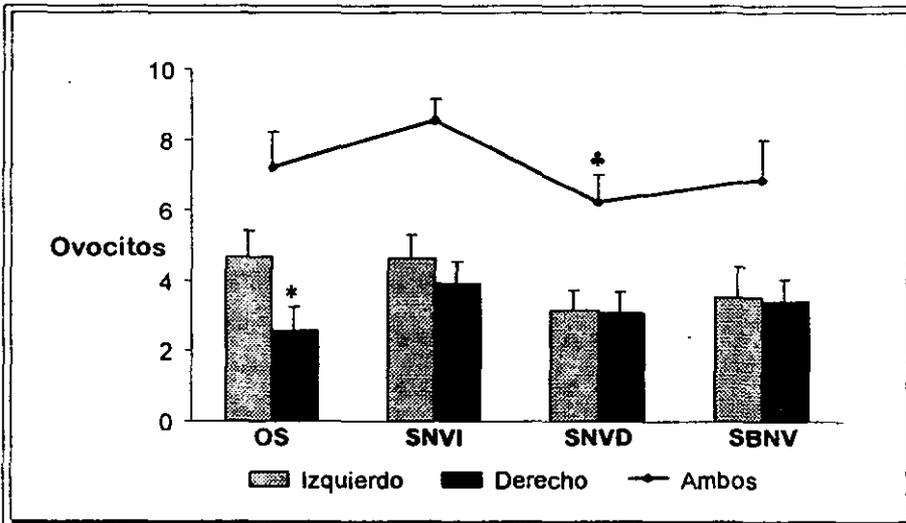
* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Tabla 7. Tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Tasa de Animales Ovulantes por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
OS	9	8/9	6/9	9/9
SNVI	13	10/13	9/13	11/13
SNVD	12	10/12	9/12	12/12
SBNV	9	6/9	7/9	8/9

En el grupo con operación simulada el número de ovocitos liberados por la gónada derecha fue menor respecto al ovario izquierdo, esta diferencia fue eliminada tanto por la denervación unilateral como por la de ambos nervios vago. Cuando se analizaron los resultados como el número de ovocitos liberados por ambos ovarios, no se observaron diferencias entre el grupo con laparotomía y los animales con denervación. El número total de ovocitos liberados por los animales con vagotomía derecha fue menor al liberado por los animales con sección del nervio vago izquierdo (Figura 8).

Figura 8. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. ovario izquierdo del mismo grupo (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

♣ $p < 0.05$ vs. SNVI (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

A esta edad, ni la denervación unilateral (izquierda o derecha) ni la bilateral modificaron el peso absoluto de los ovarios y del útero (Tabla 8).

Tabla 8. Media \pm e. e. m. del peso absoluto (mg) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o ambos nervios (SBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
OS	20.78 \pm 1.10	17.94 \pm 0.87	38.72 \pm 1.64	160.20 \pm 5.30
SNVI	17.70 \pm 1.41	19.40 \pm 1.29	37.10 \pm 2.39	153.30 \pm 12.16
SNVD	19.69 \pm 1.71	19.79 \pm 1.15	39.48 \pm 2.66	173.13 \pm 14.10
SBNV	20.50 \pm 1.28	19.97 \pm 0.98	40.47 \pm 1.98	171.83 \pm 14.31

Al analizar los resultados anteriores en función de peso corporal de los animales se observó que, tanto la sección unilateral (izquierda o derecha) como la bilateral del nervio vago, provocaron disminución en el peso del ovario izquierdo, mientras que el peso de la gónada derecha no se modificó por efecto de la vagotomía. Ésta disminución en el peso de los ovarios también se observó cuando los resultados se expresaron como la masa ovárica. En cuanto al peso del útero, únicamente la sección del nervio vago izquierdo provocó disminución en el peso del órgano (Tabla 9).

Tabla 9. Media \pm e. e. m. del peso relativo (mg/100 g de pc) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
		Izquierdo	Derecho		
OS	10	20.02 \pm 0.97	17.48 \pm 1.18	37.50 \pm 1.93	155.39 \pm 7.36
SNVI	10	14.70 \pm 1.39 *	16.04 \pm 1.07	30.74 \pm 2.26 *	125.58 \pm 8.56 *
SNVD	14	14.97 \pm 1.30 *	15.02 \pm 0.82	29.98 \pm 1.97 *	132.29 \pm 11.83
SBNV	9	15.55 \pm 0.86 *	15.25 \pm 0.88	30.80 \pm 1.52 *	131.09 \pm 11.02

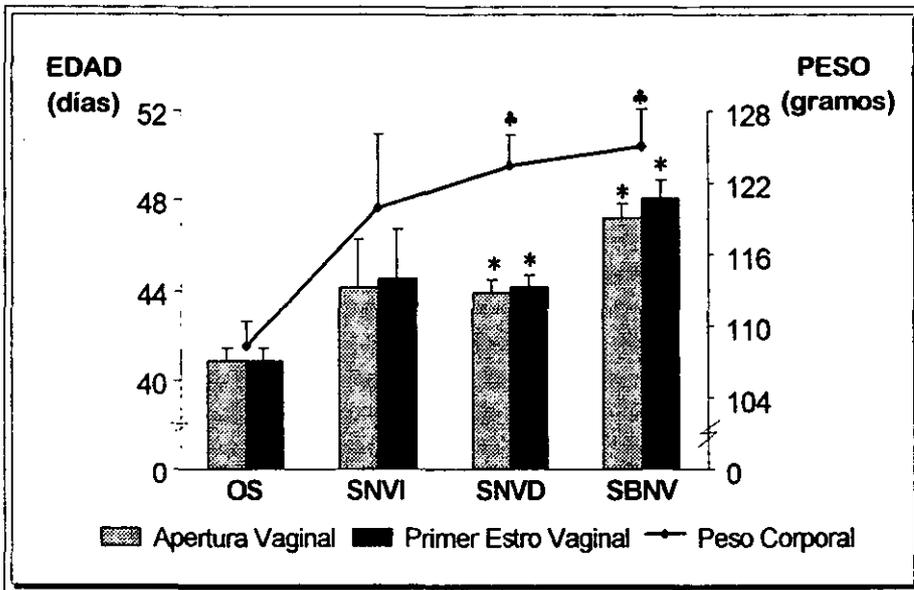
* $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

En comparación con la operación simulada, la vagotomía no modificó significativamente la masa relativa (mg/100 gramos de peso corporal) de las adrenales (SNVI: 22.98 \pm 1.02; SNVD: 24.52 \pm 1.59; SBNV: 22.25 \pm 1.48 vs. OS: 26.61 \pm 1.55, NS).

• Denervación realizada a los 28 días de edad

Tanto la sección unilateral derecha como la bilateral del nervio vago realizadas al final de la etapa juvenil, retrasaron la edad de apertura vaginal y la aparición del primer estro, este retraso en el inicio de la pubertad se acompañó por un aumento en el peso corporal (Figura 9).

Figura 9. Media \pm e. e. m. del peso corporal, de la edad de la apertura vaginal y del primer estro de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



† $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

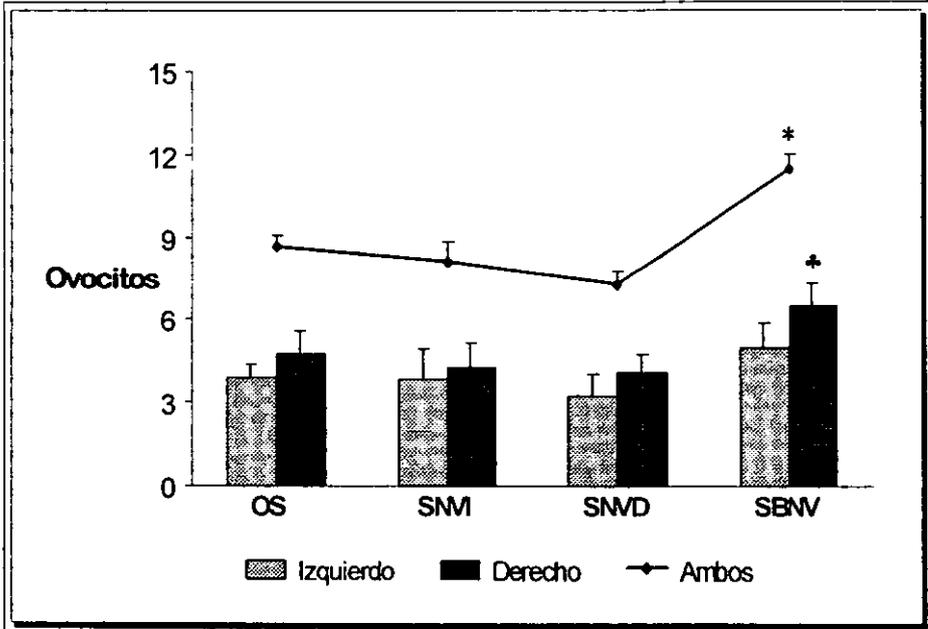
Ni la sección unilateral (izquierda o derecha) ni la bilateral del nervio vago alteraron la tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo, por el derecho o por ambas gónadas (Tabla 10).

Tabla 10. Tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Tasa de Animales Ovulantes por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
OS	10	9/10	8/10	9/10
SNVI	10	5/10	6/10	7/10
SNVD	13	8/13	12/13	13/13
SBNV	9	6/9	6/9	6/9

Con respecto al grupo con operación simulada, la denervación unilateral (izquierda o derecha) realizada al final de la etapa juvenil, no modificó el número de ovocitos liberados por animal ovulante. Sin embargo con respecto al grupo con laparotomía, con sección del vago izquierdo o del derecho, la vagotomía bilateral aumentó significativamente el número de ovocitos liberados por ambos ovarios (totales). Éste incremento no llegó a ser estadísticamente significativo cuando se expresó la ovulación por ovario. Respecto al grupo con vagotomía derecha, la denervación bilateral incrementó la cuota ovulatoria del ovario derecho (Figura 10).

Figura 10. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer esto vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS, SNVI, SNVD (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

+ $p < 0.05$ vs. mismo ovario del grupo con SNVD (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

En lo que se refiere al peso absoluto de los ovarios y del útero, ni la denervación unilateral (izquierda o derecha) ni la bilateral del nervio vago modificaron el peso de los órganos (Tabla 11).

Tabla 11. Media \pm e. e. m. del peso absoluto (mg) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o ambos nervios (SBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
OS	18.92 \pm 0.68	19.10 \pm 1.01	38.02 \pm 1.40	151.45 \pm 7.61
SNVI	22.63 \pm 1.82	18.89 \pm 0.82	41.52 \pm 2.28	159.14 \pm 7.39
SNVD	19.35 \pm 0.95	18.17 \pm 0.75	37.52 \pm 1.32	168.41 \pm 3.87
SBNV	19.60 \pm 0.55	21.50 \pm 1.85	39.19 \pm 1.77	154.75 \pm 9.25

Al analizar el peso de los órganos en función de la masa corporal de los animales, se observó que el peso del ovario izquierdo no se modificó por efecto de la vagotomía y que únicamente con la sección del nervio vago derecho disminuyó el peso del ovario ipsilateral a la denervación. Tanto la sección del nervio vago derecho como la de ambos nervios provocaron decremento de la masa ovárica. El peso del útero no se modificó significativamente por efecto de la denervación uni o bilateral del nervio vago realizada al final de la etapa juvenil (Tabla 12).

Tabla 12. Media \pm e. e. m. del peso relativo (mg/100 g de pc) del ovario izquierdo o el derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
		Izquierdo	Derecho		
OS	10	17.47 \pm 0.59	17.68 \pm 1.02	35.15 \pm 1.38	140.49 \pm 8.26
SNVI	10	19.07 \pm 1.49	16.11 \pm 1.04	35.17 \pm 2.21	136.17 \pm 9.94
SNVD	13	15.89 \pm 1.05	14.79 \pm 0.67 *	30.67 \pm 1.52 *	137.30 \pm 4.63
SBNV	9	15.04 \pm 1.27	16.26 \pm 0.69	31.29 \pm 1.16 *	123.72 \pm 6.77

* $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

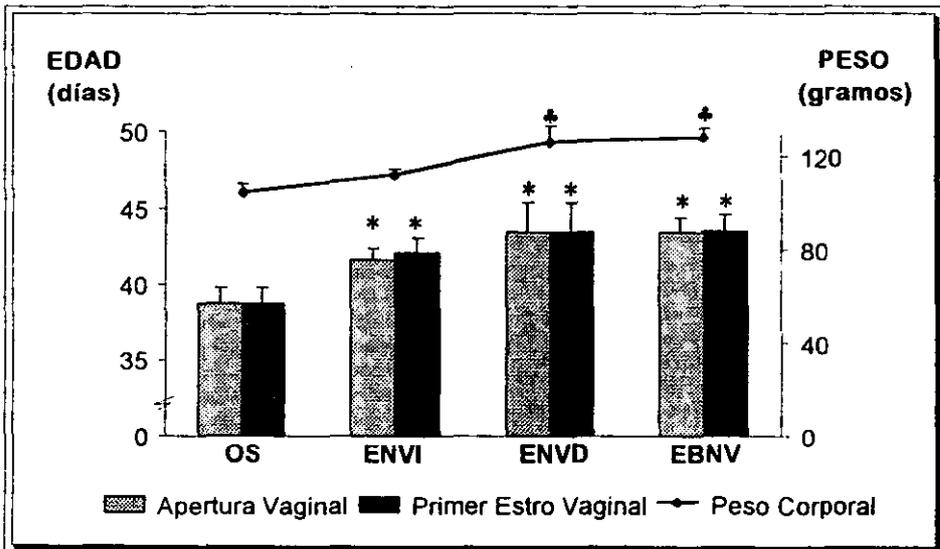
No se modificó la masa adrenal relativa (mg/100 g de peso corporal) por efecto de la sección unilateral o la bilateral del nervio vago (SNVI: 27.10 \pm 1.32; SNVD: 28.44 \pm 0.89; SBNV: 27.73 \pm 1.20 vs. OS: 25.96 \pm 1.10).

Experimento 3. Efectos de la estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre el inicio de la pubertad espontánea

• Estimulación mecánica realizada a los 24 días de edad

Tanto la estimulación mecánica del nervio vago derecho como la de ambos nervios provocaron aumento significativo en el peso corporal de los animales; en todos los grupos se observó retraso en la edad de canalización vaginal y en la aparición del primer estro (Figura 11).

Figura 11. Media \pm e. e. m. del peso corporal, de la edad de apertura vaginal y del primer estro de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

‡ $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey).

Ni la estimulación unilateral ni la bilateral del vago modificaron la proporción de animales que ovularon al primer estro vaginal por la gónada izquierda, derecha o cuando se analizaron los resultados agrupando al ovario izquierdo con el derecho (Tabla 13).

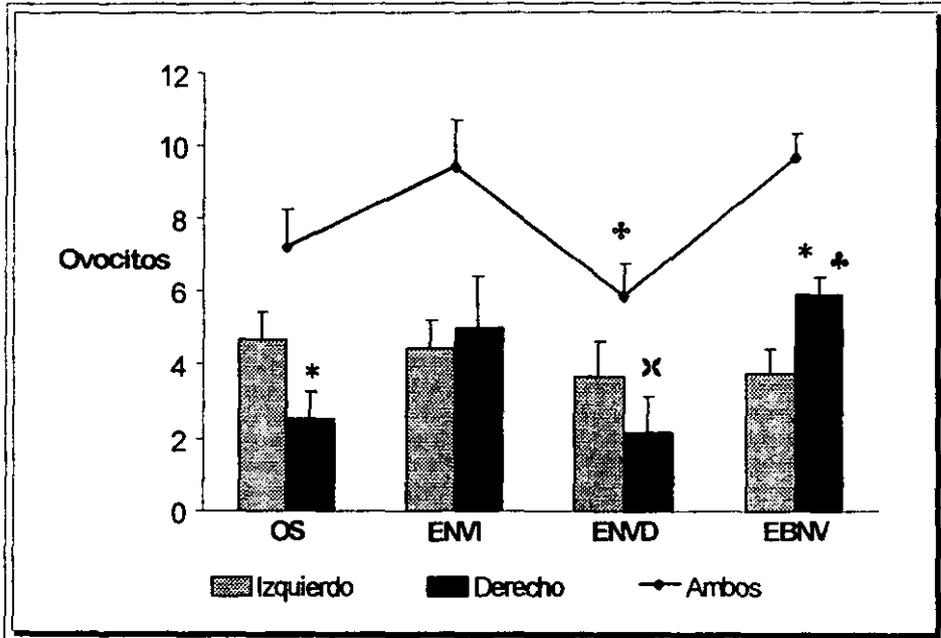
Tabla 13. Tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Tasa de Animales Ovulantes por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
OS	9	8/9	6/9	9/9
ENVI	10	7/10	6/10	7/10
ENVD	8	5/8	3/8	6/8
EBNV	8	7/8	8/8	8/8

En los animales con operación simulada se observó que la gónada izquierda libera más ovocitos que la derecha, esta diferencia fue eliminada por la estimulación unilateral (izquierda o derecha) del nervio vago. El ovario derecho del grupo con estimulación de ambos nervios presentó una cuota ovulatoria mayor, en comparación con los grupos con operación simulada y estimulación del vago derecho. Con respecto al grupo con manipulación del nervio vago izquierdo, la estimulación del vago derecho indujo disminución en el número de ovocitos liberados por la gónada derecha. En comparación con los grupos con estimulación del vago

izquierdo y la de ambos nervios, la estimulación mecánica del nervio vago derecho disminuyó el número total de ovocitos liberados por los ovarios (Figura 12).

Figura 12. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. ovario izquierdo del mismo grupo (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

† $p < 0.05$ vs. ovario derecho del grupo con OS o ENVD (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

× $p < 0.05$ vs. ovario derecho del grupo con ENVI (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

‡ $p < 0.05$ vs. ENVI y EBNV (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

En lo que se refiere al peso absoluto de las gónadas, de la masa ovárica y del útero, ni la estimulación unilateral ni la bilateral del nervio vago modificaron estos parámetros (Tabla 14).

Tabla 14. Media \pm e. e. m. del peso absoluto (mg) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), estimulación del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o ambos nervios (EBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovarica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
OS	20.78 \pm 1.10	17.94 \pm 0.87	38.72 \pm 1.64	160.20 \pm 5.30
ENVI	18.66 \pm 1.58	21.10 \pm 1.39	39.76 \pm 2.46	168.39 \pm 13.62
ENVD	17.66 \pm 1.01	18.59 \pm 1.18	36.25 \pm 1.42	166.06 \pm 7.49
EBNV	18.70 \pm 1.02	17.88 \pm 1.20	36.58 \pm 1.76	153.46 \pm 5.87

Cuando los resultados anteriores se analizaron en función del peso corporal de los animales, se observó que tanto la estimulación mecánica unilateral como la bilateral del nervio vago provocaron disminución del peso del ovario izquierdo. La reducción en la masa ovárica y en el peso del útero sólo fue significativa en los grupos con estimulación mecánica del nervio vago derecho o de ambos nervios (Tabla 15).

Tabla 15. Media \pm e. e. m. del peso relativo (mg/100 g de pc) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 24 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Peso del Ovario		Masa Ovarica	Útero
		Izquierdo	Derecho		
OS	9	20.02 \pm 0.97	17.48 \pm 1.18	37.50 \pm 1.93	155.39 \pm 7.36
ENVI	10	16.55 \pm 1.19 †	18.88 \pm 1.27	35.43 \pm 1.98	150.08 \pm 11.0
ENVD	8	14.20 \pm 0.70 †	15.11 \pm 1.22	29.30 \pm 1.50 †	133.14 \pm 4.30 †
EBNV	8	15.15 \pm 0.88 †	14.70 \pm 1.05	29.85 \pm 1.65 †	124.09 \pm 6.36 †

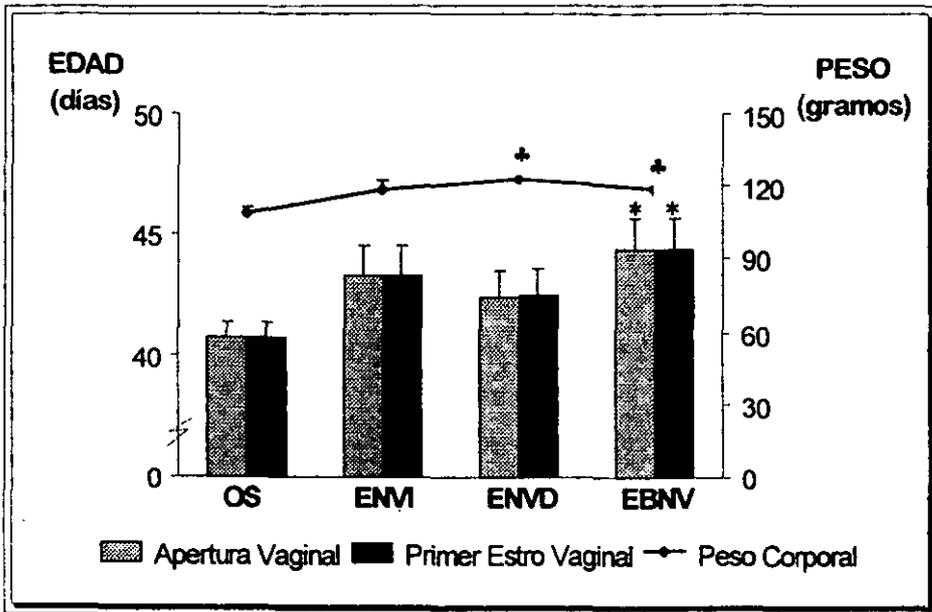
† $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

La masa adrenal (mg/100 gramos de peso corporal) no se modificó por efecto de la estimulación mecánica del nervio vago (ENVI: 26.24 \pm 1.40; ENVD: 25.59 \pm 1.61; EBNV: 25.98 \pm 0.72 vs. OS: 26.61 \pm 1.55, NS).

• Estimulación mecánica realizada a los 28 días de edad

A esta edad, tanto la estimulación mecánica del nervio vago derecho así como la de ambos nervios provocaron aumento significativo del peso corporal y únicamente la estimulación bilateral retrasó la edad de canalización vaginal y la del primer estro (Figura 13).

Figura 13. Media \pm e. e. m. del peso corporal, de la edad de la apertura vaginal y del primer estro de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney).

♣ $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

Sólo con la estimulación de ambos nervios disminuyó la tasa de animales que ovuló por el ovario izquierdo, sin modificar la que ovuló por el ovario derecho o ambas gónadas (Tabla 16).

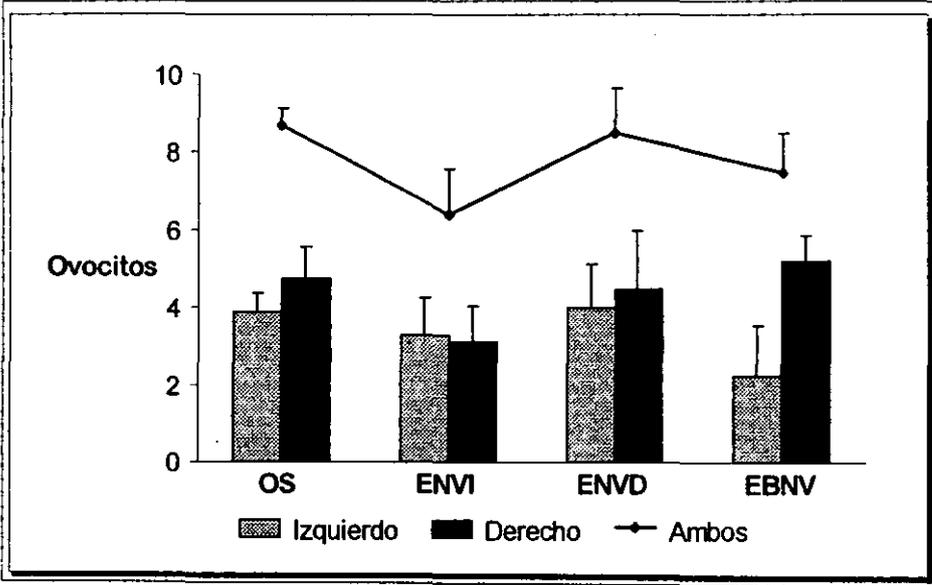
Tabla 16. Tasa de animales ovulantes por el ovario izquierdo, el derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Tasa de Animales Ovulantes por el Ovario		
		Izquierdo	Derecho	Ambos
OS	10	9/10	8/10	9/10
ENVI	8	6/8	5/8	7/8
ENVD	8	5/8	5/8	6/8
EBNV	5	2/5 †	4/5	4/5

† $p < 0.05$ vs. OS (Prueba de probabilidad exacta de Fisher seguida por J_i^2)

Con respecto al grupo con operación simulada, ni la estimulación mecánica unilateral ni la bilateral del nervio vago modificaron la cuota ovulatoria por el ovario izquierdo, derecho o por ambas gónadas (Figura 14).

Figura 14. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, derecho o por ambas gónadas de ratas con operación simulada (OS), estimulación del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.



Ni la estimulación unilateral ni la bilateral del vago modificaron el peso absoluto del útero o el de las gónadas, expresado por ovario o como la masa ovárica (Tabla 17).

Tabla 17. Media \pm e. e. m. del peso absoluto (mg) del ovario izquierdo o derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), estimulación del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o ambos nervios (EBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
	Izquierdo	Derecho		
OS	18.92 \pm 0.68	19.10 \pm 1.01	38.02 \pm 1.40	151.45 \pm 7.61
ENVI	18.84 \pm 1.35	16.43 \pm 1.45	35.26 \pm 2.18	159.95 \pm 10.10
ENVD	15.10 \pm 1.25	21.68 \pm 1.88	36.78 \pm 1.23	174.56 \pm 11.20
EBNV	19.94 \pm 1.85	19.24 \pm 1.62	39.18 \pm 2.70	172.00 \pm 11.75

En la tabla 18 se presenta el peso relativo de las gónadas y del útero, en ella se puede observar que únicamente en los animales con estimulación mecánica del nervio vago derecho disminuyó el peso del ovario contralateral a la estimulación (ovario izquierdo). Tanto la manipulación del nervio vago izquierdo como la del derecho provocaron disminución de la masa ovárica, mientras que el peso del útero no se modificó por efecto de la estimulación mecánica (Tabla 18).

Tabla 18. Media \pm e. e. m. del peso relativo (mg/100 g de pc) del ovario izquierdo o el derecho, de la masa ovárica y del útero de ratas con operación simulada (OS), estimulación mecánica del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas el día del primer estro vaginal.

Grupo	n	Peso del Ovario		Masa Ovárica	Útero
		Izquierdo	Derecho		
OS	10	17.47 \pm 0.59	17.68 \pm 1.02	35.15 \pm 1.38	140.49 \pm 8.26
ENVI	8	15.94 \pm 0.97	14.00 \pm 1.24	29.94 \pm 1.70 *	136.42 \pm 9.45
ENVD	8	12.29 \pm 0.99 *	17.66 \pm 1.52	29.94 \pm 0.81 *	143.02 \pm 10.82
EBNV	5	16.87 \pm 1.79	16.21 \pm 1.38	33.09 \pm 2.58	144.68 \pm 9.48

* $p < 0.05$ vs. OS (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey)

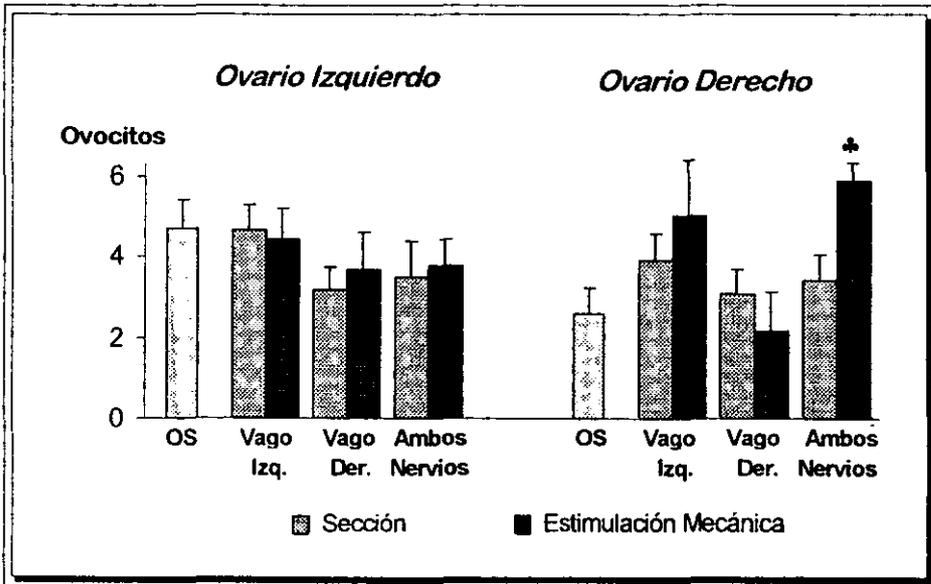
A esta edad la masa adrenal relativa (mg/100 g de peso corporal) no se modificó por efecto de la estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos nervios (ENVI: 24.55 \pm 1.52; ENVD: 26.54 \pm 1.00; EBNV: 25.60 \pm 2.06 vs. OS: 25.96 \pm 1.10).

- Comparación de la respuesta ovulatoria de los animales con sección vs. estimulación mecánica del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil.

En este apartado se presenta la respuesta ovulatoria de las gónadas ante la sección uni o bilateral del nervio vago, comparada con la del grupo con estimulación mecánica correspondiente.

En la figura 15 se presenta la respuesta ovulatoria de los ovarios ante la sección o la estimulación del nervio vago realizada a los 24 días de edad.

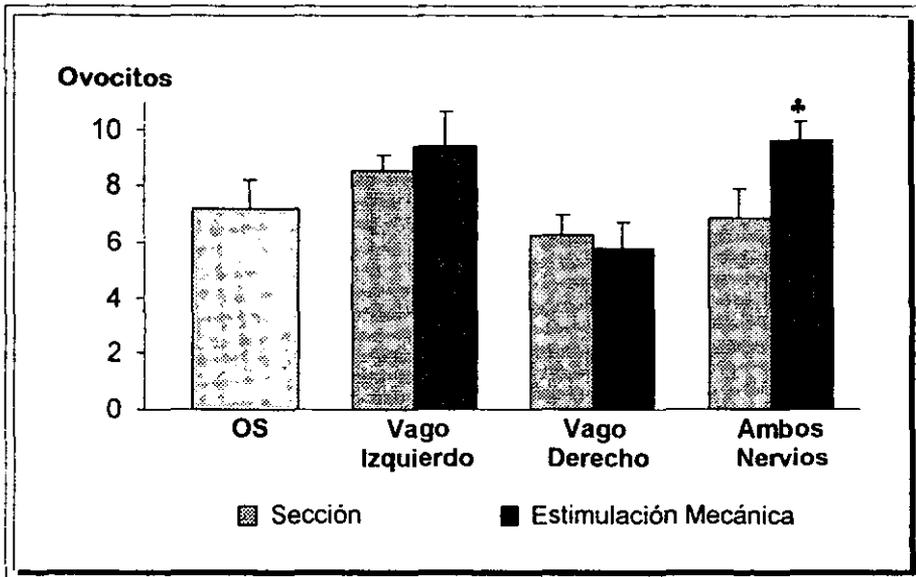
Figura 15. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o por el derecho de ratas con laparotomía (OS), con sección o con estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos nervios realizada el día 24 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. grupo con sección de ambos nervios vago (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Como puede observarse, no existen diferencias en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo de los animales con sección o con estimulación uni o bilateral del nervio vago. En cambio, en el ovario derecho tanto la estimulación del vago izquierdo como la de ambos nervios, provocó aumento en la respuesta ovulatoria, que sólo llegó a ser significativo en el grupo con estimulación bilateral del vago (Figura 15). Este aumento también se presentó al analizar los resultados como el número de ovocitos liberados por ambas gónadas (Figura 16).

Figura 16. Media \pm e.e.m. del número total de ovocitos liberados por los ovarios de ratas con laparotomía (OS), con sección o con estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos nervios realizada el día 24 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. grupo con sección de ambos nervios vago (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Cuando las cirugías se efectuaron al final de la etapa juvenil, no se presentaron diferencias en la cuota ovulatoria de las gónadas (Figura 17). Sin embargo, al analizar los resultados como el número total de ovocitos liberados, se observó que con respecto al grupo con sección bilateral, el ovario derecho de los animales con estimulación mecánica del vago disminuyó su cuota ovulatoria (Figura 18).

Figura 17. Media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o por el derecho de ratas con laparotomía (OS), con sección o con estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos nervios realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.

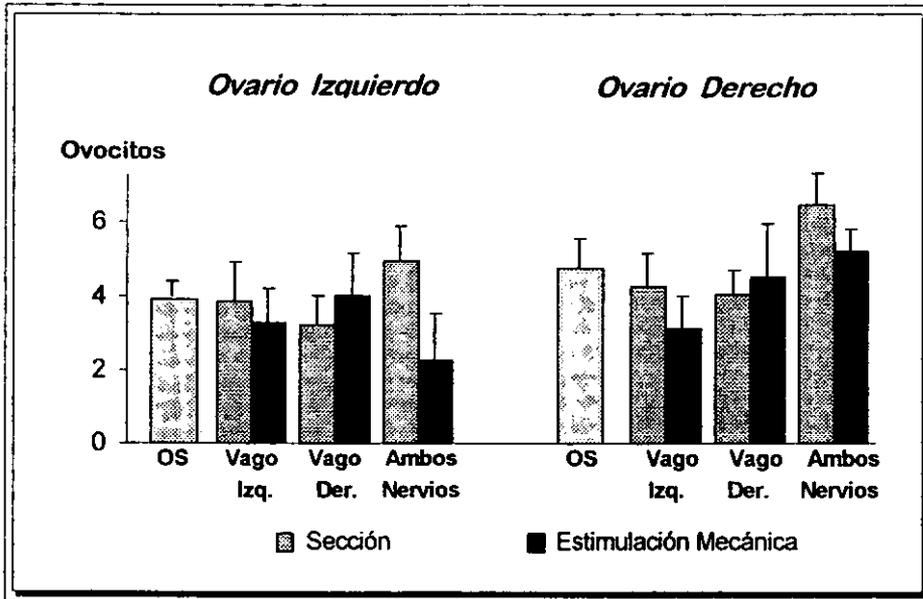
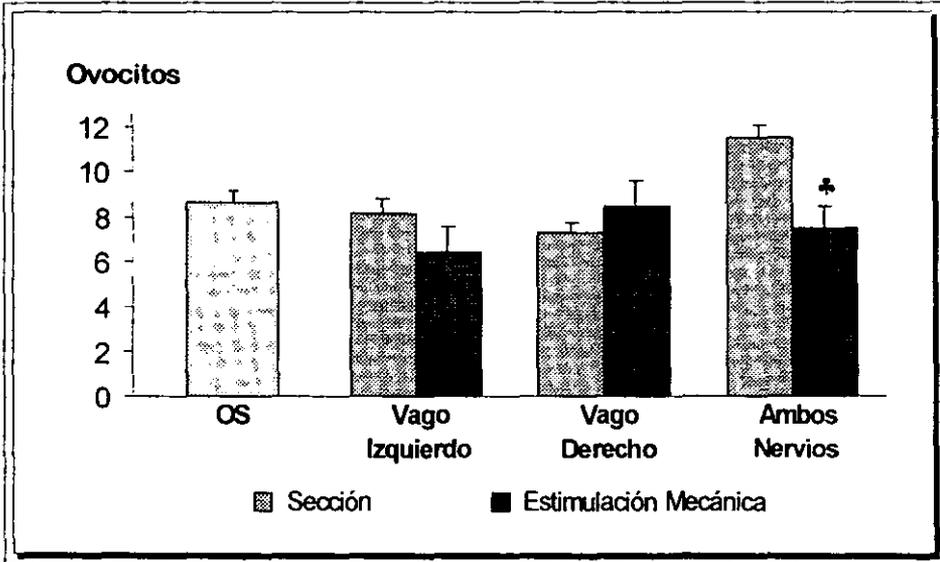


Figura 18. Media \pm e.e.m. del número total de ovocitos liberados por los ovarios de ratas con laparotomía (OS), con sección o con estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos nervios realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.



♣ $p < 0.05$ vs. grupo con sección de ambos nervios vago (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Experimento 4. Efectos de la denervación o de la estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago, realizada al inicio o al final de la etapa juvenil, sobre la concentración sérica de las hormonas esteroideas evaluadas al primer estro vaginal

En la rata preñada, la vagotomía bilateral a nivel abdominal (por debajo del diafragma) provoca disminución de la actividad de la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa ovárica lo que conduce a un descenso en la concentración de progesterona en el plasma y en el ovario (Burden y col., 1980).

La misma sección realizada en el animal de 24 días de edad, altera la respuesta del ovario al estímulo con hCG al inducir un aumento en la liberación de andrógenos y un descenso en la de progesterona y estrógenos, eventos que se acompañan por un retraso en la edad de canalización vaginal y, por ende, en el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983).

De las evidencias anteriores surge la siguiente interrogante: ¿Participan de igual manera el nervio vago izquierdo y derecho en la modulación de la secreción de esteroideos del ovario? Para responder a esta pregunta se analizó en la rata de 24 y 28 días de edad, el efecto de la sección o de la manipulación mecánica del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos sobre la concentración sérica de estrógenos y de progesterona.

Con respecto al grupo de animales intactos, la operación simulada realizada el día 24 de vida, no modificó la concentración sérica [picogramos/mililitro: pg/ml] de 17β -estradiol (24.40 ± 0.87 vs. 24.36 ± 1.66 , N.S.) en tanto que la concentración de progesterona [nanogramos/mililitro: ng/ml] aumentó (5.25 ± 0.48 vs. 3.49 ± 0.16 , $p < 0.05$). Por el contrario, la

laparotomía efectuada el día 28 de vida, indujo aumento significativo tanto en la concentración sérica de 17β -estradiol (37.48 ± 3.42 vs. 24.36 ± 1.66 , $p < 0.05$) como en la de progesterona (4.77 ± 0.49 vs. 3.49 ± 0.16 , $p < 0.05$).

- **Sección uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil**

Tanto la denervación unilateral como la bilateral del nervio vago, realizadas al inicio de la etapa juvenil provocaron, al estro, disminución en la concentración sérica de 17β -estradiol y únicamente con la sección de ambos nervios vago, aumentó la concentración de progesterona (Tabla 18).

Tabla 18. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17β -estradiol (pg/ml) y de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV), realizada el día 24 de vida .

Grupo	17 β -estradiol		Progesterona	
	n	pg/ml	n	ng/ml
OS	5	24.40 \pm 0.87	4	5.25 \pm 0.48
SNVI	6	18.33 \pm 1.15 \clubsuit	4	3.25 \pm 0.63
SNVD	5	17.20 \pm 1.36 \clubsuit	5	3.60 \pm 0.68
SBNV	6	15.83 \pm 2.04 \clubsuit	4	9.25 \pm 1.25 \clubsuit

\clubsuit $p < 0.05$ vs. OS (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

En la tabla 19 se presentan las concentraciones de las hormonas esteroideas evaluadas en el suero de los grupos denervados al día 28 de vida. En ella puede observarse que, tanto la sección del nervio vago derecho como la de ambos nervios, provocaron decremento en la concentración sérica de 17 β -estradiol y que la concentración de progesterona disminuyó en todos los grupos con sección del nervio vago (Tabla 19).

Tabla 19. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17 β -estradiol (pg/ml) y de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o de ambos nervios (SBNV), realizada el día 28 de vida.

Grupo	17 β -estradiol		Progesterona	
	n	pg/ml	n	ng/ml
OS	4	37.48 \pm 3.42	5	4.77 \pm 0.49
SNVI	5	27.70 \pm 3.41	5	2.16 \pm 0.24 *
SNVD	5	25.71 \pm 2.46 *	6	1.93 \pm 0.14 *
SBNV	6	18.66 \pm 0.78 *	5	2.55 \pm 0.46 *

* p<0.05 vs. OS (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

- Estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil

En la tabla 20 se presentan los resultados de la cuantificación de las hormonas esteroideas evaluadas al primer estro vaginal, en animales con estimulación mecánica del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios realizada al inicio de la etapa juvenil. Puede observarse que, tanto en las hembras con estimulación mecánica unilateral (izquierda o derecha) como bilateral del nervio vago, disminuyó la concentración sérica de 17β -estradiol, mientras que la concentración de progesterona no se modificó en ninguno de los grupos con estimulación (Tabla 20).

Tabla 20. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17β -estradiol (pg/ml) y de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), estimulación del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV), realizada el día 24 de vida.

Grupo	17β -estradiol		Progesterona	
	n	pg/ml	n	ng/ml
OS	5	24.40 \pm 0.87	4	5.25 \pm 0.48
ENVI	4	6.25 \pm 0.75 †	4	5.75 \pm 0.75
ENVD	4	11.50 \pm 1.56 †	3	3.33 \pm 0.88
EBNV	5	10.00 \pm 0.89 †	5	3.80 \pm 0.37

† $p < 0.05$ vs. OS (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

Al igual que en los animales estimulados al inicio de la etapa juvenil, la estimulación unilateral (izquierda o derecha) y la bilateral del nervio vago efectuadas a los 28 días de vida (final de la etapa juvenil) provocaron disminución en el suero de la concentración de 17β -estradiol. En todos los grupos, este efecto se acompañó por la disminución significativa de la concentración sérica de la progesterona (Tabla 21).

Tabla 21. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17β -estradiol (pg/ml) y de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), estimulación del nervio vago izquierdo (ENVI), derecho (ENVD) o de ambos nervios (EBNV), realizada el día 28 de vida.

Grupo	17 β -estradiol		Progesterona	
	n	pg/ml	n	ng/ml
OS	4	37.48 \pm 3.42	5	4.77 \pm 0.49
ENVI	5	23.07 \pm 2.23 *	7	3.17 \pm 0.35 *
ENVD	5	23.09 \pm 1.70 *	6	2.04 \pm 0.18 *
EBNV	5	7.12 \pm 0.66 *	5	3.02 \pm 0.41 *

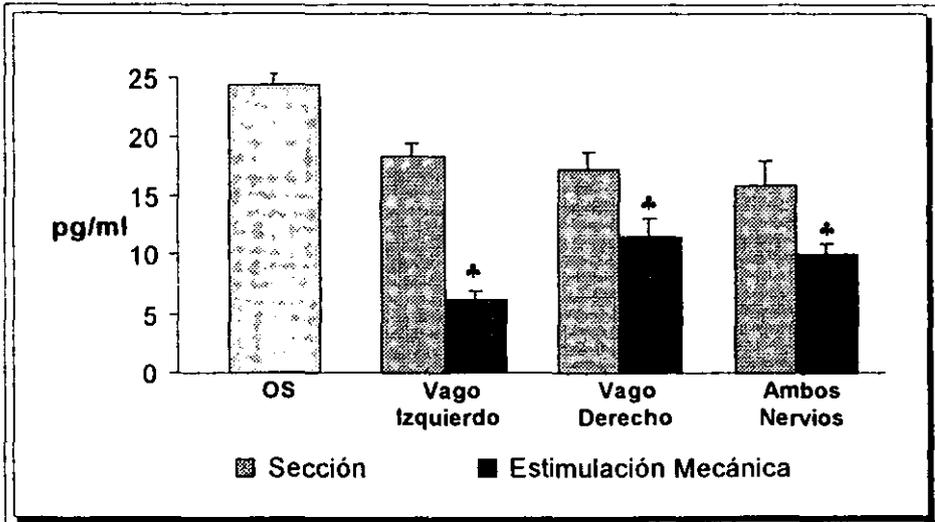
* $p < 0.05$ vs. OS (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

- Efectos de la sección vs. estimulación mecánica del nervio vago realizada al inicio o al final de la etapa juvenil sobre la concentración sérica de las hormonas esteroideas

En este apartado los resultados de la concentración sérica de las hormonas esteroideas de los animales con sección se comparan con la de los grupos con estimulación mecánica.

Con respecto a los animales con vagotomía realizada a los 24 días de edad, se observó que en las hembras con estimulación mecánica uni o bilateral del vago (efectuadas también al inicio de la etapa juvenil) disminuyó la concentración sérica de 17β -estradiol evaluada al primer estro (Figura 22).

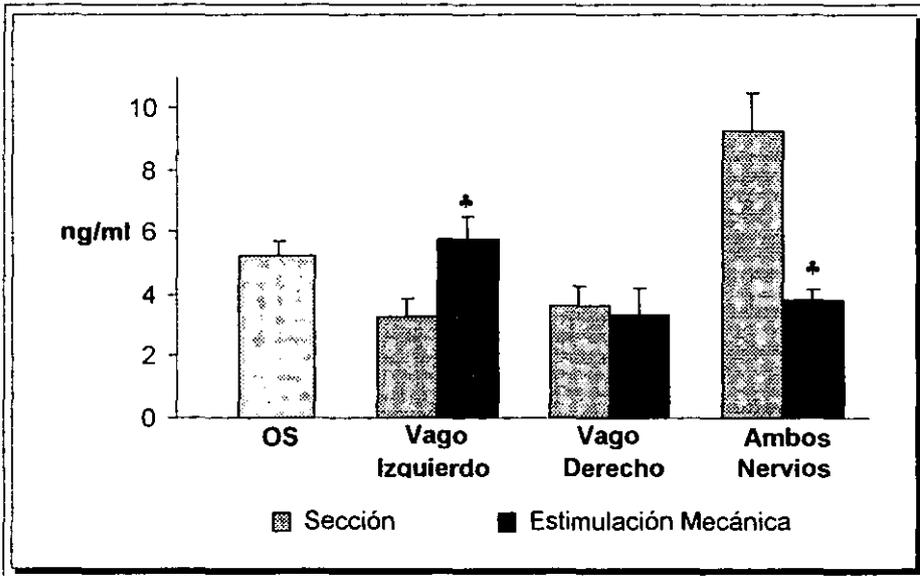
Figura 22. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17β -estradiol (pg/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), con sección o con estimulación del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios realizada el día 24 de vida.



* $p < 0.05$ vs. grupo con sección (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

La concentración de progesterona en el suero de los animales con estimulación del vago izquierdo fue significativamente más alta que la del grupo con vagotomía (ambas cirugías realizadas a los 24 días de vida). Esta relación se invierte en el grupo con estimulación de ambos nervios, donde la concentración de la hormona fue menor a la de los animales con sección bilateral (Figura 23).

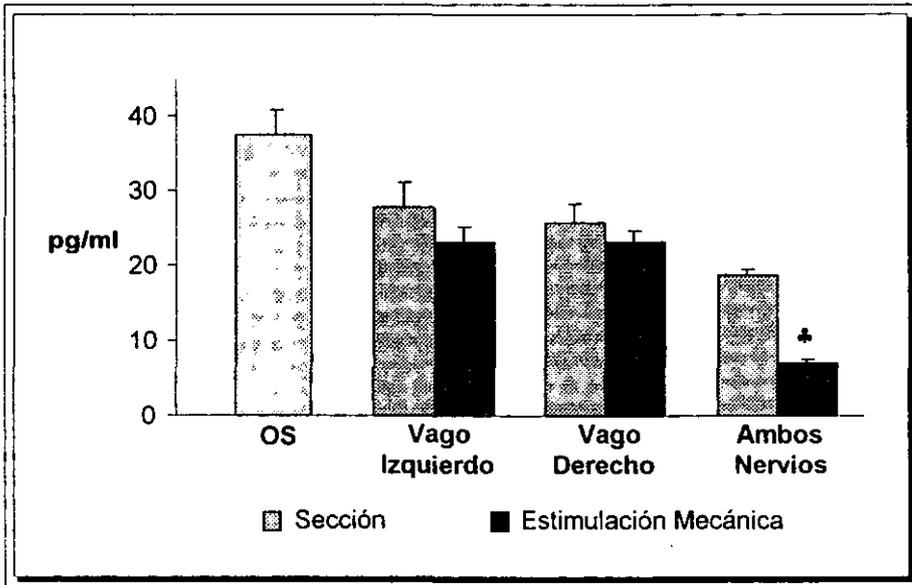
Figura 23. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), con sección o con estimulación del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios realizada el día 24 de vida.



* $p < 0.05$ vs. grupo con sección (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

Cuando las intervenciones quirúrgicas se realizaron al final de la etapa juvenil, únicamente la estimulación mecánica de ambos nervios vago disminuyó, al primer estro vaginal, la concentración sérica de 17β -estradiol con respecto al grupo con vagotomía (Figura 24).

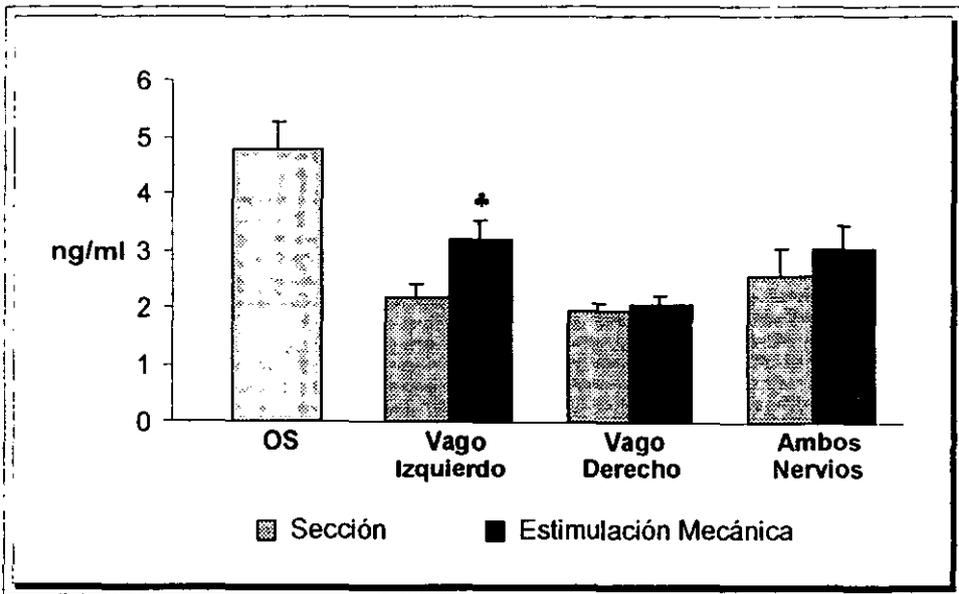
Figura 24. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de 17β -estradiol (pg/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), con sección o con estimulación del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios realizada el día 28 de vida.



* $p < 0.05$ vs. grupo con sección (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

En lo que refiere a la concentración de progesterona, esta sólo incrementó con la estimulación del vago izquierdo respecto a la denervación izquierda (Figura 25).

Figura 25. Media \pm e. e. m. de la concentración sérica de progesterona (ng/ml) evaluada el día del primer estro vaginal en el suero de ratas con operación simulada (OS), con sección o con estimulación del nervio vago izquierdo, del derecho o de ambos nervios realizada el día 28 de vida.



♣ $p < 0.05$ vs. grupo con sección (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

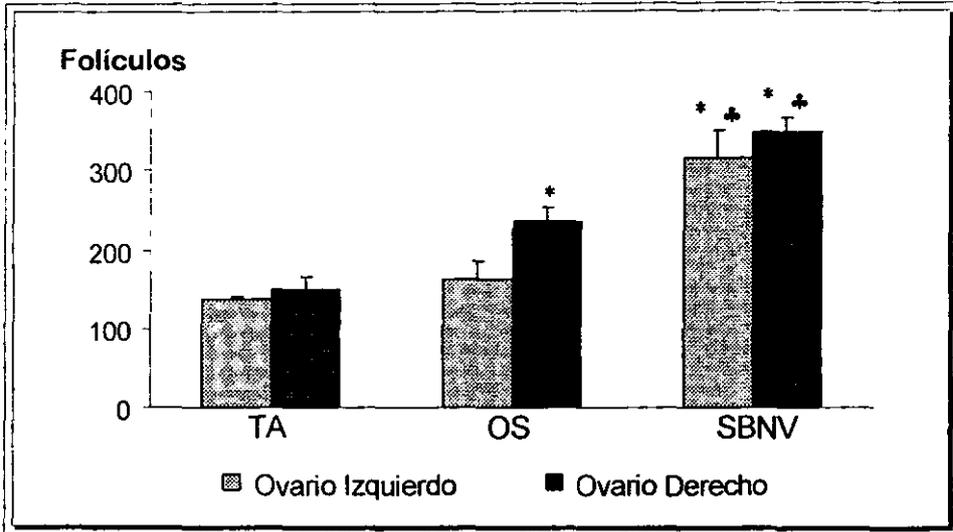
Experimento 5. Efecto de la sección bilateral del nervio vago realizada al final de la etapa juvenil sobre la dinámica del crecimiento y la diferenciación del folículo ovárico

Dado que en el presente estudio observamos que la denervación bilateral realizada a los 28 días de vida aumentó considerablemente el número total de ovocitos liberados al primer estro vaginal, se decidió analizar la participación de la información neural que transcurre por los nervios vago en el desarrollo y la diferenciación del folículo ovárico.

Se analizó la distribución de la población folicular de los ovarios, izquierdo y derecho, de tres animales (tomados al azar) de los grupos con denervación y operación simulada realizadas al final de la etapa juvenil, así como del grupo testigo absoluto (TA, animales intactos). Los resultados obtenidos al respecto se presentan a continuación.

En la figura 26 se muestra el número total de folículos presentes en los ovarios analizados de los diferentes grupos experimentales. En ella puede observarse que, con respecto al grupo de animales intactos, la laparotomía realizada al final de la etapa juvenil provocó aumento significativo en el número total de folículos presentes en el ovario derecho. Este efecto también se observó en las gónadas izquierda y derecha del grupo con sección bilateral, respecto al grupo con laparotomía (Figura 26).

Figura 26. Media \pm e.e.m. del número total de folículos presentes en el ovario izquierdo y en el derecho de ratas intactas (TA), con laparotomía (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. mismo ovario de TA (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

* $p < 0.05$ vs. mismo ovario de OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Cuando se analizó el número de folículos en función de su diámetro se observó que, en comparación con el grupo intacto (testigo absoluto), tanto en el ovario izquierdo como en el derecho del grupo con operación simulada aumentó el número total de folículos que están en el rango de 50 a 99 μm de diámetro. En los ovarios de los animales con denervación bilateral, el incremento en este tipo de folículos fue aún mayor. Ni la operación simulada ni la vagotomía bilateral modificaron la población de folículos mayores a 100 μm (Tabla 22).

Tabla 22. Media \pm e.e.m. del número total de folículos agrupados por rango presentes en el ovario izquierdo y en el derecho de ratas intactas (TA) con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.

	Diámetro Folicular (μm)				
	50-99	100-199	200-349	350-500	>500
Ovario Izquierdo					
TA	8.30 \pm 1.76	57.0 \pm 7.09	42.0 \pm 6.35	23.0 \pm 4.73	6.0 \pm 2.52
OS	40.7 \pm 2.90 *	56.3 \pm 9.21	43.3 \pm 0.17	18.7 \pm 2.03	4.7 \pm 0.33
SBNV	151.5 \pm 12.5 * \ddagger	93.5 \pm 36.50	54.5 \pm 11.50	12.5 \pm 1.50	3.5 \pm 2.50
Ovario Derecho					
TA	10.7 \pm 1.33	59.0 \pm 6.03	49.0 \pm 5.03	24.0 \pm 4.62	6.7 \pm 3.18
OS	81.3 \pm 6.49 *	80.3 \pm 12.02	53.0 \pm 2.00	15.0 \pm 5.51	7.3 \pm 3.18
SBNV	169.5 \pm 3.50 * \ddagger	104.5 \pm 25.50	48.5 \pm 1.50	21.5 \pm 2.50	2.5 \pm 1.50

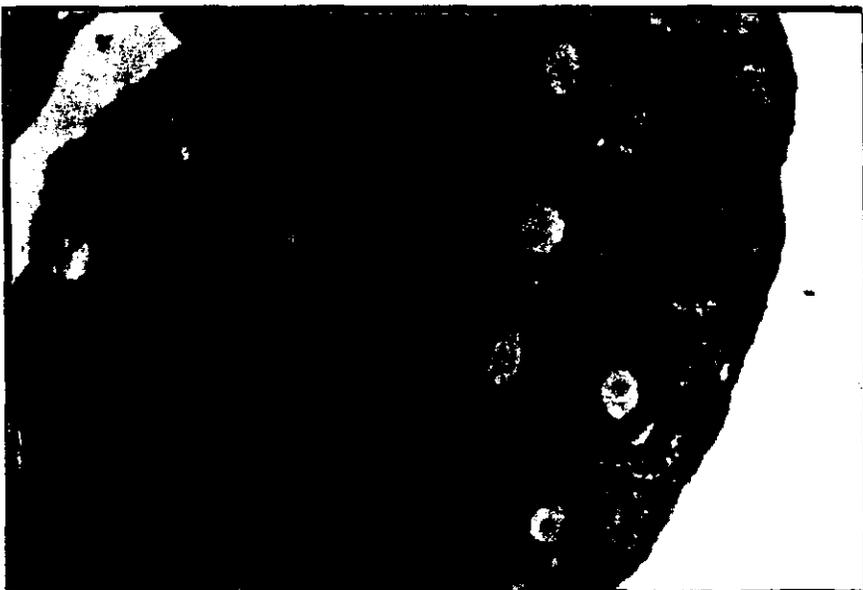
* $p < 0.05$ vs. mismo ovario de TA (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

\ddagger $p < 0.05$ vs. mismo ovario de OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

En la figura 27 se muestran los cortes histológicos a 10 μm de grosor, de los ovarios de rata con laparotomía o con denervación bilateral realizada al día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal. En el corte A, que corresponde a un animal con operación simulada, pueden observarse folículos grandes en desarrollo; mientras que en el corte B correspondiente a un animal con denervación, predominan los folículos pequeños menores de 100 μm .

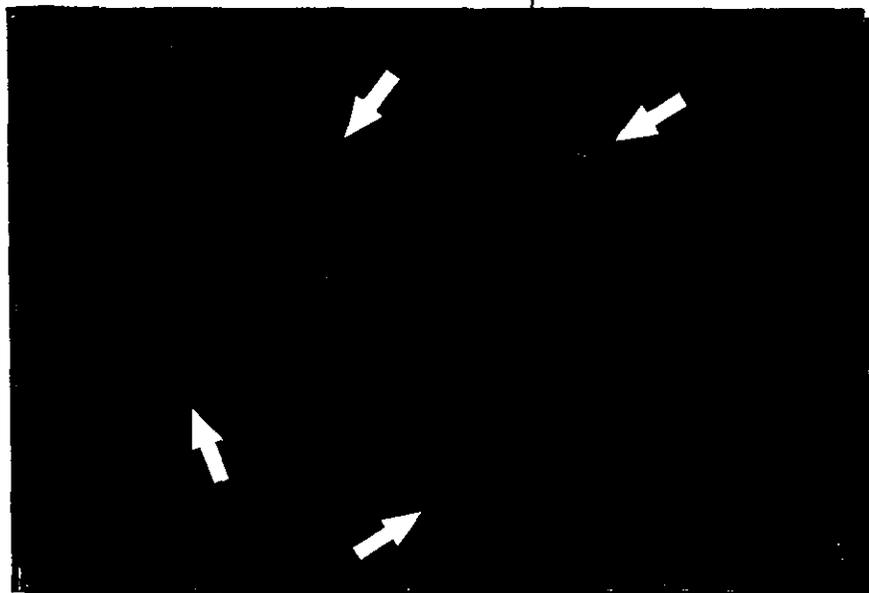
Figura 27. Fotomicrografías de cortes histológicos a 10 μm de grosor del ovario izquierdo de un animal con operación simulada (A) o con denervación bilateral (B) realizada a los 28 días de edad y sacrificadas al primer estro vaginal. Puede observarse que la población folicular es diferente en A y en B, mientras que en el primer corte son evidentes los folículos grandes, en el segundo predominan los folículos pequeños menores de 100 μm (indicados con una flecha) típicos de este grupo experimental.

A



4 x

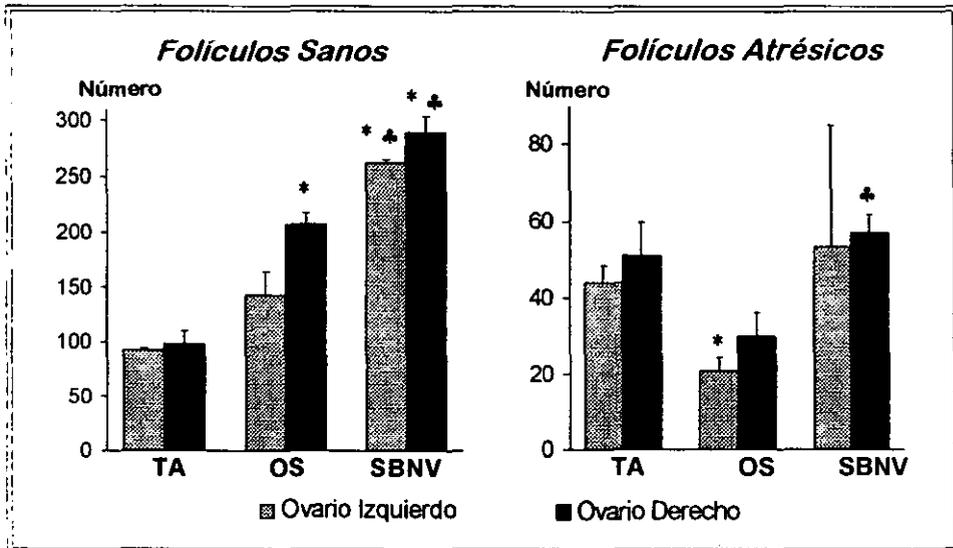
B



10 x

En la figura 28 se presenta el número total de folículos divididos en sanos o atrésicos según la clasificación de Hsueh y col. (1994). En ella, puede observarse que la operación simulada provocó incremento en el número de folículos sanos presentes en la gónada derecha y disminución en el de folículos atrésicos del ovario izquierdo. Cuando la sección bilateral del nervio vago se comparó con el grupo sometido a la operación simulada, se observó tanto en el ovario izquierdo como en el derecho, aumento en el número de folículos sanos. La denervación bilateral también incrementó el número de folículos atrésicos presentes en la gónada derecha.

Figura 28. Media \pm e.e.m. del número total de folículos sanos o atrésicos presentes en el ovario izquierdo y en el derecho de ratas intactas (TA), con laparotomía (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. mismo ovario de TA (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

† $p < 0.05$ vs. mismo ovario de OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

Al analizar la dinámica del crecimiento de los folículos sanos se encontró que con respecto al grupo intacto, la laparotomía aumentó en ambos ovarios el número de folículos cuyo diámetro promedio va de 50 a 99 μm . El aumento en este tipo de folículos fue aún más evidente en los ovarios de los animales con sección bilateral del nervio vago, en comparación con el grupo de animales intactos. En el ovario derecho la denervación bilateral provocó disminución en el número de folículos que está en el rango de 200 a 349 μm de diámetro; mientras que en el ovario izquierdo, la disminución se presentó en los folículos cuyo diámetro estaba entre 350 y 500 μm (Tabla 23).

Tabla 23. Media \pm e.e.m. del número total de folículos sanos agrupados por rango presentes en el ovario izquierdo y el derecho de ratas intactas (TA) con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.

	Diámetro Folicular (μm)				
	50-99	100-199	200-349	350-500	>500
Ovario izquierdo					
TA	7.3 \pm 1.76	47.0 \pm 3.00	27.7 \pm 5.20	6.7 \pm 2.33	3.3 \pm 1.86
OS	40.7 \pm 2.90 *	52.7 \pm 7.31	36.7 \pm 11.56	10.3 \pm 2.02	2.3 \pm 0.33
SBNV	151.5 \pm 12.5 * \clubsuit	78.5 \pm 21.50	28.5 \pm 3.50	2.0 \pm 1.00 \clubsuit	3 ^a
Ovario derecho					
TA	9.7 \pm 0.88	47.0 \pm 5.51	30.7 \pm 6.12	10.0 \pm 3.61	0.7 \pm 0.66
OS	81.0 \pm 6.24 *	76.0 \pm 11.14	42.0 \pm 1.15	4.7 \pm 1.33	3.3 \pm 1.33
SBNV	169.5 \pm 3.50 * \clubsuit	94.5 \pm 23.50	19.5 \pm 3.50 \clubsuit	4.5 \pm 1.50	1.5 \pm 0.50

<0.001 vs. mismo ovario de TA (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

<0.001 vs. mismo ovario de OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

presentes en un sólo ovario

Con respecto al grupo intacto, la operación simulada redujo en el ovario izquierdo el número de folículos atrésicos cuyo diámetro va de 200 a 350 μm . En comparación con el grupo con operación simulada, en el ovario derecho de los animales con sección bilateral del vago aumentó el número de folículos que se encuentran en el rango de 200 a 350 μm de diámetro (Tabla 24).

Tabla 24. Media \pm e.e.m. del número total de folículos *atrésicos* agrupados por rango presentes en el ovario izquierdo y en el derecho de ratas intactas (TA), con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada el día 28 de vida y sacrificadas al primer estro vaginal.

	Diámetro Folicular (μm)				
	50-99	100-199	200-350	350-500	>500
Ovario Izquierdo					
TA	1.0 \pm 0.00	10.0 \pm 4.16	14.3 \pm 1.20	16.3 \pm 5.60	2.7 \pm 0.67
OS	0	3.7 \pm 2.02	6.7 \pm 2.33 *	8.3 \pm 0.33	2.3 \pm 0.33
SBNV	0	10.0 ^a	26.0 \pm 15.00	10.5 \pm 2.50	2.0 \pm 1.00
Ovario Derecho					
TA	1.0 \pm 0.57	12.0 \pm 3.06	18.3 \pm 2.96	14.0 \pm 1.53	6.0 \pm 2.52
OS	1 ^a	4.3 \pm 1.33	11.0 \pm 1.15	10.3 \pm 4.33	4.0 \pm 2.08
SBNV	0	10.0 \pm 2.00	29.0 \pm 5.00 †	17.0 \pm 1.00	3 ^a

* $p < 0.05$ vs. mismo ovario de TA (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

† $p < 0.05$ vs. mismo ovario de OS (Prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

^a Presentes en un sólo ovario

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran que en la rata hembra la información neural que transcurre por los nervios vago, modula de manera estimuladora los mecanismos neuroendócrinos que culminan con el inicio de la pubertad (edad de la canalización vaginal). La participación del nervio vago en las funciones reproductivas, depende del ambiente neuroendócrino del animal.

Ha sido mostrado que cuando ratones hembras son sometidos a alguna situación de estrés como la exposición al calor, la inmovilización forzada o el manipuleo, se induce retraso en la edad en la que se produce la apertura de la membrana vaginal (Paris y Ramaley, 1973; 1974; Rivier y col., 1986; Sieck y Ramaley, 1975). En nuestra cepa de ratas la respuesta al estrés inducido por la laparotomía dependió de la edad en la que se efectuó la cirugía. Así la operación simulada realizada al inicio de la etapa juvenil, provocó adelanto de la edad en la que se produjo la apertura vaginal y no la modificó cuando la laparotomía se realizó a los 28 días de vida (final de la etapa juvenil).

Al parecer, el papel de la información neural que transcurre por los nervios vago en la regulación del peso corporal, depende de la especie y del ambiente neuroendócrino del animal en estudio. Los grupos de trabajo encabezados por Clarkson (1982) y Mordes (1979) señalan que en la rata adulta, la vagotomía bilateral a nivel subdiafragmático provoca descenso en la masa corporal, en tanto que estudios de nuestro laboratorio afirman que en la rata adulta esta sección no altera la ganancia de peso (Cruz y col., 1986). En experimentos donde se ha utilizado como modelo de estudio al perro, la sección de los troncos vagales induce aumento en la ingesta de alimento y por consiguiente la masa corporal incrementa (Towbin, 1955). En el presente trabajo, tanto la sección como la estimulación mecánica del nervio vago

derecho como la de ambos troncos vagales, realizadas al inicio o al final de la etapa juvenil, provocaron al primer estro vaginal aumento en la masa corporal. En cambio, la sección del nervio izquierdo incrementó el peso corporal únicamente cuando la cirugía se efectuó a los 24 días de vida. Estos resultados indican que la información neural que transcurre por el nervio vago modula la ganancia del peso corporal, dado que la masa que se registró en los animales con sección o con estimulación del vago fue mayor al peso que presentaron los animales intactos sacrificados a las mismas edades (apéndice B).

El aumento de la masa corporal puede atribuirse a alteraciones a nivel del aparato digestivo o del sistema nervioso inducidos por la vagotomía o la estimulación mecánica del nervio vago. En apoyo a esto, se acepta que la actividad digestiva del estómago, la vesícula biliar, el páncreas, el hígado y el intestino delgado está regulada por la inervación parasimpática aportada por el nervio vago (Brown, 1994; Guyton, 1984). Aunado a lo anterior, existen evidencias anatomofuncionales bien establecidas que relacionan a los núcleos hipotalámicos que originan al vago con aquellos que regulan la actividad gastrointestinal, como son el núcleo paraventricular, el área postrema (Ewart, 1991; Raybould y Lloyd, 1994) el locus coeruleus y el núcleo subcoeruleus (Mönnikes, 1997). Dado que el núcleo del tracto solitario modula el efecto de la saciedad a través del nervio vago y de la colecistoquinina, una hormona producida por el duodeno de la rata en respuesta a la entrada de nutrientes, es posible que este mecanismo regulador de la ingesta alimenticia originado en el intestino delgado se haya alterado por efecto de la vagotomía o de la manipulación vagal.

Al momento carecemos de una respuesta que explique el porqué se observa incremento de la masa corporal tanto en los animales con estimulación del vago como en los denervados. Sin embargo, es posible pensar que la estimulación mecánica haya provocado una "sobrestimulación" de las fibras vagales que llegan a los centros hipotalámicos que regulan la ingesta de alimento, modificando así su funcionamiento.

Las evidencias reportadas en la literatura en conjunto con los resultados obtenidos en el presente estudio, nos permiten sugerir que la información neural que transcurre por los nervios vago modula la digestión, absorción y/o la ingesta de alimento y que tal modulación depende tanto del ambiente neuroendócrino como de la cepa del animal en estudio.

La idea de una conexión neural directa entre el sistema nervioso central y las gónadas no es nueva (Bahr y col., 1974). Cada vez existen más evidencias experimentales que postulan que las funciones reproductivas, están moduladas por mecanismos neurales directos además del control endócrino ejercido por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Domínguez y col., 1991, 1998; Gerendai y Halász, 1997; Gerendai y col., 1995; Morales y col., 1993, 1998).

Existen evidencias experimentales que indican que en la rata, la información neural que transcurre por el nervio vago modula algunas de las funciones relacionadas con el proceso reproductivo (Burden y col., 1981, 1986; Chávez y col., 1987, 1989; Cruz y col., 1986; Ojeda y col., 1983).

Ojeda y col. (1983) mostraron que en la rata prepúber, la vagotomía bilateral subdiafragmática realizada a los 24 días de edad induce retraso en el inicio de la pubertad, como resultado de una menor actividad esteroideogénica

por parte del ovario. Esta respuesta es semejante a lo reportado en el presente estudio, donde la sección uni o bilateral del nervio vago realizadas a los 24 días de edad, así como la sección del nervio vago derecho o de ambos nervios efectuadas al final de la etapa juvenil, provocaron retraso en el inicio de la pubertad que en todos los casos se acompañó por la caída en la concentración sérica de 17β -estradiol.

Estos resultados también indican que la participación del nervio vago en la función esteroideogénica del ovario depende del nervio seccionado, así como de la edad en la que se realice la denervación, dado que la vagotomía izquierda efectuada a los 28 días de edad no modificó la síntesis de estrógenos ni el inicio de la pubertad.

En conjunto nuestros resultados apoyan la idea de que la información neural que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de estrógenos ováricos y que esta modulación depende del ambiente neuroendócrino del animal en estudio (Figura 29).

Aunque se ha postulado que el inicio de la pubertad depende de la concentración plasmática de las hormonas ováricas (Aguado y Ojeda, 1984; Ojeda y col., 1983; Ramaley, 1980) también se requiere de la maduración funcional del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y de las condiciones ambientales adecuadas para que se desencadenen los mecanismos que culminan con la pubertad (Ojeda y Urbanski, 1994). En nuestro estudio observamos que la estimulación mecánica del vago disminuyó la concentración sérica de 17β -estradiol, independientemente de la edad en la que se realizó la manipulación quirúrgica. Sin embargo, no en todos los grupos experimentales se presentó retraso en la edad de la apertura de la

membrana vaginal. Estos resultados nos llevaron a sugerir que la manipulación unilateral del nervio vago realizada al final de la etapa juvenil, incrementó la sensibilidad de la vagina a los estrógenos plasmáticos por lo que en estos animales no se modificó la edad de la apertura vaginal.

Es bien sabido que los esteroides tienen como órgano blanco, entre otros al útero. En nuestra cepa de animales se observó con la denervación unilateral o la bilateral del nervio vago, disminución en la concentración sérica de 17β -estradiol; sin embargo, sólo se presentó descenso en el peso del útero cuando se seccionó el nervio vago izquierdo a los 24 días de edad. Estas evidencias indican que al inicio de la etapa juvenil, es más determinante la participación del nervio vago izquierdo en el mantenimiento del peso del útero. Aunado a esto, por estudios de marcaje retrógrado Ortega-Villalobos y col. (1990) demostraron que en la rata, el nervio vago es una conexión neural bidireccional directa entre el sistema nervioso central y el útero.

La manipulación mecánica uni o bilateral del vago realizada a los 28 días de edad, provocó disminución de la concentración sérica de 17β -estradiol sin que se modificara el peso uterino. Lo anterior indica que no siempre existe una correlación directa entre estos parámetros.

Al parecer los efectos de la vagotomía sobre la esteroidogénesis ovárica dependen del estado fisiológico del animal en estudio. En la rata preñada, la sección bilateral del nervio vago realizada a los días 8, 9 ó 10 de preñez provoca al día 16, disminución en la actividad de la enzima 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa ovárica (3β -HSD: enzima encargada de transformar la pregnenolona en progesterona) con la consiguiente caída en la

concentración de la progesterona (P_4) en el plasma y en el ovario (Burden y col., 1980). La misma sección realizada en la rata adulta virgen en el día del proestro, no modifica las concentraciones séricas de la P_4 ni la actividad de la 3β -HSD (Burden y col., 1983).

El grupo de Ojeda en 1983 mostró que en la rata de 24 días de edad la sección de ambos nervios vago disminuye, al día 31, la producción de progesterona en los ovarios cultivados y estimulados con hCG. En la cepa CII-ZV, tanto la denervación como la estimulación mecánica uni o bilateral del nervio vago, realizada a los 28 días de edad, provocaron reducción de la concentración sérica de esta hormona. Nuestro estudio no muestra una correlación directa entre la concentración de progesterona y el número de cuerpos lúteos (inferido por el número de ovocitos liberados al primer estro), ya que con la denervación bilateral realizada al día 28 de vida se presentó incremento en la cuota ovulatoria y la concentración de P_4 disminuyó. De igual manera, cuando la denervación bilateral se efectuó al inicio de la etapa juvenil, se produjo incremento en la concentración de la hormona sin cambios en el número total de ovocitos liberados por ambos ovarios. Es posible pensar que en la rata púber, la falta de información que llega al ovario por el nervio vago podría modificar la actividad del cuerpo lúteo.

Puesto que la glándula suprarrenal es uno de los órganos inervados por el vago (Brown, 1994) no podemos descartar la posibilidad de que la caída en la concentración sérica de la progesterona cuantificada en los animales vagotomizados se deba a una alteración en la biosíntesis de la hormona en esta glándula. Aunque al momento desconocemos cual es el paso que se modifica en la biosíntesis de esteroides por efecto de la vagotomía, podemos

postular que en el animal púber, la inervación vagal modula de manera estimulante la secreción de estradiol.

La ovulación es el resultado de la interacción entre los sistemas endócrino y nervioso, la información neural que llega a las gónadas modula la acción de las hormonas liberadas por el hipotálamo y la hipófisis (Gerendai y col., 1995; Gerendai y Halász, 1997). La información simpática y parasimpática parecen regular de manera conjunta el proceso ovulatorio (Dominguez y col., 1991). Tanto en la rata adulta como en la prepúber la información simpática aportada por el nervio ovárico superior, actúa de manera estimuladora en la ovulación (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993; 1998) mientras que al parecer, en la rata adulta la acción ejercida por la inervación parasimpática, dada a través del nervio vago, es de tipo inhibitoria (Chávez y col., 1989).

En la rata adulta el nervio vago izquierdo y el derecho participan de manera diferente en los procesos reproductivos. Cruz y col. (1986) mostraron que la sección del nervio vago izquierdo provoca descenso en la proporción de animales que ovulan al estro sin modificar el número de ovocitos liberados por animal ovulante, en tanto que, la denervación derecha no altera estos parámetros. Por lo anterior, los autores postulan que el proceso ovulatorio es más dependiente de la integridad del nervio vago izquierdo (Cruz y col., 1986). En la rata prepúber, únicamente la denervación bilateral realizada al final de la etapa juvenil aumentó significativamente el número total de ovocitos liberados al primer estro. En conjunto, estos resultados nos llevan a plantear que el proceso que culmina con la ovulación es modulado de manera diferente en el animal adulto y en el prepúber, siendo de mayor importancia para el adulto la información neural que transcurre por el vago izquierdo, en

tanto que en la rata púber es suficiente la integridad de uno sólo de los nervios vago para que se produzca normalmente la primera ovulación.

En la rata púber, el papel de la información neural aportada por ambos nervios vago sobre la respuesta ovulatoria parece ser de tipo inhibitorio y la respuesta de las gónadas a la denervación esta determinada por la edad en la que se realice la sección.

A diferencia de lo ya reportado con la inervación catecolaminérgica del ovario de la rata, donde los efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior son lateralizados (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993; 1998) la respuesta del ovario ante la vagotomía no presenta este patrón. Esto podría deberse a que existe comunicación interovárica a través de los troncos vagales. En apoyo a lo anterior, en la rata adulta existen evidencias anatómicas que indican que la rama celiaca accesoria del nervio vago izquierdo establece contacto con la rama celiaca del vago derecho (Powley y col., 1983).

En la rata adulta la distribución de las fibras vagales explicaría la importancia del vago izquierdo en el proceso ovulatorio, sin embargo, no ocurre así en el animal púber, lo que nos permite sugerir que la modulación ejercida por el nervio vago depende de la edad del animal, o de la respuesta intrínseca de los ovarios ante la denervación.

En estudios previos de nuestro laboratorio se ha mostrado que la manipulación mecánica del pedículo ovárico disminuye la tasa ovulatoria y modifica la concentración de FSH de manera semejante a lo que ocurre en el animal hemicastrado. Este efecto depende del día del ciclo estral en el que se realice la manipulación del nervio (Flores y col., 1990). Al inicio de la etapa

juvenil, la estimulación mecánica de ambos nervios vago provocó aumento en el número de ovocitos liberados por parte de la gónada derecha. Estos resultados podrían indicar que la estimulación causó un aumento en la concentración de las gonadotropinas, o bien, en la sensibilidad del folículo a las mismas, o ambas. En apoyo a esta interpretación se sabe que las fibras vagales originadas en el núcleo del tracto solitario, establecen conexión con áreas hipotalámicas que regulan la liberación de la LH y la FSH, como son el área preóptica, el núcleo arcuato, el núcleo dorsomedial y el núcleo paraventricular (Contreras y col., 1980; Palkovits y Zaborsky, 1979).

Cuando se analizó la dinámica del crecimiento folicular en las gónadas de los animales denervados a los 28 días de edad, se observó que ambos ovarios presentaron incremento en el número de folículos pequeños, cuyo diámetro promedio esta en el rango de 50 a 99 μm . Esto podría indicar que la información neural que llega al ovario por intermedio del nervio vago, estaría modulando el paso de un folículo primordial a uno primario y esto tal vez se dé por la interacción que existe entre las áreas que participan en la regulación de las gonadotropinas y los núcleos que originan al nervio vago. Al parecer, al final de la etapa juvenil, la información parasimpática aportada por el vago no es determinante para el crecimiento de los otros tipos de folículos (Figura 29).

Por el nervio vago se transportan varios neuropéptidos, entre ellos el péptido intestinal vasoactivo (VIP). Estos péptidos se han localizado asociados a los folículos en las diferentes etapas de desarrollo (Ahmed y col., 1986; Dees y col., 1986; Kannisto y col., 1986; Schulte y col., 1992). Mayerhofer y col. (1997) mostraron que en el ovario de la rata de dos días de vida, donde predominan los folículos primordiales, el VIP activa el ARNm que

codifica para la síntesis de los receptores a la FSH, este efecto es mediado por el incremento en la actividad del AMPc. En el animal vagotomizado se observó un incremento en el número total de folículos primarios, esto podría deberse a que ante la falta de información que llega por el nervio vago, las otras vías peptidérgicas y catecolaminérgicas (nervio ovárico superior y plexo ovárico) podrían estar regulando de manera estimulante el crecimiento y la diferenciación de los folículos ováricos, vía los péptidos que llegan a la gónada por estas fibras.

Como características fisiológicas de atresia folicular se ha descrito, entre otras, la degeneración de las células de la granulosa, la fragmentación de la lámina basal, el decremento de la producción de estrógenos por parte de los folículos así como la disminución en el número de los receptores a las gonadotropinas (Hsueh y col., 1994; Tilly y col., 1992). Se ha mostrado que la baja concentración de estrógenos en el fluido de los folículos atrésicos, se debe a la disminución del ARNm que codifica la síntesis de la enzima aromatasas citocromo P-450 (Tilly y col., 1992). Por otro lado, la expresión del ARNm para la síntesis de ésta enzima, se incrementa en presencia del VIP (Mayerhofer y col., 1997). En nuestro estudio, la denervación bilateral aumentó el número de folículos atrésicos que se encuentran entre 200 y 350 μm de diámetro. Es probable que el índice de atresia se incrementara por la disminución de estrógenos plasmáticos que observamos al primer estro vaginal, sin embargo, desconocemos si ésta disminución se mantuvo a lo largo del tiempo postoperatorio. Para apoyar o descartar esta posibilidad se requiere de medir la actividad de las aromatasas en respuesta a la vagotomía a diferentes edades posteriores a la denervación.

En resumen, el inicio de la pubertad, evaluado por la edad en la que se presenta la canalización vaginal, depende de la integridad de la información neural que llega a los ovarios por intermedio del nervio vago.

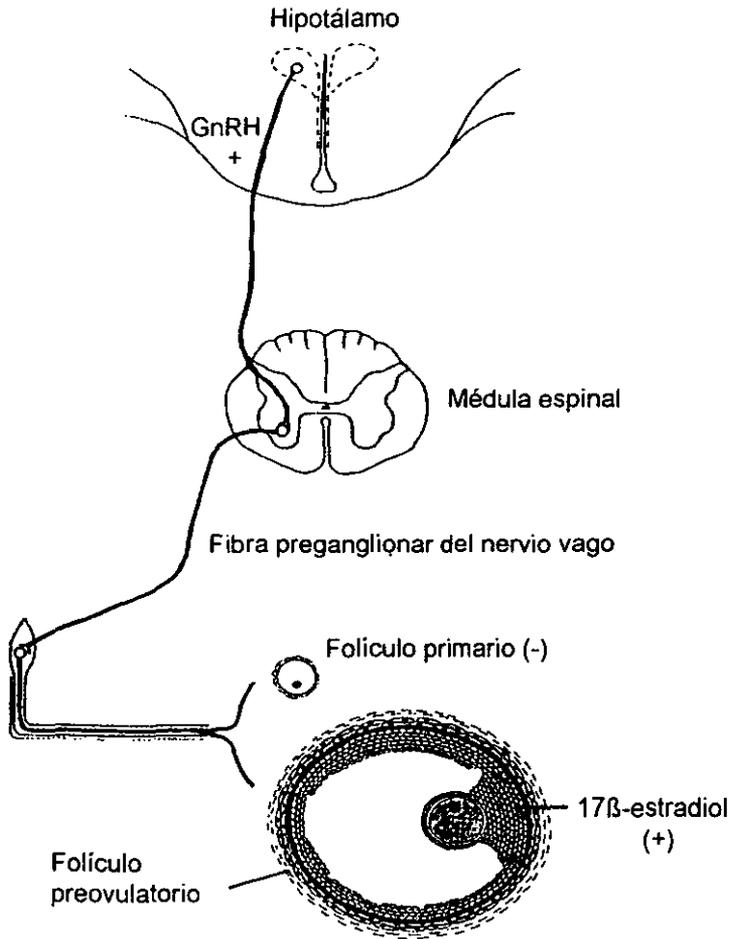


Figura 29. Modelo donde se plantea la vinculación entre el hipotálamo y el ovario por intermedio de la información neural transportada por el nervio vago. Al final de la etapa juvenil en el animal prepúber, el nervio vago ejerce un efecto inhibitorio sobre el inicio del crecimiento folicular, ya que la denervación bilateral realizada a los 28 días de edad provocó incremento en el número de folículos cuyo diámetro está en el rango de 50 a 99 μm , mientras que, modula de manera estimulante la secreción del 17 β -estradiol.

CONCLUSIONES

- La información neural que transcurre por los nervios vago, modula de manera estimuladora los mecanismos neuroendócrinos que culminan con el inicio de la pubertad (canalización de la vagina) y de la primera ovulación.
- En la rata prepúber los efectos de la vagotomía sobre la edad de la canalización de la vagina, dependen del ambiente neuroendócrino del animal (edad en la que se realice la denervación).
- Los efectos de la denervación o de la estimulación mecánica bilateral del nervio vago, no son la sumatoria de los efectos ocasionados por la sección o manipulación unilateral.
- La participación de la información neural que transcurre por los nervios vago en la regulación de la producción de 17β -estradiol, es de tipo estimulador y depende de la edad del animal. Al inicio de la etapa juvenil, es necesaria la integridad de ambos nervios para una producción normal de la hormona, en tanto que al final de la etapa, éste proceso es más dependiente de la integridad del nervio vago derecho.
- Al final de la etapa juvenil, la participación del nervio vago izquierdo o derecho en la síntesis de progesterona es de tipo estimulador, uno sólo de los nervios no puede compensar la falta de información aportada por el otro.

- La participación del nervio vago en los procesos neuroendócrinos que culminan con la primera ovulación espontánea esta en función de la edad del animal, mientras que al inicio de la etapa juvenil la presencia del vago no es determinante para la regulación de los mecanismos que desencadenan la primera ovulación, al final de la etapa la información neural que transcurre por ambos nervios vago regula de manera inhibitoria el proceso ovulatorio.
- En el animal de 28 días de vida, la información neural que transcurre por ambos nervios vago regula de manera inhibitoria el crecimiento folicular y afecta principalmente el desarrollo de los folículos pequeños (menores a 99 μm).

BIBLIOGRAFÍA

- Adams L A, Steiner R A (1988). Puberty. *Rev. Reprod. Biol.*, **10**: 1-52.
- Advis J P, Ahmed C E, Ojeda S R (1989). Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Research Bulletin*, **22**: 605-610.
- Agostoni E, Chinnock J E, Daly M De B, Murray J G (1957). Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat. *Journal Physiology*, **135**: 182-205.
- Aguado L I, Ojeda S R (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. *Endocrinology*, **114**: 1845-1853.
- Ahmed C E, Dees W L, 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.
- Allen L G, Hodson C A, Burden H W, Lawrence I E (1983). Effect of vagotomy on postcastration gonadotropin secretion in male rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, **173**: 613-619.
- Allen L G, Lawrence I E, Burden H W, Hodson C A (1985). Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, **74**: 87-94.
- Andrews W W, Ojeda S R (1981a). A detailed analysis of the serum LH secretory profiles of conscious free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology*, **109**: 2032-2039.
- Andrews W W, Ojeda S R (1981b). A quantitative analysis of the maturation of steroid negative feedback controlling gonadotropin release in the female rat: Transition from an androgenic to a predominantly estrogenic control. *Endocrinology*, **108**: 1313-1320.

- Andrews W W, Ojeda S R (1977). On the feedback actions of estrogen on gonadotropins and prolactin release in infantile female rats. *Endocrinology*, **101**:15517-1523.
- Aubert M L, Begeot M, Winiger B P, Morel G, Sizonenko P C, Dubois P M (1985). Ontogeny of hypothalamic luteinizing hormone-releasing hormone (GnRH) and pituitary GnRH receptors in fetal and neonatal rats. *Endocrinology*, **116**: 1565-1576.
- Bahr J M, Kao L, Nalbandov A V (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. *Biology of Reproduction*, **10**: 273-290.
- Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido I M (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican*, **40**: 1-17.
- Billing H, Furuta I, Hsueh A J W (1994). Gonodotropin-releasing hormone directly induces apoptotic cell death in the rat ovary: biochemical and *in situ* detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in granulosa cells. *Endocrinology*, **134** (1): 245-252.
- Bouchet A, Cuilleret J (1978). Nervios Craneanos. En: *Anatomía Descriptiva, Topográfica y Funcional. Sistema Nervioso Central*, pp. 146, 147, 221. Argentina: Médica Panamericana.
- Brown R E (1994). Neurotransmitters. En: *An Introduction to Neuroendocrinology*, pp. 82. Great Britain: Cambridge University Great Britain Press.
- Burden H W (1978). Ovarian innervation. En: *The Vertebrate Ovary Comparative Biology*, pp. 615-638. Jones R E (Ed.) New York: Plenum Press.
- Burden H W (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: *Catecholamines as Hormone Regulators*, pp. 261-278. Ben-Jonathan N, Bahr J M, Weiner R I (Eds.) New York: Raven Press.

- Burden H W, Capps M L, Smith C P, Harns P, Lawrence I E (1982). Extrinsic sensory innervation of the rat ovary. *Federation Proceeding*, **41**: 1492, abstr.
- Burden H W, Lawrence I E (1978). Experimental studies on the acetylcholinesterase-positive nerves in the ovary of the rat. *The Anatomical Record*, **190**: 233-241.
- Burden H W, Lawrence I E (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology*, **23**: 368-378.
- Burden H W, Lawrence I E, Hodson C A (1980). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on pituitary content of prolactin and ganadotropins. *Medical Science*, **8**: 809.
- Burden H W, Lawrence I E, Louis T M, Hodson C A (1981). Effects of abdominal vagotomy on the oestrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. *Neuroendocrinology*, **33**: 218-222.
- Burden H W, Lawrence I E, Smith C P, Hoffman J, Leonard M, Fletcher D J, Hodson C A (1986). The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. *The Anatomical Record* **214**: 61-66.
- Burden H W, Leonard M, Smith C P, Lawrence I E (1983). The sensory innervation of the ovary: A horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record*, **207**: 623-627.
- Chappel S C, Ulloa-Aguirre A, Ramaley J A (1983). Sexual maturation in female rats: Time course of the appearance of multiple species of anterior pituitary FSH. *Biology of Reproduction*, **28**: 196-205.
- Chávez R, Cruz, M E, Domínguez R (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *Journal of Endocrinology*, **113**: 397- 401.

- Chávez R, Sánchez S, Ulloa-Aguirre A, Domínguez 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.
- Chávez R, Carrizosa L, Domínguez R (1991). Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. *Medical Science Research*, 19: 41-42.
- Chung S I, Billig H, Tilly J, Furuta I, Tsafiriri A, Hsueh A J W (1994). Gonadotropin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: mediatory role of endogenous insulin-like growth factor I. *Endocrinology*, 135: 1845-1853.
- Clark J, Shallaja H (1994). Actions of ovarian steroid hormones. En: *The Physiology of Reproduction*, pp. 1011-1012. Knobil E, Neil J D (Eds.) New York: Raven Press
- Clarkson D B, King B M, Hemmer R C, Olson G A, Kastin A J, Olson R D (1982). Naloxone decreases consumption of liquid and solid sucrose in vagotomized rats. *Physiology Behavior*, 29: 927- 930.
- Contreras R J, Gómez M, Norgren R (1980). Central origins of cranial parasympathetic neurons in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 190: 373- 394.
- Cruz M E, Chávez R, Domínguez R (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista de Investigación Clínica*, 38: 167-171.
- Debeljuk L, Arimura A, Schally A V (1972). Pituitary responsiveness to LH-releasing hormone in intact female rats of different ages. *Endocrinology*, 90: 1499-1502.

- Jenef C, Hautekeete E, de Wolf A, Vanderschueren B (1978). Pituitary basophils from immature male and female rats: Distribution of gonadotrophs and thyrotrophs as studied by unit gravity sedimentation. *Endocrinology*, 103: 724-735.
- Dees W L, Ahmed C E, Ojeda S R (1986). Substance P -and vasoactive intestinal peptide- containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology*, 119: 638-641.
- Dissen G A, Ojeda S R (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*, vol. 3, pp. 583-585. Knobil E, Neill J D (Eds.) San Diego, California: Academic Press.
- Dissen G A, Hill D F, Costa M E, Ma I J, Ojeda S R (1991). Nerve growth factor receptors in the peripubertal rat ovary. *Molecular Endocrinology*, 5: 1642-1650
- Domínguez R (1992). La derecha y la izquierda ¿son también diferentes en el hipotálamo? *Ciencia Hoy*, 4: 41-46.
- Domínguez R, Chávez R, Cruz M A (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*, pp. 163-182. Domínguez R (Ed.) México: Porrúa.
- Domínguez R, Cruz M E, Chávez R (1989). Differences in the ovulatory ability between the right and left ovary are related to ovarian innervation. En: *Growth Factors and the Ovary*, pp. 321-325. Hirshfield A N (Ed.) New York: Plenum Press.
- Domínguez R, Cruz M E, Morán C (1998). Differential effects of ovarian local anaesthesia during pro-oestrus on the ovulation by the right or left ovary, in normal and hemi-ovariectomized adult rat. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113.
- Domínguez R, Gaitán C M, Méndez S A, Ulloa-Aguirre A (1987). Effects of catecholaminergic blockade by haloperidol or propranolol at different stages of the oestrous cycle on ovulation and gonadotrophin levels in the rat. *Journal of Endocrinology*, 113: 37-44.

- Domínguez R, Riboni L (1971).** Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology*, **7**: 164-170.
- Domínguez R, Riboni L, Zipitría D, Revilla R (1982).** Is there a cholinergic circadian rhythm throughout the oestrous cycle related to ovulation in the rat? *Journal of Endocrinology*, **95**: 175-180.
- Domínguez R, Smith E (1974).** Barbiturate blockade of ovulation on days other than proestrous in the rat. *Neuroendocrinology*, **14**: 212-223.
- Domínguez R, Zipitría D, Riboni L, Revilla R (1985).** Differences in the ability of reserpine and chlorpromazine to block ovulation throughout the oestrus cycle of the rat. *Journal of Interdisciplinary Cycle Research*, **16**: 63-72.
- Döhler K D, Wuttke W (1975).** Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocrinology*, **97**: 898--907.
- Döhler K D, Wuttke W (1974).** Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, **94**: 1003-1008.
- Evans D H L, Murray J G (1954).** Histological and functional studies on the fibers composition of the vagus nerve of the rabbit. *Journal Anatomy (Lond.)*, **88**: 320-337.
- Ewart W R (1991)** Medullary integration of afferent information from the gastrointestinal tract. En: *Brain-Gut Interactions*, pp. 109-121. Tache I, Wintage D L (Eds.) Boca Raton: CRC Press.
- Flores A, Morales L, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R (1990).** Acute changes in serum levels of luteinising hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrous cycle of the rat. *Medical Science Researches*, **18**: 819-821.

- Freeman M (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction, vol. 2 pp. 613-658*. Second Edition. Knobil E, Neill J D (Eds.) New York: Raven Press Ltd.
- Fortune J E (1994). Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction, 50: 225-232*.
- Funkenstein B, Nimrod A (1982). Control of developmental processes in cultured neonatal ovaries. En: *Development and Function of Reproductive Organs, pp. 307-318*. Byskov A G, Peters H (Eds.) Amsterdam: Excerpta Medica.
- Gabella G, Pease H L (1973). Number of axons in the abdominal vagus of the rat. *Brain Research, 58: 465-469*.
- George F W, Ojeda S R (1987). Vasoactive intestinal peptide enhances aromatase activity in the neonatal rat ovary before development of primary follicles or responsiveness to follicle-stimulating hormone. *Proceedings of the National Academy Sciences of USA, 84: 5803-5807*.
- Gerendai I, Csaba Zs, Vokó Z, Csernus V (1995). Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol., 53: 299-305*.
- Gerendai I, Hálász B (1997). Neuroendocrine asymmetry. *Frontiers in Neuroendocrinology, 18: 354-381*.
- Gerendai I, Marchetti B, Mauger S, Roxas M A, Scapagnini U (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-hydroxydopamine. *Neuroendocrinology, 27: 272-278*.
- Gore-Langton R, Armstrong D T (1994). Follicular steroidogenesis and its control. En: *The Physiology of Reproduction, vol. 1 pp. 571-627*. Second Edition. Knobil E, Neill J D (Eds.) New York: Raven Press Ltd.

- Greenwald G S, Roy S K (1994). Follicular development and its control. En: *The Physiology of Reproduction, vol. 1 pp. 629-724*. Second Edition. Knobil E, Neill J D (Eds.) New York: Raven Press Ltd.
- Guyton, A C (1984) *Tratado de Fisiología Médica, pp. 81, 739, 1188, 1196*. Barcelona: Interamericana.
- Hage A J, Groen-Klevant A C, Welschen R (1978). Follicle growth in the immature rat ovary. *Acta Endocrinologica, 88: 375-382*.
- Harrison R, Weir B (1977). Structure of the mammalian ovary. En: *The Ovary, pp. 113-217*. Zuckerman L, Weir B (Eds.) New York: Academic Press.
- Hill T R (1962). Paradoxical effects of ovarian secretion. En: *The Ovary, vol. 2, pp. 231-261*. Zuckerman S (Ed.) New York: Academic Press.
- Hirobe S; He W-W, Lee M M, Donahoe P K (1992). Mullerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinology, 131 (2): 854-862*.
- Hirshfield A N, Midgley A R (1978). The role of FSH in the selection of large ovarian follicles in the rat. *Biology of Reproduction, 19: 597-605*.
- Hirshfield A N (1986) Patterns of [³H] thymidine incorporation differ in immature rats and mature, cycling rats. *Biology of Reproduction., 34 (1): 229-235*.
- Höhn K-G, Wuttke W (1979). Ontogeny of catecholamine turnover rates in limbic and hypothalamic structures in relation to serum prolactin and gonadotropin levels. *Brain Research, 179: 281-293*
- Hsueh A J, Billig H, Tsafiriri A (1994). Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocrine Reviews, 15 (6): 707-724*.

- Hunzicker-Dunn M, Birnbaumer L (1976). Adenylcyclase activities in ovarian tissues. III. Regulation of responsiveness to LH, FSH and PGE₁ in the prepubertal, cycling, pregnant, and pseudopregnant rat. *Endocrinology*, **99**: 198-210.
- Kalia M, Sullivan M J (1982). Brain stem projections of sensory and motor components of the vagus nerve in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **211**: 248-264.
- Kannisto P, Ekblad E, Helm G, Owman C, Sjöberg N-O, Stjernquist M, Sundler F, Walles B (1986). Existence and coexistence of peptides in nerves of the mammalian ovary and oviduct demonstrated by immunocytochemistry. *Histochemistry*, **86**: 25-34.
- Kimura F, Kawakami M (1982). Episodic LH secretion in the immature male and female rat as assessed by sequential bleed sampling. *Neuroendocrinology*, **35**:128-132.
- Kragt C L, Dahlgren J (1972). Development of neural regulation of follicle-stimulating hormone (FSH) secretion. *Neuroendocrinology*, **9**: 30-40
- Lamprecht S A, Kohen F, Ausher J, Zor U, Lindner H R (1976). Hormonal stimulation of oestradiol-17 β release from the rat ovary during early postnatal development. *Journal of Endocrinology*, **68**: 343-344.
- Lara H E, Hill D F, Katz KH, Ojeda S R (1990a). The gene encoding nerve growth factor is expressed in the immature rat ovary: effect of denervation and hormonal treatment. *Endocrinology*, **126**: 357-363.
- Lara H E, Mc Donald J K, Ojeda S R (1990b). Involvement of nerve growth factor in female sexual development. *Endocrinology*, **126**: 364-375.
- Lawrence I E, Burden H W (1976). The autonomic innervation of the interstitial gland of the rat ovary during pregnancy. *American Journal Anatomical*, **147**: 8-94.

- Lawrence I E, Burden H W (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *The Anatomical Record*, 196: 5-59.
- Lawrence I E, Burden H W, 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*, 33: 131-136.
- Leonard M J, Smith C P, Hodson C A, Louis T M, Lawrence I E, Allen L G, Burden H W (1984). The effect of vagotomy on ovarian follicular development. *The Anatomical Record*, 208: 471-472. Abstr.
- Leslie R A, Gwyn D G, Hopkins D A (1982). The central distribution of the vagus nerve and gastric afferent and projections in the rat. *Brain Research Bulletin*, 8: 37-43.
- Lesson T S, Lesson C R, Paparo A A (1988). Aparato Reprodutor Femenino. En: *Texto y Atlas de Histología*, pp. 599-606. México: Interamericana McGraw-Hill.
- Lewis P R, Scott J A, Navaratnam V (1970). Localization in the dorsal motor nucleus of the vagus in the rat. *Journal Anatomy*, 107: 197-208.
- Lunenfeld B, Kraiem Z, Eshkol A (1975). The function of the growing follicle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 45: 567-574.
- Mayerhofer A, Dissen G A, Costa M, Ojeda S R (1997). A role for neurotransmitters in early follicular development: induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology*, 138 (8): 3320-3329.
- McKinnon P C B, Mattock J M, ter Haar M B (1975). Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. *Journal of Endocrinology*, 70: 361-371.
- Malamed S, Gibney J A, Ojeda, S R (1992). Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis. *The Anatomical Record*, 226: 64A-65A.

- Meijs-Roelofs H M A, Kramer P (1979). Maturation the inhibitory feedback action of oestrogen on follicle-stimulating hormone secretion in the immature female rat: A role for alphafoetoprotein. *Journal of Endocrinology*, 81: 199-208.
- Meijs-Roelofs H M A, Uilenbroek J T J, Osman P, Welschen R (1973) Serum levels of gonadotropins and follicular growth in prepubertal rats. En: *The Development and Maturation of the Ovary and Its Function*, pp. 3-11. Peters H (Ed.) Amsterdam: Excerpta Medica.
- Melrose P (1987). Steroid effects on the secretory modalities of gonadotrophin-releasing hormone. *Endocrinology*, 121:190-199.
- Moguilevsky J A, Arias P, Szwarcfarb B, Carbone S, Rondina D (1990). Sexual maturation modifies the catecholaminergic control of gonadotropin secretion and the effect of ovarian hormones on hypothalamic neurotransmitters in female rats. *Neuroendocrinology*, 52: 393-398.
- Moguilevsky J A, Faigon M R, Scacchi P, Szwarcfarb B (1985). Effect of the serotonergic system on luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats. *Neuroendocrinology*, 40: 135-138.
- Mönnikes H, Lauer G y Arnold R (1997) Peripheral administration of cholecystokinin activates *c-fos* expression in the locus coeruleus/subcoeruleus nucleus, dorsal vagal complex and paraventricular nucleus via capsaicin-sensitive vagal afferents and CCK-A receptors in the rat. *Brain Research* 770: 277-288.
- Morales L, Chávez R, Domínguez R (1993). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. *Medical Science Research*, 21: 15-17.
- Morales L, Chávez R, Ayala M, Domínguez R (1998). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. *Journal of Endocrinology*, 158: 213-219.

- Mordes J P, el Lozy M, Herrera G, Silen W (1979). Effects of vagotomy with and without pyloroplasty on weight and food intake in rats. *Journal of Physiology*, 236: R61-R66.
- Nemeskéri A, Halász B, Kurcz M (1983). Ontogenesis of the rat hypothalamo-adenohypophyseal system and inherent capacity of the fetal pituitary to differentiate into hormone-synthesizing and releasing cells. En: *The Anterior Pituitary Gland*, pp. 341-354. Bhatnagar A S (Ed.) New York: Raven Press.
- Ojeda S R (1997). Control neurotrófico del desarrollo de la función ovárica. XV Reunión de la Asociación Latinoamericana de Investigadores en Reproducción Humana. Resumen S2.
- Ojeda S R, Andrews W W, Advis J P, Smith-White S (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine Reviews*, 1:228-257.
- Ojeda S R, Jameson H E, McCann S M (1977). Developmental changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in the female rat: Ovarian-adrenal influence during the infantile period. *Endocrinology*, 100: 440-451.
- Ojeda S R, Karla S P, McCann S M (1975). Further studies on the maturation of the estrogen negative feedback on gonadotropin release in the prepubertal female rat. *Neuroendocrinology*, 18: 242-255.
- Ojeda S R, Mayerhofer A, Dissen G A, Hill D F, Smith G D, Wolf D P, Dees W L, Skinner M K (1995). The neuroendocrino trophic control of ovarian development. International Symposium on Life Cycle of the Ovarian Follicle. Celebrado en Fort Lauderdale, Florida
- Ojeda S R, Ramírez V D (1972). Plasma levels of LH and FSH in maturing rats: response to hemigonadectomy. *Endocrinology*, 90: 466-472.
- Ojeda S R, Ramírez V D (1973). Short-term steroid treatment on plasma LH and FSH in castrated rats from birth to puberty. *Neuroendocrinology*, 13: 100-114.

- Ojeda S R, Urbanski H F (1994) Puberty in the rat. En: *The Physiology of Reproduction, vol. 2 pp. 363-382*. Second Edition. Knobil E, Neill J M (Eds.) New York: Raven Press Ltd.
- Ojeda S R, White S S, Aguado L I, Advis J P, Andersen J M (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and impairs ovarian function in the female rats. *Neuroendocrinology, 36: 261-267*.
- Ortega-Villalobos M, García-Bazan M, Solano-Flores LP, Ninomiya-Alarcón J G, Guevara-Guzmán R (1990). Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: an electrophysiological and HRP study. *Brain Research Bulletin, 25: 365-371*
- Palkovits M, Zaborsky L (1979). Neural connections of the hypothalamus, En: *Handbook of the Hypothalamus: Anatomy of the Hypothalamus, Vol. 1, pp. 397*. Morgane P J, Panksepp J (Eds.) New York: Marcel Dekker.
- Paris A L, Ramaley J A (1974). Adrenal-gonadal relations and fertility: the effects of repeated stress upon the adrenal rhythm. *Neuroendocrinology, 15: 126*.
- Paris A L, Ramaley J A (1973). Effects of short-term stress upon fertility. I. Before puberty. *Fertil. Steril., 24: 570*.
- Peters H (1979). Some aspects of early follicular development. En: *Ovarian Follicular Development and Function, pp. 1-13*. Midgley A R, Sadler W A (Eds.) New York: Raven Press.
- Powley T L, Precht J C, Fox E A, Berthoud H R (1983). Anatomical considerations for surgery of the rat abdominal vagus: distribution, paraganglia and regeneration. *Journal Autonomic Nervous System, 9: 79-97*.
- Rajah R, Hirshfield A N (1991). The changing architecture of the rat ovary during the immediate postpartum period: a three dimensional (3D) reconstruction. *Biol. Reprod., 44:152*.

- Ramaley J A (1980). Biological clocks and puberty onset. *Federation Proceedings*, 39: 2355-2359.
- Raum W J, Glass A R, Swerdloff R S (1980). Changes in hypothalamic catecholamine neurotransmitters and pituitary gonadotropins in the immature female rat: Relationships to the gonadostat theory of puberty onset. *Endocrinology*, 106: 1253-1258.
- Raybould H E, Lloyd K C (1994) Integration of postprandial function in the proximal gastrointestinal tract. Role of CCK and sensory pathways, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 713: 143-156.
- Ricardo J A, Koh E T (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala and other forebrain structures in the rat. *Brain Researches*, 153: 1-26.
- Richards J S (1994) Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocrine Reviews*, 15(6): 725-751.
- Richards J S (1980). Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation *Physiol. Rev.*, 60 (1): 51-89.
- Ritchie T C, Westlund K N, Bowker R M, Coulter J D, Leonard R B (1982). The relationship of the medullary catecholamine containing neurons to the vagal motor nuclei. *Neuroscience*, 7: 1471-1482.
- Rivier C, Rivier J, Vale W (1986). Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science*, 231: 607-609.
- Ross M H, Reith E J, Romrell, L J (1992). Aparato genital femenino. En: *Histología, Texto y Atlas en Color*, pp. 623-629. México: Médica Panamericana.

- Salas M, Torrero C, Pulido S, Pérez H (1991). Acciones neurotrópicas de las hormonas tiroideas durante la ontogenia neuronal. En: *Ontogenia Neuronal. Aspectos Comparativos y Mecanismos de Regulación*, pp. 177-198. Salas M (Ed.) México: Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Coordinación de Investigación Científica.
- Sanders T, Pepler R D (1982). Effect of subdiaphragmatic vagotomy on ovarian function in cycling and hemi-castrate rats. *The Anatomical Record*, 204: 402.
- Schultheis T D, Dees W L, Ojeda S R (1992). Postnatal development of sympathetic and sensory innervation of the rhesus monkey ovary. *Biology of Reproduction*, 47: 760-767.
- Smith-White S, Ojeda S R (1981). Changes in ovarian luteinizing (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the rat. *Endocrinology*, 109:152-161.
- Steele R E (1977). Role of the ovaries in maturation of the estradiol-luteinizing hormone negative feedback system of the pubertal rat. *Endocrinology*, 101:587-597.
- Stefenson A, Owman Ch, Sjöberg N-O, Spörng B, Wallis B (1981). Comparative study of the autonomic innervation of the mammalian ovary, with particular regard to the follicular system. *Cell and Tissue Research*, 215: 47-62.
- Sieck G, Rainaley J H (1975) Effects of early handling upon puberty: correlations with adrenal stress responsiveness. *Physiology Behavior*, 15: 487.
- Tilly J L, Kowalski K I, Schomberg D W, Hsueh A J (1992). Apoptosis in atretic ovarian follicle is associated with selective decreased messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology*, 131 (4): 1670-1676.

- Towbin E J (1955). Thirst and hunger behavior in normal dogs and the effects of vagotomy and sympathectomy. *Americal Journal of Physiology*, 182: 377-382.
- Urbanski H F, Ojeda S R (1986). Development of afternoon minisurges of luteinizing hormone secretion in prepubertal female rats is ovary independent. *Endocrinology*, 118:1187-1193.
- Urbanski H F, Ojeda S R (1985). The juvenil-peripubertal transition period in the female rat: Establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. *Endocrinology*, 117:664-649.
- Watanabe Y G, Daikoku S (1979). An immunohistochemical study on the cytogenesis of adenohipophyseal cells in fetal rats. *Dev. Biol.*, 68:557-567.
- Welschen, R (1973). Amounts of gonadotropins required for normal follicular growth in hypophysectomized adult rat. *Acta Endocrinologica*, 72: 137.
- Zeleznik J, Fairchild-Benyo D (1994). Control of follicular development, corpus luteum function, and the recognition of pregnancy in higher primates. *The Physiology of Reproduction*, vol. 2 pp. 751-782. Second Edition. Knobil E, Neill J M (Eds.) New York: Raven Press Ltd.

Cuantificación de Hormonas Esteroides

- ***Obtención de muestras***

Los animales fueron sacrificados por decapitación entre las 11:00 y las 13:00 hrs. del día en el cual presentaron el primer estro vaginal. La sangre del tronco se colectó en un tubo de ensaye esterilizado con anterioridad y se dejó coagular por 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras se colocaron en una centrifuga clínica y se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante un espacio de 15 minutos. Se separó el suero del botón celular y de cada muestra sérica se extrajeron dos alícuotas de 150 μ l (una de ellas se utilizó para la determinación del estrógeno y la otra para la de la progesterona). El suero se almacenó en tubos eppendorf a -20°C hasta la cuantificación de los esteroides.

- ***Cuantificación hormonal***

Utilizando reactivos comerciales (Coat-A-Count) se determinó por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, la concentración sérica del 17β -estradiol y de la progesterona. El estuche comercial (kit) contiene calibradores de diferentes concentraciones (Estrógeno: 0, 20, 50, 150, 500, 1800, 3600 picogramos de 17β -estradiol sintético por mililitro de suero humano, pg/ml; Progesterona: 0, 0.1, 0.5, 2.0, 10.0, 20.0, 40.0 nanogramos de progesterona por mililitro de suero humano, ng/ml), tubos de ensaye de polipropileno cuyas paredes están cubiertas con el anticuerpo (de conejo) específico para el estradiol o la progesterona: anti-estradiol- I^{125} ó anti-

progesterona- I^{125} (anticuerpos altamente específicos pues tienen una baja reactividad de cruzamiento para otros componentes) y hormona marcada con I^{125} (17β -estradiol- I^{125} o progesterona- I^{125}). Cuando se adicionan a los tubos de polipropileno la muestra problema (100 μ l) y la hormona marcada con I^{125} (1 ml), esta compete con la hormona de la muestra problema por los sitios de unión al anticuerpo específico. Para favorecer la reacción, la mezcla se agita en un vortex durante un minuto y se incuba durante 3 hr. a temperatura ambiente. Terminado este tiempo el líquido se decanta y con la ayuda de cotonetes se remueve el exceso de líquido. Finalmente los tubos se colocan en un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard TM el cual determina la concentración de la hormona problema en función de las cuentas por minuto y la curva de calibración.

- ***Curvas de calibración***

La curva de calibración para el 17β -estradiol se elabora preparando diluciones de 10, 20, 50, 75 y 150 pg/ml a partir de los calibradores. Cada una de estas muestras se coloca por separado en tubos de ensaye de cristal y junto con las muestra de suero problema, se agitan por un minuto, se incuban por tres horas y colocan en el contador gamma que ajusta la curva semilogaritmica contra el valor obtenido de cuentas por minuto.

Para la curva de la progesterona se utilizan los calibradores de 0, 0.1, 0.5, 2.0, 10.0, 20.0 y 40.0 ng/ml, siguiendo el mismo procedimiento que para la de estradiol.

APÉNDICE B

Se sacrificaron animales intactos de diferentes edades con el fin de corroborar que el aumento en el peso corporal observado en los animales con vagotomía o con estimulación mecánica era una consecuencia directa del tratamiento, y no de la edad en la que se realizó el sacrificio. En la siguiente gráfica se presenta la media \pm e. e. m. del peso corporal de animales intactos autopsiados a los 42, 45 ó 50 días de edad.

