



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN PARASIMPÁTICA
EN EL INICIO DE LA PUBERTAD Y EN LA
ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA, LA RATA
HEMICASTRADA COMO MODELO DE ESTUDIO**

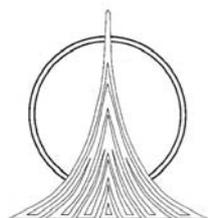
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

ADAN BOLAÑOS GALVAN



DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

MEXICO, D.F.

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN PARASIMPÁTICA EN EL INICIO DE LA
PUBERTAD Y LA ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA, LA RATA
HEMICASTRADA COMO MODELO DE ESTUDIO**

Tesis presentada por: Adan Bolaños Galvan

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la Unidad de
Investigación en Biología de la Reproducción
UIBR**

**Durante la tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-PAPIIT
IN201702; IN200505 y convenio CONACYT 40300-A**

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Dra. *Leticia Morales Ledesma* por su amistad, comprensión y por su gran paciencia y dedicación hacia nosotros.

A los miembros del Jurado:

Dr. Roberto Domínguez Casalá
M. en BRA. Guillermo Blancas Arroyo
Dra. Patricia Rosas Saucedo
Dra. Leticia Morales Ledesma
Dra. Bertha Peña Mendoza

Por dedicar tiempo a la revisión y aporte hacia este estudio y compartir sus conocimientos para enriquecerlo.

Al *Dr. Roberto Domínguez Casalá* por su ayuda y apoyo en la elaboración de esta tesis.

A todos mis compañeros y amigos de la Unidad; Ubaldo, Javier, Rosa, Gaby, Elizabeth, Deyra, Avisahi y en especial a B e t y.

A Maria Luisa Llesca Vera por su colaboración en al realización de la técnica en el estudio histológico.

A el Biol. Chavira R. por su colaboración en las mediciones hormonales.

A la *Dra. Adriana* y al personal técnico del Bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado a los animales utilizados en este estudio.

DEDICATORIAS

*A mis padres **Evelia** y **Arturo** por darme la vida, el apoyo incondicional y una oportunidad de superación. Además por todo el cariño que siempre me han brindado.*

*A **Eva** por su cariño y confianza en todo momento.*

*A **bety** por ser mi compañera, amiga, y esa luz de mi vida que me acompaña en cualquier momento alumbrando el camino con sueños y esperanzas.*

*A **polet, juan, ramón, mcaela, susana, tomas y brenda** por su cariño y apoyo.*

*A la **Dra. Leticia Morales** por su amistad, paciencia y por sembrar una semilla de superación y autosuficiencia en todo momento. Gracias.*

*A la **Dra. Patricia Rosas**, por su amistad y apoyo en la redacción de esta tesis.*

INDICE DE CONTENIDO

pp

RESUMEN

INTRODUCCIÓN..... 1

MARCO TEÓRICO

Sistema reproductor femenino..... 3

Ovario..... 3

La pubertad en los mamíferos..... 6

Eventos finales que conllevan a la pubertad..... 9

Inervación ovárica..... 11

Inervación parasimpática..... 11

Fibras sensoriales..... 13

Regulación de la secreción hormonal..... 14

Actividad hormonal del ovario

Biosíntesis de hormonas esteroides

Biosíntesis de pregnenolona..... 15

Origen de las hormonas esteroides..... 17

Biosíntesis de estrógenos..... 17

Ciclo estral..... 20

Aspectos anatómicos y funcionales del nervio vago..... 23

Participación del nervio vago en la función reproductiva..... 25

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... 27

HIPÓTESIS..... 28

OBJETIVO GENERAL Y PARTICULARES..... 29

MATERIAL Y MÉTODO..... 30

RESULTADOS..... 34

EXPERIMENTO 1. Efecto de la laparotomía sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH..... 34

EXPERIMENTO 2. Efecto de la ovariectomía unilateral sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH..... 37

EXPERIMENTO 3. Efecto de la vagotomía unilateral sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona y estradiol.....	42
EXPERIMENTO 4. Efecto de la ovariectomía unilateral en animales con vagotomía unilateral sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH.....	46
EXPERIMENTO 5. Efecto de la vagotomía bilateral sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona y estradiol.....	56
EXPERIMENTO 6. Efecto de la ovariectomía unilateral en animales con vagotomía bilateral sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, testosterona y estradiol.....	59
DISCUSIÓN	64
CONCLUSIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70

RESUMEN

Los ovarios cumplen dos funciones principales, gametogénesis y producción de hormonas. El funcionamiento y la estructura de las gónadas se encuentran bajo el control de las hormonas secretadas por el eje hipotálamo-hipófisis-sistema endocrino y por los componentes del sistema nervioso simpático, parasimpático y sensorial. Una de las vías importantes en el control neural está dado por el nervio vago, del cual aproximadamente el 90% de sus fibras son de naturaleza sensorial.

En la rata, el nervio vago modula la esteroidogénesis ovárica en función de la edad del animal. Los efectos de la sección uni o bilateral del nervio vago sobre las funciones de los ovarios, es un paradigma muy utilizado para analizar los mecanismos de regulación de la ovulación y la secreción hormonal ejercida por los nervios vago. La sección bilateral de los nervios vago seguida del estudio de la síntesis de estradiol por el ovario *in vitro*, resulta en una menor síntesis de la hormona, lo cual es interpretado como un índice de que la información nerviosa que llega al ovario por los nervios vago modula de manera estimulante la secreción de dicha hormona. Según nuestro conocimiento, no hay información sobre como participa el nervio vago en la regulación de la síntesis de hormonas esteroides y de las gonadotropinas en la rata prepúber.

Otro paradigma muy utilizado en el estudio de los mecanismos de regulación del funcionamiento de los ovarios, es el animal con ovariectomía unilateral. Con el uso del animal con ovariectomía unilateral se ha observado que las capacidades de respuesta ovulatoria por el ovario derecho e izquierdo son diferentes y que varían con la edad del animal.

Dado que no se tiene información sobre la forma en que la inervación que llega a los ovarios por parte de los nervios vago sobre la regulación de la síntesis de hormonas esteroides y de si la secreción de hormonas esteroides por el ovario es modificada por extirpación de uno de ellos y si el nervio vago tiene algún rol en la regulación de los ovarios, en el presente estudio realizado en la rata hembra de 28 ó 32 días de edad, se analizaron los efectos de la sección uni o bilateral de nervio vago, la extirpación uno u otro ovario y la sección del nervio vago ipsilateral, contralateral o bilateral respecto al ovario extirpado sobre la concentración sérica de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH medidas en el día del primer estro vaginal.

El practicar una laparotomía ventral en el inicio o final de la etapa juvenil no modificó el inicio de la pubertad ni la del primer estro vaginal. El tratamiento en ratas de 28 días de edad provocó una disminución de la concentración de estradiol, y en ratas de 32 días una disminución significativa en la secreción de testosterona.

La ovariectomía unilateral realizada en ratas de 28 ó 32 días no modificó el inicio de la pubertad ni la aparición del primer estro vaginal.

En comparación con el grupo testigo, la extirpación del ovario derecho en el animal de 28 días de edad resultó en la disminución significativa de la concentración sérica de 17β -estradiol y progesterona, mientras que si el tratamiento se realizó en animales de 32 días la ovariectomía unilateral no modificó significativamente las concentraciones séricas de las hormonas.

Las fluctuaciones en las concentraciones séricas de testosterona dependieron de la gónada remanente y de la edad en la que se practicó la ovariectomía unilateral.

En cuanto a las gonadotropinas solamente la FSH aumentó significativamente al realizar la ovariectomía izquierda a los 28 días de edad, sin modificaciones a los 32 días. Por otra parte la concentración sérica de LH no se modificó por la ovariectomía unilateral, independientemente de la edad en la que se practicó la cirugía.

El solo eliminar el nervio vago izquierdo o derecho no modificó el inicio de la pubertad ni la del primer estro. En cuanto a la progesterona no se modificó independientemente del nervio seccionado. Mientras la concentración de testosterona fue significativamente menor cuando se extirpa alguno de los nervios vago. La concentración de estradiol aumento independientemente si la cirugía se realiza a los 28 o 32 días de edad.

En el grupo con vagotomía unilateral, la ovariectomía unilateral no modificó el inicio de la pubertad ni la del primer estro, independientemente del nervio seccionado, como de la edad en que se realizó la cirugía.

Las concentraciones séricas de 17β -estradiol en animales de 28 días de edad disminuyeron significativamente cuando la gónada *in situ* fue la izquierda, independientemente del nervio seccionado. Cuando el ovario *in situ* fue el derecho sólo disminuyó la concentración al seccionar el nervio vago derecho. Si las cirugías se realizan al día 32 de vida las concentraciones séricas disminuyen al realizar una vagotomía unilateral y extirpar la gónada izquierda.

En el grupo de 28 días de edad, la vagotomía bilateral y la extirpación del ovario izquierdo resultó en una disminución de la concentración sérica de progesterona, mientras que si se corta el vago izquierdo y se extirpa el ovario derecho la concentración de la hormona aumenta. En las ratas de 32 días de edad, la sección del vago izquierdo más la ovariectomía unilateral resultó en un aumento de la concentración sérica de progesterona, independientemente del ovario extirpado.

En las hembras de 28 días de edad a las que se les eliminó el nervio vago derecho más ovariectomía derecha resultó en un aumento en la concentración sérica de testosterona. La vagotomía unilateral acompañada de la ovariectomía izquierda provocó disminución en las concentraciones séricas de la hormona. Cuando se practica la vagotomía uni o bilateral a los 32 días de edad, disminuye las concentraciones séricas de testosterona independientemente de la gónada *in situ*.

En las ratas de 28 ó 32 días de edad, la vagotomía uni o bilateral, acompañada con la extirpación de uno de los ovarios no modificó las concentraciones séricas de LH al primer estro vaginal.

La vagotomía uni o bilateral más la ovariectomía unilateral, practicada a los 28 días de edad, no modificó la concentración sérica de FSH, mientras que cuando se somete al animal a la cirugía a los 32 días de edad, la sección del vago derecho y la extirpación del ovario izquierdo aumentó la concentración de la hormona, en tanto que la concentración fue menor, si se corta el vago izquierdo y se extirpa el ovario contralateral.

En conclusión podemos sugerir que el nervio vago participa en la modulación de la secreción de hormonas esteroides, la que varía en función del ovario *in situ* y del nervio seccionado.

INTRODUCCIÓN

Los ovarios cumplen dos funciones primordiales para el mantenimiento de la especie: la gametogénesis y la esteroidogénesis, las cuales son reguladas por las hormonas secretadas por el eje hipotálamo-hipófisis-órganos endocrinos y por la información neural que arriba a las gónadas (Domínguez y Riboni, 1971; Guyton, 1984; Kawakami y col., 1981; Morales y col., 1993; 1998). En los ovarios de todos los animales estudiados se distinguen al menos dos compartimientos, el folicular, formado por los folículos en diferentes estados de desarrollo y la glándula intersticial, la cual se origina a partir de la teca interna de los folículos. En los mamíferos, a partir del folículo que acaba de ovular se desarrolla el compartimiento luteal o cuerpo lúteo, cuya estructura y funciones se mantienen dependiendo de si el animal queda preñado o no en ese ciclo (Tresguerres, 1999).

Las funciones reproductivas son reguladas por la interacción de información proveniente del sistema endocrino (hormonas) y el sistema nervioso (vías neurales que arriban a las gónadas) (Burden, 1978).

En el estudio de las funciones ováricas se ha utilizado el modelo del animal con ovariectomía unilateral. La extirpación de uno de los ovarios resulta en una respuesta compensadora por parte de la gónada *in situ*. Se ha postulado que esta respuesta depende no sólo del ambiente endocrino del animal, sino de la información neural que reciben las gónadas. Uno de los elementos neurales que participa en la modulación de la respuesta compensadora del ovario es el nervio vago.

En la rata adulta el nervio vago participa en la regulación de la secreción de las hormonas luteinizante (LH) (Leonard y col., 1984), estimulante del folículo (FSH) (Burden y Lawrence, 1977) y de la ovulación (Chávez y col., 1987). Sin embargo, pocos son los estudios que se han realizado utilizando como modelo de estudio a la rata prepúber.

Estudios recientes de nuestro laboratorio y de otros investigadores, señalan que en la rata prepúber la información neural que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la esteroidogénesis ovárica, tanto en modelos *in vivo* (Morales y col., 2004) como *in vitro* (Ojeda y col., 1983b).

Con base en lo anterior, en el presente estudio se analizó la participación del nervio vago en la regulación de la secreción de las gonadotropinas y en el proceso de esteroidogénesis ovárica en la rata juvenil, utilizando como modelo de estudio al animal con ovariectomía unilateral. Para ello se evaluaron los efectos de las secciones unilaterales o bilaterales del nervio vago en animales con ovariectomía unilateral.

MARCO TEÓRICO

El uso de modelos experimentales ha sido de mucha ayuda para la comprensión de diversos procesos biológicos, conductuales y fisiológicos entre otros. La rata hembra se ha utilizado como un modelo experimental para entender el funcionamiento de los mecanismos neuroendócrinos que se suscitan durante el desarrollo, aportando evidencias que pueden ser aplicadas a una gran variedad de especies. (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

En los animales con reproducción sexual, la reproducción implica cambios estructurales, funcionales y conductuales, los cuales son el resultado de la coordinación de los componentes neuroendócrinos del sistema reproductor que se inicia en la pubertad (Ojeda y col., 1986).

SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO

El sistema reproductor femenino consiste de una serie de componentes primarios y secundarios esenciales para la reproducción sexual. Este sistema está provisto de células gaméticas femeninas (óvulos), además de colaborar con la fertilización interna y ser la incubadora materna para el embrión hasta el momento de su nacimiento.

El sistema reproductor femenino está integrado por componentes craneales y porciones pélvicas. Los componentes craneales incluyen el hipotálamo y la hipófisis. El hipotálamo integra los mensajes externos o internos recibidos y ayuda a responder apropiadamente mediante secreciones hormonales. La porción pélvica la constituyen los órganos sexuales primarios, como son el útero y los ovarios y los órganos sexuales secundarios (Tresguerres, 1999).

OVARIO

En el ovario se pueden distinguir tres zonas: la más externa es la **corteza**, que contiene los folículos con los ovocitos en diferentes estados de maduración. Entre los folículos se encuentra el tejido conectivo de sostén y las células intersticiales (estroma). Las otras dos zonas del ovario son la **médula**, que contiene una rica red vascular y tejido conectivo y el **hilio**, por donde arriban la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos y las terminales nerviosas. El ovario está recubierto por una sola capa de células epiteliales (Tresguerres, 1999).

Los ovarios son glándulas endocrinas ovoides que se desarrollan a partir de un reborde conocido como borde gonadal o genital que sobresale de la cavidad celómica; poseen una superficie de epitelio cúbico simple, este incluye células fusiformes del estroma, similares a fibroblastos, entre las cuales hay innumerables fibras finas de colágeno (David y Cormack, 1988).

El ovario del individuo adulto está constituido por tres unidades funcionales diferentes: el tejido intersticial, los folículos y el (los) cuerpo lúteo (s). Estas estructuras están en constante transformación (Tresguerres, 1999). En la figura 1 se aprecian los compartimentos del ovario de mamíferos.

1. **Compartimiento Folicular.** Formado por los folículos en diferentes estados de desarrollo.
2. **Compartimiento Luteal.** Estructura glandular que se forma a partir de las células de la granulosa y de la teca interna de los folículos que han liberado al ovocito.
3. **Compartimiento Intersticial.** Formado por células con actividad secretora, llamadas células intersticiales primarias en el ovario fetal y por las células de la teca interna de los folículos antrales que presentaron receptores a LH y que experimentan el proceso de atresia, denominadas células intersticiales secundarias (Tresguerres, 1999).

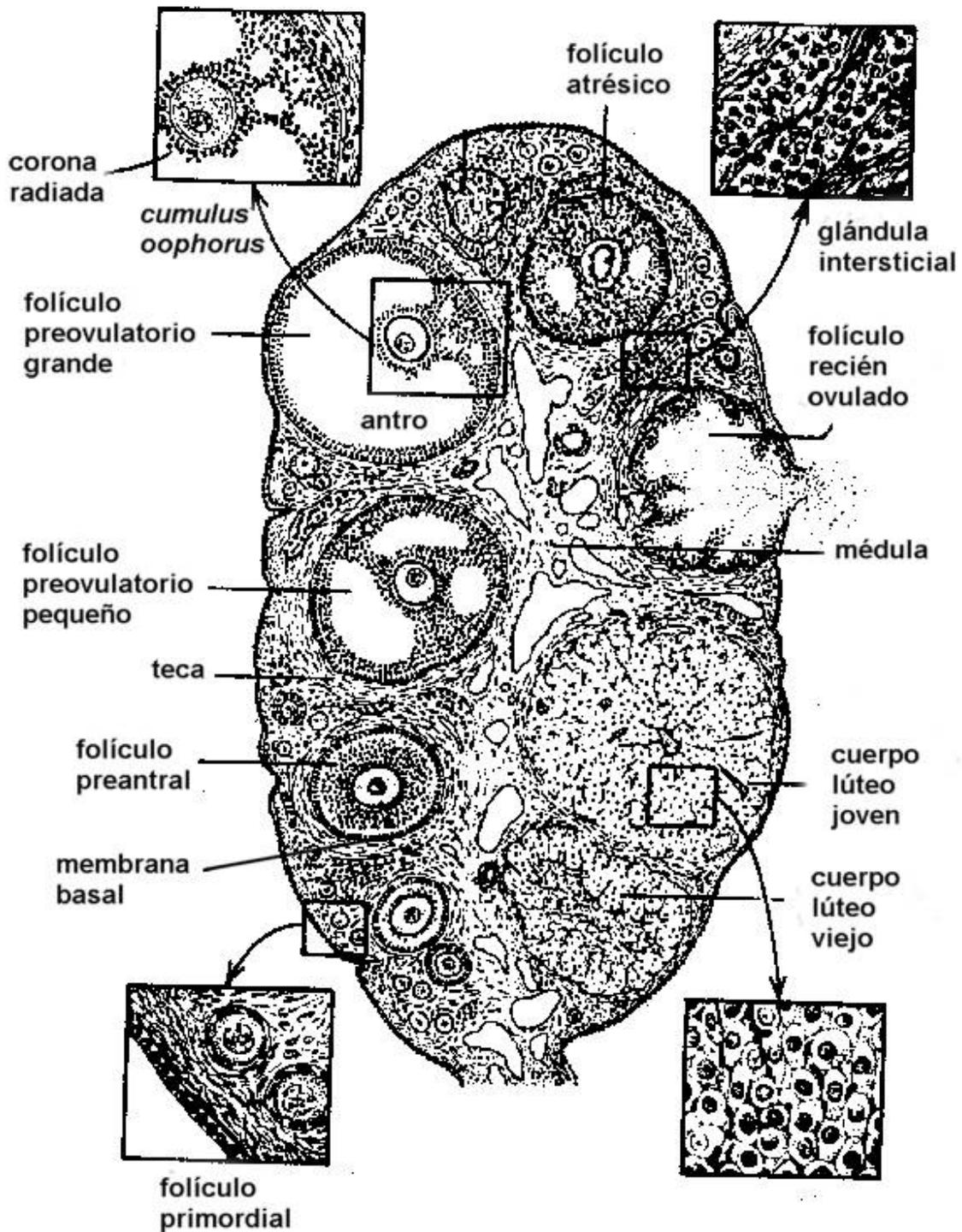


Figura 1. Esquema del ovario de los mamíferos, donde se aprecian los diferentes tipos de folículos en crecimiento. Tomado de Freeman, 1994.

LA PUBERTAD EN LOS MAMÍFEROS

La pubertad es el resultado de un conjunto de cambios neuroendócrinos que se suceden en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, los cuales se acompañan de cambios fenotípicos, los que culminan con el inicio de la función reproductora.

La pubertad se le define como una etapa biológica en la que el individuo pasa de la inmadurez a la madurez sexual (Ramírez, 1973; Ramaley, 1980). Además de la regulación neuroendocrina, esta etapa está influenciada por la información genética particular de cada individuo y por factores externos como son la nutrición, el estímulo social y factores ambientales, entre ellos el fotoperíodo (Ramírez, 1973).

La rata nace en un estado de inmadurez equivalente al del ser humano a los 5 meses de gestación. Tanto en la rata como en el humano la diferenciación sexual del encéfalo se produce por los efectos de la testosterona secretada por los testículos, sobre el sistema nervioso en desarrollo (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

En los roedores, el inicio de la pubertad se caracteriza entre otros eventos, por la canalización de la vagina. En la rata este evento ocurre entre los 30 y 45 días de edad, dependiendo de la cepa (Ramírez, 1973; Ojeda y col., 1983a), la que es seguida por la aparición del primer estro vaginal, evento que puede ir o no asociado a la primera ovulación.

Con base en las modificaciones observadas en diversos parámetros morfo-fisiológicos del eje hipotálamo-hipófisis-gónada, para su estudio Ojeda y Urbanski (1994) dividen el periodo previo a la canalización vaginal en cuatro etapas:

1.- Etapa neonatal

Se inicia al nacimiento y termina a los 7 días de vida postnatal. En la rata, la inyección de gonadotropinas durante los primeros 4 ó 5 días de edad no se acompaña de estimulación por parte del ovario, debido a que los folículos aún no expresan receptores a estas hormonas (Ojeda y Urbanski, 1994). Estas evidencias han permitido sugerir que en esta etapa, el inicio del proceso de foliculogénesis es independiente de las gonadotropinas y podría depender más de factores neurotróficos y de la propia inervación ovárica (Malamed y col., 1992; Ojeda y col., 1997). En el quinto día de edad la FSH estimula la síntesis de estradiol A partir de testosterona. En el torrente sanguíneo se encuentran grandes cantidades de la α -feto proteína, proteína que tiene una afinidad muy elevada por el estradiol, lo que provoca que no se establezca el efecto de retroalimentación inhibitoria, que en el animal adulto ejercen los estrógenos sobre la secreción de gonadotropinas (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

2.- Etapa infantil

La etapa infantil se extiende desde el día 8 día 21 de vida. En esta etapa ocurren una serie de cambios que representan los primeros eventos neuroendócrinos que regulan el momento en el cual se iniciará la pubertad. Desde el día cinco de edad, en la hipófisis aumenta el número de receptores a la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y alcanza su máximo alrededor del día 20 de vida.

La GnRH es liberada en pulsos de baja frecuencia y como resultado de ello la concentración plasmática de la FSH se mantiene elevada y se presentan pulsos esporádicos de LH (Döhler y Wuttke, 1974, Ojeda y col., 1986; Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994).

La concentración plasmática de FSH disminuye después del día 15 y desaparecen los “picos” de LH. Este hecho es explicado por la disminución de la concentración de α -feto proteína por lo que la participación del estradiol en la regulación de la síntesis y liberación de las gonadotropinas se hace más eficiente (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

3.- Etapa juvenil

Abarca del día 22 al día 32 de edad. Como resultado de los eventos neuroendócrinos que se produjeron en la etapa anterior, disminuye la concentración de LH, la que después tiende a aumentar nuevamente y su secreción se da en forma pulsátil (Andrews col., 1981). Ya hacia el final de esta etapa la secreción de LH presenta un ritmo de secreción circádico, donde la concentración de la hormona medida por la amplitud de sus pulsos y la frecuencia de los mismos aumentan diariamente durante la tarde. Al mismo tiempo, en el ovario aumenta la esteroidogénesis, por influencia de la LH y el aumento en el número de receptores a la misma. En cambio, las concentraciones plasmáticas de FSH permanecen bajas (Smith-White y Ojeda, 1981).

4.- Etapa peripuberal

Empieza después de los 33 días de edad y termina con la primera ovulación. En esta etapa se mantiene el patrón circadiano de la secreción de LH. En el ovario aumenta el número de receptores a FSH y LH, lo que se traduce en una respuesta esteroidogénica mayor. La actividad por parte de los folículos ováricos origina el aumento de la concentración de estradiol, progesterona y testosterona. Estas hormonas actúan sobre el hipotálamo donde estimulan la secreción de GnRH, sea de manera directa o indirecta, lo que da como consecuencia un aumento brusco de la concentración preovulatoria de FSH y LH, conocida como “pico” preovulatorio de gonadotropinas, que culmina con la primera ovulación (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

EVENTOS FINALES QUE CONLLEVAN A LA PUBERTAD

Tomando en cuenta los cambios en las características morfofisiológicas del aparato reproductor de rata hembra, Ojeda y Urbanski (1994) dividen la cascada de eventos que culminan con la pubertad en cinco fases diferentes

ANESTRO: El tamaño del útero es pequeño y no contiene líquido. La vagina se encuentra cerrada. En el ovario se observan folículos grandes y una disminución en el número de receptores a la GnRH, mientras que incrementa el número de receptores a la LH.

PROESTRO TEMPRANO: En la luz y en el espacio intersticial del útero se observa la presencia de líquido, lo que provoca que aumente el peso del órgano. Estos cambios son inducidos por el incremento en las concentraciones plasmáticas de estrógenos, sin embargo la vagina aún se encuentra cerrada.

PROESTRO TARDIO: Se le considera el primer proestro. El útero es grande debido a la acumulación de líquido, por lo que su peso llega a ser el máximo. La vagina en este momento generalmente se encuentra cerrada, pero en los animales que ya se encuentra abierta el frotis vaginal se caracteriza por un gran número de células epiteliales nucleadas. En los ovarios se observan folículos preovulatorios.

En la tarde se observa la máxima concentración de estrógenos que estimula la secreción de la GnRH, y por ende el "pico" preovulatorio de las gonadotropinas, las cuales estimulan la maduración final de los folículos y la ovulación.

ESTRO: El peso del útero es bajo y no presenta líquido en la luz. La vagina esta abierta y el epitelio vaginal se caracterizan por el predominio de células anucleadas en forma de escamas. En este día la primera ovulación ocurre en la mayoría de los casos, por lo que el ovario presenta cuerpos lúteos recién formados. La concentración plasmática de estradiol y de LH es menor en relación

al proestro. La concentración de progesterona aumenta y la FSH presenta un segundo “pico”.

PRIMER DIESTRO: La citología vaginal muestra el predominio de leucocitos. En el ovario se observan cuerpos lúteos maduros. Las concentraciones plasmáticas de estrógenos y gonadotropinas continúan disminuyendo en relación al proestro (Ojeda y Urbanski, 1994).

El folículo es la unidad anatómica y funcional del ovario y está formado por el ovocito, las células de la granulosa, la membrana basal, las tecas interna y externa. La teca externa está formada por fibras de colágeno, células del tejido conectivo y fibras musculares lisas. El ovocito y las células de la granulosa no reciben en forma directa, riego sanguíneo ni fibras nerviosas (Burden, 1978; Aguado y Ojeda, 1984; Domínguez y col., 1991).

INERVACIÓN OVÁRICA

A partir de los años 70's se postuló que aunado al control ejercido por las hormonas secretadas por el hipotálamo, el ovario se encuentra regulado por componentes del sistema nervioso simpático, parasimpático y sensorial (Domínguez y Riboni, 1971; Burden y Lawrence, 1977; Burden, 1978; Burden y col.,1980).

La *inervación simpática* que llega al ovario es dada principalmente por el nervio ovárico superior y el plexo ovárico, mientras que la información *sensorial* es aportada por el nervio vago y en menor proporción por el plexo ovárico (Burden, 1978; Lawrence y Burden, 1980).

El sistema simpático consiste en una cadena de ganglios (grupo de neuronas) interconectados que se localizan a cada lado de la columna vertebral, que envían fibras nerviosas a varios ganglios más grandes, como el ganglio celíaco. Éstos a su vez dan origen a nervios que se dirigen a los órganos internos. Los ganglios de las cadenas simpáticas se conectan con el SNC por finas ramificaciones que unen cada ganglio con la médula espinal (Guyton, 1984).

Inervación Parasimpática

Las neuronas que dan origen a las fibras del sistema parasimpático se localizan en el tronco cerebral (mesencéfalo, protuberancia y bulbo) y salen del cerebro como los pares craneales. , en especial los nervios espinales y el nervio vago, pasan a los ganglios y plexos (red de nervios) situados dentro de varios órganos. La parte inferior del cuerpo está inervada por fibras que surgen del segmento inferior (sacro) de la médula espinal y pasan al ganglio pélvico, del cual parten los nervios hacia el recto, la vejiga y los órganos genitales.

La inervación parasimpática del ovario llega principalmente por el nervio vago (Hill, 1962; Burden y Lawrence, 1977) y por neuronas localizadas en los segmentos S₂-S₄ de la médula espinal por intermedio del plexo hipogástrico (Mitchel, 1988), aunque en la rata esta última conexión no se ha confirmado (Burden, 1985). El soma de las neuronas que inervan al ovario y que provienen del nervio vago, se localiza en el ganglio nodoso y en las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos T₁₀ a L₂ (Burden y col., 1983).

A nivel subdiafragmático los nervios vago se localizan por delante y por detrás de la última porción del esófago y el comienzo del estómago, de manera que se describe que existen dos troncos, tal y como se muestra la en la figura 2:

- Tronco anterior o izquierdo, del que se originan las ramas hepática, celiaca accesoria y la rama gástrica anterior.
- Tronco Posterior o derecho, del que se originan las ramas celiaca y la rama gástrica posterior.

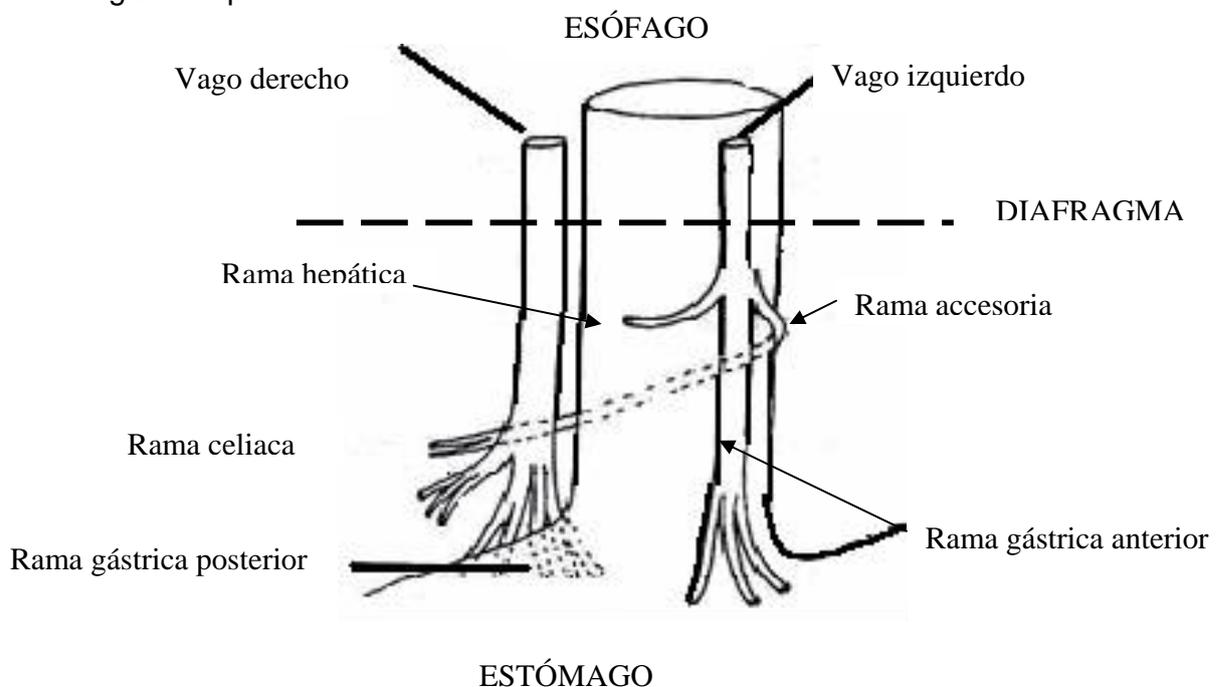


Figura. 2. Esquema de la distribución que siguen los troncos vagales a nivel subdiafragmático en la rata. Tomada de Powley y col; 1983.

Fibras Sensoriales

Según Calka y col. (1988) las fibras sensoriales que transcurren por el nervio vago, podrían ser una vía de modulación de las funciones del ovario, ya que aunque no se conoce con precisión la localización de las terminales sensoriales en el ovario, existen evidencias de que se han localizado en el tejido intersticial y algunas veces en las inmediaciones del folículo ovárico.

La naturaleza de la información que estas fibras sensoriales llevan al SNC, permanece incierta, pero pudieran participar como un “sensor” del estado individual de los folículos en desarrollo.

De esta manera estamos ante la presencia de componentes eferentes y aferentes del ovario que proveen una vía anatómica que puede participar en el control de la función de la gónada.

De manera general se acepta que la información que transcurre por el nervio vago y que llega al ovario es predominantemente de carácter sensorial (Burden y col., 1983). Por estudios de inmunohistoquímica se ha mostrado que en el nervio vago se almacena y se libera sustancia P (SP), en cantidades considerablemente mayores que otros neurotransmisores como el péptido intestinal vasoactivo (VIP) o la somatostatina (Gilbert y col., 1980).

Con el uso de trazadores nerviosos retrógrados, se ha mostrado que el ovario es inervado por fibras provenientes del nervio vago (Gerendai y col., 2000). Existen una serie de trabajos que muestran que la información neural que transcurre por el nervio vago es fundamental en la regulación de las funciones reproductivas (Gabella y Pease, 1973; Burden y Lawrence, 1977; Burden y col., 1980;1983; Gerendai y col., 2000; 2002).

REGULACIÓN DE LA SECRECIÓN HORMONAL

Las hormonas ejercen sus funciones biológicas en concentraciones del orden de 10^{-6} - 10^{-12} M, y actúan como catalizadores de reacciones preexistentes. Algunas hormonas actúan exclusivamente sobre un tipo celular (tejido diana específico), mientras que otras lo hacen sobre distintos tipos celulares, siempre y cuando estos sitios dispongan de receptores específicos para dicha hormona (Tresguerres, 1999).

El control de la secreción hormonal se realiza a través de sistemas cerrados, mediante circuitos de retroalimentación (feed-back). Dado que cada circuito funciona conectado a otro u otros, los mecanismos de regulación conforman un sistema cibernético en el que cada hormona, en vez de funcionar independientemente, lo hace en relación de interdependencia con los demás componentes de cada sistema (Tresguerres, 1999).

ACTIVIDAD HORMONAL DEL OVARIO

La función secretora del ovario es representada por la producción de sustancias hormonales de las cuales algunas son derivados del colesterol (estrógenos, progesterona, andrógenos) y otras son de naturaleza peptídica (relaxina, activita, inhibina) (Gómez y Paniagua, 2002).

BIOSÍNTESIS DE HORMONAS ESTEROIDES

El colesterol es el precursor inicial en la síntesis de las hormonas esteroides. Las células con función esteroidogénica pueden obtener el colesterol principalmente de tres formas: 1) incorporarlo de la sangre a partir de lipoproteínas circulantes, 2) utilizar el colesterol almacenado bajo formas de ésteres en las inclusiones de lípidos del citoplasma, 3) sintetizarlo de "novo" a partir de acetato (Koritz y Hall, 1964). Aunque cada tipo celular puede usar en forma preferencial una de estas fuentes, por lo general las células esteroidogénicas del ovario obtienen el colesterol de las lipoproteínas circulantes (Solod y col., 1966).

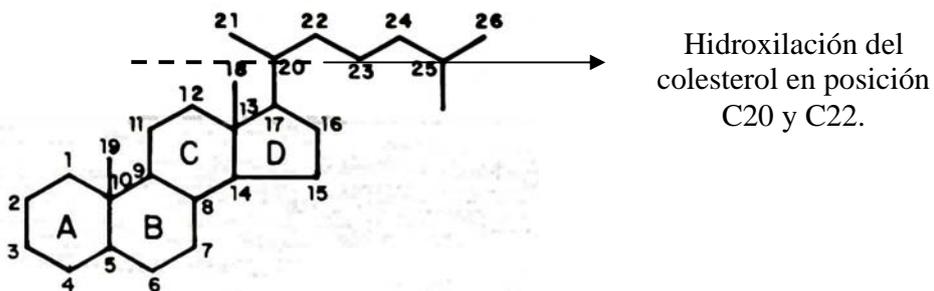


Figura 3. Núcleo básico de las hormonas esteroides (Tomada de Pedernera, 1993).

BIOSÍNTESIS DE PREGNENOLONA

La formación de pregnenolona es el primer paso en el inicio de la biosíntesis de todas las hormonas esteroides.

Para ello, el colesterol es hidroxilado en la posición 20 y 22 (figura 3), lo que permite el corte de la cadena lateral formando un compuesto de 21 carbonos y liberando aldehído isocaproico (figura 4). Este proceso implica la participación de tres componentes: 1) un citocromo P450, proteína de tipo hemo que hidroxila y puede cortar las uniones C-C (P450_{scc}), 2) una flavoproteína, flavina adenina dinucleótido (FAD), como transportador de electrones y 3) una proteína de tipo hemo. Todo este proceso se produce en la membrana interna de las crestas mitocondriales, como se muestra en la figura 4.

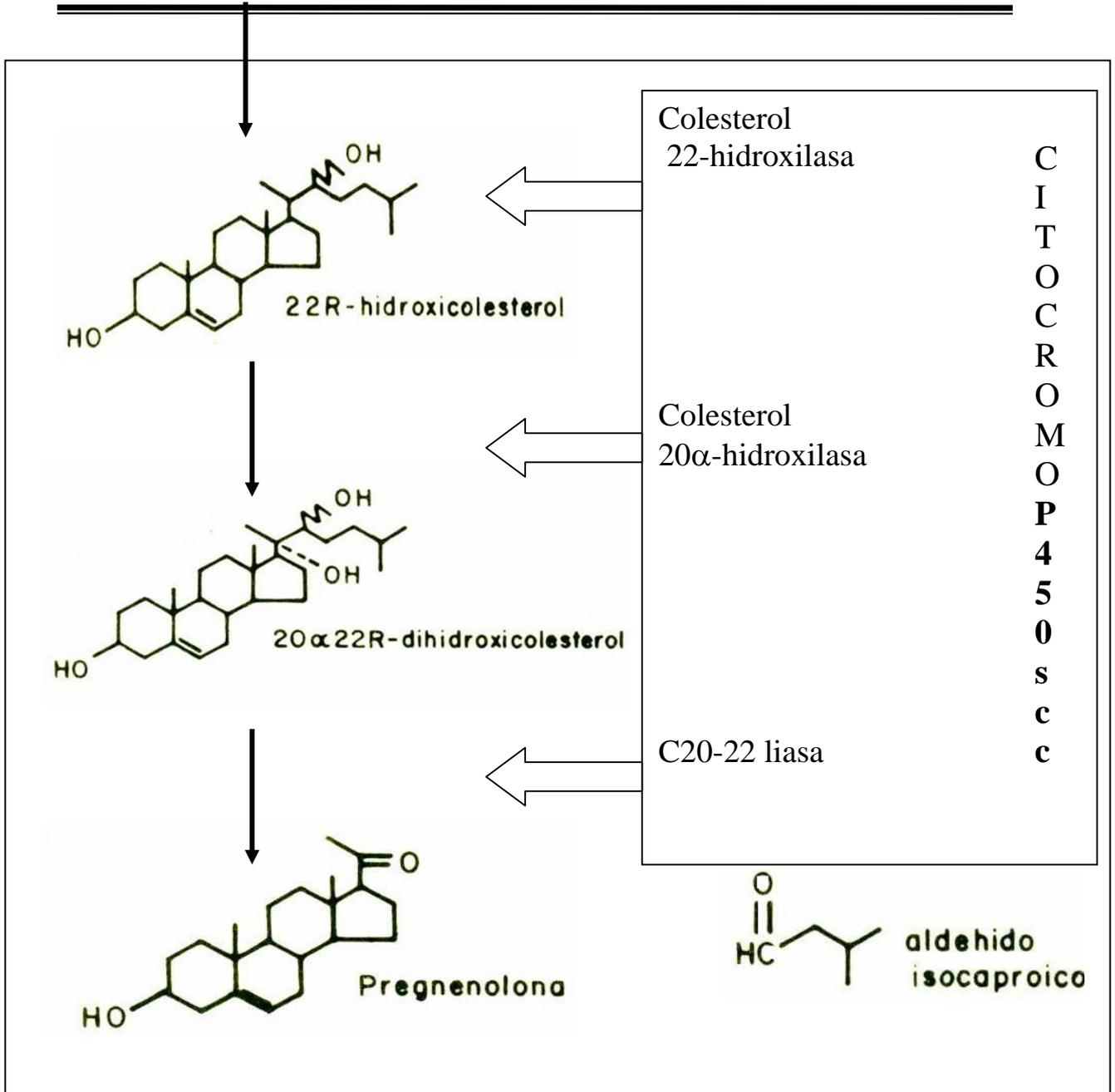


Figura 4. Esquema de la biosíntesis del colesterol y de su biotransformación a pregnenolona. Tomado de Pedernera 1993.

ORIGEN DE LAS HORMONAS ESTEROIDES

La pregnenolona puede originar dos compuestos a los que se llega por diferentes rutas biosintéticas. Una alternativa es ser transformada a progesterona. Este paso requiere la participación de un complejo enzimático microsomal, la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, Δ 5-4 isomerasa (3β -HSD). Aunque no se ha podido determinar si existe una actividad individual de la isomerasa y de la deshidrogenasa en las células de los mamíferos, se considera que ambas actúan en conjunto y funcionan como una sola proteína que tiene la misma función. La otra alternativa es que la pregnenolona sea metabolizada por el complejo 17 α hidroxilasa, C17-20 liasa. La cual es un citocromo P-450 (P450 C17). La enzima es microsomal y requiere NADP y sólo FAD como transportador de electrones.

Los sustratos de la enzima pueden ser pregnenolona y progesterona, y los productos serán deshidroepiandrosterona (DHEA) o androstendiona respectivamente. A su vez la DHEA puede ser transformada a androstendiona por acción de la 3β -HSD, como se observa en la figura 5.

En conclusión la vía metabólica que va desde pregnenolona a DHEA se le conoce como 5-ene, mientras que la secuencia que pasa por progesterona para terminar en androstendiona se le conoce como 4-ene (Pedernera, 1993).

BIOSÍNTESIS DE ESTRÓGENOS

Los andrógenos como la androstendiona y la testosterona pueden atravesar la membrana basal y ser incorporados al citoplasma de la célula de la granulosa. En las células de la granulosa la FSH incrementa la actividad del complejo enzimático aromatasa, lo que provoca que los andrógenos sean aromatizados a estrógenos (Pedernera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

Conforme el folículo madura las células de la granulosa adquieren receptores a LH. El incremento en las concentraciones séricas de los estrógenos sensibilizan a la hipófisis al efecto de la GnRH, provocando el “pico” preovulatorio de las gonadotropinas y por ende la ovulación (Domínguez y col., 1991; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

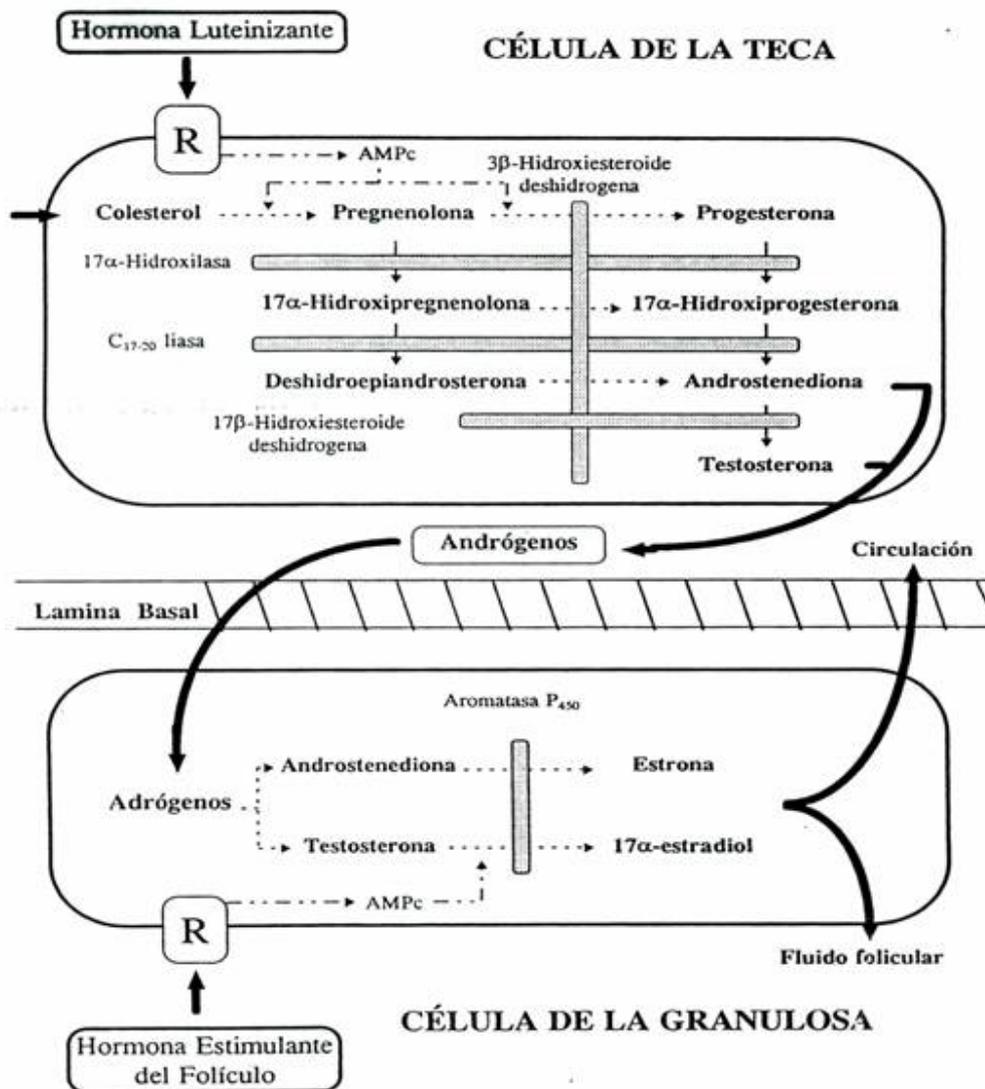


Figura 5.- Biosíntesis de hormonas esteroides en el ovario. Modificado de Gore-Langton y Armstrong, 1994.

En el caso del folículo ovárico es necesaria la participación de dos poblaciones celulares en la biosíntesis de hormonas esteroides, las células de la teca y la granulosa (Rajendran y col., 1983).

En el ovario la liberación de estrógenos por parte del folículo se produce bajo el control del hipotálamo y de las gonadotropinas hipofisarias. La influencia de ellos en los órganos periféricos se conoce ya desde hace tiempo, y no solo influye en los órganos sexuales secundarios, sino que además en los órganos tubulares como el útero, estas hormonas son necesarias antes de que se presente la fase progestacional, necesaria para llevar a cabo la nidación del huevo (Pedernera 1993).

En la esteroidogénesis ovárica se requiere de la participación conjunta de las células de la teca y de la granulosa. Las células tecales se encargan de producir andrógenos, los cuales atraviesan la membrana basal y llegan a las células de la granulosa, donde son biotransformados a estrógenos, mediante difusión penetran en la sangre y en el líquido folicular. Existen varios tipos de estrógenos, los más conocidos son: estriol, estrona y estradiol. Estos estrógenos tienen un carácter esteroidal, con un núcleo básico de cuatro anillos aromáticos, tres ciclohexanos (denominados A,B,C) y un ciclopentano D, (figura 6). Toda la molécula es conocida como ciclo-pentanoperhidrofenantreno (Pedernera, 1993). Si se encuentran en el anillo A tres dobles enlaces se desarrolla el anillo aromático y esta configuración junto con un grupo fenólico es típica para los estrógenos (Hafez, 1974).

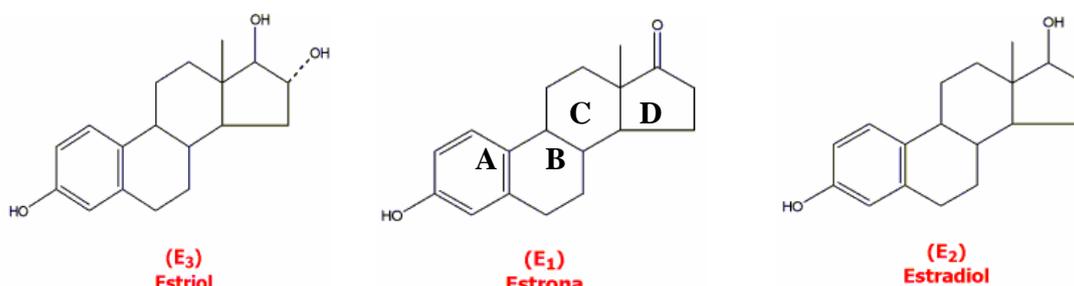


Figura 6. Estructuras químicas de esteroides como el estriol, estrona y estradiol. Tomada de Tresguerres 1999.

CICLO ESTRAL

En la mujer el útero responde a los cambios endócrinos del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, cuando no ocurre la fecundación del óvulo, se presenta la descamación del endometrio, fenómeno conocido como ciclo menstrual, que es una expresión repetitiva que ocurre cada mes. En la rata se producen cambios a nivel de la histología vaginal, que caracterizan a lo que conocemos como ciclo estral y éste se repite cada 4 ó 5 días.

El ciclo estral en la rata se encuentra bajo la influencia de factores exteroceptivos como la luz, la temperatura y las sustancias químicas percibidas por el sentido del olfato. Con base en los cambios que se producen en el epitelio vaginal durante el ciclo estral, este se divide en 4 fases: estro, metaestro, diestro y proestro, como se muestra en la figura 7 (Tresguerres, 1999).

En la fase del estro el frotis vaginal se caracteriza por numerosas células escamosas y cornificadas, se presenta la ovulación y los ovocitos se encuentran en el oviducto; el folículo post-ovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo. En este día se alcanza el umbral de los estrógenos y estos actúan sobre el hipotálamo y estimulan la descarga de GnRH (Tresguerres, 1999).

Al día siguiente aparece la fase de metaestro, que tiene aproximadamente la misma duración que la fase de estro. La monta y la cópula ya no son permisibles. La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo y la de estradiol por los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas. La vascularización y la motilidad del útero están disminuidas (Tresguerres, 1999).

La fase del diestro dura de 60 a 70 horas. Durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis), siempre y cuando no haya habido cópula que en algunos roedores estimula la liberación de prolactina. Mientras tanto la secreción de estradiol por los folículos en crecimiento sigue aumentando.

La última fase del ciclo estral es el proestro, la hembra permite el acercamiento, la monta por el macho y la cópula. Los folículos han adquirido el estadio de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol. Esta hormona ejerce ahora un efecto estimulante sobre la secreción de gonadotropinas. La LH produce la ovulación y la luteinización del folículo postovulatorio. El útero, por acción del estradiol se hace extremadamente contráctil y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas. La cópula solo es permitida en el proestro tardío con el comienzo de la fase de oscuridad. La secreción de FSH en la mañana del día del estro que es debida a la disminución de la secreción ovárica de inhibina, estimula el crecimiento folicular (Tresguerres, 1999).

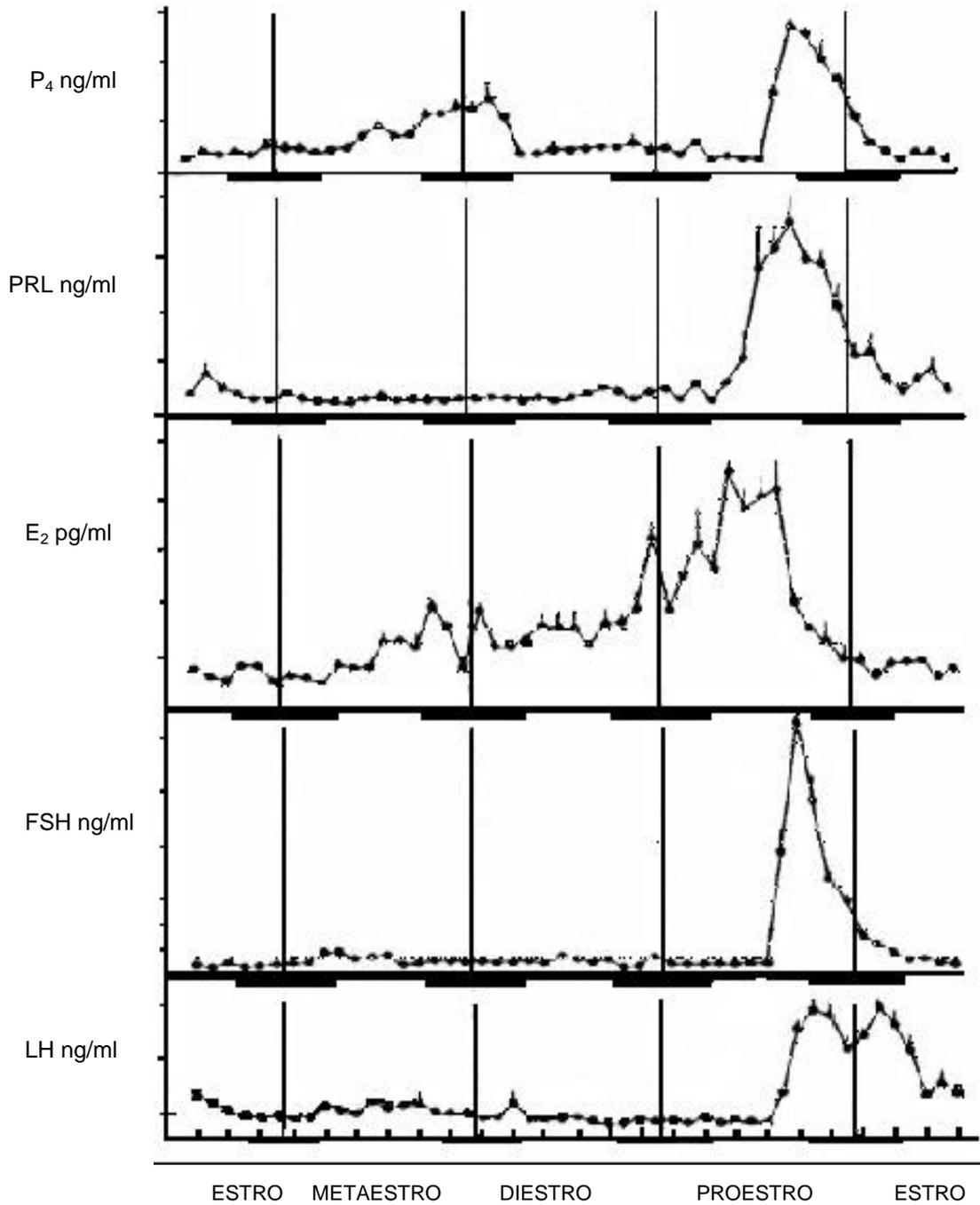


Figura 7. Concentraciones plasmáticas de progesterona, prolactina, estradiol, LH y FSH obtenidas a intervalos de 2 horas, a lo largo del ciclo de la rata.

ASPECTOS ANATÓMICOS Y FUNCIONALES DEL NERVIOS VAGO

El nervio vago es el décimo par craneal y el 75% de las fibras nerviosas son de naturaleza parasimpática, además posee neuronas preganglionares que inervan a músculos no estriados (liso) y a elementos glandulares de las vísceras torácicas abdominales (Guyton y Hall, 2001).

El nervio vago se origina a partir del núcleo ambiguo, cardioneumoentérico, motor dorsal del vago y de la parte inferior del núcleo del tracto solitario (Bouchet y Cullieret, 1978). Es un nervio de los denominados mixtos, ya que su composición es de fibras motoras sensitivas y parasimpáticas de tipo colinérgico (Guyton y Hall, 2001).

El nombre de nervio vago es debido a la gran distribución que presenta, al inervar muchas regiones del cuerpo, ya que envía fibras motoras colinérgicas al corazón, pulmón, estómago, duodeno, hígado, páncreas, intestino delgado y la parte alta de los uréteres y a las gónadas (Brown, 1994; Guyton, 1984).

Agostoni y col. (1957) mostraron que más del 90% de las fibras vagales que pasan por debajo del diafragma, son de naturaleza sensorial. Se ha propuesto que las fibras aferentes viscerales del ovario, contenidas en el tronco anterior y posterior del vago, podrían estar modulando algunas funciones del ovario (Burden y col., 1983).

Existen algunas evidencias de tipo anatómicas en donde se muestra una conexión entre el núcleo del tracto solitario y los centros hipotalámicos (área preóptica, núcleo arcuato, núcleo dorsomedial y núcleo paraventricular) que regulan la liberación de gonadotropinas (Ricardo y Koh., 1978; Gerendai y col., 2002). Así se piensa que el control ejercido por el hipotálamo y por regiones extrahipotalámicas influyen en la regulación de la secreción de GnRH y de gonadotropinas por parte de la hipófisis.

El ovario envía información por medio de las fibras aferentes que se proyectan al ganglio sensorial autónomo y de ahí al cordón espinal, donde la información sensorial es acarreada al núcleo del tracto solitario, y de ahí, al hipotálamo y al sistema límbico (Contreras y col., 1980; Domínguez, 1992; Brown, 1994). Posteriormente la información es procesada en el SNC, en donde se genera una respuesta, la cual será enviada hacia el ovario mediante la inervación simpática, con lo cual se cierra el circuito neural (figura 8).

En recientes estudios en los que se inyectan trazadores retrógrados a nivel del ovario se observaron marcas a nivel de varios núcleos hipotalámicos, entre ellos el núcleo paraventricular y el supraóptico, evidencia morfológica de la existencia de una conexión neural multisináptica entre SNC y el ovario (Gerendai y col., 1998; 2000).

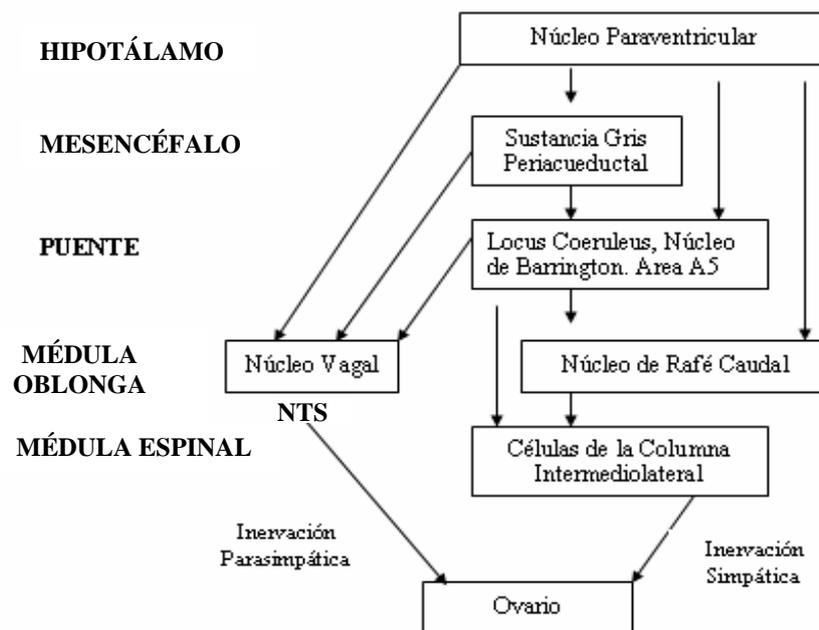


Figura 8. Conexiones descendentes entre el SNC y el ovario. Tomada de Gerendai y col., 2002.

PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO VAGO EN LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA

La producción de gametos viables y la secreción de hormonas por parte del ovario, son reguladas por las hormonas hipotalámicas e hipofisarias y por las que son sintetizadas por la misma gónada (andrógenos, progesterona y estrógenos).

Actualmente es aceptado que la acción y probablemente la secreción de las hormonas ováricas esta modulada por la inervación extrínseca del ovario (Domínguez y Riboni 1971; Bahr y col., 1974; Lawrence y Burden 1976; Gerendai y col., 1978; Stefenson y col., 1981; Burden y col., 1983; Burden, 1985; Morales y col., 1993; Gerendai y Halász, 1997; Ojeda y col., 1997; Morán y col., 2000; 2003).

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

Existe una serie de estudios que muestran que la información neural que transcurre por el nervio vago modula algunas de las funciones reproductivas (Gabella y Pease, 1973; Burden y Lawrence, 1977; Burden y col., 1980; 1983). Este nervio vago es una vía por la que el ovario manda información al SNC para generar una respuesta (Hill, 1962; Burden y Lawrence, 1977; Cruz y col., 1986; Chávez y col., 1987).

Se ha estudiado la participación de la inervación vagal en la regulación de las funciones ováricas utilizando metodologías en las que se realiza la denervación quirúrgica parcial o total, denominada comúnmente como vagotomía.

Diversos autores señalan que la vagotomía modifica el control de diversas funciones del ovario como es la secreción de gonadotropinas (Burden, 1978; Smith-While y Ojeda 1981; Ojeda y col., 1983; Leonard y col., 1984). En ratas adultas la sección unilateral del nervio vago no modifica el ciclo estral. Sin embargo el número de ovocitos liberados se incrementa cuando se realiza la sección bilateral del nervio vago (Cruz y col., 1986).

En ratas preñadas la vagotomía produce disminución en el número de fetos vivos e incrementa el número de reabsorciones fetales, esto debido a una caída en las concentraciones séricas de progesterona y de la LH (Lawrence y col., 1978).

En la rata con ovariectomía unilateral la vagotomía bilateral bloquea el proceso de hipertrofia compensadora ovárica y la liberación de gonadotropinas 5 horas posteriores a la cirugía (Burden y Lawrence 1977; Burden y col., 1986). En la rata con estimulación cervical la vagotomía realizada en la mañana del estro bloquea la inducción de pseudopreñes y la respuesta desidual (Burden y col., 1981).

El grupo de Ojeda (1983b), mostró que la vagotomía bilateral realizada en el animal prepúber provoca retraso en el inicio de la pubertad, este comportamiento también se observa cuando la denervación se practica de manera unilateral (Morales y col., 2004).

El conjunto de evidencias descritas anteriormente apuntan a que el nervio vago es un componente importante en la regulación de las funciones ováricas, aunque no se puede descartar la participación de otro componente neural, como por ejemplo la de las neuronas intrínsecas que se han descrito en el ovario de ciertas cepas de rata (D'Albora y col., 2000).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con base en los antecedentes antes mencionados, podemos proponer que en el animal adulto el nervio vago es una vía importante en la regulación de los procesos que conllevan a la secreción de hormonas esteroides y gonadotrópicas. Sin embargo, existe poca información sobre como funcionan estos mecanismos de regulación al inicio de la pubertad.

En evidencias recientes de nuestro laboratorio mostramos que en la rata prepúber el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de estrógenos (Betanzos, 2001). Por ello, a fin de analizar si en la etapa juvenil de la rata ya se presentan los fenómenos de asimetría descritos en el animal adulto, en el presente estudio se analizó el papel del nervio vago izquierdo y derecho sobre la regulación de la esteroidogénesis y en el inicio de la pubertad y si los ovarios tienen diferentes capacidades en la secreción hormonal, para lo cual se utilizó el modelo del animal con ovariectomía unilateral.

HIPÓTESIS

Dado que el proceso de esteroidogénesis por parte del ovario es regulado por las hormonas hipotalámicas-hipofisarias y por la inervación que recibe las gónadas, la ovariectomía unilateral, y la eliminación de la información neural que transcurre por el nervio vago resultarán en la modificación de la secreción de las hormonas ováricas e hipofisarias y el inicio de la pubertad, las que dependerán del nervio seccionado, el ovario *in situ* y la edad en que los animales son tratados.

OBJETIVO GENERAL

- Analizar los efectos de la sección unilateral o bilateral del nervio vago, en el animal con ovariectomía unilateral en la etapa juvenil, sobre el inicio de la pubertad y la esteroidogénesis ovárica.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Analizar los efectos de la sección del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos troncos vagales en el animal con ovariectomía unilateral en la etapa juvenil (28 ó 32 días de edad), sobre la edad de apertura vaginal (inicio de la pubertad).
- Analizar los efectos de la sección del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos troncos vagales en el animal con ovariectomía unilateral en la etapa juvenil (28 ó 32 días de edad), sobre la concentración sérica de progesterona, testosterona y estradiol.
- Analizar los efectos de la sección del nervio vago izquierdo, derecho o de ambos troncos vagales en el animal con ovariectomía unilateral juvenil (28 ó 32 días de edad), sobre la concentración sérica de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH).

MATERIAL Y MÉTODO

Se utilizaron ratas hembras preñadas de la cepa CII-ZV, se registró el momento del nacimiento (día cero) y las crías se colocaron en grupos de seis por camada (cinco hembras y un macho) con la finalidad de evitar alteraciones en la maduración del SNC y del aparato reproductor del animal (Salas y col., 1991). Las crías fueron mantenidas bajo condiciones controladas de iluminación con 14 h de luz y 10 h de oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h). El destete se realizó el día 21 de vida, a partir de este momento los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

Todos los tratamientos quirúrgicos se realizaron cuando las hembras cumplieron los 28 ó 32 días de edad. Para ello, los animales fueron anestesiados con éter entre las 9:00 y las 12:00 h y antes de iniciar la cirugía a todos los animales se les registró el peso corporal y se marcaron en las orejas para realizar un control adecuado. Los animales fueron asignados al azar a alguno de los siguientes grupos experimentales, cada uno de los cuales estuvo formado por 8 a 10 animales.

- **Grupo Testigo**

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

- **Operación Simulada (OS)**

Una vez anestesiados, en los animales se realizó una incisión longitudinal ventral en la línea media del cuerpo de 2 cm de largo, que abarcó piel y músculo en inmediatamente se suturó la herida.

- **Ovariectomía Izquierda (OUL-I) o Derecha (OUL-D)**

En este caso, una vez que se realizó la incisión se localizó y se extrajo uno de los ovarios ya sea el izquierdo o derecho y de inmediato se suturó la herida.

- **Sección Uni o Bilateral del Nervio Vago más Ovariectomía Unilateral**

En todos los casos se realizó primero la vagotomía unilateral o bilateral (figura 9), e inmediatamente después, se extirpó el ovario izquierdo o derecho.

Una vez terminado el tratamiento, los animales se regresaron a condiciones de bioterio. Se revisaron diariamente para registrar la edad de apertura vaginal, cuando ésta ocurrió fueron separadas del macho. A partir de ese momento, se procedió a tomar frotis vaginales que se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina para ser observados al microscopio.

Los animales fueron sacrificados cuando se observó el primer estro vaginal, el cual se caracterizó por la presencia de escamas.

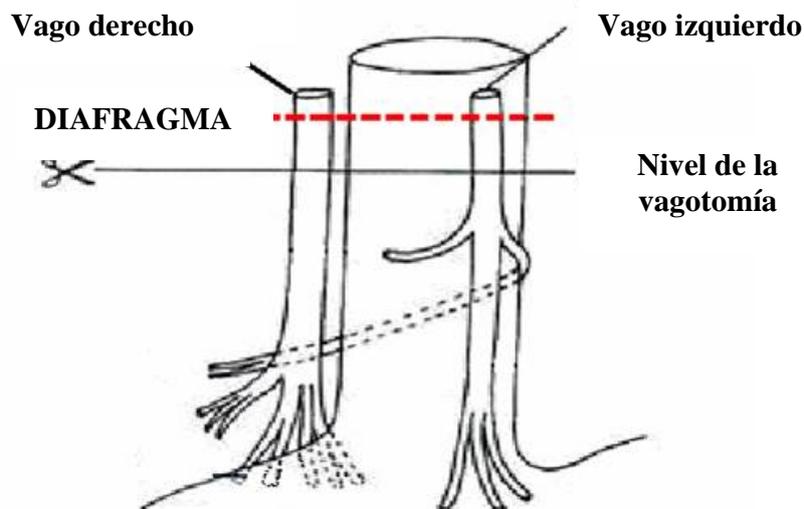


Figura 9. Esquema que muestra a que nivel se realizó la sección de los troncos vagales. Tomada de Powley y col., 1983.

- **Obtención de muestras**

Los animales fueron sacrificados por decapitación entre las 9 y a las 11 h., del día en el cual presentaron el primer estro vaginal. La sangre del tronco se colocó en tubos de ensaye y se dejó coagular por 30 minutos a temperatura ambiente. Las muestras se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 15 minutos. Se separó el suero del botón celular y cada muestra fue dividida cinco alícuotas de 150 microlitos cada una, mantenidas a -20 °C, hasta que fueron utilizadas para cuantificar progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH por radioinmunoanálisis (RIA).

CUANTIFICACIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FSH Y LH.

La progesterona, testosterona y estradiol fueron cuantificadas por 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 μ l) y un ml de la hormona radioactiva (I^{125}). Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante tres 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 gama modelo Cobra 5005, Pckard™, en función de las cuentas por minuto y de una curva de calibración.

La medición de FSH y LH se realizó por RIA de doble anticuerpo. Se procedió de la siguiente manera: a 100 μ l de suero problema se le añadieron 100 μ 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) según sea el caso. Después, se incubó a temperatura ambiente por 24 hrs.

A continuación, se agregaron 100 µl del segundo anticuerpo (suero normal de conejo) y se incubó durante dos horas, posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 r.p.m. a -4 °C por 30 minutos, el sobrenadante fue decantado, se secaron las paredes de cada tubo y se colocaron, para ser analizadas, en un contador de centelleo gama modelo Cobra 50005, Packard™.

Coefficientes intra e ínterespecíficos utilizados para la cuantificación de progesterona, testosterona y estradiol.

Hormona	Intra	Inter
Progesterona	8.35	9.45
Testosterona	9.65	10.2
Estradiol	8.12	9.28

La cuantificación de hormonas 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”.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la edad de apertura vaginal y del primer estro se analizaron por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney. Los resultados de las concentraciones de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH fueron analizados por un Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. Cuando se compararon dos grupos experimentales, se utilizó la prueba de “t” de Student. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

EXPERIMENTO 1

**EFEECTO DE LA LAPAROTOMIA SOBRE EL INICIO DE LA
PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA,
TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FSH Y LH.**

En comparación con el grupo de animales intactos, la operación simulada efectuada a los 28 ó 32 días de edad resultó en un retraso significativo en la edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal (cuadro 1).

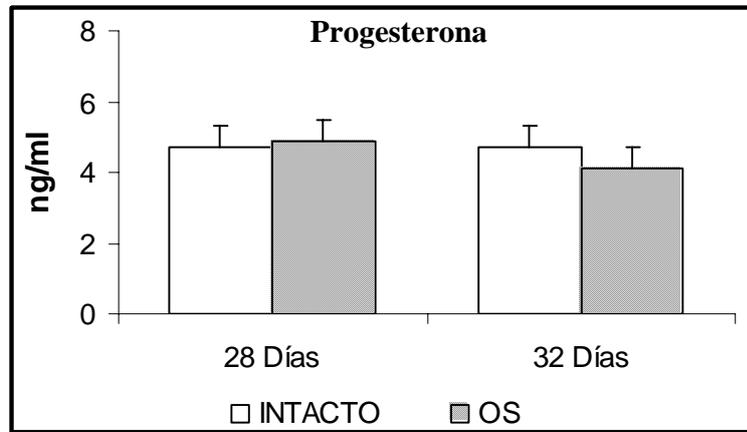
Cuadro 1. Media \pm e.e.m. de la **edad de la apertura vaginal y del primer estro** de animales intactos o con operación simulada (OS) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
Intactos	7	35.8 \pm 0.5	36.7 \pm 0.6
OS (28 días)	12	38.7 \pm 0.8 *	40.1 \pm 0.9 *
OS (32 días)	8	38.2 \pm 0.5 *	40.7 \pm 1.1 *

* $p < 0.05$ vs. Intactos (Kruskal Wallis seguida por la prueba U-Mann Whitney).

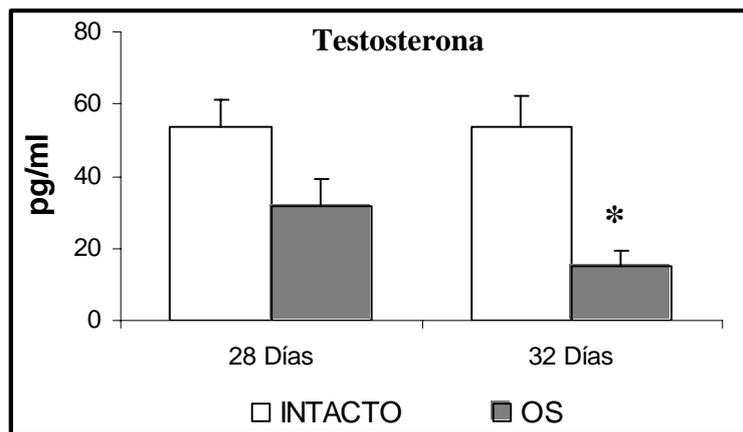
La operación simulada realizada en ratas de 28 ó 32 días de edad, no modificó de manera significativa la concentración de progesterona (figura 10).

Figura 10. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales intactos o con operación simulada (OS) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



En los animales de 28 días de edad la operación simulada no modificó de manera significativa la concentración de testosterona, mientras que en los animales de 32 días de edad resultó en una disminución significativa (figura 11).

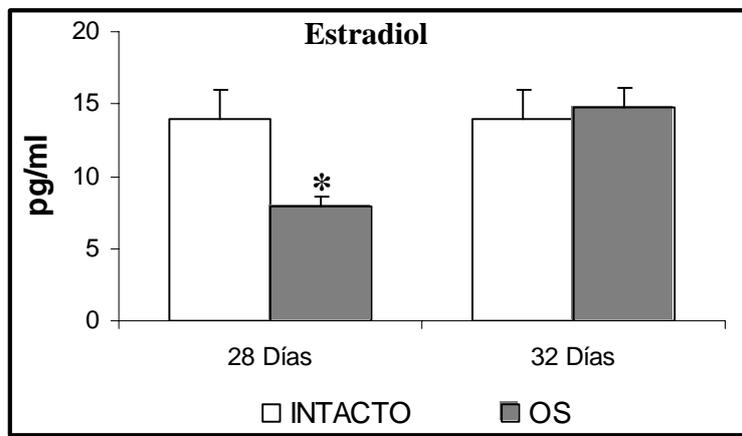
Figura 11. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales intactos o con operación simulada (OS) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. Intacto (prueba "t" de Student).

En comparación con el grupo testigo, la operación simulada realizada en animales de 28 días de edad resultó en una disminución significativa de la concentración de estradiol. Esta misma cirugía realizada en ratas de 32 días de edad no modificó este parámetro (figura 12).

Figura 12. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales intactos o con operación simulada (OS) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. Intacto (prueba "t" de Student).

La operación simulada efectuada en ratas de 28 ó 32 días de edad no modificó significativamente las concentraciones de gonadotropinas (cuadro 2).

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **FSH y LH** de animales intactos o con operación simulada (OS) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	FSH ng/ml	n	LH ng/ml
Intactos	11	22.2 \pm 2.4	11	2.2 \pm 0.3
OS (28 días)	8	29.7 \pm 4.2	14	2.5 \pm 0.3
OS (32 días)	6	26.2 \pm 2.1	7	1.4 \pm 0.1

EXPERIMENTO 2

EFFECTO DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FSH Y LH.

La ovariectomía unilateral realizada en animales de 28 (cuadro 3) ó 32 (cuadro 4) días de edad no modificó de manera significativa la edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal, comparado con el grupo con operación simulada.

Cuadro 3. Media \pm e.e.m. de la **edad de la apertura vaginal y del primer estro** de animales con operación simulada o con ovariectomía del **lado izquierdo o derecho** realizada a los **28 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

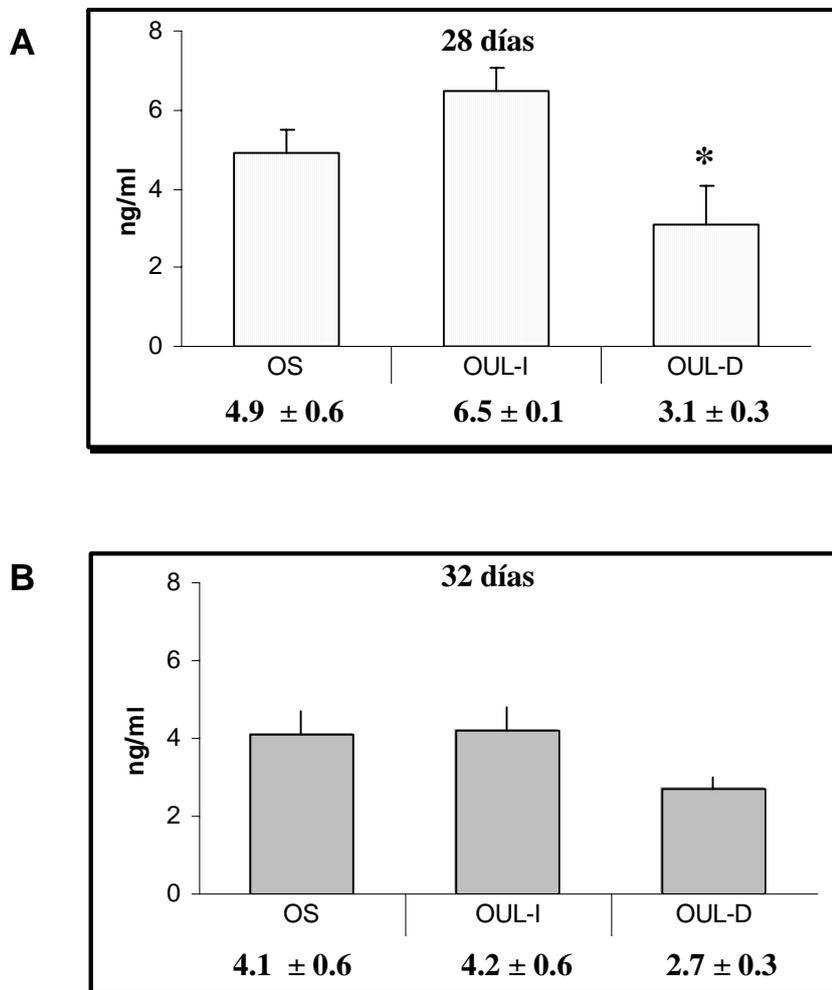
GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
OS	12	38.7 \pm 0.8	40.1 \pm 0.9
OD <i>in situ</i>	12	39.8 \pm 0.3	41.8 \pm 0.6
OI <i>in situ</i>	9	38.7 \pm 0.7	40.5 \pm 1.1

Cuadro 4. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro** de animales intactos, con operación simulada o con **ovariectomía del lado izquierdo o derecho** realizada a los **32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro vaginal (días)
OS	8	38.2 \pm 0.5	40.7 \pm 1.1
OD <i>in situ</i>	11	38.6 \pm 0.6	39.9 \pm 0.6
OI <i>in situ</i>	9	39.2 \pm 0.7	41.0 \pm 0.9

Los animales de 28 días de edad a los que se les practicó la OUL-D presentaron disminución significativa en la concentración de progesterona, comparada con el grupo que mantuvo el ovario derecho in situ (figura 13-A). En cambio la ovariectomía unilateral realizada a los 32 días de vida, no modificó de manera significativa las concentraciones de progesterona (figura 13-B).

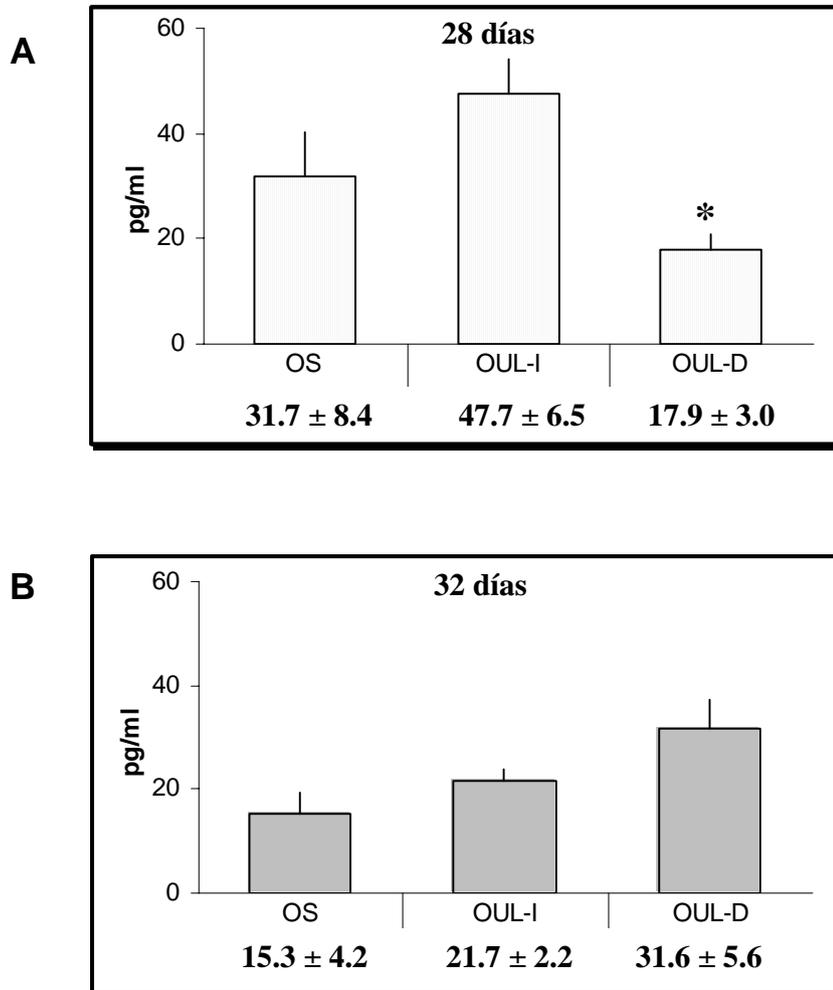
Figura 13. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con operación simulada (OS) o con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OUL-I (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

En animales de 28 días de edad, la OUL-D resultó en una disminución significativa de la concentración de testosterona comparada con los animales con OUL-I (figura 14-A). En cambio la ovariectomía unilateral, realizada en animales de 32 días de edad no modificó significativamente la concentración de la hormona (figura 14-B).

Figura 14. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con operación simulada (OS) o con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados el primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OUL-I (prueba "t" de Student).

En las ratas con ovariectomía unilateral realizada a los 28 días de edad, no se observaron cambios significativos en la concentración de estradiol comparada con el grupo de animales con operación simulada. Cuando se realizó la ovariectomía unilateral izquierda a los 32 días de edad (gónada derecha *in situ*) se observó un incremento en la concentración de estradiol comparado con un animal con la gónada izquierda *in situ* (Cuadro 5).

Cuadro 5. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con operación simulada (OS) o con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	28 días	n	32 días
OS	13	7.9 \pm 0.7	8	14.7 \pm 1.4
OD <i>in situ</i>	12	8.4 \pm 0.4	5	18.7 \pm 1.7*
OI <i>in situ</i>	8	10.3 \pm 1.0	6	13.9 \pm 1.2

* $p < 0.05$ vs. OI (prueba "t" de Student).

En las hembras de 28 días de edad que mantuvieron el ovario derecho *in situ*, la concentración de la FSH fue significativamente menor que en aquellos animales que mantuvieron el ovario izquierdo *in situ*, sin que se observaran modificaciones significativas en la concentración de LH (cuadro 6).

Cuadro 6. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **FSH y LH** de animales con operación simulada u ovariectomía izquierda o derecha realizada a los **28 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	FSH ng/ml	n	LH ng/ml
OS	8	29.7 \pm 4.2	14	2.5 \pm 0.3
OD <i>in situ</i>	5	23.9 \pm 2.7 *	12	2.4 \pm 0.2
OI <i>in situ</i>	8	33.5 \pm 2.8	8	1.9 \pm 0.2

* $p < 0.01$ vs. OI (Prueba de "t" de Student)

Las concentraciones de FSH o LH al primer estro vaginal, no fueron modificadas por la ovariectomía unilateral, practicada en hembras de 32 días de edad (cuadro 7).

Cuadro 7. Media \pm e.e.m. de la concentración de **FSH y LH** de animales con operación simulada u ovariectomía izquierda o derecha, realizada a los **32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	FSH ng/ml	n	LH ng/ml
OS	6	26.2 \pm 2.1	7	1.4 \pm 0.1
OD <i>in situ</i>	9	26.6 \pm 4.4	7	2.5 \pm 0.4
OI <i>in situ</i>	8	21.1 \pm 3.6	6	1.7 \pm 0.2

EXPERIMENTO 3

EFFECTO DE LA VAGOTOMÍA UNILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA Y ESTRADIOL.

En comparación con el grupo con operación simulada, la vagotomía derecha realizada a ratas de 28 días de edad, resultó en el retraso de la edad del primer estro vaginal. En cambio la vagotomía unilateral realizada a los 32 días de edad no resultó en diferencias significativas (cuadro 8).

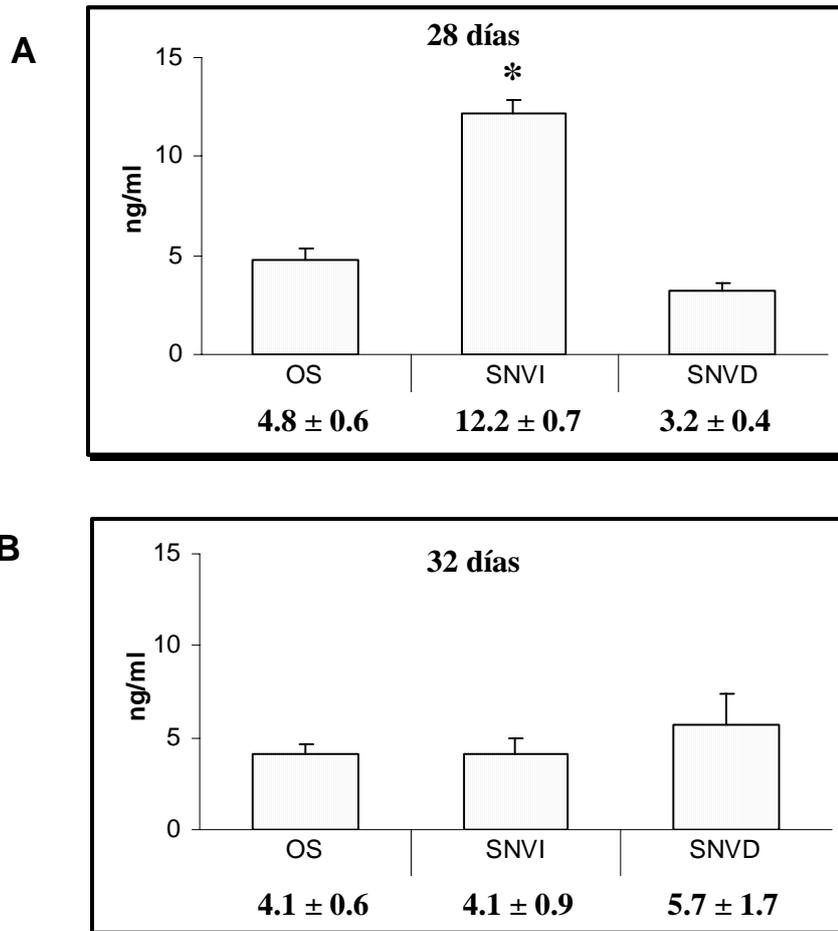
Cuadro 8. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro**, de animales con operación simulada (OS), con sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
28 Días			
OS	15	38.2 \pm 0.5	40.7 \pm 1.1
SNVI	11	39.3 \pm 0.4	42.7 \pm 1.1
SNVD	9	39.9 \pm 1.1	48.3 \pm 1.8*
32 Días			
OS	8	38.2 \pm 0.5	40.7 \pm 1.1
SNVI	12	37.8 \pm 0.9	41.0 \pm 1.1
SNVD	11	39.1 \pm 0.8	39.6 \pm 0.3

Cuando se compara la concentración de progesterona en el animal con operación simulada realizada a los 28 días de edad con los valores que muestran los animales que fueron sometidos a vagotomía izquierda, se observa un aumento significativo de la concentración de la hormona en respuesta a la sección del vago izquierdo (figura 15-A). En cambio, la vagotomía unilateral realizada en animales

de 32 días de edad, no alteró de forma significativa la concentración de progesterona (figura 15-B).

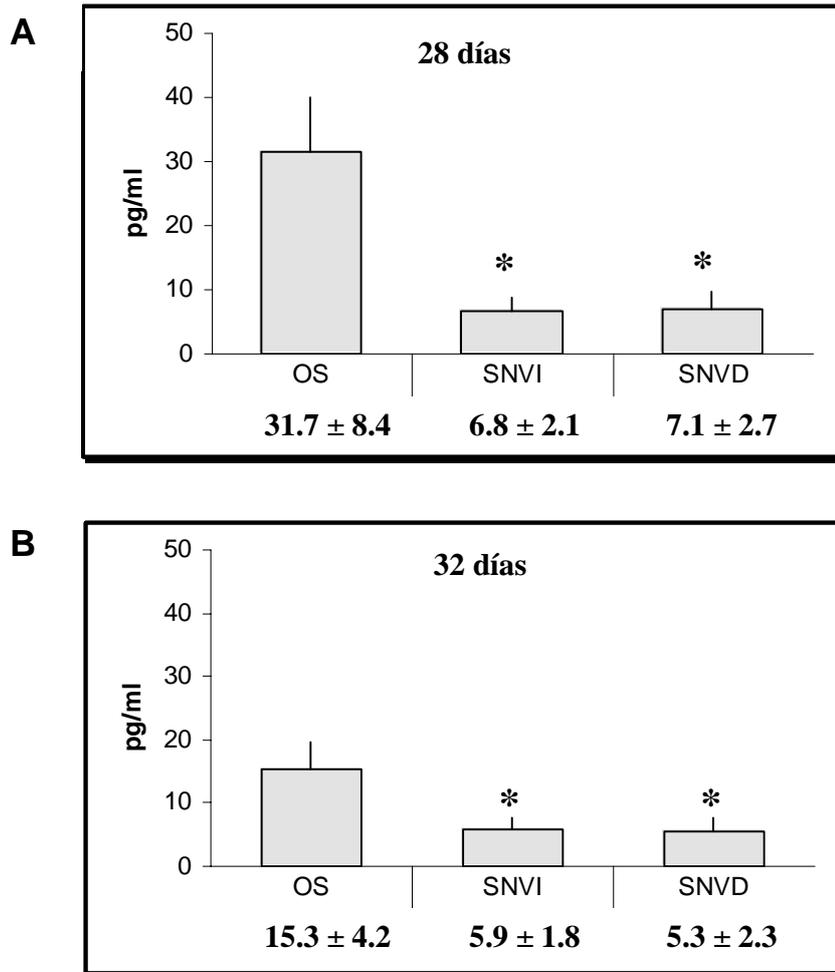
Figura 15. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con operación simulada (OS), con sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) realizada a **los 28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OS (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

La concentración de testosterona en ratas con sección unilateral del nervio vago realizada a los 28 ó 32 días de edad, fue significativamente menor que en las hembras con operación simulada (figura 16-A; figura 16-B).

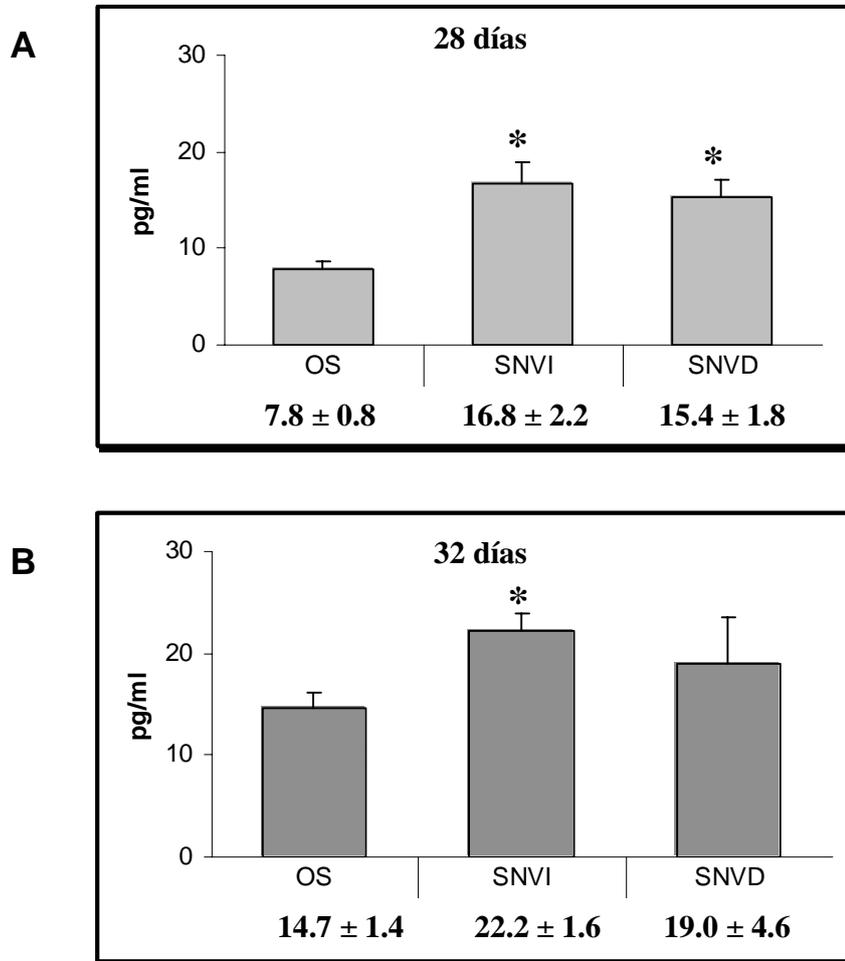
Figura 16. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con operación simulada (OS), con sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) realizada a **los 28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



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

En las hembras con sección unilateral del nervio vago practicada al día 28 de vida, se presentó un aumento significativo en la concentración de estradiol (figura 17-A). Una respuesta similar se observó en los animales de 32 días de edad cuando se realizó la sección del nervio vago izquierdo (figura 17-B).

Figura 17. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con operación simulada (OS), con sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OS (Prueba de "t" de Student).

EXPERIMENTO 4

EFFECTO DE LA OVARIECTOMIA UNILATERAL EN ANIMALES CON VAGOTOMÍA UNILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FSH Y LH.

La ovariectomía unilateral realizada a ratas de 28 días de edad con vagotomía unilateral no modificó de manera significativa la edad de apertura vaginal ni la del primer estro, comparado con los animales sin vagotomía en los que se realizó la ovariectomía unilateral (cuadro 9). De igual manera, estos parámetros no se modificaron cuando los animales fueron tratados a los 32 días de edad (cuadro 10).

Cuadro 9. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro**, de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

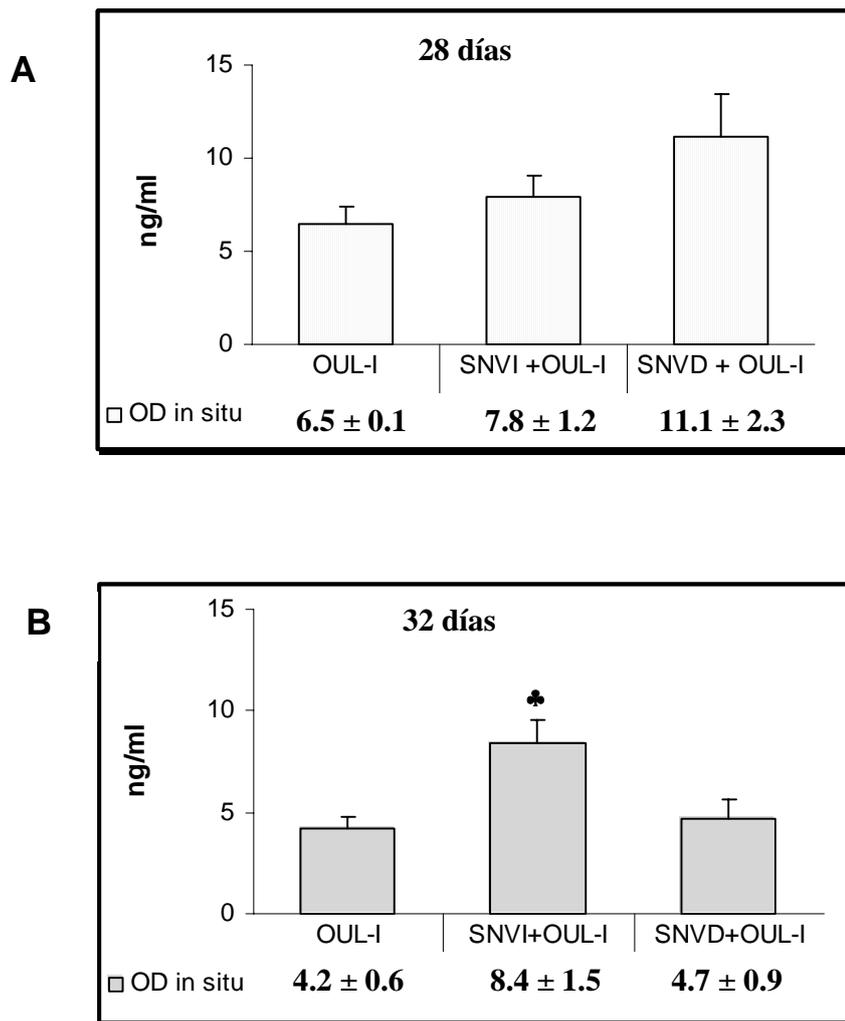
GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
OUL-I	12	39.8 \pm 0.3	41.8 \pm 0.6
SNVI + OUL-I	12	40.1 \pm 0.7	40.8 \pm 0.9
SNVD + OUL-I	12	39.8 \pm 0.8	41.2 \pm 1.0
OUL-D	9	38.8 \pm 0.7	40.5 \pm 1.1
SNVI + OUL-D	10	40.3 \pm 0.8	41.3 \pm 0.9
SNVD + OUL-D	14	38.8 \pm 0.9	40.0 \pm 1.1

Cuadro 10. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro vaginal (días)
OUL-I	11	38.6 \pm 0.6	39.9 \pm 0.6
SNVI + OUL-I	9	40.3 \pm 0.7	42.1 \pm 1.2
SNVD + OUL-I	10	39.8 \pm 0.8	43.0 \pm 1.0
OUL-D	9	39.2 \pm 0.7	41.0 \pm 0.9
SNVI + OUL-D	8	36.9 \pm 1.2	40.2 \pm 1.1
SNVD + OUL-D	12	37.1 \pm 0.7	38.1 \pm 0.8

La concentración de progesterona en ratas hembra de 28 días de edad sometidas a vagotomía unilateral derecha o izquierda seguida de OUL-I, fue similar a la de los animales con ovariectomía unilateral (figura 18-A). Cuando el mismo tratamiento se realizó en animales de 32 días, la concentración de progesterona en los animales con vagotomía izquierda y extirpación del ovario ipsilateral a la vagotomía fue significativamente mayor que en el grupo con ovariectomía unilateral (figura 18-B). La sección del vago derecho no modificó la concentración de progesterona en comparación con los animales con OUL-I.

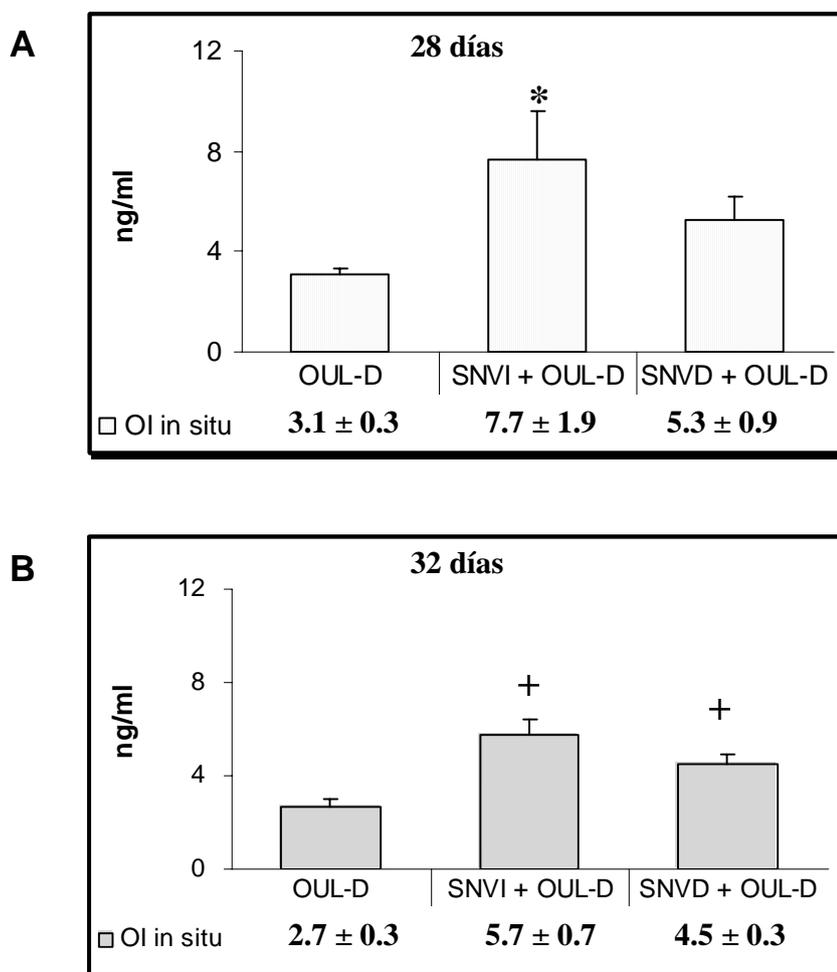
Figura 18 Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a **los 28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



♣ $p < 0.01$ vs. OUL-I (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

La concentración de progesterona en los animales con sección del nervio vago izquierdo y ovario izquierdo in situ, realizada al día 28 ó 32 de edad, fue significativamente mayor que en el grupo sin vagotomía (figura 19-A; figura 18-B). Mientras que cuando la gónada in situ es la izquierda y el nervio seccionado el derecho a los 32 días de edad, la concentración de progesterona fue mayor comparada con un animal con ovariectomía derecha (figura 19-B).

Figura 19. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con ovariectomía del lado derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

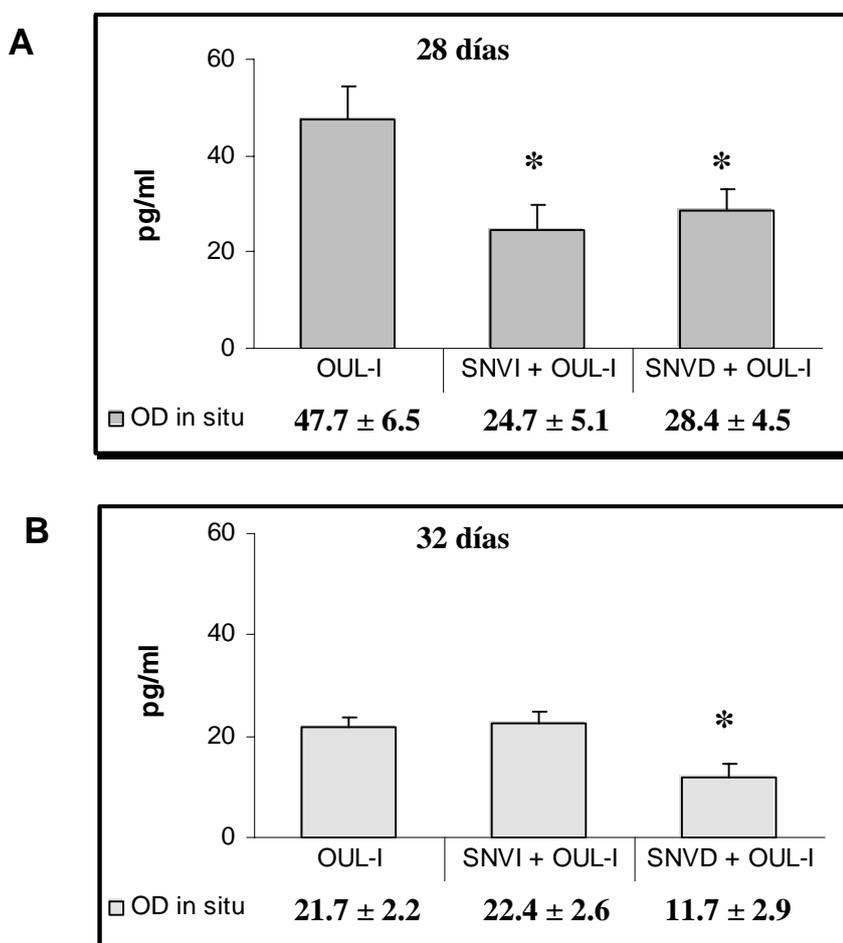


*p<0.05 vs. OUL-D (prueba de "t" de Student).

+ p<0.01 vs. OUL-D (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

En las ratas que se les realizó la sección del nervio vago derecho y la gónada in situ fue la derecha la concentración de testosterona fue menor, comparada con un animal con ovariectomía izquierda (figura 20-A). Mientras que si la cirugía se realiza a los 32 días de edad la concentración de la hormona disminuye (figura 19-B). Al seccionar el nervio vago izquierdo en animales de 28 días de edad, con la gónada izquierda in situ, disminuyó la concentración de la hormona (figura 20-A).

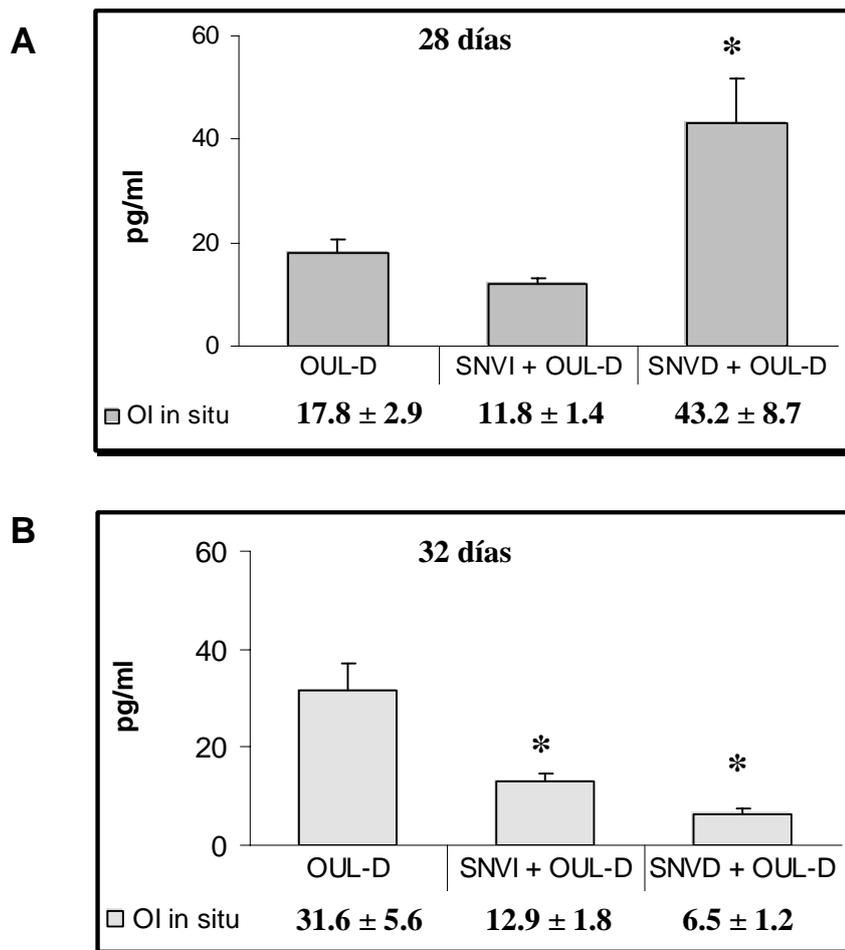
Figura 20. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OUL-I (prueba de ANDEVA, seguida por Tukey).

La concentración de testosterona en los animales con sección del vago derecho y el ovario izquierdo in situ, realizada a los 28 días de edad, fue significativamente mayor que en los animales sin vagotomía (figura 21-A). Mientras que si la intervención se realiza a los 32 días de edad la concentración de la hormona disminuye (figura 21-B). Por otra parte, la sección del nervio vago izquierdo en los animales de 32 días con la gónada izquierda in situ resultó en una menor concentración de la hormona (figura 21-B).

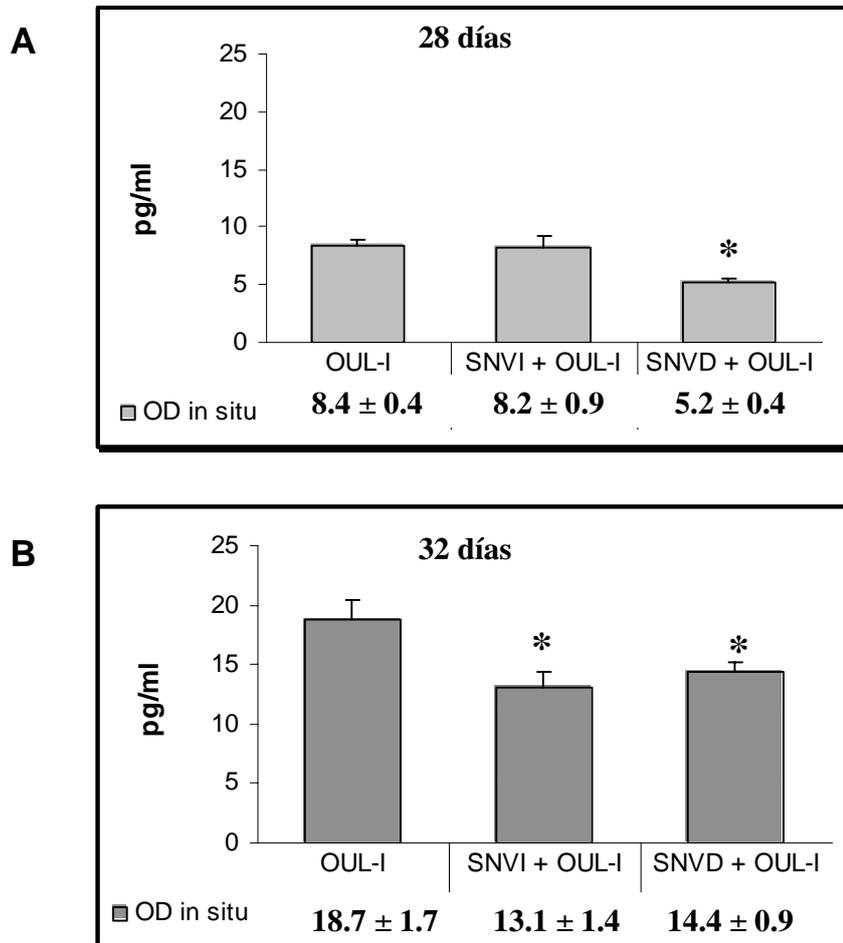
Figura 21. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con ovariectomía del lado derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OUL-D (ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

La sección del nervio vago derecho seguida de la extirpación del ovario izquierdo en ratas de 28 días de vida, resultó en una menor concentración de estradiol que en los animales con ovariectomía unilateral (figura 22-A). Cuando la sección unilateral del nervio vago se realizó en ratas de 32 días de edad con UOL-I la concentración de estradiol fue significativamente menor que en los animales con extirpación del ovario izquierdo, independientemente del nervio seccionado (22-B).

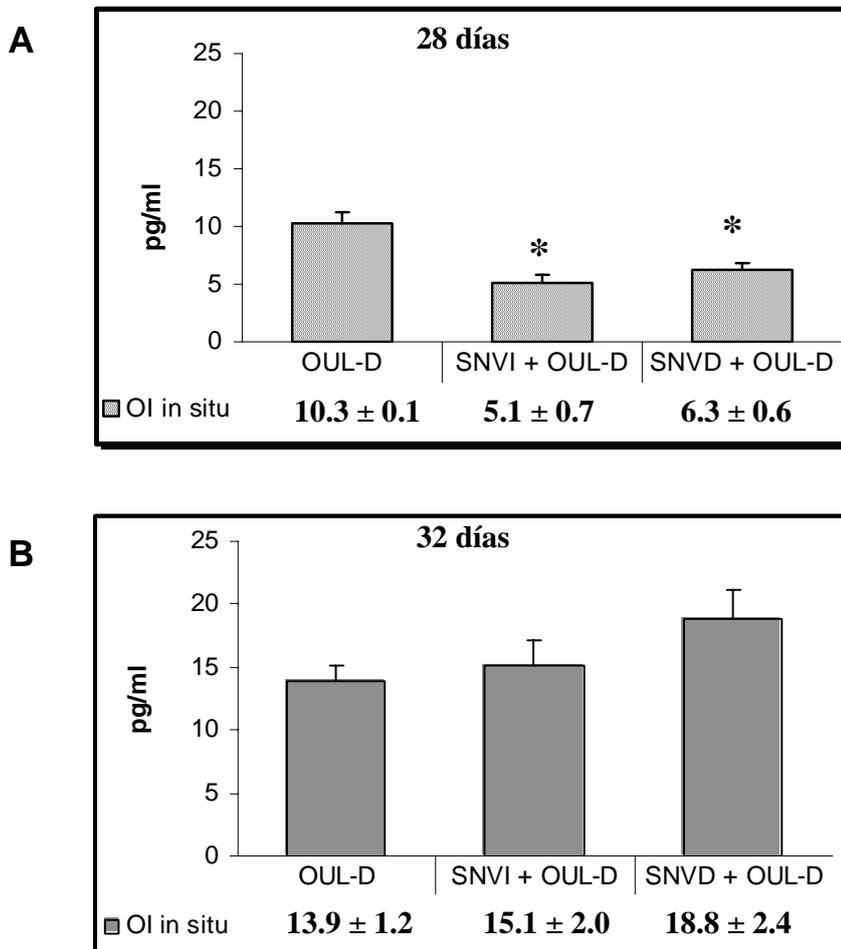
Figura 22. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OUL-I (Prueba de "t" de Student).

Cuando la sección unilateral del nervio vago fue seguida por la extirpación de la gónada derecha en animales de 28 días de edad, se observó una disminución significativa en la concentración de estradiol, respecto al grupo sin vagotomía (figura 23-A). En cambio, en los animales de 32 días de edad no se observaron cambios significativos en la concentración de la hormona (figura 23-B).

Figura 23. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con ovariectomía del lado derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



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

La vagotomía unilateral en hembras con ovariectomía unilateral realizada al día 28 de vida, no modificó de manera significativa la concentración de FSH ni LH, independientemente del vago seccionado y del ovario in situ (cuadro 11).

Cuadro 11 Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **FSH y LH** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **28 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	FSH ng/ml	LH ng/ml
OUL-I	11	23.9 \pm 2.7	2.4 \pm 0.2
SNVI + OUL-I	12	25.7 \pm 3.8	2.3 \pm 0.3
SNVD + OUL-I	10	32.2 \pm 4.3	1.9 \pm 0.5
OUL-D	8	33.5 \pm 2.8	1.9 \pm 0.2
SNVI + OUL-D	6	30.9 \pm 3.6	2.3 \pm 0.3
SNVD + OUL-D	13	28.1 \pm 5.1	2.6 \pm 0.4

Cuando la vagotomía derecha se realizó en animales de 32 días de edad que mantenían in situ la gónada derecha, se observa que la concentración de FSH fue significativamente mayor comparada con los animales con vagotomía izquierda. Mientras que cuando se realizó la vagotomía izquierda en animales con la gónada derecha in situ, la concentración de FSH fue significativamente menor que en los animales con ovariectomía derecha. En ninguno de los grupos experimentales se modificó de manera significativa la concentración de LH, respecto al grupo sin vagotomía (Cuadro 12).

Cuadro 12. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **FSH y LH** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección del nervio vago izquierdo (SNVI) o derecho (SNVD), realizada a los **32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	FSH ng/ml	LH ng/ml
OUL-I	11	26.6 \pm 4.4	2.5 \pm 0.4
SNVI + OUL-I	12	16.2 \pm 4.4	2.6 \pm 0.3
SNVD + OUL-I	10	30.5 \pm 1.6 *	2.0 \pm 0.1
OUL-D	4	21.1 \pm 3.6	1.7 \pm 0.2
SNVI + OUL-D	5	6.5 \pm 1.1**	2.3 \pm 0.4
SNVD + OUL-D	8	24.1 \pm 3.7	2.1 \pm 0.2

*P<0.01 vs. SNVI+OUL-I (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

**P<0.05 vs OUL-D (Prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey).

EXPERIMENTO 5

EFFECTO DE LA VAGOTOMÍA BILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA Y ESTRADIOL.

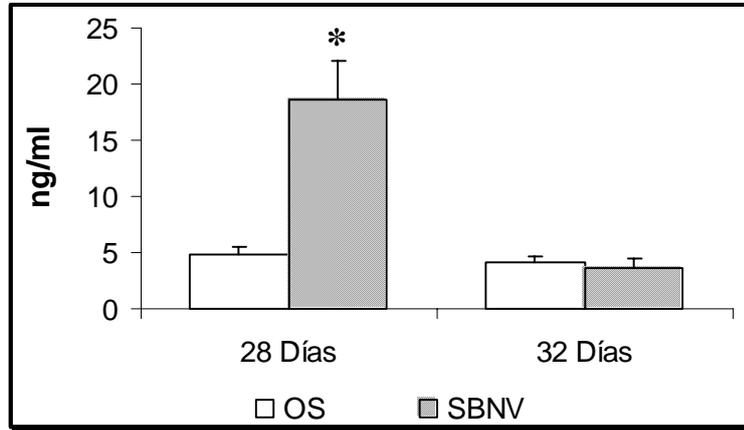
En comparación con el grupo con operación simulada, la vagotomía bilateral realizada en ratas de 28 días de edad, resultó en el retraso de la edad del primer estro vaginal, efecto que no se observó cuando los animales fueron tratados a los 32 días de edad (cuadro 13).

Cuadro 13. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro**, de animales con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
28 Días			
OS	12	40.8 \pm 0.6	40.8 \pm 0.6
SBNV	8	41.3 \pm 1.0	44.78 \pm 1.3*
32 Días			
OS	10	38.2 \pm 0.5	40.7 \pm 1.1
SBNV	8	38.7 \pm 1.06	40.4 \pm 0.8

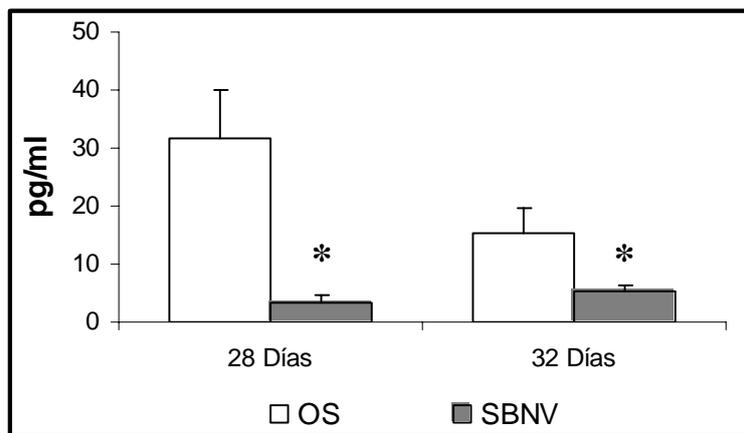
Cuando la vagotomía bilateral se realizó a ratas de 28 días de edad la concentración de progesterona fue significativamente mayor que en el grupo de animales con operación simulada, efecto que no se observó cuando los animales fueron tratados a los 32 días de edad (figura 24).

Figura 24. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



La vagotomía bilateral realizada a ratas de 28 ó 32 días de edad resultó en una menor concentración de testosterona que en los animales con operación simulada (figura 25).

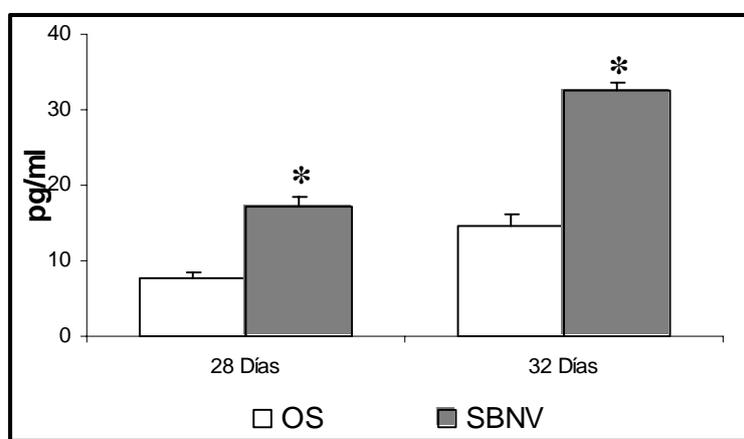
Figura 25. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba "t" de Student).

La concentración de estradiol en las ratas con vagotomía bilateral realizada a los 28 ó 32 días de edad fue significativamente mayor que en el grupo con operación simulada (figura 26).

Figura 26. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con operación simulada (OS) o con sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. OS (Prueba "t" de Student).

EXPERIMENTO 6

EFFECTO DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL EN ANIMALES CON VAGOTOMÍA BILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD, LA SECRECIÓN DE PROGESTERONA, TESTOSTERONA Y ESTRADIOL.

La vagotomía bilateral no modificó de manera significativa la edad de apertura vaginal ni la del primer estro en las ratas de 28 (cuadro 14) ó 32 (cuadro 15) días de edad, comparado con el grupo con ovariectomía unilateral.

Cuadro 14. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro**, de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV) realizada a los **28 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

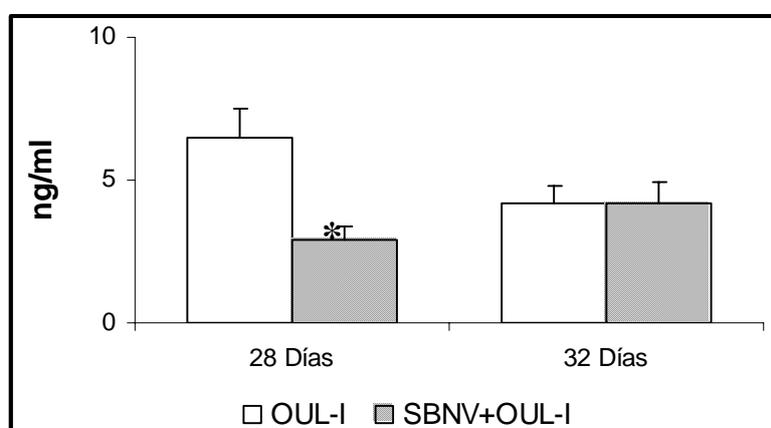
GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
28 Días			
OUL-I	12	39.8 \pm 0.3	41.8 \pm 0.6
SBNV + OUL-I	11	40.7 \pm 0.7	41.7 \pm 0.9
OUL-D	9	38.8 \pm 0.7	40.5 \pm 1.1
SBNV + OUL-D	11	38.8 \pm 0.9	39.8 \pm 1.0

Cuadro 15. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y del primer estro**, de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV), realizada a los **32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Edad de Apertura Vaginal (días)	Edad del Primer Estro Vaginal (días)
32 Días			
OUL-I	12	38.6 \pm 0.6	39.9 \pm 0.6
SBNV + OUL-I	11	41.2 \pm 1.1	42.5 \pm 1.4
OUL-D	9	39.2 \pm 0.7	41.0 \pm 0.9
SBNV + OUL-D	11	39.0 \pm 1.0	41.3 \pm 1.2

En ratas con ovariectomía unilateral realizada a los 28 días de edad, la vagotomía bilateral resultó en una disminución significativa en la concentración de progesterona, respecto al grupo con ovariectomía unilateral, mientras que la vagotomía bilateral realizada en ratas de 32 días no modificó la concentración de la hormona (figura 27).

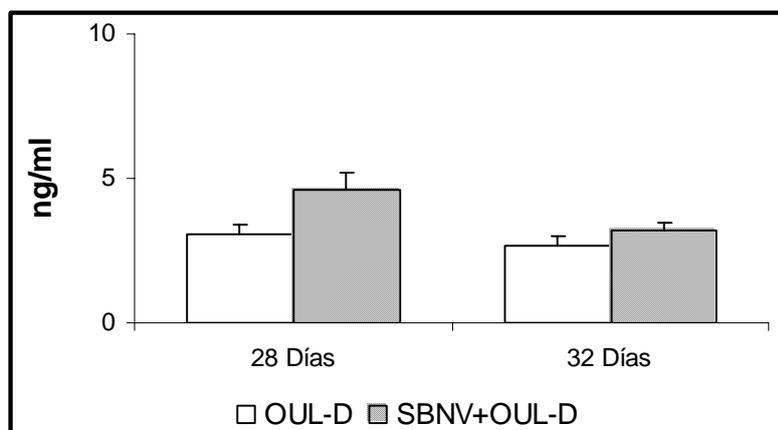
Figura 27. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



* $p < 0.01$ vs. OUL-I (Prueba de "t" de Student).

La vagotomía bilateral realizada en ratas de 28 ó 32 días de edad no modificó de manera significativa la concentración de progesterona (figura 28).

Figura 28. Media \pm de la concentración de **progesterona** de animales con ovariectomía del lado derecho (OUL-D), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.



En ratas de 28 días de edad la sección bilateral del nervio vago no modificó de manera significativa la concentración de testosterona, independientemente del ovario in situ. Mientras que animales que mantuvieron la gónada derecha in situ la vagotomía bilateral a los 32 días de edad, disminuyó la concentración de la hormona (Cuadro 15).

Cuadro 15. Media \pm de la concentración de **testosterona** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Testosterona pg/ml 28 Días	Testosterona pg/ml 32 Días
OUL-I	9	47.7 \pm 6.5	21.6 \pm 2.2
SBNV + OUL-I	7	35.6 \pm 4.7	10.7 \pm 2.7*
OUL-D	4	17.8 \pm 2.9	31.6 \pm 5.5
SBNV + OUL-D	8	29.4 \pm 5.3	25.1 \pm 3.9

*p<0.01 vs. OUL-I (Prueba de "t" de Student).

Los animales con sección bilateral del nervio vago realizada a los 28 días de edad, y que mantuvieron el ovario izquierdo in situ, la concentración de estradiol fue significativamente menor que en los animales con ovariectomía unilateral. Cuando el tratamiento se realizó en ratas de 32 días de edad, no se modificó la concentración de la hormona independientemente de la gónada in situ (Cuadro 16).

Cuadro 16. Media \pm de la concentración de **estradiol** de animales con ovariectomía del lado izquierdo (OUL-I) o derecho (OUL-D), con o sin sección bilateral del nervio vago (SBNV), realizada a los **28 ó 32 días de edad** y sacrificados al primer estro vaginal.

GRUPOS	n	Estradiol pg/ml 28 Días	Estradiol pg/ml 32 Días
OUL-I	12	8.4 \pm 0.4	18.7 \pm 1.7
SBNV + OUL-I	11	8.8 \pm 1.2	15.7 \pm 1.3
OUL-D	8	10.3 \pm 0.9	13.9 \pm 1.2
SBNV + OUL-D	10	4.9 \pm 0.9*	12.5 \pm 1.4

*p<0.01 vs. OUL-I (Prueba de "t" de Student).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que en la rata hembra juvenil la participación de la inervación que llega al ovario regula de manera diferencial la secreción de progesterona, estradiol y testosterona, mientras que en el animal con ovariectomía unilateral la participación del nervio vago en la regulación de la secreción de hormonas esteroides, presenta asimetría la cual depende del ovario *in situ*, del nervio vago que lleva la inervación y de la edad del animal.

Se ha postulado que la regulación de la pubertad es multifactorial, ya que depende de la alimentación, las concentraciones plasmáticas de las hormonas ováricas, la inervación que reciben los ovarios (Aguado y Ojeda 1984; Ojeda y col., 1983; Ramaley, 1980, Morales), la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gónada y de las condiciones ambientales adecuadas para que se desencadenen los mecanismos que culminan con la pubertad (Ojeda y Urbanski, 1994).

En el presente estudio observamos que la laparotomía ventral realizada a los 28 ó 32 días de edad resultó en un retraso en el inicio de la pubertad, el cual no se debió exclusivamente a una disminución en la concentración de estradiol, ya que este efecto sólo se observó cuando la laparotomía se realizó en las hembras de 28 días de edad. Por ello proponemos que el retraso en la edad de la canalización de la vagina, es resultado del estrés causado por la cirugía, aunque no podemos descartar la posibilidad de que se deba a una alteración temporal en la concentración de las hormonas ováricas.

Barco y col., (2003) y Flores y col. (2005) muestran que la perforación aguda (una hora de evolución) del peritoneo, o la extirpación de uno u otro ovario, resultan en cambios inmediatos en la concentración plasmática de progesterona y estradiol, los cuales dependen del día del ciclo estral en el que se realiza la cirugía y del ovario que permanece *in situ*. Apolonio, (2001) mostró que la ovariectomía unilateral practicada en la rata infantil, no modifica el inicio de la pubertad aún

cuando se registra una disminución significativa en la concentración sérica de estradiol, lo cual es confirmado por los resultados del presente estudio donde observamos que la extirpación de uno de los ovarios al inicio o al final de la etapa juvenil, no modifica el inicio de la pubertad, ni la concentración de estradiol. El conjunto de estos y otros resultados, han sido interpretados como evidencia de que la extirpación de un ovario, no sólo implica la falta de un órgano productor de hormonas, sino que también se afecta la comunicación nerviosa que existe entre el ovario y el sistema nervioso central, que la información nerviosa que se origina en cada ovario es diferente y varía durante el ciclo estral, y que dicha asimetría cambia con la maduración del animal (Chávez y col., 1997, Morales y col., 1993).

Nuestros resultados muestran que en el animal con ovariectomía unilateral, la secreción de progesterona y testosterona por parte del ovario remanente, es asimétrica sólo al inicio de la etapa juvenil y desaparece conforme se va acercando a la pubertad, y que el ovario derecho presenta mayor capacidad de síntesis de progesterona y testosterona. Otra posibilidad que no podemos descartar es que la progesterona provenga de la glándula suprarrenal, la cual parece ser aportada en cantidades diferentes por la adrenal izquierda y derecha (Flores y col. 2005). En la rata macho adulta también se ha mostrado que existe una respuesta asimétrica por parte de las gónadas, donde el testículo derecho presenta una síntesis mayor de testosterona que el izquierdo (Frankel y col. 1989).

En la rata adulta la ovariectomía unilateral se acompaña de un incremento agudo en las concentraciones séricas de gonadotropinas (Burden 1977; Butcher, 1977; Flores y col., 1990). En nuestro estudio, sólo la extirpación del ovario izquierdo realizada en ratas de 28 días de edad resultó en un incremento en la concentración de la FSH medida en el día del primer estro vaginal, lo cual indicaría que en el animal prepúber sí hay cambios en la secreción de gonadotropinas en respuesta a la extirpación de un ovario, éstos son inmediatos a la extirpación de la gónada.

Flores y col., (2005) mostraron que en la rata adulta con ovariectomía unilateral realizada en diestro 1, diestro 2 o proestro y sacrificados 1 h después, el ovario izquierdo presenta una mayor capacidad de síntesis de progesterona que el derecho, asimetría que se pierde si la ovariectomía unilateral se realiza al estro vaginal (Barco y col., 2003). Estas diferencias en la capacidad de síntesis hormonal por parte de los ovarios ha sido interpretada como una indicación que la participación de la inervación que arriba al ovario, en la regulación de las funciones del órgano, es asimétrica y varía durante el ciclo estral (Domínguez y col., 2003; Flores y col., 2005, Barco y col 2003). Nuestros resultados indican que al final de la etapa juvenil el ovario derecho sintetiza más estradiol que el izquierdo, lo que podría ser el resultado de un incremento en la actividad de las aromatasas que estimulan la secreción de estradiol a partir de testosterona (Pedernera, 1993). Además, que la asimetría ovárica que se describe en el animal adulto, no está presente en igual forma en el animal prepúber, lo cual concuerda con lo expresado por Gerendai y Halasz (2001).

Estudios anatómicos señalan que el ovario derecho, de la rata adulta, recibe un número mayor de fibras eferentes provenientes del ganglio mesentérico que el ovario izquierdo, aunque esta diferencia no es significativa (Klein y Burden, 1988). Por otra parte, se ha señalado que el ovario derecho se desarrolla más tempranamente que el izquierdo y que el drenaje venoso difiere para cada uno de los ovarios (Gerendai y Halász, 1997). Estas evidencias anatómicas refuerzan los hallazgos fisiológicos que postulan a la inervación como modulador en la síntesis de hormonas esteroideas (Barco y col., 2003; Kawakami y col., 1981; Morales y col., 2004; Morán y col., 2000; Ojeda y col., 1983).

La vagotomía bilateral subdiafragmática en la rata de 24 días de edad induce retraso en el inicio de la pubertad, lo cual es explicado por los autores como un reflejo de la menor actividad esteroideogénica por parte del ovario,

causada por la eliminación del nervio vago (Ojeda y col., 1983). En estudios previos del laboratorio se muestra que la vagotomía unilateral o bilateral resulta en un retraso del inicio de la pubertad, pero que no necesariamente es el reflejo de una menor síntesis de estrógenos por parte de los ovarios (Morales y col., 2004). En el presente estudio observamos que la vagotomía uni o bilateral realizada en la rata juvenil, no modifica la edad de apertura vaginal, aún cuando se haya incrementado la concentración de los estrógenos. A partir de estos resultados se puede pensar que la inervación que llega a los órganos reproductores por parte del nervio vago, participa en la regulación de la respuesta de dichos órganos a los efectos de las hormonas ováricas.

En la rata de 28 ó 32 días de edad el nervio vago regularía de manera inhibitoria la actividad de las aromatasas, ya que la eliminación de uno o de los dos nervios vago, trae aparejado un incremento en la concentración de estradiol.

Dado que los efectos de la vagotomía unilateral sobre la concentración de progesterona dependen de la edad en que se practicó la denervación, podemos pensar que en el animal de 32 días de edad, el nervio vago izquierdo modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona. Dado que las adrenales también secretan progesterona y reciben inervación por el nervio vago (Brown, 1994), no podemos descartar la posibilidad de que el aumento en las concentración de progesterona sea el resultado del aumento en la secreción de la hormona por parte de las adrenales, lo cual podría implicar la existencia de una conexión nerviosa entre el ovario y las adrenales, que se activa ante la falta de uno de los ovarios.

La falta parcial o total del nervio vago en la rata con ovariectomía unilateral desencadena algún mecanismo de regulación que permite que la pubertad se de en el tiempo adecuado. Es probable que en este modelo experimental la regulación de los mecanismos que conllevan al inicio de la pubertad sea dada por una comunicación bidireccional entre el ovario y el SNC, vía el nervio vago y el nervio ovárico superior.

La participación del nervio vago, en el animal con ovariectomía unilateral, en la regulación de la síntesis de testosterona parece ser estimulante, tanto al inicio como al final de la etapa juvenil y no es asimétrica. Estos resultados nos permiten sugerir que las asimetrías ováricas no están totalmente desarrolladas antes de la pubertad, tal y como se manifiestan en el animal adulto (Gerendai y col., 2002).

El nervio vago se ha considerado como uno de los posibles candidatos en la comunicación neural entre el SNC y las gónadas. Existen algunas evidencias de tipo anatómicas en donde se muestra la existencia de una conexión neural entre el núcleo del tracto solitario y los centros hipotalámicos (área preóptica, núcleo arcuato, núcleo dorsomedial y núcleo paraventricular) que participan en la regulación de la liberación de gonadotropinas (Contreras y col., en 1980; Gerendai y col., 2002; Ricardo y Koh., 1978).

En el presente estudio se observó que en la rata con ovariectomía unilateral, realizada al principio de la etapa juvenil, la información que corre por el nervio vago no parece ser indispensable en regulación de la secreción de FSH, mientras que al final de la etapa juvenil la respuesta va a depender de la gónada *in situ* y del nervio seccionado. Es probable que estas diferencias estén dadas por el tiempo de evolución entre la cirugía y la autopsia.

En resumen, a partir de los resultados obtenidos en el presente estudio sugerimos que el nervio vago participa de manera diferente en la modulación de la secreción de hormonas esteroides por parte del ovario derecho e izquierdo, y que dicha participación varía con la edad del animal.

CONCLUSIONES

- La laparotomía ventral realizada al inicio o final de la etapa juvenil retrasa el inicio de la pubertad y la aparición del primer estro vaginal.
- La ovariectomía unilateral practicada a los 28 ó 32 días no resulta en un retraso del inicio de la pubertad y de la aparición del primer estro vaginal.
- En la rata con ovariectomía unilateral realizada al inicio de la etapa juvenil la actividad esteroidogénica del ovario es asimétrica, donde el ovario derecho tiene mayor capacidad de síntesis.
- La ovariectomía unilateral no modificó las concentraciones séricas de LH.
- El nervio vago participa de manera diferencial en la regulación de la esteroidogénesis ovárica.
- En el animal con ovariectomía unilateral, la participación del nervio vago en la esteroidogénesis ovárica, depende del ovario *in situ* y del período de evolución.
- En la hembra juvenil con ovariectomía unilateral, el nervio vago no parece ser fundamental en la regulación de la secreción de la LH.

BIBLIOGRAFÍA

- Agostoni E, Chinnock JE, Daly M De B, Murria JG. (1957). Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the Herat, lungs and abdominal viscera in the cat. ***Journal Physiology***, 135: 182-205.
- Aguado LI y Ojeda SR. (1984). Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervación. ***Endocrinology***, 114: 1845-1853.
- Andrews W, Heiman JR, Porter JR, Ojeda SR. (1981). The infantile female rat: in Vivo ovarian and adrenal steroidogenic responses to exogenous administration or to endogenously induced elevations of gonadotrophins and ACTH. ***Biology Reproduction***. 24: 597-608.
- Apolonio J, (2001). Participación de la inervación sensorial sobre el inicio de la pubertad en la rata hemicastrada. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza.
- Bahr JM, Kao L, Nalbandov AV. (1974). The role of catecholamines and nerves in ovulation. ***Biology of Reproduction***, 10; 273-290.
- Barco A. I, Flores A, Chavira R, Matsumara-Damian P, Domínguez R, Cruz M. E. (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in situ* ovary. ***Endocrine***. 21: 209-215.
- Becu-Villalobos D y Lacau Mengido M. (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. ***Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican***. 40, pp. 1-17.
- Bouchet A y Cullieret J. (1978). Nervios craneanos. ***Anatomía Descriptiva, Topográfica y Funcional. Sistema Nervioso Central***, pp. 146, 147, 221. Argentina; Medica Panamericana.
- Brown RE. (1994). Neurotransmitters. En: ***An introduction to Neuroendocrinology***, pp. 82. Great Britain: Cambridge University Great Britain Press.
- Burden HW y Lawrence IE. (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. ***Neuroendocrinology***, 23: 368-378.

-
- Burden HW. (1978). Ovarian innervation. En: ***The Vertebrate Ovary Comparative Biology***, pp. 615-638. Jones RE (Ed). New York: Plenum Press.
 - Burden HW y Lawrence IE. (1978). Experimental studies on the acetylcholinesterase-positive nerves in the ovary of the rat. ***The Anatomical Record***, 190: 233-241.
 - Burden HW, Lawrence IE, Hodson CA. (1980). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on pituitary content of prolactin and gonadotropins. ***Medical Science***; 8: 809.
 - Burden HW, Lawrence IE, Louis T M, Hodson CA. (1981). Effects on abdominal vagotomy on the oestrus cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. ***Neuroendocrinology***; 33: 218-222.
 - Burden HW, Leonard M, Smith CP, Lawrence IE. (1983). The sensory innervation of the ovary; A horseradish peroxidase study in the rat. ***The Anatomical Record***, 207: 623-627.
 - Burden HW. (1985): The adrenergic innervation of mammalian ovaries. En: ***Catecholamines as hormone regulator***. pp. 261-278. Ben-Jonathan N, Barh JM, Weiner RI. (Eds). New York: Raven Press.
 - Burden HW, Lawrence IE, Smith CP, Hoffman J, Leonard M, Fletcher DJ, Hodson CA. (1986). The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. ***The Anatomical Record*** 214: 61-66.
 - Butcher R. L. (1977). Changes in gonadotropins and steroids associated with unilateral ovariectomy of the rat. ***Endocrinology***. 101 : 830-840.
 - Calka J, McDonald JK, Ojeda SR. (1988). The innervation of the immature rat ovary by calcitonin gene-related peptide. ***Biology of Reproduction*** 39:1215-23.
 - Chávez R, Cruz, Ma.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. ***Endocrinology***, 113, 397-401.

-
- Contreras RJ, Gómez M, Nogren R. (1980). Central origins of cranial parasympathetic neurons in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 190: 373-394.
 - Cruz, Ma. E., Chávez, R., Domínguez, R. (1986). Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves. *La Revista Investigación Clínica*, 38: 167-171.
 - Cruz M. (2005). Papel del sistema muscarínico en la regulación de la secreción de estradiol durante el ciclo estral de la rata. XXX Reunión Anual de la Academia de Investigación en Biología de la Reproducción. A. C. Celebrado Guanajuato, Gto. México. pp.1-10.
 - Curtis H. (2000). *Biología*. Ed. Médica Panamericana. 6° Edición. México. pp. 1215-1218, 1219-1223.
 - David H y Cormack Ph. (1988). En: *Histología de HAM*. Ed. Harla. 9° edición México DF.: Pág. 762 – 775.
 - Döhler KD y Wuttke W. (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. *Endocrinology*, 94: 1003-1008.
 - D'Albora H, Lombide S, Ojeda R. (2000). Intrinsic neurons in the rat ovary: an immunohistochemical study. *Cell Tissue Research*. 300: 47-56.
 - Domínguez R y Riboni L. (1971). Failure of ovulation in autografted ovary of hemispayed rat. *Neuroendocrinology*, 7: 164-170.
 - Domínguez R, Chávez R, Cruz Ma. (1991): La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. En: Domínguez, R., (Coordinador). *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Universidad Nacional Autónoma de México. Coordinación de la Investigación científica. Programa Universitario de investigación en salud. pp. 163-188.
 - Domínguez R. (1992). La derecha y la izquierda ¿son también diferentes en el hipotálamo?. *Ciencia Hoy*, 4: 41-46.

-
- Flores A, Morales L, Ulloa-Aguirre, Dominguez R. (1990). Acute changes in serum levels of luteinising hormona and folicule stimulating hormona, 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.
 - Flores A, Meléndez G, Palafox MT, Rodríguez J, Barco AI, Chavira R, Domínguez R, Cruz ME (2005). The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. ***Endocrine en prensa***.
 - Frankel AI, Chapman JC, Cook B. (1989). Testes are asymmetric in the testicular hemicastration response of the male rat. ***Journal Endocrinology***. 122 (2) : 483-8.
 - Freeman M. (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: ***The Physiology of Reproduction***. Vol. 2. pp. 613-658. Second Edition. Knobil E, Neill J.D. (Eds). New York: Raven Press.
 - Gabella G y Pease HL. (1973). Number of axon in the abdominal vagus of the rat. ***Brain Research***. 58: 465-469.
 - Gerendai I, Marchetti B, Maugery S, Amico RM, Scapagnini U. (1978). Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA.: ***Neuroendocrinology***. 27: 272-278.
 - Gerendai I y Halász B. (1997). Neuroendocrine Asymmetry. ***Frontiers in Neuroendocrinology***. 18:354-381.
 - Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B. (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. ***Autonomic Nervous System***. 80: 40-45.
 - Gerendai I, Kocsis K, Halász B. (2002). Supraspinal connections of the ovary: Structural and functional aspects. ***Microscopy Research and Technique***. 59: 474-483.

-
- Gilbert RFT, Mesón PC, Fahrenkring J, Lee CM, Penman E, Wass J. (1980). Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. **Journal Neurochemistry** 34: 108-113.
 - Gomez PB y Paniagua VM (2002). Fisiología de la reproducción: Hormona liberadora de Gonadotrofinas. **Revista de la Facultad de Medicina (UNAM)**. 45 (6): 205-257.
 - Gore-Langton R y Armstrong DT. (1994). Follicular steroidogenesis and its control En: **The Physiology of Reproduction**, vol. 1 pp. 571-627. Second Edition. Knobil E. Neill JD (Eds) New Cork: Raven Press Ltd.
 - Guyton AC. (1984). **Tratado de Fisiología Médica**. Ed. Interamericana MacGraw-Hill. México. pp.: 837- 838; 1116 -1120.
 - Guyton AC y Hall JE. (2001). **Tratado de Fisiología Médica**. Ed. Interamericana MacGraw-Hill. México. pp.: 837- 838; 1116 -1120.
 - Hafez ES. (1974). Physiology of multiple pregnancy. **Journal Reproduction Medical** 1974 3: 88-98.
 - Hill TR. (1962). Paradoxical effects of ovarian secretion. En: **The Ovary**, vol. 2, pp. 231-261. Zuckerman S (Ed.) New York: Academic Press.
 - Kawakamy M, Kubo K, Uemura T, Nagase M, Hayashi R. (1981). Involvement of ovarian innervation in steroid secretion. **Endocrinology**. 109: 136-145.
 - Klein C. M. y Burden H. W. (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervation the rat ovary. **Neuroscience Letters**. 85 : 217-222.
 - Koritz SB y Hall PF (1964). Feedback inhibition by pregnenolone: A possible mechanism. **Biochimica et Biophysica Acta**. 93: 215-217.
 - Lawrence IE, Burden HW. (1976). The autonomic innervation of the interstitial gland of the rat ovary during pregnancy. **American Journal Anatomical**, 147: 8-94.
 - Lawrence IE, Burden HW, Louis TM. (1978). Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentration and fetal resorption. **Journal of Reproduction and Fertility**, 33: 131-136.

-
- Lawrence Jr. IE, Burden HW. (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. ***The Anatomical Record***, 196: 5-59.
 - Leonard MJ, Smith CP, Hodson CA, Louis TM, Lawrence IE, Jr, Allen LG, Burden HW. (1984). The effect of vagotomy on ovarian follicular development. ***Anatomical Record***. 208: 471-472.
 - Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR. (1992): Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. ***Cell and Tissue Research***, 270: 87-93.
 - Mitchel GAG (1988). The innervation of the ovary, uterine tube, testis and epididimus. ***Journal Anatomical*** 72: 508-517.
 - Morales L, Chávez R, Domínguez R. (1993). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. ***Medical Science Research***. 21: 15-17.
 - Morales L, Betanzos R, Domínguez R. (2004). Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. ***Archives of Medical Research***. 35: 279-283.
 - 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.
 - Morán C, Morales L, Razo RS, Apolonio J, Quiroz U, Chavira R, Dominguez R. (2003) Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy. ***Life Science***. 16:2113-25.
 - Ojeda SR, Aguado LI, Smith S. (1983a). Mechanisms controlling the onset of female puberty: the rat as a model. ***Neuroendocrinology***. 37:306-13.
 - Ojeda SR, White SS, Aguado LI, Advis JP, Andersen JM. (1983b). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. ***Neuroendocrinology***, 36: 261-267.

-
- Ojeda SR, Urbanski HF, Ahmed CE. (1986). The onset of female puberty. Studies in the rat. Recent. ***Prog Hormone Research***. 42: 385-442.
 - Ojeda SR y Urbanski HF. (1994). Puberty in the rat. En: ***The Physiology of Reproduction***. vol. 2 pp. 363-382. Second Edition. Knobil E, Neill J. M. (Eds.) New York: Raven Press.
 - Ojeda SR, Jameson HE, McCann SM. (1997). Developmental changes in pituitary responsiveness to luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in the female rat: Ovarian-adrenal influence during the infantile period.: ***Endocrinology***, 100: 440-451.
 - Pedernera E. (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. ***Comunicación Neuroendocrina Bases Celulares y moleculares***. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, México. pp. 33-46.
 - Powley TL, Prechtl JC, Fox EA, Berthoud HR. (1983): Anatomical considerations for surgery of the rat abdominal vagus: distribution, paraganglia and regeneration. ***Journal Autonomic Nervous System***. 9: 79-97.
 - Rajendran KC, Hwang J, Menior KMJ (1983): Binding, degradation and utilization of plasma high density and low density lipoproteins for progesterone production in culture rat luteal cells. ***En Endocrinology*** 112:109-116.
 - Ramírez VD. (1973). Endocrinology of puberty. En: ***Handbook of physiology***. Vol. 2. Sec 7. pp. 1-28. Greep RO, Astwood EB. (Eds.). Washington: American Physiological Society.
 - Ramaley JA. (1980). ***Biological clocks and puberty onset***. Federation Proceedings, 39: 2355-2359.
 - Ricardo JA y Koh ET. (1978). Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdale and other forebrain structures in the rat. ***Brain Researches***, 153: 1-26.

-
- Ricardo B. (2005). Participación de la inervación vagal en la respuesta compensadora del ovario. La rata hemicastrada como modelo de estudio. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza.
 - Salas M, Torrero C, Pulido S, Pérez H. (1991). Acciones neurotrópicas de las hormonas tiroideas durante la ontogenia neuronal. ***Ontogenia Neural 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 SR. (1981). Changes in ovarian luteinizing hormone (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotrophin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the rat. ***Endocrinology***. 109: 152-161.
 - Solod EA, Armstrong DT, Greep RO. (1966). Action of luteinizing hormone on conversion of ovarian cholesterol store to steroid secreted *in vivo* and synthesized *in vitro* by the pseudopregnant rabbit ovary. ***Steroids*** 7: 607-620.
 - Stefenson A, Owman Ch, Sjöberg NO, Sporrang B, Walles B. (1981). Comparative study of the autonomic innervation of the mammalian ovary, with particular regard to the follicular system. ***Cell and Tissue Research***, 215: 47-62.
 - Tresguerres JA. (1999). ***Fisiología Humana***. Ed. McGraw Hill, Interamericana. Madrid. 2da. Ed. pp: 1036-1048.