



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA**

**Participación del Nervio Ovárico Superior en
la rata prepúber hemiovariectomizada sobre
la secreción de hormonas esteroideas y la
respuesta compensadora del ovario.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A:

Avisahí Juárez Barrales

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA
MORALES LEDESMA**



MÉXICO, D. F.

SEPTIEMBRE, 2008



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 del Nervio Ovárico Superior en la rata
prepúber hemiovariectomizada sobre la secreción de
hormonas esteroides y la respuesta compensadora del ovario.**

Tesis presentada por: Avisahí Juárez Barrales

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la Unidad
de Investigación en Biología de la Reproducción.
UMIEZ. FES Zaragoza. UNAM.**

**Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de
DGAPA-PAPIIT convenio IN-200505; IN-203307**

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

A **Dios** por permitirme caminar, por la gran experiencia de la vida, por caminar conmigo.

A la **Dra. Leticia Morales Ledesma**, por su dirección, por su apoyo, enorme paciencia y tolerancia, por compartir sus experiencias y conocimientos, mil gracias.

A los miembros del jurado:

Dra. Leticia Morales Ledesma.
Dra. Patricia Rosas Saucedo.
Dra. María de Lourdes Mora García.
Dra. Rosalva Rangel Corona.
M. en C. Angélica Flores Ramírez

Por dedicar tiempo a la revisión de este estudio y compartir sus conocimientos.

A todos mis amigos y compañeros de la unidad de Investigación en Biología de la Reproducción: Adán, Bety, *mis muchachas* Deyra de los Ángeles y Elizabeth, Gabriela, Rosa, Verónica, los chicos nuevos. A cada uno gracias por su apoyo y amistad.

A cada uno de los profesores que enriquecieron mi vida con sus conocimientos y experiencias.

A **María Luisa Illescas Vera** por su colaboración en la realización de los cortes histológicos.

Al **Biólogo Roberto Chavira** por su colaboración en las mediciones hormonales.

A la **Dra. Adriana** y al personal técnico del bioterio de la FES Zaragoza por habernos proporcionado las herramientas necesarias para el desarrollo de este estudio.

D E D I C A T O R I A S

A mis Padres

Margarita, por ser el mejor y más grande cimiento, por legarme la fortaleza y entereza para realizar mis metas, por forjar coraje y orgullo ante la adversidad, a demostrarme que un sacrificio bien vale la pena cuando es por amor.

Virgilio, por sus sacrificios, consejos y palabras de aliento.

A ambos por su amor, cariño e invaluable apoyo, por que juntos logramos realizar este sueño, los amo.

A mis Hermanos

Uriel y Eli, por compartir alegrías, sonrisas, travesuras, sacrificios y tristezas, por que ustedes son parte importante en este logro, mi vida sin ustedes no hubiese sido tan alegre.

A mis sobrinos

Ximena y Diego, por que ellos le regresaron luz, esperanza y tranquilidad a la casa cuando más hacia falta.

A mi mujer

Tania, por que eres el complemento de mi ser, por que eres el *hado* en mi vida, por que eres parte importante para el seguimiento y culminación de este estudio y de todos mis proyectos de vida, sin ti mi vida no estaría completa, eres mi alegría, gracias por tu infinito apoyo.

A mi hija

Odette Margarita, por que eres todos mis sentimientos hechos carne, eres la inspiración para lograr mas sueños, gracias por iluminar a un mas mi vida, por que tu sonrisa me llena de fuerza y esperanzas, te amo.

A la Dra.

Leticia Morales Ledesma, por su dedicación en esta tesis, por enseñarnos que los trabajos mas perfectos, de los imperfectos seres humanos son aquellos que nacen

del corazón, gracias por enseñarnos a observar, a razonar, a ver mas allá de un dato, gracias por su comprensión y amistad.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	i
RESUMEN	ii
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	28
HIPÓTESIS	29
OBJETIVO GENERAL	30
OBJETIVOS PARTICULARES	30
MATERIALES Y MÉTODOS	31
Procedimiento de Autopsia	33
Cálculo de la respuesta compensadora del ovario	33,34
Cuantificación hormonal por el método de RIA	34
Análisis estadístico	35
Diseño experimental	37
RESULTADOS	38
DISCUSIÓN	59
CONCLUSIONES	69
MODELO	70
PERSPECTIVAS	72
REFERENCIAS	73

ABREVIATURAS

Ovx-I	Ovariectomía Izquierda
Ovx-D	Ovariectomía Derecha
SNOI	Sección del Nervio Ovárico Izquierdo
SNOD	Sección del Nervio Ovárico Derecho
OS	Operación simulada
NOS	Nervio Ovárico Superior
NA	Noradrenalina
VIP	Péptido Intestinal Vasoactivo
NPY	Neuropéptido Y
FSH	Hormona folículo Estimulante
LH	Hormona Luteinizante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
APV	Edad de Apertura Vaginal
PEV	Primer Estro Vaginal
AMPC	Adenosina 3', 5'- monofosfato cíclico

RESUMEN

El ovario de los mamíferos recibe inervación simpática a partir del plexo ovárico y del nervio ovárico superior (NOS), éste último transcurre a lo largo del ligamento suspensorio. En la rata púber y adulta el NOS modula de manera estimulante la ovulación y la secreción de hormonas esteroides, cuando se encuentran presentes ambas gónadas.

Para analizar si en el animal con ovariectomía unilateral la respuesta compensadora del ovario y la síntesis de hormonas esteroides es modulada por la información neural que transporta el NOS, en el presente trabajo se decidió estudiar en el modelo del animal hemiovariectomizado a los 16 días de edad, el efecto de la sección unilateral del NOS, realizada al final de la etapa juvenil, sobre el proceso de ovulación e hipertrofia compensadora del ovario la secreción de hormonas esteroides y el inicio de la pubertad. Para ello, a ratas hembra de la cepa CII Z-V de 16 días de edad se les extirpó el ovario izquierdo o derecho y 16 días después, fueron sometidos a la sección unilateral del NOS y se sacrificaron cuando presentaron el primer estro vaginal. La denervación se realizó del lado contralateral a la hemiovariectomía.

Los resultados del presente estudio indican que la hemiovariectomía no modificó el inicio de la pubertad. La respuesta compensadora del ovario *in situ* al primer estro vaginal, no dependió del ovario extirpado.

La laparotomía en animales hemiovariectomizados resultó en un retraso del inicio de la pubertad y en la aparición del primer estro. Al parecer en el animal con ovariectomía unilateral la adición de un nuevo estrés, como es una laparotomía, resultó en un aumento de la concentración sérica de estradiol.

En los animales con ambos ovarios y que fueron sometidos a la sección unilateral del NOS, la secreción de progesterona es modulada de manera estimulante por el nervio ovárico izquierdo, mientras que la de estradiol parece de tipo inhibitoria pero por el nervio ovárico derecho.

En animales con ovariectomía unilateral la sección del NOS inhibe la ovulación compensadora ovárica. El grupo de hembras a las que se les extirpó el ovario derecho y se les seccionó el nervio izquierdo, presentaron retraso en la edad de la canalización de la vagina y de la aparición del primer estro.

En resumen, podemos señalar que en nuestro modelo experimental el nervio ovárico superior modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol, mientras que la de progesterona depende del nervio seccionado y del ovario *in situ*.

INTRODUCCIÓN

La reproducción es un mecanismo fundamental para preservar la especie; en la hembra los ovarios son los órganos primarios para llevar a cabo dicho proceso, por medio de dos funciones interrelacionadas: la producción de gametos (gametos en desarrollo se denominan ovocitos y los maduros se llaman óvulos) y la producción de hormonas esteroides (esteroidogénesis) las cuales son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Ross, 1997) y por la información neural que arriba a las gónadas (Morales y col., 1993; 1998; Ojeda y Urbanski, 1994).

Los ovarios se sitúan en relación con la pared lateral de la pelvis, a cada lado del útero, y están suspendidos por un pliegue del peritoneo, el ligamento suspensorio ovárico, el cual contiene los vasos y nervios ováricos (Bergman y col., 1998).

El sistema endocrino controla diversas funciones relacionadas con la supervivencia del individuo y de la especie. Existen dos tipos de hormonas las peptídicas y las esteroideas que tienen como función asegurar la homeostasis del medio interno (Dvorkin y Cardinal, 2003). █

Para el estudio de las funciones ováricas se ha utilizado como modelo experimental a la rata con ovariectomía unilateral, que consiste en la extirpación de una de las gónadas, lo que resulta en una compensación de las funciones por la gónada *in situ*. Estudios de nuestro laboratorio han mostrado que dicha respuesta no sólo depende de las hormonas sintetizadas por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario sino también de la información neural que reciben las gónadas, vía el Nervio Ovárico Superior (NOS).

Resultados previos de nuestro laboratorio han mostrado que la información neural que transcurre por el NOS modula de manera estimulante la secreción de hormonas esteroides (Chávez y col. 1991; Chávez y Domínguez, 1994; Morales y col 1993; Morán y col., 2000).

Para analizar si la respuesta compensadora del ovario, que se produce ante la extirpación de una de las gónadas, es modulada por la información que transcurre por el NOS, en el presente estudio se realizó la hemiovariectomía en la etapa infantil y transcurridos 16 días se practicó la sección del NOS del *ovario in situ*.

MARCO TEÓRICO

El ovario

El ovario es un órgano con forma oval, ligeramente aplanado. Está suspendido del ligamento ancho uterino, en un pliegue peritoneal llamado *mesovario* por el que discurren los vasos sanguíneos que se introducen en el ovario a través del *hilio* (Fawcett, 1995). El ovario está cubierto por una capa de epitelio cilíndrico. Bajo el epitelio germinal existe una capa avascular que está formada por tejido conjuntivo denso y se denomina túnica albugínea (Anne y Anne, 2002; Jones, 1997).

El ovario está constituido por tres compartimentos funcionales diferentes: El *compartimiento folicular* que contiene los folículos primordiales, primarios, secundarios y folículos maduros. El *compartimiento luteal* constituido por el cuerpo lúteo que es el remanente del folículo que ovuló colapsado que sufre reorganización después de la ovulación y tiene como función principal la secreción de progesterona. El tercer compartimento lo conforma la *glándula intersticial* que se forma de las células de la teca de aquellos folículos que van a la atresia (Van Voorchis, 1999). En el estroma ovárico se encuentran cuatro clases principales de células intersticiales, que se clasifican por sus características y posición en el ovario en: Primarias, Tecales, Secundarias e Hiliares, cuya principal función es la producción y secreción de andrógenos, principalmente androstenediona y

testosterona, en respuesta a la Hormona luteinizante (LH) (Jones, 1997; Tresguerres, 1999).

Desde el punto de vista histológico, en el ovario se pueden visualizar tres zonas. *La corteza*, revestida por el epitelio germinal, que contienen todos los ovocitos, pueden verse folículos en diversas fases de desarrollo y regresión. *El estroma* circundante se halla formado por elementos de tejido conjuntivo y células intersticiales; *la médula* que es la parte más interna del ovario, está formada por tejido conjuntivo laxo con fibras elásticas, algunas fibras musculares lisas y numerosos vasos arteriales y venosos de los que se originan pequeñas ramas que se dirigen hacia la corteza. La corteza y la médula se continúan de forma imperceptible sin que exista entre ellas una clara separación (Fawcett, 1995; Jones, 1997); finalmente el hilio ovárico: es la vía a través de la cual los nervios y los vasos sanguíneos y linfáticos entran y salen del ovario y se continúan con la médula (Ewald, 1971; Stevens, 1999).

Foliculogénesis

Estructuralmente los ovarios están formados por una colección de folículos primordiales embebidos en una red de tejido conjuntivo. Se ha estimado que en la mujer el número de folículos al nacimiento es de 70 000 a 400 000 para los dos ovarios. De estos, únicamente 500 folículos alcanzan su completa maduración y liberación del óvulo; el resto de ellos degeneran, a este proceso se le llama atresia

folicular. Este proceso se inicia en la vida intrauterina, se hace más rápido durante la niñez; continúa más lentamente durante la vida sexual

activa y termina después de la menopausia (Ewald, 1971; Ferin M, 1999; Jones, 1997; Ninomiya; 1995).

El folículo ovárico es la unidad estructural y funcional del ovario. El crecimiento y desarrollo de los folículos ováricos se lleva a cabo en una secuencia ordenada (*Figura 1*), el desarrollo es de manera gradual tanto en el tamaño como en la complejidad morfológica (Bergman y col., 1998). De acuerdo a su desarrollo, se pueden clasificar en cuatro tipos de folículos: primordial, primario, secundario o antral y folículo Maduro o de Graaf (Ewald, 1971; Magoffin y Erickson, 1999).

Folículo Primordial: Es muy pequeño aparece un gran número en la periferia del ovario, exactamente por debajo del epitelio, aún no responden a la hormona estimulante del folículo (FSH); contiene un ovocito primario, de 25 a 30 μm de diámetro y está en la fase inactiva de dictioteno, de la meiosis I. (Cormack, 1988). Alrededor del ovocito primario se encuentra una sola capa de células epiteliales foliculares planas (escamosas) también conocidas como células de la granulosa, rodeadas por la membrana basal, posee un núcleo excéntrico y cerca de éste hay un aparato de Golgi bien desarrollado con varias mitocondrias alrededor (Bergman y col., 1998; Ewald, 1971; Italo y Pineda, 1988).

Folículo Primario: Al crecer el folículo aparece entre el ovocito y las células foliculares circundantes una capa homogénea, muy ácida llamada *zona pelúcida*. Con el crecimiento del ovocito, las células foliculares aplanadas comienzan a aumentar de tamaño y a cambiar su forma que va de circular a cilíndrica y finalmente adoptan la forma cuboidal originando así, la capa de células de la granulosa. Conforme estas células proliferan las células fusiformes derivadas del intersticio ovárico se agrupan formando varias capas por fuera de las células de la granulosa, dando origen a una segunda clase de células denominadas *células de la teca* (Guyton, 1987). Conforme proliferan las células epiteliales foliculares, las paredes de los folículos terminan por contener más de una capa de ellas. Además la zona pelúcida adquiere mayor nitidez y las células del estroma que rodean al folículo se diferencian en la teca, estructura similar a una cápsula. En las especies monoovulantes, como es el caso de la mujer, sólo uno de los folículos comienza a madurar y en cada ciclo completa el proceso, el resto de los folículos pasa por una fase de degeneración llamada *atresia folicular* (Cormack, 1988).

Folículo Secundario o Antral: Cuando la capa de la granulosa alcanza un espesor de 6 a 12 hileras celulares empiezan a aparecer cavidades llenas de líquido folicular que se sigue acumulando entre las células, a estas pequeñas cavidades se les llama cuerpos de *call-exner*, al ir aumentando el tamaño de las cavidades se forma una cavidad semilunar llamada antro folicular, las células de

la granulosa forman un montículo llamado cúmulo oóforo que se proyecta en el antro y rodea al ovocito, las células del cúmulo oóforo que están en contacto con el ovocito y permanecen con él después de la ovulación forman la llamada corona radiada (Bergman y col., 1998; Ewald, 1971; Jones 1997).

Folículo Maduro: El folículo mide aproximadamente 10 mm y ocupa todo el espesor de la corteza ovárica y hace protusión en la superficie. Cuando un folículo alcanza su tamaño máximo, disminuye su actividad mitótica en las células de la granulosa, la célula de la granulosa adelgaza a medida que el antro crece (Fawcett, 1995). Es en esta etapa cuando la hormona luteinizante se encarga de la maduración final del folículo. La ovulación es estimulada por el incremento previo de la LH, para la cual poseen receptores las células de la granulosa y las tecales. Se ha demostrado que la adquisición de los receptores a la LH por parte de las células de la granulosa es inducido por la FSH, que actúa conjuntamente con los estrógenos (Cormack, 1988; Geneser, 2000).

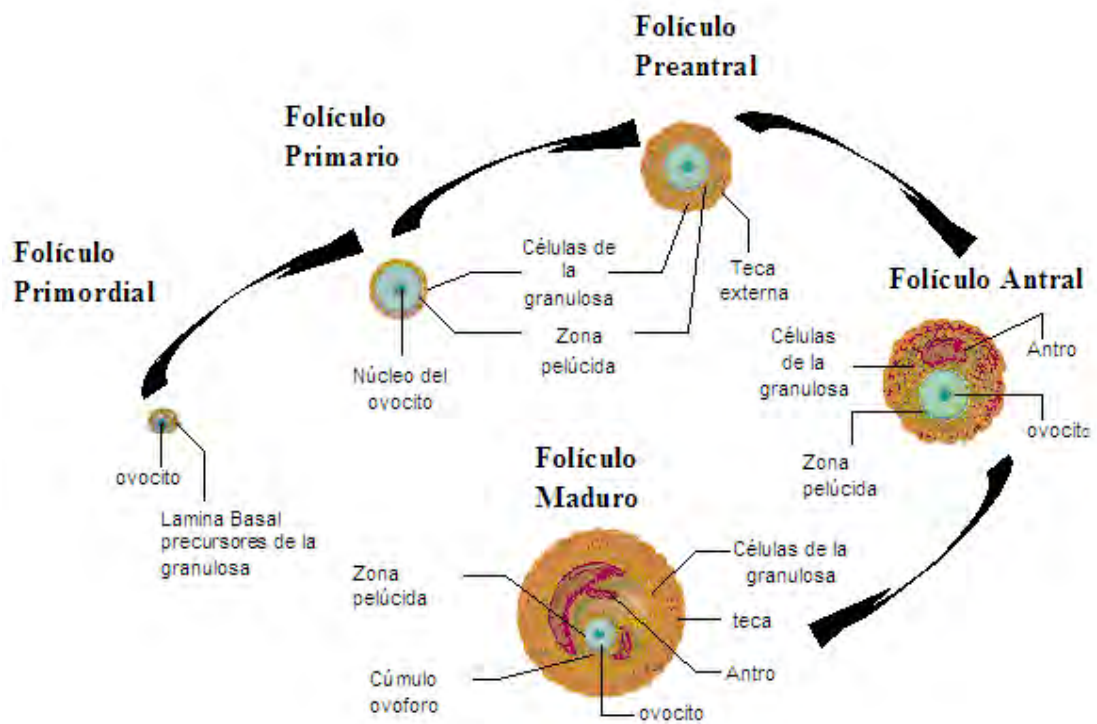


Figura 1. Desarrollo y clasificación de los folículos, puede apreciarse de izquierda a derecha folículo primordial, primario, antral y folículo maduro (Modificado de *Vander y col 2001*).

Ovulación y Hormonas que intervienen

En la última fase de desarrollo folicular los estrógenos y las gonadotropinas coordinan la maduración del folículo (Fink G, 1986). Los estrógenos ejercen una acción de retroalimentación positiva sobre el eje hipotálamo-hipófisis que estimula la liberación ovulatoria de gonadotropinas. Después de que se produce la ovulación, las células de la granulosa del folículo sufren un cambio en la esteroidogénesis que resulta en la producción adicional de progesterona (señal temprana de luteinización). La producción de estradiol y progesterona por parte de las células de la granulosa, incrementa los receptores a LH en estas células y estimula en la adenohipófisis la liberación ovulatoria de LH; tras esta liberación se produce un aumento de la concentración de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPC) tisular, lo que induce la luteinización y activación de enzimas luteolíticas responsables de la ruptura de la pared folicular. Existen evidencias que sugieren que las prostaglandinas también participan en la ruptura de la pared folicular (Ewald, 1971; Tresguerres, 1999).

La acción de expulsar el ovocito se conoce como ovulación (Fawcett, 1989). Conforme el folículo alcanza las fases finales de maduración, el ovocito y las células de la granulosa que le rodean se separan del cúmulo oóforo y flotan libremente en el líquido folicular. En este momento, parece que el líquido folicular se acumula más de prisa de lo que crece el folículo y parte de la pared folicular que hace prominencia en la superficie del ovario se hace más delgada.

La primera indicación de que la ovulación es inminente consiste en la aparición en la superficie externa del folículo de una pequeña área oval a la que se le denomina mácula pelúcida. El epitelio germinal que recubre esta zona se desintegra y el estroma queda justamente adelgazado y la mácula pelúcida sobresale en forma de una ampolla clara. En la rata la formación de la mácula requiere de cinco minutos entonces el cono se rompe y al cabo de un minuto el huevo con la masa adherida del cúmulo es expulsado a través del orificio, seguido de un pequeño chorro de líquido folicular (Fawcett, 1989).

Esteroidogénesis

El grupo de hormonas esteroides esta conformado por mineralocorticoides, glucocorticoides, esteroides sexuales y vitamina D (Ruiz y col., 1994; Yen y col., 2001). Todos lo esteroides son sintetizados a partir del colesterol, que es producido a partir del acetato dentro de las células, o bien es incorporado desde el plasma donde es transportado por lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Duorkin y Cardinali 2003; Tresguerres, 1999).

En el folículo ovárico se sintetizan estrógenos (estradiol, estrona) gracias a la participación de dos entidades celulares, las células de la granulosa y de la teca folicular, vía un mecanismo denominado teoría de la *doble célula* la cual aparece representada en la **Figura 2** (Ewald, 1971; Williams y Stancel 1996). Donde el

principal producto secretor es el estradiol sintetizado por las células de la granulosa a partir de precursores androgénicos proporcionados por la célula de la

teca. La activación de la aromatasa es inducida por gonadotropinas, que actúan por medio de receptores de membrana plasmática para aumentar las concentraciones intracelulares de AMPc. Las gonadotropinas y el AMPc también incrementan la actividad de la enzima de desintegración de la cadena lateral de colesterol y facilitan el transporte de colesterol hacia las mitocondrias de las células que sintetizan a pregnenolona (Williams y Stencel, 1996). La pregnenolona puede ser transformada a progesterona por acción de la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa Δ^5 -4 isomerasa (3β -HSD) y/o seguir la ruta metabólica de la enzima citocromo p450c17 α , 17 α hidroxilasa y 17, 20 liasa y ser convertida en androstenediona. Enseguida, la androstenediona es transformada en testosterona por actividad de la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Duorkin y Cardinali, 2003; Jones; 1997). Los andrógenos liberados por las células de la teca, difunden a través de la lámina basal y son captados por células de la granulosa, donde por acción de las aromatasas son metabolizados de androstenediona a estrona o de testosterona a estradiol (Gavilán, 2006, Yoshinaga, 1999).

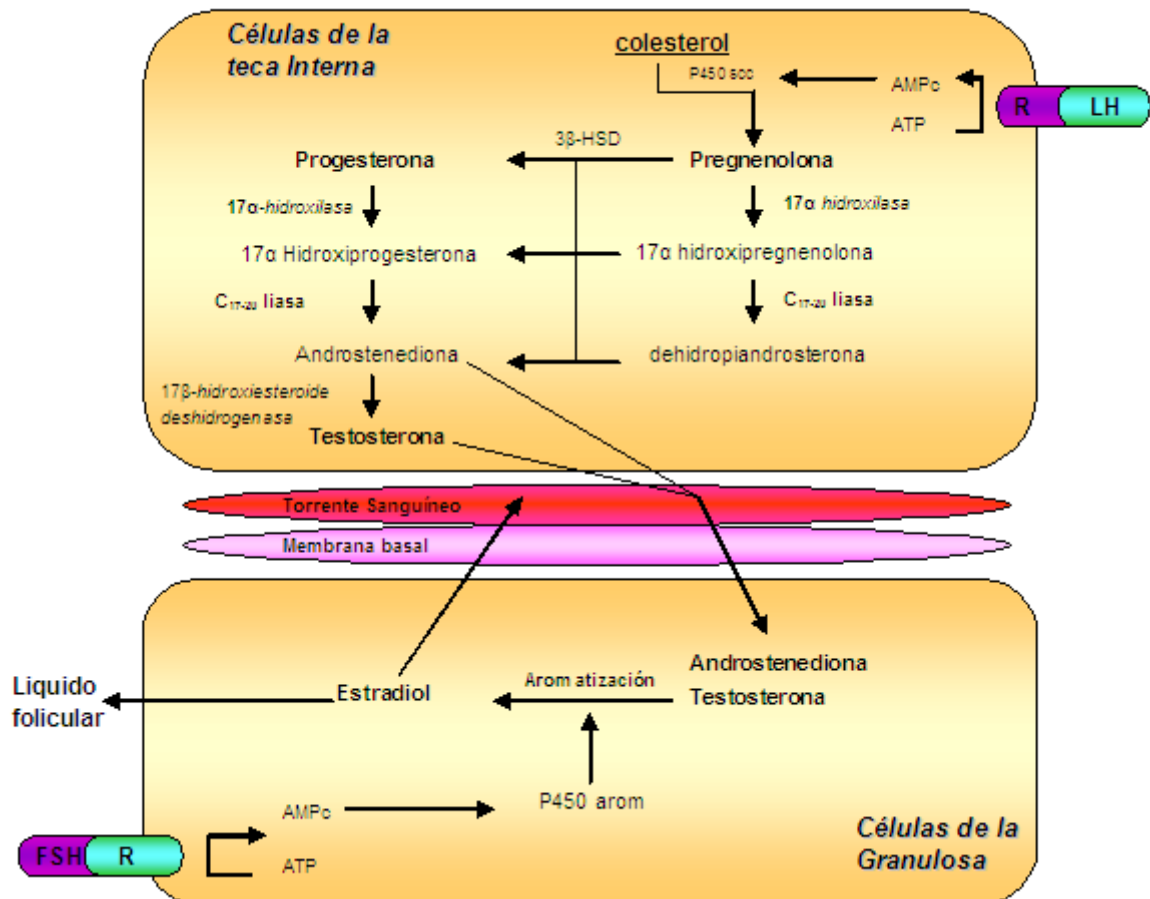


Figura 2. Teoría de la doble célula, muestra la estimulación de la esteroidogénesis ovárica (Modificado de Adashi, 1991; Gore – Langton y Armstrong, 1994).

Acciones biológicas de las hormonas esteroides

Los esteroides sintetizados por el ovario son sobre todo estrógenos y progesterona y secreta pequeñas cantidades de andrógenos. (Duorkin y Cardinali, 2003). Los estrógenos producen un ligero aumento de la síntesis proteica y

determinan el depósito de grasa característico de la figura femenina (Guyton; 2001).

El estradiol es fundamental para que las gonadotropinas ejerzan sus acciones sobre el ovario; facilita la acción de la FSH sobre las células de la granulosa y ayuda a incrementar y mantener sus propios receptores (Tresguerres, 2003).

La progesterona en la mujer es secretada por el cuerpo lúteo durante la segunda fase del ciclo menstrual. El número de cuerpos lúteos formados es equivalente al número de folículos que liberaron su ovocito durante la ovulación (Fawcett, 1989; Juengel y col; 1999). La progesterona actúa sobre el endometrio, previamente estimulado por el estradiol durante la primera fase del ciclo menstrual (fase proliferativa) para prepararlo para el embarazo. La progesterona disminuye la frecuencia de la secreción pulsátil de LH durante la fase lútea. Sin embargo la secreción de FSH no se ve afectada. Además la progesterona tiene una ligera acción termogénica, el incremento de la temperatura corporal basal en la segunda mitad del ciclo ovárico es un indicio de que se ha dado la ovulación (Tresguerres, 2003).

A nivel cerebral la progesterona actúa inhibiendo una ovulación adicional y en algunos mamíferos la progesterona actúa suprimiendo la receptividad sexual (Fawcett, 1989).

La capacidad de respuesta de los órganos blanco a los esteroides, que viajan por el torrente sanguíneo, son regulados por mecanismos de retroalimentación negativa y positiva entre los factores liberadores e inhibidores producidos por el hipotálamo y los propios estrógenos. Las hormonas esteroides ingresan en las células blanco y se unen en forma estereoespecífica a las proteínas receptoras citoplasmáticas solubles dispersas, que normalmente se concentran en la membrana plasmática o cerca de ella. Después de la unión a los esteroides el complejo hormona-receptor se desplaza hacia el núcleo, donde la función celular es regulada finalmente a través de modificaciones en la transcripción de los genes y síntesis de proteínas (Yen y Col., 2001).

La rata como modelo

La rata nace en un estado de inmadurez equivalente a los 150 días de gestación del humano (Ojeda y col., 1980). En este momento, tanto en la rata como el humano, se produce la diferenciación sexual del encéfalo por la presencia o ausencia de la testosterona secretada por los testículos (Dorner, 1980). El trabajar con ratas es relativamente fácil debido a que sus ciclos de vida son cortos, tienen camadas con un gran número de crías, el período de gestación es corto, por estas y otras características más se ha utilizado este modelo experimental para analizar los mecanismos biológicos implicados en la

diferenciación sexual, cuando se manipulan estos animales desde los primeros días de vida (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido., 1990).

En la rata hembra desde el nacimiento hasta el comienzo de la etapa púberal, transcurren aproximadamente entre 35 y 40 días. El único signo exterior que señala el comienzo de la función reproductora es la canalización de la vagina. La apertura vaginal generalmente ocurre el día posterior a que se presenta las altas concentraciones preovulatorias de las gonadotropinas y el frotis vaginal muestra células correspondientes al primer estro. A partir de este momento la rata puede quedar preñada, aunque la eficacia reproductiva es menor que en el animal adulto (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido.,1990).

Por tanto en la rata el desarrollo de los mecanismos involucrados en la reproducción se producen en un lapso de cinco semanas; en ese tiempo el peso corporal aumenta 15 veces y la longitud del cuerpo tres veces. Las etapas por las que pasa el animal hasta llegar a la pubertad son cortas y los cambios que ocurren en cada una son determinantes.

Ojeda y colaboradores (1980) han propuesto una clasificación de estas etapas en las que se toma en consideración parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los distintos componentes del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. De acuerdo con esta clasificación el desarrollo de la rata

hembra puede ser dividido en cuatro fases: a) etapa neonatal (desde el nacimiento hasta el día 7) b) etapa infantil (del día 8 al 21) c) juvenil (22 a 30 días) y d) peripuberal, de duración variable y culmina con la primera ovulación.

Etapa Neonatal, en esta etapa el ovario no responde a las gonadotropinas circulantes, lo que indica que el crecimiento folicular se inicia en forma independiente a las gonadotropinas. Al quinto día de vida la FSH comienza a estimular la producción de estradiol a partir de testosterona y es al final de esta etapa que se hace evidente la respuesta esteroideogénica del ovario a las gonadotropinas. Las bajas concentraciones de FSH presentes antes del nacimiento, empiezan a aumentar y la de LH sérica se mantiene baja. Los estrógenos carecen de actividad biológica debido a que se encuentran unidos a la α -feto proteína, la cual se encuentra en altas concentraciones (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido., 1990).

Periodo Infantil en el plasma se observan concentraciones altas de FSH, que son importantes para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que van a ovular a la pubertad. En esta etapa la liberación de LH se produce en forma esporádica. A partir del día 15 de vida, disminuye la FSH, desaparecen las concentraciones bruscas de LH y comienza a detectarse en suero la inhibina. Un evento importante que ocurre en la rata infantil es la disminución de la α -feto proteína, lo que favorece la eficiencia de la retroalimentación negativa del estradiol sobre las gonadotropinas.

Periodo Juvenil: En este periodo la concentración plasmática de FSH disminuye y la de LH es baja. En el ovario hay un aumento de receptores a LH que se traduce en una mayor esteroidogénesis.

Periodo Peripuberal: hay un patrón circadiano bien definido de la LH, independiente del control esteroideo. El establecimiento de los pulsos de secreción elevada de la LH es responsable de estimular al ovario para una mayor producción de estradiol. En el ovario puede observarse un número máximo de receptores para FSH y LH, lo que se traduce en una mayor respuesta esteroidogénica, en consecuencia aumentan las concentraciones de estradiol, progesterona y testosterona, ésta última es la responsable de la apertura vaginal (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido., 1990).

El ciclo ovárico

La función ovárica durante la vida reproductiva se produce de una manera cíclica. En la mayoría de las especies, con la notable excepción de los primates, la característica mas relevante de la ritmicidad es la aparición de la conducta de celo o estro (ciclo estral), en el cual la hembra acepta la monta y la cópula. Esta conducta de estro coincide temporalmente con la ovulación (rata, ratón, hámster, cobaya). En otros mamíferos (gato, conejo, hurón) la ovulación es un proceso reflejo que se desencadena por el estímulo del coito, que solo tiene lugar durante los periodos de estro (Klein y Schwartz, 1999; Tresguerres, 1999).

Clasificación de los ciclos ováricos

Una primera clasificación es aquella que los divide según la naturaleza de la ovulación. Los ovuladores espontáneos no necesitan de la cópula para la inducción de la ruptura folicular. En los animales de ovulación inducida la cópula desencadena un reflejo neuroendocrino que estimula la liberación, primero de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y segundo de la LH la que al actuar sobre el folículo ovárico induce la expulsión del ovocito. Como los principales determinantes de la duración del ciclo ovárico es el tiempo requerido para que el folículo madure, hasta el estadio ovulatorio, se ha clasificado el ciclo de la rata como ultracorto; no obstante la clasificación más habitual se basa en una característica conductual o fisiológica siendo así que el ciclo de la rata se clasifica como poliestral, su ovulación espontánea ocurre en estro, la duración del ciclo va de 4 a 5 días y la etapa de preñez dura aproximadamente 21 días (Tresguerres,1999).

El ciclo Estral de la Rata

El ciclo estral de la rata dura entre 4 y 5 días y puede ser modificado por factores ambientales como la luz, la temperatura y las sustancias químicas percibidas por el sentido del olfato. Se divide en cuatro fases: estro, metaestro, diestro y proestro (*Figura 3*).

La fase de estro es el periodo de celo en el que la hembra presenta factores de conducta sexual (lordosis), acepta la monta y la cópula. La fase de metaestro

tiene aproximadamente la misma duración que el estro, pero la monta y la cópula ya no son permitidas. La fase de 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. La última etapa es el proestro, los folículos han adquirido el estadio de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol (Tresguerres, 1999).

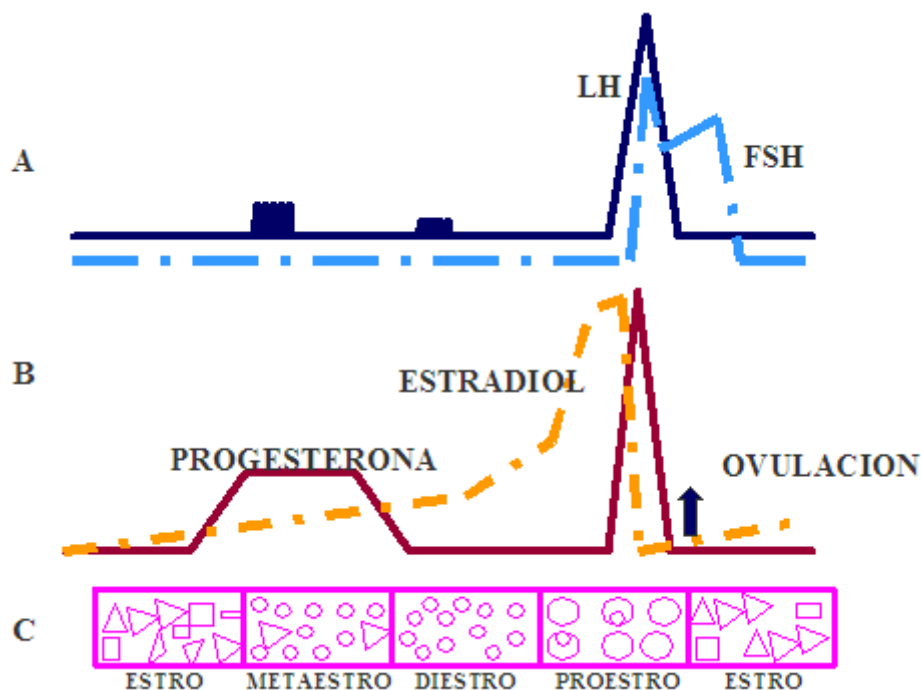


Figura 3. Representación del ciclo estral de la rata **A:** Concentración plasmática de LH (—) FSH (- - -). **B** concentración plasmática de progesterona (—) estradiol (- - -). **C** citología del frotis vaginal. La flecha sombreada ubica la etapa de estro que corresponde al periodo en celo. Modificado de *Tresguerres, 1999*).

Sistema Nervioso Autónomo

El sistema nervioso autónomo se divide en: sistema nervioso simpático y sistema nervioso parasimpático con bases anatómicas y funcionales diferentes. Ambos sistemas consisten en fibras preganglionares mielinizadas las cuales hacen conexiones sinápticas con fibras postganglionares no mielinizadas las cuales inervan a los órganos efectores. Estas sinapsis ocurren regularmente en lugares denominados ganglios (Ramos, 2001).

Anatomía del Sistema Nervioso Simpático

Los nervios simpáticos tienen su origen en la médula espinal, entre los segmentos T10 y L4 (Cormack, 1988), de aquí pasan primero a la cadena simpática y luego a los tejidos y órganos que son estimulados por ellos. Cada vía simpática desde la médula espinal al tejido estimulado se compone de dos tipos de neuronas, una preganglionar y otra postganglionar (Ramos, 2001). El cuerpo celular de cada neurona preganglionar se halla en el correspondiente nervio raquídeo. Los ganglios del sistema nerviosos autónomo generalmente son iguales a los raquídeos, en tanto que tienen una estructura de tejido conectivo y contienen células ganglionares y capsulares, las neuronas de los ganglios autónomos son multipolares y, dado que poseen numerosas dendritas, tienen un contorno más irregular y menos diferenciado que las células de los ganglios raquídeos (Cormack, 1988).

Características básicas de la función simpática y parasimpática

Las terminaciones nerviosas simpáticas secretan noradrenalina y las parasimpáticas principalmente acetilcolina. Todas las neuronas preganglionares son colinérgicas tanto en el sistema nervioso simpático como en el parasimpático. Por tanto, cuando se aplican a los ganglios, la acetilcolina o las sustancias de este tipo, excitan las neuronas posganglionares simpáticas y parasimpáticas. Las neuronas postganglionares del sistema parasimpático son colinérgicas. La mayor parte de las neuronas simpáticas posganglionares son adrenérgicas, aunque las fibras nerviosas simpáticas que van a las glándulas sudoríparas y a unos pocos vasos sanguíneos son colinérgicas. En consecuencia, las terminaciones de los nervios del sistema parasimpático secretan por lo general acetilcolina y la mayor parte de las terminaciones de los nervios simpáticos secretan noradrenalina (NA), estos neurotransmisores, a su vez, actúan en los diferentes órganos para causar los efectos parasimpático y simpático respectivos. Por tanto estas sustancias se llaman a menudo respectivamente transmisores parasimpáticos y transmisores simpáticos (Guyton, 1989).

Efecto de la pérdida de tono simpático o parasimpático después de la denervación

Inmediatamente después de que un nervio simpático o parasimpático es seccionado, el órgano inervado pierde su tono simpático o parasimpático. En el caso de los vasos sanguíneos, por ejemplo, la sección de nervios simpáticos origina inmediatamente vasodilatación. Sin embargo, en unas semanas el tono

intrínseco del músculo liso de los vasos aumenta, llevando la vasoconstricción hasta valores casi normales. Esencialmente ocurre lo mismo en cualquier órgano tanto si se pierde el tono simpático como parasimpático. Es decir, pronto se desarrolla una compensación intrínseca para recuperar la función del órgano casi hasta su valor basal. Sin embargo, en el sistema parasimpático la compensación a veces requiere varios meses (Guyton, 1989).

Sensibilidad de los órganos simpáticos o parasimpáticos a la denervación

Durante la primera semana, o un poco más, después de destruir un nervio simpático o parasimpático, el órgano que mantiene intacta su inervación se hace más sensible a la NA o la acetilcolina respectivamente. Este fenómeno se llama hipersensibilidad a la denervación, en algunos órganos incrementa la reacción 10 veces o más. Se cree que el mecanismo de este fenómeno depende de un aumento del número de receptores en las membranas postsinápticas de las células receptoras, este fenómeno se da si la NA o la acetilcolina ya no se liberan más en la sinapsis. Por tanto, cuando estos neurotransmisores aparecen en la sangre la reacción receptora se estimula aún más (Guyton, 1989).

Inervación del Ovario

En los mamíferos los ovarios están inervados por fibras simpáticas y sensoriales, las fibras así como la vasculatura llegan en su mayor parte a los

componentes del ovario y al tejido intersticial. Existen evidencias fisiológicas que llevan a postular que la inervación, además de las gonadotropinas, es uno más de los componentes que participan en la regulación del desarrollo folicular (Burden 1978; Dissen y Ojeda, 1999; Flores y col., 1990).

Así entonces la inervación simpática llega al ovario de los mamíferos por dos vías; el plexo ovárico (OPN) el cual corre a lo largo de la arteria ovárica, esta formado por una red de fibras nerviosas, que revisten toda la arteria así como la vena ovárica, inerva al oviducto, al ligamento ancho y al ovario (Ojeda, 1999).

Las fibras que inervan al ovario se originan de T10, mientras que las que inervan a los oviductos corresponden a T11-T12 y L1. (Burden y col., 1983). El plexo ovárico recibe fibras nerviosas provenientes de la parte pélvica del plexo hipogástrico y de las fibras preganglionares de los nervios sacros S3-S4 (Burden 1978). La segunda vía es por el nervio ovárico superior (NOS) esta asociado con el ligamento suspensorio y penetra al ovario junto con la vena ovárica. Inerva al ovario y útero. El NOS posee una cubierta de peritoneo y aproximadamente 200 axones no mielinizados embebidos en una fina matriz de tejido conectivo. Los axones mielinizados son mas frecuentes en el plexo ovárico que en los nervios del ligamento suspensorio (Burden y col., 1983) (*Figura 4*).

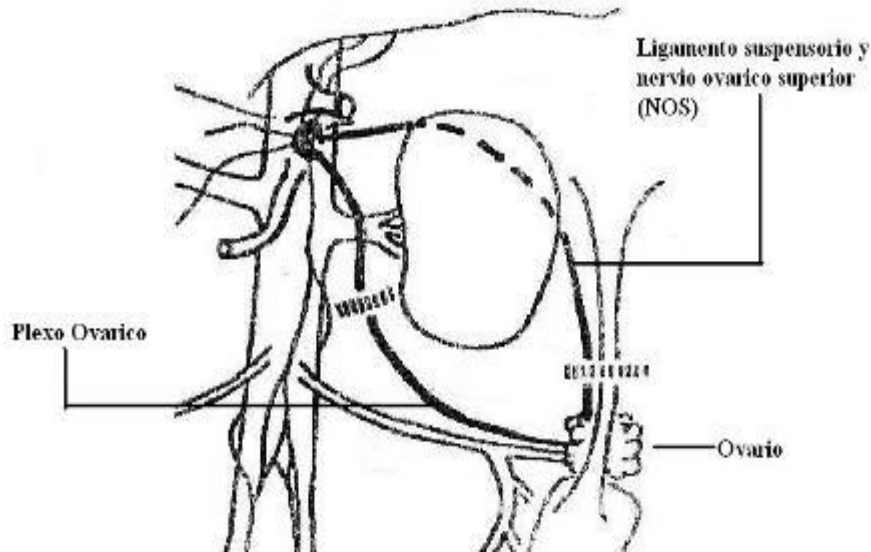


Figura 4. *Innervación ovárica, muestra al nervio ovárico superior y plexo ovárico.*

Modificado de *Klein y Burden, 1988.*

Existen algunas evidencias histológicas que describen la distribución intraovárica de las fibras nerviosas y la identificación química de los neurotransmisores que son transportados por éstas. La innervación ovárica se ha asociado como un componente importante en la regulación de las funciones de la gónada, la ovulación y la esteroidogénesis (Dissen y Ojeda, 1999).

La innervación ovárica simpática en la modulación del desarrollo folicular

La innervación esta integrada por fibras catecolaminérgicas (que secretan NA) y peptidérgicas donde principalmente transportan el neuropéptido Y (NPY) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Dissen y Ojeda, 1999).

Se ha encontrado que el VIP y la NA contribuyen en la diferenciación bioquímica del folículo ovárico, en la formación de nuevos folículos, y de receptores para FSH y estimula la secreción de progesterona y andrógenos (Parra y col., 2007). Particularmente el VIP estimula la producción de estradiol mientras que la NA amplifica el efecto de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

Algunos estudios sugieren la existencia de una comunicación neural bidireccional entre el hipotálamo y el ovario, mediada por la innervación extrínseca de la glándula (Gerendai y Halász, 1978). En apoyo a esta hipótesis Dissen y Ojeda (1999) mostraron que en la rata adulta la estimulación eléctrica del hipotálamo anterior incrementa la secreción esteroidogénica, lo que hablaría de un mayor desarrollo de la población folicular.

La innervación ovárica extrínseca en la ovulación

La sección unilateral del nervio ovárico superior en el animal prepúber resulta en una disminución del número de ovocitos liberados por el ovario denervado (Morales y col., 1993), resultados similares han sido descritos en la rata adulta (Chávez y col., 1991). A diferencia de lo que ocurre en el animal adulto, en

el animal prepúber el ovario que queda innervado compensa la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario desnervado. Estos resultados apoyan la idea de una comunicación neural entre ambos ovarios y reafirman la existencia de una lateralización de los mecanismos que regulan la ovulación (Burden W H., 1978).

Efectos de la ovariectomía unilateral

La ovariectomía unilateral consiste en la extirpación de uno de los ovarios y trae consigo diversas respuestas fisiológicas en el organismo. La ovariectomía unilateral es acompañada por la hipertrofia y la ovulación compensadora de la gónada *in situ* (Flores y Morales, 1985) en la cual la gónada aumenta de tamaño y puede mantener su función ovulatoria a un nivel equivalente a cuando se encontraban las dos gónadas (Burden y Lawrence, 1977).

Burden y Lawrence (1977) mostraron que en respuesta a la ovariectomía unilateral se produce un incremento en la concentración sérica de gonadotropinas, cinco horas posteriores a la cirugía. Por otra parte Chávez y Domínguez (1994), han encontrado que en la rata adulta con ovariectomía unilateral la respuesta ovulatoria depende del día del ciclo estral en el que se realiza la cirugía y de la gónada *in situ*.

Inicialmente se proponía que el mecanismo implicado en el fenómeno de hipertrofia compensadora, que se presenta después de la extirpación de uno de los

ovarios, era exclusivamente hormonal. Es decir, que se producía una caída en la concentración plasmática de estrógenos lo que se traduciría en un aumento de la liberación de gonadotropinas. Estas últimas actuarían sobre el ovario, promoviendo el crecimiento de un mayor número de folículos y la ganancia del peso del órgano (Morales y col., 1998).

Existen reportes que señalan que la inervación extrínseca participa en el proceso de hipertrofia compensadora del ovario. En la rata de 16 ó 32 días de edad la extirpación del ovario izquierdo, acompañada de la sección del NOS derecho, disminuyó la proporción de animales ovulantes efecto contrario se observó cuando se extirpo la gónada derecha y se seccionó el NOS izquierdo (Morales y col., 1993). En ratas adultas hemiovariectomizadas la sección del NOS inhibe la ovulación compensadora ovárica, además que la hipertrofia compensadora ovárica se da de manera asimétrica y depende del ciclo estral de la rata (Chávez y Domínguez 1994; Domínguez y col., 2003).

Resultados previos de nuestro laboratorio han mostrado que en la rata prepúber con ovariectomía unilateral y vagotomía bilateral se produce una disminución de la secreción de hormonas esteroideas que se ve acompañada por un retraso en el inicio de la pubertad (Bolaños, 2005). En tanto que la rata adulta con vagotomía bilateral presenta una disminución de la LH, cinco horas post – cirugía, efecto que se bloquea si el animal además es sometido a una vagotomía bilateral (Burden y Lawrence 1977).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De las evidencias antes señaladas se sugiere que la información neural que transcurre por el nervio ovárico superior regula las funciones ováricas (ovulación y esteroidogénesis), sin embargo se desconoce si su participación va a depender de la edad del animal, de la presencia de una o ambas gónadas y del período transcurrido entre la ovariectomía, la denervación y la autopsia.

La sección bilateral del nervio vago (inervación predominantemente sensorial) bloquea la hipertrofia compensadora, sólo si la vagotomía se realiza inmediatamente después de la hemiovariectomía, efecto que no se observa si transcurren cuatro horas y media entre una cirugía y otra (Trkulja y Lackovic, 2001). Al momento, desconocemos si la inervación simpática aportada por el nervio ovárico superior, modula de la misma manera la respuesta compensadora del ovario. Por lo que en el presente estudio se analizó en el animal con ovariectomía unilateral, realizada a los 16 días de edad (etapa infantil), el efecto de la sección unilateral del NOS realizada al final de la etapa juvenil (32 días de edad), sobre la regulación de los procesos de secreción de hormonas esteroides y de la ovulación e hipertrofia compensadora ovárica.

HIPÓTESIS

Dado que en la rata con ambos ovarios, el nervio ovárico superior modula de manera estimulante la ovulación y la esteroidogénesis, por lo que en el animal infantil con ovariectomía unilateral la sección unilateral del nervio, realizada en la etapa juvenil, disminuirá la respuesta compensadora del ovario *in situ*.

OBJETIVO GENERAL

- Estudiar en la rata prepúber con ovariectomía unilateral la participación del nervio ovárico superior en los mecanismos de regulación de la esteroidogénesis ovárica y de la respuesta compensadora del ovario.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Estudiar en el animal infantil de 16 días de edad el efecto de la hemiovariectomía sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, estradiol y la respuesta compensadora del ovario *in situ*.
- Analizar en el animal juvenil de 32 días de edad, con ambos ovarios, el efecto de la sección unilateral del nervio ovárico superior sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, estradiol y la ovulación.
- Estudiar en el animal infantil hemiovariectomizado el efecto de la sección del nervio ovárico superior, realizada al final de la etapa juvenil, sobre el inicio de la pubertad, la secreción de progesterona, estradiol y la respuesta compensadora del ovario *in situ*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII Z-V en condiciones controladas de iluminación, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad (luces encendidas de 5:00 a 19:00 horas) y temperatura de 22 ± 2 °C. Al nacimiento los animales fueron distribuidos en grupos de cinco hembras y un macho por caja con libre acceso a la madre hasta el momento del destete (21 días). A partir de este momento contaron con agua y alimento *ad libitum*. A los 16 días o 32 días de edad según el caso fueron distribuidos al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales.

Ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D)

Grupos de diez animales de 16 días de edad fueron anestesiados con éter etílico, se les realizó una incisión lateral de piel y músculo por donde se exteriorizó el ovario. En un grupo se extirpó el ovario izquierdo y en otro el derecho. Terminada la cirugía se procedió a suturar la herida y los animales fueron regresados al bioterio. El ovario extirpado se disecó y se pesó en la balanza analítica.

Sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD)

Animales de 32 días de edad fueron anestesiados con éter etílico, se realizó una incisión de piel y músculo por la que se exteriorizó el ovario izquierdo o derecho y una vez identificado el nervio ovárico superior se procedió a cortarlo, aproximadamente medio centímetro de antes del ovario. Al finalizar la denervación el ovario se regresó a la cavidad abdominal y se suturó la herida.

Ovariectomía izquierda o derecha con sección contralateral del nervio ovárico superior.

De los grupos de animales que fueron hemiovariectomizados a los 16 días de edad, al llegar a los 32 días nuevamente fueron anestesiados con éter etílico y sometidos a una incisión de piel y músculo, la cual se realizó del lado contralateral a la ovariectomía. Una vez realizada la incisión se realizó la sección del nervio ovárico superior, tal y como se describió anteriormente.

Operación simulada (OS) con sección del nervio ovárico superior

A los animales de 16 días de edad se les realizó una laparotomía que consistió en abrir piel y músculo y sin tocar ningún órgano se procedió a cerrar la

herida. Posteriormente a los 32 días de edad se realizó la sección del nervio ovárico superior derecho o izquierdo según el caso.

Grupo testigo absoluto

Consistió de animales intactos que fueron sacrificados al primer estro vaginal.

Procedimiento de Autopsia

A partir de los 32 días de edad todos los animales fueron revisados diariamente, para registrar el día en que se llevó a cabo la canalización de la vagina. Se inició la toma de frotis vaginal y cuando presentaron el primer estro vaginal se sacrificaron por decapitación entre las 9 y 11 horas. A la autopsia se disecaron y pesaron en la balanza analítica los ovarios, adrenales y útero. En los oviductos se buscó la presencia de ovocitos en cuyo caso se contaron con la ayuda de un microscopio estereoscópico. La sangre colectada fue centrifugada por 15 minutos a una velocidad de 3500 rpm, se colectó el suero y se almacenó a -20 °C para la cuantificación hormonal.

Porcentaje de Hipertrofia Compensadora

Se consideró el promedio del peso del ovario y del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de un animal que fue sometido a la operación simulada y sacrificado en el día del primer estro vaginal.

En los animales con ovariectomía unilateral el porcentaje de hipertrofia compensadora ovárica (HCO) se calculó por la siguiente fórmula:

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

A = Peso del ovario *in situ* de un animal con ovariectomía unilateral.

B= Promedio del peso absoluto del ovario al primer estro vaginal de un animal intacto.

Porcentaje de Ovulación Compensadora.

En los animales con ovariectomía unilateral, el porcentaje de ovulación compensadora se calculó con la siguiente fórmula:

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

A = Número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* de un animal con ovariectomía unilateral.

B= Promedio del número de ovocitos liberados por el ovario al primer estro vaginal, de un animal intacto.

Cuantificación de Hormonas

Las concentraciones séricas de 17β -estradiol y progesterona se cuantificaron por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida. Para cada hormona se utilizó un estuche comercial Coat-A-Count (los Ángeles, California, EUA), el cual incluye tubos de polipropileno que contiene el anticuerpo específico para el esteroide

obtenido de suero de coneja, viales con la hormona marcada con ^{125}I y estándares para realizar la curva patrón.

En cada tubo se adicionaron 100 μl de suero (para 17β -estradiol y progesterona) y 1000 μl de la hormona marcada, se agitaron y se incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante. La cuantificación de las cuentas por minuto se realizó en un contador de centelleo gamma (Packard Instrument Co.). Las concentraciones se expresaron en pg/ml para 17β -estradiol y en ng/ml para progesterona.

Coefficientes intra e interespecíficos utilizados para la cuantificación de progesterona y estradiol.

HORMONA	Intra	Inter
Progesterona	8.35	9.45
Estradiol	8.12	9.28

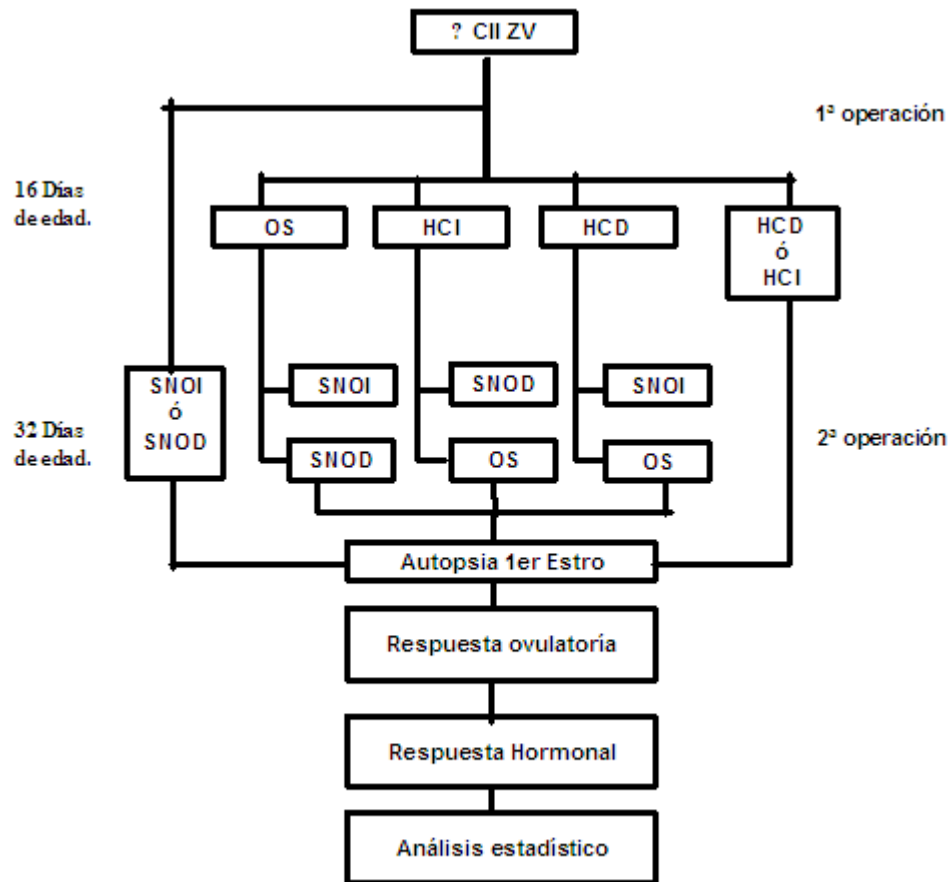
Análisis estadístico

| Los resultados de peso corporal, el peso absoluto y relativo de los ovarios, del útero, las adrenales y las concentraciones séricas de progesterona y estradiol se analizaron por la prueba de análisis de varianza multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tukey.

La edad de la apertura vaginal, la del primer estro vaginal, el número de ovocitos liberados, el porcentaje de hipertrofia compensadora ovárica y la ovulación compensadora se analizaron por la prueba de Kruskal Wallis, seguida por la prueba de U de Mann- Whitney.

Cuando se compararon dos grupos experimentales, se utilizó la prueba de “t” de Student. La tasa de animales ovulantes se analizó con la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

DISEÑO EXPERIMENTAL.



RESULTADOS

Efecto de la laparotomía en el animal con ovariectomía unilateral, realizada en la etapa infantil, sobre el inicio de la pubertad, respuesta compensadora del ovario y secreción hormonal.

La ovariectomía unilateral no modificó la edad de la apertura vaginal ni la edad del primer estro, respecto al grupo de animales testigo. En cambio, en los animales ovariectomizados a los 16 días de edad y sometidos 16 días después a una laparotomía, resultó un retraso significativo en la edad de la apertura vaginal y la edad del primer estro, comparado con el grupo de animales intactos o con aquellos a los que sólo se les extirpó un ovario (Figura 5).

En los animales con ovariectomía unilateral el peso corporal fue mayor respecto al grupo testigo, este incremento fue aún mayor cuando además de la ovariectomía los animales fueron sometidos a una laparotomía (Cuadro 1).

Cuando se extirpa uno de los ovarios, independiente de cual sea, hay un aumento de peso por el ovario remanente; este mismo fenómeno se observó cuando además de la ovariectomía unilateral, 16 días después, se realizó una laparotomía. (Cuadro 1).

El peso del útero y de las adrenales no se modificó en respuesta a la extirpación de alguno de los ovarios (Cuadro 1).

Cuando los resultados son expresados como pesos absolutos se observó un aumento en el peso del útero de los animales con ovariectomía derecha más la operación simulada, respecto al grupo de animales intactos (168.1 ± 9.62 vs. 130.7 ± 9.92 , $p < 0.05$). De igual manera incrementó el peso de la masa adrenal (Ovx-I+OS $28. \pm 0.88$; Ovx-D+OS 30.9 ± 1.11 vs. Testigo 22.4 ± 1.99 , $p < 0.05$).

Cuadro 1. Media \pm e.e.m. del **peso corporal (g)**, peso relativo (mg/100 de peso corporal) del **ovario *in situ***, útero y **masa adrenal**, en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D), realizada en la etapa infantil, y con laparotomía en la etapa juvenil.

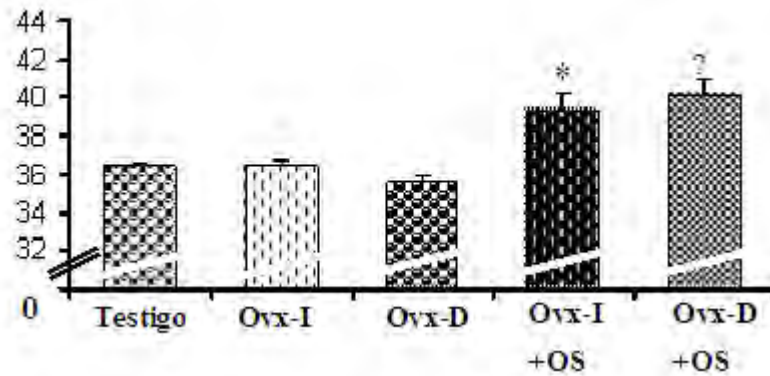
Grupos	n	Peso Corporal (g)	Peso de Ovarios		Peso de útero	Masa Adrenal
			Ovario Izq. <i>in situ</i>	Ovario Der. <i>in situ</i>		
Testigo	10	94.1 \pm 2.5	14.7 \pm 1.1	13.08 \pm 1.6	138.3 \pm 9.1	23.8 \pm 1.9
Ovx-I	10	104.9 \pm 4.2 *		23.3 \pm 1.4 *	140.3 \pm 2.5	22.4 \pm 2.7
Ovx-D	9	109.3 \pm 4.5 *	22.8 \pm 2.3 *		137.6 \pm 12.9	22.8 \pm 2.72
Ovx-I+OS	10	119.6 \pm 5.3 *		20.6 \pm 2.0	123.3 \pm 11.1	23.3 \pm 9.1
Ovx-D+OS	12	125.1 \pm 3.6 *	24.7 \pm 1.1		136.1 \pm 9.6	24.8 \pm .8

* $P < 0.005$ vs. Testigo (ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 5. Media \pm e.e.m. de la **Edad de Apertura Vaginal** y del **Primer Estro**, en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D), realizada en la etapa infantil, y con laparotomía en la etapa juvenil.

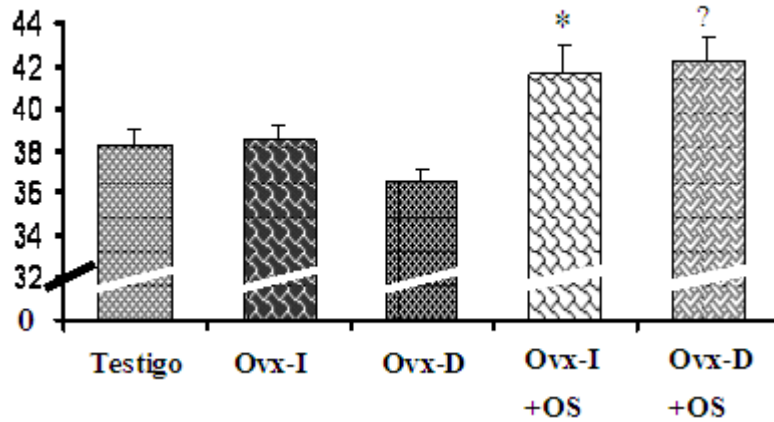
Días

Apertura Vaginal



Días

Primer Estro Vaginal



* P < 0.001 vs. Testigo, Ovx-I (Prueba de Kruskal-Wallis)

♣ P < 0.001 vs. Testigo, Ovx-D (Prueba de Kruskal-Wallis)

El 90% de los animales testigo ovuló al primer estro vaginal, esta respuesta fue semejante a lo que ocurrió en los animales con hemiovariectomía unilateral donde el 100% ovuló. En las hembras con ovariectomía derecha o izquierda sometidas 16 días después a una laparotomía ovuló el 75% y 80% respectivamente.

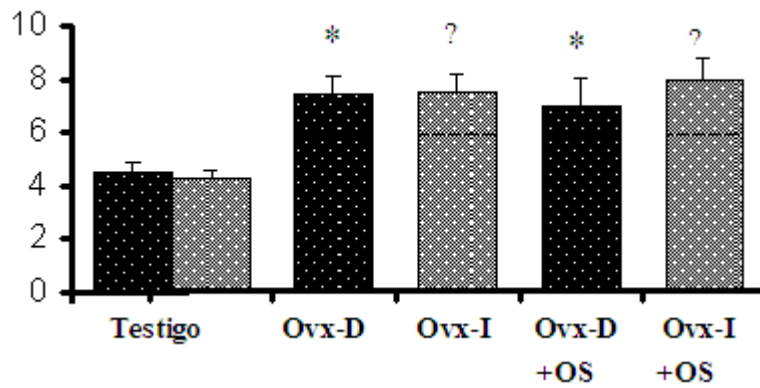
En los animales con ovariectomía unilateral el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* fue semejante al liberado por ambos ovarios de un animal testigo, esta respuesta fue independiente del ovario extirpado. La laparotomía en un animal con hemiovariectomía no modificó la cuota ovulatoria (Figura 6).

Cuando los resultados se expresaron como el porcentaje de ovulación compensadora no se observaron diferencias significativas entre los hemiovariectomizados del lado derecho e izquierdo. Este comportamiento no se alteró por la laparotomía practicada 16 días después de haber realizado la hemiovariectomía (Cuadro 2).

En las hembras hemiovariectomizadas el porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ* fue semejante, independientemente del ovario extirpado. Cuando además de extirpar el ovario derecho se les somete 16 días después a una laparotomía se incrementó significativamente el porcentaje de hipertrofia compensadora (Cuadro 2).

Figura 6. Media \pm e.e.m. del **número de ovocitos liberados**, en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D), realizada en la etapa infantil, y con laparotomía en la etapa juvenil.

Número de Ovocitos Liberados



■ Ovario Izquierdo *in situ*

▨ Ovario Derecho *in situ*

* $P < 0.005$ vs. Testigo Ovario Izquierdo (Prueba U de Mann-Witney).

♣ $P < 0.005$ vs. Testigo Ovario Derecho (Prueba U de Mann-Witney).

Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de los **Porcentajes de Ovulación e Hipertrofia compensadora ovárica**, en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D), realizada en la etapa infantil, con laparotomía en la etapa juvenil.

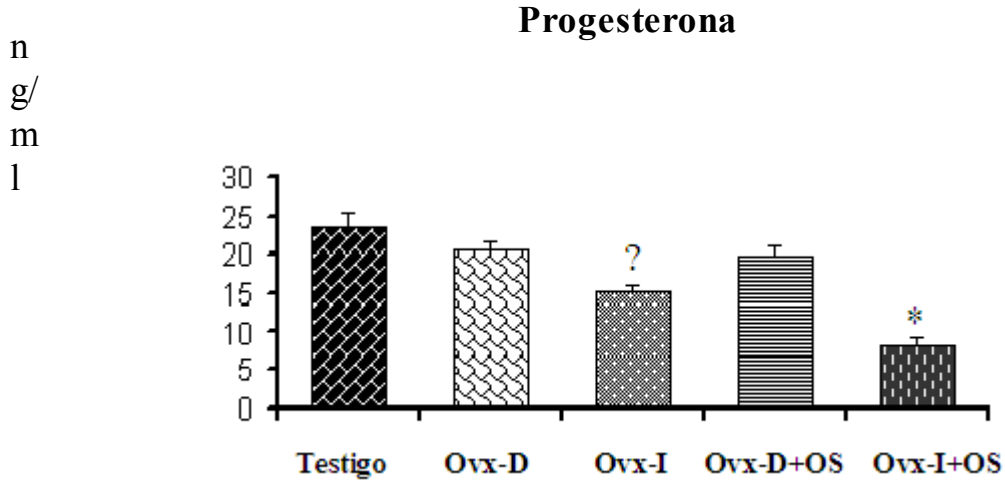
Grupos	n	% de Ovulación Compensadora	% de Hipertrofia Compensadora
Ovx-D	9	75.8 \pm 8.3	76.4 \pm 5.87
Ovx-I	11	88.2 \pm 6.79	88.5 \pm 12.8
Ovx-D+OS	12	75.8 \pm 12.6	130.6 \pm 6.5 *
Ovx-I+OS	10	111.7 \pm 16.6	102.1 \pm 12.4

* $P < 0.005$ vs Ovx-D (Prueba U de Mann-Whitney).

Cuando se realizó sólo la extirpación del ovario derecho, a los 16 días de edad, o además se les practicó una laparotomía no se modificó la concentración sérica de progesterona. En tanto que con la ovariectomía izquierda la concentración sérica de la hormona fue menor respecto a la grupo de animales intactos; esta disminución se vio acentuada cuando además los animales fueron sometidos a una laparotomía (Figura 7).

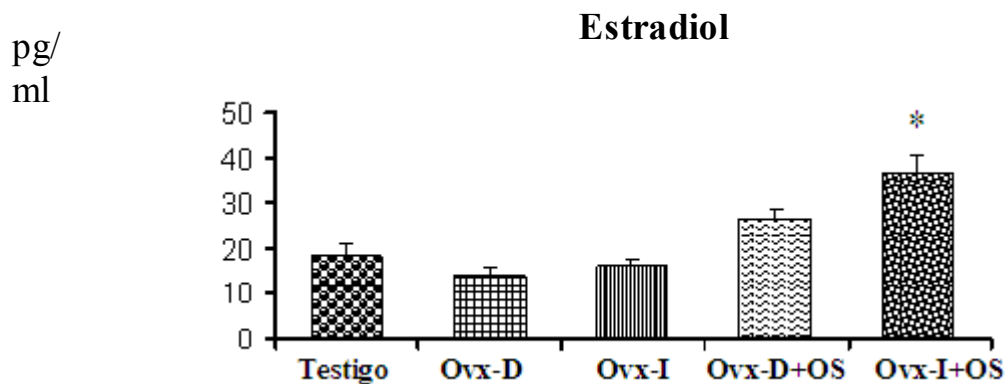
La extirpación de un ovario no modificó la concentración sérica de estradiol al primer estro vaginal, sin embargo; resulta en un aumento por la laparotomía practicada en animales con ovariectomía izquierda comparado con la de los animales intactos (Figura 7).

Figura 7. Media \pm e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona** y **estradiol** en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) o derecha (Ovx-D), realizada en la etapa infantil, y con laparotomía en la etapa juvenil.



◆ P < 0.001 vs. Testigo y Ovx-D (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

* P < 0.001 vs. Testigo, Ovx-D+OS (Prueba de ANDEVA seguida por Tukey)



* P < 0.001 vs. Testigo y Ovx-D, Ovx-I (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Efecto de la Sección Unilateral del Nervio Ovárico Superior, realizada a los 32 días de edad, en animales con ambos ovarios con o sin laparotomía 16 días antes de la sección, sobre el inicio de la pubertad, la respuesta ovulatoria y la secreción de progesterona y estradiol.

La sección unilateral del nervio ovárico superior no modificó de manera significativa la edad de apertura vaginal ni la del primer estro, comparado con el grupo de animales intactos. Por otra parte, la sección del nervio ovárico izquierdo resultó en un retraso en la edad de apertura vaginal en animales a los que previamente se les realizó una laparotomía; sin embargo este retraso no se ve reflejado en la aparición del primer estro. Con la sección del nervio ovárico derecho no se observaron cambios significativos en estos parámetros (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media \pm e.e.m. de la **Edad de Apertura Vaginal (APV)** y **Edad del Primer Estro (PEV)** en días, en animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD); con o sin previa laparotomía a la sección.

Grupos	n	APV	PEV
		(Días)	
Testigo	10	36.4 \pm 0.30	38.3 \pm 0.61
SNOI	9	37.2 \pm .79	39.6 \pm .84
SNOD	10	36.3 \pm .44	38.3 \pm .97
OS+SNOI	11	39.3 \pm 0.62 *	40.5 \pm 0.86
OS+SNOD	10	37.7 \pm 0.47	39 \pm 0.78

* P < 0.001 vs. Testigo (Prueba de Kruskal-Wallis)

El peso corporal aumentó independientemente del nervio seccionado, este efecto se presentó también en los animales que además de la sección del nervio fueron sometidos 16 días antes a una laparotomía. La sección unilateral del nervio ovárico superior no modificó el peso de los ovarios (Cuadro 4). El peso del útero presentó un aumento significativo en aquellos animales a los que se les seccionó el nervio ovárico izquierdo. La masa adrenal no se modificó en ningún caso (Cuadro 4). Cuando los resultados son expresados como pesos absolutos se observó un aumento en la masa adrenal en el grupo de animales con sección del nervio ovárico izquierdo (30.2±1.8), sección del nervio ovárico derecho (25.3±1), laparotomía mas sección del nervio ovárico izquierdo (26.1±1.4), laparotomía mas sección del nervio ovárico derecho (26.2±1.8) con respecto al grupo de animales testigo (23.8±1.9 p<0.05).

Cuadro 4. Media ± e.e.m. del **peso corporal**, (peso relativo mg/100 de peso corporal), del **ovario izquierdo y derecho, útero y masa adrenal**, en animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD); con o sin previa laparotomía a la sección del nervio.

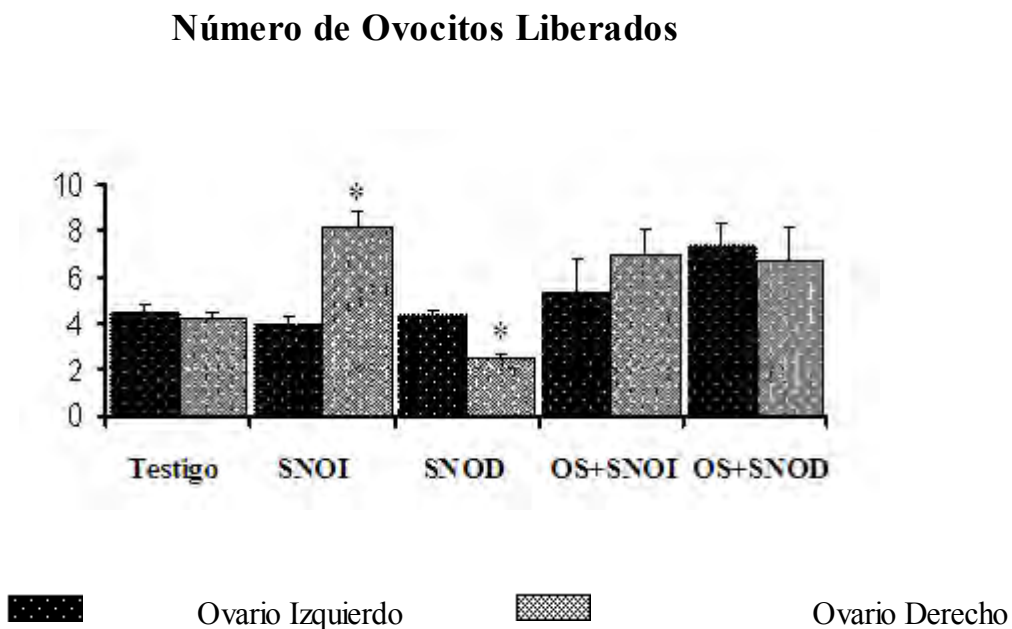
Grupos	n	Peso Corporal (g)	Peso de Ovarios		Peso de útero	Masa Adrenal
			Ovario Izq.	Ovario Der.		
Testigo	10	94.1±2.5	14.7±1.1	13.08±1.6	138.3±9.1	23.8±1.9
SNOI	9	109.3±4.5 *	14.0±1.5	15.4±1.2	177.8±10.1 *	21.4±3.0
SNOD	10	111.4±35.2 *	14.9±1.4	13.2±.6	112.4±23.1	22.7±.8
OS+SNOI	11	122.2±4.5 *	15.3±1.1	14.2±17	131.91±11.9	21.51±1.
OS+SNOD	10	118.2±4.1 *	15.33±1.33	13.1±1.5	138.99±9.2	22.1±1.0

* p < 0.005 vs. Testigo (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey Kramer)

En el grupo de los animales testigo el 90% de los animales ovuló al primer estro vaginal; semejante a lo que se observó con la sección del NOS izquierdo (77.7%), o derecho (70%). En animales con denervación y previa laparotomía no se modificó el índice de ovulación (OS+SNOI 54.5%; OS+SNOD 60%) .

En animales con sección del nervio ovárico superior izquierdo incrementó de manera significativa el número de ovocitos liberados por el ovario intacto (ovario derecho), mientras que no se modificó en la gónada desnervada. Con la sección del nervio ovárico derecho fue el ovario denervado el que disminuyó la cuota ovulatoria. En animales con previa laparotomía, la sección unilateral del NOS no modificó el número de ovocitos liberados (Figura 8).

Figura 8. Media \pm e.e.m. del **Número de ovocitos liberados** al primer estro vaginal en animales con sección Nervio Ovárico Superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y en animales con laparotomía más sección unilateral del nervio.

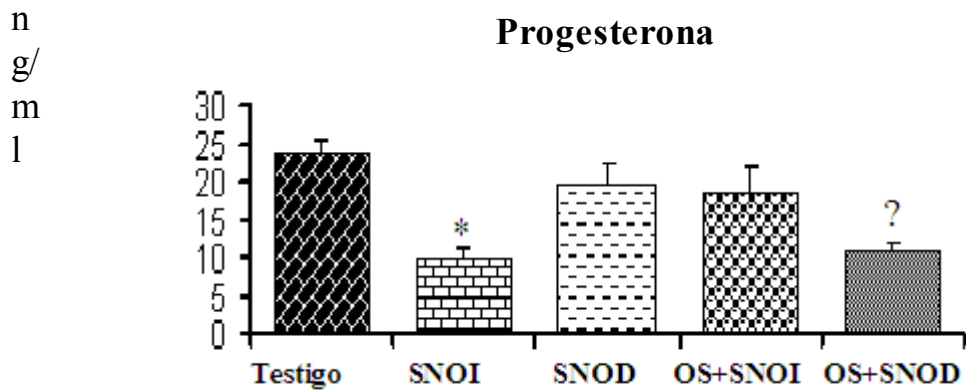


* $p < 0.05$ vs Ovario Derecho del grupo testigo (Prueba U de Mann-Witney)

La concentración sérica de progesterona disminuyó significativamente en el grupo con sección del nervio ovárico superior izquierdo, comparado con el grupo de animales testigo. Cuando se realizó la laparotomía previa a la sección del nervio ovárico derecho la concentración de la hormona disminuyó significativamente (Figura 9). La sección del nervio ovárico superior derecho resulta en un aumento de la

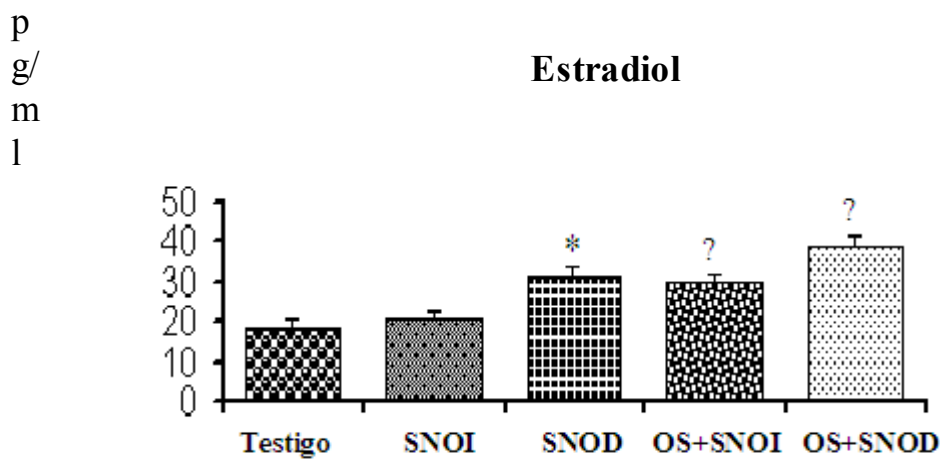
concentración sérica de estradiol; de igual manera, la laparotomía anterior a la sección resultó en un aumento de la concentración sérica de estradiol (Figura 9).

Figura 9. Media \pm e.e.m. de la concentración de **progesterona** y **estradiol**, en animales con sección Nervio Ovárico Superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y en animales con laparotomía más sección unilateral del nervio.



* $p < 0.05$ vs Testigo, SNOD (“t” de Student)

◆ $p < 0.01$ vs Testigo, SNOD (Prueba de ANDEVA seguida por Tukey)



*vs Testigo, SNOI (“t” de Student)

♣ $P < 0.05$ vs Testigo (Prueba de ANDEVA seguida por Tukey)

Analizar en la rata ovariectomizada en la etapa infantil los efectos de la sección del nervio ovárico superior a los 32 días de edad, sobre el inicio de la pubertad, la respuesta compensadora del ovario y la capacidad secretora.

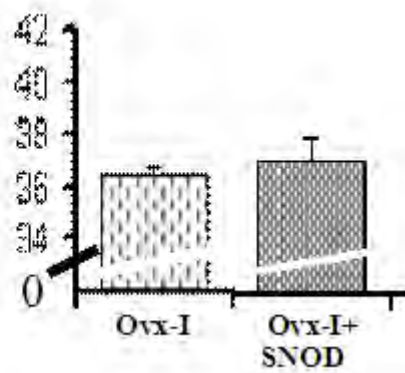
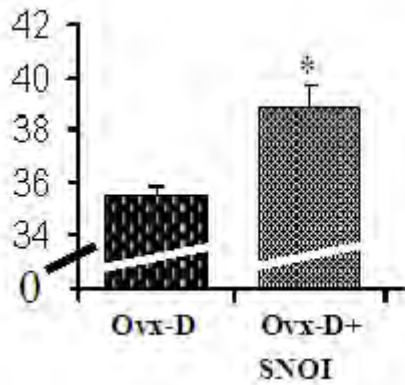
En los animales ovariectomizados del lado derecho más la sección del NOS izquierdo resultó en un retraso en la edad de apertura vaginal que se ve acompañado por un retraso en la aparición del primer estro, este efecto no se observó en animales en los que se extirpó el ovario izquierdo y posteriormente se les practicó la sección del NOS derecho (Figura 10).

Figura 10. Media \pm e.e.m. de la **edad de apertura vaginal y primer estro** en animales hemiovariectomizados del lado derecho (Ovx-D) o izquierdo (Ovx-I) más la sección unilateral del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).

Apertura Vaginal.

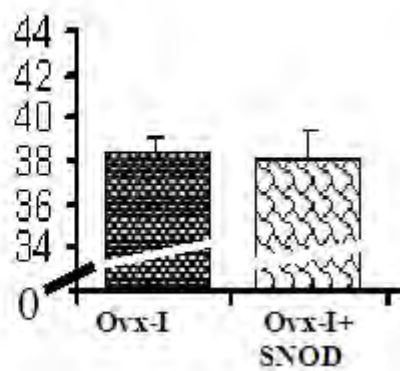
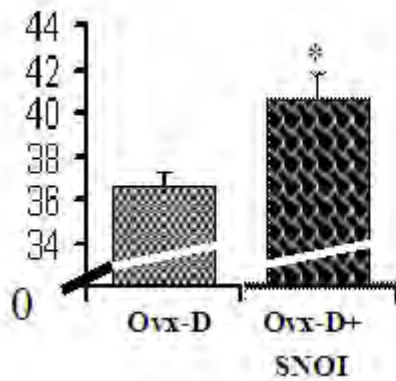
Ovario Izquierdo *in situ*

Ovario Derecho *in situ*



Pri

mer Estro.



* $P < 0.05$ vs. OVX-D (Prueba de Kruskal-Wallis)

El peso corporal y del útero aumentó en los animales hemiovariectomizados del lado izquierdo en la etapa infantil y posteriormente sometidos a la sección del nervio ovárico superior derecho (Cuadro 5).

En los animales hemiovariectomizados no se modificó el peso del ovario ni de la masa adrenal después de la sección del nervio ovárico (Cuadro 5).

Cuadro 5. Media \pm e.e.m. del **Peso Corporal**, peso relativo (mg/100 de peso corporal de animales testigo) **de los ovarios, útero y masa adrenal**; en animales hemiovariectomizados del lado izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D) más sección unilateral del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).

Grupos	n	Peso Corporal (g)	Peso de Ovarios		Peso de útero	Masa Adrenal
			Ovario Izq. <i>in situ</i>	Ovario Der. <i>in situ</i>		
Ovx-D	9	109.3±4.5	22.8±2.3		137.6±12.9	22.8±2.7
Ovx-D+SNOI	10	118.9±2.2	23.1±1.3		136.22±10	25.4±2.3
Ovx-I	11	104.9±4.2		23.3±1.4	140.3±2.5	22.4±2.7
Ovx-I+SNOD	10	111±2.4 *		23.2±1.4	163.4±11.1 *	21.4±1.6

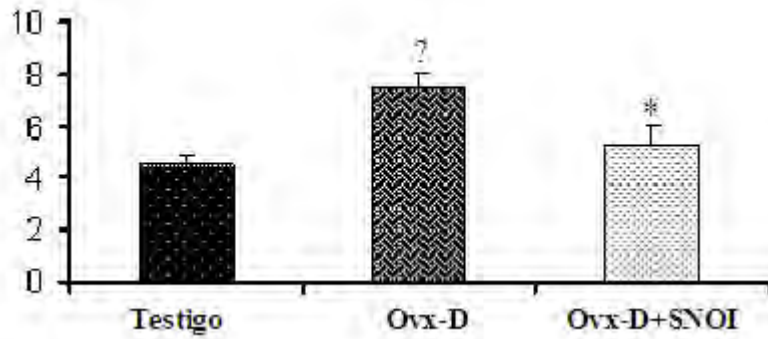
* P < 0.05 vs. Ovx-I (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Para los animales con ovariectomía izquierda o derecha el índice de ovulación fue del 100%. En las ratas hemiovariectomizadas del lado derecho más la sección del nervio ovárico izquierdo el 70% de los animales ovuló. Mientras que en las hembras a las que se les extirpó el ovario izquierdo y 16 días después fueron sometidas a la sección del nervio ovárico derecho disminuyó de manera significativa el índice de ovulación (50% vs 100% p<0.05).

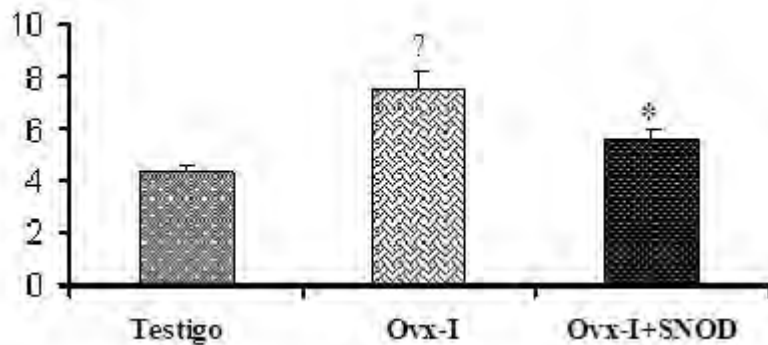
En las hembras a las que sólo se les extirpó el ovario izquierdo o derecho el número de ovocitos liberados fue mayor, respecto al grupo de animales testigo. Sin embargo cuando se seccionó el nervio ovárico superior izquierdo o derecho, a los 32 días de edad, resultó en una disminución significativa en el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ*, respecto a las hembras a las que sólo se les extirpó una gónada (Figura 11).

Figura 11. Media ± e.e.m. del **número de ovocitos liberados** en animales ovariectomizados del ovario izquierdo (Ovx-I) o derecho (Ovx-D) más la sección unilateral del nervio ovárico izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).

Ovario Izquierdo *in situ*



Ovario Derecho *in situ*



* $p < 0.05$ vs. su grupo hemiovariectomizado (Prueba de Kruskal – Wallis seguida por la prueba de U de Mann Whitney)

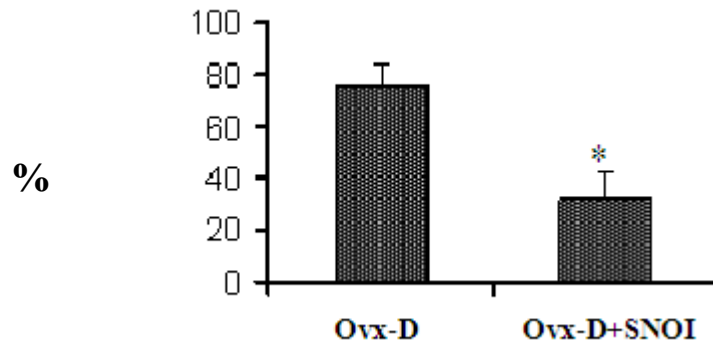
◆ $P < 0.005$ vs. Testigo (Prueba de Kruskal – Wallis seguida por la prueba de U de Mann Whitney)

En las hembras con ovariectomía unilateral el porcentaje de ovulación compensadora fue semejante, independiente del ovario *in situ*. En estos grupos

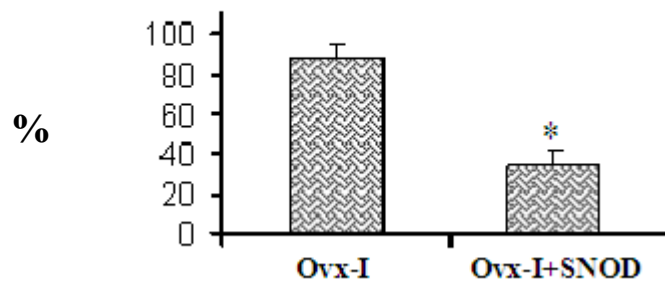
experimentales la sección unilateral del nervio ovárico superior disminuyó significativamente la ovulación compensadora (Figura 12).

Figura 12. Media \pm e.e.m. % de ovulación compensadora en animales hemiovariectomizados del lado derecho (Ovx-D) o izquierdo (Ovx-I) mas la sección unilateral del nervio ovárico izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).

Ovario Izquierdo *in situ*



Ovario Derecho *in situ*



*p<0.05 vs. su grupo hemiovariectomizado (Prueba de Kruskal – Wallis seguido por la prueba de U de Mann Whitney).

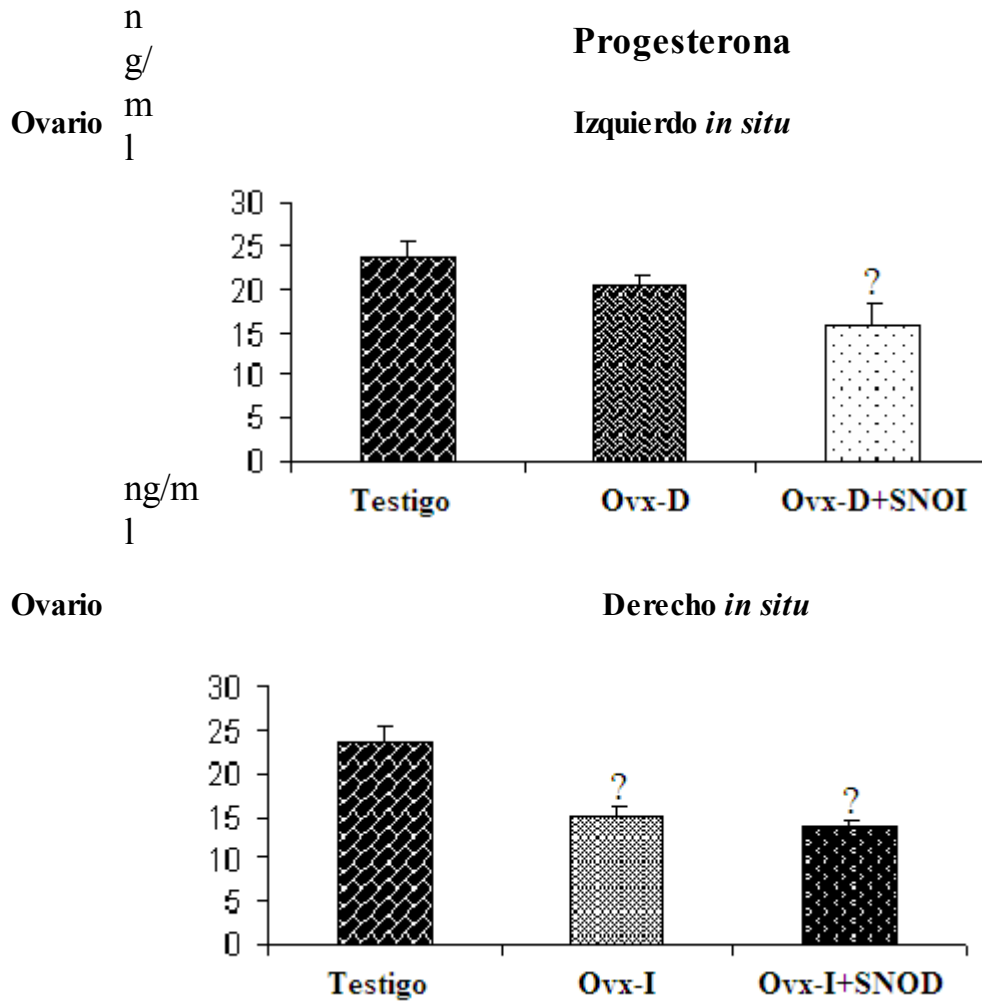
La ganancia de peso del ovario *in situ*, conocida como hipertrofia compensadora ovárica, fue semejante para el ovario izquierdo o derecho *in situ*. La sección unilateral del NOS no modificó este parámetro (Cuadro 6).

Cuadro 6. Media \pm e.e.m. % de **Hipertrofia compensadora ovárica** en animales hemiovariectomizados del ovario izquierdo (OVX-I) o derecho (OVX-D) mas sección del nervio ovárico izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).

Grupos	n	Ovario <i>in situ</i>	% de Hipertrofia Compensadora
HCD	9	Izquierdo	76.4 \pm 5.87
HCD+SNOI	10	Izquierdo	86.1 \pm 7.76
HCI	11	Derecho	88.5 \pm 12.87
HCI+SNOD	10	Derecho	79.1 \pm 9.83

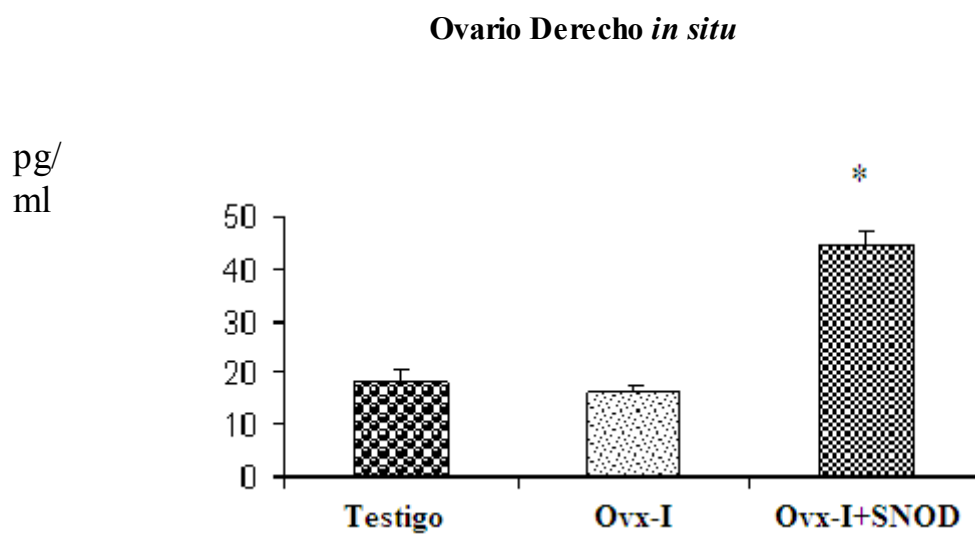
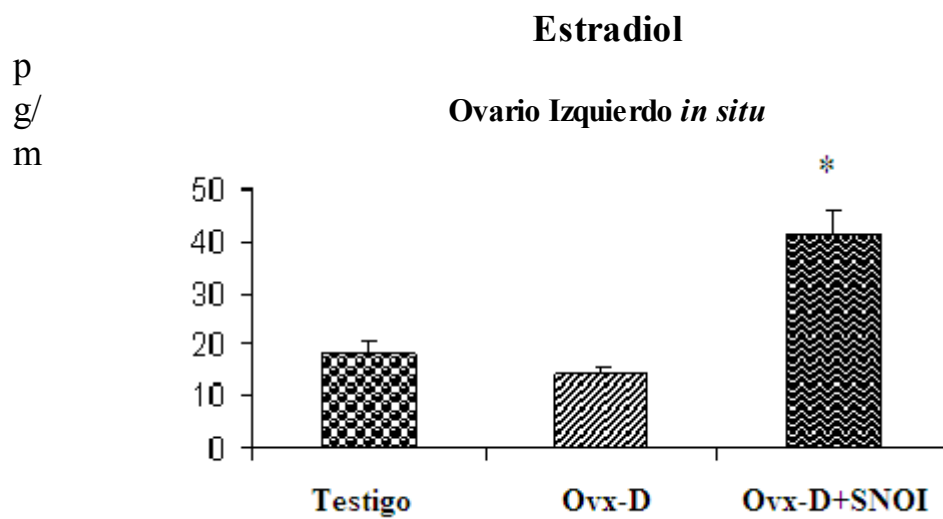
La concentración plasmática de progesterona disminuyó de forma significativa en animales con ovariectomía derecha y sección del nervio ovárico izquierdo izquierdo, respecto al grupo de animales testigo. En los animales con ovariectomía izquierda la concentración de progesterona fue menor respecto al grupo testigo, este mismo patrón se observó cuando además se realizó la sección del nervio derecho (Figura 13). La concentración plasmática de estradiol fue semejante entre los animales con ovariectomía unilateral y los testigo. Sin embargo, cuando además se realizó la sección del NOS izquierdo o derecho a los 32 días de edad, la concentración de la hormona se incrementó de manera significativa comparado con animales con hemiovariectomía o intactos (Figura 14).

Figura 13. Media \pm e.e.m. de la concentración de **progesterona**, en animales hemiovariectomizados del ovario izquierdo (OVX-I) o derecho (OVX-D) mas la sección unilateral del nervio ovárico izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).



◆ P < 0.001 vs. Testigo (Prueba de ANDEVA seguida por Tukey)

Figura 14. Media \pm e.e.m. de la concentración de **estradiol**, en animales hemiovariectomizados del ovario izquierdo (OVX-I) o derecho (OVX-D) mas la sección unilateral del nervio ovárico izquierdo (SNOI) o derecho (SNOD).



* P < 0.001 vs. Testigo, y su grupo con hemiovariectomía (Prueba de ANDEVA seguida por Tukey)

DISCUSIÓN

En la rata infantil la extirpación de alguna de las gónadas resulta en un fenómeno de compensación ovulatoria por el ovario *in situ*; que no depende del ovario remanente. En la rata hemiovariectomizada la información que transcurre por el Nervio Ovárico Superior modula de manera estimuladora la ovulación compensadora.

Resultados previos de nuestro laboratorio muestran que si se realiza la extirpación de uno de los ovarios a los 16 ó 28 días de edad no se modifica el inicio de la pubertad, ni la concentración plasmática de estradiol (Apolonio, 2001; Bolaños 2005). Sin embargo, cuando se extirpa el ovario izquierdo al final de la etapa juvenil (32 días de edad) se observa un incremento en la concentración de estradiol sin que se modifique el inicio de la pubertad (Jacobs y Pepler, 1980; Ramirez, 2007; Ying-Tsorn y col., 2008).

En el presente estudio se observó que la hemiovariectomía no modificó la edad de la canalización de la vagina ni la concentración de estradiol. Por lo que podemos sugerir que al eliminar uno de los ovarios no se modifican los procesos neuroendócrinos que conllevan a la canalización de la vagina.

En los animales a los que se les extirpó uno de los ovarios en la etapa infantil y 16 días después se les sometió a una laparotomía, se presentó un retraso en el inicio de la pubertad. Esta respuesta puede ser el resultado de una mayor actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal que se traduciría en una mayor síntesis de corticoides (Amstrong 1986, Moberg, 1975). Ya se ha postulado que en los animales sometidos a un estrés el inicio de la pubertad se retrasa (Rosas y col., 1989).

En el presente estudio la sección unilateral del nervio ovárico superior no modificó el inicio de la pubertad, tal y como ya se había mostrado (Aguado y Ojeda 1984, Morales y col., 1993). Sin embargo, cuando se realizó la sección del nervio ovárico izquierdo y 16 días antes se practicó la perforación del peritoneo del lado derecho, se observó un retraso en la edad de la canalización de la vagina, respuesta que no se observó si la perforación del peritoneo se realizó del lado izquierdo. Estos resultados apoyan la hipótesis de Barco y colaboradores (2003), quienes postulan que la información que viaja del peritoneo a las adrenales y gónadas es diferente entre el lado izquierdo y el derecho.

En la rata adulta la extirpación de uno de los ovarios en el día del estro no modifica la concentración plasmática de progesterona una hora después de la cirugía (Barco y col., 2003), pero disminuye cuando han transcurrido 12 horas post-operación (Butcher, 1977). Por los resultados obtenidos en el presente estudio sugerimos que al primer estro vaginal la síntesis de progesterona se produce de manera asimétrica, donde el ovario derecho *in situ* tiene una menor capacidad de síntesis que la gónada izquierda. Barco y colaboradores., (2003) mostraron que en la rata adulta la asimetría se presenta en la síntesis de estradiol, donde nuevamente es el ovario derecho el que sintetiza menor concentración de la hormona. Esta respuesta no la observamos en el animal púber. Estas evidencias sugieren que la función esteroidogénica varía de acuerdo a la etapa de desarrollo del animal y que dependerán del ovario extirpado.

Aguado y Ojeda (1984) mostraron que en la rata adulta la sección bilateral del NOS, realizada en el día del proestro, induce disminución en la concentración sérica de progesterona y estradiol, desde los primeros ocho minutos post-denervación. Mientras que en la rata infantil la sección unilateral del nervio ovárico superior resulta en cambios en la respuesta esteroidogénica que dependieron del nervio seccionado así como del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia (Morán y col., 2000). En nuestro estudio mostramos que al

primer estro vaginal el nervio ovárico izquierdo modula de manera estimuladora la secreción de progesterona, en tanto que la información que transcurre por el nervio derecho modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol.

La regulación de la esteroidogénesis por parte del nervio ovárico superior depende de la presencia de ambas gónadas. De manera que en el animal con hemiovariectomía, el nervio ovárico superior izquierdo modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol y estimulante de secreción de progesterona; en tanto que el nervio ovárico derecho actúa de manera estimulante en la secreción de progesterona y regula de manera inhibitoria la de estradiol.

La ovariectomía unilateral resulta en una respuesta compensadora por parte de la gónada *in situ*, que se traduce en un incremento en el peso de la gónada (hipertrofia compensadora) y la liberación de un número de ovocitos equivalente a los que liberan ambos ovarios en un animal intacto (ovulación compensadora) (Chávez y Domínguez, 1994; Burden y Lawrence, 1977; Morales y col; 1993; 2007). Se ha descrito que en la rata adulta la ovulación compensadora no depende del ovario extirpado. De igual manera, cuando extirpamos uno de los ovarios en la etapa infantil, la ovulación compensadora al primer estro vaginal es semejante para ambos ovarios. Al parecer la ovulación compensadora no se modifica si el animal hemiovariectomizado es sometido posteriormente a una laparotomía.

Morales y col., (1993) mostraron que en la rata de 16 días de edad la sección del nervio ovárico superior, seguida inmediatamente después por la ovariectomía unilateral, el porcentaje de ovulación compensadora disminuye cuando el ovario *in situ* es el derecho e incrementa cuando la gónada remanente es la izquierda. Estos resultados llevaron a los autores a sugerir que la participación de la innervación simpática en la respuesta compensadora del ovario depende del ovario extirpado y del nervio seccionado. En la rata adulta, cuando se realiza la hemiovariectomía y la denervación en un mismo acto quirúrgico y se autopsian 6 días después de la operación disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario derecho *in situ*, mientras que cuando el ovario remanente es el izquierdo la cuota ovulatoria es normal (Chávez y Domínguez 1994).

En nuestro modelo experimental, en donde el animal hemiovariectomizado es sometido 16 días después a la sección del nervio ovárico superior, se observa una disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario remanente, disminución que se presenta independientemente del ovario remanente. Por los resultados obtenidos, sugerimos que en el animal hemiovariectomizado la

participación del nervio ovárico superior en la ovulación compensadora, va a depender de la etapa de maduración de la rata así como del momento en el que se realiza la denervación.

La participación del nervio ovárico superior en la respuesta ovulatoria también depende de si están presentes las dos gónadas. En el presente estudio se observó que con la sección del nervio ovárico superior izquierdo (etapa juvenil), el ovario inervado (ovario derecho) presenta una compensación en el número de ovocitos, semejante a lo ya descrito por nuestro laboratorio (Morales y col; 1993).

La ganancia en peso de los ovarios que se presenta en respuesta a la hemiovariectomía ha sido explicada a partir de una disminución en la concentración de estradiol que “gatilla” el aumento en la liberación de las gonadotropinas, las cuales actuarían sobre el ovario remanente (Burden y Lawrence, 1977; Morales y col., 1998, Chatterjee y Greenwald; 1971). Aunque también se ha postulado que la inervación extrínseca del ovario podría estar modulando la respuesta compensadora (Burden y Lawrence; 1977, Chávez y Domínguez 1994; Morales y col., 1993; 2007).

En el presente estudio se observó que la extirpación de un ovario en la etapa infantil resulta en una hipertrofia compensadora al primer estro vaginal y que ésta es independiente del ovario *in situ*. Esta respuesta es semejante a la que se presenta cuando el animal es hemiovariectomizado durante la etapa juvenil (28 o 32 días de edad) (Ricardo, 2005).

La ganancia en peso de los ovarios es un evento que empieza a producirse pocas horas después de la extirpación de una de las gónadas. En la rata juvenil se observa que la gónada remanente recién empieza a presentar un incremento en peso 48 horas después de la cirugía (Ramírez, 2007).

Una de las vías neurales involucradas en la regulación de la hipertrofia compensadora del ovario es la aportada por el nervio vago. Burden y Lawrence (1977) mostraron que en la rata adulta la sección bilateral del nervio vago bloquea la hipertrofia compensadora, sin embargo en este estudio se desconoce cual de los dos ovarios fue el extirpado. Diez años después, se mostró que en el animal al que se le extirpa el ovario derecho y se le realiza la sección bilateral del nervio vago disminuye la hipertrofia compensadora ovárica, esta respuesta no se observa si el ovario que se extirpa es el izquierdo (Chávez y col., 1987). En la rata de 32 días de edad a las que se les extirpa el ovario derecho y se les secciona el nervio vago izquierdo, no se produce la ganancia en peso del ovario *in situ* (Morales y col; 2007). Todas estas evidencias experimentales llevan a postular

que en el animal hemiovariectomizado la hipertrofia compensadora del ovario es modulada por el nervio vago, donde al parecer la respuesta va a depender del ovario *in situ* y del nervio seccionado.

De igual manera, se ha mostrado que la hipertrofia compensadora depende de la información que transcurre por el nervio ovárico superior. En la rata adulta la hipertrofia compensadora del ovario es asimétrica y depende de la integridad de la inervación que proviene del nervio ovárico superior (Chávez y Domínguez 1994). En la rata infantil hemiovariectomizada con sección del nervio ovárico superior, la ganancia en peso del ovario *in situ* es similar a la que se presenta en el animal al cual sólo se le extirpó un ovario (Morales y col., 1993). Esta respuesta es semejante a la que se obtuvo en el presente estudio, aún cuando la denervación fue realizada 16 días después de haber realizado la extirpación de una de las gónadas. Estos resultados nos permiten sugerir que una vez que se ha iniciado los mecanismos que conllevan a una ganancia del peso del ovario remanente, éstos no se alteran por la falta de la información que transcurre por el nervio ovárico superior.

El útero es un indicador biológico de la actividad esteroideogénica del ovario, Morán (1996) encuentra que en la rata infantil la sección unilateral del nervio ovárico superior resulta en un aumento en el peso del útero en las primeras 48 horas post-denervación. Lo cual ha sido atribuido por el autor a una mayor actividad esteroideogénica por parte de la gónada.

Los resultados del presente estudio no nos permiten establecer una correlación entre la concentración plasmática de estradiol y el peso del útero, ya que cuando se realizó la sección del nervio ovárico izquierdo aumentó el peso del tejido pero la concentración de estradiol no se modificó, en tanto que con la sección del nervio derecho el peso del útero no se modificó aún cuando la concentración de estrógenos fue mayor. Este comportamiento se invierte si 16 días antes de la denervación se realiza la hemiovariectomía.

En animales infantiles la extirpación de uno de los ovarios no modifica la masa adrenal. Sin embargo, cuando además de la hemiovariectomía el animal es sometido 16 días después al estrés de una laparotomía, provocada por el corte del peritoneo, resulta en un aumento en el peso absoluto de las adrenales. Estos

resultados apoyan la hipótesis de una comunicación entre el hipotálamo, la hipófisis, las adrenales y las gónadas (Axelrod y Reisine, 1984; Jacobs y Pepler, 1980).

Respecto al peso corporal, en los animales con hemiovariectomía unilateral se presentó una ganancia comparado con el animal testigo. Al momento no tenemos una explicación a dicho fenómeno, aunque se dice que en el modelo del animal hemiovariectomizado se puede modificar la conducta alimenticia que se refleje en una ganancia en el peso corporal (Bruce y col., 1999).

Aunque al parecer la ganancia en peso también va a depender del período transcurrido entre la hemiovariectomía y la autopsia, ya que previamente mostramos que cuando se extirpa uno de los ovarios a los 28 o 32 días de edad y se sacrifican al primer estro vaginal no se produce la ganancia en peso (Ricardo, 2005).

En resumen podemos señalar que nuestra hipótesis de trabajo se cumple parcialmente, ya que sólo disminuyó la ovulación compensadora en respuesta a la sección del nervio ovárico superior, sin que se modificara la hipertrofia.

CONCLUSIONES

- El estrés que ocasiona la laparotomía en animales previamente ovariectomizados produce un retraso en la pubertad y en la aparición del primer estro.
- La síntesis de progesterona es asimétrica, el ovario derecho *in situ* la modula de manera estimulante.
- La respuesta de ovulación compensadora que se produce en respuesta a la hemiovariectomía se inhibe por efecto de la sección unilateral del nervio ovárico superior.
- En el animal con hemiovariectomía la sección contra lateral del nervio ovárico superior, no modifica la hipertrofia compensadora del ovario *in situ*.
- En el animal con hemiovariectomía el nervio ovárico superior modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol.

MODELOS

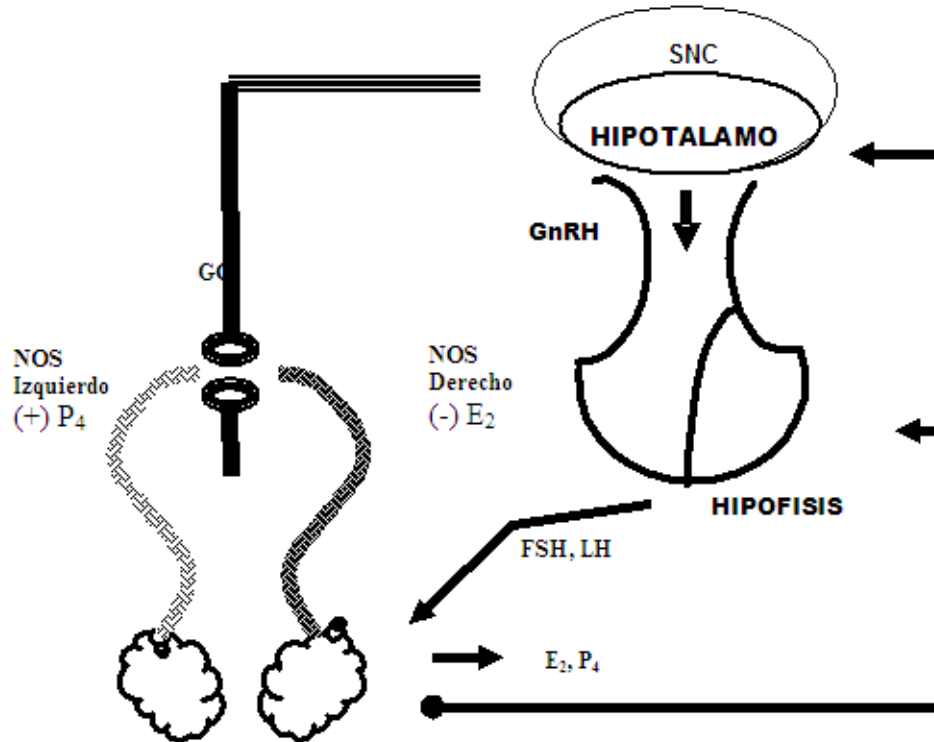
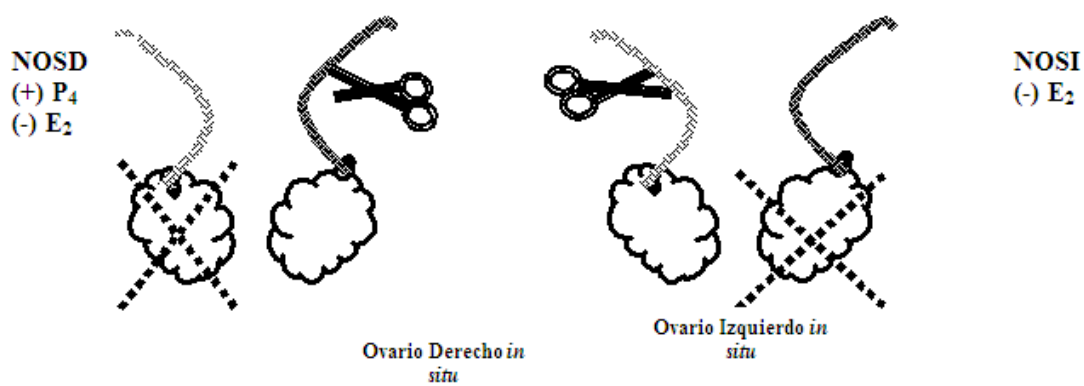


Figura 15. En este modelo se representa el eje hipotálamo-hipófisis-gónada que regula las funciones ováricas. Se muestra que el NOS se origina a nivel del ganglio celiaco y llega hasta los ovarios. En el animal con ambos ovarios la información que transcurre por el NOS izquierdo modula de manera estimuladora (+) la secreción de progesterona, mientras que la que llega por el NOS derecho modula de manera inhibitoria (-) la de estradiol.



PARAMETROS	Ovx-I+SNOD	Ovx-D+SNOI
AV	-	R
PE	-	R
PC	?	-
UTERO	?	-
MASA ADRENAL	-	-
IND. OVUL	?	-
% OC OVARIO <i>in situ</i>	?	?
% HC OVARIO <i>in situ</i>	-	-
P4	?	-
E2	?	?

Figura 16. En este modelo se representa los efectos de la sección del nervio ovárico superior en la rata prepúber hemiovariectomizada y sacrificadas al primer estro vaginal ; sobre la edad de apertura vaginal (AV) , primer estro (PE), peso corporal (PC), peso del útero, masa adrenal, índice de ovulación, ovulación (OC) e hipertrofia (HC) compensadora ovárica, estradiol, y progesterona. Donde los signos de igual (=) indican no diferencias, (↓) hincan disminuciones, o (↑) indican incrementos. El nervio ovárico superior juega un papel estimulante en el proceso de ovulación compensadora ovárica y que no es paralelo con el proceso de hipertrofia, además de regular los mecanismos que intervienen en la síntesis de hormonas esteroide.

PERSPECTIVAS

- Analizar en el animal prepuber con ovariectomía unilateral la participación del NOS en el desarrollo y morfología folicular.
- Utilizar el modelo del animal hemiovariectomizado en la etapa infantil y/o sección del NOS en la etapa juvenil mas adrenalectomía para conocer la participación de las adrenales en el estrés y secreción de estradiol progesterona.
- Analizar en el animal prepuber con ovariectomía la participación del NOS en la secreción de LH, FSH y T₄.

REFERENCIAS

- **Adashi E Y. (1991)** The ovarian life cycle. Yen SSC and Jaffe RB (Editors). Reproductive Endocrinology. Saunders, Philadelphia. pp. 181-237.
- **Aguado L I. Ojeda S R. (1984)** Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. Endocrinology 114(5):1944-1946.
- **Amstrong T D. (1986)** Environmental Stress and Ovarian Function. Biology of Reproduction. 34: 29-39.
- **Anne B D., Anne E L. (2002)** Anatomía y Fisiología. Editorial Paidotribo 1ª Edición. Pp: 443-458.
- **Apolonio J. (2001)** Participación de la inervación sensorial sobre el inicio de la pubertad en la rata hemicastrada. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza. México D.F.
- **Axelrod J., Reisine D T. (1984)** Stress hormones: Their interaction and regulation. Science. 224: 452-459.
- **Barco A I., Flores A., Chavira R., Damián – Matsumara 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 Lacau - Mengido, I M. (1990)** Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. *Acta Physiol. Pharmacol. Latinoam.* 40: 1-17.
- **Bergman R A., Afifi A K., Heidger P M. (1998)** Sistema reproductor femenino. *Histologia.* Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 16: 307- 320.
- **Bolaños G A. (2005)** Participación de la inervación parasimpática en el inicio de la pubertad y en la esteroidogénesis ovárica. La rata hemicastrada como modelo de estudio. Tesis de Licenciatura. Mexico, D.F .
- **Bruce M K., Bethany L, Samuel G, Sofia A, Holland B., Michelle L. (1999)** Sex differences in body weight gains following amygdaloid lesions in rats. *American Journal of physiology.* 277: 975-980.
- **Burden H W. (1978)** Ovarian innervation. *The vertebrate ovary: comparative biology.* R E. Jones. Editorial Plenum Press. Chapter. 18: 615-638.
- **Burden H W., Lawrence Jr. (1977)** The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. *Neuroendocrinology,* 23: 368-378.
- **Burden H W., Leonard M, Smith C P, Lawrence Jr (1983).** The sensory innervation of the ovary; A horseradish peroxidase study in the rat. *The Anatomical Record.* 207: 623-627.

- **Butcher R L. (1977)** Changes in gonadotropins and steroids associated with unilateral ovariectomy of the rat. *Endocrinology*. 101: 830 – 840.
- **Cormack H D. (1988)** *Histología de Ham*. Editorial Harla México S.A de C.V 9ª Edición. pp: 419- 479.
- **Chatterjee A., Greenwald G. (1971)**. Compensatory ovarian hypertrophy following unilateral ovariectomy of the pseudopregnant or pregnant rat. *Endocrinology*. 88: 491-496.
- **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.
- **Chávez R., Carrizosa L., Domínguez R. (1991)** Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats. *Medical Science Research*. 19: 41-42.
- **Chávez R., Domínguez R. (1994)** Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology*, 140: 197-201.

- **Dissen G A., Ojeda S R. (1999)** Ovarian Innervation. Encyclopedia of Reproduction 3. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press Pp: 583-584.
- **Domínguez R., Morales L., Cruz M E. (2003)** Ovarian Asymmetry. ARBS. Annu. Biomed. Sci. 5: 95-104.

- **Dorner, G (1980)** Sexual differentiation of the brain. Vitams Horm. 38:325-334.
- **Duorkin A., Cardinali P. (2003)** Bases Fisiológicas de la Práctica Médica, 13ª Edición, Editorial Panamericana México D.F, pp. 662.
- **Ewald E S. (1971)** Fisiología. 2ª Edición. Editorial Ateneo Pedro Garza S.A. de C.V. México D.F. pp: 713-743.
- **Fawcett D W. (1989)** Tratado de histología 11ª Edición, Editorial Interamericana McGraw-Hill, México D.F, pp. 858-905.
- **Fawcett D W. (1995)** Histología, 12ª Edición, Editorial Interamericana, México D.F, pp. 316-319.
- **Ferin M. (1999)** Ovarian cycle, mammals Encyclopedia of Reproduction 3. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press pp: 547-551.

- **Fink G. (1986).** The endocrine control of ovulation. *Sci.Prog.,Oxf.* 70: 403-423.
- **Flores A., Ayala E., Domínguez R. (1990).** Does noradrenergic peripheral innervation have a different role in the regulation in the pubertal and the adult rat? *Med. Sci. Res.* 18: 18.
- **Flores A ., Morales L. (1985)** Mecanismos que participan en los procesos de hipertrofia compensadora del ovario. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza. México D.F.
- **Gavilán R G. (2006)** Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción de hormonas esteroideas”. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza. México D.F.
- **Geneser F. (2000).** Órganos de la reproducción. *Histología sobre bases biomoleculares.* 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. 22: 613-638.
- **Gerandai I., Halász B. (1978).** Neural participation in ovarian control. *TINS.* 1:87-88.

- **Gore-Langton R E., Amstrong DT. (1994)** Follicular Steroidogenesis and its control. Knobil E, Neill JD. (Eds.) The physiology of reproduction. 2^a edition. Editorial Raven Press. New Cork. 2: 11., 571-611.
- **Guyton A C. (1987)** Fisiología Humana. 6a Edición, Editorial Interamericana S.A. de C.V. México D.F.
- **Guyton A C. (1989)** Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. pp. 54,59- 61.
- **Guyton A C. (2001)** Tratado de fisiología médica. Editorial McGraw-Hill Interamericana S.A. de C.V. 10^a edición México D.F. Pp 1005-1041.

- **Italo T R. y Pineda R L. (1988).** Fisiología del eje hipotálamo-hipofisogonadal en la edad reproductiva de la mujer. Avances de reproducción humana. Sociedad argentina de esterilidad y fertilidad. Editorial panamericana. pp: 21-49.
- **Jacobs J J., Peppler R D. (1980).** Adrenalectomy has a differential effect on the ovarian response of two strains of rat. Journal of endocrinology. 87: 241-246.

- **Jones R E. (1997)** Human Reproductive Biology. 2. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press. pp: 23- 63.
- **Juengel L, McIntush W y Niswender D. (1999)** Corpus Luteum, Encyclopedia of reproduction. 2. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press pp: 703-710.
- **Klein C M., Burden H W (1988)** Anatomical localization of Afferent and postganglionic symphatetic neurons innervating the rat ovary. Neuroscience Letters. 85: 217- 222.
- **Klein M S., Schwartz B N. (1999)** Estrous cycle. Encyclopedia of Reproduction 2. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press pp: 127-135.
- **Magoffin A D., Erickson F G. (1994)** Control systems of theca – interstitial cells. Molecular Biology of the Female Reproductive System. USA. Academic Press pp: 39-59.
- **Moberg. P G. (1975)** Effects of environment and Management stress on reproduction in the dairy cow. Journal of Dairy Science 59, (9): 1618-1624.
- **Morales L., Chávez R., Ayala M., Domínguez R (1998)** Effects of Unilateral or Bilateral Superior Ovarian nerve Section in prepuberal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. Journal of Endocrinology. 158: 213-219.

- **Morales L., Chávez R., Domínguez R. (1993)** Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepuberal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. *Medical Science Research* 21: 15-17.
- **Morales L., Ricardo B., Bolaños A., Chavira R., Domínguez R. (2007)** Ipsilateral vagotomy to unilaterally ovariectomized pre-pubertal rats modifies compensatory ovarian responses. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 5:24 pp. 1-9.
- **Morán C. (1996)** Modificaciones en el crecimiento y diferenciación del folículo en el ovario de la rata juvenil inducidas por la sección unilateral o bilateral del nervio ovárico superior. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES Zaragoza. México D.F.
- **Morán C., Morales L., Quiróz U., Domínguez R. (2000)** Effects of unilateral o bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. *Journal of Endocrinology*. 166: 205- 211.
- **Ninomiya J G. (1995)** Fisiología Humana, endocrinología y metabolismo Editorial el Manual Moderno. México D.F. pp. 338, 349-353.
- **Ojeda S R., Andrews W W., Advis J P., Smith W S. (1980)** Recent advances in the endocrinology of puberty. *Endocrine*. 1: 228-257.

- **Ojeda S R., Urbanski H F. (1994)** Puberty in the Rat. The physiology of Reproduction. (Edits) E. Knobil y J. D. Neill. Raven Press. New York, USA, 377-379.
- **Parra C., Fiedler J L., Luna L., Greiner M., Padmanabhan., Lara H. (2007).** Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. Society for reproduction and fertility. 133: 147-154
- **Ramos M. (2001).** Sistema nervioso autónomo. Revista de postgrado de la cátedra VIa Medicina. 101: 1-7.
- **Ramírez DA. (2007)** Efecto agudo de la ovariectomía unilateral en la rata juvenil sobre la esteroidogénesis y la respuesta compensadora del ovario. Tesis de Licenciatura. UNAM. FES Zaragoza. México D.F.
- **Ricardo G 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. México D.F.
- **Rosas P., Chávez R., Cruz MaE., Domínguez R. (1989).** Sex differences in serum corticosterone levels and circadian rhythms between hairless *et/et* mutant and CD1 adult mice.

- **Ross M H (1997)** Histología Texto y Atlas a color. 3ª edición, Editorial Medica Panamericana, México D.F. pp. 674 - 675.
- **Ruiz I A., Paspera M A., Castro I., Pérez P., Cerbón A M. (1994).** Receptores intracelulares a hormonas esteroides: estructura y función. Programa universitario de investigación en salud. ENEP – Zaragoza, UNAM – INNSZ. México D.F.
- **Schafer P. (1983)** Conceptos básicos de anatomía y fisiología 2ª Edición. Editorial Harla México. Pp: 266- 300.
- **Stevens A. (1999)** Histología humana. Editorial Harcourt. 2ª edición, España. pp: 320-330.
- **Tresguerres J A F. (1999)** Fisiología Humana. 2ª Edición, Editorial McGraw- Hill Interamericana, México D,F. pp. 1020-1032.
- **Tresguerres J A F. (2003)** Fisiología humana. 2º edición Editorial McGraw-Hill Interamericana, México D,F. pp. 1036-1048.
- **Trkulja V., Lackovic Z. (2001).** Vagal influence on compensatory ovarian grown is important only briefly alter hemicastration. Experimental biological medical. 8: 776-781.

- **Vander A., Sherman J., Luciano D. (2001)** Human physiology the mechanisms of body function. 8a Edition. Editorial McGraw- Hill Interamericana. New York. 2001.
- **Van Voorchis B J. (1999).** Follicular steroidogenesis. Encyclopedia of Reproduction 2. Knobil E, Nelly (Eds) USA. Academic Press pp: 389-395.
- **Williams C L., Stancel G M. (1996)** Estrógenos y Progestágenos. Goodman & Gillman (Eds). Las Bases Farmacológicas de la terapéutica. 9ª Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Sección XIII. 57:1497 – 1529.
- **Yen S., Jaffe R., Barbieri R. (2001)** El ciclo ovárico. Endocrinología de la reproducción, fisiología, fisiopatología y manejo clínico. 4ª Edición. Editorial Médica Panamericana. pp: 164-202.
- **Ying-Tsorn, R K. Johnson., Eckardt G R. (2008)** Effect of unilateral hysterectomy and ovariectomy on puberty, uterine size and embryo development in swine. Journal of animal science. 65: 1298-1305.
- **Yoshinaga k. (1999).** Estrogen secretion, regulation. Encyclopedia of reproduction 2: 108-118.