

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

PARTICIPACION DE LA INERVACION SENSORIAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD EN LA RATA HEMICASTRADA.

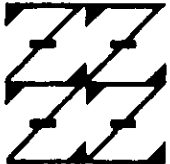
599524

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BI O L O G O P R E S E N T A :

JAVIER APOLONIO

UNAM FES ZARAGOZA



LO HUMANO ES DE NUESTRA REFLEXION

DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

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"**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**Participación de la inervación sensorial sobre el inicio de la  
pubertad en la rata hemicastrada.**

**Tesis presentada por: Javier Apolonio.**

**Directora de tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma.**

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la  
Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción de la  
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.**

**Durante Esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-  
PAPIIT convenio IN203799 y de CONACyT proyecto 29006-N.**

## Agradecimientos

A los miembros del jurado por el tiempo invertido en la revisión de esta tesis y por sus valiosas sugerencias para enriquecerla.

Al Laboratorio de Hormonas Proteicas y al Laboratorio de Hormonas Esteroides del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán", por las facilidades ofrecidas para la cuantificación de hormonas.

Al Biól. Roberto Chavira y al Dr. Pablo Damián-Matzumura por su colaboración para la cuantificación de las hormonas por radioinmunoanálisis.

Al personal del bioterio de la FES Zaragoza por el cuidado y mantenimiento de los animales.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	i
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
INERVAIÓN OVÁRICA.....	1
CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS NERVIOSAS AFERENTES.....	4
MECANISMO DE ACCIÓN DE LA CAPSAICINA.....	4
EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA DENERVACIÓN SENSORIAL.....	6
A) Denervación Quirúrgica.....	7
B) Denervación Farmacológica.....	8
PUBERTAD EN LA RATA.....	11
HIPERTROFIA COMPENSADORA OVÁRICA.....	13
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	16
<b>HIPÓTESIS</b> .....	17
<b>OBJETIVOS</b> .....	17
<b>MATERIALES Y MÉTODO</b> .....	18
<b>RESULTADOS</b> .....	22
HEMICASTRACIÓN A LOS 20 DÍAS.....	23
HEMICASTRACIÓN A LOS 28 DÍAS.....	33
<b>DISCUSIÓN</b> .....	43
<b>MODELOS</b> .....	51
<b>CONCLUSIONES</b> .....	53
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	54

## RESUMEN.

La inervación sensorial del ovario es aportada por el PO, cuyas fibras nerviosas contienen SP y CGRP y han sido asociadas con el flujo sanguíneo y el transporte de la información que se genera en el ovario hacia el SNC. La denervación sensorial puede lograrse mediante la administración de capsaicina, neurotóxico que destruye las fibras tipo C y Aδ. En el modelo del animal hemicastrado se presenta la hipertrofia compensadora ovárica, donde la gónada remanente aumenta de tamaño y mantiene su función a un nivel equivalente a cuando se encontraban las dos gónadas. Este fenómeno ha sido explicado en función de un mecanismo hormonal, pero también como resultado de la participación de elementos neuroendócrinos.

En el presente trabajo se utilizó el modelo del animal hemicastrado para analizar el papel de la inervación sensorial en los mecanismos que regulan el inicio de la pubertad y el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario. Para ello se utilizaron ratas hembra recién nacidas de la cepa CII-ZV mantenidas en condiciones de bioterio. Los animales fueron inyectados al nacimiento con 50 mg·Kg<sup>-1</sup> de capsaicina o con el vehículo. Posteriormente, fueron sometidas a hemicastración izquierda, derecha u operación simulada a los 20 ó 28 días de edad. Los animales fueron sacrificados en el día del primer estro vaginal. Se evaluó la edad de inicio de la pubertad, hipertrofia y ovulación compensadora. Se determinó la concentración sérica de hormonas esteroideas ováricas y gonadotrópicas por RIA de fase sólida y de doble anticuerpo, respectivamente. Los datos recabados fueron analizados estadísticamente.

En este trabajo, los animales presentaron lesiones en la piel, principalmente en cabeza, cuello y parte superior de los miembros anteriores. En la rata hemicastrada a los 20 días de edad, el inicio de la pubertad no presentó alteración y las hembras hemicastradas del lado izquierdo tardaron más tiempo en presentar el primer estro. En tanto que, en las hembras hemicastradas del lado derecho a los 28 días de edad y tratadas con el vehículo, se encontró un retraso significativo en la edad en que presentaron apertura vaginal, el cual fue abolido en el animal que además de hemicastrado fue denervado al nacimiento, mientras que las hembras denervadas y hemicastradas del lado izquierdo tardaron menos en presentar el primer estro.

En las hembras hemicastradas a los 20 días de edad, el mayor porcentaje de ovulación compensadora lo presentaron aquellas a las que se les extirpó el ovario izquierdo y se observó diferencia significativa con respecto a las hembras denervadas y

hemiovariectomizadas del mismo lado. En cuanto a la hipertrofia compensadora, el mayor porcentaje fue presentado por las hembras hemicastradas del ovario derecho, tanto las control como las denervadas. Mientras que en la rata hemicastrada a los 28 días de edad, el mayor porcentaje de ovulación compensadora fue observado en las hembras hemicastradas del lado derecho y se encontró disminución significativa en el animal denervado y hemicastrado del mismo lado. La hipertrofia compensadora ovárica se incrementó significativamente en el animal denervado y hemicastrado del lado derecho.

La concentración sérica de progesterona presentó incremento en las ratas hemicastradas a los 20 días de edad, pero el aumento fue inhibido en el animal denervado y hemicastrado del lado izquierdo. Mientras que en el animal hemicastrado del lado derecho a los 28 días de edad, el incremento sucedió cuando se extirpó la gónada derecha, de igual forma el aumento fue inhibido en el animal denervado y hemicastrado del mismo lado. La concentración sérica de testosterona no fue alterada por la hemicastración o la denervación en ninguna de las dos edades. La concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol en el animal hemicastrado a los 20 días presentó un descenso independiente del ovario extirpado y de la inervación sensorial y en el animal hemicastrado a los 28 días se observó un incremento sólo en las hembras control con hemiovariectomía izquierda. La concentración sérica de hormonas gonadotrópicas no fue alterada por la hemicastración o la denervación.

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que en el animal prepúber hemicastrado, la respuesta compensadora del ovario depende de la gónada *in situ* y de la edad en la que se realiza la hemiovariectomía. La inervación sensorial modula éste fenómeno de manera estimulante dependiendo de la edad y del ovario extirpado, mientras que el inicio de la pubertad parece ser regulado por la activación del SNC.

## MARCO TEÓRICO.

### INERVIACIÓN OVÁRICA.

Al igual que otras glándulas, los ovarios de los mamíferos son inervados por el sistema nervioso periférico, mismo que participa directamente en la regulación del flujo sanguíneo, el control de la esteroidogénesis y en el desarrollo folicular. La inervación extrínseca del ovario está compuesta principalmente por fibras sensoriales y una pequeña porción parasimpática. La inervación ovárica llega a diferentes componentes estructurales de la glándula, tales como la vasculatura, el tejido intersticial y los folículos en desarrollo (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999).

Existen dos vías simpáticas que inervan al ovario de los mamíferos. Una es el plexo ovárico (PO), el cual corre a lo largo de la arteria ovárica; la segunda es referida como el nervio ovárico superior (NOS), que está asociado con el ligamento suspensorio, el cual sujeta al ovario, oviducto y útero. Las fibras que se originan en el PO inervan principalmente la vasculatura ovárica y las que se originan en el NOS inervan principalmente el compartimiento secretor de la glándula, células intersticiales y la teca de los folículos en desarrollo (Burden, 1985; Calka y col., 1988; Dissen y Ojeda, 1999).

Las fibras del NOS tienen su origen en los segmentos torácicos T10 al lumbar L4 del ganglio de la cadena simpática y establece sinapsis en el ganglio mesentérico y celiaco. El plexo ovárico proporciona la porción sensorial de los nervios ováricos, se origina en el ganglio nodal y ganglio de la raíz dorsal, ubicados entre los segmentos torácicos caudales (T10-T11) y segmentos craneolumbares del cordón espinal (L2-L4) (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999).

Recientemente se ha planteado que la inervación sensorial llega a casi todos los compartimentos ováricos, pero principalmente se le asocia con la vasculatura. Al parecer, en el ovario de la rata no existe inervación parasimpática, en su lugar existe inervación vagal (Dissen y Ojeda, 1999).

La inervación simpática esta constituida por neuronas catecolaminérgicas, que contienen noradrenalina como principal neurotransmisor, y peptidérgicas que contienen neuropéptido Y (NPY), péptido intestinal vasoactivo y el polipéptido activador de la adenilato ciclasa hipofisiaria (VIP y PACAP, respectivamente por sus siglas en inglés); en tanto que la inervación sensorial se encuentra formada por neuronas que contienen



sustancia P (SP), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés) y somatostatina. En algunos casos se ha visto que tanto SP como CGRP pueden coexistir en una misma fibra nerviosa, así mismo se ha reportado que las fibras sensoriales también pueden presentar VIP y PACAP (Calka y col., 1988; Dissen y Ojeda, 1999).

Las fibras que contienen VIP, que llegan al ovario vía NOS, inervan al tejido intersticial, los folículos (donde estimulan la secreción de estrógenos y andrógenos) y la vasculatura ovárica (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999). Por su parte, las fibras que contienen NPY, muchas de las cuales además contienen NA, llegan al ovario vía PO, agrupándose principalmente en la vasculatura de la gónada. Se ha planteado que el NPY participa en la modulación del tono vascular y junto con SP y CGRP en la regulación del flujo sanguíneo ovárico y en la conducción de la información sensorial procedente del ovario (Calka y col., 1988; Dissen y Ojeda, 1999). Al CGRP se le asocia con un efecto de potente vasodilatador (Calka y col., 1988).

Se ha sugerido que la inervación extrínseca del ovario puede mediar una conexión neural entre el hipotálamo y el ovario, que puede ser en ambas direcciones (Gerendai y Halász, 1978; Dissen y Ojeda, 1999; Morán y col., 2000). Entre los hallazgos que apoyan esta idea se encuentra el hecho de que en ratas recién nacidas la eliminación de la inervación sensorial provoca un enlentecimiento del desarrollo folicular y el inicio de la pubertad se retrasa (Traurig y col., 1984; Holzer, 1991). Por su cuenta, Kawakami y col. (1981) mostraron que la estimulación de diferentes regiones del cerebro ocasiona incremento en la síntesis y secreción de E2 y P4, sin alteración del flujo sanguíneo ovárico o de la concentración plasmática de gonadotropinas. Otra de las evidencias que apoyan esta hipótesis se ha obtenido en el modelo del animal hemicastrado, en el cual la concentración de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH, por sus siglas en inglés) se incrementa en el hipotálamo medio basal (MBH), del lado ipsilateral a la hemiovariectomía, tanto en hembras (Gerendai y col., 1978b; Dissen y Ojeda, 1999), como en machos (Mizushima y col., 1983, en Gerendai y col., 1995). Adicionalmente, la lesión unilateral hipotalámica interfiere con el incremento en la concentración de FSH ocasionado por la hemicastración cuando la lesión del lado derecho es combinada con la extirpación de la gónada (Nance y Moger, 1982, en Gerendai y col., 1995).

**Participación de la inervación ovárica sobre la regulación de la foliculogénesis y la esteroidogénesis ovárica.** En la rata, la inervación del ovario precede al inicio de la foliculogénesis. El desarrollo de los folículos se inicia cerca de la médula de la glándula, y es esta región la que al inicio contiene el mayor desarrollo de la inervación. Así, la distribución inicial de fibras nerviosas sugiere una relación estrecha entre la presencia de las mismas y el inicio de la foliculogénesis (Dissen y Ojeda, 1999). Por su parte, Malamed y col. (1992) mostraron, en el ovario de fetos de rata de 19 días de vida, la presencia de fibras que son inmunorreactivas a la tiroxina hidroxilasa (enzima que limita la tasa de síntesis de catecolaminas), por lo que se sugiere que las fibras que participan en el desarrollo folicular son de naturaleza catecolaminérgica.

El VIP puede además influir sobre la diferenciación de las células de la granulosa en los folículos grandes, ya que induce la formación de receptores a la hormona estimulante del folículo (FSH) (Dissen y Ojeda, 1999). Si bien el NPY no actúa directamente en el proceso ovulatorio, puede contribuir a modular la respuesta de las células de la granulosa a las gonadotropinas y catecolaminas (Dissen y Ojeda, 1999).

Por otra parte las catecolaminas, tanto las que llegan al ovario (vía NOS y PO) como las intrínsecas, juegan un papel importante en la esteroidogénesis, ya que tienen la capacidad de activar los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (Ojeda, 1997; Dissen y Ojeda, 1999). Las catecolaminas aportadas por las fibras simpáticas estimulan la liberación de progesterona ( $P_4$ ) a partir de las células de la granulosa y luteales, así como de andrógenos por parte de las células tecales (Dissen y Ojeda, 1999). Se ha reportado que las catecolaminas (junto con el VIP) inducen la formación de receptores para la FSH en las células foliculares con lo que se inicia el crecimiento folicular, además de que estos neurotransmisores facilitan la respuesta esteroidogénica a bajas concentraciones de gonadotropinas (Dissen y Ojeda, 1999).

No se ha planteado un papel de la SP y del CGRP sobre la esteroidogénesis, sin embargo se les asocia con la regulación del flujo sanguíneo y en la aportación de una vía sensorial aferente a partir del ovario. Se piensa que la información transmitida al SNC por estas fibras consistiría de "sensaciones" del estado individual del desarrollo folicular (Dissen y Ojeda, 1999).

Los nervios colinérgicos que se ubican alrededor de los folículos al parecer pueden inhibir la acción de las gonadotropinas en las células de la granulosa, por lo que se piensa que estos nervios pueden tener una función moduladora de la esteroidogénesis ovárica. La fuente de estas fibras aún no se ha establecido (Dissen y Ojeda, 1999).

## CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS NERVIOSAS AFERENTES.

De acuerdo con Holzer (1991) las neuronas aferentes primarias se pueden dividir por su morfología en neuronas tipo A, las cuales tienen un soma largo y claro; y las tipo B que presentan un soma corto y oscuro. De igual forma, las fibras aferentes primarias pueden clasificarse de acuerdo a criterios morfológicos y fisiológicos en:

a) Gruesas mielinizadas (fibras A $\alpha$  y A $\beta$ ), presentan altas velocidades de conducción de información mecánica nociceptiva de la piel y el músculo.

b) Delgadas amielínicas, tienen una velocidad de conducción más baja (fibras C), y son principalmente nociceptores polimodales o quimionociceptores. Estas fibras responden a estímulos nocivos mecánicos, térmicos y/o químicos.

c) Cortas mielinizadas, conducen a velocidades intermedias (fibras A $\delta$ ) y llevan estímulos nociceptores polimodales y mecanonociceptores, así como información nonociceptiva (mecanorreceptores y receptores de frío).

## MECANISMO DE ACCIÓN DE LA CAPSAICINA.

La capsaicina pertenece al grupo químico de los vainilloides, es el componente picante de ciertos chiles del género *Capsicum*, en su molécula presenta una cadena de nueve carbonos con un doble enlace, químicamente se denomina 8-metil-N-vainillin-6-nonenamida (Burks y col., 1985; Holzer, 1991; Caterina y col., 1997), su estructura química se muestra en la figura 1. Actualmente se conocen sus efectos neurotóxicos sobre neuronas sensoriales primarias que contienen sustancia P.

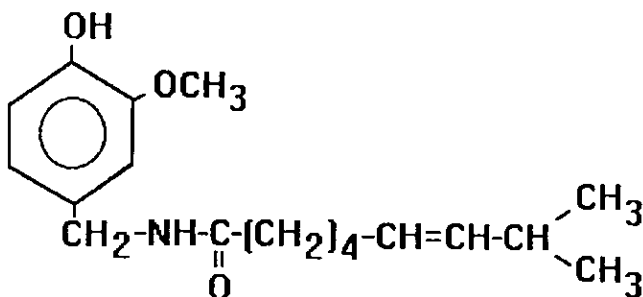
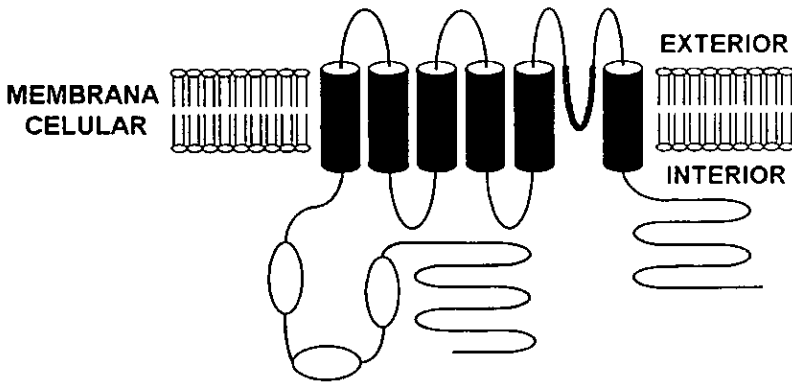


Figura 1. Estructura química de la capsaicina (Tomado de Burks y col., 1985).

Por otra parte, cuando en la rata se administra capsaicina en las terminales periféricas de las neuronas sensoriales cutáneas, se da una estimulación de los nociceptores polimodales tipo C y A $\delta$ , así como de los receptores de calor tipo C (Holzer, 1991; Caterina y col., 1997; Szallasi y col., 1999), pero el principal efecto de la capsaicina está caracterizado por la depleción de la sustancia P en las fibras nerviosas aferentes. La capsaicina es ampliamente selectiva para las fibras aferentes de mamíferos, en especial las del ganglio de la raíz dorsal, las cuales utilizan a la sustancia P como neurotransmisor (Burcks y col., 1985). El daño se origina cuando la capsaicina interactúa con la membrana celular cerca de las terminales de las fibras aferentes primarias, se forman enlaces covalentes y se incrementa la permeabilidad membranar a iones calcio y sodio. Se ha propuesto que la alteración producida en la membrana por la capsaicina esta relacionada con la interacción de las moléculas hidrofóbicas del vainilloide con la bicapa lipídica o por la activación de un receptor específico, conocido como VR1 (Fig. 2), cuya región de reconocimiento del vainilloide podría ser intra- o extramembranal (Caterina y col., 1997).



**Figura 2.** Modelo propuesto para la estructura del receptor a vainilloides. Se ha sugerido que el receptor es una proteína politópica que consiste de seis dominios transmembranales con una extensión corta hidrofóbica adicional entre las regiones transmembranales 5 y 6. Este receptor presenta similitudes con la familia de canales de calcio TRP, propuestos como mediadores de la entrada del calcio extracelular a las células después de la depleción de las reservas intracelulares del mismo (Modificado de Caterina y col., 1997).

En las fibras sensoriales la capsaicina provoca inicialmente despolarización de la membrana neural lo que induce excitación, posteriormente inhibe la repolarización de la membrana neural, lo que ocasiona pérdida de la sensibilidad, ya que la fibra nerviosa no puede ser excitada nuevamente (Burcks y col., 1985).

El efecto neurotóxico de la capsaicina se manifiesta en un deterioro de la capacidad de las fibras nerviosas aferentes para realizar el transporte retrógrado de los factores neurotróficos esenciales requeridos para mantener la síntesis de SP en la fibra sensorial. Se ha sugerido que el factor neurotrófico específico es parecido al factor de crecimiento neural (NGF, por sus siglas en inglés). Se ha propuesto que este factor neurotrófico es esencial para la sobrevivencia de las fibras. Al inhibir el transporte retrógrado del NGF éste no puede llegar a los somas de las células nerviosas, lo que ocasiona una disminución en la tasa de incorporación de prolina (aminoácido componente de la SP) durante la síntesis de sustancia P, que se traduce por una menor síntesis del neurotransmisor y al final es depletado completamente (Burcks y col., 1985).

Adicionalmente, Ojeda (1997) postula que el NGF es esencial en la formación de las fibras nerviosas que llegan al ovario y contribuye en la ruptura del folículo durante la ovulación. La deficiencia del factor produce un retardo en la maduración folicular y un descenso en la liberación de estrógenos, por el contrario, un exceso en la producción del factor ocasiona quistes foliculares, estrogenización y alteraciones en el ciclo estral.

## **EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LA DENERVACIÓN SENSORIAL**

Algunos efectores dependen de su inervación para conservar su integridad estructural y funcional, cuando algunos de estos son denervados, con el tiempo empiezan a perder su función y se atrofian. Otros efectores no dependen por completo de su inervación para conservar sus características funcionales, tal es el caso del músculo liso, cardíaco y las glándulas (Noback, 1993). En el estudio de la participación de la inervación se ha utilizado el modelo del animal con denervación, la cual se puede realizar por vía quirúrgica o farmacológica

### **A) Denervación quirúrgica.**

Si se priva a un órgano efector de su inervación, es probable que desarrolle sensibilidad extrema a los mediadores químicos (neurotransmisores). La hipersensibilidad a la denervación es notable en situaciones clínicas posteriores a la simpatectomía (Noback, 1993).

Cuando en la rata se realiza la sección quirúrgica del nervio vago y/o pélvico, los cuales contienen una gran cantidad de fibras sensoriales (Gabella y Pease, 1973), se producen diferentes tipos de alteraciones. En el caso de la vagotomía abdominal, la función reproductiva se ve afectada al inhibirse los ciclos estrales, se bloquea la inducción de pseudopreñes y la respuesta desidual (Burden y col., 1984), durante la preñez se produce reabsorción de fetos (Lawrence y Burden, 1978, Lawrence y col., 1978) y disminuyen las concentraciones de hormona luteinizante (LH) y progesterona en el torrente sanguíneo (Lawrence y Burden, 1978; Lawrence y col., 1978; Burden, 1985) y en el caso del animal hemicastrado se bloquea la hipertrofia compensadora (Burden y Lawrence, 1977).

Si se realiza la sección del nervio pélvico, se modifican algunas condiciones previas al parto, se inhibe la disminución de las concentraciones de progesterona en el torrente sanguíneo y se bloquea el aumento en la concentración plasmática de prostaglandina  $F_2\alpha$  (Louis y col., 1978).

La participación de la información vagal sobre los procesos neuroendócrinos que regulan el crecimiento folicular y la primera ovulación, puede ser estimuladora o inhibitoria y depende de la edad del animal. Estudios recientes de nuestro laboratorio, han mostrado que la sección bilateral del vago provoca un incremento en el total de folículos maduros y ovocitos liberados. En este modelo experimental, la participación del vago en la regulación de la ovulación es de tipo inhibitorio (Betanzos y col., 1998).

Si se realiza una vagotomía bilateral a nivel subdiafragmático, en la rata prepúber (24 días) se induce retraso en el inicio de la pubertad, esto como consecuencia de una menor actividad esteroidogénica ovárica (Ojeda y col., 1983), en tanto que una vagotomía izquierda a esta edad provoca un descenso en el peso del útero (Ortega-Villalobos y col., 1990). Si la sección del nervio vago derecho o la denervación bilateral se realiza a los 28 días de vida, la concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol y de progesterona disminuye. En tanto que, la sección del nervio vago izquierdo no modifica la síntesis de estrógenos ni el inicio de la pubertad (Betanzos y col., 1998).

Por otra parte, tanto la sección como la estimulación mecánica del nervio vago derecho o la de ambos troncos vagales, realizada al inicio o final de la etapa juvenil, tienden a provocar aumento en la masa corporal (Betanzos y col., 1998). A diferencia de lo que ocurre en la rata adulta, donde la vagotomía bilateral provoca descenso de la masa corporal (Mordes y col., 1979; Clarkson y col., 1982).

### **B) Denervación farmacológica.**

La denervación farmacológica se puede realizar utilizando diferentes elementos, entre ellos se encuentra la capsaicina, ya que ha demostrado ser una herramienta útil en el estudio de los eventos modulados por las neuronas sensoriales. Al principio de la administración, la capsaicina produce una excitación de las neuronas sensoriales, pero con una exposición reiterada se produce una pérdida de sensibilidad a la misma y a diferentes tipos de estímulos químicos, térmicos o mecánicos (Burcks y col., 1985; Caterina y col., 1997).

Con dosis relativamente altas, la capsaicina puede ocasionar daños morfológicos de larga duración sobre las neuronas sensoriales o incluso provocar su destrucción (Holzer, 1991). La capsaicina afecta significativamente a las fibras del ganglio de la raíz dorsal, específicamente las neuronas sensoriales primarias, donde produce su efecto neurotóxico manifestándose por la depleción de la sustancia P, que es utilizada preferentemente por estas neuronas como neurotransmisor (Burks y col., 1985; Holzer, 1991; Caterina y col., 1997; Clapham, 1997; Szallasi y col., 1999).

La capsaicina no estimula las raíces ventrales del cordón espinal, las fibras del nervio óptico, las fibras nerviosas simpáticas pre y posganglionares, las células ganglionares simpáticas, las neuronas cerebelares (Holzer, 1991), y no afecta los niveles de sustancia P en tejido gastrointestinal y cerebro (Burcks y col., 1985).

Los efectos neurotóxicos de la capsaicina varían con relación a la susceptibilidad de la especie de que se trate, en mamíferos puede depletar la sustancia P y otros péptidos presentes en las fibras nerviosas los efectos de la neurotoxina también dependen de la dosis administrada, la edad y vía de administración (Burks y col., 1985; Nance y col., 1987; Holzer, 1991; Szallasi y col., 1999). La capsaicina puede provocar daño morfológico temporal o permanente de las fibras nerviosas aferentes primarias. En cuanto a la dosis se tiene, que el umbral de acción de la capsaicina se encuentra entre los  $2.5 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  como mínimo y su máxima efectividad es con  $50 \text{ mg}\cdot\text{Kg}^{-1}$  (Burks y col., 1985). Por otra parte, Holzer (1991) señala que el daño a las fibras amielínicas de la raíz dorsal y a los

axones terminales del cordón espinal se produce con dosis entre 5 y 15 mg·Kg<sup>-1</sup>, siendo la dosis de 50 mg·Kg<sup>-1</sup> la más utilizada, ya que ocasiona sobre las neuronas aferentes amielínicas el mayor daño posible de carácter permanente o a largo plazo.

La administración de dosis de 50 mg·Kg<sup>-1</sup>, o mayores, ocasiona que los somas cortos oscuros sean destruidos y los somas claros largos tipo A degeneren, hay una pérdida del 72 al 95 % de las fibras amielínicas de la raíz dorsal y las fibras mielínicas tipo Aδ pueden permanecer intactas o reducirse hasta en un 40%. Con dosis de 10 a 25 mg·Kg<sup>-1</sup> hay una pérdida de fibras nerviosas aferentes amielínicas superior al 95%, las fibras mielínicas no son afectadas (Holzer, 1991). Con una dosis acumulativa de 950 mg·Kg<sup>-1</sup> se depleta hasta el 48% de la sustancia P del asa dorsal del cordón espinal (Burks y col., 1985).

Normalmente existe desensibilización y bloqueo de la conducción nerviosa posterior a la aplicación de capsaicina, pero en algunos casos, especialmente cuando se aplican dosis pequeñas reiteradamente, la excitación puede ser seguida de sensibilización a estímulos térmicos, mecánicos o químicos (Holzer, 1991).

La denervación sensorial inducida por la administración de capsaicina produce diferentes efectos morfológicos, neuroquímicos, histoquímicos, funcionales, conductuales y reproductivos que dependen de la edad en la que se inicia el tratamiento.

**Efectos farmacológicos de la capsaicina en ratas neonatas.** Las ratas neonatas son altamente sensibles a la acción neurotóxica de la capsaicina, cuyos efectos pueden persistir por semanas o meses (Traurig y col., 1984). El mayor daño neurotóxico causado por la capsaicina se reporta a la edad de 1 a 12 días de vida, donde se puede obtener depleción permanente de la sustancia P de las vías aferentes primarias. El tratamiento sistémico con una dosis de 50 mg·Kg<sup>-1</sup> de capsaicina ocasiona efectos neurotóxicos irreversibles caracterizados por la degeneración permanente de las neuronas aferentes primarias tipo B; pérdida de las fibras amielínicas tipo C y de las mielínicas tipo Aδ (Holzer, 1991; Szallasi y col. 1999)

Los cambios neuroquímicos e histoquímicos están representados por la depleción de neurotransmisores, tales como la sustancia P, CGRP y posiblemente somatostatina VIP y colecistoquinina. Los neurotransmisores señalados anteriormente, se encuentran asociados con ganglios sensoriales, fibras nerviosas aferentes y los tejidos que inervan, así como regiones terminales del cordón espinal (Calka y col, 1988; Holzer, 1991).



En tanto que los efectos funcionales se encuentran caracterizados por deficiencia de las funciones efectoras locales y aferentes. Son inhibidas o abolidas las funciones efectoras locales tales como la vasodilatación, incremento en la permeabilidad vascular, cambios en la actividad cardíaca, bronquial, muscular, visceral y del sistema inmune. Las funciones aferentes afectadas comprenden recepción de calor, termorregulación, reflejos cardiovasculares, viscerales y neuroendócrinos (Holzer, 1991).

La denervación sensorial inducida por la administración de capsaicina, también afecta eventos reproductivos, conductuales y de desarrollo. En ratas tratadas en la etapa neonatal con capsaicina, al llegar a la etapa adulta, disminuye su capacidad reproductiva ya que un menor número de animales queda preñado y llevan a término la preñez (Razo, 2000). De igual forma, se presenta una disminución de la respuesta desidual e inadecuado soporte hormonal para la implantación (ya que se ha sugerido que para que se implanten los embriones en el útero es preciso que previamente haya ocurrido un incremento en la concentración de progesterona). En cambio los ciclos estrales, la ovulación, el transporte de esperma y la fertilización ocurren normalmente (Traurig y col., 1984). Así mismo, la administración de capsaicina provoca alteraciones en algunos aspectos conductuales, se incrementa la tendencia a rascarse (lo que ocasiona la aparición de ulceraciones en la cabeza, cuello y hombros), piel sucia y precocidad en la apertura de los ojos (Carrillo y col., 1994). También se da una reducción o abolición de la respuesta a estímulos nocivos de tipo químico y térmico, no así los de tipo mecánico, así como bloqueo de la estimulación cérvico-vaginal para facilitar la lordosis (Rodríguez-Sierra y col., 1988).

Se ha reportado que el inicio de la pubertad sufre un retraso en los individuos denervados con capsaicina en la etapa neonatal. Esta demora ha sido asociada con el bajo peso corporal que presentan los animales tratados con capsaicina. La mayor diferencia, en el promedio del peso corporal de las ratas tratadas se aprecia alrededor de los 35 días de vida, edad que coincide con el inicio de la etapa puberal. La demora del inicio de la pubertad, podría estar más relacionada con la lentitud del crecimiento corporal que con un efecto directo del tratamiento con capsaicina (Traurig y col., 1984; Carrillo y col., 1994).

Por otra parte, Holzer (1991) reporta que las ratas adultas presentan una capacidad de recuperación a los efectos de la capsaicina que puede tomar varias semanas o meses. Los cambios neuroquímicos e histoquímicos de la administración sistémica de capsaicina a ratas adultas, son cualitativamente similares a los observados en ratas tratadas en la

etapa neonatal, solamente la extensión y reversibilidad de los efectos neurotóxicos puede variar. Los marcadores peptídicos, tales como la sustancia P, son depletados de forma permanente en algunos casos, pero en otros se presenta una recuperación total o parcial. Así, cuando en ratas adultas se administra una dosis de capsaicina de  $125 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , la sustancia P es depletada en el nervio safeno y el ganglio de la raíz dorsal, y al cabo de cuatro meses después del tratamiento las concentraciones del péptido se recuperan. Mientras que, la recuperación del péptido en la córnea, nervio vago, cordón espinal dorsal y tallo cerebral, sólo es parcial aún después de nueve meses de haber finalizado el tratamiento (Holzer, 1991).

En cuanto a los cambios funcionales, se presenta una reducción en la proporción de fibras nociceptoras polimodales tipo C, en el nervio safeno de estas ratas la termonocicepción es deteriorada sólo parcialmente, mientras que la quimionocicepción se reduce a largo plazo y la mecanocicepción es facilitada, inhibida o permanece sin cambio (Holzer, 1991).

La administración intratecal de 100 a 125  $\mu\text{g}$  de capsaicina en ratas adultas trae consigo resultados semejantes a los observados en ratas tratadas en la etapa neonatal, con la diferencia de que el despliegue de la conducta sexual de la rata hembra no presenta alteración, en contraste con lo ocurrido con la rata tratada neonatalmente (Nance y col., 1987).

### **PUBERTAD EN LA RATA.**

En la rata se da la diferenciación sexual del encéfalo durante el nacimiento, inducida por la presencia o ausencia de testosterona testicular. En la rata hembra, la apertura vaginal es el único signo externo que marca el comienzo de la pubertad y por tanto, de la vida reproductiva del animal, esta etapa comienza entre los días 35 a 40 de vida. Simultáneamente a los cambios anatómicos, se producen variaciones a nivel hormonal, que facilitan la canalización de la vagina y el inicio de los ciclos vaginales. En algunas cepas de rata, el primer frotis corresponde a un diestro y es alrededor de las 48 horas que se presenta el estro vaginal y la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Las etapas previas a la pubertad están caracterizadas por cambios neuroendócrinos, además de un rápido aumento de peso y talla corporal. Con base en parámetros morfofisiológicos del eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónadas, Ojeda y col. (1980) proponen clasificar este periodo en cuatro fases o etapas:

**Etapla neonatal** (desde el nacimiento hasta el séptimo día de vida): Esta etapa se caracteriza por el inicio del crecimiento folicular independiente de las gonadotropinas, al no existir aun receptores para las mismas (Peter, 1970). En el quinto día la síntesis de estradiol, a partir de testosterona, es estimulada por la FSH. En el torrente sanguíneo se encuentra en grandes cantidades la  $\alpha$ -feto proteína, la cual inactiva biológicamente a los estrógenos, por lo que no se establece aún el efecto de retroalimentación negativa para regular la secreción de gonadotropinas (Raynau, 1973, en Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). El ovario presenta una respuesta esteroideogénica a las gonadotropinas al finalizar esta etapa (Lamprecht y col., 1976, en Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). Las concentraciones de FSH aumentan y las de la hormona luteinizante (LH) se mantienen bajas (Dohler y Wuttke, 1974).

**Etapla infantil** (del día 8 al 21 de vida): En esta etapa se presentan altas concentraciones plasmáticas de FSH, necesarias para el reclutamiento y crecimiento de los folículos. De igual manera se presentan "picos" esporádicos de LH (Dohler y Wuttke, 1974). Después del día 15 disminuyen las concentraciones de FSH y desaparecen los "picos" de LH y se hace más eficiente la participación del estradiol en la síntesis y liberación de las gonadotropinas, ante la disminución de la  $\alpha$ -feto proteína (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

**Etapla juvenil** (del día 22 al 32 de vida): Al inicio de esta etapa las concentraciones de LH son bajas, pero tienden a aumentar y su secreción se da en forma pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981). Hacia el final de esta etapa se establece un ritmo de secreción circadiano de la LH, ya que sus concentraciones y la amplitud de sus pulsos aumentan diariamente durante la tarde. Sinérgicamente, en el ovario se da una mayor esteroideogénesis, bajo la influencia de la LH y el aumento de la cantidad de receptores a la misma. En cambio, las concentraciones plasmáticas de FSH permanecen bajas (Smith-White y Ojeda, 1981).

**Etapla peripuberal** (después del día 33 hasta la primera ovulación). Aquí el patrón circadiano de la LH es bien definido. La secreción de prolactina es semejante a la de LH: concentración baja durante la mañana con "picos" vespertinos cada día (Kimura y Kawakami, 1981).

En esta etapa, se presenta la máxima respuesta esteroidogénica del ovario, ya que aquí se da el mayor número de receptores a FSH y LH, lo que origina el aumento de las concentraciones de estradiol, progesterona y testosterona (Ojeda y Urbanski, 1988). El incremento de estas hormonas finalmente actúa sobre el hipotálamo, el cual secreta la LHRH, con el consecuente pico preovulatorio de FSH y LH que culmina con la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990)

### **HIPERTROFIA COMPENSADORA.**

La remoción de un ovario trae consigo una amplia gama de respuestas fisiológicas en el organismo, ya que se sabe que la extirpación de una gónada (hemicastración) es seguida por un fenómeno conocido como hipertrofia compensadora de la gónada *in situ*, la cual aumenta de tamaño y mantiene su función a un nivel equivalente a cuando se encontraban las dos gónadas (Edgren y col., 1965; Burden y Lawrence, 1977; Burden y col., 1986). Farookh y col. (1985), reportan que la hemiovariectomía puede restaurar la ciclicidad en ratas que presentan ovarios poliquísticos por la administración de valerato de estradiol, si bien la respuesta compensadora ovárica se ve reducida.

Por otra parte, se ha reportado que en ratas hemiovariectomizadas, el número de folículos en crecimiento aumenta (Meredith y Butcher, 1985), el número de cuerpos lúteos y de ovocitos liberados es casi el doble que en las ratas intactas (Edgren y col., 1965; Burden y Lawrence, 1977; King y col., 1995). Después de la hemiovariectomía, se produce un incremento en la concentración de progesterona (que podría ser debido al estrés quirúrgico) (Farookh y col., 1985) y de gonadotropinas circulantes. Se ha propuesto que el incremento de FSH y LH puede ser provocado por la disminución en la concentración de hormonas ováricas, que activaría la liberación extra de gonadotropinas por retroalimentación negativa (Edgren y col., 1965). Otra opción es que, al haber sólo un ovario sobre el cual actuarían las gonadotropinas, el resto de las hormonas permanecería sin ser utilizado creando un excedente, o ambas propuestas (Labhsetwar, 1967). Otra hipótesis plantea que el incremento puede deberse a la reducción en el feedback de la inhibina sobre la FSH (Meredith y Butcher, 1985; King y col., 1995).

Por otra parte, el crecimiento del ovario remanente puede ser debido a una hipersensibilidad ovárica a las gonadotropinas (Edgren y col., 1965), o bien por un mecanismo neural reflejo (Gerendai y col., 1978a). El incremento de folículos maduros que ovulan puede ser debido un incremento en la proliferación de folículos pequeños más

que a un descenso en la atresia folicular y por tanto habría un incremento en el número de cuerpos lúteos, que a su vez produciría el aumento en el peso y volumen ováricos (Peppier y Greenwald, 1970, en Burden y col., 1986; Edgren y col., 1965).

Recientemente, se ha sugerido que la hipertrofia compensadora ovárica podría ser modulada por mecanismos neuroendócrinos y no solamente por influencia hormonal (Burden y Lawrence, 1977; Gerendai y col., 1978a; Gerendai y Halasz, 1981; Nance y col., 1984; Burden y col., 1986; Nance y col., 1987; Gerendai y Halasz, 1997). Esta afirmación es apoyada por resultados obtenidos con otras glándulas pareadas, tal es el caso cuando se efectúa una adrenalectomía unilateral, donde se puede suprimir la hipertrofia compensadora si se realiza una hemitransección del cordón espinal (Engeland y Dallman, 1976, en Gerendai y Halasz, 1981).

En cuanto a la participación de los componentes neuroendócrinos en la hipertrofia compensadora ovárica, se tiene que esta es inhibida cuando se realiza una vagotomía abdominal (Burden y Lawrence, 1977). De manera similar, se puede bloquear la hipertrofia compensadora ovárica en ratas hemicastradas prepúberes si se les efectúa una lesión unilateral hipotalámica, por la administración de ácido cainico, localizada ipsilateralmente con respecto a la hemiovariectomía (Gerendai y Halasz, 1981; Nance y col., 1984). Igualmente es posible evitar la aparición de la respuesta compensatoria ovárica, si se lesiona bilateralmente el núcleo amigdalóide cortical, pero sólo en ratas adultas, ya que en ratas prepúberes la lesión no altera el crecimiento compensatorio ovárico (Bao y Docke, 1977, en Gerendai y col., 1995). Otro aporte es el descubrimiento de que cuando se administra 6-OHDA (agente neurotóxico que destruye las fibras nerviosas adrenérgicas) en el ovario, se consiguen cambios compensatorios similares a los obtenidos con una hemiovariectomía (Burden y Lawrence, 1977; Gerendai y col., 1978a).

También, se ha mostrado que después de la hemicastración se produce un incremento en la síntesis de proteínas en el núcleo arcuato del hipotálamo contralateral a la operación, sin cambios del lado ipsilateral (Gerendai y Halasz, 1981) y en la rata prepúber la deaferentación izquierda del hipotálamo reduce el grado de crecimiento compensador del ovario (Nance y col., 1983), mientras que en ratas adultas la lesión del lado derecho del hipotálamo anterior suprime la hipertrofia compensadora ovárica sin importar el lado de la operación (Fukuda y col., 1984, en Gerendai y col., 1995).

De igual forma, al lesionar el lado derecho del lóbulo temporal en ratas adultas se reduce la hipertrofia compensadora ovárica sin importar el lado de la hemicastración, este

efecto no se observa en ratas pre- o postpúberes, mientras que en machos, el efecto supresor de la deaferentación depende del lado de la lesión, de la edad y del lado de la hemigonadectomía (Gerendai y col., 1995).

De tal forma que, cuando se destruyen unilateralmente las vías neurales aferentes y eferentes del ovario, por medios mecánicos o químicos, y por tanto se interrumpe la comunicación nerviosa entre la gónada y el SNC, se estimula la respuesta compensatoria del ovario contralateral, mientras que en el animal hemicastrado, la eliminación de las vías neurales simpáticas inhibe la hipertrofia compensadora (Gerendai y col., 1978a; Gerendai y Halasz, 1981). En función de las observaciones mencionadas anteriormente, se sugiere que además del mecanismo de regulación endócrino, puede existir una conexión neural directa entre el SNC y el ovario.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La modulación de la función ovárica se encuentra regulada tanto por componentes endócrinos como neurales. Los elementos neurales están representados por la inervación simpática y la sensorial. Se ha postulado que las fibras aferentes al ovario (sensoriales) se encargan de llevar información hacia el Sistema Nervioso Central, con lo que éste a través de sus secreciones participa en la modulación y regulación del crecimiento folicular y la ovulación.

En la actualidad se han sumado las evidencias que hacen patente que el desarrollo del folículo ovárico, la hipertrofia compensadora y la primera ovulación (inicio de la pubertad) son regulados por componentes neurales, entre ellos la información simpática que llega al ovario. Sin embargo, existen algunos reportes que llevan a pensar que la inervación sensorial también tiene un papel importante en el desarrollo de las funciones ováricas.

Se sabe que la inervación simpática que llega al ovario interviene directamente en el desarrollo folicular y la esteroidogénesis, pero existe poca información sobre la participación de la inervación sensorial en el funcionamiento del ovario. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio, muestran que la participación de la inervación sensorial en el inicio de la pubertad depende de la edad del animal en estudio.

Es bien sabido que en las glándulas pares, como es el caso de los ovarios, la extirpación de una de ellas induce hipersensibilidad de la glándula *in situ* al medio neuroendocrino. La intensidad de la respuesta depende de la edad en la que se realiza la cirugía, ya que se ha reportado que en la rata prepúber, la hipertrofia compensadora es mayor si el animal es hemicastrado a los 20 ó 28 días de vida.

Es probable que las respuestas que se observan en el modelo del animal hemicastrado sean mediadas por la inervación sensorial, por lo que en el presente trabajo se estudió la participación de la información que es transportada del ovario al SNC, en los mecanismos que regulan el inicio de la pubertad y el desarrollo de la hipertrofia compensadora del ovario, utilizando como modelo experimental a la rata hembra hemicastrada al final de la etapa infantil o juvenil.

## **HIPÓTESIS.**

En la rata hembra la inervación sensorial, aportada por el plexo ovárico y el nervio vago, participa de manera estimuladora en los procesos neuroendócrinos que culminan con la pubertad, cuando están presentes ambos ovarios. Por lo que en la rata hemicastrada, previamente denervada por la administración de capsaicina, se producirá disminución en la capacidad esteroidogénica del ovario remanente, retraso en el inicio de la pubertad y alteraciones tanto en la ovulación como en la hipertrofia compensadora. La respuesta dependerá de la gónada *in situ* y de la edad en la cual se realice la hemiovariectomía.

## **OBJETIVO GENERAL.**

- Analizar en la rata con denervación sensorial al nacimiento, inducida por la administración de capsaicina, el efecto de la hemicastración realizada a los 20 ó 28 días de edad sobre el inicio de la pubertad, la hipertrofia ovárica y la secreción de hormonas esteroides ováricas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES.**

- Analizar los efectos de la denervación sensorial realizada al nacimiento, sobre el inicio de la pubertad (edad de canalización vaginal) en ratas hemicastradas a los 20 ó 28 días de vida.

- Analizar los efectos de la denervación sensorial realizada al nacimiento, sobre la hipertrofia y ovulación compensadora del ovario en ratas hemicastradas a los 20 ó 28 días de vida.

- Estudiar los efectos de la denervación sensorial realizada al nacimiento, sobre las concentraciones séricas de progesterona, testosterona y 17 $\beta$ -estradiol en ratas hemicastradas a los 20 ó 28 días de vida.

- Estudiar los efectos de la denervación sensorial realizada al nacimiento, sobre las concentraciones séricas de gonadotropinas (LH y FSH) en ratas hemicastradas a los 20 ó 28 días de vida.



## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

Se utilizaron ratas hembra recién nacidas de la cepa CII-ZV, 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.), temperatura de  $22 \pm 2$  °C. En el día del nacimiento (día cero), las crías fueron sexadas y colocadas en camadas de 6 individuos (5 hembras y un macho) (Salas y col., 1991). Se formaron dos grupos experimentales, los cuales fueron inyectados al nacimiento (entre las 11:00 y las 13:00 hrs.) con capsaicina (Cap-n) o el vehículo (Vh-n).

### **Administración de capsaicina al nacimiento (Cap-n).**

Un grupo de animales fue tratado con capsaicina el día cero (nacimiento); para esto se procedió a inyectar (subcutáneamente) a las crías una dosis única de  $50 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$  del fármaco, en un volumen equivalente a  $10 \mu\text{l}$  por cada gramo de peso corporal. La capsaicina fue preparada disolviendo el fármaco en una solución que consta de 10% de etanol absoluto, 10% de Tween-80 y 80% de solución salina al 0.9%.

### **Administración de vehículo al nacimiento (Vh-n).**

El vehículo fue la solución utilizada para disolver la capsaicina (10% de etanol absoluto, 10% de Tween-80 y 80% de solución salina al 0.9%), y se inyectó en el mismo volumen utilizado para el grupo anterior.

Las ratas permanecieron con la madre hasta que fueron destetadas, esto es, hasta los 21 días de vida y a partir de entonces tuvieron libre acceso al agua y alimento. Todos los animales fueron pesados cada 7 días a partir del nacimiento, esto con el fin de determinar el incremento del peso corporal. Posteriormente se procedió a realizar la hemicastriación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o la operación simulada (OS) a los 20 ó 28 días de vida.

### **Hemicastración izquierda o derecha (HC1zq y HCDer).**

Después de anestésiar a los animales con éter, se procedió a realizar lateralmente una incisión longitudinal en la piel y el músculo, de aproximadamente 0.8 cm de largo, a través de la cual se extrajo el ovario unido al útero, posteriormente se procedió a seccionar el ovario izquierdo o derecho y el útero fue regresado a la cavidad abdominal y se suturó la herida.

### **Operación simulada (OS) o laparotomía.**

Una vez anestesiados los animales se procedió a realizar una laparotomía, la cual consistió en realizar una incisión de piel y músculo, sin tocar algún órgano se procedió a suturar la herida.

Todas las cirugías se realizaron entre las 09:00 y las 12:00, se registró el peso corporal de cada animal y fueron marcados en las orejas antes de comenzar la operación. Después de la cirugía, los organismos fueron devueltos a sus jaulas.

Considerando datos previos de nuestro laboratorio, se revisó diariamente la canalización de la vagina a partir del día 30 de vida en todas las ratas utilizadas, como un indicador del inicio de la pubertad. Una vez ocurrida la apertura vaginal espontánea, se procedió a realizar frotis vaginales, para determinar la etapa del ciclo estral. Todos los animales fueron sacrificados en el día del primer esto vaginal.

### **Procedimiento de autopsia.**

Al primer esto vaginal se registró el peso corporal de cada animal y se sacrificaron por decapitación entre las 11:00 y las 13:00 hrs. Se colectó la sangre del tronco y se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos para que se coagulara, después de este tiempo, las muestras fueron colocadas en una centrifuga clínica y se centrifugó a 3500 r.p.m. durante 15 minutos. Se separó el suero del botón celular, se le depositó en tubos eppendorf y se refrigeró a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la cuantificación de hormonas esteroideas (progesterona, testosterona y  $17\beta$ -estradiol) y gonadotrópicas (FSH y LH). Se disecaron los oviductos para detectar la presencia de ovocitos, siguiendo la metodología habitual de laboratorio (Morales y col., 1998). De igual forma, se disecaron y pesaron por separado los ovarios, útero, adrenales y timo.

### **Cuantificación de hormonas esteroides y gonadotrópicas.**

Las hormonas esteroides fueron cuantificadas por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, mediante reactivos comerciales (Coat-A-Count). En tubos de polipropileno (que ya contienen el anticuerpo específico: anti-progesterona- $I^{125}$ , anti-testosterona- $I^{125}$  o anti-estradiol- $I^{125}$ ), se adicionó la muestra problema (100  $\mu$ l) y 1 ml de la hormona radioactiva ( $I^{125}$ ), para cada hormona. Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante 1 minuto y se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la muestra fue decantada, se removió el exceso de líquido y se determinó la concentración de hormona en la muestra problema con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard <sup>TM</sup>, en función de las cuentas por minuto y una curva de calibración.

Para la cuantificación de las hormonas gonadotrópicas se utilizó el RIA de doble anticuerpo. Se procedió de la siguiente forma: a 100  $\mu$ l de suero problema, se le añadieron 100  $\mu$ l de hormona marcada con  $I^{125}$ , posteriormente se le adicionó el anticuerpo de suero de borrego para LH (rLH-RP2) o para FSH (rFSH-RP2). Después, se incubaron a temperatura ambiente por 24 hrs. A continuación, se agregaron 100  $\mu$ l del segundo anticuerpo (suero normal de conejo) y se incubaron durante 2 hrs., posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 r.p.m. a -4 °C por 30 min, el sobrenadante fue decantado, se secaron las paredes de cada tubo y se colocaron, para ser analizadas, en un contador de centelleo gamma modelo Cobra 5005, Packard <sup>TM</sup>.

La cuantificación hormonal se realizó en el Laboratorio de Hormonas Proteicas y en el Laboratorio de Hormonas Esteroides del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán".

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

La tasa de animales ovulantes se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de animales ovulantes} = \frac{\text{número de animales que ovulan}}{\text{número total de animales}}$$

### **Porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario.**

En los animales hemicastrados, el porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario (HCO) se calculó a partir de la siguiente fórmula (Chávez y Domínguez, 1994):

$$\% \text{ HCO} = \frac{\text{A} - \text{B}}{\text{B}} \times 100$$

Donde: A = Peso del ovario *in situ*.

B = Peso que habría alcanzado el ovario al primer estro.

### **Porcentaje de ovulación compensadora.**

En los animales hemicastrados, la ovulación compensadora (OC) se calculó a partir de la siguiente fórmula (Chávez y Domínguez, 1994):

$$\% \text{ OC} = \frac{\text{A} - \text{B}}{\text{B}} \times 100$$

Donde: A = Número de ovocitos liberados por el ovario *in situ*.

B = Número de ovocitos que habría liberado el ovario al primer estro.

Como la hemicastración se realizó en animales prepúberes, el peso y el número de ovocitos liberados por el ovario se obtuvo a partir de los animales tratados con vehículo o capsaicina y sometidos a operación simulada (Vh-n + OS o Cap-n + OS, respectivamente) y sacrificados al primer estro.

### **Análisis estadístico.**

Los resultados de la edad de la apertura vaginal, del número de ovocitos liberados, el porcentaje de hipertrofia compensadora ovárica y de la ovulación compensadora fueron analizados por la prueba Kruskal-Wallis seguida por la prueba de "U" de Mann-Whitney. El peso corporal, el de los órganos, la concentración sérica de hormonas esteroideas y de las gonadotrópicas fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA), seguida por la prueba de Tukey. La variación del peso corporal, el periodo de tiempo entre la apertura vaginal y el primer estro fueron analizados por la prueba de *t-Student*. La tasa de animales ovulantes se analizó por la prueba de Fisher. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue menor o igual a 0.05.

## RESULTADOS

De los parámetros evaluados en este trabajo, se realizó una comparación entre animales intactos (TA) sacrificados en el día del primer estro vaginal y los animales inyectados con el vehículo al nacimiento y sometidos a una operación simulada a los 20 ó 28 días de vida. Como se observa en la tabla 1, la operación simulada no provocó alteraciones en las determinaciones realizadas, con respecto al grupo de animales tratados con vehículo, excepto en la concentración de 17  $\beta$ -estradiol donde en el grupo con operación simulada realizada a los 20 días se incrementa. Por ello se decidió utilizar a las hembras tratadas con vehículo como grupo de comparación.

Tabla 1. Media  $\pm$  eem de la edad de apertura vaginal, de la edad del primer estro vaginal, del número total de ovocitos liberados, del peso corporal, de la masa ovárica, del peso del útero, de las concentraciones séricas de progesterona y de 17  $\beta$ -estradiol de animales testigo absoluto (TA) y de animales tratados con vehículo al nacimiento (Vh-n) y con laparotomía (OS) a los 20 ó 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

PARAMETRO	TA	Vh-n + OS20d	Vh-n + OS28d
Edad de apertura vaginal	40.30 $\pm$ 0.60	40.50 $\pm$ 1.36	39.13 $\pm$ 1.19
Primer estro vaginal $\star$	0.78 $\pm$ 0.26	1.50 $\pm$ 0.96	0.57 $\pm$ 0.37
Número total de ovocitos liberados	8.00 $\pm$ 0.40	7.40 $\pm$ 1.40	6.88 $\pm$ 0.88
Peso corporal	116.70 $\pm$ 3.00	124.24 $\pm$ 4.83	118.02 $\pm$ 3.71
Masa ovárica	32.20 $\pm$ 3.70	29.44 $\pm$ 2.42	37.64 $\pm$ 0.92
Peso del útero	157.30 $\pm$ 8.90	162.36 $\pm$ 15.95	138.05 $\pm$ 7.16
Progesterona	5.40 $\pm$ 1.10	3.74 $\pm$ 0.71	5.75 $\pm$ 1.08
17 $\beta$ -estradiol	20.30 $\pm$ 1.50	36.67 $\pm$ 6.77*	23.04 $\pm$ 2.17

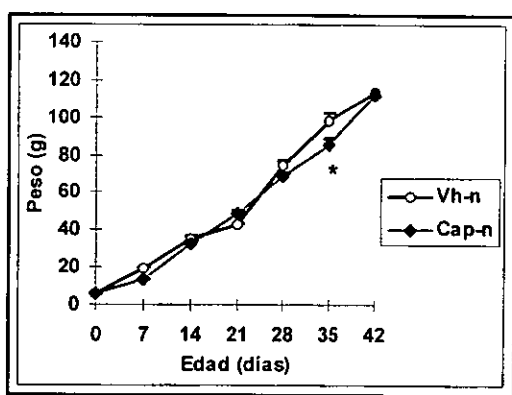
$\star$  Días posteriores a la apertura vaginal.

\*  $p < 0.05$  vs. TA, prueba de ANDEVA.

## HEMICASTRACIÓN A LOS 20 DÍAS.

### Variación del peso corporal.

Dado que el peso corporal de los animales inyectados al nacimiento con vehículo o capsaicina no se modificó por la hemicastración, se agrupó en un sólo bloque a los animales denervados (Cap-n+HClzq, Cap-n+HCDer y Cap-n+OS) y en otro a los tratados con el vehículo (Vh-n+HClzQ, Vh-n+HCDer y Vh-n +OS). La variación del peso corporal a través del tiempo en las hembras tratadas al nacimiento con el vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) está representada en la gráfica 1. Aquí se encontró una disminución del peso corporal en las hembras denervadas a partir de los 28 días, pero sólo a la edad de 35 días el descenso fue significativo.



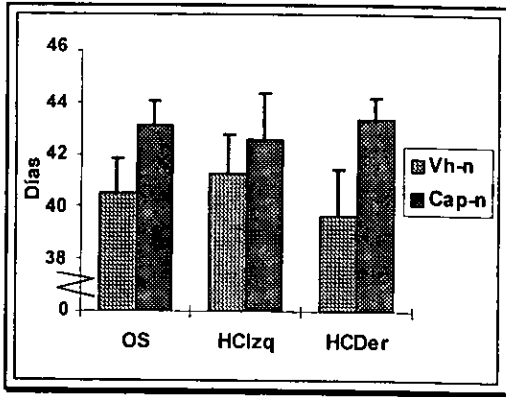
\*  $p < 0.05$  vs. Vh-n, prueba de *t-Student*.

Gráfica 1.- Variación del peso corporal a través del tiempo en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

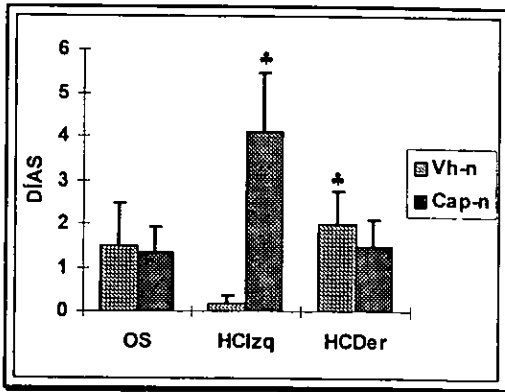
### Edad de apertura (EAV) y del primer estro vaginal (EPEV).

En las hembras tratadas al nacimiento con vehículo o capsaicina la hemicastración izquierda o derecha no modificó la edad de la apertura vaginal (Gráfica 2). El grupo de hembras denervadas y con hemicastración del ovario izquierdo tardaron significativamente más días en presentar el primer estro que su grupo de comparación. Este efecto no se observó cuando el ovario que se extirpó fue el derecho. Además, se

observó diferencia significativa al comparar los animales tratados con el vehículo y hemicastros del lado izquierdo contra los del lado derecho (Gráfica 3).



Gráfica 2. Media ± eem de la edad de apertura vaginal de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastros izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.



\*  $p < 0.05$  vs. Vh-n+HClzq, prueba de *t-Student*.

Gráfica 3. Media ± eem del periodo en días entre la apertura vaginal y la aparición del primer estro vaginal de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastros izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

### Proporción de Animales Ovulantes y Número Total de Ovocitos Liberados.

La proporción de animales ovulantes no fue afectada por la hemicastración o la operación simulada en animales con denervación sensorial. En las hembras tratadas con vehículo el número de ovocitos liberados por el ovario derecho fue mayor que los liberados por el izquierdo, cuando estos animales fueron hemicastrados la cuota ovulatoria por parte del ovario remanente fue similar al registrado por ambos ovarios del grupo tratado con vehículo.

En las hembras tratadas con capsaicina y hemicastradas del lado izquierdo o derecho, se produjo un incremento significativo en el número total de ovocitos liberados por parte del ovario remanente. Sólo cuando el ovario *in situ* fue el derecho la ovulación fue mayor respecto al grupo denervado con laparotomía (Tabla 2).

Tabla 2. Proporción de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales), para el ovario izquierdo (OI), ovario derecho (OD) o para ambos (Total) y media  $\pm$  eem del número total de ovocitos liberados de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES			NÚMERO TOTAL DE OVOCITOS LIBERADOS		
	OI	OD	TOTAL	OI	OD	TOTAL
Vh-n+OS	3/8	5/8	5/8	2.20 $\pm$ 1.02	5.20 $\pm$ 0.58	7.40 $\pm$ 1.40
Vh-n+HClzq		6/10			8.33 $\pm$ 0.67 $\star$	
Vh-n+HCDer	3/9			8.33 $\pm$ 0.88 $\star$		
Cap-nac+OS	9/14	10/14	12/14	3.25 $\pm$ 0.71	3.67 $\pm$ 0.67	6.92 $\pm$ 0.92
Cap-n+HClzq		7/8			9.29 $\pm$ 0.29 $\diamond$ $\odot$	
Cap-n+HCDer	9/12			7.78 $\pm$ 0.66 $\star$ $\odot$		

$\star$   $p < 0.05$  vs. Vh-n+OS mismo ovario, prueba de Kruskal-Wallis seguida por "U" de Mann-Whitney

$\odot$   $p < 0.05$  vs. Cap-n+OS mismo ovario, prueba de Kruskal-Wallis seguida por "U" de Mann-Whitney

$\diamond$   $p < 0.05$  vs. Cap-n+OS ambos ovarios, prueba de *t-Student*.



### Porcentaje de Ovulación Compensadora (OC).

El porcentaje de ovulación compensadora en los animales inyectados con el vehículo y hemicastrados del ovario derecho fue mayor vs. los del lado izquierdo. En las hembras denervadas y hemicastradas del ovario derecho la ovulación compensadora disminuyó en aproximadamente un 50% con respecto a las hembras tratadas con el vehículo y hemiovariectomizadas del mismo lado. En las hembras denervadas y hemicastradas del ovario izquierdo se presentó un incremento significativo de la ovulación compensadora, comparado contra las hembras tratadas con el vehículo y hemicastradas del mismo lado (Tabla 3).

### Porcentaje de Hipertrofia Compensadora Ovárica (HCO).

La hipertrofia compensadora ovárica se presentó tanto en el grupo tratado con capsaicina como en el inyectado con vehículo. El porcentaje de hipertrofia compensadora fue significativamente diferente entre las hembras hemicastradas del ovario izquierdo vs. las del lado derecho, independientemente de si fueron tratadas con capsaicina. En todos los grupos experimentales se registró la mayor ganancia del peso ovárico, cuando la gónada remanente fue la izquierda (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentaje de ovulación compensadora (%OC) y porcentaje de hipertrofia compensadora ovárica (%HCO) para el ovario izquierdo (OI) y el ovario derecho (OD) de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq) o derecha (HCDer) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	% OC (OVARIO <i>in situ</i> )		% HCO (OVARIO <i>in situ</i> )	
	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO
Vh-n+HClzq		60.3 ± 12.8		42.8 ± 7.4
Vh-n+HCDer	278.8 ± 40.1♣		83.8 ± 8.8♣	
Cap-n+HClzq		153.3 ± 7.8♣		49.3 ± 9.2
Cap-n+HCDer	139.3 ± 20.4♥		82.3 ± 10.8⊗	

♣ p < 0.05 vs. Vh-n+HClzq, prueba de "U" de Mann-Whitney.

♥ p < 0.05 vs. Vh-n+HCDer, prueba de "U" de Mann-Whitney.

⊗ p < 0.05 vs. Cap-n HClzq, prueba de "U" de Mann-Whitney.

### **Peso corporal (g)**

En las hembras tratadas con vehículo la hemicastración no modificó el peso corporal. Este mismo comportamiento se observó en los animales denervados (Tabla 4).

### **Peso de órganos (mg)**

#### **Ovario**

En las hembras hemicastradas del ovario izquierdo, tanto las inyectadas con vehículo como las tratadas con capsaicina, se observó un incremento significativo en el peso absoluto del ovario *in situ*, comparado con los grupos con operación simulada (Tabla 4), cuando los resultados se expresaron en función del peso corporal este aumento sólo se mantuvo para los animales tratados con capsaicina (Cap-n+HClzq  $18.58 \pm 0.85$  vs. Vh-n+OS  $12.63 \pm 1.44$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey) (Vh-n+HClzq  $16.96 \pm 0.92$  vs. Vh-n+OS  $12.63 \pm 1.44$ , NS). Las hembras con hemicastración derecha, tanto las inyectadas con vehículo o con capsaicina, mostraron incremento significativo en el peso absoluto del ovario *in situ*, comparado con los grupos con laparotomía (Tabla 4), que se mantuvo aún si se expresaron los resultados en peso relativo (Vh-n+HCDer  $22.51 \pm 1.55$  vs. Vh-n+OS  $12.52 \pm 1.23$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey) (Cap-n+HClzq  $24.19 \pm 1.20$  vs. Vh-n+OS  $12.52 \pm 1.23$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey). Pero, el incremento fue significativamente diferente entre las hembras tratadas con vehículo o capsaicina y con hemicastración izquierda vs. las de hemicastración derecha, tanto si los resultados se expresaron en peso absoluto como relativo. El menor incremento en el peso del ovario se encontró en los animales con hemicastración izquierda contra hemicastradas del lado derecho, independientemente de si se administró vehículo o capsaicina (Tabla 4).

#### **Masa ovárica.**

El peso absoluto de la masa ovárica no fue alterado por la denervación sensorial (Cap-n+OS  $27.92 \pm 1.36$  vs. Vh-n+OS  $29.44 \pm 2.42$ , NS), este resultado se mantuvo al ser expresado en peso relativo (Cap-n+OS  $22.77 \pm 1.04$  vs. Vh-n+OS  $24.56 \pm 2.67$ , NS).

Tabla 4. Media  $\pm$  eem del peso corporal (en gramos) y del peso de órganos (en miligramos): para el ovario izquierdo (OI), el ovario derecho (OD) y el útero de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	PESO CORPORAL	OVARIO IZQUIERDO	OVARIO DERECHO
Vh-n+OS	121.24 $\pm$ 4.83	15.13 $\pm$ 1.38	15.10 $\pm$ 1.23
Vh-n+HClzq	129.23 $\pm$ 4.07		21.57 $\pm$ 1.11 $\star$
Vh-n+HCDer	125.00 $\pm$ 2.78	27.81 $\pm$ 1.33 $\star$ $\clubsuit$	
Cap-n+OS	123.99 $\pm$ 3.22	14.65 $\pm$ 0.60	13.57 $\pm$ 0.79
Cap-n+HClzq	119.33 $\pm$ 7.24		20.27 $\pm$ 1.24 $\ominus$
Cap-n+HCDer	116.85 $\pm$ 3.44	26.71 $\pm$ 1.58 $\ominus$ $\otimes$	

$\star$  p < 0.05 vs. Vh-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\clubsuit$  p < 0.05 vs. Vh-n+HClzq, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\ominus$  p < 0.05 vs. Cap-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\otimes$  p < 0.05 vs. Cap-n HClzq, prueba ANDEVA seguida por Tukey.

### Útero.

El peso del útero fue diferente en función del lado de la hemicastación. El peso en las hembras tratadas con vehículo y sometidas a hemicastación izquierda disminuyó significativamente (Tabla 5); el resultado fue similar cuando se expresó en función del peso corporal (Vh-n+HClzq 102.45  $\pm$  5.49 vs. Vh-n+OS 141.47  $\pm$  12.52, p < 0.05 prueba de ANDEVA seguida por Tukey). El peso del útero en el animal denervado y con hemicastación del lado izquierdo o derecho no presentó alteración con respecto a las hemicastadas inyectadas con el vehículo. En los animales inyectados con capsaicina y sometidos a laparotomía, el peso absoluto del útero no se modificó (Tabla 5), pero al expresar el resultado en función del peso relativo se encontró una disminución significativa (Cap-n+OS 109.41  $\pm$  5.60 vs. Vh-n+OS 141.47  $\pm$  12.52, p < 0.05 prueba de ANDEVA seguida por Tukey).

### Masa adrenal.

En las ratas inyectadas con vehículo y sometidas a hemicastación izquierda o derecha, el peso de la masa adrenal no fue afectado, este resultado no se modificó cuando se denervó al animal. El peso de las adrenales del grupo denervado y hemicastado del lado derecho, se incrementó significativamente comparado al grupo denervado con hemicastación izquierda (Tabla 5), la diferencia no se presentó cuando los resultados fueron expresados en peso relativo (Cap-n+HCDer  $26.86 \pm 1.36$  vs. Cap-n+HClzq  $23.90 \pm 0.99$ , NS).

### Timo.

En las hembras tratadas con vehículo o capsaicina la hemicastación no alteró el peso absoluto (Tabla 5) o relativo del timo.

Tabla 5. Media  $\pm$  eem del peso de órganos (en miligramos) para la masa adrenal, el timo y bazo de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) y con hemicastación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	UTERO	ADRENALES	TIMO
Vh-n+OS	162.36 $\pm$ 15.95	31.01 $\pm$ 2.19	326.10 $\pm$ 19.93
Vh-n+HClzq	124.45 $\pm$ 7.84 $\star$	28.84 $\pm$ 0.80	360.00 $\pm$ 10.94
Vh-n+HCDer	152.61 $\pm$ 13.21	29.10 $\pm$ 1.99	354.13 $\pm$ 18.45
Cap-nac+OS	136.14 $\pm$ 6.56	30.92 $\pm$ 0.97	369.08 $\pm$ 13.54
Cap-n+HClzq	130.57 $\pm$ 7.25	28.01 $\pm$ 1.44	362.81 $\pm$ 14.01
Cap-n+HCDer	166.56 $\pm$ 11.46 $\otimes$	34.58 $\pm$ 1.84 $\otimes$	344.10 $\pm$ 13.84

$\star$  p <0.05 vs. Vh-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\otimes$  p <0.05 vs. Cap-n HClzq, prueba ANDEVA seguida por Tukey.

## **Hormonas Esteroides.**

### **Progesterona (P<sub>4</sub>).**

Los resultados de la cuantificación sérica de progesterona (ng/ml) mostraron que la denervación sensorial no alteró la concentración de esta hormona en forma significativa en el animal sometido a laparotomía. Mientras que, al realizar la hemicastración izquierda al animal inyectado con vehículo, se produjo un incremento significativo en la concentración de progesterona circulante, pero dicho aumento no se presentó en el animal denervado. Al realizar la hemicastración derecha, tanto en las hembras inyectadas con vehículo como las tratadas con capsaicina se observó un incremento significativo en la concentración sérica de la hormona (Tabla 6).

### **Testosterona (T).**

Al comparar los resultados del análisis de la testosterona sérica (ng/ml), se encontró que la denervación sensorial no modificó la concentración sérica de la hormona. Tanto la hemicastración izquierda como la derecha, no ocasionaron alteración significativa en la concentración sérica de la hormona en animales inyectados con vehículo o denervados (Tabla 6).

### **17 β-estradiol (E<sub>2</sub>).**

Al evaluar los resultados de la cuantificación de 17 β-estradiol (pg/ml), se observó que la denervación no provocó alteración significativa en la concentración sérica de la hormona en el animal sometido a laparotomía. Mientras que, se encontró un descenso significativo al efectuar la hemicastración, tanto izquierda como derecha, para hembras con vehículo y denervadas comparado contra los animales con operación simulada. Por otra parte, en las hembras hemicastradas del lado izquierdo y tratadas con capsaicina el descenso en la concentración de la hormona fue significativamente menor que en el animal tratado con vehículo y hemicastrado del mismo lado (Tabla 6).

Tabla 6. Concentración sérica de hormonas esteroideas: testosterona (T), progesterona (P<sub>4</sub>) en ng/ml y 17 β-estradiol (E<sub>2</sub>) en pg/ml en animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	HORMONAS ESTEROIDES		
	P <sub>4</sub>	T	E <sub>2</sub>
Vh-n+OS	3.74 ± 0.71	0.087 ± 0.037	36.67 ± 6.77
Vh-n+HClzq	13.35 ± 3.31☆	0.054 ± 0.012	7.81 ± 0.72☆
Vh-n+HCDer	12.52 ± 1.84☆	0.080 ± 0.040	14.13 ± 1.94☆♣
Cap-n+OS	4.99 ± 0.56	0.033 ± 0.004	44.84 ± 8.51
Cap-n+HClzq	3.21 ± 0.22♣	0.043 ± 0.008	16.74 ± 2.56⊙♣
Cap-n+HCDer	13.16 ± 1.60⊙⊗	0.034 ± 0.007	11.32 ± 1.07⊙

☆ p < 0.05 vs. Vh-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

♣ p < 0.05 vs. Vh-n+HClzq, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

⊙ p < 0.05 vs. Cap-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

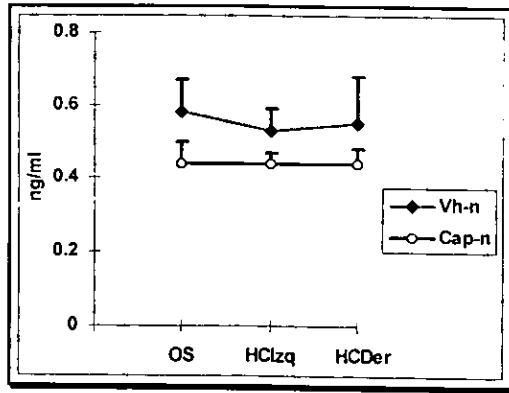
⊗ p < 0.05 vs. Cap-n HClzq, prueba ANDEVA seguida por Tukey.

#### Hormonas Proteicas (ng/ml).

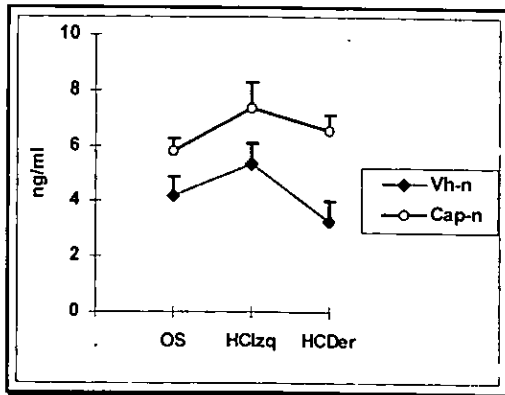
#### Hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del folículo (FSH).

Como se puede observar en las gráficas 4 y 5 las concentraciones de FSH y LH en el animal tratado con vehículo, son más bajas que las obtenidas en otras ocasiones por nuestro laboratorio, razón por la cual en este apartado sólo presentamos los resultados como tendencia del efecto de la denervación sobre las concentraciones de estas hormonas.

Cuando se evaluó la concentración en suero de la hormona luteinizante, en general, los resultados mostraron una tendencia a la uniformidad. En las hembras tratadas con vehículo o capsaicina, la concentración sérica de la hormona luteinizante no se modificó por efecto de la hemicastración (Gráfica 4). Mientras que en el caso de la concentración sérica de hormona estimulante del folículo se presentó la tendencia al incremento en el animal denervado y sometido a hemicastración derecha (Gráfica 5).



Gráfica 4. Concentración sérica (ng/ml) de hormona luteinizante en animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

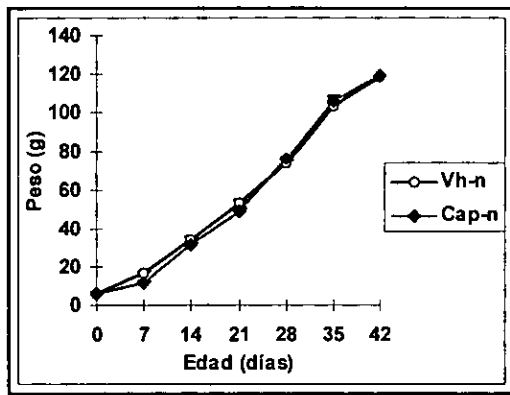


Gráfica 5. Concentración sérica (ng/ml) de hormona estimulante del folículo en animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 20 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

## HEMICASTRACIÓN A LOS 28 DÍAS.

### Variación del peso corporal.

Dado que el peso corporal de los animales inyectados con vehículo o capsaicina no se modificó por la hemicastración, se agrupó en un sólo bloque a los animales denervados (Cap-n+HCIZq, Cap-n+HCDer y Cap-n+OS) y en otro a los tratados con el vehículo (Vh-n+HCIZQ, Vh-n+HCDer y Vh-n+OS). La variación del peso corporal a través del tiempo en las hembras tratadas con el vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento está representada en la gráfica 6.

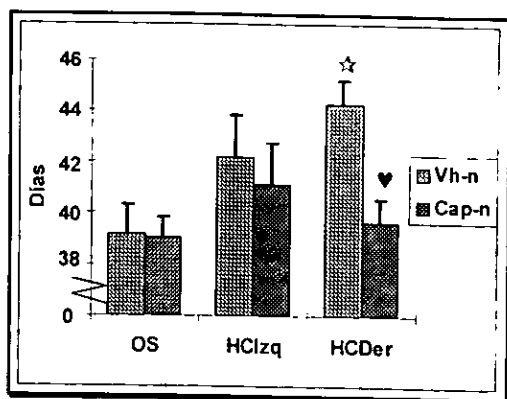


Gráfica 6.- Variación del peso corporal en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) y sacrificadas en el día del primer estro vaginal.

### Edad de Apertura Vaginal (EAV) y del Primer Estro (EPE).

La edad de la apertura vaginal tuvo un retraso significativo cuando se realizó la hemicastración derecha a hembras tratadas con vehículo, pero este efecto no se presentó cuando además de ser sometidos a la hemicastración, los animales fueron denervados al nacimiento por el tratamiento con capsaicina (Gráfica 7). La aparición del primer estro vaginal se retrasó significativamente en las hembras tratadas con vehículo y hemicastradas del lado izquierdo, este efecto no se presentó en el animal denervado y hemicastrado del mismo lado (Gráfica 8).

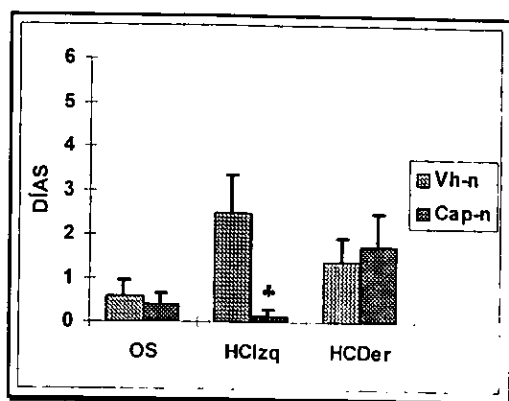




☆  $p < 0.05$  vs. Vh-n+OS, prueba de Kruskal-Wallis, seguida por "U" de Mann-Whitney.

♥  $p < 0.05$  vs. Vh-n+HCDer, prueba de Kruskal-Wallis, seguida por "U" de Mann-Whitney.

Gráfica 7. Media  $\pm$  eem de la edad de apertura vaginal de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.



\*  $p < 0.05$  vs. Vh-n+HClzq, prueba de *t-Student*.

Gráfica 8. Media  $\pm$  eem del periodo en días, entre la apertura vaginal y la aparición del primer estro vaginal de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

### Proporción de Animales Ovulantes y Número Total de Ovocitos Liberados.

La proporción de animales ovulantes no fue afectada de forma significativa por la hemicastación o la denervación sensorial. En las hembras tratadas con vehículo o capsaicina y hemicastradas del lado izquierdo o derecho, se produjo un incremento significativo en el número total de ovocitos liberados por parte del ovario remanente, excepto en el grupo tratado con capsaicina y hemicastrado del lado derecho donde la diferencia no resultó significativa. La cuota ovulatoria fue semejante al total de ovocitos liberados por el grupo con operación simulada (Tabla 7).

Tabla 7. Proporción de animales ovulantes (número de animales ovulantes/número total de animales), para el ovario izquierdo (OI), ovario derecho (OD) o para ambos (Total) y media  $\pm$  eem del número total de ovocitos liberados de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastación izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES			NÚMERO TOTAL DE OVOCITOS LIBERADOS		
	OI	OD	TOTAL	OI	OD	TOTAL
Vh-n+OS	8/9	5/9	8/9	4.13 $\pm$ 0.30	2.75 $\pm$ 0.96	6.88 $\pm$ 0.88
Vh-n+HClzq		8/10			7.63 $\pm$ 0.82 $\star$	
Vh-n+HCDer	5/10			8.80 $\pm$ 0.97 $\star$		
Cap-n+OS	5/6	6/6	6/6	3.50 $\pm$ 0.85	4.00 $\pm$ 0.68	7.50 $\pm$ 1.43
Cap-n+HClzq		5/8			7.60 $\pm$ 1.21 $\odot$	
Cap-n+HCDer	7/9			6.00 $\pm$ 1.05		

$\star$   $p < 0.05$  vs. Vh-n+OS mismo ovario, prueba de Kruskal-Wallis, seguida por "U" de Mann-Whitney.

$\odot$   $p < 0.05$  vs. Cap-n+OS mismo ovario, prueba de Kruskal-Wallis, seguida por "U" de Mann-Whitney.

### Porcentaje de Ovulación Compensadora (OC).

El porcentaje de ovulación compensadora en los animales inyectados con el vehículo y hemicastrados del ovario izquierdo fue similar vs. los del lado derecho. Este resultado no fue afectado por la denervación (Tabla 8).

### Porcentaje de Hipertrofia Compensadora Ovárica (HCO).

Tanto en el grupo tratado con capsaicina como en el de vehículo, se presentó el fenómeno de hipertrofia compensadora ovárica. En las hembras inyectadas con el vehículo, el porcentaje de hipertrofia compensadora fue significativamente mayor en las hembras hemicastradas del ovario derecho vs. las del lado izquierdo. En los animales denervados y hemicastrados del lado derecho, la ganancia en el peso ovárico fue significativamente mayor que en las hembras tratadas con el vehículo y hemicastradas del mismo lado (Tabla 8).

Tabla 8. Porcentaje de ovulación compensadora (OC) y porcentaje de hipertrofia compensadora ovárica (HCO) para el ovario izquierdo (OI) y el ovario derecho (OD) de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq) o derecha (HCDer) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	% OC (OVARIO <i>in situ</i> )		% HCO (OVARIO <i>in situ</i> )	
	IZQUIERDO	DERECHO	IZQUIERDO	DERECHO
Vh-n+HClzq		177.3 ± 29.9		49.7 ± 6.7
Vh-n+HCDer	113.3 ± 23.5		15.5 ± 4.7♣	
Cap-n+HClzq		90.0 ± 30.2		31.1 ± 9.4
Cap-n+HCDer	71.4 ± 29.9		48.3 ± 10.7♣	

♣ p < 0.05 vs. Vh-n+HClzq, "U" de Mann-Whitney.

♣ p < 0.05 vs. Vh-n+HCDer, "U" de Mann-Whitney.

### Peso corporal (g).

En el animal tratado al nacimiento con vehículo, se observó un incremento significativo en el peso corporal provocado por la hemicastración derecha, comparado con el animal con operación simulada. Dicho incremento no se presentó en el animal denervado con capsaicina al nacimiento y hemicastrado del mismo lado (Tabla 9).

## **Peso de órganos (mg).**

### **Ovario.**

En las hembras inyectadas con el vehículo y hemicastradas del ovario izquierdo se observó aumento significativo en el peso absoluto del ovario *in situ* (Tabla 9), que se mantuvo aún cuando se expresaron los resultados en función del peso corporal (Vh-n+HC1zq  $22.30 \pm 1.39$  vs. Vh-n+OS  $14.0 \pm 0.57$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey). Pero, el incremento ocasionado por la hemicastración izquierda, no fue observado cuando además de extirpar la gónada se denervó al nacimiento al animal, tanto para los registros del peso absoluto (Tabla 9) como del relativo (Cap-n+HC1zq  $15.0 \pm 0.95$  vs. Vh-n+OS  $14.04 \pm 0.57$  mismo ovario, NS).

En el grupo tratado con vehículo y hemicastrado del ovario derecho, si bien se registró aumento del peso absoluto de la gónada remanente no fue significativo (Tabla 9), efecto que se mantuvo cuando los resultados fueron expresados en peso relativo (Vh-n+HCDer  $17.71 \pm 1.25$  vs. Vh-n+OS  $16.16 \pm 1.32$ , NS). En las ratas denervadas y hemicastradas del ovario derecho se presentó aumento compensador significativo en el peso del ovario *in situ* (Tabla 9). Este resultado persistió cuando se expresaron los resultados en función del peso corporal (Cap-n+HCDer  $20.73 \pm 1.30$  vs. Vh-n+OS  $16.16 \pm 1.32$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey).

### **Masa ovárica.**

En el grupo denervado con capsaicina, se presentó una disminución significativa en el peso absoluto de la masa ovárica (Cap-n+OS  $28.13 \pm 1.70$  vs. Vh-n+OS  $37.64 \pm 0.92$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey), esta reducción persistió cuando el resultado se expresó en función del peso corporal (Cap-n+OS  $25.66 \pm 2.04$  vs. Vh-n+OS  $31.84 \pm 1.60$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey).

Tabla 9. Media  $\pm$  eem del peso corporal (g) y del peso de órganos (mg) para el ovario izquierdo, el ovario derecho y el útero de animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	PESO CORPORAL	OVARIO IZQUIERDO	OVARIO DERECHO
Vh-n+OS	117.39 $\pm$ 3.71	18.94 $\pm$ 0.85	16.96 $\pm$ 0.88
Vh-n+HClzq	118.02 $\pm$ 3.42		25.38 $\pm$ 1.13 $\star$
Vh-n+HCDer	131.73 $\pm$ 3.70 $\star\clubsuit$	21.87 $\pm$ 0.88	
Cap-n+OS	119.18 $\pm$ 5.26	16.54 $\pm$ 1.65	14.04 $\pm$ 1.34
Cap-n+HClzq	121.34 $\pm$ 3.75		18.40 $\pm$ 1.32 $\clubsuit$
Cap-n+HCDer	117.38 $\pm$ 1.73 $\clubsuit$	24.53 $\pm$ 1.77 $\odot$	

$\star$   $p < 0.05$  vs. Vh-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\clubsuit$   $p < 0.05$  vs. Vh-n+HClzq, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\spadesuit$   $p < 0.05$  vs. Vh-n+HCDer prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\odot$   $p < 0.05$  vs. Cap-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

### Útero.

En los animales tratados con el vehículo o capsaicina y con hemicastración izquierda o derecha no se alteró de forma significativa el peso absoluto del útero (Tabla 10). Lo mismo sucedió al evaluar el peso relativo.

### Masa adrenal.

En las hembras tratadas con vehículo o capsaicina y hemicastradas del lado izquierdo o derecho no se modificó el peso de la masa adrenal. Lo mismo sucedió cuando se evaluaron los resultados en función del peso corporal (Tabla 10).

## Timo.

Cuando los resultados del peso del timo fueron expresados en función del peso absoluto, no se observaron diferencias significativas ocasionadas por la denervación o la hemicastración (Tabla 10). Pero cuando se manejó el peso relativo, en el grupo tratado con vehículo, la hemicastración derecha provocó disminución significativa comparado con el grupo vehículo sometido a laparotomía (Vh-n+HCDer  $228.6 \pm 10.86$  vs. Vh-n+OS  $285.21 \pm 11.17$ ,  $p < 0.05$  prueba de ANDEVA seguida por Tukey). Pero dicho descenso no se presentó en el grupo tratado con capsaicina (Cap-n+HCDer  $289.7 \pm 15.74$  vs. Vh-n+OS  $285.21 \pm 11.17$ , NS).

Tabla 10. Media  $\pm$  eem del peso de órganos (mg) para la masa adrenal, el timo y bazo de animales tratados con Vehículo (Vh-n) o Capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	UTERO	ADRENALES	TIMO
Vh-n+OS	$138.05 \pm 7.16$	$26.90 \pm 1.53$	$341.25 \pm 13.17$
Vh-n+HClzq	$155.01 \pm 10.74$	$27.95 \pm 0.99$	$310.10 \pm 12.21$
Vh-n+HCDer	$146.87 \pm 6.24$	$29.94 \pm 1.85$	$307.76 \pm 14.78$
Cap-n+OS	$123.33 \pm 4.45$	$25.83 \pm 1.35$	$300.02 \pm 29.68$
Cap-n+HClzq	$144.23 \pm 7.89$	$27.60 \pm 1.36$	$325.42 \pm 3.68$
Cap-n+HCDer	$126.71 \pm 9.17$	$29.38 \pm 1.41$	$336.11 \pm 16.81$

## Hormonas Esteroides.

### Progesterona ( $P_4$ ).

Los resultados de la cuantificación sérica de progesterona (ng/ml), mostraron que al realizar la hemicastración derecha a las hembras tratadas con vehículo, se produjo un incremento significativo en la concentración de la hormona circulante, pero dicho aumento no fue observado en el animal denervado (Tabla 11).

### Testosterona (T).

En la cuantificación de testosterona sérica (ng/ml), no se encontraron diferencias significativas (Tabla 11).

### 17 $\beta$ -Estradiol (E<sub>2</sub>).

En el grupo denervado sometido a laparotomía, se observó un incremento significativo en la concentración sérica de estradiol (pg/ml). Por otra parte, las hembras inyectadas con vehículo y hemicastradas del lado izquierdo presentaron un aumento significativo en la concentración sérica de E<sub>2</sub>. Pero, este incremento no se presentó cuando se denervó al animal. Mientras que, al comparar las concentraciones de estradiol en el grupo denervado y hemicastrado del lado derecho contra el grupo denervado y sometido a laparotomía, se observó una disminución significativa (Tabla 11).

Tabla 11. Concentración sérica de hormonas esteroides: testosterona (T), progesterona (P<sub>4</sub>) en ng/ml y 17  $\beta$ -estradiol (E<sub>2</sub>) en pg/ml tratados con Vehículo (Vh-n) o Capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

GRUPO	HORMONAS ESTEROIDES:		
	P <sub>4</sub>	T	E <sub>2</sub>
Vh-n+OS	5.75 $\pm$ 1.08	0.026 $\pm$ 0.006	23.04 $\pm$ 2.17
Vh-n+HClzq	4.93 $\pm$ 0.85	0.017 $\pm$ 0.004	40.73 $\pm$ 5.33 $\star$
Vh-n+HCDer	10.15 $\pm$ 1.70 $\star\clubsuit$	0.046 $\pm$ 0.010	29.59 $\pm$ 5.44
Cap-n+OS	7.70 $\pm$ 1.91	0.035 $\pm$ 0.011	34.99 $\pm$ 2.73 $\star$
Cap-n+HClzq	6.39 $\pm$ 0.48	0.039 $\pm$ 0.010	29.98 $\pm$ 2.69
Cap-n+HCDer	3.99 $\pm$ 0.95 $\heartsuit$	0.025 $\pm$ 0.010	25.10 $\pm$ 1.68 $\odot$

$\star$  p<0.05 vs. Vh-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\clubsuit$  p < 0.05 vs. Vh-n+HClzq, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

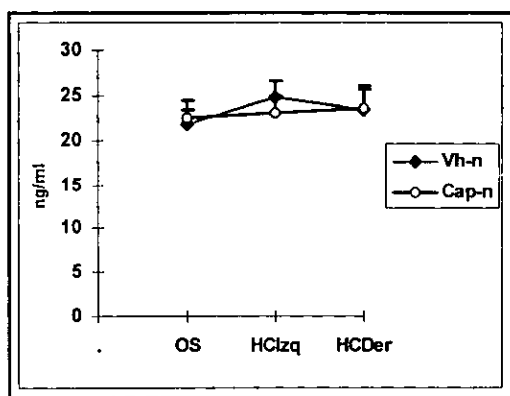
$\heartsuit$  p<0.05 vs. Vh-n+HCDer, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

$\odot$  p<0.05 vs. Cap-n+OS, prueba de ANDEVA seguida por Tukey.

## Hormonas Proteicas (ng/ml).

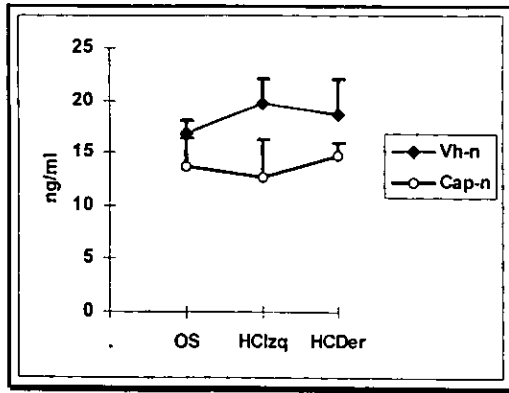
### Hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del foliculo (FSH).

Cuando se evaluó la concentración sérica de hormona luteinizante, en general, los resultados mostraron una tendencia a la uniformidad, si bien se observó disminución en las hembras tratadas con capsaicina. En las hembras tratadas con vehiculo o capsaicina, la concentración sérica de la hormona luteinizante no se modificó por efecto de la hemicastración (Gráfica 9). Este comportamiento se presentó también para la hormona estimulante del foliculo (Gráfica 10).



Gráfica 9. Concentración sérica (ng/ml) de hormona luteinizante (LH) en animales tratados con vehiculo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hemicastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.





Gráfica 10. Concentración sérica (en ng/ml) de hormona estimulante del folículo (FSH) en animales tratados con vehículo (Vh-n) o capsaicina (Cap-n) al nacimiento y con hembrastración izquierda (HClzq), derecha (HCDer) o laparotomía (OS) a los 28 días de edad y sacrificados en el día del primer estro vaginal.

## DISCUSIÓN.

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que en el animal prepúber hemicastrado la respuesta compensadora del ovario depende de la gónada *in situ* y de la edad en la que se realiza la hemiovariectomía. La participación de la inervación sensorial sobre la modulación de la hipertrofia compensadora es asimétrica y depende de la edad y el lado en que se realiza la hemiovariectomía. La información neural que es transportada por las fibras sensoriales participa en la modulación del inicio de la pubertad a través de la activación del sistema nervioso central.

En diferentes estudios se ha observado que la denervación sensorial inducida por la administración de capsaicina en los primeros tres días de vida, altera algunos aspectos conductuales y fenotípicos. En nuestro estudio, al igual que en el de Carrillo y col. (1994) y el de Razo (2000) encontramos que entre los 19 y 21 días de vida comienzan a aparecer lesiones en forma de ulceraciones en la piel (principalmente en cabeza, cuello y hombros), hirsutismo, pérdida del brillo de los ojos y una mayor frecuencia en la conducta de acicalamiento. Dado que el nervio trigémino, el cual presenta fibras que contienen SP (Gamse y col., 1981), inerva a nivel de la nariz, frente, mandíbula, cuero cabelludo y ojos (Brown, 1994), se postula que las lesiones en la piel son debidas al efecto neurotóxico de la capsaicina sobre las fibras sensoriales del tipo C y A $\delta$ .

Burks y col. (1985) proponen que la administración de capsaicina ocasiona la inhibición del transporte retrógrado de un factor neurotrófico, similar al NGF, esencial para la síntesis de SP, lo que al final ocasiona la depleción del neuropéptido y la muerte de las fibras C y A $\delta$  que lo contienen (Holzer 1991). Carrillo y col. (1994) proponen que éstas fibras sensoriales participan en un mecanismo de retroalimentación inhibitorio que regula la actividad motoneuronal durante el acicalamiento. En ausencia de este mecanismo de control por parte de las fibras sensoriales, la respuesta de acicalamiento podría ser más intensa o más frecuente de lo esperado, lo que resulta en el daño de la piel. Aunado a esto, se presenta una disminución en la capacidad del tejido para autorrepararse, debido a que son las neuronas sensoriales del trigémino las que ejercen un efecto trófico en los procesos de mantenimiento e integridad de la piel (Maggi y col., 1987).

Se ha reportado que en los animales denervados en la etapa neonatal con capsaicina disminuye el peso corporal, siendo más evidente la diferencia en los días previos a la apertura vaginal (Traurig y col., 1984; Carrillo y col., 1994; Morán y col., 2000; Razo, 2000). En el presente trabajo observamos que en los animales denervados al

nacimiento y hemicastrados al final de la etapa infantil (20 días), disminuye el peso corporal a los 35 días de edad y se normaliza al momento de la canalización de la vagina. Cuando la hemicastración se realiza a los 28 días de edad no se altera el peso corporal. Descartamos que la disminución en el peso corporal se deba a un mayor estrés, ya que Lembeck y Amann (1986) encontraron que en ratas pretratadas con capsaicina, no se incrementa la concentración de ACTH cuando los animales son sometidos a estrés por frío. El hecho de que en el animal denervado el peso del timo no disminuya apoyaría la idea de que no se produce incremento en la concentración de ACTH.

Se ha propuesto que el inicio de la pubertad se ve influido por procesos metabólicos relacionados con el peso y la talla del animal (Frisch, 1980; Traurig y col., 1984). De tal modo, Traurig y col. (1984) sugieren que en los animales denervados con capsaicina el retraso en el inicio de la pubertad, esta relacionado con el bajo peso corporal presentado por estos en una edad previa a la apertura vaginal, si bien los mecanismos exactos por los cuales la administración de capsaicina provoca enlentecimiento en el desarrollo aún no son conocidos. En nuestro estudio no observamos correlación entre el peso corporal y la edad de inicio de la pubertad.

Meijs-Roelofs y col. (1984), mostraron que la hemicastración realizada en días previos al inicio de la pubertad provoca incremento en la concentración de  $17\beta$ -estradiol, en el segundo ciclo vaginal, sin embargo desconocemos si el incremento se presenta independientemente de la gónada extirpada. De los resultados obtenidos en el presente estudio, se desprende que los cambios en la concentración de la hormona van a depender, por una parte del ovario que se extirpa y por otra de la edad en la que se realiza la cirugía.

Tal y como se ha postulado que ocurre en el animal hemicastrado (Edgren y col., 1965), la extirpación de uno de los ovarios en el animal de 20 días de edad presenta disminución en la concentración de estradiol sin cambios en la edad de la canalización de la vagina. Nuestros resultados indican que cuando se realiza la hemiovariectomía a los 20 días de edad, el ovario remanente no es capaz de normalizar la concentración de estradiol al primer estro vaginal, sin embargo la cantidad sintetizada es suficiente para que se produzca la canalización de la vagina o, probablemente el tejido es más sensible a los estrógenos circulantes. Por último, no podemos descartar la posibilidad de que en estos animales el período entre la cirugía y la autopsia es suficiente como para activar los mecanismos neuroendócrinos que facilitan la canalización de la vagina.

La hemicastración derecha al final de la etapa juvenil (28 días de edad) retrasa el inicio de la pubertad sin cambios en la concentración sérica de  $17 \beta$ -estradiol, mientras que la eliminación del ovario izquierdo incrementa la concentración de la hormona, sin que se hayan producido alteraciones en la edad de apertura vaginal. Estas evidencias nos permiten sugerir que en el animal hemicastrado la capacidad esteroidogénica de los ovarios es diferente, donde al parecer el ovario derecho tiene mayor capacidad de síntesis.

Al momento, no tenemos conocimiento de reportes que muestren si en la rata prepúber la síntesis de estradiol se produce de manera asimétrica, lo que si sabemos es que en la rata adulta no se presenta esta asimetría en las primeras 24 horas post-hemicastración (Barco y col., 2001).

Aunque tradicionalmente se ha aceptado que los estrógenos secretados por el ovario estimulan la canalización de la vagina (Linzey y Korach, 1999), es evidente que la concentración de la hormona no es el único factor que la determina. Uno de los elementos a considerar en este proceso de canalización vaginal es la inervación propia del tejido, la cual podría estar modulando la sensibilidad de la vagina a los estrógenos.

En el animal hemicastrado la participación de las fibras sensoriales, que contienen sustancia P y CGRP, en los mecanismos neuroendócrinos que facilitan la canalización de la vagina, dependen de la edad del animal en que se realiza la extirpación de la gónada y del ovario *in situ*. En el animal hemicastrado a los 20 días de edad, la inervación sensorial parece no tener relevancia en la modulación del inicio de la pubertad, dado que aún cuando se eliminan estas fibras y se presenta una menor síntesis de estrógenos, la edad de la canalización es normal. Cuando en estos animales tratados con capsaicina se elimina el ovario izquierdo, la gónada *in situ* se libera parcialmente del efecto inhibitorio ejercido por la inervación sensorial, ya que la disminución de la síntesis de  $17 \beta$ -estradiol no es tan drástica. Este comportamiento no se presenta cuando el ovario remanente es el izquierdo, lo que apoyaría nuevamente que el ovario derecho tiene una mayor eficiencia para la síntesis de esta hormona, sin que descartemos la posibilidad de que el aumento en la hormona esté dado por un mayor número de folículos implicados en la síntesis de estradiol.

En tanto que, en el modelo denervado al nacimiento y hemicastrado a los 28 días de edad, el retraso en la pubertad que se había producido por la sola hemicastración no sucede, lo que parece indicar que la inervación sensorial actúa de manera inhibitoria, sólo si el ovario *in situ* es el izquierdo.

En la rata la vagina y el útero presentan fibras sensoriales sensibles a la capsaicina, que modulan la actividad vaginal aferente (Traurig y col., 1984; Nance y col., 1987; Rodríguez-Sierra y col., 1988). Al momento no contamos con estudios anatómicos que muestren si el aporte de fibras sensoriales que viajan desde cada uno de los ovarios y cuernos uterinos hacia la vagina es igual. El hecho de que la participación de la inervación dependa del ovario *in situ*, podría ser el reflejo de una diferencia en la densidad de fibras sensoriales provenientes del ovario y del útero que inervan a la vagina. Esta interpretación se ve apoyada por los reportes de Klein y Burden (1988) quienes mostraron que en la rata adulta el ovario derecho recibe mayor aporte de fibras simpáticas aferentes que el izquierdo.

La concentración sérica de progesterona al primer estro vaginal se incrementa en respuesta a la hemicastración realizada a los 20 días de edad, la magnitud del incremento es independiente del ovario extirpado. Con estos resultados podemos sugerir que la capacidad del ovario remanente para sintetizar progesterona es semejante, independiente del ovario. Este efecto no se observa cuando se realiza la hemiovariectomía a los 28 días de edad, donde se encuentra que sólo cuando el ovario *in situ* es el izquierdo, se incrementa la capacidad de síntesis. Al momento no existen reportes que muestren que en la rata prepúber la capacidad para sintetizar hormonas esteroideas sea diferente entre los ovarios. Sin embargo, Frankel y col. (1989) mostraron que el testículo derecho tiene mayor capacidad para sintetizar testosterona que el izquierdo.

En nuestros animales hemicastrados del ovario izquierdo a los 20 días y previamente tratados con capsaicina se bloquea el incremento en la concentración de progesterona. Este mismo efecto se presenta cuando el animal denervado es hemicastrado a los 28 días, pero el ovario extirpado es el derecho. Los resultados expuestos anteriormente sugieren que la inervación sensorial, aportada por las fibras C y A $\delta$ , modula de manera estimuladora la secreción de progesterona, lo que depende del ovario *in situ* y de la edad en la que se realiza la hemicastración. Con base en estos resultados apoyamos la hipótesis de que las fibras sensoriales actuarían a nivel de la teca folicular estimulando el paso de colesterol a pregnenolona (Morán y col., 2001), y no actuarían en las células de la granulosa ya que no se altera la síntesis de testosterona.

Al parecer, la participación de la inervación sensorial sobre la síntesis de progesterona varía con la edad del animal. Esta propuesta puede verse apoyada por trabajos previos de nuestro laboratorio, donde se ha reportado que la denervación sensorial al nacimiento ocasiona descenso en la concentración de la hormona cuando se

sacrifica al animal en edades previas a la pubertad (Morán y col., 2001). Por su parte, Razo (2000) encontró que la eliminación de las fibras sensoriales a los tres días de vida ocasiona descenso de la hormona en el animal sacrificado al primer estro. Mientras que Traurig y col. (1984), reportan que en la rata adulta denervada al nacimiento con capsaicina, la concentración de progesterona no sufre cambios durante las diferentes etapas del ciclo estral.

Al momento, damos algunas posibles interpretaciones a los efectos de la capsaicina sobre la esteroidogénesis, evaluada como síntesis de progesterona y estradiol, sin embargo resulta difícil compararlos con lo que hay en la bibliografía ya que la inervación sensorial ha sido asociada con el flujo sanguíneo ovárico, pero no directamente con la capacidad esteroidogénica (Dissen y Ojeda, 1999). Por ello, no podemos descartar que la denervación sensorial altera el flujo sanguíneo que recibe el ovario y como consecuencia no se reciben los substratos requeridos para la síntesis de las hormonas esteroides, en apoyo a esto Weiss y col. (1982) mostraron que la estimulación eléctrica de las fibras simpáticas que arriban al ovario induce disminución del flujo sanguíneo acompañado de la caída en la concentración de progesterona en la vena ovárica.

Existen otras evidencias que apoyan la hipótesis de que los cambios observados en la esteroidogénesis son el resultado de la modificación del flujo sanguíneo a nivel del folículo. La vasodilatación ovárica es estimulada por la LH (vía estimulación de cAMP y prostaglandinas de acuerdo a Clark y col., 1978 en Varga y col., 1985) y modulada por los péptidos que son transportados por las fibras "C". De forma tal, que en el animal denervado, al no existir dicha regulación se producirían alteraciones en el flujo sanguíneo ovárico.

En el modelo de la rata hemicastrada, la administración de capsaicina no modificó la proporción de animales ovulantes, semejante a lo que ocurre en el animal con ambos ovarios y denervado al nacimiento (Morán y col., 2000) o a los tres días de vida (Razo, 2000). Estos eventos nos llevan a plantear que en la rata, al primer estro vaginal, la información sensorial que viaja por las fibras sensibles a capsaicina, no participa en la modulación de los mecanismos que facilitan la ruptura de los folículos maduros y por ende la liberación de los ovocitos. Es posible que la mayoría de los animales ovulan al primer estro vaginal en respuesta a una concentración sérica normal de la hormona luteinizante, sin embargo, no descartamos que en ciclos subsiguientes se pudiera presentar alteraciones en la hormona tal y como se ha reportado que ocurre cuando el animal denervado al nacimiento llega a la etapa adulta (Cotton y col., 1985).

En los animales hemicastrados a los 20 ó 28 días de edad el número de ovocitos liberados es semejante a la que presenta un animal con las dos gónadas. Lo que nos hace pensar que el número de cuerpos lúteos no se modifica, sin embargo, es posible que la actividad de esta glándula si cambia en función del ovario *in situ*, esto podría explicar el porque la concentración de progesterona es diferente entre el animal hemicastrado del lado izquierdo y el derecho. En las hembras denervadas y hemicastradas del ovario izquierdo la cuota ovulatoria es mayor a la que presenta un animal denervado con ambas gónadas, lo que podría sugerir que en los animales hemiovariectomizados el papel de la inervación sensorial depende del ovario *in situ*.

En diferentes estudios se ha observado que posterior a la hemicastración se presentan los fenómenos de hipertrofia y ovulación compensadora (Edgren y col, 1965; Burden y col., 1986; Gerendai 1997; Gerendai y Halász, 2000), los cuales han sido explicados como resultado del incremento en las hormonas hipofisarias y a la modulación de la inervación aferente de la gónada. Gerendai y col. (1978a), al administrar localmente 6-OHDA bloquearon la hipertrofia compensadora. Chávez y Domínguez (1994) mostraron que la ganancia en peso de los ovarios va a depender de la gónada extirpada y del nervio ovárico superior seccionado.

En los animales hemicastrados a los 20 días de edad, la ganancia en peso (hipertrofia compensadora) es mayor cuando el ovario remanente es el izquierdo. En las ratas que además fueron tratadas con capsaicina no se modifica la hipertrofia, evento que nos permite postular que al final de la etapa infantil la inervación sensorial, que es transportada por fibras sensibles a la capsaicina, no es determinante para que ocurra dicho fenómeno.

La hipertrofia compensadora, en animales hemiovariectomizados a los 28 días de edad es mayor cuando el ovario extirpado es el izquierdo. El hecho de que en el animal denervado al nacimiento y hemicastrado del ovario derecho se observa que se triplica el porcentaje de hipertrofia compensadora, nos permite postular que al final de la etapa juvenil la inervación sensorial modula de manera inhibitoria la ganancia en peso cuando el ovario *in situ* es el izquierdo. La hipertrofia compensadora alcanzada depende de la edad en la que se hemicastra y de la gónada remanente. De forma que, en el animal con hemicastración derecha a los 20 días de edad se alcanza una ganancia cinco veces mayor que en el de 28 días.

En apoyo a la hipótesis de que la inervación sensorial tiene un papel en la hipertrofia del ovario, Burden y col, (1986) reportan que la vagotomía provoca cambios en

la hipertrofia, dependiendo del ovario extirpado y del nervio vago (el 95% de sus fibras son sensoriales) seccionado y que el funcionamiento del ovario derecho depende más de la integridad de las conexiones vagales; mientras que Gerendai y Halász (1997) dicen que el ovario izquierdo es más sensible a los efectos de la vagotomía que el derecho. Por su parte Burden y Lawrence (1977) concluyen que la vagotomía abdominal inhibe la hipertrofia ovárica.

Actualmente existen varias evidencias que apoyan la idea de que la información sensorial participa en el evento de la ovulación compensadora que caracteriza al animal hemicastrado. En la rata adulta la sección del nervio vago izquierdo provoca un incremento en la ovulación compensadora cuando el ovario remanente es el izquierdo Chávez y col. (1987). La vagotomía cervical derecha o la vagotomía abdominal inhiben la respuesta compensadora cuando el ovario *in situ* es el derecho, pero no en el caso del izquierdo; nuevamente estos resultados apuntan hacia una respuesta lateralizada por parte del ovario, donde la función de la gónada derecha es más dependiente de la información vagal (Burden y col. 1986).

La respuesta de ovulación compensadora depende de la gónada extirpada y de la edad en la que se efectúa la hemiovariectomía. En la rata hemicastrada a los 20 días de edad se observa que el ovario derecho presenta una ovulación compensadora menor que el izquierdo. A esta edad, la participación de la inervación sensorial, que es aportada por las fibras nerviosas que contienen SP y CGRP, sobre el desarrollo de la ovulación compensadora es estimuladora cuando el ovario remanente es el izquierdo e inhibitoria cuando el ovario *in situ* es el derecho.

En el animal denervado, los cambios en la ovulación compensadora pueden ser el reflejo de una alteración en el flujo sanguíneo ovárico. En apoyo a esta interpretación, Zackrisson y col. (2000) reportan que en la rata adulta una reducción importante en la irrigación sanguínea ovárica ocasiona disminución de la tasa ovulatoria.

Al final de la etapa juvenil la ovulación compensadora es semejante independiente de la gónada remanente. La pérdida de las fibras sensoriales, por la administración de capsaicina al nacimiento, no modifica el evento de la ovulación compensadora. Lo que indicaría, que a esta edad la inervación sensorial no es relevante para que suceda dicho proceso.

El análisis de nuestros resultados, nos permite plantear que en el animal hemicastrado la ganancia en el peso del ovario remanente esta relacionada con un mayor porcentaje de ovulación compensadora. Así, los ovarios con mayor peso presentan una

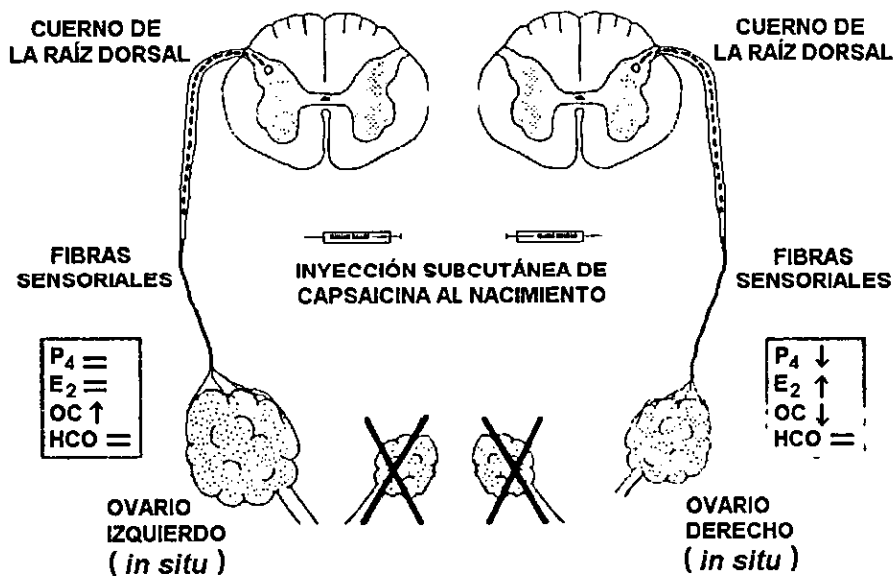


ovulación compensadora mayor. Este efecto no se presenta en el animal tratado con capsaicina, donde la respuesta depende de la edad en la que se realiza la hemicastración. Así, en los animales hemiovariectomizados a los 20 días de edad, los ovarios más grandes presentan un menor porcentaje de ovulación compensadora. Evidencias que podrían indicar que la inervación sensorial modula de manera estimuladora dicho fenómeno.

El hecho de que suceda la ovulación compensadora, sin alteración de las concentraciones séricas de gonadotropinas, nos hace pensar que este fenómeno no depende exclusivamente del ambiente hormonal. Chávez y col. (1987) proponen que la concentración de LH y FSH no afecta el desarrollo de este evento, y se postula que la ovulación compensadora podría estar vinculada a una mayor respuesta del ovario *in situ* a las hormonas circulantes, en donde la inervación intrínseca de la gónada modularía la acción de las hormonas sobre el folículo ovárico (Chávez y col., 1987; Flores y col., 1990; Morales y col. 1999).

En la rata adulta, los efectos de la hemicastración sobre la concentración sérica de las gonadotropinas depende del período post-hemicastración (Burden y Lawrence 1977; Flores y col., 1990, Barco y col., 2000). Se ha reportado que en la rata adulta denervada en la etapa neonatal con capsaicina, los "picos" preovulatorios de LH y FSH sufren una atenuación (Cotton y col., 1985). En la rata púber la hemiovariectomía no provoca cambios en la LH y FSH séricas. Para verificar si previo al primer estro vaginal ocurren cambios en las concentraciones séricas de gonadotropinas, necesitaríamos sacrificar animales días después de haber extirpado el ovario.

En conjunto los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que en el animal prepúber hemicastrado, la respuesta compensadora del ovario depende de la gónada *in situ*. La participación de la inervación sensorial en las funciones ováricas (ovulación y síntesis de hormonas esteroideas) y el inicio de la pubertad dependen de la edad en la que se realiza la hemicastración y del ovario remanente (Figs. 3 y 4).



**Figura 3.** Representación esquemática de las fibras sensoriales que llegan al ovario. Cuyos somas se localizan en el ganglio de la raíz dorsal. En este modelo se representa los efectos de la inyección al nacimiento de capsaicina en el animal hemicastroado a los 20 días de edad. Sólo cuando la gónada *in situ* es la derecha la inervación sensorial participa de manera estimuladora en la síntesis de progesterona (P<sub>4</sub>) e inhibitoria para la de 17 β-estradiol (E<sub>2</sub>). La hipertrofia compensadora ovárica (HCO) es independiente de la inervación sensorial, pero esta supeditada al ovario *in situ*. La ovulación compensadora (OC) depende de la información transportada por las fibras sensoriales y del ovario remanente. Las flechas significan que hubo incremento (↑) o descenso (↓) y el signo de (=) que no hubo cambios significativos, respecto a un animal hemicastroado pero sin tratamiento con capsaicina.

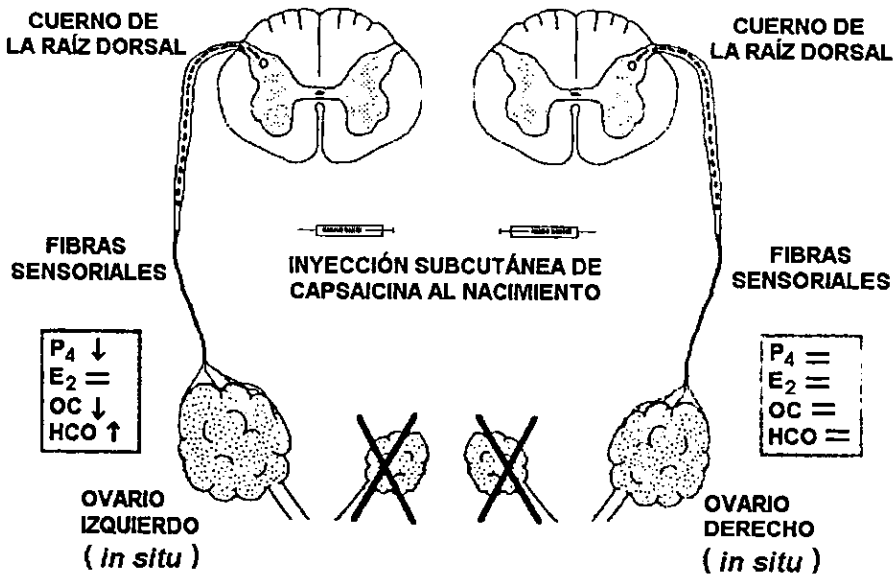


Figura 4. Representación esquemática de las fibras sensoriales que llegan al ovario. Cuyos somas se localizan en el ganglio de la raíz dorsal. En este modelo se representa los efectos de la inyección al nacimiento de capsaicina en el animal hemicastrado a los 28 días de edad. En la rata hemicastrada del ovario derecho, la inervación sensorial participa de manera estimuladora en la síntesis de progesterona (P<sub>4</sub>) y en la ovulación compensadora, mientras que parece ser inhibitoria para la ganancia del peso de la gónada remanente. Cuando se extirpó el ovario izquierdo, la falta de inervación sensorial no modificó las respuestas evaluadas. Las flechas significan que hubo incremento (↑) o descenso (↓) y el signo de (=) que no hubo cambios significativos, respecto a un animal hemicastrado pero sin tratamiento con capsaicina.

## CONCLUSIONES

- En la rata hemicastrada, la información sensorial modula el inicio de la pubertad, vía estimulación del SNC, lo que depende de la edad de la hemicastración y del ovario remanente.
- La participación de la inervación sensorial sobre la modulación de los procesos que desencadenan la hipertrofia y ovulación compensadora depende de la gónada *in situ* y de la edad en la que se realiza la hemiovariectomía.
- En el animal hemicastrado, la inervación sensorial modula de forma estimulante la síntesis de progesterona y de forma inhibitoria la síntesis de estradiol, lo que depende de la gónada remanente.
- En la rata con hemicastración, la denervación sensorial no modifica la concentración sérica de gonadotropinas al primer estro vaginal.

## BIBLIOGRAFÍA.

- Andrews, W W, Ojeda, S R (1981). A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. *Endocrinology*, 109: 2032-2039.
- Barco A, Flores A, Chavira R, Damian-Matzumura P, Domínguez R, Cruz M E (2001). Asymmetric acute effects of unilateral ovariectomy on Ovarian Hormone Secretion. XXVI Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la reproducción A. C. Celebrado en Acapulco, Gro., México. pp. 1-13.
- Becu-Villalobos D, Lacau Mengido I M (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.* 40, pp. 1-17.
- Betanzos R, Morales L, Chavira R (1998). Estudio de la participación del nervio vago en los mecanismos neuroendócrinos que regulan el inicio de la pubertad espontánea en la rata hembra. XLI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A. C. Celebrado en San Luis Potosí, México.
- Brown R E (1994) Divisions of nervous system. En *An introduction to neuroendocrinology*. pp. 78-83. Brown, R E. (Ed) . Cambridge University Press. New York.
- 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. R., Weiner, R. I. (Eds.), New York: Raven Press.
- 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 (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, Louis T M, Hodson C A (1984). Effects of abdominal vagotomy on the estrous 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.
- Burks T F, Buck S H, Miller M S (1985). Mechanisms of depletion of substance P by capsaicin. *Federation Proceedings*, 44 (9): 2531-2534.
- Calka J, Mc Donald J K, Ojeda S R (1988). The innervation of immature rat ovary by calcitonin gene related peptide. *Biology of Reproduction*, 39: 1215-1223.
- Carrillo P, Mánzo J, Martínez-Gómez M, Salas M, Pacheco P (1994). Neonatal capsaicin administration: effects on behavioral development of rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 48 (2): 447-452.
- Caterina M J, Schumacher M A, Tominaga M, Rosen T A, Levine J D and Julius D (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389: 816-824.
- 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 and Domínguez R (1994). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology*, **140**: 197-201.
- Clapham D E (1997). Some like it hot: spicing up ion channels. *Nature*, **389**: 783-784.
- 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.
- Cotton J, Traurig H, Papka, Rush M, Jones H (1985). Effects of capsaicin treatment on periovulatory LH and FSH surges in rats. *Anatomical Record*, **211**: 45A-46A
- Dissen G A, Ojeda S R (1999). Ovarian innervation. En *Encyclopedia of Reproduction*, **3**: 583-589. Knobil E, Neill J (Eds.) USA: Academic Press.
- Dohler, K D, Wuttke, W (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, **94**:1003-1008.
- Edgren R A, Parlow A F, Peterson D L, Jones R C (1965). On the mechanism of ovarian hypertrophy following hemicastration in rats. *Endocrinology*, **76**: 97-102.
- Farookh R, Hemmings R, Brawer J R (1985). Unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicity in rats with a polycystic ovarian condition. *Biology of Reproduction*, **32**: 530-540.
- Flores A, Morales L, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R (1990). Acute changes in serum levels of luteinising hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrus cycle of the rat. *Medical Science Research*, **18**: 819-821.
- Frankel A I, Chapman J C, Cook B (1989). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. *Journal of Endocrinology*, **122**: 485-488.
- Frisch R (1980). Pubertal adipose tissue: is it necessary for normal sexual maturation? Evidence from the rat and human female. *Federation Proceedings*, **39**:2395-2400.
- Gabella G, Pease H L (1973). Number of axons in the abdominal vagus of the rat. *Brain Research*, **58**: 465-469.
- Gamse R, Leeman S E, Holzer P, Lembeck F (1981). Differential effects of capsaicin on the content of somatostatin, substance P and neurotensin in the nervous system of the rat. *Archives of Pharmacology*, **317**: 140-148.
- Gerendai I, Czaba Zs, Vokó Z, Csernus V (1995). Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.*, **53** (1-6): 299-305.
- Gerendai I, Halász B (1978). Neural participation in ovarian control. *Trends in Neurosciences*, **1**(1): 87-88.
- Gerendai I, Halász B (1981). Participation of a pure neuronal mechanism in the control of gonadal functions. *Andrologia*, **13** (4): 275-282.
- Gerendai I, Halász B (1997). Neuroendocrine asymmetry. *Frontiers in Neuroendocrinology*, **18**: 354-381.
- Gerendai I, Marchetti B, Maugeri S, Amico Roxas M, Scapagnini U (1978a). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA. *Neuroendocrinology*, **27**: 272-278.
- Gerendai I, Rotsztejn W, Marchetti B, Kordon C, Scapagnini U (1978b). Unilateral ovariectomy-induced luteinizing hormone-releasing hormone content changes in the two halves of a mediobasal hypothalamus. *Neuroscience Letters*, **9**: 333-336.

- Gerendai I, Tóth I E, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 80: 40-45.
- Holzer P (1991). Capsaicin: cellular targets, mechanism of action, and selectivity for sensory neurons. *Pharmacological Reviews*, 43 (2): 143-201.
- Kawakami M, Kubo K, Uemura T, Nagase M, Hayashi R (1981). Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. *Endocrinology*, 109 (1): 136-145.
- Kimura, F, Kawakami, M (1981). Two daily surges of prolactin secretion preserved after ovariectomy in the immature rat. *Endocrinol. Jap.*, 28: 647-652.
- King B F, Britt JH, Esbenshade K L, Flowers W L, Ireland J J (1995). Evidence for a local role of inhibin  $\alpha$  subunits in compensatory ovarian hypertrophy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 104: 291-295.
- Klein C M, Burden H W (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neuroscience Letters*, 85: 217-222.
- Labhsetwar A P (1967). Age-dependent changes in the pituitary-gonadal relationships: a study of ovarian compensatory hypertrophy. *Journal of Endocrinology*, 39: 387-393.
- Lawrence I E, Burden H W (1978). Role of peripheral parasympathetic nerves in pregnancy and parturition. *Journal of Endocrinology*, 79: 40-41.
- Lawrence I E, Burden H W, Louis T M (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentration and fetal resorption. *Journal of Reproduction and Fertility*, 53: 131-136.
- Lembeck F, Amann R (1986). The influence of capsaicin sensitive neurons on stress-induced release of ACTH. *Brain Research Bulletin*, 16:541-543.
- Lindzey J, Korach K S (1999). Estrogen action on the female reproductive tract. En *Encyclopedia of Reproduction*, Vol. 2, pp. 79-86. Knobil E, Neill J (Eds.) USA: Academic Press.
- Louis T M, Lawrence I E, Becker R F, Burden H W (1978). Prostaglandin F<sub>2</sub>, prostaglandin E<sub>2</sub>, progesterone, 20 $\alpha$  hydroxysteroid dehydrogenase activity in preparturient pelvic neurectomized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 158: 631-636.
- Maggi C A, Borsini F, Santicoli P, Geppetti P, Abelli L, Evangelista S Manzini S, Theodorsson-Norheim E, Somma V, Amenta F, Bacciarelli C, Meli A (1987). Cutaneous lesions in capsaicin-pretreated rats. A trophic role of capsaicin-sensitive afferents?. *Archives of Pharmacology*, 336: 538-545.
- Malamed S, Gibney J A, Ojeda S R (1992). Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. *Cell Tissue Research*, 270: 87-93.
- Meijs-Roelofs H M, Kramer P, Osman P, Sander H J (1984). Compensatory ovulatory mechanisms operative after first ovulation in rats unilaterally ovariectomized prepubertally. *Biology of Reproduction*, 31: 44-51.
- Meredith S, Butcher R L (1985). Role of decreased numbers of follicles on reproductive performance in young and aged rats. *Biology of Reproduction*, 32: 788-794.
- Morales L, Chávez R, Ayala M E, Domínguez R (1998). Effects of the unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepuberal rats on the ovulatory response to gonadotropins administration. *Journal of endocrinology*, 158: 213-219.
- Morales L, Chávez R, Ayala M E, Morán C, Domínguez R (1999). Effects of mechanical stimulation of the ovarian pedicle on induced ovulation in the prepubertal rat. *Medical Science Research*, 27: 561-564.

- Morán C, Morales L, Chavira R, Domínguez R (2001).** Efectos de la denervación sensorial inducida por la administración de capsaicina al nacimiento, sobre la esteroidogénesis y el desarrollo folicular durante la etapa juvenil en la rata. XXVI Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la reproducción A. C. Celebrado en Acapulco, Gro., México. pp. 234-245.
- Morán C, Razo S, Morales L, Domínguez R (2000).** Efectos de la denervación sensorial sobre la pubertad. XXV Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la reproducción A. C. Celebrado en Taxco, Gro., México. pp. 157-161.
- 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.
- Nance D M, White K P, Moger W H (1983).** Neural regulation of the ovary: evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. *Brain Research Bulletin*, 10: 353-355.
- Nance D M, Bhargava M, Myatt G A (1984).** Further evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control of the ovary. *Brain Research Bulletin*, 13: 651-655.
- Nance D M, King T R, Nance P W (1987).** Neuroendocrine and behavioral effects of intrathecal capsaicin in adult female rats. *Brain Research Bulletin*, 18: 109-114.
- Noback C R (1993).** Sistema nervioso humano: fundamentos de neurobiología. Ed. interamericana, México, 4a. ed.
- Ojeda S R, (1997).** Control neuroendocrinotrófico del desarrollo de la función ovárica. XV Reunión de la Asociación Latinoamericana de Investigadores en Reproducción Humana. Celebrado en Cusco, Perú. pp. 13-14.
- 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, Urbanski, H F (1988).** Puberty in the rat. En: *The physiology of reproduction*, pp. 1699-1737. Knobil, E., Neil, J., y col., Eds. (Raven Press Ltd., New York),
- Ojeda S R, White S S, Aguado L I, Advis J P, Anderson J M (1983).** Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and impairs ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology*, 36: 261-267.
- Ortega-Villalobos M, García-Bazán M, Solano-Flores L P, 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.
- Peter, H (1970).** Some aspects of early follicular development. En: *Ovarian follicular development and function*, pp. 1-3. Midgley, A. R.: Sadler, W. A, Eds. (Raven Press, New York),
- Razo S (2000).** Participación de la inervación sensorial en el proceso de foliculogénesis. La rata púber como modelo de estudio. Tesis de licenciatura, no publicada. F.E.S. Zaragoza, UNAM.
- Rodríguez-Sierra J F, Skofitsch G, Komisaruk B R, Jacobowitz D M (1988).** Abolition of vagino-cervical stimulation-induced analgesia by capsaicin administered to neonatal, but not adult rats. *Physiology Behavior*, 44(2): 267-272.



- 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.
- 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.**
- Szallasi A, Blumberg P M (1999).** Vanilloid (Capsaicin) receptors and mechanisms. ***Pharmacological Reviews*, 51 (2): 159-212.**
- Traurig H H , Saria A, Lembeck F (1984).** The effects of neonatal capsaicin treatment on growth and subsequent reproductive function in the rat. ***Archives of Pharmacology*, 327: 254-259.**
- Varga B, Horvath E, Folly G, Stark E (1985).** Study of the luteinizing hormone-induced increase of ovarian blood flow during the estrous cycle in the rat. ***Biology of Reproduction*, 32: 480-488.**
- Weiss G K, Dail W G, Ratner A (1982).** Evidence for direct control of ovarian steroidogenesis in rats. ***Journal of Reproduction and Fertility*, 65: 507-511.**
- Zackrisson U, Mikuni M, Peterson MC, Nilsson B, Janson PO, Brannstrom M (2000).** Evidence for the involvement of blood flow-related mechanisms in the ovulatory process of the rat. ***Human Reproduction*, 15 (2): 264-272.**