



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

CARRERA DE BIOLOGÍA

“EFECTO DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL  
NERVIO VAGO SOBRE LA PERSISTENCIA DEL  
SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A

DENISSE HERNÁNDEZ VÁZQUEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

MÉXICO, D.F.

JUNIO, 2009





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**

***“EFECTO DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIO VAGO SOBRE LA  
PERSISTENCIA DEL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO”.***

Tesis Presentada Por:

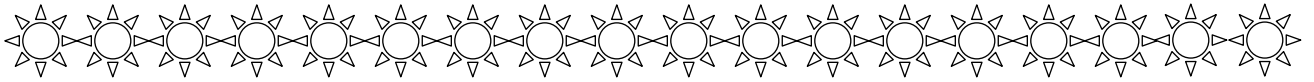
**Denisse  
Hernández Vázquez.**

Directora de Tesis:

**Dra. Leticia Morales Ledesma.**

Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva, en 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 PAPIIT convenio IN203307.



## *A g r a d e c i m i e n t o s*

*“Yo sé los planes que tengo para vosotros, planes para vuestro bienestar y no para vuestro mal, a fin de daros un futuro lleno de esperanza. Yo, el Señor, lo afirmo.”*

A *Dios* por la dicha de conocerle, por la esperanza de conocer esos planes perfectos, y el poder disfrutar momentos tan especiales, como lo es esté a su lado. Gracias Mi Señor y Salvador.

A la Dra. *Leticia Morales Ledesma*, porque a pesar de mi distracción y al principio poco compromiso, decidió confiar en mí. Gracias por su INFINITA paciencia y gracias porque siempre trato que nuestra convivencia fuera mas que solo profesional.

A los miembros del jurado:

*Dr. Roberto Domínguez Casalá.*

*Dra. Leticia Morales Ledesma.*

*Dra. Patricia Rosas Saucedo.*

*Dra. Ma. Elena Ayala Escobar*

*Dr. José Luis Morán Perales*

Por el tiempo invertido en la revisión de esta tesis y por el enriquecerlo con sus comentarios.

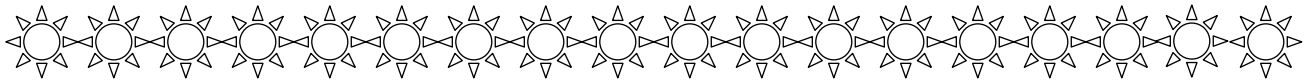
A María Luisa Illesca Vera por su colaboración en la realización de los cortes histológicos.

Al Biólogo Roberto Chavira y Mario Cárdenas por su colaboración en las mediciones hormonales.

A la Dra. Adriana Altamirano, al Dr. Román Hernández y al personal técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza, por haberme proporcionado

**los animales utilizados en este estudio.**





A la disposición y apoyo de la *Doc. Lety y Paly*, sin ustedes talvez hoy no seria el día. Gracias

A cada uno de mis compañeros de laboratorio: *Ricardo, Dan, Juan, Dey, Ely, Gaby, Ross, Vero*. A pesar de lo poco o mucho que los conocí, gracias por cada una de esas risas en el laboratorio.

Gracias amiga *Azu* por el apoyo incondicional que recibí de tu parte, por las sonrisas y momentos compartidos.

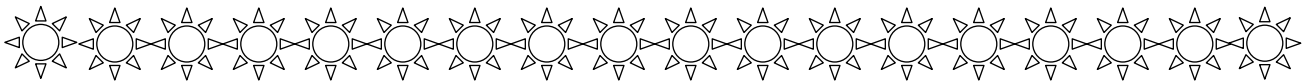
Gracias amiga *Andy*, porque a pesar de las dificultades en esta amistad, al final, se que puedo confiar en ti y llamarte amiga.

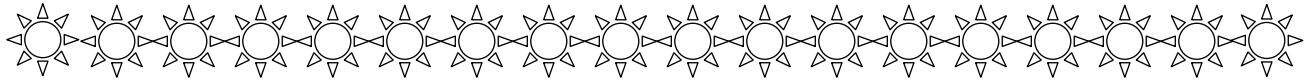
A mis hermanos en la Fe: *Miri, Rosy, Cis, Mary, Oli, Irene, N, Yeye, Miri S, Zeni, Joel, Raúl, Mario...* Gracias amigos y hermanos por cada enseñanza y consejo, y por el animo que me daban para terminar esta tesis. LOS AMO

A mis "hijos" *Bere y Jorge* por su amistad incondicional y porque me permitieron conocerlos. A ustedes *Aleja y Vane* porque desde que llegue a esta gran familia han sido grandes amigas. Y ahora tú mi *Lauris*. Gracias amigas.

A ti amigo *Mollejitas* por tu amistad y confianza. A mis amigos de la carrera: *Giovanna, Nallely, Azra, Edgar, Ivan, Cintia*.

A ustedes *Ralitas*, sin ustedes este sueño no hubiera llegado a término. Siento la manera en la que tuvieron que participar. Gracias pequeñas.





## D e d i c a t o r i a s

Te dedico atí, mi *Dios*, este trabajo, porque estoy segura que de no haber querido, no hubieras permitido este momento.

Que difícil es saber que no estas, ni estarás, pero se que te hubiera gustado ver llegar este día. Gracias *Papá*

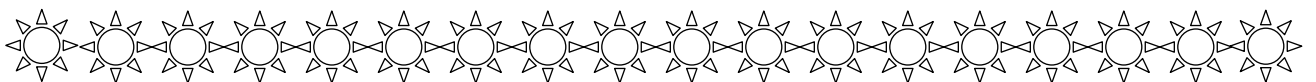
A tí *Mami* por tu amor incondicional y por apoyarme en cada momento de mi vida, sin merecerlo, *ERES UNA BENDICION DE DIOS. TE AMO mami.*

A ustedes *Sorditos*, José y Edgar, porque a pesar de las distintas peleas, se que me quieren y apoyan. Los amo y anhelo algún día podamos estar mi mami, ustedes y yo en el cielo.

A mis tíos *Pancho y Esther*, gracias por el apoyo a mi familia brindado en los momentos mas difíciles de nuestra familia.

A mis primos *Nely, Tania, Mimi, Ervin (y familia), Diana.*

A la Dra. Lety porque a pesar de que al final todas estábamos estresadas, ella supo como tranquilizarnos, gracias Dra. talvez no lo sepa pero me dio una lección de fe. Gracias por su preocupación para mi vida.



---

---

# ÍNDICE

	PÁGINAS
<b>RESUMEN.....</b>	<b>i</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
Estructura ovárica. ....	2
Desarrollo folicular.....	5
Ovulación.....	12
Esteroidogénesis ovárica.....	15
Acciones de las hormonas ováricas.....	20
Regulación de la secreción hormonal en el ovario.....	21
Desarrollo puberal.....	22
Ciclo reproductivo.....	26
Sistema nervioso.....	29
Inervación ovárica.....	31
Nervio vago.....	32
Síndrome del ovario poliquístico .....	40
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>44</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>45</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>46</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>

**RESULTADOS**

Efecto de la administración de valerato de estradiol (VE) sobre el inicio de la pubertad, la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.....**52**

Efecto de la operación simulada (OS) en los animales tratados con vehiculo (Vh) o valerato de estradiol (VE) sobre la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.....**58**

Efecto de la sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) en un animal con síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), sobre el ciclo estral, el inicio de la pubertad, la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.....64

**DISCUSIÓN.....77**

**MODELO.....87**

**CONCLUSIONES.....91**

**REFERENCIAS.....92**



## *RESUMEN*

El ovario realiza dos funciones: formar células aptas para la reproducción y secretar hormonas sexuales. Estas funciones se encuentran bajo un control neuroendocrino, por medio del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

La alteración en alguna de estas vías de control (endocrina o neural), favorece el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), una patología que afecta del 6-7% de las mujeres en edad reproductiva. La etiología del SOPQ aún no es del todo conocida.

En la rata con SOPQ, la eliminación total de la información simpática que llega al ovario vía el nervio ovárico superior (NOS), reestablece el ciclo estral, la capacidad ovulatoria y la concentración de hormonas esteroides, mientras que la eliminación parcial de dicha información, sólo reestablece la capacidad ovulatoria por el ovario inervado. Estos resultados han permitido postular que en el modelo con SOPQ existe otra vía de comunicación entre los ovarios y el sistema nervioso central, que pudiera estar dada por el nervio vago, que facilita la ovulación en la gónada inervada. Para analizar esta posibilidad, en el presente estudio se utilizaron ratas de 10 días de edad a las que se les indujo el SOPQ por la administración de VE (2 mg disuelto en 1 ml de aceite de maíz) y a los 24 días de edad se les realizó la sección uni o bilateral del nervio vago. A los 90 días de edad se evaluó la ovulación, la morfología ovárica, la concentración sérica de hormonas esteroides (progesterona y estradiol) y proteicas (LH y FSH).

La administración de VE en la etapa infantil resultó en adelanto del inicio de la pubertad y ausencia de ovulación, así como una disminución en la concentración de gonadotropinas y aumento en la de estradiol.

Aproximadamente el 70% de las hembras con SOPQ y vagotomizadas no ovuló a los 90 días de edad, aún cuando el frotis vaginal correspondió a un estro típico. El estudio histológico de estos ovarios reveló la presencia de cuerpos lúteos y de folículos en diferentes estadios de crecimiento. Esto permite señalar que sí se presentó la ovulación en todos animales.

En los animales tratados con el VE y sometidos a una sección bilateral del nervio vago, la concentración de estradiol fue más alta, respecto al grupo con VE (VE+SBNVD=  $225.9 \pm 20.9$  vs. VE=  $148.5 \pm 10.4$ ).

En las ratas con SOPQ, la sección unilateral o bilateral del nervio vago incrementó la concentración de LH, respecto al animal tratado con VE, sin cambios en la concentración de FSH.

La administración de VE en la etapa infantil, no modificó la concentración de progesterona cuando los animales llegaron a la etapa adulta. Esta respuesta se mantuvo aún después de realizar una vagotomía uni o bilateral.

Los resultados del presente estudio muestran que la información neural que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la persistencia

del síndrome del ovario poliquístico, ya que la sección uni o bilateral del nervio restablece la ovulación.

## *INTRODUCCIÓN*

Aproximadamente una de cada diez mujeres en edad reproductiva presenta el SOPQ, por lo que es considerado la causa más común de infertilidad femenina. Este síndrome se caracteriza por una alteración en la secreción basal de gonadotropinas, altas concentración de estradiol y de andrógenos, además de ovarios poliquísticos (Schulster y col., 1984).

Diversos grupos de trabajo han postulado que la aparición del SOPQ, es el resultado de una alteración en la inervación extrínseca del ovario (Barria y col., 1993; Greiner, 2005; Linares), lo anterior con base a que se ha mostrado que la sección bilateral del NOS reestablece las funciones ováricas, tales como la esteroidogénesis y la ovulación (Barria y col., 1993). Sin embargo, la sección unilateral del NOS, sólo reestablece la ovulación en el ovario inervado (Linares, 2006). Es probable que esta respuesta se de por una vía de comunicación entre los ovarios.

Por trazadores retrógrados se ha mostrado la existencia de una vía de comunicación neural entre el ovario y el sistema nervioso central (SNC), dada por el nervio vago. En el presente trabajo se analizó en la rata con SOPQ, la participación de la información neural que transcurre por el nervio vago en la persistencia del SOPQ.

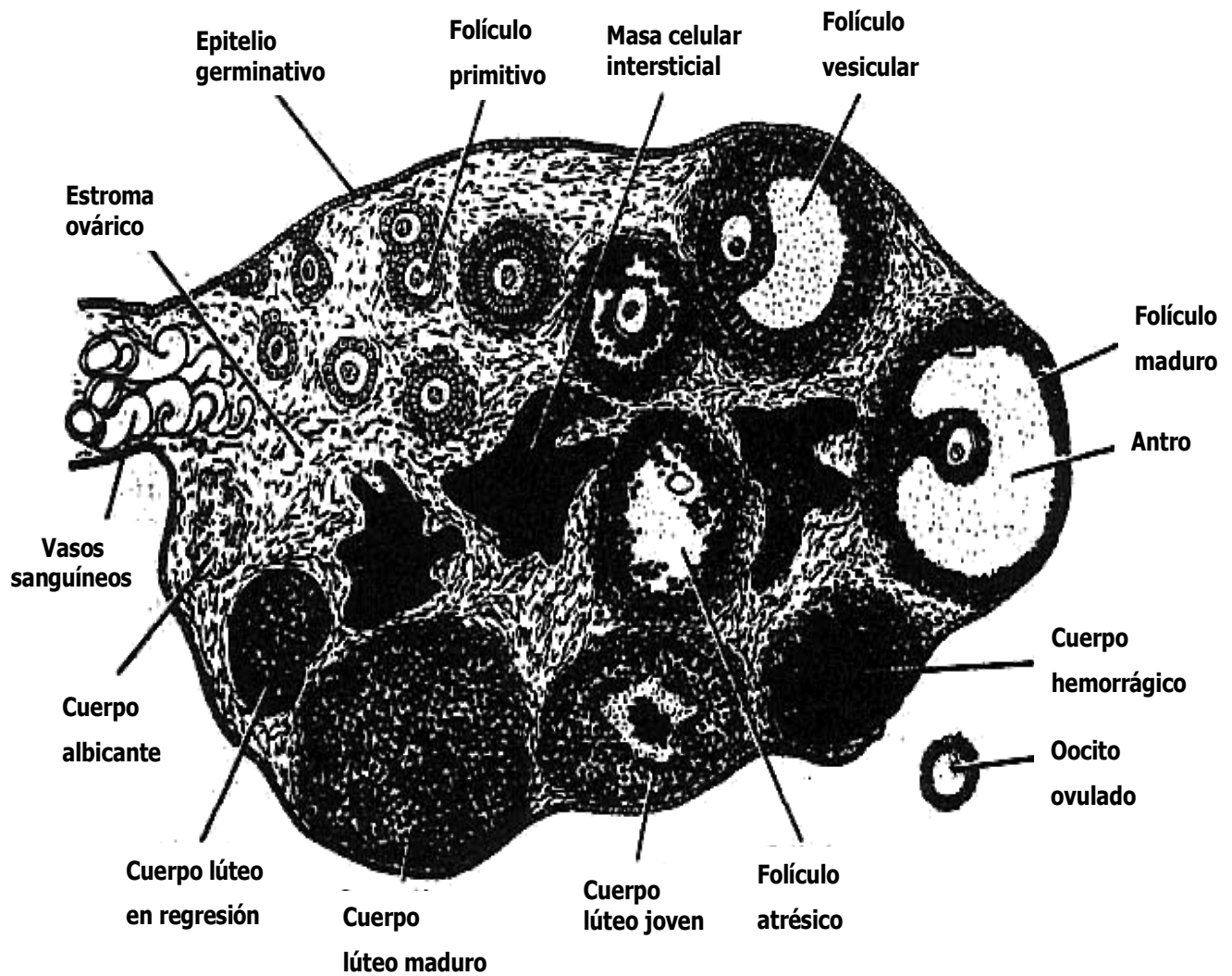
## *MARCO TEÓRICO*

En el hombre y otros vertebrados los sistemas de reproducción son muy similares. En el ovario, los procesos bioquímicos y fisiológicos son idénticos no sólo en la formación de células germinales, el desarrollo de folículos primordiales y su subsecuente crecimiento a folículos de Graff, y su eventual ovulación, sino también en su estructura anatómica (Mahajan ,1988). El ovario realiza dos funciones interrelacionadas: la producción de gametos y la secreción de hormonas esteroides y protéicas. La función neuroendocrina del ovario garantiza la producción regular de ovocitos en el momento de máxima probabilidad de ser fecundados, y la regulación de la función hipotálamo-hipofisaria (Ross y col., 2005; Tresguerres, 2003).

### **ESTRUCTURA OVÁRICA**

En la mujer los ovarios son estructuras pares de color blanco rosado con forma de almendra que miden unos 3 cm. de largo, 1.5 cm. de ancho y 1 cm. de espesor. Cada ovario esta fijado a la superficie posterior del ligamento ancho del útero a través de un pliegue peritoneal llamado mesoovario (Fawcett, 1990; Ross y col., 2005). En la rata los ovarios se encuentran situados cerca de los riñones a lo largo del músculo lateral y se encuentran rodeados de grasa (Peluffo, 2002). 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 y por el ligamento suspensorio (Bergman y col., 1998).

En el ovario se distinguen tres zonas. La *corteza*, zona periférica gruesa que rodea a la médula. En el tejido conjuntivo de la corteza justo debajo de la túnica albugínea, están incluidos los folículos en diferentes estadios de maduración; la *médula*, que contiene una red vascular y tejido conectivo; y el *hilio*, por donde entra al ovario la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos, las fibras nerviosas (Fawcett, 1990; Ross y col., 2005; Tresguerres, 2003). El ovario del animal adulto esta constituido por tres unidades funcionales diferentes: el tejido intersticial, los folículos y el (los) cuerpo (s) lúteo (s) (Figura 1).



**FIGURA 1.** Esquema que muestra las unidades funcionales del ovario: el tejido intersticial, folículos en diferentes etapas de desarrollo y el cuerpo lúteo (Tomado de Goldfien y Monroe, 1998).

## **DESARROLLO FOLICULAR**

El crecimiento folicular es el resultado de la acción combinada de las gonadotropinas hormona luteinizante (LH); folículo estimulante (FSH) y los esteroides ováricos (andrógenos y estrógenos) sobre las células granulosas y tecaes de los folículos seleccionados al comienzo de cada ciclo ovárico (Tresguerres,2003). En el proceso de foliculogénesis, están además involucrados diversos factores de crecimiento, como por ejemplo, el factor semejante a la insulina (IGF) I y II y el factor de crecimiento neural (NGF) (Hernández, 2001).

El folículo está formado por el ovocito, las células de la granulosa, la membrana basal, las células tecointersticiales que conforman la teca interna y teca externa, tejido conjuntivo, capilares y terminaciones nerviosas (Domínguez y col., 1991).

En la mujer el proceso de foliculogénesis se produce en la etapa fetal, y se considera que un folículo está formado cuando el ovocito es rodeado por una capa de células foliculares (Freeman, 1994). En la rata este proceso se produce después de las primeras 24 horas de vida (Malamed y col., 1992). En el ovario de la rata los receptores a FSH y LH empiezan a sintetizarse entre los 5 y 7 días de vida, razón por la cual se ha planteado que el inicio de la foliculogénesis es un proceso independiente a estas hormonas. Desde principios de los 90's se mostró que el ovario fetal de la rata presenta fibras de naturaleza noradrenérgica, las cuales podrían estar participando en la regulación del desarrollo de los folículos (Malamed y col., 1992). En apoyo a esta interpretación, el grupo de Lara (1990)



mostró que la destrucción química de las fibras simpáticas en los primeros días de vida resulta en una disminución de la población folicular. El tamaño de un folículo indica el estado de desarrollo del ovocito (Figura 2) (Ross y col., 2005).

- ♠ FOLÍCULOS PRIMORDIALES. Una sola capa de células foliculares planas rodea al ovocito. La superficie externa de las células foliculares está cubierta por una lámina basal. En esta etapa, como en las siguientes, el ovocito y las células foliculares circundantes están muy juntos (Fawcett, 1990; Freeman, 1994; Ross y col., 2005).
  
- ♠ FOLÍCULOS PRIMARIOS. Conforme el folículo primordial se convierte en un folículo en crecimiento ocurren cambios en el ovocito, en las células foliculares y en el estroma circundante. A medida que el ovocito crece, aparece una lámina homogénea muy acidófila y retráctil, llamada *zona o membrana pelúcida* entre el ovocito y las células foliculares contiguas. Mediante una rápida proliferación mitótica, la capa simple de células foliculares da origen a un epitelio estratificado, la *capa granulosa*, que rodea al ovocito; cuando este epitelio adquiere la forma de un epitelio columnar bajo, se dice que se ha formado el folículo primario (Dissen y col., 2004; Freeman, 1994). Las células foliculares reciben ahora el nombre de células de la granulosa (Ross y col., 2005).

En la rata la aparición de los folículos primordiales y primarios se da en la etapa neonatal (fase que va desde el nacimiento hasta el día 7) (Dissen y col., 2004).

♠ FOLÍCULOS SECUNDARIOS. En la corteza el folículo primario aumenta de tamaño, por proliferación de las células de la granulosa. Cuando la capa granulosa alcanza un espesor de 6 a 12 estratos celulares, aparecen cavidades entre las células de la granulosa, llenas de líquido folicular, llamadas *cuerpos de Call-Exner*. A medida que el líquido folicular (que contiene ácido hialurónico, LH, FSH, Progesterona y estradiol) continúa acumulándose entre las células de la granulosa, las cavidades se unen y constituyen una cavidad única llamada *antro* (Roos y col., 2005; Yen, 2001). Este folículo ahora se designa con el nombre de *folículo secundario* o *folículo antral*. Conforme proliferan las células de la granulosa, las células estromales que rodean la capa de la granulosa forman una vaina de células conjuntivas (Hoar, 1978a), conocida como *teca folicular*, justo por fuera de la lámina basal. La teca folicular se diferencia en dos capas:

- ***Teca interna***, es la capa de células secretoras cúbicas muy vascularizada y más profunda. Las células de la teca interna al principio son fusiformes con aspecto de fibroblastos; pero más tarde acumulan pequeñas gotas de lípidos y su citoplasma adquiere las características ultraestructurales típicas de las

células productoras de esteroides. Estas células tienen receptores a la LH, sintetizan y secretan los andrógenos que son los precursores de los estrógenos. Además de las células secretoras, la teca interna

contiene fibroblastos, haces de fibras de colágeno y una rica red de vasos pequeños (Fawcett, 1990; Ross y col., 2005).

- **Teca externa**, es la capa más superficial de células del tejido conjuntivo. Contiene sobre todo células musculares lisas y haces de fibras de colágeno (Ross y col., 2005).

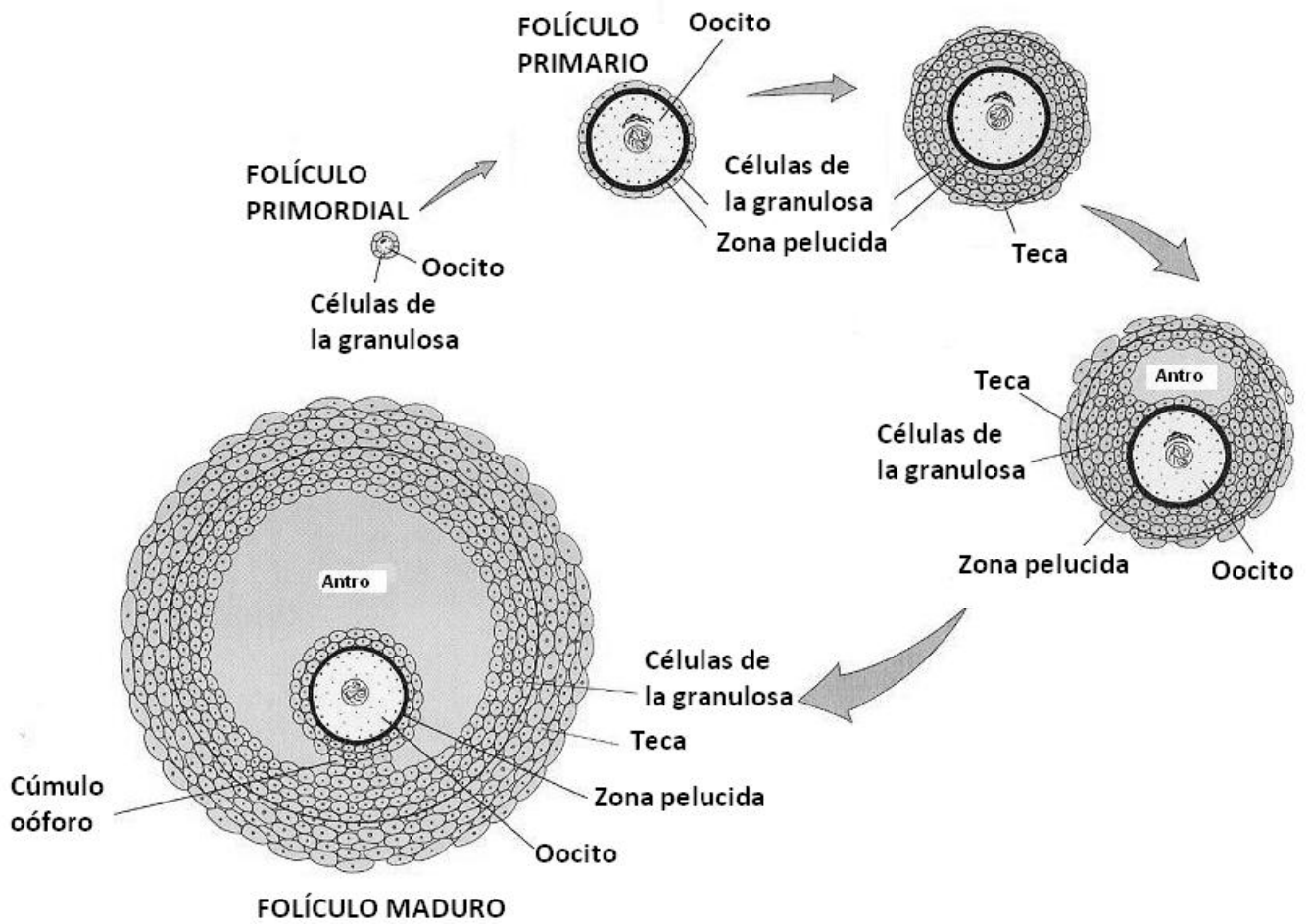
No son claros los límites entre la teca interna y la externa ni entre la teca externa y el estroma vecino. Sin embargo, la lámina basal que hay entre la capa granulosa y la teca interna establece un límite bien definido entre estas dos capas (Fawcett, 1990; Ross y col., 2005). Desde la teca externa penetran hacia la interna muchos vasos pequeños que forman una red capilar abundante en la teca interna; mientras las capas de células de la granulosa permanece avascular durante todo el crecimiento del folículo (Fawcett, 1990).

Conforme el folículo secundario va creciendo, el antro, que está revestido por varias capas de células de la granulosa también se hace más grande. La capa granulosa tiene un espesor que es relativamente uniforme excepto en la región del ovocito. Aquí las células de la granulosa forman el **disco prolífero** o **cúmulo oóforo**, que se proyecta

dentro del antro. Las células de este disco que rodean inmediatamente el ovocito y permanecen con este en la ovulación forman la denominada **corona radiada**. La corona **radiada** está compuesta por células del cúmulo que envían microvellosidades que penetran por la membrana pelúcida y se

comunican con las microvellosidades del ovocito, a través de uniones de hendidura (Ross y col., 2005).

- ♠ FOLÍCULO DE GRAAF. En la mujer los folículos necesitan de 10 a 14 días, a partir del comienzo del ciclo para alcanzar su madurez. En la rata se requiere un periodo similar, donde el folículo que va a responder con la ovulación requiere de tres ciclos estrales (Domínguez y col., 1991). El folículo de Graaf ocupa todo el grosor de la corteza del ovario y hace prominencia en la superficie libre del órgano. Los folículos parecen estar en tensión, como si el líquido de la cavidad folicular estuviera a una presión muy grande (Fawcett, 1990). En este tipo de folículos, la actividad mitótica de las células de la granulosa disminuye. La capa de la granulosa parece tornarse mas fina conforme el antro aumenta de tamaño. Mientras continúan agrandándose los espacios que hay entre las células de la granulosa, el ovocito y las células del cúmulo se separan gradualmente del resto de la capa granulosa en preparación para la ovulación (Ross y col., 2005).



**FIGURA 2.** Esquema que muestra las características del folículo ovárico en diferentes etapas del crecimiento en el ovario (Modificado de Ross y col., 2005).

## *ATRESIA*

El proceso degenerativo por el cual los folículos son eliminados antes de llegar a la ovulación se denomina **atresia**. La palabra atresia deriva del idioma griego (a: no; tresia: perforado) (Peluffo, 2002). La atresia ocurre en cualquier etapa del desarrollo folicular, aunque es más frecuente en los folículos antrales (Rosales y Guzmán, 2008).

Que un folículo ovule o sufra atresia, es determinado por el balance de señales que reciben sus células (como por ejemplo el pico preovulatorio de LH). En la atresia, un evento fundamental, es la pérdida controlada de células por medio del mecanismo de apoptosis (Rosales y Guzmán, 2008). Las células de los folículos atrésicos presentan características morfológicas y bioquímicas características de muerte por apoptosis, desde un punto de vista bioquímico se puede observar encogimiento celular, fragmentación del ADN, disminución en la síntesis y expresión del RNAm que codifica para las aromatasas, pérdida de receptores a gonadotropinas. En el estudio histológico se observan núcleos picnóticos y fragmentación nuclear en las células de la granulosa, desprendimiento de las células de la granulosa y del complejo cúmulos-ovocito y en algunos casos hipertrofia de las células de la teca (Sharma, 2000). La teca de los folículos que van a la atresia van a conformar la glándula intersticial del ovario (Ross y col., 2005).

## OVULACIÓN

La ovulación es el proceso por el cual el ovocito en desarrollo es liberado del folículo de Graaf hacia la superficie del ovario (Bergman y col., 1998). Durante la ovulación el ovocito atraviesa toda la pared folicular y el epitelio superficial del ovario. Una combinación de cambios hormonales y efectos enzimáticos produce la liberación del ovocito en la mitad del ciclo menstrual. Antes de la ovulación, el flujo sanguíneo se detiene en una pequeña región de la superficie ovárica sobre el folículo que hace protrusión. Esta región del epitelio superficial, que se conoce como **estigma** o **mácula pelúcida**, se eleva y luego se rompe. El ovocito, rodeado por la corona radiada y las células del disco prolífero, es expulsado con fuerza del folículo abierto (Ross y col., 2005).

## CONTROL ENDÓCRINO DE LA OVULACIÓN

Los estrógenos producidos por los ovarios modulan de manera estimuladora o inhibitoria la secreción del factor liberador de gonadotropinas (GnRH) y de la propia FSH y LH. La ovulación depende de una serie de eventos endocrinos en los que participan el hipotálamo, la hipófisis y el ovario. Las terminales neuronales que liberan GnRH se encuentran en la eminencia media. La GnRH es transportada por los vasos hipofisioportales al lóbulo anterior de la hipófisis. En las células gonadotropas la GnRH estimula la síntesis y la liberación de la FSH y de la LH. La FSH transportada por la sangre al ovario, estimula el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos. Los folículos en crecimiento, a su vez, secretan durante la fase folicular del ciclo cantidades progresivamente crecientes de estradiol.

La concentración elevada de estradiol ejerce su efecto sobre los gonadotropos, induciéndolos a acumular LH y, en menor medida FSH. El mayor cambio en la secreción pulsátil de GnRH, ocurre a la mitad del ciclo, donde se inicia el aumento preovulatorio de gonadotropinas, es en esta fase, cuando el(los) folículo(s) dominante(s) alcanza(n) su madurez, y hay una marcada elevación en la concentración de estrógenos (Yen, 2001).

En la rata la concentración máxima de estradiol se presenta en la tarde del día del proestro (Freeman, 1994), después desciende y con ello se da la liberación preovulatoria de gonadotropinas, la cual se produce en la noche del proestro (Blake, 1999; Levine, 1999). Luego del pico preovulatorio se observa en el ovario un incremento en el flujo sanguíneo y las células de la granulosa cercanas a la lámina basal, comienzan a soltarse debido a la desaparición de las uniones estrechas que las mantenían unidas. La elevación repentina en la sangre de la LH desencadena la ruptura del folículo y la expulsión de su ovocito. Luego de la ovulación el folículo que expulsó el ovocito se transforma en un cuerpo lúteo. Su principal función es la de secretar progesterona, la cual tiene numerosas funciones, entre ellas, el acondicionamiento del útero para el período de preñez y la regulación de las contracciones del oviducto para el transporte del óvulo al útero (Peluffo, 2002). La caída en la concentración de LH al final del ciclo establece la etapa para la regresión del cuerpo lúteo (Bergman y col., 1998).



### **Teoría de las dos células en la síntesis de hormonas ováricas**

Al contrario de la FSH, que solo actúa en las células de la granulosa, la LH tiene múltiples lugares de acción en el ovario: las células tecales, intersticiales, granulosa y luteínicas. Las células de la teca interna desarrollan receptores para la LH, pero no para la FSH (Tresguerres, 2003)

Las células de la teca interna y de la granulosa ováricas tienen funciones complementarias en la síntesis de estrógenos (Díaz, 2004).

La unión de la LH a sus receptores estimula la concentración de AMP-cíclico, regulador de la actividad enzimática que transformará el colesterol en *andrógenos* (androstenediona y testosterona). Los andrógenos producidos en la teca difunden al plasma o bien al compartimiento de células granulosas del folículo, donde son aromatizados a estrógenos. El aumento de la concentración de FSH al comienzo de la fase folicular incrementa en primer lugar el número de células granulosas y en segundo lugar la concentración de *receptores* para FSH, ésta última induce en las células granulosas la síntesis de AMP-cíclico, que actúa como segundo mensajero en la síntesis de la aromatasa P450c19, que es fundamental en la transformación de andrógenos a estrógenos. El estradiol incrementa a su vez el número de sus propios receptores, así como los de FSH, lo que resulta en el incremento adicional de la actividad mitogénica. Además de esta acción sinérgica entre la FSH y el estradiol, la FSH induce la síntesis de los receptores a LH (Tresguerres, 2003; Díaz, 2004).

## **ESTEROIDOGÉNESIS OVÁRICA**

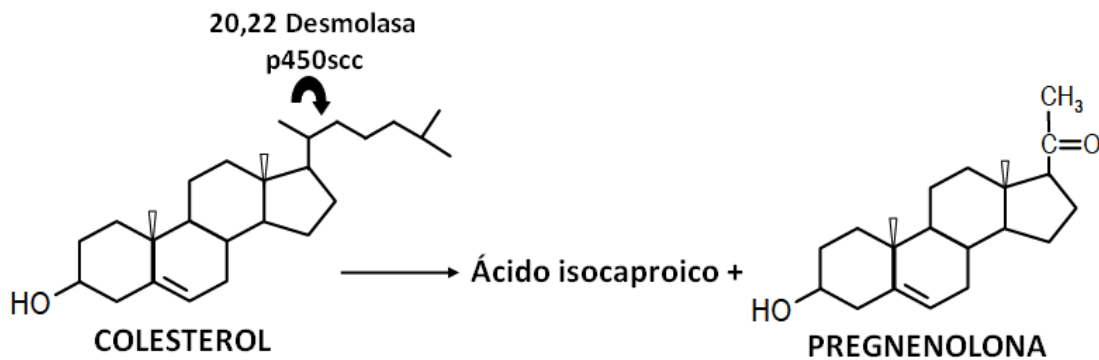
### **COLESTEROL: EL SUSTRATO PARA LA SÍNTESIS DE LAS HORMONAS ESTEROIDEAS**

Las células esteroideogénicas de la corteza suprarrenal, teca folicular y granulosa ováricas, captan el colesterol desde las lipoproteínas plasmáticas, y lo utilizan como sustrato en la síntesis de esteroides (Tresguerres, 2003; Díaz, 2004). Las lipoproteínas contienen un núcleo lipídico rodeado de proteínas. En la mujer las lipoproteínas que transportan colesterol son las de baja densidad (LDL) y en menor proporción lo hacen las de alta densidad (HDL), en el caso de la rata son las HDL; para cuyas proteínas existen receptores específicos de membrana en las células del ovario (Ojeda y col., 1983). Estos receptores median la endocitosis de las LDL, que en el interior de las células se fusionan con los lisosomas, que degradan las proteínas y desesterifican el colesterol. El colesterol libre procedente de las LDL bloquea la síntesis de colesterol por la propia célula ovárica. El colesterol libre es reesterificado y acumulado en gotitas lipídicas en el citoplasma celular. En el primer paso de la síntesis de cualquiera de las hormonas esteroideas, el colesterol es de nuevo desesterificado y rescatado de la gotita lipídica (Díaz, 2004).

La proteína transportadora de esteroides (SCP, de sus siglas en inglés), lo traslada a través del citoesqueleto a la mitocondria, donde comienza la síntesis hormonal esteroidea. La señal que activa el inicio de la síntesis de hormonas esteroides procede de la unión de la LH con su receptor específico en membrana,

esta unión activa la síntesis intracelular de AMP-cíclico, segundo mensajero necesario en la síntesis hormonal esteroidea (Díaz, 2004).

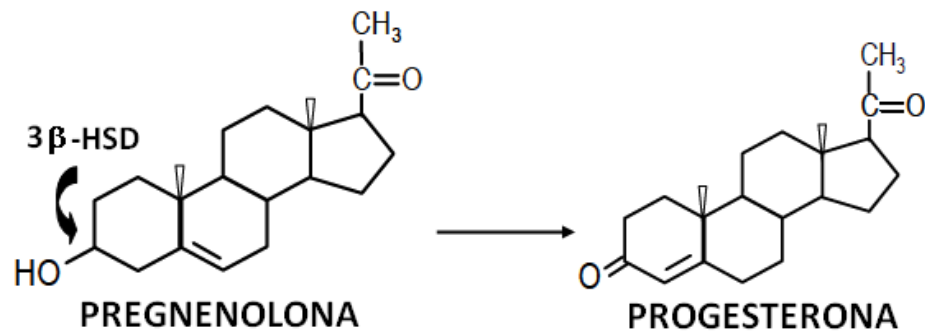
El primer paso de la síntesis de las hormonas esteroideas comienza en la membrana interna de las mitocondrias, aquí la enzima que actúa es la P450scc (desmolasa), la cual corta la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol, lo que da origen al ácido isocaproico y pregnenolona (Figura 3) (Díaz, 2004).



**FIGURA 3.** Ruptura de la cadena lateral del colesterol (Modificado de Díaz, 2004).

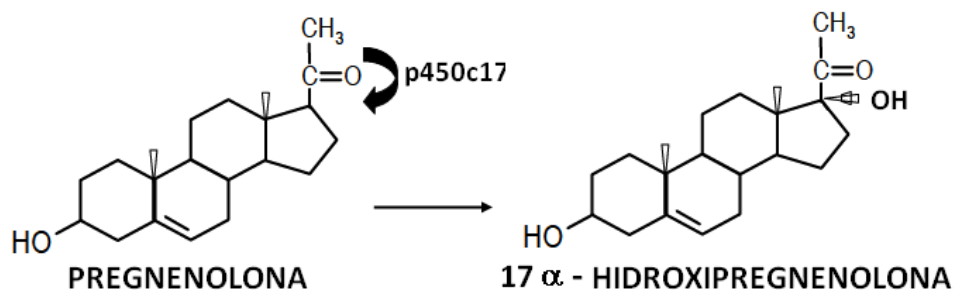
Una vez sintetizada la **pregnenolona**, ésta puede tomar dos rutas, donde participan dos enzimas diferentes: la 3 $\beta$ -HSD (3 $\beta$ -Hidroxiesteroide deshidrogenasa), que la convierte en **progesterona**, o la 17 $\alpha$ -hidroxilasa (P450c17), que la convierte en 17 $\alpha$ -hidroxi-pregnenolona. Tanto la 3 $\beta$ -HSD como la 17 $\alpha$ -hidroxilasa se localizan en el retículo endoplásmico liso, por lo que la

pregnenolona debe salir de la mitocondria. Para pasar de pregnenolona a progesterona la  $3\beta$ -HSD primero reduce la oxidación del grupo hidroxilo en posición C3 de la pregnenolona; y, segundo, como consecuencia de la oxidación se produce la isomerización del doble enlace (Figura 4). La oxidación requiere la participación de NADH+H (Díaz, 2004).



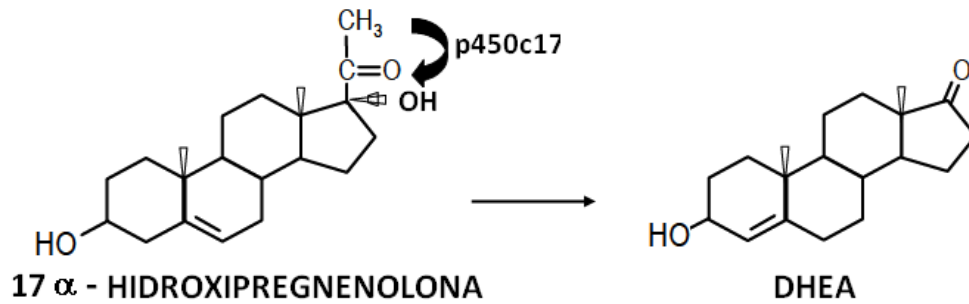
**FIGURA 4.** La  $3\beta$  oxidación de la pregnenolona (Modificado de Díaz, 2004)

La  $17\alpha$ -hidroxilasa, enzima del retículo endoplásmico, está compuesta por un citocromo específico, P450<sub>17C</sub> y la flavoproteína NADPH-citocromo P450 reductasa. Este complejo tiene dos actividades enzimáticas, de modo que en un primer paso convierte el sustrato en la forma  $17\alpha$ -hidroxilada de la pregnenolona (Figura 5) (Díaz, 2004).



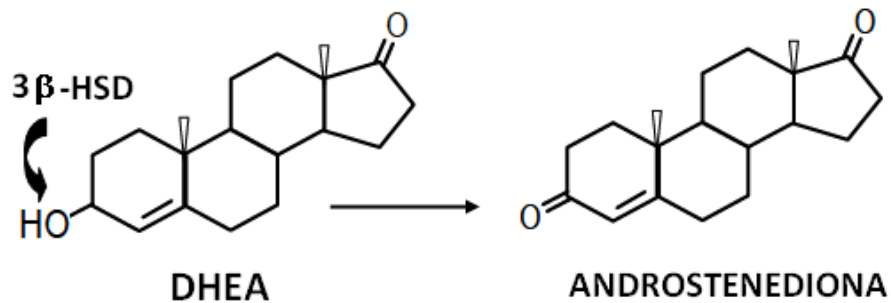
**FIGURA 5.** La 17  $\alpha$ -hidroxilación de la pregnenolona (Modificado de Díaz, 2004)

El segundo producto es la dehidroepiandrosterona (DHEA) (Figura 6), un andrógeno débil, producido por el ovario y las suprarrenales (Díaz, 2004).



**FIGURA 6.** La  $\alpha$ -hidroxilación de la 17  $\alpha$ -hidroxipregnenolona (Modificado de Díaz, 2004)

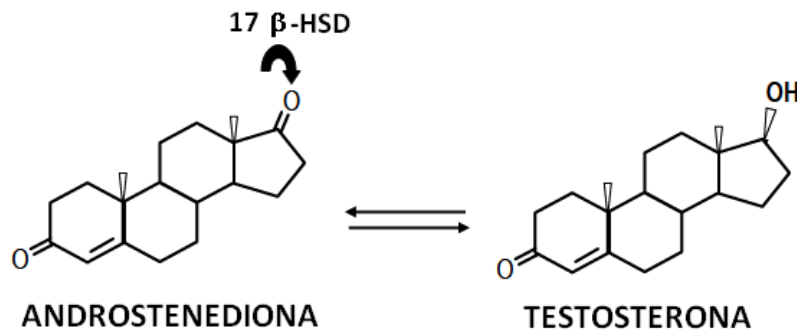
La DHEA requiere una ulterior transformación por la 3 $\beta$ -HSD y da lugar a la androstenediona (Figura 7) (Díaz, 2004).



**FIGURA 7.** La 3  $\beta$ -oxidación de la DHEA (Modificado de Díaz, 2004)

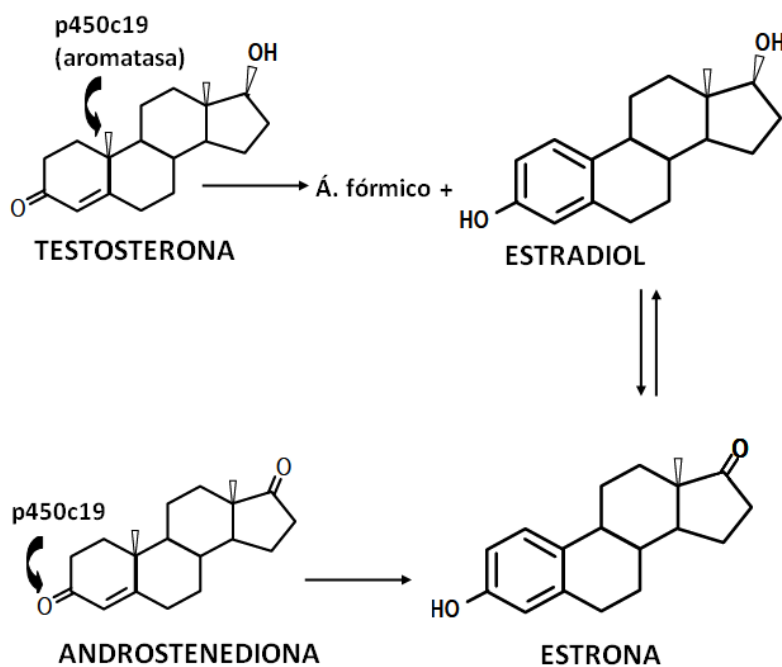
Si el sustrato la actividad de la 3 $\beta$ -HSD es la progesterona, el producto intermedio, será la 17 $\alpha$ OH-progesterona, la cual es finalmente convertida en androstenediona el precursor de los andrógenos y estrógenos. (Díaz, 2004)

La androstenediona es convertida en testosterona por la 17 $\beta$ -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (Figura 8), un enzima que también convierte la estrona a estradiol (Figura 9). La 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa está en el retículo endoplásmico, y cataliza la reacción en ambos sentidos: hidroxilo C19 a ceto, o viceversa. El producto resultante, la testosterona, es el precursor del estradiol, para lo cual debe salir de las células de la teca y pasar a las células de la granulosa, donde está la actividad aromatasa (Díaz, 2004).



**FIGURA 8.** La 17  $\beta$ -oxidación de la androstenediona (Modificado de Díaz, 2004)

La reducción del grupo ceto en C17 es un paso limitante para la síntesis de testosterona y estradiol, pero no para la síntesis de estrona (Figura 9)(Díaz,2004).



**FIGURA 9.** La participación de la aromatasa en el paso de androstenediona a estrona (Modificado de Díaz, 2004)

La androstendiona, precursor de la estrona, es mayoritariamente convertida a testosterona en el ovario, y escasamente pasa a la granulosa. La estrona que encontramos en el plasma procede de la conversión de estradiol a estrona en el hígado, mediante la  $17\beta$ -hidoxiesteroides deshidrogenasa hepática. (Díaz, 2004)

### ACCIONES DE LAS HORMONAS OVÁRICAS

Los **estrógenos** coordinan múltiples funciones fisiológicas que son importantes para la reproducción de la hembra. En la rata, esta hormona juega un papel modulador esencial en el comportamiento de apareamiento, aumenta

la actividad locomotora e incrementa la percepción de varios estímulos sensoriales, incluyendo los auditivos, visuales y olfatorios. Durante el ciclo estral el estradiol, participa en la regulación de la proliferación celular de los epitelios uterinos (Tresguerres, 2003). Los estrógenos ováricos, junto con la progesterona, controlan la secreción de LH y FSH por sus acciones en el eje hipotálamo-hipófisis. El estradiol facilita la acción de la FSH sobre las células de la granulosa y posibilita la capacidad de esta gonadotropina para incrementar y mantener sus propios receptores. La concentración intrafolicular de estradiol parece determinar que folículo continuará madurando hasta la ovulación y cuales entraran en proceso de atresia (Tresguerres, 2003).

En la rata, la **progesterona** junto con el estradiol actúan de manera sinérgica en el control del inicio y duración del comportamiento de receptividad sexual (Etgen, 1999; Uphose y Maswood, 1999). En general, en las especies vivíparas la progesterona es esencial para que la implantación ocurra; además de que previene la expulsión prematura del embrión (Burden y col., 1977; Lindzey y Korach, 1999; Paolucci y col., 1999), la progesterona actúa en combinación con la prolactina para inhibir la receptividad sexual durante la preñez y lactancia (Etgen, 1999).

## **REGULACION DE LA SECRECIÓN HORMONAL EN EL OVARIO**

De todos los elementos implicados en la regulación de la función ovárica, el hipotálamo es el lugar de control e integración de todas las señales (nerviosas y humorales) procedentes del sistema nervioso central, hipófisis, ovario y útero.



En el funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-ovario-útero participan hormonas hipotalámicas (GnRH), múltiples hormonas tróficas hipofisarias (LH, FSH, PRL), hormonas ováricas (estrógenos, andrógenos, progestágenos, hormonas peptídicas y factores locales) y hormonas producidas por el útero (prostaglandina, relaxina) (Tresguerres, 2003).

Sobre el *hipotálamo* actúan señales provenientes del ambiente, las hormonas, neurotransmisores, etc. La señal de salida es la secreción *pulsátil de GnRH* de las terminales nerviosas de la eminencia media a los vasos portales hipotálamo-hipofisarios. La frecuencia y la amplitud con las que la

GnRH es secretada son determinantes para la síntesis y secreción de gonadotropinas. La señal de salida de la hipófisis es la *secreción pulsátil de LH y FSH*. En el momento en que la concentración de las hormonas ováricas, estradiol y progesterona e inhibina, sea alta, la secreción hipofisaria es inhibida por *retroalimentación negativa* (Tresguerres, 2003).

Sobre el ovario actúan las gonadotropinas, factores locales (reguladores intragonadales, como por ejemplo los factores de crecimiento similares a la insulina) y sustancias procedentes del útero (tales como las prostanglandinas) y de otros órganos (Tresguerres; 2003).

## **DESARROLLO PUBERAL**

La rata nace en un estado de inmadurez equivalente a los 150 días de gestación del humano (Ojeda y col., 1980). En estos momentos, la diferenciación

sexual del encéfalo tanto en la rata como en el humano, se produce por la presencia o ausencia de la testosterona secretada por los testículos (Dorner, 1980).

En la rata hembra desde el nacimiento hasta el inicio de la etapa prepúberal, 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 al pico preovulatorio de gonadotropinas y en los frotis vaginales se identifican células cornificadas, correspondientes a un estro (Becú-Villalobos y col., 1990).

En la rata el desarrollo de los mecanismos involucrados en la reproducción se produce en un corto lapso de cinco semanas (Becú-Villalobos y col., 1990).

Se ha propuesto una clasificación del desarrollo puberal, que toma en consideración parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los distintos componentes del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. Se ha dividido el desarrollo de la rata hembra en cuatro fases:

- ❖ **Fase neonatal** (desde el nacimiento hasta el día 7). Caracterizado por la insensibilidad de los folículos ováricos a las gonadotropinas (Peter, 1970); razón por la cual se inicia el crecimiento folicular independiente de éstas. A partir del quinto día la FSH comienza a estimular la producción de estradiol a partir de testosterona. En esta etapa la mayor parte de los estrógenos en

suero, se encuentran unidos a la  $\alpha$ -feto proteína, la cual al tener una alta afinidad por los estrógenos, impide que se unan a sus receptores y por ello se dice que son biológicamente inactivos (Raynaud, 1973). Hacia el final de esta etapa se hace evidente la respuesta esteroidogénica del ovario a las gonadotropinas (Lamprecht y col., 1976). Los valores de FSH, bajos antes del nacimiento, empiezan a aumentar y la LH sérica se mantiene baja (Dohler y Wuttke, 1974).

- ❖ **Fase infantil** (de 8 a 21 días). Este periodo se caracteriza por concentraciones muy altas de FSH (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976) lo cual es fundamental para el reclutamiento y crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad; y por la presencia de “picos” esporádicos de LH (Dohler y Wuttke, 1974; Wuttke y col., 1980). A partir del día 15 de vida disminuye la FSH y desaparecen los “picos” de LH; se empieza a detectar la inhibina en suero y la disminución de la  $\alpha$ -feto proteína. La inhibina, favorece la retroalimentación negativa del estradiol sobre las gonadotropinas (Becú-Villalobos y col., 1990).
  
- ❖ **Fase juvenil**. En este periodo la concentración de FSH ha disminuido y la de LH es baja y constante en un comienzo. La LH comienza a secretarse en forma pulsátil (Andrews y Ojeda, 1981) y hacia el final del periodo, incrementa sus valores basales (Meijs – Roelofs y col., 1983) y la amplitud de sus pulsos durante la tarde (Urbanski y Ojeda, 1983), estableciéndose un ritmo de secreción circadiano. A nivel de ovario se observa un aumento

de receptores a LH (Smith-White y Ojeda, 1981); esto aunado a el patrón de secreción de la LH se traduce en un aumento en la esteroidogénesis (Becú-Villalobos y col., 1990). El aumento gradual de la prolactina y la GH (Hormona del crecimiento) facilita la acción estimuladora de las gonadotropinas (Ojeda y col., 1980).

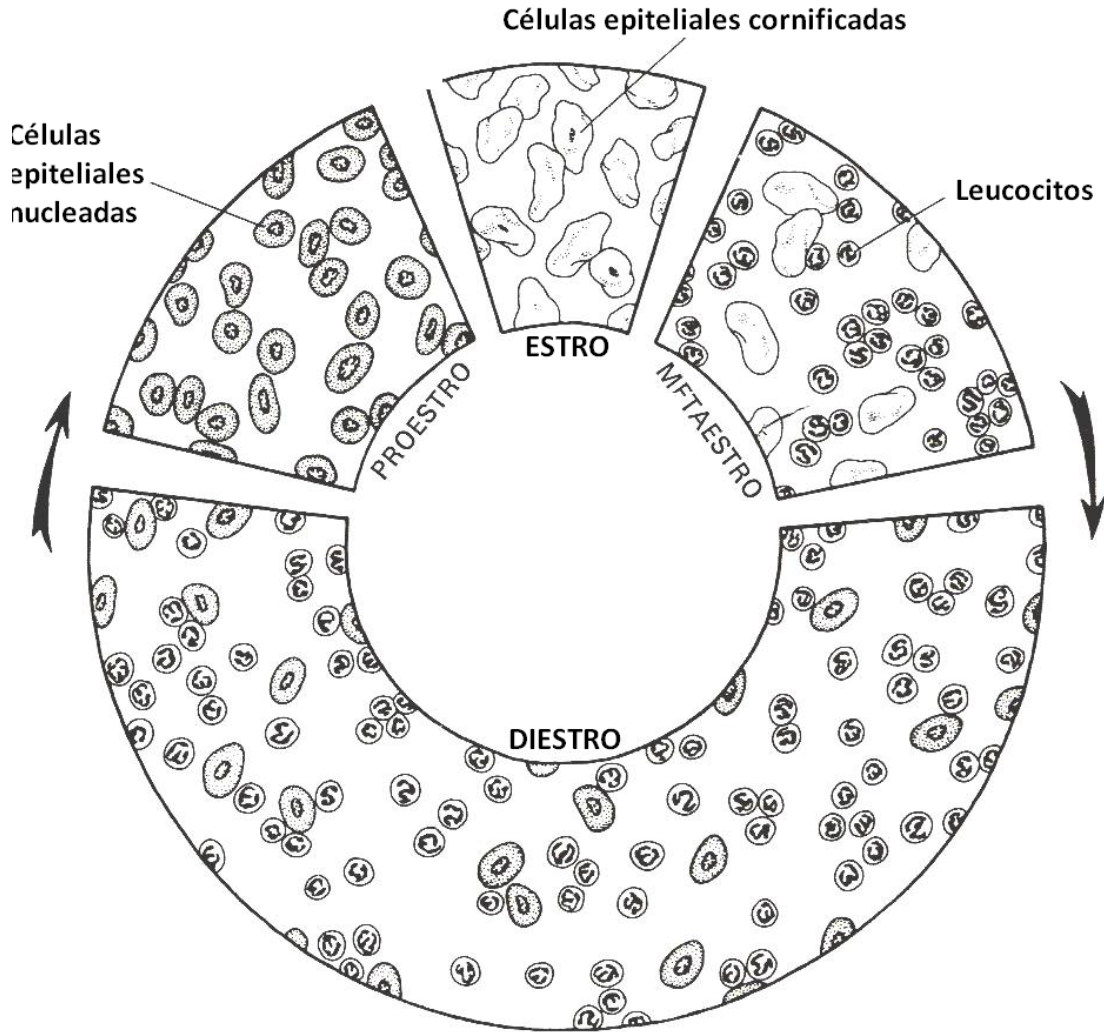
- ❖ **Fase peripuberal** (comienza alrededor de los 30 días de edad y culmina con la primera ovulación). El patrón circadiano de la secreción de la LH se establece clara y regularmente, este ritmo al igual que el de prolactina, presenta una elevación brusca en la tarde conocida como “pico” que es independiente del control esteroideo. Cuando la LH está en concentraciones altas hay una estimulación en el ovario y se produce una concentración mayor de estradiol; esta hormona ejerce una retroalimentación positiva sobre la secreción de las gonadotropinas. En el ovario hay una máxima respuesta esteroidogénica en respuesta a la presencia de un número máximo de receptores para FSH y aumentan las concentraciones de testosterona, progesterona y estradiol (esta última es la responsable de la canalización de la vagina). Las altas concentraciones de esteroides plasmáticos actúan sobre el hipotálamo y estimula la secreción de la GnRH que culmina con el “pico preovulatorio” de gonadotropinas y la primera ovulación (Becú-Villalobos y col., 1990).

## **CICLO REPRODUCTIVO**

Los ciclos sexuales de los vertebrados son extremadamente variables (Parkes, 1960; Barrington, 1963; Asdell, 1964). El ciclo estral de la rata, dura entre 4 y 5 días y es influenciado por factores exteroceptivos como la luz, la temperatura y las sustancias químicas percibidas por el sentido del olfato. Se divide en cuatro fases (Figura 10):

- **ESTRO:** En esta etapa la ovulación se hace presente, y los óvulos después de ser liberados pasan al oviducto (Hoar, 1978 b; Tresguerres 2003). El estro se encuentra bajo la influencia de los estrógenos y la progesterona (Thornton y Finn, 1999). En la mañana del estro se presenta una segunda elevación en la concentración de la FSH, debido a la disminución de la secreción ovárica de inhibina. Este aumento en la FSH va a estimular el crecimiento folicular de un nuevo grupo de folículos. La presencia de células escamosas y cornificadas en el frotis vaginal es indicativa de estro (Hoar, 1978 b).
  
- **METAESTRO:** Dura de 10 a 14 horas. La secreción de progesterona por la presencia del cuerpo lúteo y la de estradiol por parte de los folículos inhiben la secreción de gonadotropinas. Esta etapa es caracterizada por una disminución de la vascularización del útero mientras que en el frotis vaginal se aprecia infiltración de leucocitos junto con algunas células cornificadas indicando un gran adelgazamiento de la mucosa y la migración de leucocitos a través de ella (Hoar, 1978 b; Tresguerres 2003).

- **DIESTRO:** Dura de 60-70 horas. Siempre y cuando no haya habido fecundación, durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis), que se produce por la insensibilidad del cuerpo lúteo a la LH secretada por la hipófisis. Cuando hay fecundación el cuerpo lúteo estimula la secreción de prolactina (fase luteotrófica). Las células del frotis vaginal son casi en su totalidad leucocitos (Hoar, 1978 b; Tresguerres 2003).
  
- **PROESTRO:** Los folículos han adquirido el estadio de preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol. Esta hormona ejerce ahora un efecto estimulante (retroalimentación positiva) sobre la secreción de gonadotropinas. La liberación preovulatoria de la LH produce la ovulación. En la noche de esta etapa la hembra es receptiva y acepta la monta del macho. En el frotis se aprecian células nucleadas (Tresguerres, 2003).



**FIGURA 10.** Esquema que muestra las células características del frotis vaginal durante las diferentes etapas del ciclo estral de la rata (Tomado de Hoar, 1978 b).

## **SISTEMA NERVIOSO**

El sistema nervioso se divide en un sistema nervioso central compuesto de encéfalo y médula espinal, y un sistema nervioso periférico conformado de doce pares de nervios craneales que emergen del tallo cerebral y 31 pares de nervios espinales que se origina en la médula espinal. El sistema nervioso periférico consta de dos divisiones somática y autónoma. La división somática comprende las neuronas sensitivas que inervan la piel, músculos y las articulaciones. La división autónoma modula la sensibilidad visceral, así como del control motor de las vísceras, músculo liso y glándulas endocrinas (Roger, 1996).

### ***SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO***

Langley (1921) introdujo el concepto de sistema nervioso autónomo (SNA) para describir en los mamíferos, la inervación motora de los músculos lisos, del músculo cardiaco y de las glándulas. La presencia de los ganglios fue uno de los aspectos básicos de la descripción de Langley sobre este sistema. Las fibras motoras asociadas al SNA tienen sus cuerpos celulares localizados en los ganglios que se encuentran a cierta distancia del sistema nervioso central (SNC). De esta forma una FIBRA PREGANGLIONAR procedente del SNC hace sinapsis en un ganglio con la neurona POSTGANGLIONAR que esta en contacto con el órgano efector visceral (Hoar, 1978a).



El sistema nervioso central autónomo se divide en dos partes: *SIMPÁTICO* el cual participa en la respuesta del organismo al estrés; y *PARASIMPÁTICO* este conserva los recursos corporales y restablece la homeostasis. El sistema simpático se origina de la región torácico-lumbar del sistema nervioso central (T1-L3) y el parasimpático de las regiones craneal (III, VII, IX, y X) y sacra (S2, S3 y S4) (Hoar, 1978a).

Cada órgano recibe fibras simpáticas y parasimpáticas; una es excitadora mientras que la otra es inhibidora. Los efectos simpáticos están siempre mediados por la noradrenalina (NA) o adrenalina (A) (NERVIOS ADRENÉRGICOS), mientras los efectos parasimpáticos son siempre debidos a la acetilcolina (NERVIOS COLINÉRGICOS) (Hoar, 1978a; Roger, 1996).

Las cadenas de GANGLIOS PARAVERTEBRALES claramente delimitadas a cada lado de la columna vertebral son de naturaleza simpática; éstos constituyen los centros de sinapsis entre las neuronas PRE y posganglionares que inervan el iris, las glándulas salivales, las sudoríparas, los vasos sanguíneos, corazón y órganos respiratorios. El tubo digestivo, desde el estómago hasta el recto, así como los órganos genitales son inervados por las fibras simpáticas posganglionares que nacen en los GANGLIOS PREVERTEBRALES o COLATERALES (Hoar, 1978a). Las zonas preganglionares de la región parasimpática son muy largas (el nervio vago, por ejemplo) y las posganglionares muy cortas, mientras ocurre a la inversa para los componentes simpáticos (Hoar, 1978a).

## **INERVACIÓN OVÁRICA**

Las evidencias obtenidas acerca de los posibles mecanismos que regulan las funciones ováricas, apoyan la existencia de un vínculo neural directo entre las gónadas y el SNC (Gerendai y col., 1995, 2000; Morales y col., 1993, 1998, 2007); esto sumado a la regulación ejercida por las hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada.

Las glándulas endocrinas, incluyendo el ovario, son inervadas por neuronas del sistema nervioso periférico. Los ovarios de los mamíferos están inervados por neuronas simpáticas y sensoriales (con un pequeño componente parasimpático) cuyas fibras llegan a los componentes estructurales de la glándula incluidos la vasculatura (especialmente alrededor de los vasos sanguíneos, del hilio y la médula). Una parte de los nervios pasan a la corteza del ovario viajando a través del tejido intersticial y formando un plexo que rodea a los folículos en desarrollo. En estas estructuras los nervios se ubican en la teca interna y la teca externa pero no penetra la capa de las células de la granulosa ni el cuerpo lúteo (Burden ,1985; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai y Halász, 1997; Ross y col., 2005).

Los nervios ováricos surgen del ganglio celiaco, el ganglio mesentérico y del nervio esplácnico lumbar, que se originan en el ganglio que se localiza a lo largo de la aorta (Dissen y Ojeda, 1999). En la rata el ovario recibe inervación simpática de dos fuentes: (1) del plexo nervioso (PN), que viaja a lo largo de la arteria ovárica, y (2) del nervio ovárico superior (NOS) que esta asociado con el

ligamento suspensorio (Gerendai y Halász, 1997; Lawrence y Burden 1980). Estos nervios llegan al ovario por el hilio (Bergman y col., 1998).

La innervación simpática del ovario no únicamente tiene influencia en la actividad secretora del ovario sino también participa en la regulación del desarrollo folicular. Esta función es sugerida por experimentos en los cuales se trataron ratas neonatas con anticuerpos al factor de crecimiento neural, bloqueando el desarrollo de la innervación ovárica y lo que dió como resultado el enlentecimiento del desarrollo folicular, retraso en la pubertad, decremento en la secreción de estradiol y marcadas irregularidades en el ciclo estral (Burden y col., 1978; Lara y col., 1990).

La distribución de fibras simpáticas intraováricas es similar en todas las especies, pero la densidad de la red varía considerablemente entre las especies (Burden ,1985; Greiner y col., 2005). Las fibras simpáticas (NOS, plexo ovárico) son de naturaleza catecolaminérgica y peptidérgica (VIP, NPY) (Dissen y Ojeda, 1999; Ojeda y col., 1983; Parra y col., 2007).

## **NERVIO VAGO**

La información parasimpática que llega al ovario es aportada por el nervio vago (Burden y col., 1982,1983; Burden, 1985; Lawrence y col., 1980); el cual contiene diversos péptidos incluyendo somatostatina, Sustancia P, péptido intestinal vasoactivo (VIP) y gastrina (Dissen y Ojeda, 1999; Ojeda y col., 1983).

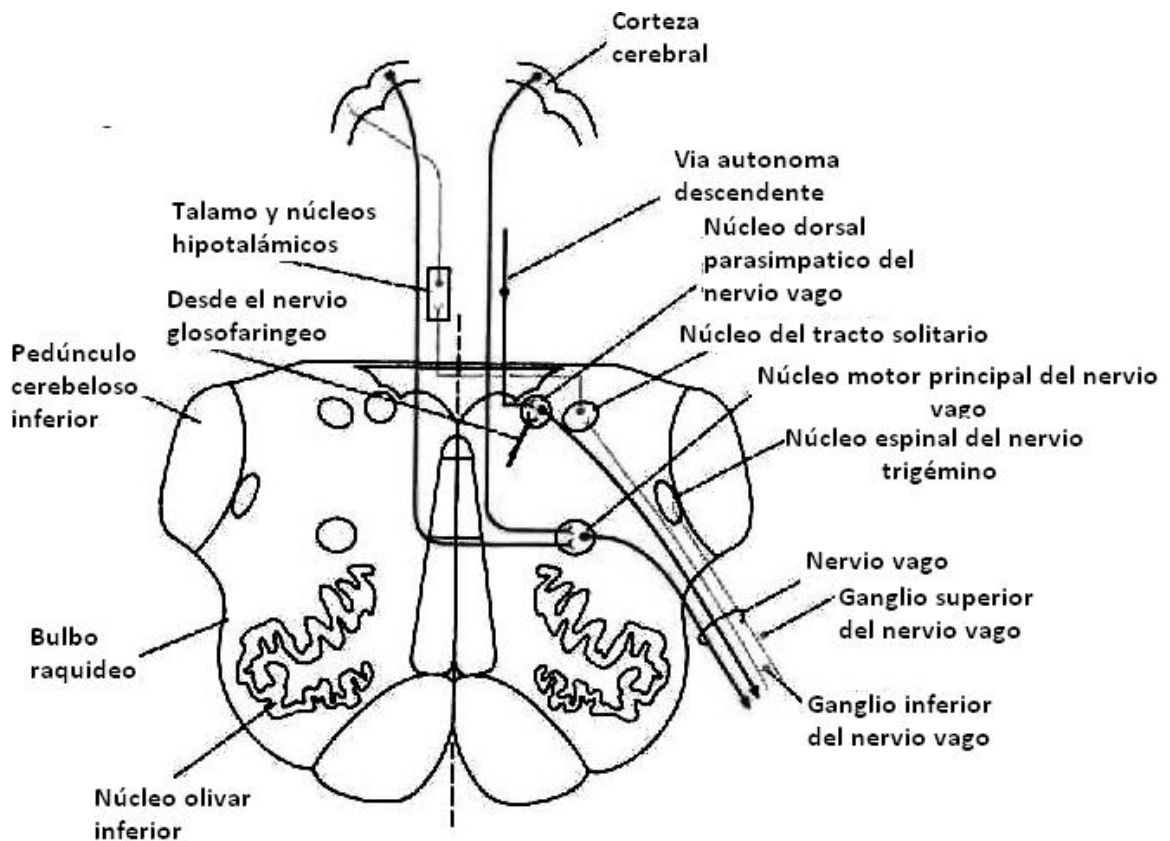
El nervio vago se origina de tres núcleos: el núcleo motor principal, el parasimpático y el sensitivo (Figura 11). El núcleo parasimpático forma el núcleo dorsal del vago y se ubica por debajo del piso de la parte inferior del cuarto ventrículo posterolateral al núcleo del nervio hipogloso. Recibe fibras aferentes desde el hipotálamo a través de las vías autónomas descendentes. También recibe otras fibras aferentes provenientes del nervio glosofaríngeo. Las fibras eferentes se distribuyen hacia la musculatura de los bronquios, el corazón, el esófago, el estómago, el intestino delgado y el intestino grueso hasta el tercio distal del colón transversal (Snell, 1999).

El nervio vago tiene por orígenes: el *núcleo ambiguo* (somatomotor); el *núcleo cardioneumoentérico* (visceromotor); el *núcleo dorsal del vago* (viscerosensitivo); la parte inferior del *núcleo del fascículo solitario* (somatosensitivo) (Bouchet y Willeret, 1978).

### **TRAYECTO DEL NERVIO VAGO**

El nervio vago abandona la superficie anterolateral de la parte superior del bulbo raquídeo como una serie de raicillas en un surco ubicado entre la oliva y el pedúnculo cerebeloso inferior (Figura 11). El nervio pasa lateralmente a través de la fosa craneana posterior y abandona el cráneo a través del agujero yugular. El nervio vago posee dos ganglios sensitivos, un **ganglio superior** redondeado ubicado sobre el nervio dentro del agujero yugular y un **ganglio inferior** cilíndrico, que se ubica sobre el nervio inmediatamente por debajo del agujero.

Por debajo del ganglio inferior la raíz craneal del nervio accesorio se une al nervio vago y se distribuye principalmente en sus ramas faríngea y laríngea recurrente. El nervio vago desciende verticalmente en el cuello dentro de la vaina carotídea con la vena yugular interna y las arterias carótida interna y común (Snell, 1999).

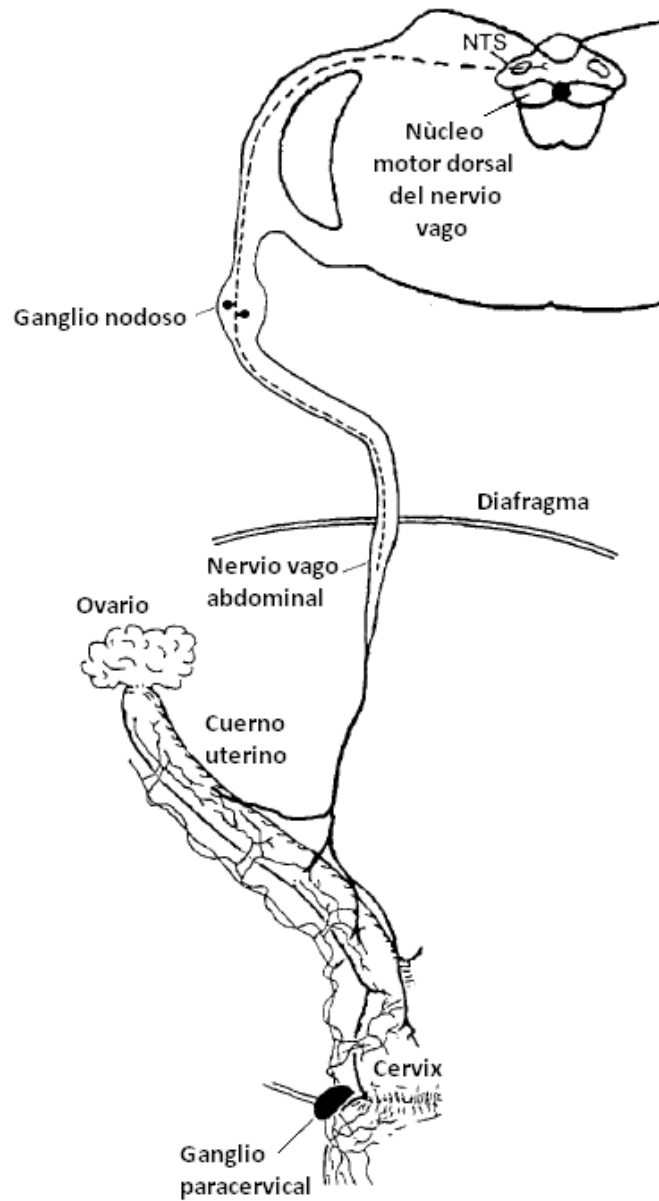


**FIGURA 11.** Núcleos del nervio vago y sus conexiones centrales (Modificado de Snell, 1999)

El **nervio vago derecho** (o posterior) ingresa en el tórax, pasa por detrás de la raíz del pulmón derecho y forma parte del plexo pulmonar, luego se dirige hacia la superficie posterior del esófago y contribuye con el plexo esofágico. Entra en el abdomen a través del orificio esofágico del diafragma. El tronco vagal posterior se distribuye en la superficie posterior del estómago y, mediante una rama celíaca grande, en el duodeno, el hígado, los riñones y los intestinos delgado y grueso hasta el tercio distal del colón transversal. Esta amplia distribución se logra mediante los plexos celíaco, mesentérico superior y renal (Snell, 1999).

El **nervio vago izquierdo** (o anterior) ingresa en el tórax, cruza el lado izquierdo del arco aórtico y desciende por detrás de la raíz del pulmón izquierdo y forma así parte del plexo pulmonar, el nervio vago desciende luego sobre la superficie anterior del esófago y contribuye con el plexo esofágico. Ingresando en el abdomen a través del orificio esofágico del diafragma. El tronco vagal anterior se divide en varias ramas, que se distribuyen en el estómago, el hígado, la parte superior del duodeno y la cabeza del páncreas (Snell, 1999). El nervio vago además proporciona inervación parasimpática al corazón, pulmones, vesícula biliar, porciones superiores de los uréteres (Ramos y col., 2001).

Collings y col. (1999), mostraron que el nervio vago funciona como un vínculo neural entre el útero y cervix con el sistema nervioso central. Gerendai y col. (2000) mostraron que el ovario también formaba parte de este recorrido neural del nervio vago (Figura 12).



**FIGURA 12.** Hemisección de la parte caudal del tallo cerebral, el ganglio nodoso, nervio vago y el posible curso que recorre este nervio hacia el ovario, útero y cervix. NTS, núcleo del tracto solitario (Modificado de Collings y col., 1999).

## **PARTICIPACION DEL NERVIO VAGO EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS**

Hill (1962) postuló que el nervio vago provee de innervación parasimpática al ovario. Observó que en la rata la vagotomía transtorácica interrumpía el ciclo estral, sin embargo esta cirugía causaba la muerte del animal poco tiempo después. Años más tarde se mostró que la vagotomía abdominal modificaba algunas funciones reproductivas y que además era una cirugía que no culminaba con la muerte del animal (Ojeda y col., 1983).

Burden y col. (1977) mostraron que en ratas preñadas la vagotomía abdominal, practicada al día 8 de gestación, causa reabsorción fetal e interrupción de la preñez; lo cual se acompaña de la disminución en la concentración de progesterona ( $P_4$ ) y LH. Años más tarde el mismo grupo de trabajo encontró que la vagotomía impedía la inducción de la pseudo preñez en respuesta a la estimulación cervical (Burden, 1981).

Burden y colaboradores (1983) utilizaron ratas hembra de la cepa Sprague-Dawley para localizar el soma de los nervios sensoriales que inervan al ovario. Para ello inyectaron un trazador retrógrado en la gónada y encontraron que las células ganglionares de la raíz dorsal de los segmentos  $T_{10}$  a  $L_2$  y células del ganglio nodoso presentan marca. Al realizar la vagotomía, el marcaje sólo llega a las células provenientes del ganglio nodoso. Este ganglio tiene proyecciones del núcleo del tracto solitario, el que junto con el núcleo hipotalámico controlan las



funciones reproductivas (Swanson and Sawchenko,1980), por lo que se propuso al nervio vago como un modulador fino de las funciones ováricas. Ojeda y col. (1983) mostraron que la vagotomía abdominal retrasa el inicio de la pubertad y reduce la secreción de hormonas esteroides.

Burden y col. (1986a) encontraron que la vagotomía abdominal realizada en el día del proestro modifica el peso ovárico, el número de folículos sanos así como la concentración de LH y FSH, por lo que postularon al nervio vago como un componente más del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En la rata adulta hemicastrada, la vagotomía abdominal bloquea la ovulación y la hipertrofia compensadora del ovario remanente, que es característico del animal hemicastrado (Burden y col., 1986b).

Cruz y col. (1986) mostraron que la sección bilateral del nervio vago en hembras previamente tratadas con gonadotropinas, modifica el número de ovocitos liberados y la población de folículos grandes. Con base en sus resultados postulan que la información que lleva el vago izquierdo esta más comprometida con el proceso ovulatorio que la que transcurre por el vago derecho. En el animal con sección del vago la capacidad del ovario para ovular depende del día del ciclo en el que se realiza la vagotomía y del nervio seccionado (Chávez y col., 1989).

En 1992 el grupo de Nakamura observaron que la vagotomía abdominal provoca un decremento significativo en el número de ovocitos liberados y en la concentración de progesterona en la mañana del estro; acompañado de un

aumento en el número de folículos atrésicos, hechos que apoyan el papel del nervio vago en la regulación de la ovulación.

En las ratas adultas, la sección del nervio vago derecho provoca un aumento brusco en la concentración plasmática de LH, mientras que la sección nervio vago izquierdo sólo se acompaña de un leve incremento. Esta respuesta desigual en la concentración de LH sugiere que el nervio vago modula de manera asimétrica la secreción de esta hormona (Gerendai y Motta, 1990).

La inyección del virus de pseudorabia en el ovario de ratas adultas tiene como resultado el marcaje de varias estructuras del SNC, marcaje que después de realizar una vagotomía desaparece, por lo que se propone que existe una ruta de comunicación entre el ovario y el hipotálamo a través el nervio vago (Gerendai y col., 2000).

La vagotomía bilateral realizada en la rata de 28 días de edad resulta en un incremento significativo del número de ovocitos liberados; la vagotomía uni o bilateral realizada a los 24 ó 28 días de edad resulta en una menor concentración de estradiol. La sección bilateral del vago a los 24 días de edad resultó en un incremento de la progesterona, efecto contrario se observó cuando el mismo procedimiento se realizó a los 28 días de edad (Morales y col., 2004).

Todos estos antecedentes muestran que la información neural que llega al ovario vía el nervio vago, participa en la regulación de diversas funciones ováricas tales como la ovulación y la secreción hormonal.

## **SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO**

El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) es el más común y menos entendido desorden endocrino y es la causa más frecuente de esterilidad anovulatoria hiperandrogénica, afecta al 5% de la población en edad reproductiva (Lara y col., 1993; Xita y col., 2002). Si bien se describió hace más de medio siglo, la causa de su aparición aún no se conoce con certeza (Yen 2001).

Se han propuesto diversos modelos experimentales en el estudio de la fisiopatología del SOPQ, los cuales incluyen la androgenización neonatal, inyección de valerato de estradiol o la exposición de los animales a luz constante (Mahesh y col., 1987).

En el humano con SOPQ y en la rata con SOPQ inducido, además de los ovarios poliquísticos, se observan generalmente concentraciones séricas normales o elevadas de LH, normal o ligeramente disminuida de FSH y por concentraciones elevadas de estrógenos y andrógenos circulantes (Schulster y col., 1984).

El SOPQ tiene una patofisiología compleja caracterizada por pérdida ovulatoria, amenorrea, hiperandrogenismo, y concentraciones variables de

gonadotropinas en circulación (Franks, 1995; Lobo, 1996; Taketani, 1990; Vaitukaitis, 1983). Una característica común es la carencia de folículos preovulatorios los cuales están reemplazados por múltiples folículos antrales atresicos. En la sangre se presenta elevación de la concentración de de estrógenos y de hormonas androgénicas y sus precursores (Barria y col., 1993; Franks, 1995; Lara y col., 2000). El síndrome frecuentemente se acompaña de obesidad, hirsutismo y en la mayoría de los casos, infertilidad (Barria y col., 1993). Se ha encontrado resistencia a la insulina e hiperinsulinemia en un 50-70% de los casos de mujeres con SOPQ. La hiperinsulinemia se ha relacionado con las altas concentraciones de andrógenos, defectos en el transporte de glucosa y la antilipólisis (Diamante-Kandarakis y Dunaif, 1996; Yen, 2001).

Las anomalías detectadas en este síndrome pueden ser atribuidos a defectos primarios en la unidad hipotálamo-hipófisis, el microambiente del ovario, la glándula adrenal y a cambios en el metabolismo (Barria y col., 1993; Lara y col. 2000).

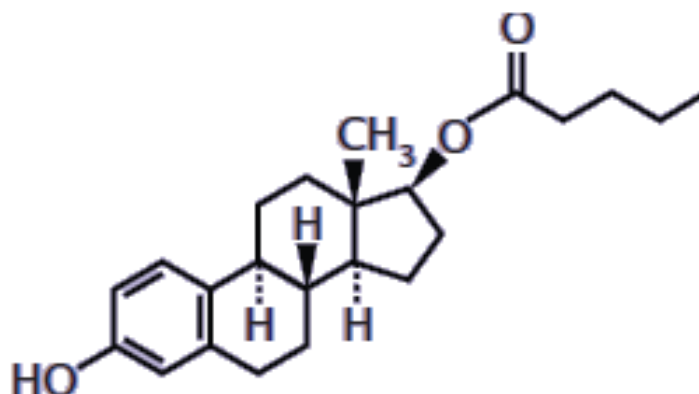
Diversos estudios postulan que el desarrollo o aparición del SOPQ está estrechamente relacionado con una activación anormal del sistema nervioso simpático. Esta posibilidad ha sido confirmada en la rata, debido a que al realizar una sección bilateral del nervio ovárico superior (una de las principales aportaciones de información simpática al ovario) hay un restablecimiento de la ciclicidad de los animales, se normaliza la concentración de LH, además de que hay evidencia de la desaparición de quistes y la aparición de cuerpos lúteos,

indicadores de que se produjo la ovulación (Barria y col., 1993; Lara y col., 2002; Rosa-E-Silva y col., 2003).

### ***SOPQ inducido con valerato de estradiol (VE)***

Los estrógenos son importantes para el desarrollo del fenotipo sexual, la morfología del sistema reproductivo y la diferenciación sexual del SNC. En la hembra de los mamíferos, estos esteroides, participan en la regulación del desarrollo del eje hipófisis-gónada, la foliculogénesis ovárica, la ovulación y la implantación (Shirwalkar y col., 2007). Puesto que el SOPQ puede ser inducido en la rata, esta especie es un buen modelo para estudiar la patofisiología del SOPQ en el humano.

El VE es una hormona esteroide cuya fórmula es (17 $\beta$ )- Estra-1, 3,5(10)-Estratrieno-3,17  $\beta$ -diol, 17-pentanoato (C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>) con un peso molecular de 356.50 (Figura 13). Es un polvo cristalino blanco que en general es inoloro pero puede tener un ligero olor a grasa; funde alrededor de 147°C. Es prácticamente insoluble en agua y escasamente soluble en aceite de ajonjolí y aceite de maíz. La duración de la acción de la suspensión del aceite es de tres semanas (Gennaro, 1998).



**FIGURA 13.** Estructura química del valerato de estradiol (Tomado de Carretero, 2004)

En el modelo del animal tratado con VE, la anatomía y fisiología del ovario se parecen a los de pacientes con SOPQ (Lara y col., 2000; Mahajan ,1988; Schulster y col., 1984).

En ratas adultas la inyección con VE induce cornificación vaginal persistente y ovarios anovulatorios poliquísticos (Brawer y col., 1978; Shirwalkar y col., 2007;). Algunos autores atribuyen este proceso al aumento en la actividad de los nervios ováricos simpáticos, que llegan al ovario vía el NOS, así como por un incremento en la síntesis de NGF (Factor de crecimiento neural). A nivel de ovario esta actividad simpática se traduce en un incremento en la expresión de NA (Lara y col., 1993; Rosa-E-Silva, 2003). Los ovarios son pequeños, con pocos o ningún cuerpo lúteo, folículos secundarios pequeños. La característica más notable es la presencia de quistes grandes, que presentan pocas capas de células de la granulosa y una gruesa capa de células de la teca (Hemmings y col., 1983).

## *JUSTIFICACIÓN*

El SOPQ es uno de los desórdenes endocrinos más comunes y estudiados pero también de los menos entendidos. Actualmente se acepta que el SOPQ se debe al incremento en la actividad de las fibras simpáticas, que llegan al ovario por el NOS. Sin embargo, la sección unilateral del NOS no restablece la ovulación en la gónada denervada y si lo hace en la intacta. Con estos resultados, nuestro grupo de trabajo ha sugerido que existe un tipo de comunicación neural entre los ovarios, la cual permite la ovulación sólo del ovario intacto, esta comunicación podría estar dada por el nervio vago, el cual se ha señalado como una vía de comunicación entre el SNC y el ovario.

Para probar nuestra idea se utilizó el modelo de la rata con SOPQ, inducido por la administración de VE en la etapa infantil, y sometida a la sección unilateral o bilateral del nervio vago en la etapa juvenil y se evaluó la respuesta ovulatoria y esteroidogénica del ovario.

## *HIPÓTESIS*

Si el papel que ejerce la innervación parasimpática es estimulante en la persistencia del SOPQ, entonces al eliminar dicha información por la sección uní o bilateral del nervio vago, las funciones ováricas se reestablecerán.



# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

Analizar en la rata adulta la participación del nervio vago en la persistencia del síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), inducido por la administración de valerato de estradiol en la etapa infantil.

## PARTICULARES

1. Estudiar en los animales con SOPQ, el efecto de la sección unilateral o bilateral del nervio vago realizada en la etapa juvenil, sobre la respuesta ovulatoria.
2. Estudiar en los animales con SOPQ, el efecto de la sección unilateral o bilateral del nervio vago realizada en la etapa juvenil, sobre la presencia o ausencia de quistes, cuerpos lúteos y folículos en las diferentes etapas de desarrollo.
3. Estudiar en los animales con SOPQ, el efecto de la sección unilateral o bilateral del nervio vago realizada en la etapa juvenil, sobre la concentración de estradiol, progesterona, LH y FSH.

## ***MATERIALES Y MÉTODOS***

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV que al momento del nacimiento (día cero) fueron sexadas y colocadas en camadas de seis crías por caja, cinco hembras y un macho, con la finalidad de evitar alteraciones en la maduración del Sistema Nervioso Central y del aparato reproductor del animal (Salas y col., 1991).

Todos los animales se mantuvieron en condiciones controladas de iluminación con 14 horas luz por 10 horas de oscuridad (luces encendidas de las 05:00 horas a las 19:00 horas), a una temperatura de  $22\pm 2^{\circ}$  C, con libre acceso a la madre hasta el día del destete (24 días de vida) y posteriormente al agua y al alimento hasta el día de la autopsia.

### ***DISEÑO EXPERIMENTAL***

Los animales fueron divididos en los siguientes grupos experimentales:

- Los animales de 10 días de edad fueron inyectados intraperitonealmente con 2.0 mg de valerato de estradiol (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo. USA) disueltos en 0.1 ml de aceite de maíz, dosis que se ha probado es capaz de inducir el Síndrome del Ovario Poliquístico (Brawer y col., 1986; Lara y col., 1993; Rosas 2006).

- Como grupos testigo se consideró a los animales inyectados a los 10 días de edad con 0.1 ml de aceite de maíz (Vh) y otro grupo de animales intactos.

## **OPERACIONES**

Todos los animales que fueron inyectados a los 10 días, al alcanzar los 24 días de edad fueron anestesiados con éter entre las 8:00 y 12:00 h y antes de realizar la cirugía se registró el peso corporal. Los animales fueron asignados al azar a alguna de las siguientes manipulaciones quirúrgicas:

### **OPERACIÓN SIMULADA (OS)**

Se realizó una incisión ventral de la piel y del músculo de aproximadamente 2 cm, a lo largo de la línea media del cuerpo y sin tocar ningún órgano; se suturó la herida.

### **SECCIÓN UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVIO VAGO**

Se procedió del mismo modo que en el caso anterior, se exteriorizó el estómago, se desplazó el hígado y se expuso el esófago. A nivel subdiafragmático se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar con pinzas de micro disección el nervio vago izquierdo (SNVI) o el derecho (SNVD) y posteriormente

se suturó la herida. En el caso de la sección bilateral del nervio vago (SBNV) se cortaron ambos nervios.

Una vez terminadas las cirugías los animales se regresaron a condiciones de bioterio.

### **AUTOPSIA**

Cuando los animales tuvieron 76 días de edad se tomaron diariamente frotis vaginales y al alcanzar los 90 días de edad y presentar un estro vaginal se registró el peso corporal y se llevó a cabo el sacrificio por decapitación.

Se colectó la sangre del tronco, se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 min. y se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min., se separó el suero del botón celular. Las muestras de suero se depositaron en tubos eppendorf y se almacenaron a -20 °C hasta el momento en que se realizó la cuantificación de progesterona, testosterona , estradiol FHS y LH.

Ya que el nervio vago inerva gran cantidad de tejidos presentes en la cavidad abdominal, se disecaron y pesaron el útero, adrenales y ovarios. Se disecaron los oviductos y en ellos se contaron los ovocitos, siguiendo la metodología habitual del laboratorio (Morales y col.1998).

### **ANALISIS HISTOLÓGICO**

Los ovarios izquierdo y derecho de cada grupo experimental fueron fijados en solución de Bouin por 24 horas, se deshidrataron en alcohol, se colocaron en

cloroformo y posteriormente se incluyeron en parafina. Se realizaron los cortes histológicos seriados de 10  $\mu\text{m}$  de grosor, que fueron teñidos con hematoxilina-eosina.

### **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES**

La cuantificación de progesterona y  $17\beta$ -estradiol se realizó por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, con un Kit Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Angeles, CA, USA) . Se adicionaron 100  $\mu\text{l}$  de muestra problema a tubos de polipropileno que contenían el anticuerpo específico anti-progesterona- $I^{125}$  y anti-estradiol- $I^{125}$  respectivamente, además de 1 ml de hormona radioactiva  $I^{125}$ . La mezcla se agitó por un minuto y se incubó durante tres horas a temperatura ambiente. Después se decantó y finalmente se determinó la concentración de hormonas en función de las cuentas por minuto y de una curva de calibración con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard <sup>TM</sup>.

La medición de FSH y LH se realizó por RIA de doble anticuerpo para lo cual a 100  $\mu\text{l}$  de muestra problema se le añadieron 100  $\mu\text{l}$  de hormona marcada con  $I^{125}$  , posteriormente se le adicionó el anticuerpo de suero de borrego para LH(rLH-RP2) o para FSH (rFSH-RP2) según fue el caso y se incubó a temperatura ambiente por 24 hrs. Después se agregaron 100  $\mu\text{l}$  del segundo anticuerpo (suero normal de conejo) y se incubaron durante dos hrs. Posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 rpm a  $-4^{\circ}\text{C}$  por 30 min., el sobrenadante fue

decantado, se sacaron las paredes de cada tubo y se colocaron, para ser analizados en el contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, Packard <sup>TM</sup>.

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

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados del peso corporal, peso relativo de los órganos (ovarios, útero, y adrenales), y las concentraciones de progesterona, estradiol, LH y FSH se analizaron por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tuckey.

Cuando se realizó la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba “t” de Student. La edad de apertura vaginal (EAV) primer estro en días posteriores a la EAV y el número de ovocitos liberados se analizaron por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney.

La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones o la de  $J_i^2$ . Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.



## RESULTADOS

*Efecto de la administración de valerato de estradiol (VE) sobre el inicio de la pubertad, la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.*

### Inicio de la pubertad

Los animales tratados con Vh mostraron un mayor peso corporal, que los animales intactos (Tabla 1).

En los animales tratados con VE se observó un adelanto en la edad de apertura y primer estro vaginal, en comparación con los animales testigo absoluto o con los tratados con Vh (Tabla 1).

**Tabla 1.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso corporal, edad de apertura vaginal (EAV) y primer estro vaginal** de animales intactos (TA), tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	No.	PC	EAV	EPE (días) ⊗
TA	19	240.8 $\pm$ 6.3	34.6	3.62 $\pm$ 0.67
Vh	18	264.6 $\pm$ 7.0 °	35.8 $\pm$ 0.5	2.11 $\pm$ 0.51
VE	15	248.9 $\pm$ 9.8	18.0 $\pm$ 0.4 *	-

\*  $p < 0.05$  vs. TA y Vh (prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

° $p < 0.05$  vs. TA (la prueba de U de Mann-Whitney)

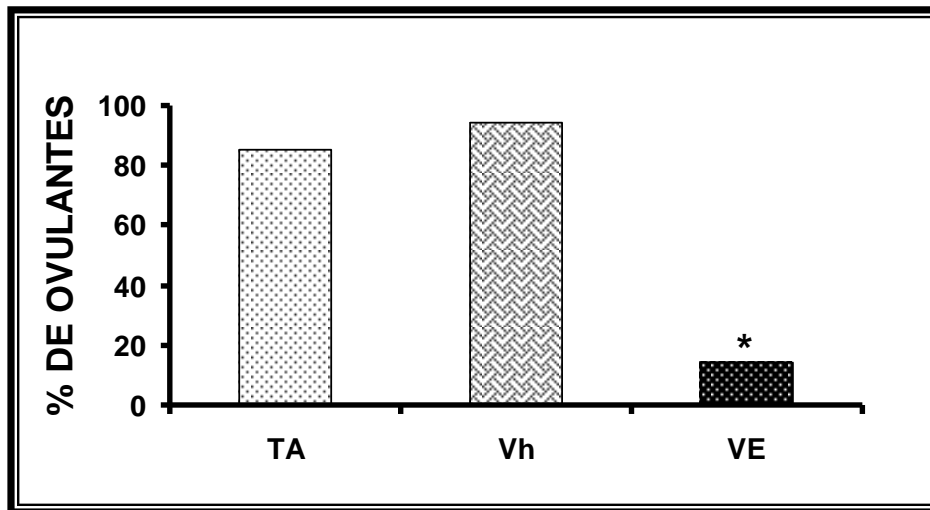
⊗ Días después a la EAV



## Respuesta ovulatoria

En los animales inyectados con VE se observó un decremento en la tasa de animales ovulantes, en comparación con los animales intactos o inyectados con Vh (Gráfica 1). La administración del Vh no modificó la cuota ovulatoria (Vh  $11.7 \pm 1.0$  vs. testigo absoluto  $10.1 \pm 1.1$ , N.S.) En grupo tratado con VE solo ovularon dos animales los cuales liberaron 1 y 8 ovocitos respectivamente.

**Gráfica 1.** Tasa de animales ovulantes de hembras intactas (TA), tratadas a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiadas a los 90 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs. TA y Vh (prueba de  $Ji^2$ )

## Pesos relativos de la masa ovárica, masa adrenal y útero

En el grupo tratado con VE se observó una disminución significativa en el peso de la masa ovárica, comparado con los animales testigo absoluto o tratados con el vehículo. La masa adrenal y del útero no se modificó por la administración del VE (Tabla 2).

**Tabla 2.** Media  $\pm$  e.e.m del **peso relativo (mg /100g de peso corporal)** de la **masa ovárica (MO)**, **masa adrenal (MA)** y **útero**, de animales intactos (TA), tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	MO	MA	Útero
TA	30.3 $\pm$ 1.0	25.1 $\pm$ 1.0	148.9 $\pm$ 5.7
Vh	29.7 $\pm$ 1.1	22.8 $\pm$ 0.8	152.8 $\pm$ 3.9
VE	22.9 $\pm$ 1.7 *	23.8 $\pm$ 1.2	154.8 $\pm$ 6.0

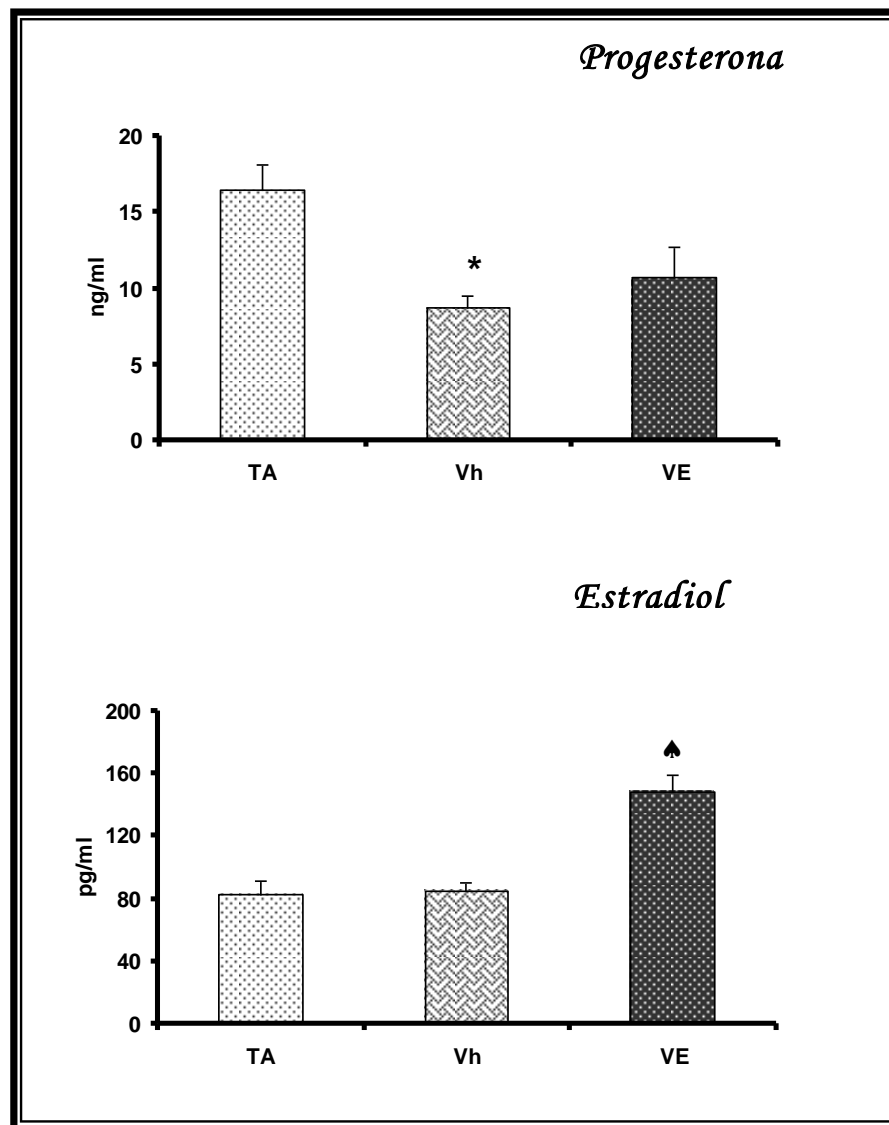
\*  $p < 0.05$  vs. TA y Vh (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

## Hormonas ováricas

La concentración sérica de **progesterona** fue menor en los animales tratados con Vh, en comparación con los animales testigo absoluto y no se modificó por el VE.

Los animales inyectados con VE mostraron una mayor concentración sérica de **estradiol** en comparación con su testigo absoluto y los animales inyectados con Vh (Gráfica 2).

**Gráfica 2.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona**, y **estradiol** en animales intactos (TA), inyectados con vehículo (Vh) ó valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.



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

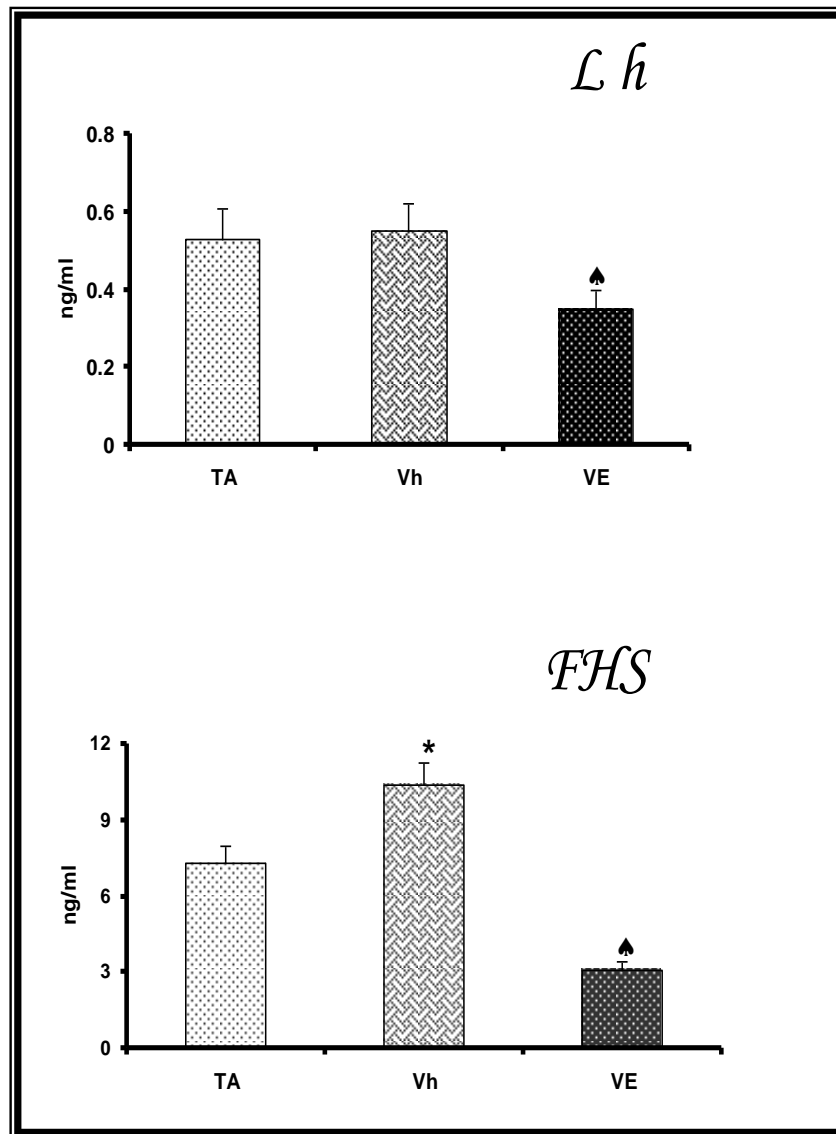
♣  $p < 0.05$  vs. TA y Vh (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

## **Gonadotropinas**

Los animales tratados con VE mostraron una menor concentración de **LH** que los animales intactos y los inyectados con Vh (Gráfica 3).

Los animales tratados con Vh mostraron un aumento significativo en la concentración de **FSH** en comparación con los animales intactos. La respuesta fue inversa en los animales inyectados con el VE (Gráfica 3).

**Gráfica 3.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** en animales intactos (TA), inyectados con vehículo (Vh) ó valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.



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

♣  $p < 0.05$  vs. TA y Vh (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

*Efecto de la OS en los animales tratados con Vh o VE sobre la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.*

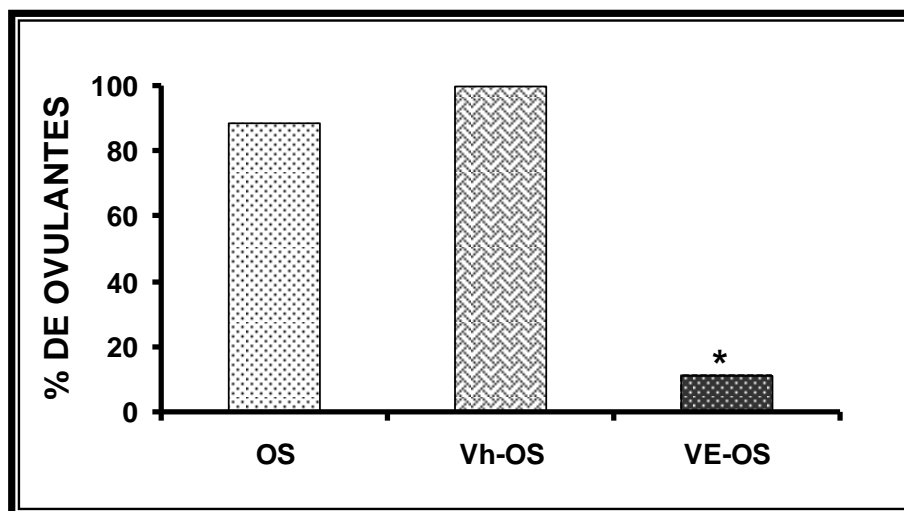
El someter a una operación simulada a los animales tratados con Vh o VE en la edad infantil, no modificó el peso corporal de los animales al llegar a la edad adulta (**Vh-OS**= 250.7±7.7; **VE-OS**= 271.3±8.0, NS.).

### **Respuesta ovulatoria**

En los animales inyectados con VE y sometidos a una operación simulada la tasa de animales ovulantes, fue menor en comparación con los animales intactos o inyectados con Vh y sometidos a la misma cirugía (Gráfica 4).

La operación simulada en los animales tratados con el vehículo no modificó la cuota ovulatoria en los animales adultos, en comparación con su grupo testigo (**Vh-OS**= 10.9±1.3 vs. **OS**= 11.8±0.5 NS). En los animales inyectados con el VE y sometidos a la operación simulada sólo ovuló un animal y liberó un ovocito por ovario.

**Gráfica 4.** Tasa de animales ovulantes de hembras intactas (TA), tratadas a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y sometidas a una operación simulada (OS) a los 24 días de edad y autopsiadas a los 90 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs. OS y Vh-OS (prueba de  $Ji^2$ )

### Pesos relativos de la masa ovárica, masa adrenal y útero

En comparación con el grupo con operación simulada, los animales tratados con Vh más la operación simulada resultó en un mayor peso de la masa ovárica y de la masa adrenal. Mientras que en las hembras inyectadas con el VE y sometidas a la operación simulada disminuyó tanto la masa ovárica como el peso del útero, sin que se modificara el peso de la masa adrenal (Tabla 3).

**Tabla 3.** Media  $\pm$  e.e.m del **peso relativo (mg /100g de peso corporal)** de la **masa ovárica (MO)**, **útero (U)**, y **masa adrenal (MA)** de animales intactos, tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE), sometidos a los 24 días de edad a una operación simulada (OS) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	MO	U	MA
OS	24.9 $\pm$ 1.2	176.2 $\pm$ 8.2	20.1 $\pm$ 0.7
Vh-OS	30.9 $\pm$ 1.7 ♥	155.8 $\pm$ 10.98	22.7 $\pm$ 0.9 ♥
VE-OS	17.3 $\pm$ 1.1 ♥ <sup>o</sup>	134.4 $\pm$ 7.6 ♥	21.7 $\pm$ 1.1

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

<sup>o</sup> p<0.05 vs. Vh-OS (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

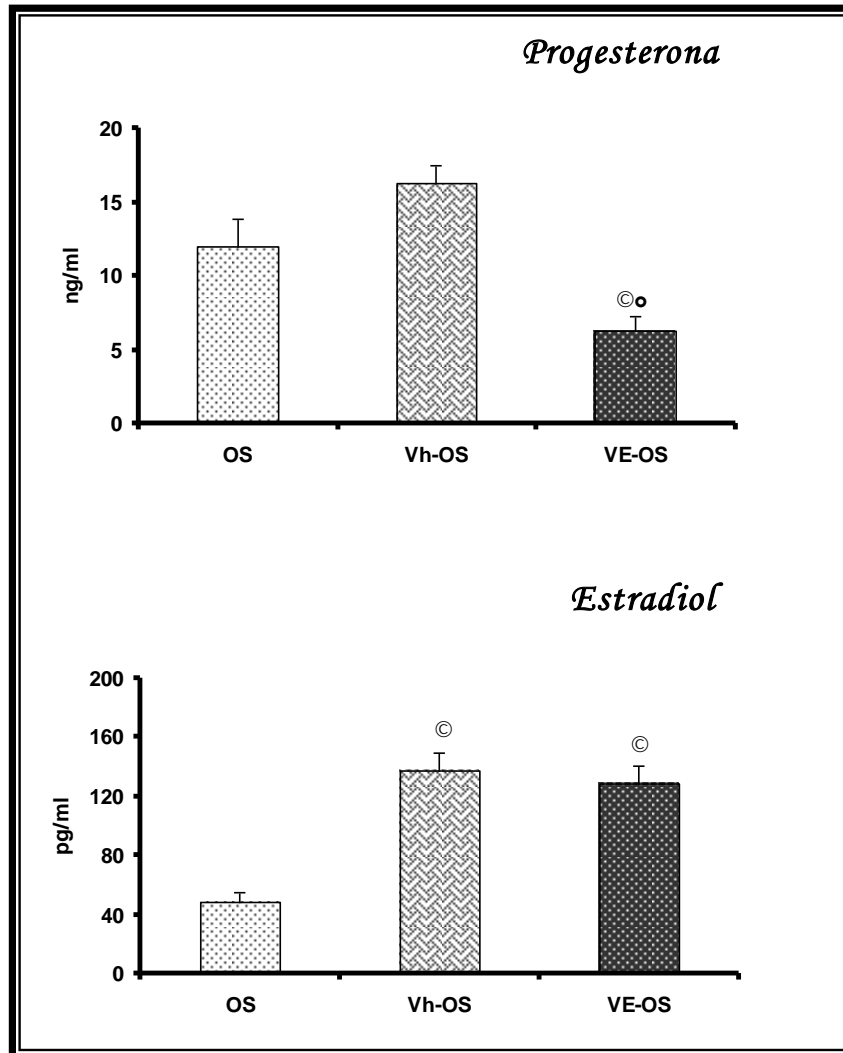
### Hormonas ováricas

La concentración sérica de **progesterona** fue menor en los animales tratados con VE y sometidos a una OS, en comparación con los animales sin tratamiento o tratados con Vh y sometidos a la misma operación (Gráfica 5).

Los animales inyectados con Vh o VE y sometidos a la operación simulada mostraron una mayor concentración sérica de **estradiol**, en comparación con los animales que sólo se sometieron a la laparotomía (Gráfica 5).



**Gráfica 5.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona** y **estradiol** en animales intactos, inyectados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad, sometidos a una operación simulada (OS) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



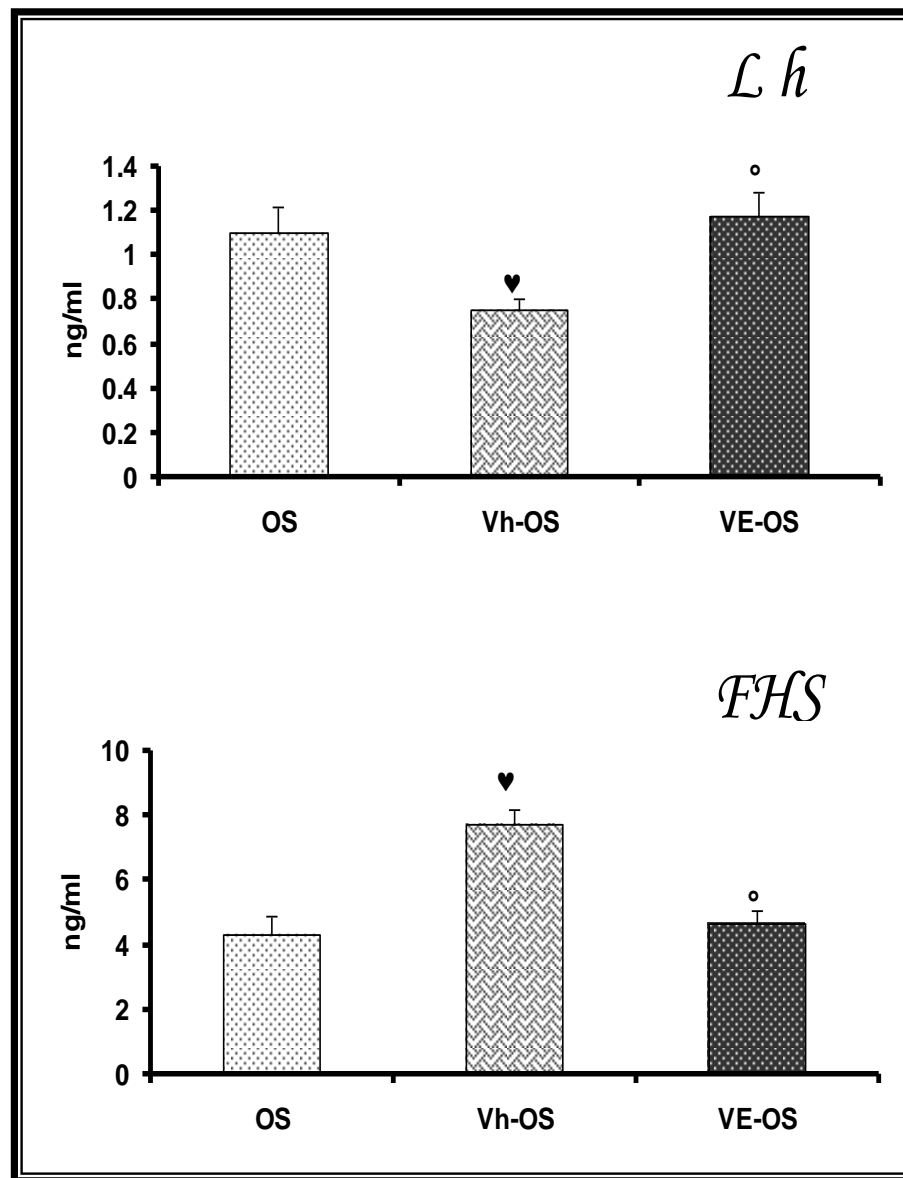
♥  $p < 0.05$  vs. la OS (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

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

## **Gonadotropinas**

La operación simulada en animales inyectados con Vh resultó en una menor concentración sérica de **LH** y una mayor de **FSH** en comparación con su grupo testigo. Al comparar los animales inyectados con VE y sometido a una operación simulada con el grupo con vehículo se observó una mayor concentración de LH, mientras que la concentración sérica de FSH fue menor (Gráfica 6).

**Gráfica 6.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** en animales intactos (TA), inyectados con vehículo (Vh) ó valerato de estradiol (VE), sometido a una operación simulada (OS) y autopsiados a los 90 días de edad.



♥  $p < 0.05$  vs. su grupo con OS (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

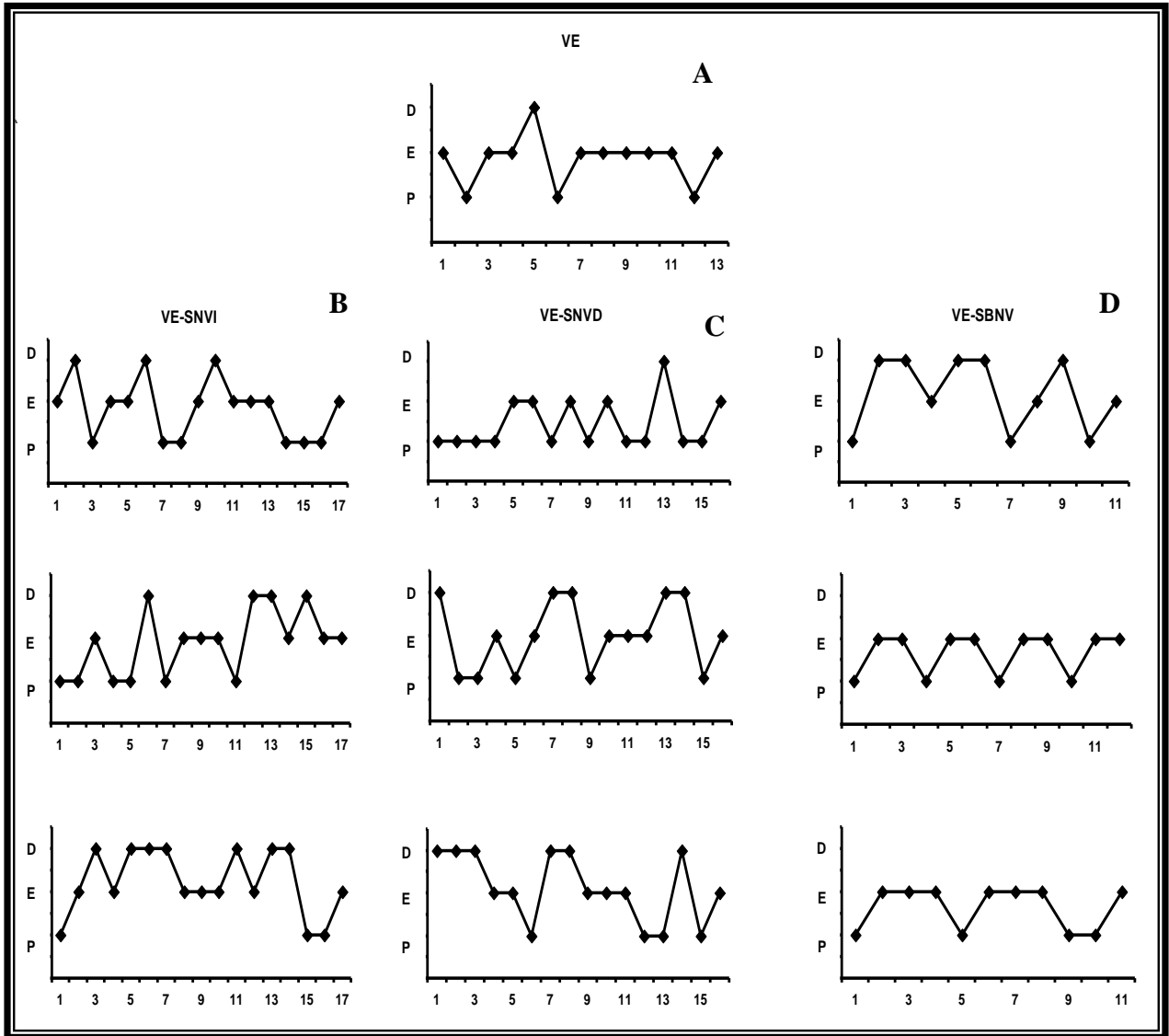
°  $p < 0.05$  vs. su grupo con Vh (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

*Efecto de la sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) en un animal con SOPQ, sobre el ciclo estral, el inicio de la pubertad, la respuesta ovulatoria y las funciones ováricas.*

**Ciclo estral**

En la gráfica 7 se representa el patrón del ciclo estral (dos semanas antes del sacrificio) de los animales tratados con VE (A), o tratados con VE y sometidos a la sección del nervio vago izquierdo (B), derecho (C) o bilateral (D). La administración de una dosis de VE resultó en un patrón de aciclicidad, mientras que los animales vagotomizados presentaron variaciones en el ciclo estral, sin que llegaran a ser completamente cíclicas.

**Gráfica 7.** Patrón representativo del **ciclo estral** de animales tratados con valerato de estradiol (VE) (A) a los 10 días de edad y sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI) (B), derecho (SNVD) (C) o bilateral (SBNV) (D) a los 24 días de edad y sacrificados a los 90 días de edad.



## Inicio de la pubertad

En las hembras con SOPQ, la sección del nervio vago izquierdo resultó en un menor peso corporal en la etapa adulta respecto al grupo vagotomizado (VE-SNVI=235.8±6.4 vs. SNVI= 263.8±4.9,  $p<0.05$ ).

En los animales inyectados con el Vh la vagotomía unilateral no modificó el peso corporal, el inicio de la pubertad ni la edad del primer estro vaginal. La sección de ambos nervios vago resultó en un adelanto de la pubertad, sin que se modificara la edad del primer estro (Tabla 4).

**Tabla 4.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso corporal**, **edad de apertura vaginal (EAV)** y **primer estro** vaginal (PEV) de animales intactos, tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	No.	PC	EAV	PEV (Días)⊗
SNVI	8	263.8±4.9	38.1±0.7	6 $\pm$ 1.6
Vh-SNVI	16	253.6±6.6	38.8±0.6	3.5 $\pm$ 0.8
SNVD	10	245.4±6.8	36±0.95	4.6 $\pm$ 0.8
Vh-SNVD	14	261.5±7.1	34.5±1.2	4 $\pm$ 1.2
SBNV	10	245.4±7.7	37.9±0.5	3.3 $\pm$ 0.3
Vh-SBNV	11	232.5±8.5	35.4±0.7 ♥	3.6 $\pm$ 1.0

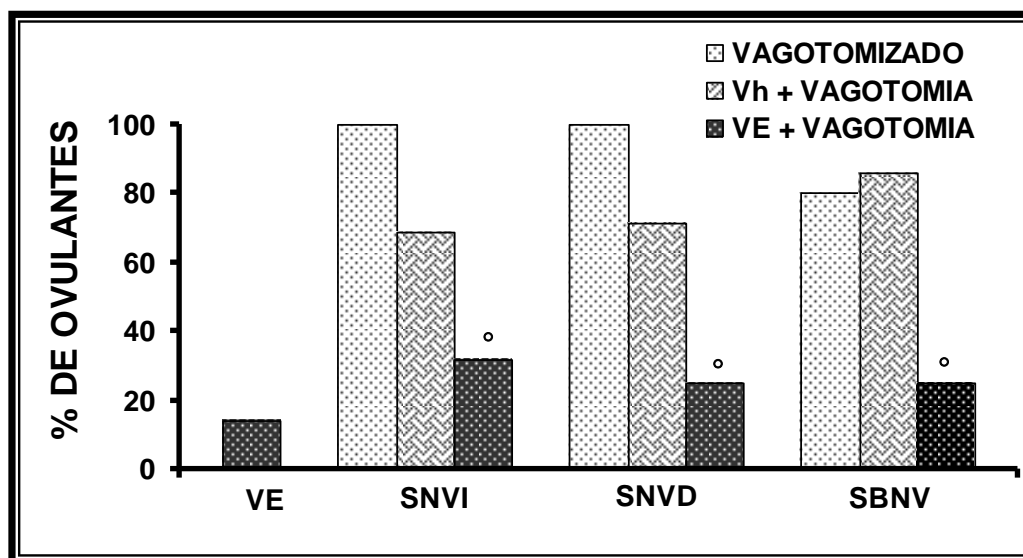
⊗ Días posteriores a la apertura vaginal

♥ $p<0.05$  vs. su grupo solo con vagotomía (prueba de U de Mann-Whitney)

## Respuesta ovulatoria

En los animales tratados con el Vh, la sección uni o bilateral de los nervio vago no modificó el porcentaje de animales ovulantes. En las hembras con SOPQ, la sección uni o bilateral del vago no modificó la tasa ovulatoria respecto al grupo tratado sólo con el VE (Gráfica 8).

**Gráfica 8.** Media  $\pm$  e.e.m de la **tasa de animales ovulantes** de hembras intactas (TA), tratadas a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y sometidas a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) a los 24 días y autopsiadas a los 90 días de edad.



<sup>o</sup>  $p < 0.05$  vs. su grupo con Vh + vagotomía (Prueba de  $J_i^2$ )

En las hembras inyectadas con el Vh la vagotomía unilateral no modificó la cuota ovulatoria, mientras que con la sección bilateral fue mayor el número de ovocitos liberados por ambos ovarios. En el grupo con el SOPQ y sección unilateral del vago la cuota ovulatoria fue semejante al grupo vagotomizado inyectado o no con el Vh, mientras que con la sección de ambos vagos el número de ovocitos totales fue menor (Tabla 5).

**Tabla 5.** Media  $\pm$  e.e.m del **número de ovocitos liberados** de animales intactos (TA), tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) y sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) a los 24 días y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	Número de ovocitos liberados por ovario		Total
	OI	OD	
Vh	5.9 $\pm$ 0.6	6.56 $\pm$ 0.96	11.76 $\pm$ 1.0
VE	(1)	(8)	(9)
SNVI	5.7 $\pm$ 1.4	6.0 $\pm$ 1.1	10.3 $\pm$ 1.0
Vh-SNVI	4.7 $\pm$ 1.4	5.4 $\pm$ 1.1	8 $\pm$ 1.5
VE-SNVI	6.40 $\pm$ 1.2	6 $\pm$ 2.2	10.5 $\pm$ 2.2
SNVD	5.9 $\pm$ 1.0	4.5 $\pm$ 0.7	8.9 $\pm$ 1.4
Vh-SNVD	4.6 $\pm$ 0.7	6.0 $\pm$ 0.7	8.5 $\pm$ 1.4
VE-SNVD	3.8 $\pm$ 0.5	5.8 $\pm$ 1.2	8.8 $\pm$ 1.9
SBNV	5.3 $\pm$ 0.8	6.0 $\pm$ 0.8	10.4 $\pm$ 0.8
Vh-SBNV	7.6 $\pm$ 0.9	6.8 $\pm$ 1.1	13.8 $\pm$ 0.8
VE-SBNV	3.8 $\pm$ 0.8 <sup>o</sup>	4.3 $\pm$ 1.2	7.0 $\pm$ 1.0 <sup>♥o</sup>

El número que aparece en ( ) indica los ovocitos liberados por el ovario de un animal.  
<sup>♥</sup>p<0.05 vs. su grupo solo con vagotomía (prueba de Kruskal-Wallis, seguida por la prueba de U de Mann-Whitney)

<sup>o</sup> p<0.05 vs. su grupo con Vh +vagotomía (prueba de U de Mann-Whitney)



En los animales con sección uni o bilateral del nervio vago que no ovularon, se analizaron los cortes histológicos en busca de cuerpos lúteos. En los cortes histológicos de los ovarios de los animales inyectados con VE se observó presencia de quistes y ausencia de folículos en desarrollo y de cuerpos lúteos. En los animales tratados con VE más la sección uni o bilateral del nervio vago se observó la presencia de cuerpos lúteos y folículos en desarrollo (Tabla 6)

**Tabla 6.** Media  $\pm$  e.e.m del número de cuerpos lúteos, presencia o ausencia de folículos en desarrollo y de quistes ováricos, de animales tratados a los 10 días de edad con valerato de estradiol (VE) y sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) a los 24 días y autopsiados a los 90 días de edad.

Tratamiento	n	Folículos en desarrollo	Cuerpos Lúteos	Quistes
VE	3	NO	NO	SI
VE-SNVI	3	SI	5.50 $\pm$ 2.04	NO
VE-SNVD	3	SI	8 $\pm$ 3.06	NO
VE-SBNV	3	SI	4.67 $\pm$ 1.33	NO

## Pesos relativos de la masa ovárica, masa adrenal y útero

La masa ovárica de los animales inyectados con el Vh, sometidos a la sección del vago derecho o de ambos nervios fue mayor que en el grupo vagotomizado. En las hembras con SOPQ, la sección uni o bilateral del vago resultó en un menor peso de la masa ovárica respecto al inyectado con Vh, pero fue semejante al grupo que sólo fue inyectado con el VE (Tabla 7).

**Tabla 7.** Media  $\pm$  e.e.m del **peso relativo (mg /100g de peso corporal)** de la **masa ovárica (MO)**, **útero (U)**, y **masa adrenal (MA)** de animales intactos, tratados a los 10 días de edad con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE), sometidos a los 24 días de edad a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) y sacrificados a los 90 días de edad.

Grupo	MO	U	MA
VE	22.94 $\pm$ 1.74	154.81 $\pm$ 5.99	23.82 $\pm$ 1.15
SNVI	27.49 $\pm$ 2.53	157.79 $\pm$ 6.56	22.21 $\pm$ 1.33
Vh-SNVI	30.50 $\pm$ 1.42	147.69 $\pm$ 9.95	25.24 $\pm$ 0.88
VE-SNVI	24.45 $\pm$ 1.73 <sup>°</sup>	160.7 $\pm$ 8.92	23.75 $\pm$ 0.68
SNVD	28.64 $\pm$ 1.16	174.39 $\pm$ 5.32	21.46 $\pm$ 0.49
Vh-SNVD	31.67 $\pm$ 1.49 ♥	177.33 $\pm$ 13.42	21.78 $\pm$ 2.01
VE-SNVD	22.98 $\pm$ 1.87 <sup>°</sup> ♥	156.37 $\pm$ 7.07	23.04 $\pm$ 1.46
SBNV	25.78 $\pm$ 0.93	165.62 $\pm$ 4.34	22.71 $\pm$ 1.10
Vh-SBNV	32.89 $\pm$ 1.84♥	187.26 $\pm$ 15.56	24.37 $\pm$ 1.39
VE-SBNV	24.28 $\pm$ 2.56 <sup>°</sup>	151.90 $\pm$ 7.19 <sup>°</sup>	24.62 $\pm$ 0.93

♥p<0.05 vs. su grupo solo con vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey )

° p<0.05 vs. su grupo con Vh +vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

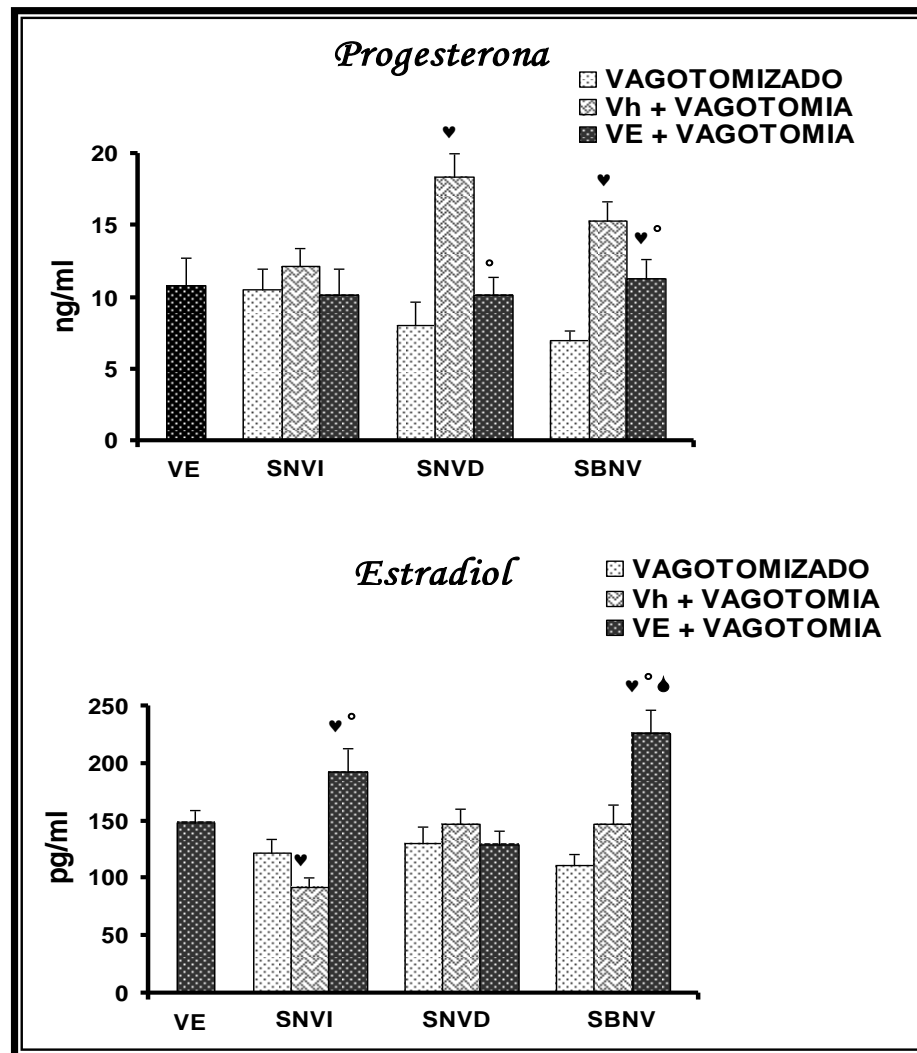
## **Hormonas ováricas**

En comparación con el grupo vagotomizado, la concentración de **progesterona** fue significativamente mayor en los animales inyectados con Vh y sometidos a la sección del nervio vago derecho o de ambos vagos. En los animales inyectados con VE, sometidos a una SNVD o SBNV la concentración de la hormona fue menor, respecto al grupo tratado con el vehículo (Gráfica 9).

En los animales inyectados con Vh y sección del vago izquierdo se observó una concentración menor de **estradiol** respecto al grupo vagotomizado. La sección derecha o de ambos vagos no la modificó (Gráfica 9).

En las hembras con SOPQ y sección del vago izquierdo o de ambos vagos la concentración de estradiol fue mayor en comparación con el grupo inyectado con el Vh o sólo vagotomizado. La mayor concentración de estradiol se observó en el grupo con SOPQ y vagotomía bilateral (Gráfica 9).

**Gráfica 9.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **progesterona**, y **estradiol** en animales intactos , inyectados con vehículo (Vh) ó valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad , sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



♦  $p < 0.05$  vs. VE (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)  
 ♥  $p < 0.05$  vs. su grupo solo con vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la de Tukey)  
 °  $p < 0.05$  vs. su grupo con Vh+ vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la de Tukey)

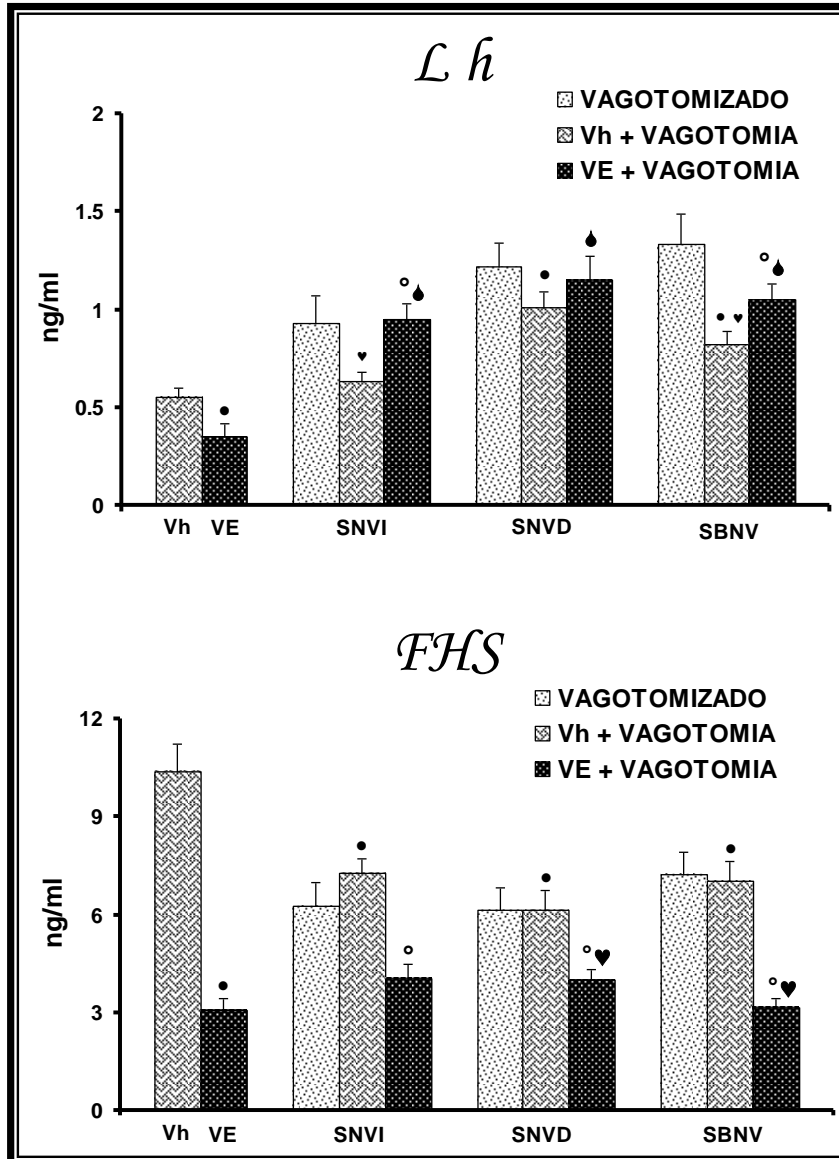
## **Gonadotropinas**

La administración de VE disminuyó la concentración sérica de LH y FSH en comparación con el grupo inyectado con Vh. En los animales inyectados con Vh más vagotomía derecha o bilateral mostraron aumento en la concentración de LH en comparación con los animales inyectados con Vh, efecto contrario se observó en la concentración de FSH (Gráfica 10).

En las ratas tratadas con Vh y sometidas a la vagotomía izquierda o bilateral mostraron una menor concentración sérica de **LH** en comparación con los animales sólo vagotomizados. En las hembras con SOPQ y con vagotomía uni o bilateral se observó una mayor concentración de LH comparado con el grupo con VE o Vh (Gráfica 10).

En las hembras tratadas con Vh y vagotomizadas la concentración sérica de **FSH** fue semejante a los animales denervados. Las ratas con SOPQ y sometidas a la sección uni o bilateral del vago mostraron una concentración menor de la hormona, comparadas con los grupos con Vh o sólo vagotomizadas (Gráfica 10).

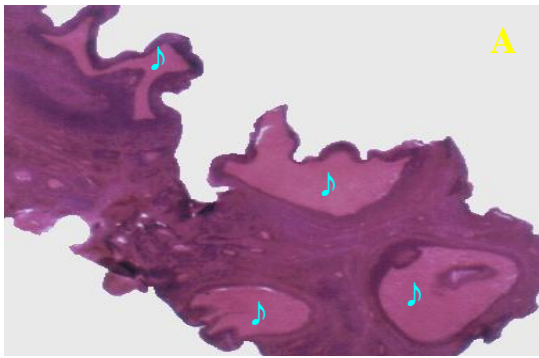
**Gráfica 10.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** en animales intactos, inyectados con vehículo (Vh) ó valerato de estradiol (VE) a los 10 días de edad , sometidos a una sección del nervio vago izquierdo (SNVI), derecho (SNVD) o bilateral (SBNV) a los 24 días de edad y autopsiados a los 90 días de edad.



- ◆  $p < 0.05$  vs. VE (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)
- $p < 0.05$  vs. Vh (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)
- ♥  $p < 0.05$  vs. su grupo solo con vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)
- $p < 0.05$  vs. su grupo con Vh + vagotomía (prueba de ANDEVA seguida por la prueba de Tukey)

## Histología ovárica

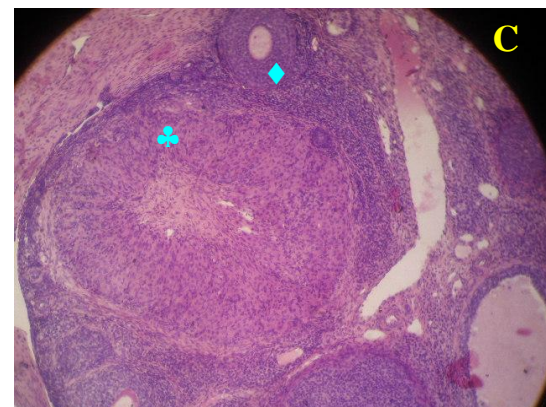
El análisis histológico del ovario de los animales que fueron tratados con VE reveló la presencia de quistes foliculares (Figura 13). En las microfotografías de los animales con SOPQ y sometidos a la sección uni o bilateral del nervio vago se pudieron observar folículos en diferentes estadios de desarrollo y cuerpos lúteos (Figura 13: B-F).

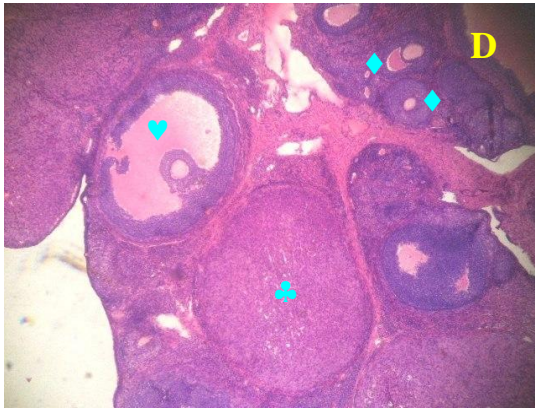


**Figura 13 A.** Microfotografía del ovario de un animal inyectado con **VE** a los 10 días y autopsiado a los 90 días de edad, donde se observa la formación de varios quistes foliculares (').

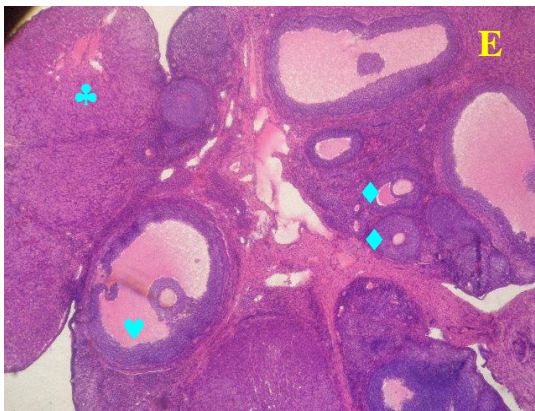


**Figura 13. B,C.** Microfotografías del ovario de un animal inyectado con **VE** a los 10 días, sometido a una sección del nervio vago izquierdo (**SNVI**) y autopsiado a los 90 días de edad, donde se observa la presencia de un folículo secundario(♦), de Graft (♥) y un cuerpo lúteo (♣).

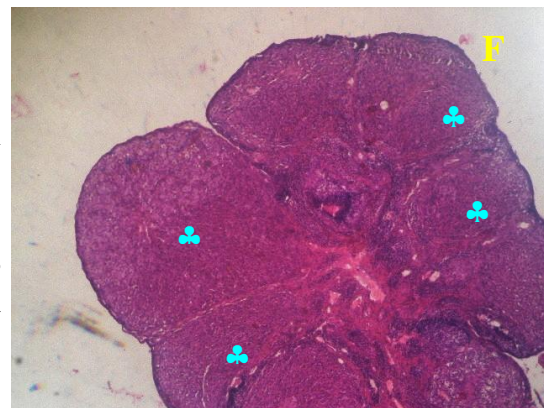




**Figura 13. D, E.** Fotografías del ovario de un animal inyectado con VE a los 10 días, sometido a una sección del nervio vago derecho (SNVD) y autopsiado a los 90 días de edad, donde se observa la presencia de folículos secundarios (♦) , de Graft (♥) y cuerpos lúteos (♣).



**Figura 13. F.** Fotografía del ovario de un animal inyectado con VE a los 10 días, sometido a una sección bilateral del nervio vago (SBNV) y autopsiado a los 90 días de edad, donde se observa la presencia varios cuerpos lúteos (♣).





## *DISCUSIÓN*

La administración de una dosis de valerato de estradiol (VE) resulta en la aparición de quistes ováricos, falta de ovulación y la pérdida del ciclo estral. La sección uni o bilateral del nervio vago resultó en la desaparición de quistes foliculares, un aumento en la concentración de estradiol y LH. Los resultados del presente estudio muestran que la información neural que transcurre por el nervio vago modula de manera estimulante la persistencia del síndrome del ovario poliquístico, ya que la sección uni o bilateral del nervio restablece la ovulación.

La administración de una dosis de VE en la etapa infantil resultó en adelanto del inicio de la pubertad y ausencia de ovulación, tal y como ya lo habíamos mostrado (Rosas 2006). Estos resultados coinciden con lo reportado por el grupo de Rosa-E-Silva (2003), quienes explican el adelanto de la pubertad en respuesta a la alta concentración de estrógenos presente en estos animales, ya que es bien aceptado que la canalización de la vagina es el resultado de la acción directa de los estrógenos sobre el tejido vaginal (Ojeda y col., 1990). Así mismo, en las ratas hembras prepúberes la administración de un andrógeno aromatizable, como la dehidroepiandrosterona (DHA), induce pubertad precoz. Los autores sugieren que esto se debe a la acción de los estrógenos en el epitelio vaginal, ya que si después se le adiciona un anticuerpo al estradiol, o un inhibidor de la 3 $\beta$ -hidroxiesteroidehidrogenasa, no se produce una pubertad precoz (Arata y col., 1981).

Se ha sugerido que el SOPQ no sólo es el resultado de una alteración hormonal del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, sino que la inervación extrínseca de la gónada podría ser un elemento más a considerar (Barria y col., 1993; Lara y col., 2002; Morales y col., 2007; Rosa-E-Silva y col., 2003). En el síndrome se produce una hiperactividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario, vía el nervio ovárico superior (NOS), en respuesta a un incremento en la concentración del factor de crecimiento neural (Dissen y col., 2000; Lara y col., 2000).

En la rata prepúber o adulta, a las cuales se les induce el SOPQ por la administración de VE, la sección bilateral del NOS restablece la ovulación, el ciclo estral y las concentraciones séricas de hormonas esteroides (Barria y col., 1993; Linares 2006; Rosa-E-Silva y col., 2003). Sin embargo, en estudios previos de nuestro laboratorio mostramos que con la sección unilateral del NOS, se restablece el ciclo estral y la ovulación sólo por parte del ovario inervado. Estos resultados nos permitieron plantear que la respuesta por parte de la gónada inervada, podría estar dada por una vía de comunicación diferente a la del NOS. Dado que el nervio vago es una vía de comunicación entre el SNC y los ovarios (Burden y col., 1983; Gerendai y col., 2000, 2002), postulamos que la vía podría establecerse por este nervio.

En la rata hembra, el nervio vago participa en la regulación del inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1983), la foliculogénesis (Burden y col. 1986a) la ovulación( Burden y col.,1986b; Cruz y col., 1986; Chávez y col., 1989; Nakamura y col., 1992;Morales y col.,2004), el ciclo estral (Chávez y col., 1989), la

hipertrofia compensadora (Burden y col., 1977; Morales y col., 2007), la preñez (Burden y col.,1977, 1981), la secreción de hormonas ováricas (Ojeda y col.,1983; Burden y col.1977; Nakamura y col.,1992; Morales, 2004) y de las gonadotropinas ( Burden y col., 1977,1986a ). Sin embargo, no se conoce su participación en el modelo del animal con SOPQ.

El estudio histológico de los ovarios de los animales no ovulantes con SOPQ y sección uni o bilateral del vago, reveló la presencia de cuerpos lúteos y de folículos en diferentes estadios de crecimiento. La información neural que transcurre vía el nervio vago modula de manera inhibitoria la ovulación, y además este efecto es simétrico para los ovarios. A diferencia de lo que pasa cuando se realiza la sección del NOS, donde se presenta una respuesta asimétrica y el restablecimiento de la ovulación es sólo por parte del ovario inervado (Linares, 2006). En nuestro modelo, la ovulación podría explicarse por el aumento en la concentración sérica de LH, lo que nos permite indicar que en SOPQ el nervio vago podría estar inhibiendo el pico de LH. Previamente se reportó que en la rata sin el síndrome, el nervio vago participa en la regulación de la secreción de LH (Leonard y col., 1984). Los resultados del presente estudio proporcionan evidencias de que el SOPQ es un fenómeno multifactorial, donde no sólo habría que considerar la inervación simpática aportada por el NOS, si no también la que aporta el nervio vago.

En la rata sin el SOPQ, la información vagal participa en la regulación del crecimiento folicular. Cruz y col. (1986), mostraron que la vagotomía bilateral

seguida por la administración secuencial de gonadotropinas resulta en un número mayor de folículos grandes. El 85% de las fibras del nervio vago son de naturaleza sensorial (Agostoni y col., 1957) y aún cuando no se conoce con exactitud la ubicación de estas fibras dentro del ovario, el grupo de Calka (1988) mostró por estudios de inmunohistoquímica que la inervación sensorial se encuentra presente en la periferia de los folículos en crecimiento y a nivel del tejido intersticial. Así, nuestros resultados nos permiten postular que la información neural que llega al ovario por el nervio vago, modula de manera estimulante la formación de los quistes ováricos y el enlentecimiento del crecimiento folicular.

Tanto en la mujer con SOPQ, como en los roedores a los que se les induce experimentalmente tal síndrome, el ovario produce altas concentraciones de ciertos esteroides. Por lo que en este síndrome, la falta de ovulación ha sido explicada por el aumento en la concentración plasmática de estradiol, el cual ejerce un feed-back negativo sobre la secreción de gonadotropinas (Barria y col., 1993 Rosa-E-Silva y col., 2003; Rosas, 2006).

En el presente estudio, en los animales tratados con el VE y sometidos a una sección bilateral del vago, la concentración de estradiol fue más alta en un 50 % respecto a un animal tratado con VE. A pesar del incremento en la concentración sérica de estradiol, en nuestros animales se observó la presencia de cuerpos lúteos, indicadores de que se produjo la ovulación. Evidencias que nos llevan a postular que la ovulación no sólo depende de la concentración de

estradiol, sino también de la información que llega al ovario vía el nervio vago, donde nuestros resultados indican que éste nervio modula de manera inhibitoria la secreción de estradiol. Ojeda y col., (1983), mostraron que en la rata prepúber, la vagotomía bilateral inhibe la secreción de estradiol, y proponen que la falta de inervación vagal podría estar inhibiendo la acción de la aromatasa. En el animal con SOPQ, la información neural aportada por el nervio vago, podría estar actuando de manera inhibitoria la acción de esta enzima.

La alta concentración de estradiol en los animales con SOPQ, se traduce en aciclicidad; condición que puede ser revertida con la sección bilateral del NOS (Barria y col. 1993; Linares, 2006). Los autores proponen que el restablecimiento del ciclo estral se produce en respuesta a que se normaliza la concentración de estradiol.

En las hembras con SOPQ, la sección uni o bilateral del nervio vago en la etapa infantil, no restableció el patrón de ciclicidad, sin embargo, los animales ya no presentaron períodos largos de estro. Al parecer, tanto en el animal con o sin el síndrome la vagotomía interrumpe el ciclo estral (Chávez y col., 1989). Estos resultados difieren a lo que se ha reportado cuando se realiza la sección bilateral del NOS (Barria y col., 1983). Es posible que en el presente estudio no se haya restablecido el ciclo estral por las altas concentraciones de estradiol y la modificación en la secreción de las gonadotropinas. Se ha indicado que los estrógenos actúan en conjunto con las gonadotropinas en la regulación del ciclo estral. En la rata, el hámster y la vaca el número de receptores hipofisarios a la

GnRH es baja en el estro y en el metaestro, aumenta gradualmente en el diestro y alcanzan las concentraciones más altas en la tarde del proestro. Después de la elevación preovulatoria de la LH el número de receptores decrece (Prieto y Velázquez, 2002).

Baravalle y col., (2007) muestran que en el animal con SOPQ la concentración de LH es menor a la que se presenta en el día del proestro. En nuestros animales inyectados con VE, la disminución en la concentración de gonadotropinas podría ser explicada por la acción de los estrógenos a nivel central. Así, la disminución en la concentración sérica de FSH podría ser la responsable del escaso desarrollo folicular que se observa en animal con SOPQ, en tanto que la caída en la concentración de LH explicaría la falta de ovulación.

Ya ha sido planteado que en el animal adulto el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de LH, ya que la vagotomía bilateral resulta en una disminución de esta gonadotropina (Leonard y col., 1984; Allen y col., 1985). Esta respuesta se presenta también en el animal con ovariectomía unilateral. Burden y col. (1977) utilizaron el modelo del animal hemicastrado y mostraron que la sección bilateral del nervio vago resulta en una disminución en la secreción de LH y FSH. Estos resultados les permitieron postular que el nervio vago modula de manera estimulante la secreción de gonadotropinas.

En el modelo del animal con SOPQ, la información que transcurre por el nervio vago modula de manera inhibitoria a dos niveles; en la hipófisis sobre la secreción de LH y en el ovario en la respuesta del folículo a la gonadotropina. Esto explica por una parte el aumento de la LH en los animales vagotomizados y por otra el que éstos hayan sido capaces de liberar el ovocito.

Estudios previos han mostrado que en respuesta a la administración del VE se produce un menor peso de los ovarios, que representa aproximadamente el 50% de la masa ovárica de un animal testigo (Farookhi, 1985). En los animales tratados a los 10 días de edad con VE y evaluados en la etapa adulta se observó una menor masa ovárica, en comparación con su grupo testigo. Esta disminución podría ser explicada por la ausencia de cuerpos lúteos (evidenciada por la ausencia de ovulación) así como por disminución del estroma ovárico y la presencia de quistes foliculares, tal y como ya ha sido descrito (Barria y col., 1993; Brawer y col., 1978). Dado que en estos animales se produce un menor crecimiento folicular sugerimos que la disminución en el peso de los ovarios se debe a un decremento en la concentración de gonadotropinas circulantes a causa de la administración del VE. La bibliografía disponible señala que en respuesta a la administración del VE se produce un aumento en la concentración de estradiol, disminución en la LH y puede o no modificarse la de FSH (Rosa-E-Silva y col., 2003; Brawer y col., 1986).

En los animales con SOPQ la operación simulada resultó en una disminución de la masa ovárica, aún mayor que la que se produce por la sola administración del VE (Brawer y col., 1986; Barria y col., 1993; Yen, 2001), un aumento en la concentración sérica de LH y disminución de FSH además de que estos animales no presentan ovulación. La respuesta observada en los animales con operación simulada puede ser atribuida al estrés crónico a que fueron sometidos los animales por la laparotomía. Se ha postulado que la respuesta de las gonadotropinas al estrés es bifásica. El estrés agudo provoca un aumento en la secreción de gonadotropinas, mientras que el estrés crónico prolongado provoca el efecto inverso en la concentración de dichas hormonas (Martín, 1993). Es importante señalar que a pesar del incremento en la concentración de LH, este estímulo no fue suficiente para reestablecer la capacidad ovulatoria en un animal con SOPQ.

Son varios los componentes que influyen para determinar el peso del ovario, tales como el estroma, el compartimiento folicular y el luteal, así como la cantidad de agua que presenta el órgano. Esto dificulta el poder atribuir el aumento o disminución del tejido a una sola de las variables. Tal es el caso del presente estudio, en donde observamos que los animales tratados con VE no cuentan con el compartimiento luteal, mientras que en las hembras con SOPQ y vagotomizadas presentan cuerpos lúteos, sin embargo el peso de los ovarios fue similar entre estos dos grupos. Al momento no tenemos una explicación a este hecho.



Existe controversia si el SOPQ resulta en una alteración en la secreción de progesterona. Para algunos autores no se modifica (Rosa-E-Silva y col., 2003; Barria y col., 2003; Rosas, 2006) y para otros es mayor (Stener-Victorini y col., 2005). En el presente estudio la administración de VE en la etapa infantil, no modificó la concentración de progesterona cuando los animales llegaron a la etapa adulta. Cuando además a los animales se les somete a una operación simulada, la concentración de esta hormona disminuye, lo cual atribuimos al efecto de manipular alguna vía neural al momento de realizar la incisión de piel y músculo. Barco y colaboradores (2003) plantean que existe una vía nerviosa entre el peritoneo y las adrenales, esta posibilidad podría ayudarnos a explicar la disminución en la concentración de progesterona.

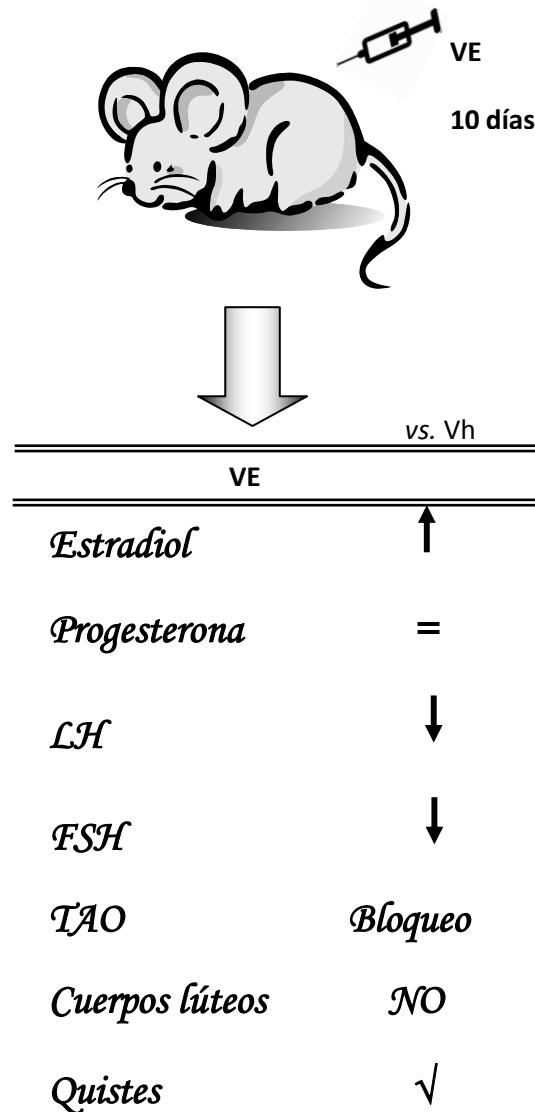
Rabin y col. (1990), señalan que en respuesta al estrés se produce la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, lo que se vincula con la supresión del eje reproductivo. El estrés se traduce en un aumento en la concentración de glucocorticoides, los cuales suprimen la liberación de GnRH y de gonadotropinas e inhiben la liberación de estradiol y testosterona por el ovario. En el presente trabajo no se descarta la posibilidad de que en los animales con SOPQ y sometidos a una operación simulada, los glucocorticoides también afecten de manera inhibitoria la secreción de progesterona.

El útero es un tejido blanco de la acción de los estrógenos (Rabin y col., 1990), este órgano presenta receptores del tipo  $\alpha$  y  $\beta$  los cuales varían en función del estado fisiológico del animal (Chávez-Genaro y col., 2002). La


inyección de estradiol aumenta el peso del útero de manera dosis-dependiente. Sin embargo, en nuestros animales la administración de VE, un estrógeno de larga duración (Williams y col., 1996), no modificó el peso del útero. Es posible que esto se deba a que la evaluación la realizamos hasta la etapa adulta, cuando ya han transcurrido poco más de 80 días de haber administrado el fármaco. Cuando a los animales tratados con el VE además se les practica una operación simulada, el peso del órgano disminuyó, aún cuando la concentración de estradiol fue alta. Esto podría indicar que en el animal con SOPQ y laparotomía disminuyó la sensibilidad del útero a los estrógenos. No podemos descartar el efecto del estrés, Rabin y col (1990) mostraron que los glucocorticoides inhiben el crecimiento uterino estimulado por la administración de estradiol. Ellos administraron dexametasona y estradiol durante 5 días, y observaron que la sola administración de estrógenos producía un aumento significativo sobre el peso del útero, efecto que era inhibido por la administración de dexametasona (agonista del cortisol).

Tomados en conjunto, los resultados del presente estudio permiten sugerir que la información neural que llega por el nervio vago, es uno más de los componentes neurales que participan en el desarrollo del SOPQ.

*RESPUESTA DEL OVARIO A LA ADMINISTRACIÓN DEL VALERATO DE ESTRADIOL*

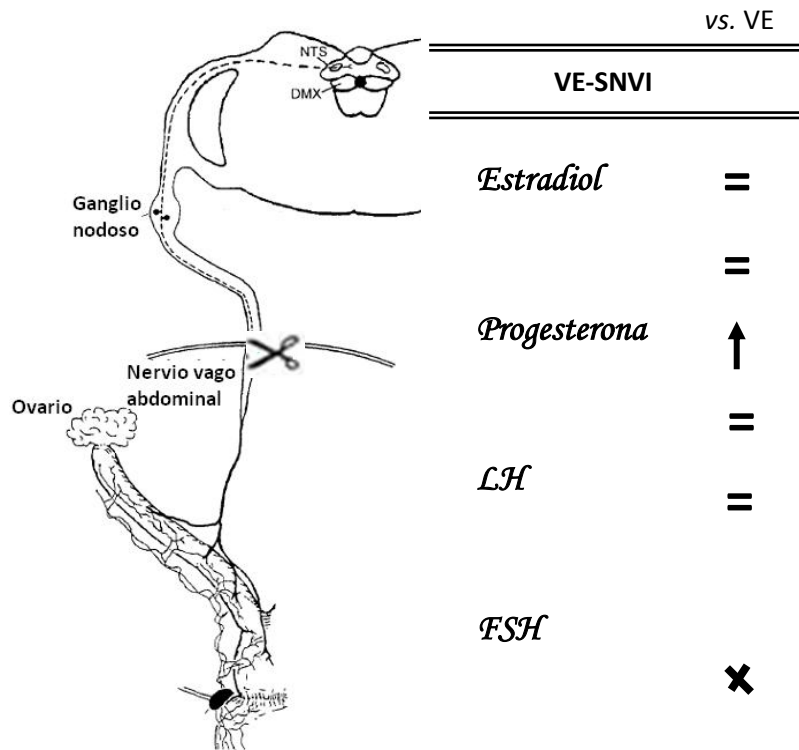


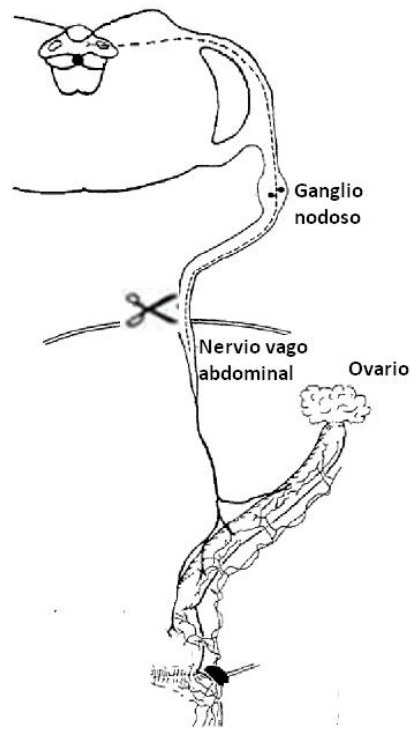
En los ovarios de un animal con SOPQ se pueden observar la presencia de quistes ováricos y ausencia de cuerpos lúteos, así como concentraciones anormales de hormonas ováricas y gonadotropinas (Esquema 1).

En el esquema 2 y 3 se muestra las dos ramas que conforman el nervio vago. El tronco izquierdo se ramifica y proyecta sus fibras hacia el tronco derecho, mientras que las fibras del tronco derecho son ipsilaterales. Las secciones del nervio vago se practicaron a nivel subdiafragmático, este punto es representado por unas 

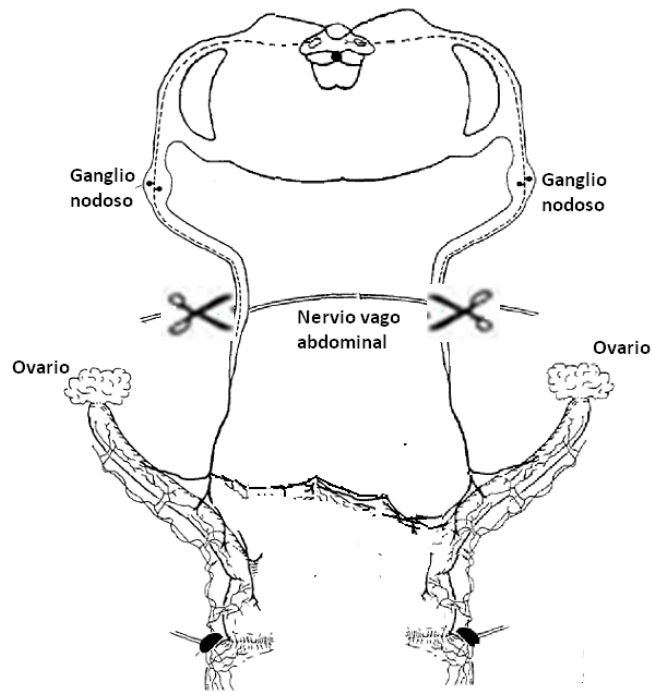
Las ramas del nervio vago salen del ganglio nodoso y se dirigen al ovario. En el animal con SOPQ, inducido por la administración de VE, la sección uni o bilateral del nervio vago facilita la ovulación, aún cuando las concentraciones de hormonas esteroideas son similares al animal sin denervación (Esquema 2 y 3).

*POSIBLE PARTICIPACIÓN DEL NERVI VAGO EN EL SOPQ*





vs. VE	
VE-SNVD	
<i>Estradiol</i>	=
	=
<i>Progesterona</i>	↑
	=
<i>LH</i>	=
	=
<i>FSH</i>	×



vs. VE

VE-SBNV	
<i>Estradiol</i>	↑
<i>Progesterona</i>	=
<i>LH</i>	↑
<i>FSH</i>	=
<i>TAO</i>	=
<i>Cuerpos lúteos</i>	√
<i>Quistes</i>	NO

## CONCLUSIONES

- ❖ En la rata la inervación parasimpática, aportada por el nervio vago, estimula la persistencia del SOPQ.
- ❖ En un animal con o sin el SOPQ, la información aportada por el nervio vago modula la secreción de las gonadotropinas.
- ❖ La sección uni o bilateral del vago es capaz de reestablecer la capacidad ovulatoria en un animal con SOPQ.
- ❖ En la hembra con SOPQ la información del nervio vago inhibe el desarrollo de los folículos primordiales.
- ❖ En un animal con SOPQ, el nervio vago inhibe la secreción de estradiol, y no modifica la de progesterona.



## REFERENCIAS

- ♣ **Agostoni E, Chinnock JE, De Burgh Daly M, Murray JG** (1957). *Functional and histological studies of the vagus nerve and its branches to the heart, lungs and abdominal viscera in the cat*. J. Physiol. **135**: 182-205.
  
- ♣ **Allen LG, Lawrence Jr, Burden HW, Hodson CA** (1985). *Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats*. J. Reprod. Fert. **74**: 87-94.
  
- ♣ **Andrews, WW, Ojeda SR** (1981) *A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty*. Endocrinology, **109**: 2032-2039.
  
- ♣ **Arata de BG, Bishop W, Rojas FJ** (1981). *El inicio de la pubertad en la rata hembra*. Acta Cient. Venezolana. **32**: 457-462.
  
- ♣ **Asdell SA** (1964). *Patterns of mammalian reproduction*. 2<sup>nd</sup> ed. Comstock, Ithaca, New York, 670 p.
  
- ♣ **Baravalle C, Salvetti NR, Mira GA, Lorente JA, Ortega HH** (2007). *The Role of ACTH in the Pathogenesis of Polycystic Ovarian Syndrome in Rats: Hormonal Profiles and Ovarian Morphology*. Physiological Research. **56**: 67-78.

- ♣ **Barco AI, Flores A, Chavira R, Damián-Matsumura P, Domínguez R, Cruz ME** (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in situ* ovary. *Endocrine*. **21**: 209-215.
  
- ♣ **Barria A, Leyton V, Ojeda SR, Lara HE** (1993). *Ovarian Steroidal Response to Gonadotropins and,  $\beta$ -Adrenergic Stimulation Is Enhanced in Polycystic Ovary Syndrome: Role of Sympathetic Innervation*. *Endocrinology*. **133**: 2696-2703.
  
- ♣ **Barrington EJW** (1963). *An introduction to general and comparative endocrinology*. Clarendon Press, Oxford. 387 p.
  
- ♣ **Becú-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Libertun C** (1990). *Ontogenic studies of the neural control of adenohipophyseal hormones in the rat: gonadotropins*. *Cell Mol Neurobiol*. 473-84.
  
- ♣ **Bergman RA, Afifi AK, Heidger PM** (1998). *Sistema reproductor femenino*. Histología. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. **16**: 307-320.
  
- ♣ **Blake CA** (1999). *Gonadotropins secretion, control of*. In: *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. Volume 2.
  
- ♣ **Bouchet A, Willeret J** (1978). *Anatomía descriptiva, topográfica y funcional*. SNC. Edit. Médica Panamericana. Argentina.

- ♣ **Brawer JR, Munoz M, Farookhi R (1986).** *Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat.* Biol. Reprod. **35**: 647-655.
  
- ♣ **Brawer JR, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C (1978).** *Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat.* Endocrinology. **103**: 501-512.
  
- ♣ **Burden HW (1985).** *The adrenergic innervation of mammalian ovaries. In: Catecholamines as hormone regulators (Ben-onathan N, Bahr JM, Weiner RI, editors).* New York: Publications from Raven Press. pp 261-278.
  
- ♣ **Burden HW, Capps ML, Smith CP, Harns P, Lawrence IE (1982).** *Extrinsic sensory innervation of the rat ovary.* Fed Proc.**41**:1492.
  
- ♣ **Burden HW, Lawrence Jr, Louis TM (1977).** *The effect of abdominal vagotomy during pregnancy on ovarian prostaglandin F, plasma progesterone concentration, and ovarian  $\Delta$ -5-3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase localization.* Anat. Rec. **187**: 542-543.
  
- ♣ **Burden HW, Lawrence Jr, Louis TM, Hodson CA (1981).** *Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy.* Neuroendocrinology. **33**: 218-222.

- ♣ **Burden HW, Lawrence Jr, Smith Jr (1986 b).** *The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy.* The anatomical record. **214:** 61-66.
  
- ♣ **Burden HW, Leonard M, Smith CP, Lawrence IE (1983).** *The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat.* Anat. Rec. **207:**623–627.
  
- ♣ **Burden HW, Leonard MJ, Hodson CA, Louis TM, Lawrence IE Jr (1986a).***Effect of abdominal vagotomy at proestrus on ovarian weight, ovarian antral follicles, and serum levels of gonadotropins, estradiol, and testosterone in the rat.* **42(6):**449-55.
  
- ♣ **Burden, HW (1978).** *Ovarian innervation.* In *Vertebrate Ovary: Comparative Biology and Evolution.* pp. 615-638. Plenum, New York.
  
- ♣ **Calka J, MC Donald JK, Ojeda SR (1988).** *The innervation of the immature rat Ovary by calcitonin gene-related peptide.* Biology of reproduction **39:** 1215-1223.
  
- ♣ **Carretero CM (2004).** *Valerato de estradiol + dienogest.* OFFARM. Vol. **23:** 154-156
  
- ♣ **Chávez R, Sanchez S, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R (1989).** *Effects on oestrus cyclicity and ovulation of unilateral section on the vagus nerve performed on*

*different days of the oestrus cycle in the rat.* Journal of Endocrinology. **123**:441-444.

- ♣ **Chávez-Genaro R, Crutcher K, Viettro L, Richeri A, Coiolo N, Burnstock G, Cowen T, Brauer MM** (2002). *Differential effects of oestrogen on developing and mature uterine sympathetic nerves.* Cell Tissue Res. **308**:61–73.
  
- ♣ **Collins JJ, Lin CE, Berthoud HR, Papka RE** (1999). *Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem.* Cell Tissue Res. **295**:43-54
  
- ♣ **Cruz ME, Chávez R, Domínguez R** (1986). *Ovulation, follicular growth and ovarian reactivity to exogenous gonadotropins in adult rats with unilateral or bilateral section of the vagi nerves.* La Rev. Invest. Clin. **38**: 167-171.
  
- ♣ **Diamante-Kandarakis E, Dunaif A** (1996). *New perspectives in polycystic ovary syndrome.* Trends Endocrinology Metab. **7**:267-271.
  
- ♣ **Díaz CBN** (2004). *Bioquímica básica de las hormonas esteroideas: Biología y clínica del cáncer.* Biocancer. **2**: 1-22.
  
- ♣ **Dissen G, Paredes A, Romero C, Dess WL, Ojeda S** (2004). *Neural and neurotrophic control of ovarian development.* In: The ovary (Leung PCK, Adashi EY). Elsevier. Chapter 1.

- ♣ **Dissen GA, Lara HE, Leyton V, Paredes A, Hill DF, Costa ME, Martinez-Serrano A , Ojeda SR (2000).** *Intraovarian excess of nerve growth factor increases androgen secretion and disrupts estrous cyclicity in the rat.* Endocrinology. **141**: 1073-1082.
  
- ♣ **Dissen GA, Ojeda S (1999):** *Ovarian Innervation.* In: *Encyclopedia of reproduction.* Vol. **3**:583-589.
  
- ♣ **Dohler, KD, Wuttke W (1974).** *Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats.* Endocrinology, **94**: 1003-1008.
  
- ♣ **Dominguez, R, Cruz E, Chávez R (1991).** *La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico.* En: *Tópicos selectos en Biología de La reproducción.* UNAM. Coordinación de la investigación científica. Programa universitario de investigación en salud. Pág. 7
  
- ♣ **Dorner G (1980).** *Sexual differentiation of the brain.* Vitants Horm. **38**:325-334.
  
- ♣ **Etgen MA (1999).** *Progesterone actions on behavior.* In: *Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press. New York. Volume **4.** 1-5.
  
- ♣ **Farookhi R, Hemmings R, Brawer R (1985).** *Unilateral ovariectomy restores ovulatory.* Biol. Reprod. **32**:530-40.

- ♣ **Fawcett B** (1990). *Tratado de Histología*. Interamericana. España.
  
- ♣ **Franks S** (1995). *Polycystic ovary syndrome*. N Engl. J. Med. **333**:853-861.
  
- ♣ **Freeman** (1994). *The neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat*.  
En: *The Physiology of reproduction*, 2a Edition. Edit. Raven Press. New York.  
Chapter 46
  
- ♣ **Gennaro AR** (1998). Remington. Farmacia. 19ª Edición. Tomo 2. Editorial  
Médica Panamericana. Argentina. Pp. 1647.
  
- ♣ **Gerendai I, Csaba ZS, Voko Z, Csernus V** (1995). *Involvement of a direct neural  
mechanism in the control of gonadal functions*. J. Steroid Biochem Mol Biol.  
53:299–305.
  
- ♣ **Gerendai I, Halász B** (1997). *Neuroendocrine Asymmetry*. *Frontiers In  
Neuroendocrinology*. **18**:354–381
  
- ♣ **Gerendai I, Kocsis K, Halász B** (2002). *Supraspinal Connections of the Ovary:  
Structural and Functional Aspects*. *Microscopy research and technique*  
**59**:474–483
  
- ♣ **Gerendai I, Motta M** (1990). *Effect of unilateral vagotomy on serum  
gonadotropin concentration in rats with two testes and in hemicastrates*.  
*Endocrinol Exp*. **24**: 325–332.

- ♣ **Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B** (2000). *CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function*. Journal Autonomic Nervous System. **80**:40–45.
  
- ♣ **Goldfien A, Monroe SE** (1998). “*Ovarios*”. En: Greenspan FS, Strewler GJ. (Eds.) *Endocrinología Básica y Clínica*. 4a edición. Editorial El Manual Moderno. México D.F. Pág. 13.
  
- ♣ **Greiner M, Paredes A, Araya V, Lara HE** (2005). *Role of Stress and Sympathetic Innervation in the Development of Polycystic Ovary Syndrome*. Endocrine **3**:319-324
  
- ♣ **Hemmings R, Farookhi R, Brawer JR** (1983). Pituitary and ovarian responses to luteinizing hormone releasing hormone in rat with polycystic ovary. Biol. Reprod **29**: 239-48.
  
- ♣ **Hernández ER** (2001). *Foliculogénesis. Maduración in vivo e in vitro de ovocitos*. Revista iberoamericana de fertilidad. Vol. **18** - nº 4. Julio-Agosto
  
- ♣ **Hill RT** (1962). *Paradoxical effects of ovarian secretions*. In the Ovary, vol. 2. S. Zuckerman, ed. Academic Press, New York, pp. 231-261.
  
- ♣ **Hoar WS** (1978 a). *Fisiología General y Comparada*. Edit. Omega. Barcelona.



- ♣ **Hoar WS** (1978 b). *Manual de Laboratorio para Fisiología General y Comparada*. Edit. Omega. Barcelona. 1978
  
- ♣ **Lamprecht SA, Kohen F, Ausher J, Zor U, Lindner HR** (1976). *Hormonal stimulation of estradiol- 17 $\beta$  release from the rat ovary during early postnatal development*. J. Endocr. **68**: 343-344.
  
- ♣ **Langley JN** (1921). *The autonomic nervous system*. Heffer, Cambridge. 80 p.
  
- ♣ **Lara HE, Dissen GA, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler JL, Ojeda SR** (2000). *An increased intraovarian synthesis of the nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat*. Endocrinology, **141**: 1059-1072.
  
- ♣ **Lara HE, Dorfman M, Venegas M, Luza SM, Luna SL, Mayerhofer A** (2002). *Changes in sympathetic nerve activity of the mammalian ovary during a normal estrous cycle and in polycystic ovary syndrome: Studies on norepinephrine release*. Microscopy research and technique. **59**: 495-502.
  
- ♣ **Lara HE, Ferruz JL, Luza S, Bustamante DA, Borges Y, Ojeda SR** (1993). *Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome*. Endocrinology. **133**:2690-2695.

- ♣ **Lara HE, McDonald JK, Ahmed CE, Ojeda SR (1990).** *Guanethidine mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats.* Endocrinology 127:2199-2209
  
- ♣ **Lawrence IE, Burden HW (1980).** *The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary.* Anat Rec **196**: 51-59.
  
- ♣ **Leonard MJ, Smith CP, Hodson CA, Louis TM, Lawrence JR, Allen LG, Burden HW (1984).** *The effect of vagotomy on ovarian follicular development.* Anat. Rec. **208**: 471-472.
  
- ♣ **Levine JE (1999).** *GnRH pulse generator.* En: Encyclopedia of Reproduction. Academic Press. Volumen **2**: 479-483.
  
- ♣ **Linares CR (2006).** *Participación del nervio ovárico superior en el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico. La rata como modelo de estudio.* Tesis de licenciatura. UNAM. FES Zaragoza.
  
- ♣ **Lindzey J, Korach KS (1999).** *Estrogen action on the female reproductive tract.* In: Encyclopedia of reproduction. Vol. **2**: 79-86
  
- ♣ **Lobo RA (1996).** *A unifying concept for polycystic ovary syndrome.* In: Chang RJ (ed) Polycystic ovary syndrome. Springer, New York, pp 334-352.
  
- ♣ **Mackinnon PC, Mattock JM, Haar MBT (1976).** *Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the*

- effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. J. Endocr., 70:361-371*
- ♣ **Mahajan DK** (1988). *Polycystic ovarian disease: animal models. Endocrinol Metab Clin North Am. 17(4):705-32.*
  - ♣ **Mahesh VB, Mills TM, Bagnell CA, Conway BA** (1987). Animal models for study of polycystic ovaries and ovarian atresia. *Adv Exp Med Biol. 219: 237-257.*
  - ♣ **Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR** (1992). *Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat. Cell and Tissue Research, 270: 87-93.*
  - ♣ **Martín VMI** (1993). *Respuesta de las gonadotropinas el estrés: papel de las catecolaminas, la CRH y los opioides endógenos. Tesis de doctorado. Universidad complutense de Madrid.*
  - ♣ **Meijs - Roelofs, HMA, Kramer P, Sander HJ** (1983). *Changes in serum concentrations of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty. J. Endocr., 98: 241-249*
  - ♣ **Morales LL, Betanzos GR, Domínguez CR** (2004). *Unilateral or Bilateral Vagotomy Performed on Prepubertal Rats at Puberty Onset of Female Rat Deregulates Ovarian Function. Archives of Medical Research. 35: 279–283*

- ♣ **Morales LL, Chávez R, Ayala ME, Domínguez R**(1998). *Effects of the unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats, on the ovulatory response to gonadotrophins administration.* J Endocrinol. **158**:213–219.
  
- ♣ **Morales LL, Chávez R, Domínguez R** (1993). *Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat. Differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve.* Méd. Sci. Res. **21**:15–17.
  
- ♣ **Morales LL, Linares R, Rosas G, Chavira R y Domínguez R** (2007). *Respuesta asimétrica del ovario poliquístico a la sección unilateral del nervio ovárico superior.* AIBIR .XXXII Reunión anual.
  
- ♣ **Nakamura Y, Kato H, Terranova PF** (1992). *Abdominal vagotomy decreased the number of ova shed and serum progesterone levels in estrus in the cyclic hamster.* Endocrinol. Jpn. **39**: 141–145.
  
- ♣ **Ojeda SR, Andrews WW, Advis JP, White SS** (1980). *Recent advances in the endocrinology of puberty.* Endocrine Rev., **1**:228-257.
  
- ♣ **Ojeda SR, While SS, Advis JP, Andrews WW, Aguado LI.** *First preovulatory gonadotropin surge in the rodent.* Tomado de: Grumbach MM, Sizokenso PC, Aubert ML (1990). *Control of the onset of puberty.* Edit. Williams and Wilkins.USA.

- ♣ **Ojeda, S.R., Smith WS, Aguado LI, Advis JP, and Andersen JM (1983).** *Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat.* *Neuroendocrinology*. **36**: 261-267.
  
- ♣ **Paolucci M, Custodia N, Callard PI (1999)** *Estrogen effects and receptors, subavian species.* In: *Encyclopedia of Reproduction.* Academic Press. New York. Volume **3**.87-92
  
- ♣ **Parkers AS (1960).** *Marshall's physiology of reproduction.* 3 rd ed. Vol. 1(2) .Longmans, Green and Co. London. 877p.
  
- ♣ **Parra C, Fiedler J, Luna LM, Padmanabhan V, 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.* *Reproduction and fertility*, **133**: 147-154.
  
- ♣ **Peluffo M (2002).** *Efectos de gonadotropinas y un análogo de la hormona liberadora.* Tesina de licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de Belgrano, Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
  
- ♣ **Peter H (1970).** *Some aspects of early follicular development.* En: *Ovarian Follicular Development and function.* Midgley, A.R., Sadler, W.A., Eds. (Raven Prees, Nueva York), pp. 1-3

- ♣ **Prieto GB, Velázquez PM** (2002). *Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. Monografía.* Rev. Fac. Med. UNAM. **45**: 252-257
  
- ♣ **Rabin DS, Johnson EO, Brandon DD, Liapi C, Chrousos GP** (1990). *Glucocorticoids inhibit estradiol-mediated uterine growth: Possible role of the uterine estradiol receptor.* Biology of reproduction. **42**:74-80
  
- ♣ **Ramos M, Rovira C, Umfuhrer L, Urbina E** (2001). *Sistema Nervioso Autónomo.* Revista de Posgrado de la Cátedra VI Medicina. **101**: 1-7
  
- ♣ **Raynaud JP** (1973). *Influence of rat estradiol binding plasma protein (EBP) on uterotrophic activity.* Steroids, **21**: 249-258
  
- ♣ **Roger C** (1996). *Anatomía Humana Funcional.* 2da reimpresión. México. D.F. Edit. Limusa.
  
- ♣ **Rosa-E-Silva A, Guimaraes MA, Padmanabhan V, Lara H** (2003). *Prepubertal administration of estradiol valerate disrupts cyclicity and leads to cystic ovarian morphology during adult life in the rat. Role of sympathetic innervation.* Endocrinology. **144**: 4289-4297.
  
- ♣ **Rosales TAM, Guzmán SG** (2008). *Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. Revisión. Téc. Pecu. Méx.* **46** : 159-182

- ♣ **Rosas GG** (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.
  
- ♣ **Ross MH, Gordon IK, Wojciech P** (2005). *Histología: Texto y atlas color con biología celular y molecular*. 4ª ed. 1ª reimp. Medica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
  
- ♣ **Salas M, Torrero C, Pulido S, Perez H** (1991). *Acciones neurotrópicas de las hormonas tiroideas durante La ontogenia neúral*. En: *Ontogenia neúral, aspectos corporativos y mecanismos de regulación*. 177-198
  
- ♣ **Schulster A, Farookhi R, Brawer JR** (1984). *Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: spontaneous changes in characteristic endocrine features*. *Biol. Reprod.* **31**:587–593
  
- ♣ **Sharma, RK** (2000). *Follicular atresia in goat: A review*. *Indian Journal of Animal Sciences.* **70**: 1035-1046
  
- ♣ **Shirwalkar H, Deepak N, Maitra A** (2007). *Exposure of adults to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles*. *Molecular and Cellular Endocrinology.* **272**: 22-37.
  
- ♣ **Smith-White S, Ojeda SR** (1981). *Changes in ovarian luteinizing (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-*

*induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the rat.* Endocrinology, **109**: 152-161

- ♣ **Snell RS** (1999). *Neuroanatomía clínica*. Edit. Médica Panamericana. España. 4a. Edición
  
- ♣ **Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson B-M and Holmäng A** (2005). *Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity.* Reproductive Biology and Endocrinology 2005, **3**:44
  
- ♣ **Swanson LW, Sawchenko PE** (1980). *Paraventricular nucleus: A site for the integration of neuroendocrine and autonomic mechanisms.* Neuroendocrinology. **31**: 410-417
  
- ♣ **Taketani Y** (1990). *Patophysiology of polycystic ovary syndrome.* Horm Res [Suppl 2] **33**:3-4.
  
- ♣ **Thornton JE, Finn PD** (1999). *Estrus.* In: Encyclopedia of Reproduction. Academic Press. New York. Volume **2**. 136 - 141.
  
- ♣ **Tresguerres JA** (2003). *Fisiología humana*. Edit. McGraw Hill, Interamericana. Madrid. 2da edición.



- ♣ **Uphose L y Maswood S** (1999). *Estrogen action, behavior*. In: Encyclopedia of Reproduction. Academic Press. New York. Volume **2**. 59 - 64.
  
- ♣ **Urbanski, HF, Ojeda, SR** (1983). *The juvenile-peripubertal transition period in the female rat: establishment of the diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion*. Endocrinology, **117**:644-649
  
- ♣ **Vaitukaitis JL** (1983): *Polycystic-ovary-syndrome-what is it?* N Engl J Med **309**:1245-1246.
  
- ♣ **Williams CL, Stancel GM** (1996). *“Estrógenos y progestágenos”*. En: Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª edición. Editorial McGraw-Hill. Interamericana. México. Sección XIII. Cap. **57**: 1497-1529
  
- ♣ **Wuttke W, Honma K, Lamberts J, Hohn KG** (1980). *The role of monoamines in female puberty*. Fed. Proc., **39**: 2378-2383,
  
- ♣ **Xita N, Georgiou I, Tsatsoulis A** (2002). *The genetic Basic of polycystic ovary syndrome*. Eue J Endocrinol, **147**: 717-725.
  
- ♣ **Yen** (2001). *Anovulación crónica causada por trastornos endocrinos periféricos*. En: Jaffe RB, Barbieri RL. Endocrinología de la reproducción. 4a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap.18