



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

REGULACIÓN DEL SÍNDROME DEL OVARIO  
POLIQUÍSTICO POR EL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR. LA  
RATA COMO MODELO DE ESTUDIO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I Ó L O G A**

P R E S E N T A

**ANDREA CHAPARRO ORTEGA**

Directora de tesis  
Dra. Leticia Morales Ledesma



México, D.F.

Junio del 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

“REGULACIÓN DEL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO  
POR EL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR. LA RATA COMO MODELO DE  
ESTUDIO”

Tesis presentada por: Andrea Chaparro Ortega

Directora de Tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

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

**Durante la realización de esta Tesis se contó con el Apoyo  
Financiero de DGAPA-PAPIIT convenio 203307**

Te doy gracias dios, por la vida, mi familia, las personas que me rodean, las personas que me formaron, por que siempre has estado a mi lado, por todas las bendiciones que me has dado y por esta meta que hoy me has permitido alcanzar. Bendito seas.  
Amén.

A mis padres Andrés y Rosa, que en todo momento han sido un gran ejemplo de vida, amor, bondad y valentía. Gracias. Que dios los bendiga.

## AGRADECIMIENTOS

---

A la *Dra. Leticia Morales Ledesma* por ser el cimiento de este trabajo, por todo su apoyo, guía, confianza, paciencia, amistad, por todas sus enseñanzas y dedicación.

A los miembros del jurado:

*M en B. E. Enrique Mendieta Márquez.*

*Dra. Leticia Morales Ledesma.*

*Dra. Patricia Rosas Saucedo.*

*Dra. María Elena Ayala Escobar.*

*Biol. Cristina Alvarado Domínguez.*

Por el tiempo dedicado para la revisión del presente estudio y por enriquecerlo con sus observaciones y comentarios.

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

A la *MVZ. Adriana Altamirano*, al *MVZ. Román Hernández* y al personal técnico del Bioterio de la FES-Zaragoza, por proporcionarnos los animales utilizados en este trabajo.

---

## DEDICATORIAS

---

A mis papás Rosa y Andrés, por que nunca habrá amor mas grande que el de un padre a su hijo y ustedes siempre lo han demostrado, a pesar de cualquier circunstancia. No importa cuanto intente el darles las gracias por absolutamente todo su apoyo y lo que me han dado, no tengo más que este humilde espacio para decirles que los amo, que este logro es también suyo y que espero nunca defraudarlos. Gracias.

A Arturo, por que a pesar de todo siempre has luchado conmigo, has sido mi apoyo en este y muchos otros sueños que hemos realizado y se, que quedan muchos otros por realizar. Este, como cada uno de nuestros logros, es fruto de un esfuerzo compartido, que espero en dios nos permita tener muchos mas, juntos, con éxito. Te amo Mous. Gracias.

A mi Hermanita, por que esta vida no seria lo mismo sin tus risas y locuras, por que me has reconfortado en los momentos más difíciles y tristes de mi vida, por la compañía y desvelos que alguna vez te hice pasar. Para ti mi chips. Te quiero.

A mi Abuelita, por la educación y principios que me inculco, por sus consejos, apoyo y por todo el cariño que siempre me ha dado. Gracias.

A la Dra. Lety, por que lo da todo por la formación académica y personal de sus alumnos, ya que nos enseña a tratar de ser mejores en todos los aspectos de nuestra vida, por que me brindo en todo momento su apoyo, cariño y amistad. Gracias por su confianza.

---

## DEDICATORIAS

---

A mis compañeros y amigos de la Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, Elizabeth, Deyra, Rosa, Gaby, Vero, Ricardo, Dan, Adriana y en especial a Pamela, Azucena, Denisse, Juan y Cipactli por que me han apoyado en todo momento y me enseñaron el verdadero valor de la amistad. Gracias.

A la Dra. Paty, por toda su ayuda, apoyo y confianza. Gracias por brindarme su amistad y cariño.

A Daniela Altamirano Rosas por facilitarme la toma y edición de imágenes utilizadas en este estudio. Gracias.

Al Profesor Ruben Zulfáran por la ayuda prestada para la realización de mi examen profesional.

A la UNAM y cada uno de mis profesores, por que me formaron e hicieron de mí una persona de bien, con valores, preparada y con el espíritu de servir lo mejor posible a la sociedad. Gracias.

---

---

---

# ÍNDICE

	Pág.
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Marco Teórico.....	5
Eje Hipotálamo-Hipófisis-Gónada.....	5
El ovario.....	6
Ovulación.....	13
Atresia folicular.....	15
Hormonas esteroides.....	16
Teoría de la doble célula.....	23
Inervación ovárica.....	24
Asimetría.....	27
Síndrome del ovario poliquístico.....	29
Planteamiento del Problema.....	34
Hipótesis.....	35
Objetivos.....	36
Material y Método.....	37
Resultados.....	43



Experimento 1. Efecto de la administración de valerato de estradiol en ratas infantiles, sobre el inicio de la pubertad, gonadotropinas, hormonas esteroides y ovulación, en la edad adulta.....43

Experimento 2. Efecto de la Hemicastración y de la Operación Simulada Unilateral en el animal juvenil con Síndrome de Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y hormonas esteroides. ....49

Experimento 3. Efecto de la Hemicastración y de la Sección contralateral del Nervio Ovárico Superior en el animal juvenil, con Síndrome de Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y de hormonas esteroides... ..57

Experimento 4. Análisis comparativo de la Operación Simulada y la Sección del Nervio Ovárico Superior, en la rata con Ovariectomía unilateral y Síndrome del Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y de hormonas esteroides.....67

Discusión.....	74
Modelo .....	81
Conclusiones .....	83
Referencias Bibliográficas.....	84

---

---

## ***R E S U M E N***

La administración de una dosis de valerato de estradiol (VE), estrógeno de larga actividad, en la etapa neo-natal, infantil o adulta resulta en secreciones anormales de gonadotropinas, altas concentraciones de estradiol y falta de ovulación. Estas son algunas de las alteraciones que caracterizan el Síndrome del Ovario Poliquístico (SOPQ). Recientemente planteamos que el SOPQ no es el resultado exclusivo de una mayor actividad de las fibras simpáticas, ya que la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) resulta en la ovulación del ovario inervado, ovario con un alto contenido de noradrenalina, y no la hace el denervado. Estos resultados nos permitieron postular que en el animal con SOPQ y sección unilateral del NOS, existe una comunicación entre los ovarios que "facilita" la ovulación por parte de la gónada inervada.

Los resultados del presente estudio, mostraron que en el animal con SOPQ la ovariectomía del lado derecho mas la sección del NOS resulta en una disminución de la concentración de progesterona ( $5.31 \pm 1.07$  vs.  $10.17 \pm 1.43$   $p < 0.05$ ) y aumento en la testosterona ( $126.45 \pm 11.26$  vs.  $73.86 \pm 6.78$   $p < 0.05$ ), en cambio, cuando se realiza la ovariectomía del lado izquierdo mas la sección del lado derecho, incrementa la concentración de estradiol ( $250.94 \pm 32.39$  vs.  $135.16 \pm 19.9$   $p < 0.05$ ), comparado con animales con SOPQ y ovariectomía izquierda o derecha mas su laparatomía contralateral.

En las hembras con SOPQ con ovariectomía unilateral y sección del NOS no se modificó la concentración sérica de LH. Sólo en las ratas con ovariectomía izquierda y sección derecha del NOS incrementó la concentración de FSH, en comparación con el grupo con operación simulada ( $11.42 \pm 1.54$  vs.  $5.02 \pm 0.69$   $p < 0.05$ ).

---

---

En las ratas con SOPQ sometidas a la ovariectomía y sección del NOS no se observó ovocitos en los oviductos.

Con base en nuestros resultados se sugiere que en nuestro modelo el NOS es una de las vías de comunicación entre las gónadas debido a que no ovularon por que se carece de la información que lleva el nervio ovárico superior.

---

---

## ***INTRODUCCIÓN***

Actualmente uno de los problemas en salud reproductiva es el síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), en el cual ocurren una serie de trastornos endócrinos y metabólicos que resultan en esterilidad.

Algunas de las características que distinguen este síndrome en la mujer se pueden obtener en el modelo de la rata tratada con valerato de estradiol (VE) tales como: alteración en la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), altas concentraciones de estradiol, aciclicidad y presencia que quistes ováricos (Lara y col., 2000; 2003; Shirwalkar y col., 2007).

En las ratas tratadas con VE la secreción ovárica contribuye a que se mantenga la condición de aciclicidad, ya que la ovariectomía unilateral restablece el ciclo estral y la ovulación por parte del ovario remanente (Farookhi y col., 1985).

A la fecha no se ha establecido el origen de la patología, se postula que se puede explicar por:

- ◆ Un defecto en el hipotálamo, que trae como consecuencia una alteración en el patrón de la secreción basal de gonadotropinas (Abdel y col., 1991).
- ◆ Daño intraovárico, en particular en las enzimas que intervienen en la aromatización de los andrógenos (Rosa-E-Silva y col., 2003).
- ◆ Una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario por el Nervio Ovárico Superior (NOS) (Barria y col., 1993; Lara y col., 1993).
- ◆ Una mayor concentración de estrógenos circulantes (Barria y col., 1993).

- 
- 
- ◆ El péptido intestinal vasoactivo (VIP) parece estimular la patología al incrementar la actividad esteroidogénica (Ruiz, 2009).
  - ◆ La existencia de una posible comunicación neural interovárica, que explicaría que en el animal con sección unilateral del NOS el ovario intacto ovule (Linares, 2006).

Para tratar de analizar si el SOPQ es el resultado de una comunicación interovárica, en el presente estudio se utilizó el modelo del animal con SOPQ y sometido a una ovariectomía unilateral y sección del NOS.

## **MARCO TEÓRICO**

### **EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA**

La reproducción de los primates depende del funcionamiento correcto e integrado de cuatro elementos, el Sistema Nervioso Central (SNC) cuyo representante principal es el hipotálamo, la adenohipófisis, las gónadas y los tejidos sensibles a las hormonas gonadales, que están vinculados entre sí por distintos mecanismos de retroalimentación (Best y Taylor, 2003).

En el hipotálamo se ubican las neuronas que sintetizan la GnRH, en las cuales actúan factores ambientales, hormonas periféricas, factores locales, neurotransmisores, etc. Las terminales nerviosas de estas neuronas desembocan en la eminencia media donde secretan la GnRH hacia los vasos portales hipotálamo-hipofisarios. Ya en la adenohipófisis, la GnRH estimula a los gonadotropos en la síntesis y liberación de las gonadotropinas [hormonas luteinizante (LH) y estimulante del folículo (FSH)] (Brown, 1994). La frecuencia y la amplitud de los pulsos con los que la GnRH son indispensables para secreción de las gonadotropinas (Tresguerres, 1999) (Figura 1).

Esta secreción hipofisiaria es regulada de manera inhibitoria (retroalimentación negativa) por las hormonas ováricas (estradiol, progesterona e inhibina) (Tresguerres, 1999).

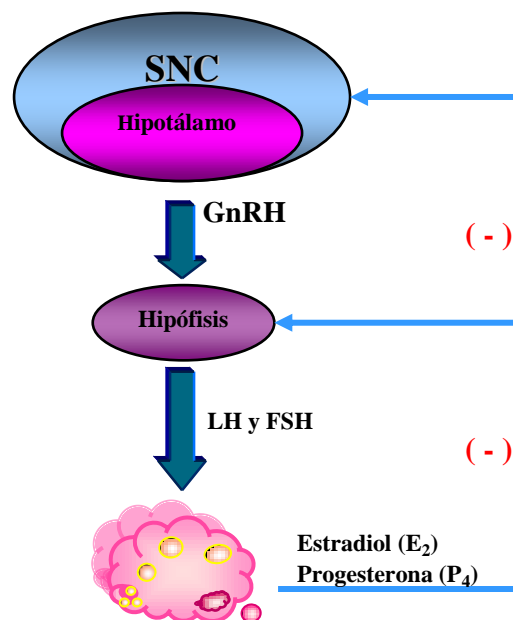


Figura 1. Representación esquemática de las relaciones del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, donde SNC= Sistema Nervioso Central; GnRH= Hormona liberadora de Gonadotropinas; LH= Hormona Luteinizante; FSH= Hormona Estimulante del Folículo. (Tomado y modificado de Tresguerres, 1999).

## EL OVARIO

El sistema reproductor es único entre todos los sistemas del cuerpo y aunque un individuo puede llevar una vida saludable sin reproducirse, la función del sistema reproductor es la formación de nuevos individuos y por ende la continuación y preservación de la especie, ya que sin el, no habría una siguiente generación (Miller y Levine, 2004).

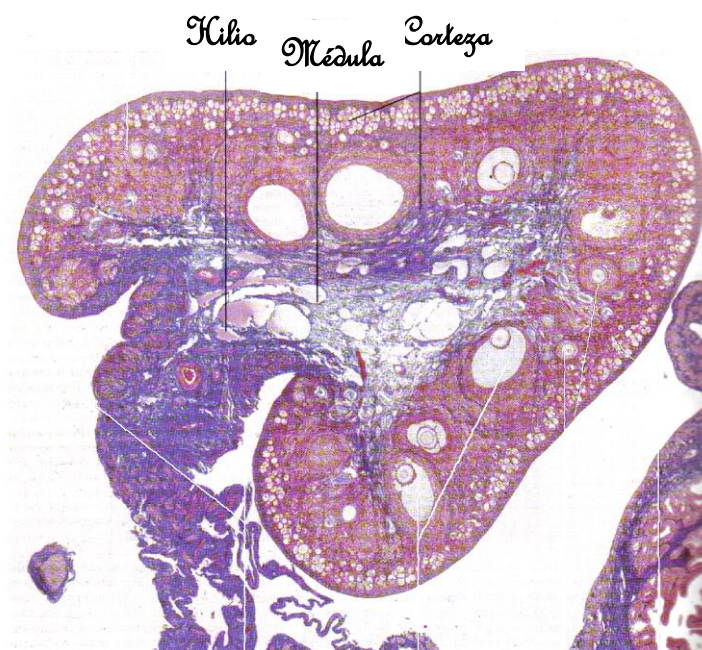
Los ovarios son las gónadas femeninas y una de las funciones es la de elaborar hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos) y péptidos (inhibida, activina, entre otros). La otra función es regular el crecimiento y diferenciación de los folículos hasta la liberación de ovocitos, también llamada ovulación (Domínguez y col., 2003).



El ovario, está suspendido del ligamento ancho uterino, en un pliegue peritoneal llamado *mesovario* por el que discurren los vasos sanguíneos que se introducen en el ovario a través del *hilio*. El ovario esta cubierto por una capa de epitelio cilíndrico bajo, que inicialmente se llamó *epitelio germinal* debido a la suposición errónea de que los ovocitos se originaban del mismo. Bajo el epitelio germinal existe una capa formada por tejido conjuntivo denso que se denomina *túnica albugínea*. Las fibras de colágeno de esta capa se orientan de forma paralela a la superficie del órgano (Fawcett, 1995).

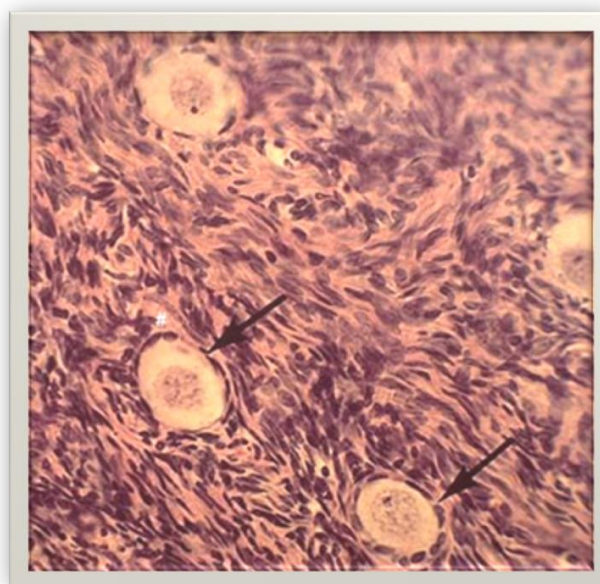
En el ovario se pueden distinguir tres zonas bien diferenciadas: La *médula* o región medular, que esta en el centro del ovario y contiene tejido conjuntivo laxo, abundantes vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas, que ingresan por el hilio. La *corteza* o región cortical, que esta en la periferia del ovario contiene los folículos ováricos. En el estroma que rodea los folículos hay células musculares lisas dispersas, y el *hilio*, donde se encuentran la arteria y vena ovárica, los vasos linfáticos, las terminales nerviosas y las células intersticiales (Tresguerres, 1999; Ross y col., 2005) (Figura 2).

Figura 2.  
Fotomicrografía  
de ovario de  
gata. Corte  
coloreado con  
azán. x29.  
(Tomado de  
Geneser, 2000).



Los folículos ováricos están formados por un ovocito y la capa de epitelio circundante. La mayoría de los folículos ováricos pertenecen a los denominados folículos primordiales y se encuentran en gran número, incluidos en la corteza ovárica, por debajo de la túnica albugínea. Un *folículo primordial* (Figura 3) se compone de un único ovocito y una capa circundante de células epiteliales aplanadas, llamadas células foliculares. En la mujer, el ovocito es una célula grande, redonda de unos 35  $\mu\text{m}$ , con un núcleo también grande y redondo (unos 15  $\mu\text{m}$ ). El núcleo presenta localización excéntrica y contiene un único nucleolo grande. La cromatina es fina, con grumos periféricos (Geneser, 2000).

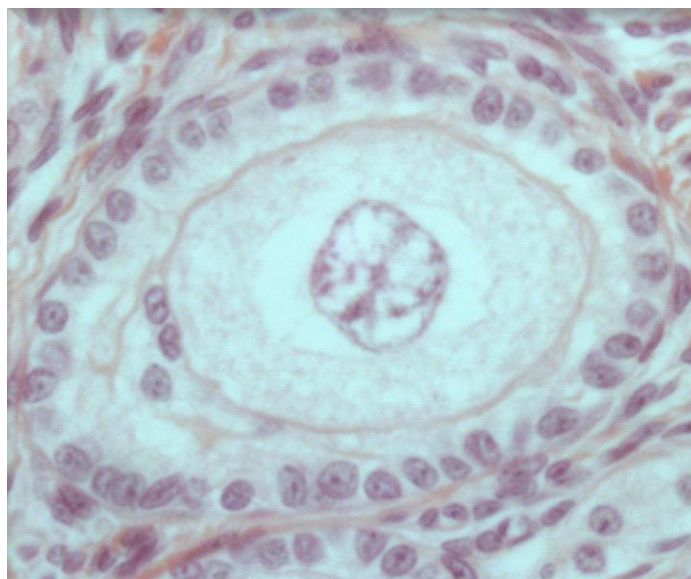
Figura 3.  
Fotomicrografía de un folículo primordial en la corteza ovárica. Corte coloreado con hematoxilina-eosina. x680. (Tomado de Geneser, 2000).



Cuando el folículo primordial inicia el proceso de crecimiento y maduración se transforma en un *Folículo Primario* (Figura 4). El ovocito aumenta de tamaño y las células foliculares aplanadas crecen en altura, hasta hacerse cúbicas y luego cilíndricas. Adquieren un aspecto granular y se denominan entonces células de la granulosa, que proliferan por división mitótica, con ello se forma un epitelio estratificado, la capa de células de la granulosa, separada del tejido conectivo circundante por

una membrana basal nítida. Durante el crecimiento del ovocito se forma una gruesa membrana eosinófila refringente, la zona pelúcida que separa al ovocito de las células de la granulosa circundantes. La zona pelúcida esta compuesta por una glucoproteína que es secretada por el ovocito y que se deposita entre largas prolongaciones interdigitantes provenientes del ovocito y de las células de la granulosa. Las prolongaciones de los dos tipos celulares forman nexos entre sí. Durante el crecimiento, el folículo se hunde en la profundidad de la corteza y las células del estroma circundante se distribuyen en una capa concéntrica denominada teca folicular (Geneser, 2000).

Figura 4.  
Fotomicrografía de un folículo primario en la corteza ovárica. Corte coloreado con hematoxilina-eosina. x680. (Tomado de Geneser, 2000).



En esta etapa del crecimiento, las células de la granulosa se conectan fisiológicamente mediante uniones de hendidura (gap) y desarrollan receptores a FSH, a estrógenos y a los andrógenos (Yen, 2001). Cuando el folículo alcanza un tamaño de unos 200  $\mu\text{m}$ , en la capa de células de la granulosa aparecen pequeñas zonas irregulares llenas de líquido que se fusionan para dar origen a una cavidad semilunar llena de líquido, el *antro folicular*. El folículo ovárico con antro totalmente formado se denomina *folículo secundario* (Figura 5). El antro

contiene líquido folicular, que es liberado por las células de la granulosa. Poco antes de la ovulación se secretan grandes cantidades de líquido folicular, menos viscoso por ser un trasudado plasmático. Gradualmente, el ovocito adopta una posición excéntrica, rodeado por células de la granulosa que conforman el cúmulo ovóforo. La teca folicular se diferencia entonces en una teca interna y una teca externa (Geneser, 2000). El desarrollo de la teca se asocia con la adquisición de vascularización en el folículo. Simultáneamente, junto con el desarrollo de la teca, en el folículo se desarrollan arteriolas que terminan en una red de capilares espiralados adyacente a la membrana basal. También aparecen, al mismo tiempo, los vasos linfáticos. A medida que se forman los capilares, las células tecointersticiales parecen comenzar su diferenciación con la adquisición de receptores a LH y la capacidad de biosíntesis de esteroides. Una vez que las células del estroma precursoras de la teca alcanzan la membrana basal, se disponen en estratos concéntricos. Se ubican paralelas entre sí y se disponen en una estructura radial de células muy elongadas. Además, las células ahusadas de la teca, cercanas a la membrana basal acumulan citoplasma en porciones crecientes y adquieren organelos característicos de las células capaces de secretar hormonas esteroides y se les conoce como células de la teca interna. Los estratos más periféricos de estas células conservan la configuración ahusada y se transforman en células del estroma y se les conoce como células de la teca externa (Yen, 2001).



Figura 5. Fotomicrografía de un folículo secundario en donde se pueden apreciar las células de la granulosa (GC) y la zona pelúcida (ZP). (Tomado de Ross y col., 2005).

El *Folículo Maduro* o *de Graaf* (Figura 6) muestra un aumento notable en el tamaño en los días previos a la ovulación, como consecuencia del rápido crecimiento y la formación del líquido folicular. Cuando el folículo alcanza su tamaño máximo de 15 a 20 mm forma una elevación en la superficie del ovario. Al mismo tiempo se liberan las células de la parte basal del cúmulo ovóforo y, poco antes de la ovulación, el ovocito fluye libremente en el líquido folicular, rodeado por la zona pelúcida y células de la granulosa, que adoptan una orientación radial, por lo que se denominan corona radiada (Geneser, 2000).

Debido a su gran tamaño se extiende por todo el espesor de la corteza ovárica y hace protrusión en la superficie del ovario. A medida que el folículo se acerca a su tamaño máximo, la actividad mitótica de las células de la granulosa disminuye. La capa de células de la granulosa se torna más 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. Las células del cúmulo que rodean inmediatamente el ovocito ahora forman la capa celular simple de la corona radiada. Estas células y las células del cúmulo, permanecen con el ovocito en la ovulación. Durante este periodo de maduración folicular las capas tecales se tornan más prominentes. En el citoplasma de las células de la teca interna aparecen inclusiones lipídicas y las células adquieren las características ultraestructurales de las células productoras de esteroides. La LH estimula a las células de la teca interna para que secrete andrógenos, que sirven como precursores de los estrógenos. Algunos andrógenos son transportados al retículo endoplasmático liso de las células de la granulosa. En respuesta a la FSH, en las células de la granulosa se cataliza la conversión de los andrógenos en estrógenos que a su vez estimulan a las células de la granulosa para que proliferen y así aumente el tamaño del folículo. El aumento de la concentración de estrógenos tanto de origen folicular como sistémico se correlaciona con un aumento de la sensibilidad de las células gonadotropas a la hormona liberadora de gonadotropinas. Unas 24 horas antes de la ovulación, en la adenohipófisis se induce una liberación masiva de FSH y LH. En respuesta al aumento de LH los receptores a ésta hormona, en las células de la granulosa son inhibidos (desensibilizados) y estas células dejan de producir estrógenos ante la estimulación por la LH (Ross y col., 2005).

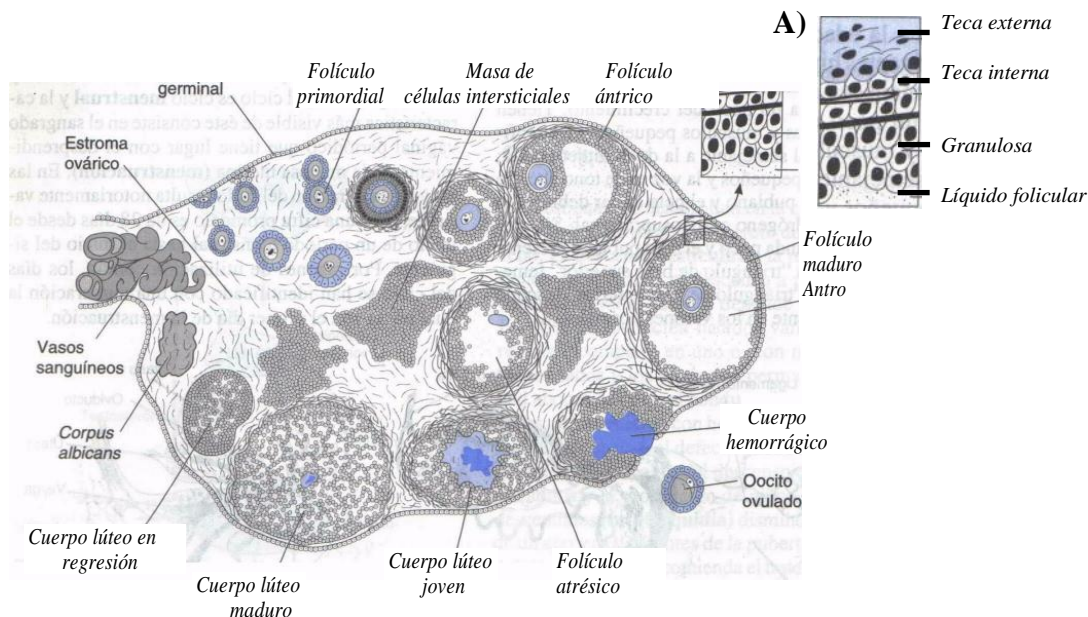


Figura 6. Diagrama de un ovario de mamífero que muestra el desarrollo secuencial de un folículo, la formación del cuerpo lúteo y, en el centro, la atresia folicular. (A) En la parte superior derecha se muestra un aumento de un corte de la pared de un folículo maduro. En los primates no sobresale la masa de células intersticiales. (Tomado de Ganong, 2000).

## OVULACIÓN

La ovulación es considerada como el resultado de un proceso inflamatorio localizado, ya que antes que se produzca la salida del ovocito hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento de las prostaglandinas en el área. Para que se produzca la ovulación son necesarios varios cambios en la pared del folículo y en las relaciones entre las células de la granulosa y las tecaes (Domínguez y col., 1991).

La adenohipófisis secreta una gran cantidad de LH, que a su vez, induce la secreción rápida de hormonas esteroideas como la progesterona y en pocas horas se producen dos hechos, ambos necesarios para la ovulación (Guyton, 2001)(Figura 7):

1. Los lisosomas de la teca externa comienzan a liberar enzimas proteolíticas, que causan la disolución y el consiguiente debilitamiento de la pared de la teca, lo que determina una mayor hinchazón de todo el folículo y la degeneración del estigma.
2. Simultáneamente, se produce el crecimiento rápido de nuevos vasos sanguíneos en el interior de la pared del folículo, y al mismo tiempo se secretan prostaglandinas (hormonas locales que provocan vasodilatación) por el folículo.

Estos dos efectos producen trasudación de plasma al interior del folículo, que también contribuye a que este se hinche. Finalmente la combinación de la hinchazón del folículo con la degeneración simultánea del estigma hace que el folículo se rompa con la expulsión del óvulo (Figura 8) (Guyton, 2001).

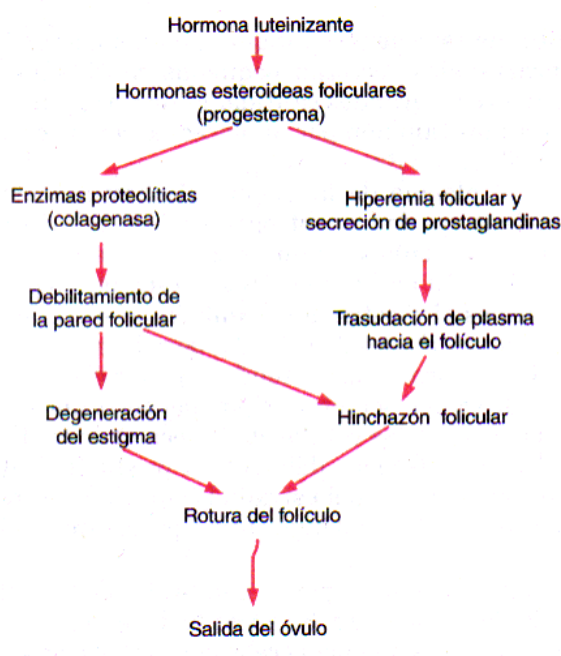


Figura 7. Mecanismo probable de la ovulación; (Tomado de Guyton, 2001).

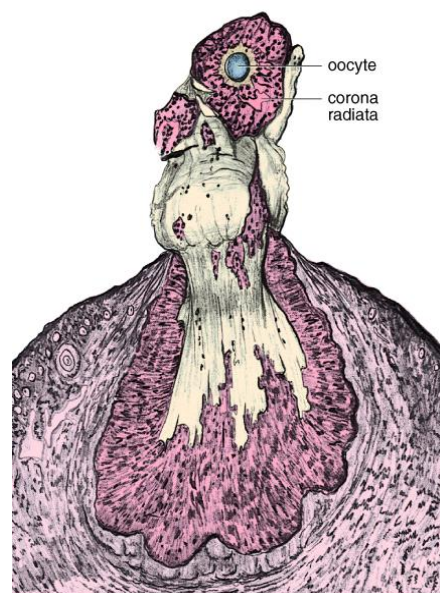


Figura 8. Folículo que presenta el proceso de ovulación; (Tomado de Ross y col., 2005).



## ATRESIA FOLICULAR

Se ha definido a la atresia folicular (Figura 9) como el proceso normal por el cual se eliminan del ovario todos aquellos folículos que, habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación, no ovulan (Domínguez y col, 1991). El mecanismo implicado en esta eliminación es la apoptosis (muerte celular programada) ya que se ha encontrado que los folículos atrésicos muestran los signos de la apoptosis. En los folículos con apoptosis se produce la fragmentación del DNA (Yen, 2001).

Normalmente en cada ciclo, solo uno de los innumerables folículos que comienzan a desarrollarse en respuesta a la FSH, llega a madurar y libera su ovocito. El resto pasa por una fase de degeneración conocida como *atresia folicular*, según algunos expertos, como consecuencia de concentraciones insuficientes de FSH y LH en el momento en el que el número de receptores de las dos gonadotropinas llega al máximo en los folículos. En los folículos atrésicos se observan signos de que se ha interrumpido su desarrollo, carecen de un coagulo sanguíneo ya que la hemorragia tiene lugar únicamente si el folículo alcanzó la madurez (folículos preovulatorios) y se rompió, desorganización de la arquitectura normal de las células foliculares, y picnosis de sus núcleos (signo de necrosis) o contracción, u otros signos de distorsión del ovocito o de su núcleo (Cormack, 1987).

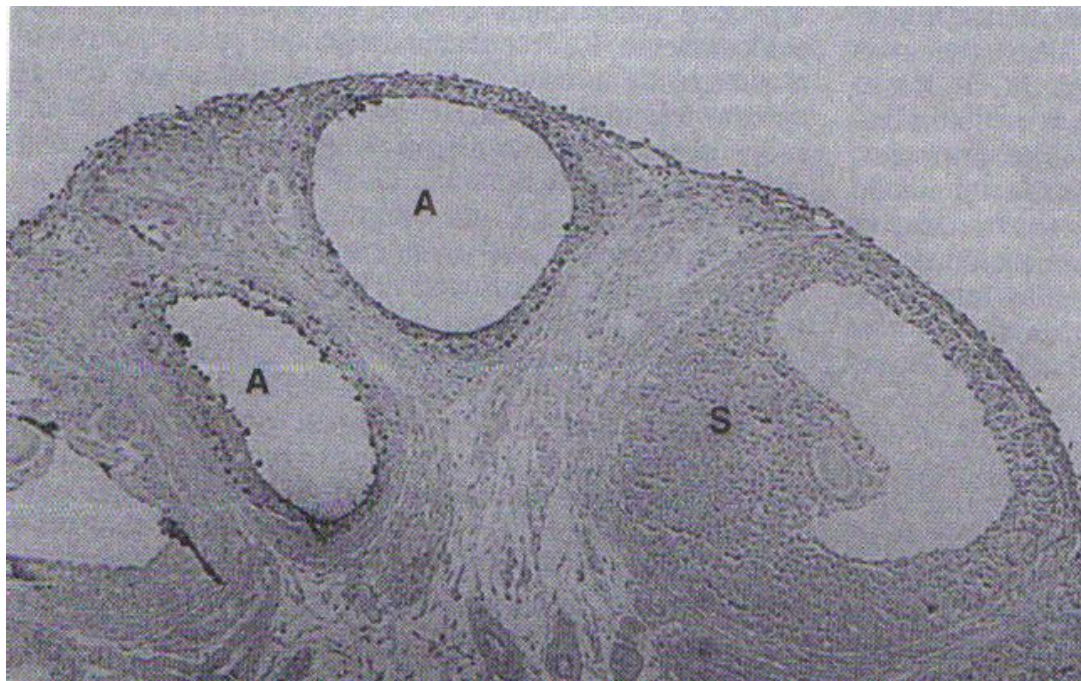


Figura 9. Fotomicrografía de una sección de ovario de la rata durante la atresia. S folículos sanos; A folículo atresico. (Tomado de Yen S, 2001).

## HORMONAS ESTEROIDES

A estas hormonas se les encuentra desde los insectos hasta los vertebrados, en los mamíferos es muy difícil encontrar un tejido sobre el que no tengan efecto y su función es imprescindible para la sobrevivencia del individuo y de la especie. Los órganos productores de hormonas esteroideas son: el ovario, el testículo, la corteza suprarrenal y la placenta como órgano transitorio. Son lípidos no saponificables, poco solubles en agua (hidrofóbicos), solubles en solventes orgánicos, pueden clasificarse con base a su estructura química y a su acción biológica (Pedrera, 1993) y tienen en común el poseer como núcleo químico básico el ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 10) (Díaz y Hicks, 1995). Los esteroideos son uno de los componentes fundamentales del sistema endócrino y su producción esta estrechamente regulada por un

circuito de retro alimentación que involucra a la hipófisis y al hipotálamo (Murray y col., 2001).

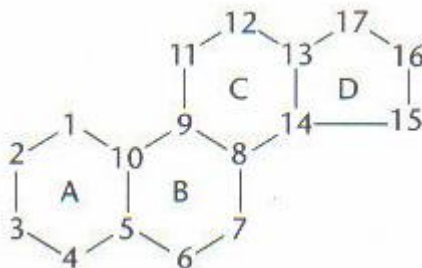


Figura 10. Núcleo de los esteroides (Tomado de Devlin, 2000).

El precursor inmediato de los esteroides gonadales, es el colesterol, el cual está conformado por tres anillos ciclohexano (A,B,C) con dos grupos metilo en las posiciones  $\beta$ 18 y  $\beta$ 19 y un anillo ciclopentano (D), este último con una cadena lateral en la posición 17 de su estructura (a la cual le corresponden los carbonos 20 a 27), (Figura 11). La remoción completa de la cadena lateral (C-20 a C-27) produce esteroides con C-19, la serie que incluye a los andrógenos, la remoción química del metilo 19 y la aromatización del anillo A dan lugar a la serie en la cual se encuentran los estrógenos (Figura 12) (Díaz y Juárez, 2007).

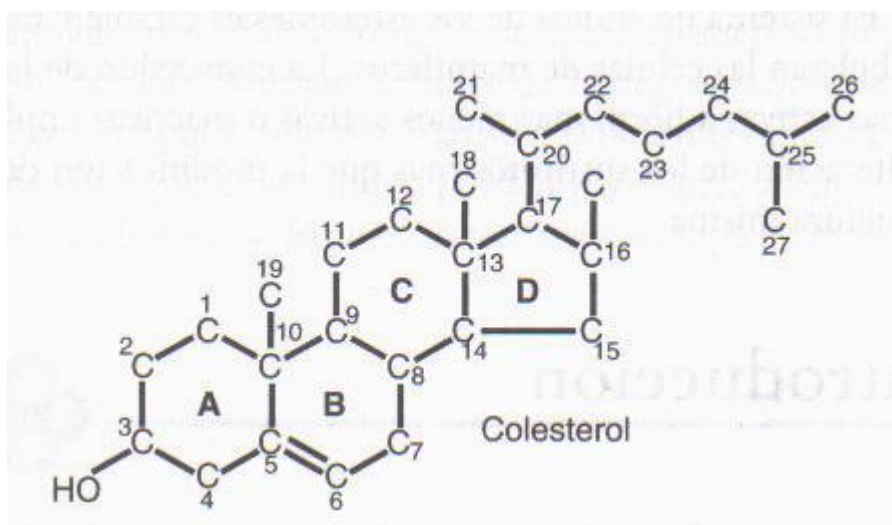


Figura 11. Molécula de colesterol (Tomado de Díaz y Juárez, 2007).

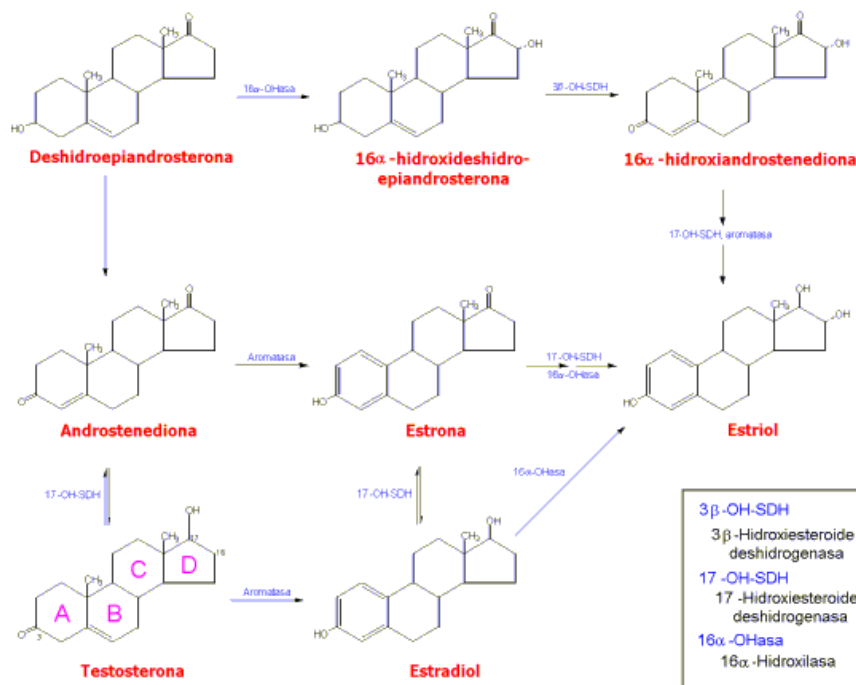


Figura 12. Ruta de biosíntesis de la testosterona y 17β-estradiol (Tomado de Crafts, 1996).

La naturaleza específica de la hormona esteroide sintetizada depende del tipo celular y de sus receptores. La FSH y la LH al unirse a su receptor estimula la síntesis de progesterona, estradiol o testosterona, a través de la activación de la adeniliclasa mediante una proteína G estimuladora (Díaz y Juárez, 2007).

La biotransformación de colesterol a progesterona implica tres cambios estructurales en la molécula (Díaz y Juárez, 2007):

1.- Pérdida de un fragmento de seis átomos de carbono de la cadena lateral en el C-17 (por acción de las hidroxilasas  $\alpha$ 20 y  $\beta$  22), que resulta en la formación de pregnenolona y ácido isocaproico (Figura 13).

2.- Deshidrogenación del grupo alcohólico ( $\beta$ ) en C-3.

3.- Migración del doble enlace del anillo B al A por medio de un proceso de isomerización (Figura 14).

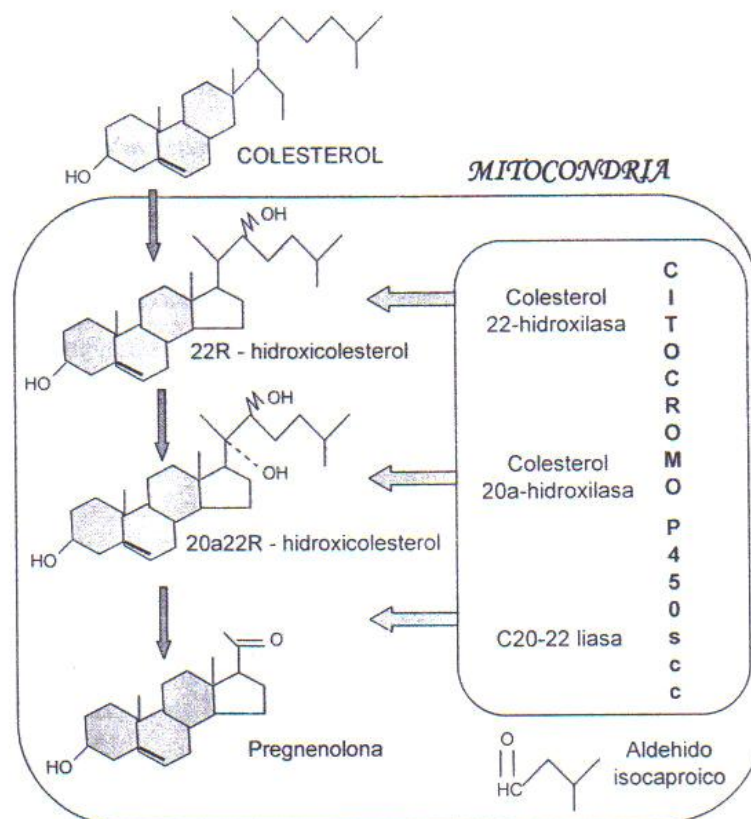


Figura 13. Esquema de la biosíntesis de colesterol y su biotransformación a pregnenolona. (Tomado y modificado de Pedernera, 1993).

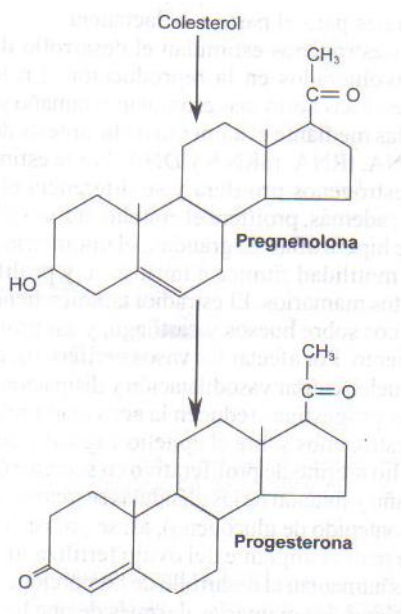


Figura 14. Biosíntesis de la progesterona (Tomado y modificado. Murray y col., 2001).

Una vez sintetizada la pregnenolona, ésta puede tomar dos rutas la  $\Delta^4$  y la  $\Delta^5$ , protagonizadas por 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 $\alpha$ -hidroxipregnenolona (Ramírez, 2007). La conversión de pregnenolona en testosterona (Figura 15) requiere de la acción de cinco enzimas (Murray y col., 2001):

- 1.- 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 $\beta$ -OHSD).
- 2.-  $\Delta^{5,4}$  isomerasa.
- 3.- 17 $\alpha$ -hidroxilasa.
- 4.- C17,20-liasa.
- 5.- 17 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 $\beta$ -OHSD).

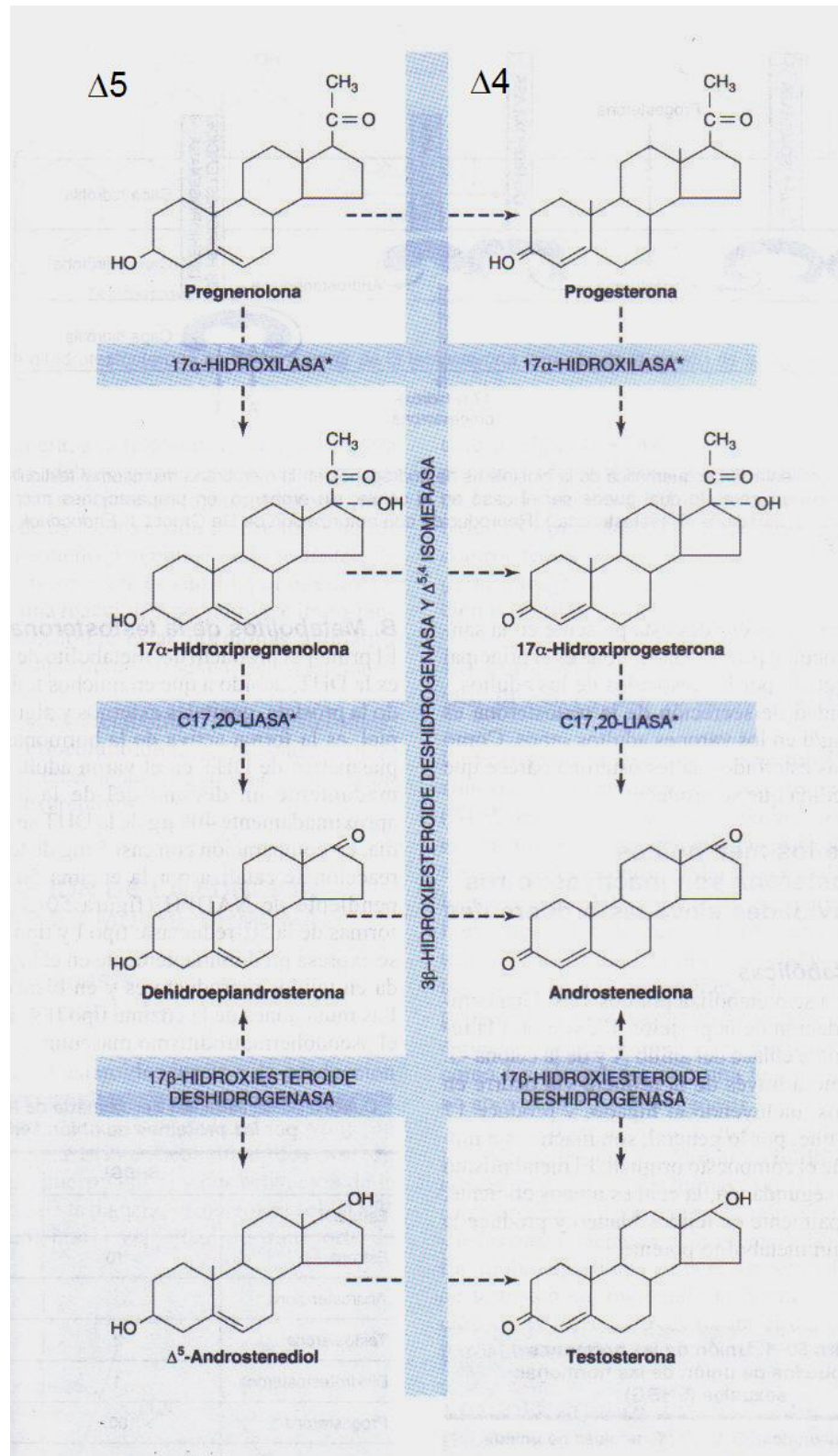


Figura 15. Rutas  $\Delta^4$  y  $\Delta^5$  en la biosíntesis de la testosterona (Tomado y modificado. Murray y col., 2001).

La aromatasa es una enzima del retículo endoplásmico, su acción incluye hidroxilaciones y deshidrataciones que culminan en la aromatización del anillo A de los andrógenos (Díaz y Juárez, 2007). Los estrógenos se forman por esta aromatización de los andrógenos (Figura 16) en un proceso que comprende tres pasos de hidroxilación (Murray y col., 2001). Este proceso, que se inicia con la hidroxilación enzimática en el carbono 19 (C-19), constituye el paso limitante y se cataliza por medio de la 19-esteroide hidroxilasa. Posteriormente se introduce un segundo grupo hidroxilo, con consecuente eliminación esteroespecífica de un átomo de hidrógeno (19-pro R), y por la pérdida de la molécula de H<sub>2</sub>O el diol formado se transforma a un 19-aldehído. Finalmente, el aldehído es aromatizado con la subsecuente remoción del carbono-19, que se elimina como ácido fórmico. Los complejos enzimáticos que participan en el proceso de aromatización están muy relacionados con el citocromo P-450 (Díaz y Hicks, 1995).

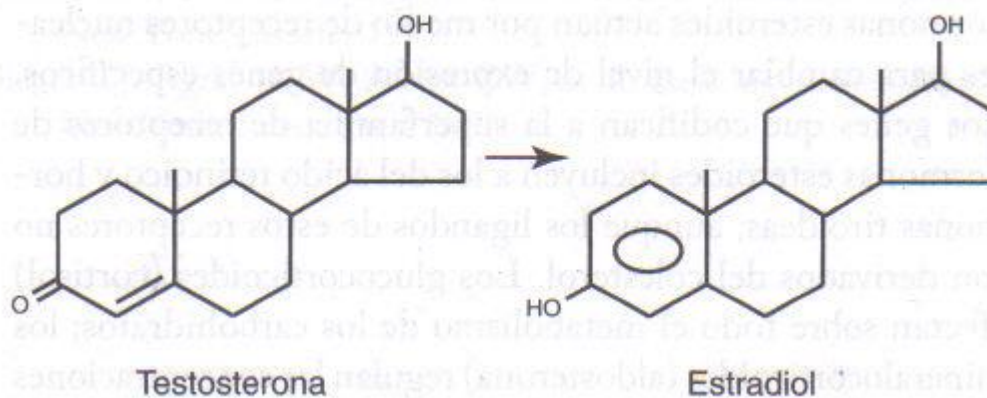


Figura 16. Biosíntesis del estradiol (Díaz y Juárez, 2007).



## TEORÍA DE LA DOBLE CÉLULA

Las células ováricas de la teca interna y de la granulosa tienen funciones complementarias en la síntesis de estrógenos. Las células de la teca interna contienen receptores de LH, y responden a su estímulo aumentando la concentración de AMP-cíclico, regulador de la actividad enzimática que transformará el colesterol en testosterona. Las células de la granulosa tienen desde la fase folicular receptores de FSH, y responden a ella incrementando la síntesis de AMP-cíclico, que induce la síntesis de aromatasa, enzima que convierte la testosterona en estradiol (Figura 17) (Díaz, 2004).

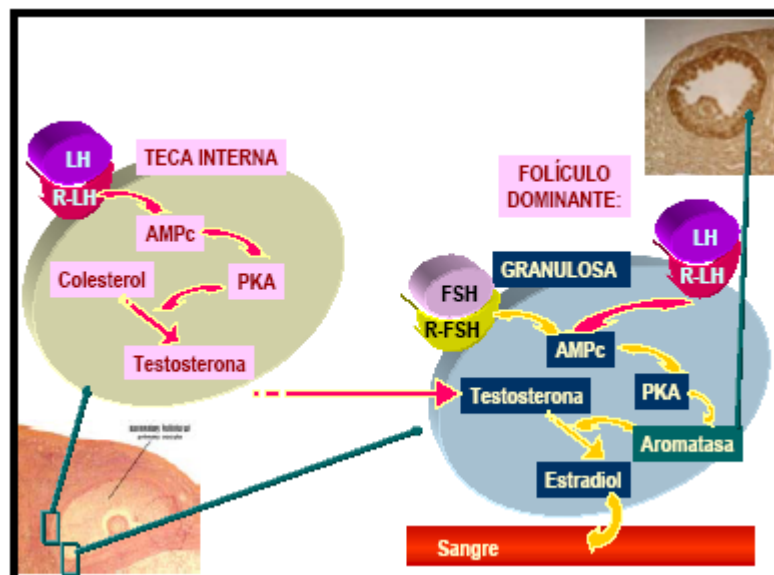


Figura 17. Representación esquemática de la “Teoría de la doble célula” (Díaz, 2004).

## **INERVACIÓN OVÁRICA**

Los ovarios de los mamíferos están inervados por neuronas simpáticas, parasimpáticas y sensoriales que son extrínsecas a la gónada y están sinápticamente conectadas al núcleo paraventricular del hipotálamo (Aguado, 2002; Gerendai y col., 2002; Ricu y col., 2008).

Winterhalter en 1896 reportó la presencia de neuronas en el ovario humano utilizando el método Golgi y describió un grupo de neuronas formando un ganglio en la médula del ovario, la naturaleza de estas neuronas es catecolaminérgica. Posteriormente en 1937 Dahl y Flaskamp verificaron este descubrimiento. En la rata algunas de estas neuronas intraováricas producen neuropéptido Y (NPY) (Leung y Adashi, 2004).

## **INERVACIÓN EXTRÍNSECA**

El ovario de los mamíferos está inervado por neuronas extrínsecas a la glándula, estudios recientes mostraron que esta inervación comprende fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales (Figura 18) derivadas del sistema nervioso periférico, conectadas por vías multisinápticas a las redes neurales del SNC (Ojeda y D'Albora, 2002). La inervación simpática de la glándula proviene de los ganglios celiaco y mesentérico y de los nervios esplácnicos lumbares (Dissen y Ojeda, 1999). Esta inervación simpática esta conformada por el plexo ovárico (PO) que viaja a través de la arteria ovárica y por el NOS que esta asociado con el ligamento suspensorio (Lawrence y Burden, 1980; Klein y col., 1989). Las fibras simpáticas están relacionadas con la vascularización e inervan directamente a la teca ovárica, y después a las células intersticiales y también ejercen una acción indirecta sobre las células luteales

(Erickson, 1991). La inervación simpática viaja a través del tejido intersticial y rodea a los folículos en desarrollo, pero no penetran el cuerpo lúteo ni la capa de células de la granulosa de los folículos. Este tipo de inervación transporta VIP, noradrenalina (NA) y NPY (Lara y col., 1991; Schmidt y col., 1991; Lara y col., 2002).

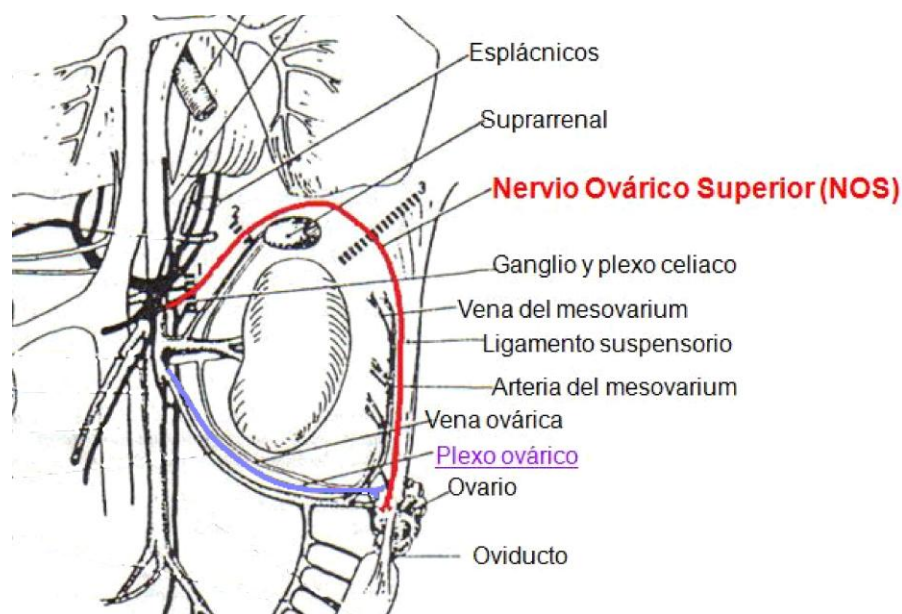


Figura 18. Esquema que muestra la inervación extrínseca del ovario conformada por nervio ovárico superior y plexo ovárico. (Modificado de Lawrence y Burden, 1980).

Las fibras sensoriales, provienen del ganglio nodoso y del ganglio de la raíz dorsal (Burden, 1978; 1985). La inervación sensorial esta constituida por el plexo ovárico y transporta a la sustancia P (SP), al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y al VIP (Leung y Adashi, 2004), además contiene fibras de naturaleza simpática que transportan NA y NPY (Burden, 1978; 1985). Las fibras parasimpáticas es proveída por neuronas postganglionicas colinérgicas, que llegan al ovario vía el nervio vago y/o se derivan del plexo hipogástrico (Leung y Adashi, 2004).

Debido a que dos de los principales neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos extrínsecos, NA y VIP, son potentes estimuladores de la esteroidogénesis ovárica, se ha postulado que la principal función de la inervación extrínseca es facilitar la producción de esteroides por el ovario. Otra función que adquiere la inervación extrínseca incluyen la sensibilidad a las gonadotropinas al inicio de la maduración folicular y la regulación de interacciones cíclicas entre el ovario y el eje hipotálamo-hipofisario durante el ciclo estral (Ojeda y D´Albora, 2002).

Hay evidencias experimentales que llevan a pensar en la existencia de una comunicación entre los dos ovarios por medio de las fibras que se originan en el ganglio celiaco derecho e izquierdo, lugar donde se origina el NOS (Aguado, 2002).

En la rata prepúber, la sección unilateral del NOS disminuye significativamente el número de ovocitos liberados por el ovario denervado y se observa un incremento en el ovario inervado. Esto ha permitido concluir que el NOS modula de manera estimulante la respuesta ovulatoria (Morales y col., 1993). Este efecto es similar cuando se realiza la misma cirugía en animales adultos y la respuesta sobre la ovulación varía según el día del ciclo estral en el que se haya realizado la sección (Chávez y Domínguez, 1994).

El grupo de Aguado en 1984 mostró en ratas adultas que la sección bilateral del NOS realizada en la mañana del proestro, resulta en un descenso de la concentración de progesterona y estrógenos minutos después de la sección. Esta disminución se acompaña de una baja

concentración de NA ovárica. Estos resultados han sido interpretados como que el NOS facilita la secreción de esteroides por el ovario.

El análisis de los efectos de la sección unilateral o bilateral del NOS indica que la información nerviosa que llega por este nervio modula la respuesta del ovario a las gonadotropinas, así como la secreción de hormonas ováricas y la ovulación.

## ASIMETRÍA

Existen evidencias tanto en el humano como en los animales, que indican que la mayoría de los órganos endocrinos pareados presentan asimetría y los ovarios de los mamíferos no son la excepción. (Domínguez y col., 2003).

En la rata adulta con ciclos normales, se ha observado durante el día del estro, que el ovario izquierdo libera un promedio de seis ovocitos, mientras que el derecho solo libera cuatro (Domínguez y col., 2003).

El modelo del animal hemiovariectomizado ha sido ampliamente utilizado para estudiar conexiones neurales entre los ovarios y el SNC. Los efectos de la hemiovariectomía pueden ser analizados en términos de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*, aumento en la actividad folicular e incremento tanto en el número de ovocitos liberados como en el número de cuerpos lúteos (Trujillo y col., 2004). El mecanismo involucrado en la hipertrofia compensadora ovárica (COH) y la ovulación compensadora (CO) en ratas hemiovariectomizadas ha sido analizado a

través de cambios en la secreción de gonadotropinas por la hipófisis, y de esteroides por parte de los ovarios (Barco y col., 2003).

Cuando se extirpa el ovario izquierdo (derecho *in situ*), la proporción de animales que ovula al día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Domínguez y col., 2001).

En la rata adulta la hemiovariectomía derecha no modifica las concentraciones séricas de progesterona, testosterona y estradiol, mientras que con la hemiovariectomía izquierda se observan cambios significativos en las concentraciones de testosterona y estradiol. En las hembras hemiovariectomizadas y adrenalectomizadas, el ovario izquierdo secreta más testosterona y estradiol que el ovario derecho, mostrando que el ovario derecho e izquierdo tiene diferentes papeles en la regulación de la secreción hormonal, y estas diferencias parecen estar relacionadas con la inervación ovárica (Barco y col., 2003).

Existen evidencias de la existencia de dos sistemas neurales involucrados en la modulación de la COH y CO, el simpático (vía NOS y plexo ovárico) y el parasimpático (vía nervio vago), los cuales al parecer participan en la regulación de la respuesta compensadora que se presenta en el animal hemiovariectomizado (Trujillo y col., 2004).

De acuerdo a Klein y Burden (1989) a nivel del ganglio celiaco el ovario derecho está más inervado por fibras simpáticas aferentes que el izquierdo. Se ha descrito en el humano, que desde la etapa fetal se tiene una asimetría en el número de nervios que llegan al ovario izquierdo y derecho. Además, el número de fibras neurales en el plexo

alrededor de la arteria ovárica izquierda es más grande que en la arteria ovárica derecha (Malishevskaja y Brindak., 1980).

Un estudio realizado con ratas adultas hemiovariectomizadas y denervadas con capsaicina mostró, que la respuesta de los ovarios a la denervación es asimétrica y que dicha respuesta es regulada por información neural que es registrada en el ovario y llevada al SNC. Los autores señalan que el establecimiento de la COH y CO depende del día del ciclo estral en que se realiza la denervación y del ovario extirpado (Trujillo y col., 2004).

## **SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO (SOPQ)**

El síndrome del ovario poliquístico es el trastorno endocrino-metabólico más común que afecta del 6 al 10% de mujeres en edad reproductiva y es la causa más común de infertilidad femenina (representa aproximadamente del 50 al 60% de los casos) y su presencia incrementa el riesgo para desarrollar diabetes y enfermedades cardiovasculares (Gómez, 2006). El SOPQ, también denominado hiperandrogenismo ovárico funcional o anovulación crónica hiperandrógena, es la causa más común de hiperandrogenismo con una incidencia del 3 al 10% tanto en mujeres adolescentes como en adultas (Arizaga, 2007).

El SOPQ se caracteriza por la asociación de hiperandrogenismo e hiperinsulinismo. Con las evaluaciones clínicas se han detectado alteraciones bioquímicas y fisiológicas que repercuten en: marcada resistencia a la acción de la insulina en los órganos insulino-dependientes por una alteración intrínseca a nivel del posreceptor de la

insulina, con incapacidad para la utilización de la glucosa, llegando a provocar hiperglucemia (intolerancia a la glucosa/diabetes mellitus) e hiperinsulinismo compensatorio (Gallardo y col., 2006), hipercolesterolemia, aumento de triglicéridos y fibrinógeno (Arizaga, 2007), acné persistente, ciclos menstruales irregulares (oligo o amenorrea) con anovulación, hirsutismo y alopecia (Gómez, 2006). La alteración hipotalámica se manifiesta como un incremento en la frecuencia de los pulsos de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) lo cual genera una mayor liberación de LH pero no de FSH, lo que resulta en una disociación en la relación LH/FSH, en una proporción mayor a dos y al predominar la LH sobre la FSH se sintetizan preferentemente andrógenos a nivel del ovario (Morán y col., 2006). En no más del 50% de los casos puede observarse agrandamiento ovárico con múltiples quistes foliculares (Arizaga, 2007).

Para su diagnóstico, después de excluirse otras patologías con síntomas similares, han de cumplirse los siguientes criterios (Gallardo y col., 2006):

- ◆ Oligomenorrea/anovulación
- ◆ Hiperandrogenismo clínico y/o bioquímico
- ◆ Ovario poliquístico (definido por la presencia de 12 o más folículos, de diámetro entre los 2-9 mm y/o un volumen ovárico mayor de 10 mm).

En el laboratorio se puede utilizar como modelo experimental a la rata e inducir el SOPQ, por la administración de VE que es un estrógeno de larga actividad. Muchas de las características endócrinas que



presentan estos animales son similares a la que se observan en la mujer (Stener-Victorin y col., 2008).

En ratas cíclicas la administración del VE provoca aciclicidad, formación de quistes foliculares (Figura 19), alteraciones en las concentraciones de gonadotropinas, altas concentraciones de estradiol y NA (Stener-Victorin y col., 2000).

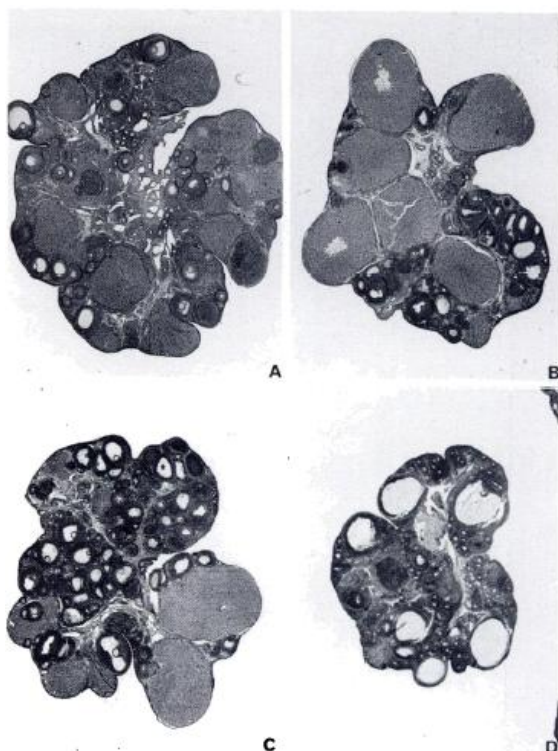


Figura 19. Corte histológico de un ovario de rata adulta. A) Ovario sano (estro). Cuerpos lúteos y numerosos folículos, la mayoría sanos y aparentemente completos. B) 11 días después del tratamiento con VE, el ovario es visiblemente más pequeño que el control, y tanto el estroma como el número de folículos disminuyen. C) 16 días después del tratamiento con VE, se observan cuerpos lúteos viejos y varios folículos atrésicos. D) 16 días después del tratamiento de VE, no se observan cuerpos lúteos, pero sí pocos folículos secundarios y seis quistes prominentes. (Tomado de Brawer, 1986).

En ratas la inducción del SOPQ por la administración de una dosis de VE altera la homeostasis catecolaminérgica, esto se produce antes de desarrollar quistes y persiste después de que estos se han formado. En el ovario se presenta aumento de la concentración de noradrenalina que se relaciona con una baja concentración de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos (Lara y col., 1993; 2002; Stener-Victorin y col., 2000).

El grupo de Farookhi en 1985, postuló que el SOPQ se producía en respuesta a una mayor concentración de estradiol. Esto lo afirmó después de observar que la ovariectomía unilateral realizada en la rata con SOPQ, era capaz reestablecer el ciclo estral e inducir la ovulación en el ovario *in situ*, esto evaluado por la presencia de cuerpos lúteos. Estos animales desarrollan la hipertrofia compensadora de manera normal.

A inicios de la década de los 90's surge la idea de que el SOPQ se origina por un aumento en la actividad de los nervios simpáticos que llegan al ovario por el NOS (Lara y col., 1993; Sotomayor y col., 2008). La sección bilateral del NOS, en las ratas tratadas con VE resulta en un reestablecimiento de la ciclicidad vaginal y de la capacidad ovulatoria (Barria y col., 1993). Por su parte, el grupo de Stener-Victorin mostró que en la rata adulta con SOPQ la estimulación de los nervios simpáticos, a nivel de T12-L2 y S2-S4, por electro acupuntura reducía la hiperactividad de las fibras simpáticas debido a una disminución del factor de crecimiento neural (NGF). Esto les permitió sugerir que el tratamiento con electro acupuntura disminuye la hiperactividad de las fibras nerviosas que arriban al ovario (Stener-Victorin y col., 2000; 2005). Todos estos resultados confirmaban la idea de la participación de la inervación simpática en el desarrollo del síndrome (Barria y col., 1993; Stener-Victorin y col., 2000; 2005).

En nuestro laboratorio decidimos probar si el SOPQ es el resultado de una mayor concentración de NA ovárica. Para ello, se administró el VE en la etapa infantil y se sometió a la sección unilateral del NOS en la etapa juvenil. Cuando los animales llegaron a la etapa adulta no se observó ovulación por parte del ovario denervado, aún cuando la concentración de NA disminuyó, en tanto que el ovario que

mantuvo intacta la información neural aportada por el NOS ovuló, esto se acompañó de altas concentraciones de NA. Estos resultados nos permiten postular dos alternativas:

- 1) el origen del SOPQ no se puede explicar exclusivamente por una mayor actividad de las fibras noradrenérgicas que llegan al ovario vía el NOS.
- 2) Es posible que la ovulación por parte del ovario inervado sea el resultado de una comunicación entre los ovarios.

## ***PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA***

En estudios previos se ha mostrado que en la rata juvenil con SOPQ y con sección unilateral del nervio ovárico superior el ovario denervado no presenta ovulación, mientras que el ovario que conserva intacto el nervio sí lo hace. Estos resultados nos llevan a sugerir que existe una vía de comunicación neural entre los ovarios, que facilita la ovulación por el ovario inervado. Para eliminar esta posible comunicación, se utilizó el modelo del animal con SOPQ, inducido en la etapa infantil y sometido a una ovariectomía unilateral mas la sección del NOS en la etapa juvenil. Cuando el animal alcanzó la etapa adulta se evaluó la respuesta ovulatoria, la capacidad esteroidogénica y la concentración de gonadotropinas.

## ***HIPÓTESIS***

Si en el animal con SOPQ y sección unilateral del nervio ovárico superior, la ovulación ocurre en el ovario que mantiene intacto el NOS, entonces la eliminación de la información que lleva este nervio aunado a la extirpación de la gónada contralateral, bloqueará la respuesta ovulatoria del ovario *in situ* lo que podrá ser evidente la posible existencia de una comunicación entre los ovarios, vía el NOS.

## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar la participación de la inervación simpática, vía el NOS, en ratas con SOPQ sometidas a ovariectomía unilateral, y evaluado cuando el animal alcanza la etapa adulta.

### **OBJETIVOS PARTICULARES:**

- ❖ Estudiar los efectos del tratamiento con VE, realizado en la etapa infantil, sobre la pubertad y la presencia del primer estro.
- ❖ Analizar el efecto del tratamiento con VE en la etapa infantil, sobre la respuesta ovulatoria, las concentraciones séricas de las gonadotropinas y de las hormonas esteroides, cuando el animal alcanza la etapa adulta.
- ❖ Estudiar en la rata tratada con VE en la etapa infantil, los efectos de la hemiovariectomía con o sin la sección del NOS contralateral, realizada en la etapa juvenil, sobre la respuesta ovulatoria, las concentraciones séricas de las gonadotropinas y de las hormonas esteroides, cuando el animal alcanza la etapa adulta.

## ***MATERIALES Y MÉTODOS***

Se utilizaron ratas hembra de la cepa CII-ZV, mantenidas desde el nacimiento bajo condiciones controladas de iluminación con 14 h de luz por 10 h de oscuridad (luces encendidas de las 5:00 a las 19:00 horas) y temperatura de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

En el día del nacimiento (día cero) las crías fueron sexadas y colocadas en camadas de seis individuos por caja en una proporción de cinco hembras y un macho con la finalidad de evitar alteraciones en la maduración del sistema nervioso y del aparato reproductor del animal (Salas, 1991). Las ratas tuvieron libre acceso al agua y alimento (TG roedor, Harlan. TEKLAD) y permanecieron con la madre hasta el destete, que se realizó a los 21 días de vida. Los animales se dividieron (Diagrama 1) en dos grandes grupos: 1) A los 10 días de edad se les inyectó una dosis de 2mg de Valerato de Estradiol (VE) en 0.1ml de aceite de maíz, que fungió como el vehículo. 2) A los 10 días de edad se les inyectó 0.1ml del Vehículo (Vh).

La administración se realizó por vía intraperitoneal entre las 10:00 y las 12:00 h, los animales de ambos grupos fueron distribuidos al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales:

### **HEMICASTRACIÓN IZQUIERDA (HCI) O DERECHA (HCD) MÁS OPERACIÓN SIMULADA CONTRALATERAL (OS).**

La hemicastración se realizó a ratas hembras de 24 días de edad, se anestesiaron con éter, se hizo una incisión dorsal de piel y músculo, del lado izquierdo o derecho, de aproximadamente 1 cm de largo, a través de la cual se localizó y se extirpó el ovario correspondiente, una vez realizada esta extirpación se regresó el útero a la cavidad peritoneal y

se suturó la herida. Inmediatamente se realizó contralateralmente una incisión dorsal de la piel y del músculo de aproximadamente 1cm, y sin tocar ningún órgano se suturó la herida.

### **HEMICASTRACIÓN IZQUIERDA (HCI) O DERECHA (HCD) MÁS SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR.**

Grupos de animales con VE o Vh de 24 días de edad se hemicastraron de igual forma que en el experimento anterior. Inmediatamente después se realizó del lado contralateral la sección del NOS, la cual consistió en una incisión dorsal en la piel y el músculo, de aproximadamente 1 cm de largo, a través de la cual se extrajo el ovario unido al útero, para identificar el ligamento suspensorio por el cual transcurre el NOS y se procedió a cortarlo. Terminada la denervación se regresó el ovario unido al útero a la cavidad peritoneal y se procedió a suturar la herida.

### **GRUPOS TESTIGO.**

Como grupos de comparación se utilizaron los siguientes:

- ◆ Animales testigo absoluto (TA).- No fueron inyectados ni manipulados quirúrgicamente.
- ◆ Animales inyectados a los 10 días con VE o Vh.
- ◆ Animales que no fueron inyectados a los 10 días con VE o Vh y que fueron sometidos a alguna de las cirugías descritas anteriormente.

Con base en estudios previos(Rosas, 2007), la pubertad se evaluó después de 5 días de haber inyectado el fármaco (día 15 de vida), a



partir de esta edad se comenzó a revisar la canalización de la vagina y una vez obtenida dicha canalización se inicio la toma de frotis, que se realizó durante dos semanas.

### **PROCEDIMIENTO DE SACRIFICIO Y AUTOPSIA.**

Dos semanas previas a los 90 días de edad se retomo la toma de frotis, al cumplirse los 90 días y presentar un estro vaginal típico los animales se pesaron en una balanza digital, posteriormente fueron sacrificados por decapitación para colectar la sangre del tronco, se dejó coagular a temperatura ambiente y se centrifugó a 3500 r.p.m. (g) durante 15 minutos, se recuperó el suero se dividió en alícuotas que fueron almacenadas a -20 °C para la cuantificación de gonadotropinas y hormonas esteroides.

Se disecaron y pesaron en la balanza de precisión el ovario remanente, el útero y las adrenales. Se extrajeron los oviductos y se buscó la presencia de ovocitos, los cuales se contaron con ayuda de un microscopio estereoscópico.

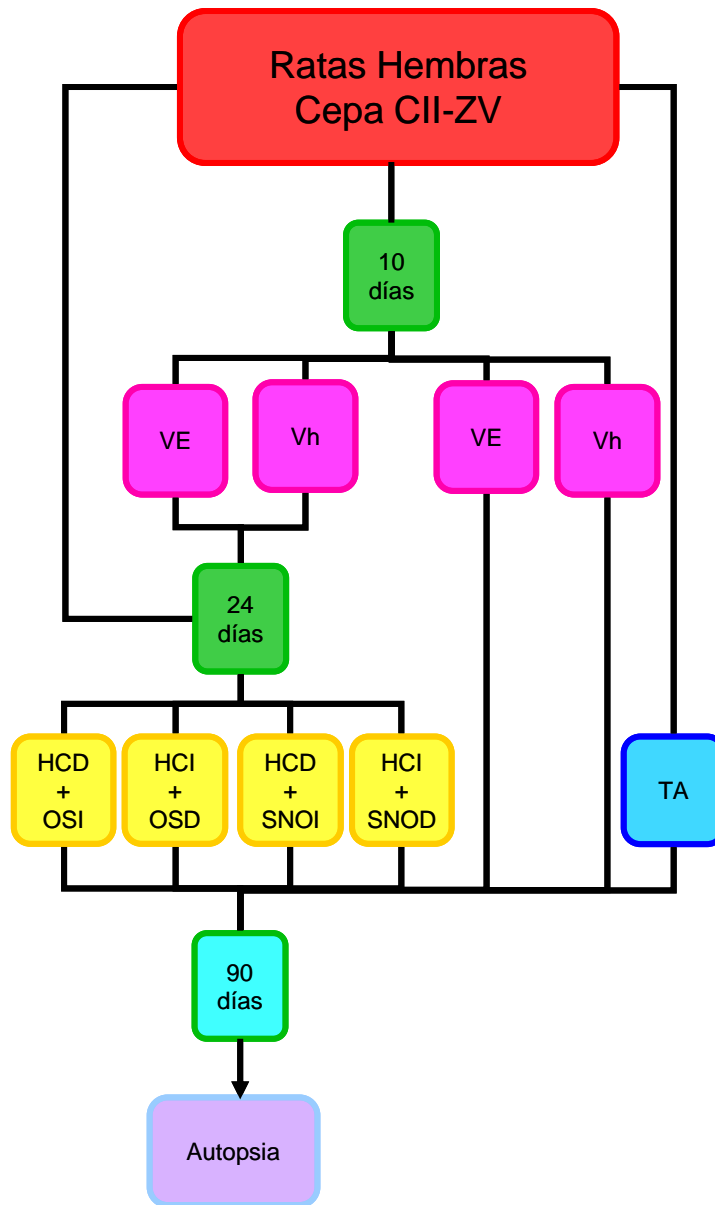


Diagrama 1. Representación esquemática de los grupos experimentales realizados en la presente investigación.

## **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS POR RADIOINMUNO-ANÁLISIS (RIA).**

La concentración de hormonas esteroides (progesterona, testosterona y estradiol) fueron cuantificadas por RIA de fase sólida, con kits de reactivos comerciales Coat-A-Count, USA. Los cuales consisten en tubos de propileno que contienen anticuerpos específicos para cada hormona (anti-progesterona- $I^{125}$ , anti-testosterona- $I^{125}$  o anti-estradiol- $I^{125}$ ). Para la medición de la progesterona y estradiol se adicionaron a cada tubo 100  $\mu$ l del suero problema más 1 ml de hormona radioactiva ( $I^{125}$ ), en el caso de la testosterona se adicionaron 50  $\mu$ l del suero. Posteriormente los tubos se agitaron en un vortex durante 1 min. y se incubaron durante 3 h. a temperatura ambiente; se decantó el sobrenadante y se colocaron los tubos en un contador de centelleo gama modelo Cobra 5005, Packard™ para determinar la concentración de la hormona en la muestra problema, en función de las cuentas por minuto y de la curva de calibración. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml de suero y las concentraciones de testosterona y estradiol en pg/ml.

La medición de las gonadotropinas se llevó a cabo por RIA de doble anticuerpo, colocando 100  $\mu$ l del suero problema, se añadieron 100  $\mu$ l de hormona marcada con  $I^{125}$ , después se adicionó anticuerpo de suero de borrego para LH (rLH-RP2) o para FSH (rFSH-RP2) según el caso. Posteriormente se incubó a temperatura ambiente por 24h. Posteriormente se agregaron 100  $\mu$ l del segundo anticuerpo (suero normal de conejo), se incubó durante 2h. y posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 r.p.m. (g) a -4 °C por 30 min, se decantó el sobrenadante, se secaron las paredes de los tubos y se colocaron en un

contador de centelleo gama modelo Cobra 5005, Packard™ para determinar la concentración de la hormona en la muestra problema.

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

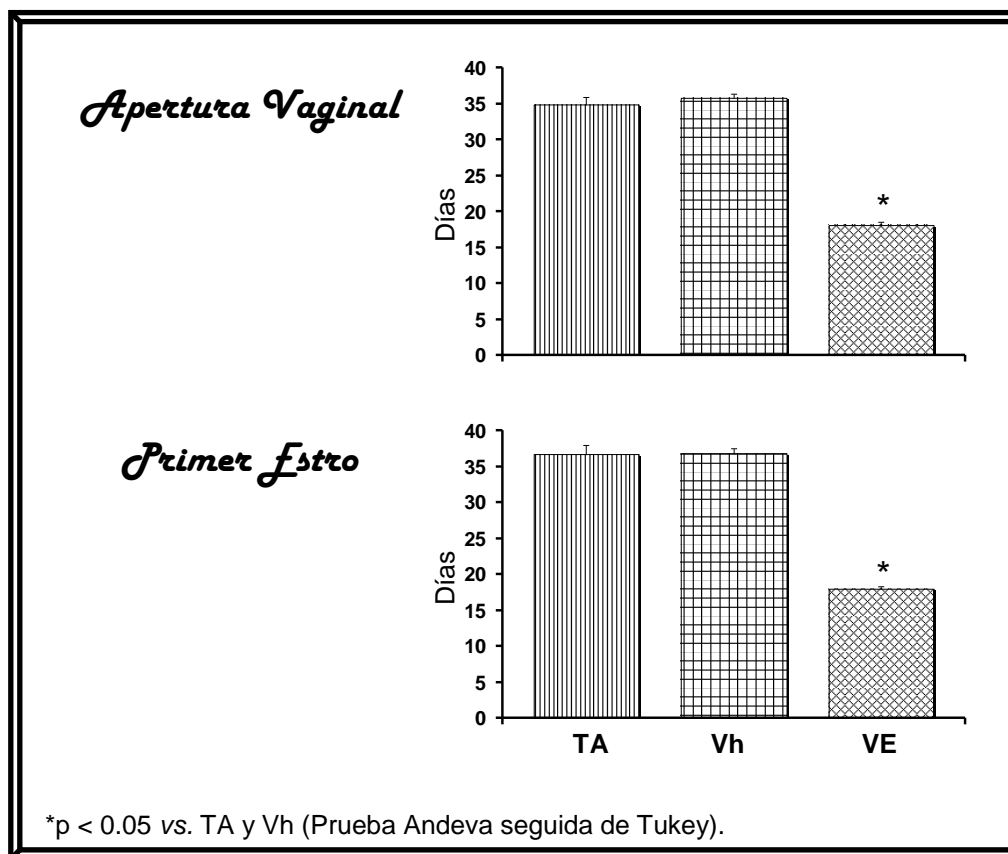
### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados de la edad de apertura vaginal y la edad del primer estro vaginal se analizaron por la prueba de Kruskal Wallis, seguida por la prueba Dunn. La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/número total de animales) se analizó por la prueba de  $J_i^2$ . Las concentraciones séricas de hormonas gonadotrópicas y esteroides, el peso corporal, el peso absoluto y el peso relativo de los órganos (ovarios, útero y adrenales), fueron sometidos a la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida por la prueba de Tukey. Sólo cuando se compararon dos grupos experimentales, se utilizó la prueba "t" de Student. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05 (Marques, 2001).

## Experimento 1.

### *Efecto de la administración de valerato de estradiol en ratas infantiles, sobre el inicio de la pubertad, gonadotropinas, hormonas esteroides y ovulación, en la edad adulta.*

En los animales inyectados con Valerato de Estradiol (VE), se presentó un retraso estadísticamente significativo en la edad de apertura vaginal (EAV) y del primer estro vaginal (EPE) comparado con los grupos de animales intactos (TA) y con Vh (Figura 20).



**Figura 20.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **Edad de la apertura y del primer estro vaginal** de animales intactos (TA), y ratas inyectadas a los 10 días con vehículo (Vh) o con valerato de estradiol (VE) y autopsiadas a los 90 días de edad.

## Respuesta Ovulatoria

La inyección con Vh no modificó la proporción de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados por ovario, en comparación con el grupo testigo absoluto. Sin embargo al inyectar VE, resultó en una disminución de la respuesta ovulatoria comparado tanto con el grupo TA como Vh (Tabla 1).

**Tabla 1. Proporción de Animales Ovulantes** y media  $\pm$  e.e.m. del **número de ovocitos liberados** de los grupos testigo absoluto (TA) o inyectados a los 10 días con vehículo (Vh) o con valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.

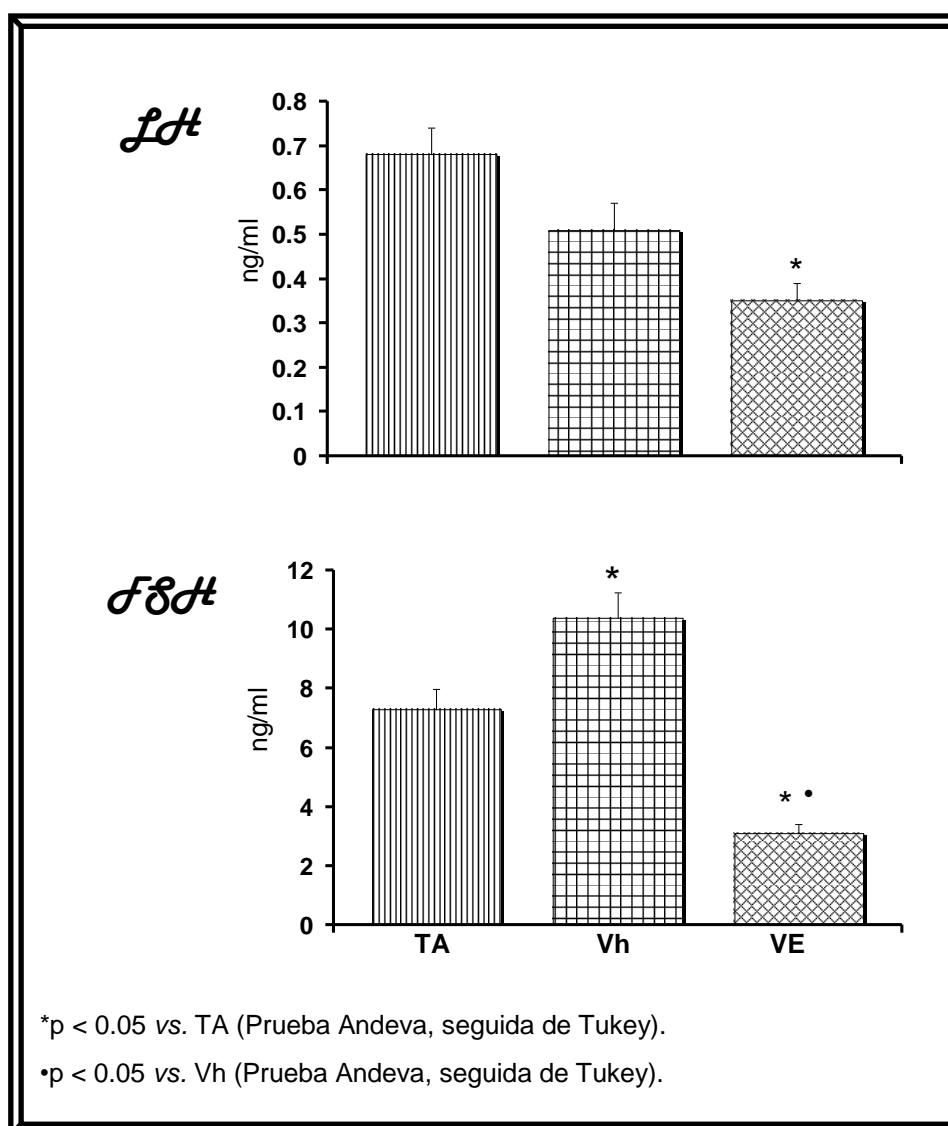
Grupos	Proporción de animales ovulantes por ovario <i>in situ</i>		Número de ovocitos liberados por ovario <i>in situ</i>	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
TA	15/21	17/21	6.9 $\pm$ 0.7	4.9 $\pm$ 0.7
Vh	17/18	15/18	5.9 $\pm$ 0.6	6 $\pm$ 0.8
VE	1/18*	1/18*	(1)	(8)

\*p < 0.05 vs. TA o Vh (Prueba Ji<sup>2</sup>).

En ( ) se muestra el número de ovocitos liberados por un animal.

## Gonadotropinas

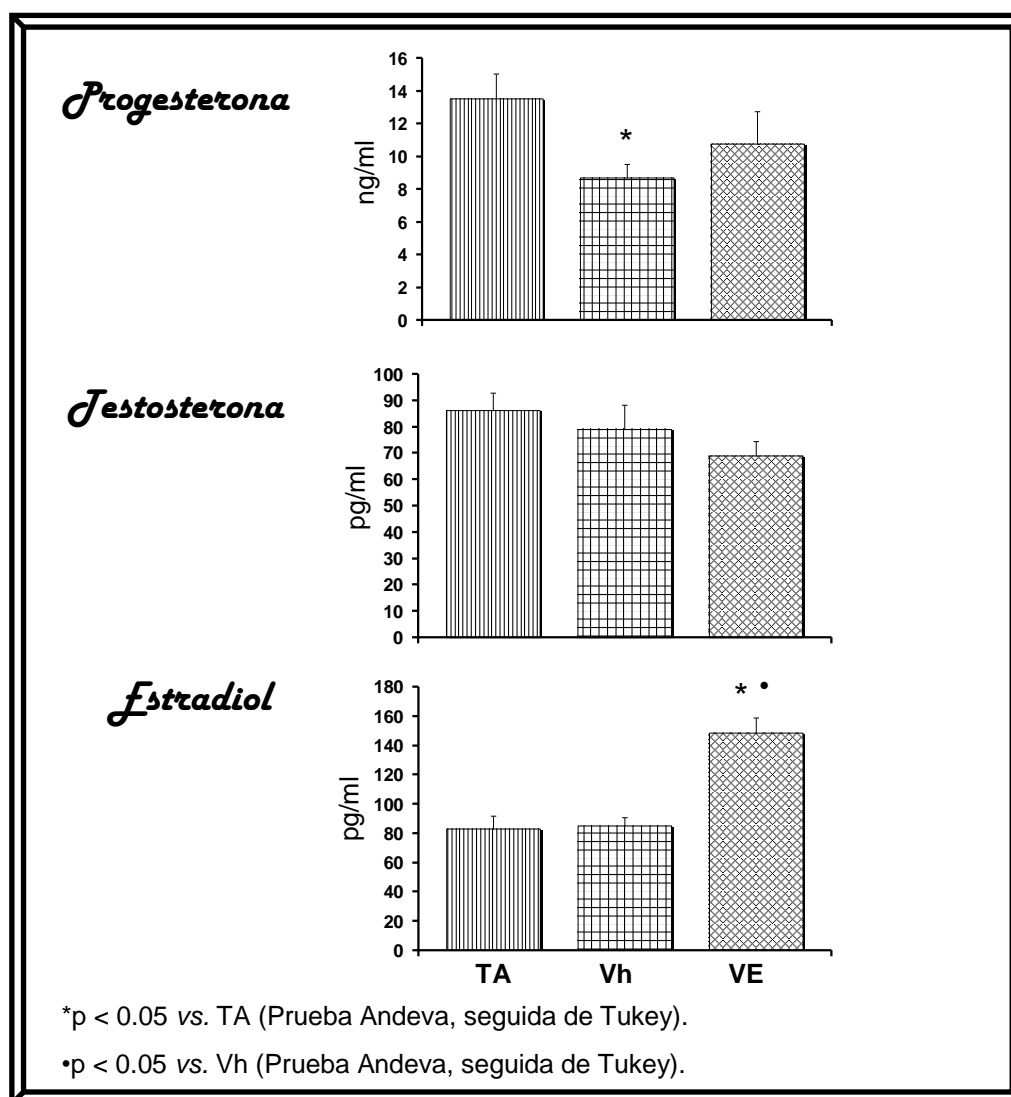
En la figura 21 se muestran las concentraciones séricas de las gonadotropinas. La concentración sérica de **LH** y **FSH** fue menor en los animales tratados con VE que en los grupos TA y Vh. Mientras que la concentración plasmática de **FSH** aumentó en los animales tratados únicamente con el Vh.



**Figura 21.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** de animales intactos (TA), tratados con vehículo (Vh) o con valerato de estradiol (VE) a los 10 días y autopsiados a los 90 días de edad.

## Hormonas Esteroides

En las concentraciones de **Progesterona** sólo el grupo que fue tratado con Vh presentó una disminución significativa. En los grupos con Vh o VE no se observaron cambios significativos en la concentración sérica de **Testosterona**. En los animales tratados con VE se observó un incremento en la concentración sérica de **Estradiol**, comparado con TA y Vh (Figura 22).



**Figura 22.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **Progesterona**, **Testosterona** y de **Estradiol** en animales intactos (TA), tratados con vehículo (Vh) o con valerato de estradiol (VE) a los 10 días y autopsiados a los 90 días de edad.



## Peso Relativo de Órganos

En la tabla 2 se observa que en el grupo inyectado con vehículo aumentó significativamente el peso corporal comparado con el grupo testigo absoluto. La administración de VE no modificó el peso corporal. El grupo tratado con VE tuvo un menor peso de los ovarios comparado con TA y Vh. La masa adrenal y el útero no se modificó por la administración del VE.

**Tabla 2.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal y del **peso relativo (mg/100g de peso corporal)** del ovario izquierdo o derecho, masa adrenal y útero de animales testigo absoluto (TA), animales inyectados a los 10 días con vehículo (Vh) o con valerato de estradiol (VE) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	Peso Corporal	Ovarios		Masa Adrenal	Útero
		Izquierdo	Derecho		
TA	240.8 $\pm$ 6.3	15.1 $\pm$ 0.6	15.2 $\pm$ 0.6	25.1 $\pm$ 1	148.9 $\pm$ 5.7
Vh	264.6 $\pm$ 7.0*	15.0 $\pm$ 0.6	14.7 $\pm$ 0.7	22.8 $\pm$ 0.8	152.8 $\pm$ 3.9
VE	248.9 $\pm$ 9.8	11.3 $\pm$ 0.9*•	11.4 $\pm$ 1.3*•	23.8 $\pm$ 1.2	154.8 $\pm$ 6.2

\*p < 0.05 vs. TA (Prueba Andeva, seguida de Tukey).

•p < 0.05 vs. Vh (Prueba Andeva, seguida de Tukey).

## *Resumen de Resultados*

<i>PARÁMETROS</i>	$Vh$	$VE$
<b>EAV</b>	=	↓
<b>EPE</b>	=	↓
<b>Respuesta Ovulatoria</b>	=	↓
<b>LH</b>	=	=
<b>FSH</b>	↑	↓
<b>P<sub>4</sub></b>	↓	=
<b>T</b>	=	=
<b>E<sub>2</sub></b>	=	↑
<b>Peso Corporal</b>	↑	=
<b>Peso de Ovarios</b>	$OI = OD$	$OI = OD$
	= =	↓ ↓
<b>Masa Adrenal</b>	=	=
<b>Peso de Útero</b>	=	=

*Las comparaciones del grupo con Vh se realizaron respecto al grupo testigo absoluto, mientras que las del grupo con VE se realizaron respecto al grupo inyectado con Vh.*

## Experimento 2.

### *Efecto de la Hemicastración y de la Operación Simulada Unilateral en el animal juvenil con Síndrome de Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y hormonas esteroides.*

#### **Respuesta Ovulatoria**

Los animales tratados con Vh y hemicastrados del lado derecho más una operación simulada izquierda presentaron una menor proporción de animales ovulantes del ovario remanente en comparación con el grupo con hemicastración y operación simulada correspondiente. En los animales inyectados con VE se presentó un bloqueo total de la ovulación (Tabla 3).

El 20% de los animales tratados con el VE y hemicastrados del ovario izquierdo más la operación simulada contralateral, ovuló en la etapa adulta, mientras que ovuló el 40% de los animales que fueron inyectados con el vehículo.

En los animales con Vh, la hemicastración del ovario izquierdo más la operación simulada derecha no modificó la cuota ovulatoria (HCI+OSD=  $7.25 \pm 1.79$  vs. Vh HCI+OSD=  $8.75 \pm 1.88$  N.S) mientras que en los tratados con el VE uno de los animales ovuló 8 y otro 17 ovocitos.

**Tabla 3. Proporción de Animales Ovulantes** y media  $\pm$  e.e.m. del **número de ovocitos liberados** de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o con valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más una operación simulada contralateral (HCD+OSI; Vh HCD+OSI; VE HCD+OSI).

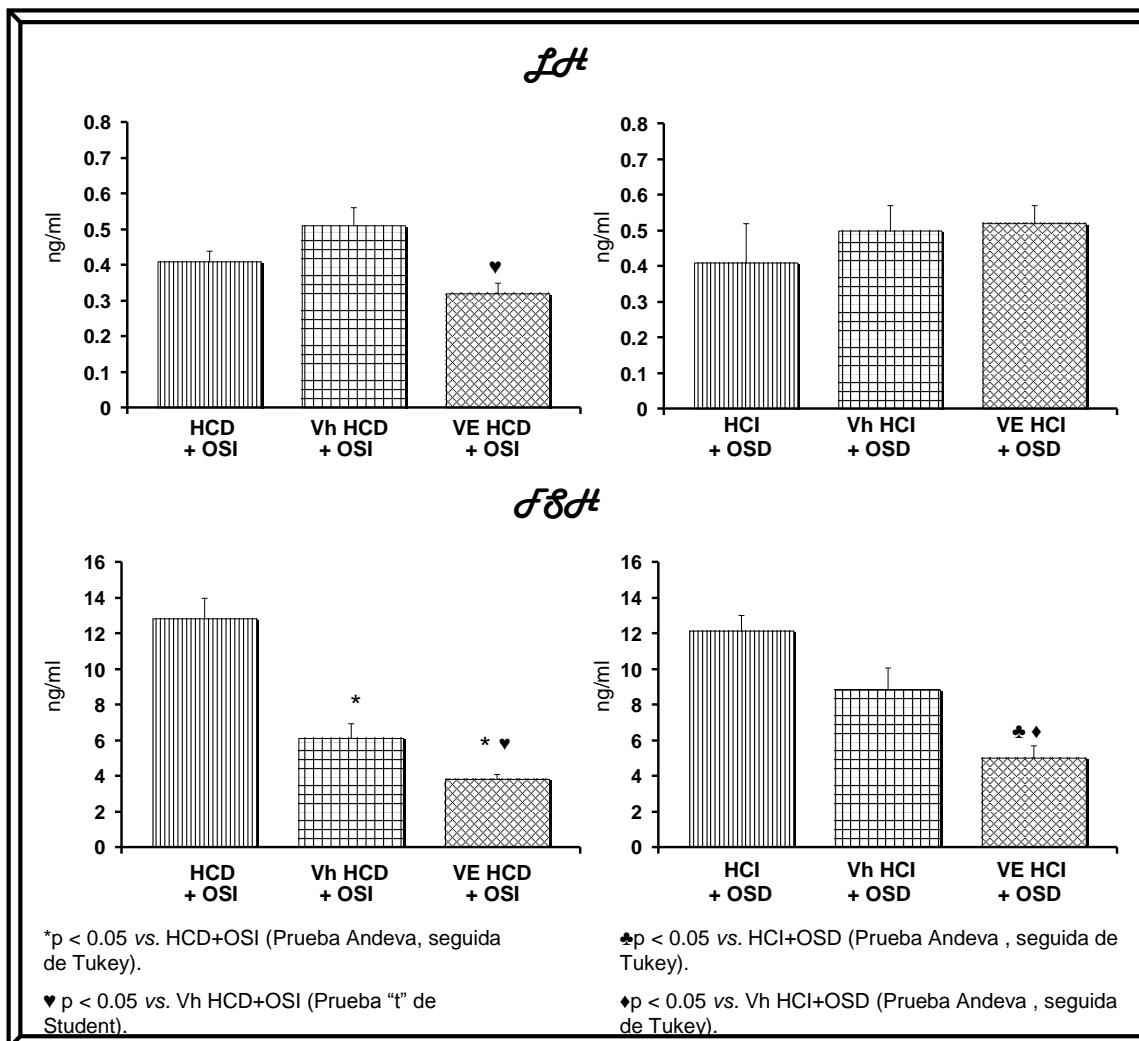
Grupos	Proporción de animales ovulantes por ovario in situ	Número de ovocitos liberados por ovario in situ
	Izquierdo	Izquierdo
HCD+OSI	8/8	8 $\pm$ 0.9
Vh HCD+OSI	4/9*	11.3 $\pm$ 1.9
VE HCD+OSI	0/10*•	0

\*p < 0.05 vs. HCD+OSI (Prueba Fisher).

•p < 0.05 vs. Vh HCD+OSI (Prueba Fisher).

### Gonadotropinas

En el grupo inyectado con VE y con hemicastración derecha y operación simulada contralateral la concentración sérica de **LH** fue menor respecto al grupo tratado con Vh y sometido a las mismas operaciones. En los animales tratados con VE la extirpación del ovario izquierdo o derecho más la laparotomía contralateral resultó en una menor concentración de la **FSH**, respecto a los animales con Vh y las mismas cirugías. En el grupo inyectado con el Vh y sometido a la hemicastración derecha más su respectiva operación simulada, resultó en una disminución de la concentración de FSH respecto al grupo que no fue inyectado (Figura 23).

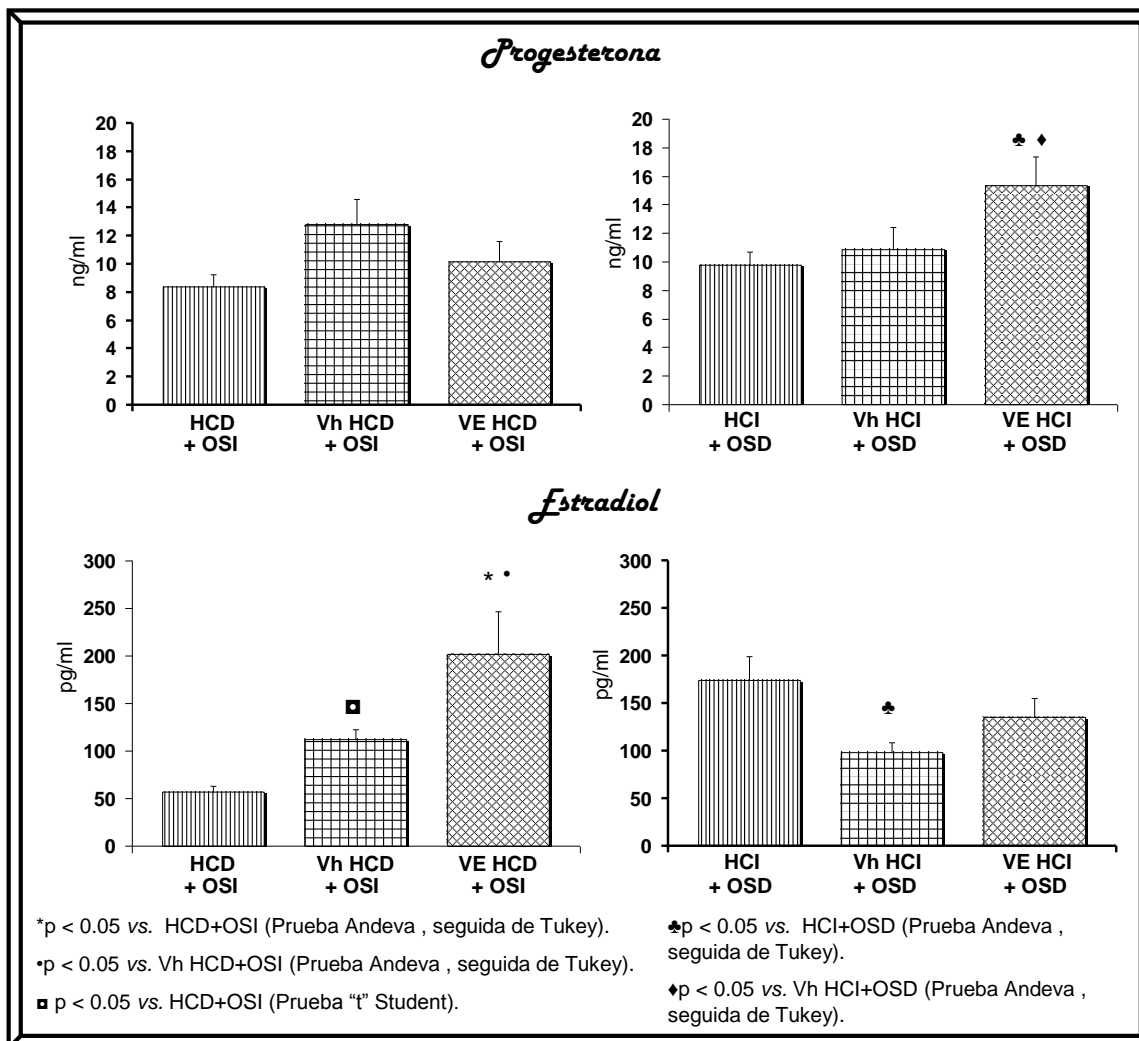


**Figura 23.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** de animales inyectados con Vh o VE a los 10 días y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Operación Simulada Izquierda (HCD+OSI; Vh HCD+OSI; VE HCD+OSI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la operación simulada derecha (HCI+OSD; Vh HCI+OSD; VE HCI+OSD) y autopsiados a los 90 días de edad.

## Hormonas Esteroides

La concentración de **Progesterona** mostró un incremento en el grupo con VE y hemicastrado del lado izquierdo más una operación simulada del lado derecho, en comparación con los otros dos grupos. En los animales inyectados con Vh o VE, la extirpación del ovario derecho y operación simulada izquierda no modificó la concentración de la hormona (Figura 24).

Los animales tratados con VE y hemicastrados del lado derecho y con una operación simulada contralateral, mostraron un incremento significativo en la concentración sérica de **Estradiol**, en comparación con los grupos inyectados con Vh o sin tratamiento farmacológico. Este aumento fue aún mayor que el que se observa cuando son tratados con el Vh. Los animales tratados con Vh y hemicastrados del lado izquierdo más la operación simulada derecha, presentaron una menor concentración de estradiol que el grupo sin inyección (Figura 24).



**Figura 24.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **Progesterona** y **Estradiol** de animales inyectados con Vh o VE a los 10 días y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más Sección del Nervio Ovárico Izquierdo (HCD+OSI; Vh HCD+OSI; VE HCD+OSI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la operación simulada derecha (HCI+OSD; Vh HCI+OSD; VE HCI+OSD) y autopsiados a los 90 días de edad.

## Peso de Ovarios

En las ratas inyectadas con VE, la extirpación del ovario derecho o izquierdo más la laparotomía contralateral disminuyó el peso absoluto y relativo del ovario *in situ* (Tabla 4).

**Tabla 4.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso absoluto (mg)** y **peso relativo (mg/100g de peso corporal)** del ovario izquierdo o derecho, de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o con valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más una operación simulada Izquierda (HCD+OSI; Vh HCD+OSI; VE HCD+OSI) ó Hemicastrados del lado Izquierdo más una operación simulada derecha (HCI+OSD; Vh HCI+OSD; VE HCI+OSD) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	Peso Absoluto del ovario		Peso Relativo del Ovario	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
HCD+OSI	67.0 $\pm$ 4.1	-	26 $\pm$ 1.3	-
Vh HCD+OSI	64.3 $\pm$ 4.7	-	24.6 $\pm$ 1.8	-
VE HCD+OSI	34.2 $\pm$ 3.4*•	-	14.9 $\pm$ 1.6*•	-
HCI+OSD	-	58.4 $\pm$ 3.4	-	23.7 $\pm$ 1.3
Vh HCI+OSD	-	56.6 $\pm$ 1.1	-	23.5 $\pm$ 0.6
VE HCI+OSD	-	44.5 $\pm$ 4.1♥♣	-	18.4 $\pm$ 1.8♥♣

(Prueba Andeva, seguida por la prueba de Tukey).

\* p < 0.05 vs. HCD+OSI ; • p < 0.05 vs. Vh HCD+OSI

♥ p < 0.05 vs. HCI+OSD ; ♣ p < 0.05 vs. Vh HCI+OSD



## Peso Relativo de Órganos

Las hembras tratadas con el VE y hemicastradas del lado derecho más laparotomía izquierda presentaron un menor peso corporal que su grupo testigo. La hemicastración izquierda o derecha en los animales tratados con VE no modificó el peso de la masa adrenal ni del útero. Sólo en los inyectados con Vh y hemicastrados del lado izquierdo y laparotomía derecha el peso del útero fue mayor, en comparación con los animales que no fueron inyectados (Tabla 5).

**Tabla 5.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal y del **peso relativo (mg/100g de p.c)** de la masa adrenal y útero de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más una operación simulada Izquierda (HCD+OSI; Vh HCD+OSI; VE HCD+OSI) ó Hemicastrados del lado Izquierdo más una operación simulada contralateral (HCI+OSD; Vh HCI+OSD; VE HCI+OSD) y autopsiados a los 90 días de edad.

<i>Grupo</i>	<i>Peso Corporal</i>	<i>Masa Adrenal</i>	<i>Útero</i>
HCD+OSI	257.4 $\pm$ 7.2	22.9 $\pm$ 0.9	149.2 $\pm$ 7.1
Vh HCD+OSI	262 $\pm$ 6.1	22.5 $\pm$ 0.6	157.7 $\pm$ 8.1
VE HCD+OSI	240.1 $\pm$ 7.1 <sup>▫</sup>	21.9 $\pm$ 1.3	166.8 $\pm$ 16.3
HCI+OSD	241.4 $\pm$ 6.4	24.2 $\pm$ 2.1	149.1 $\pm$ 7.3
Vh HCI+OSD	241.2 $\pm$ 6.0	23.7 $\pm$ 1.1	175.8 $\pm$ 6.8*
VE HCI+OSD	248.1 $\pm$ 9.1	23.1 $\pm$ 1.3	151.1 $\pm$ 7.8

▫ p < 0.05 vs. Vh HCD+OSI; \* p < 0.05 vs. HCI+OSD (Prueba Andeva, seguida por Tukey).

## *Resumen de Resultados*

<i>PARÁMETROS</i>	<i>VE HCD +OSI</i>	<i>VE HCI +OSD</i>
<b>Respuesta Ovulatoria</b>	↓	=
<b>LH</b>	↓	=
<b>FSH</b>	↓	↓
<b>P<sub>4</sub></b>	=	↑
<b>E<sub>2</sub></b>	↑	=
<b>Peso Corporal</b>	↓	=
<b>Peso de Ovarios</b>	<i>OI</i> ↓	<i>OD</i> ↓
<b>Masa Adrenal</b>	=	=
<b>Peso de Útero</b>	=	=

*vs. Vh HCD+OSI ó Vh HCI+OSD*

### **Experimento 3.**

*Efecto de la Hemicastración y de la Sección contralateral del Nervio Ovárico Superior en el animal juvenil, con Síndrome de Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y de hormonas esteroideas.*

#### **Respuesta Ovulatoria**

Ninguno de los animales hemicastrados del lado derecho y sometidos a la sección contralateral del Nervio Ovárico Superior (NOS) óvulo al llegar a la etapa adulta, mientras que el 38% lo hizo cuando se extirpó el ovario izquierdo (Tabla 6).

Alrededor del 30% de los animales tratados con Vh y hemicastrados del lado derecho o izquierdo más la sección del nervio ovárico contralateral ovularon por el ovario remanente (Tabla 6).

En las hembras con Síndrome del Ovario Poliquístico hemicastradas más la sección contralateral del nervio se presentó un bloqueo de la ovulación (Tabla 6).

**Tabla 6. Proporción de Animales Ovulantes** y media  $\pm$  e.e.m. del **número de ovocitos liberados** de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o con valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Sección del Nervio Ovárico contralateral (HCD+SNOI; Vh HCD+SNOI; VE HCD+SNOI) ó Hemicastrados del lado Izquierdo más una Sección del Nervio Ovárico contralateral (HCI+SNOD; Vh HCI+SNOD; VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupos	Proporción de animales ovulantes por ovario in situ		Número de ovocitos liberados por ovario in situ	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
HCD+SNOI	0/10	-	0	-
Vh HCD+SNOI	4/11*	-	10.5 $\pm$ 1.7	-
VE HCD+SNOI	0/10	-	0	-
HCI+SNOD	-	3/8	-	6.3 $\pm$ 3.4
Vh HCI+SNOD	-	3/10	-	9.3 $\pm$ 2.3
VE HCI+SNOD	-	0/10 <sup>*♦</sup>	-	0

\*p < 0.05 vs. HCD+SNOI (Prueba Fisher o Ji<sup>2</sup>)

♦p < 0.05 vs. HCI+SNOD (Prueba Fisher o Ji<sup>2</sup>)

♦p < 0.05 vs. Vh HCI+SNOD (Prueba Fisher o Ji<sup>2</sup>).

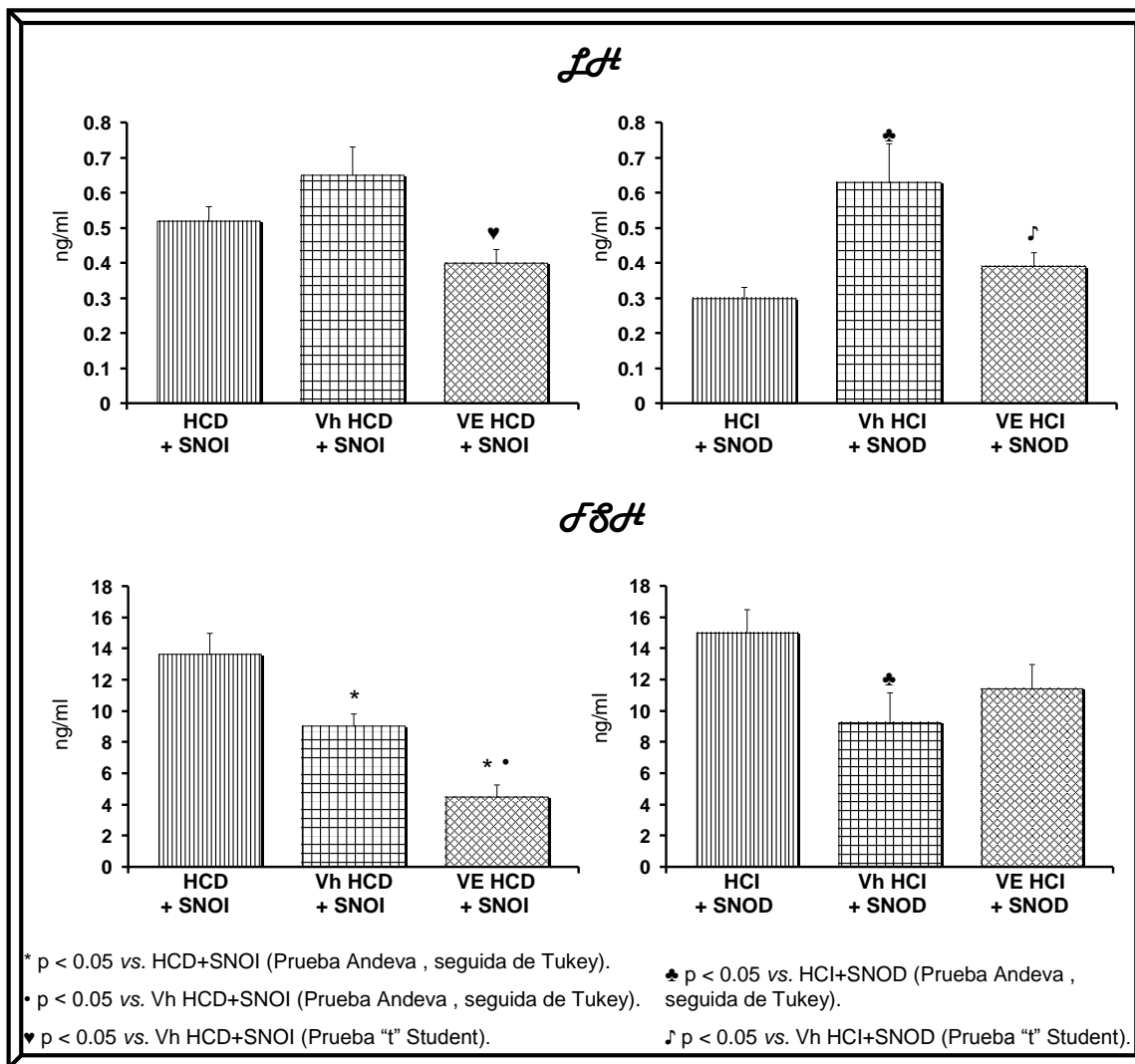
## Gonadotropinas

En el grupo con SOPQ y sometido a la hemicastración derecha más la sección del nervio ovárico superior izquierdo la concentración sérica de **LH** fue menor que en el grupo con la misma operación pero tratado con Vh (Figura 25).

En el grupo con Vh y hemicastración izquierda más sección del NOS derecho la concentración sérica de LH fue mayor respecto a su grupo con hemicastración izquierda y sección del NOS derecho, mientras que las ratas tratadas con VE mostraron una concentración menor de la hormona al compararlo con el grupo inyectado con Vh (Figura 25).

En las hembras inyectadas con Vh y sometidas a la extirpación del ovario izquierdo o derecho más la sección del nervio contralateral la concentración sérica de **FSH** fue menor en comparación con los respectivos grupos sin inyección y sometidos a las mismas cirugías (Figura 25).

En las ratas con SOPQ disminuyó la concentración de la hormona cuando el ovario extirpado fue el derecho y con sección del nervio ovárico izquierdo (Figura 25).

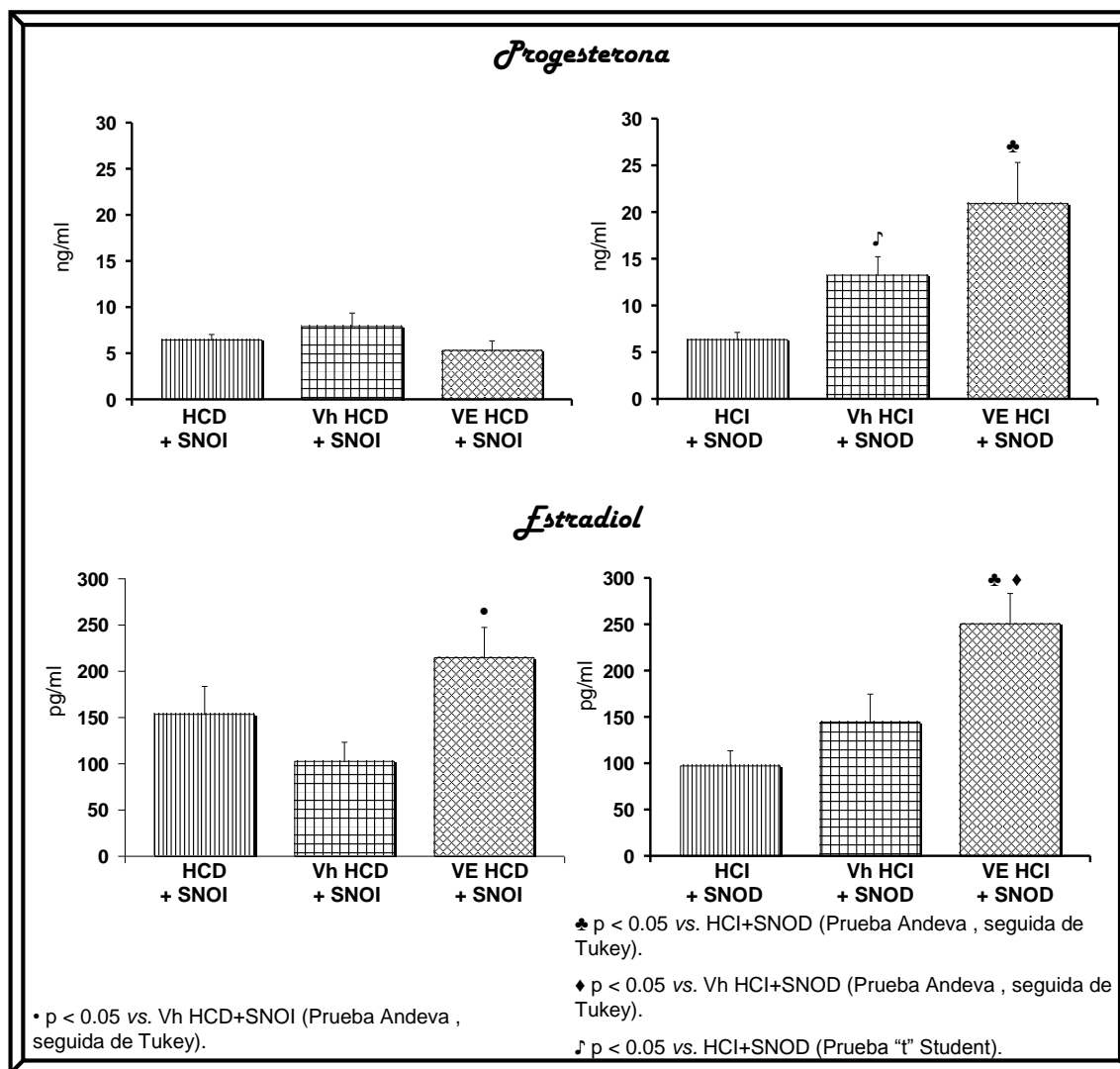


**Figura 25.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** de animales inyectados con vehiculo o valerato de estradiol a los 10 días y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo (HCD+SNOI; Vh HCD+SNOI; VE HCD+SNOI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la sección contralateral del Nervio Ovárico Superior (HCI+SNOD; Vh HCI+SNOD; VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

## **Hormonas Esteroides**

Las hembras inyectadas con Vh presentaron una concentración mayor de **Progesterona**, comparada con los animales que no fueron inyectados (Figura 26).

Los animales tratados con VE y hemicastrados del lado derecho o izquierdo más sección contralateral del NOS, mostraron un incremento significativo en la concentración sérica de **Estradiol**, en comparación con su grupo testigo (Figura 26).



**Figura 26.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **Estradiol** y **Progesterona** de animales inyectados con vehículo o valerato de estradiol a los 10 días y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo (HCD+SNOI; Vh HCD+SNOI; VE HCD+SNOI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la sección del Nervio Ovárico Superior Derecho (HCI+SNOD; Vh HCI+SNOD; VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.



## Peso de Ovarios

En las hembras tratadas con Vh la extirpación del ovario izquierdo o derecho más la sección contralateral del NOS no modificó el peso de la gónada remanente, al compararse con su respectivo grupo testigo. En cambio en las ratas tratadas con el VE el peso del ovario remanente fue menor, pero sólo llegó a ser significativo cuando el ovario extirpado fue el derecho. Este comportamiento se observa tanto en pesos absolutos como en pesos relativos (Tabla 7).

**Tabla 7.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso absoluto (mg)** y **peso relativo (mg/100g de p.c)** del ovario izquierdo o derecho, de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo (HCD+SNOI; Vh HCD+SNOI; VE HCD+SNOI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la sección del Nervio Ovárico Superior Derecho (HCI+SNOD; Vh HCI+SNOD; VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupo	mg del ovario		mg/100 g p.c del Ovario	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
HCD+SNOI	60.1 $\pm$ 6.4	-	25.3 $\pm$ 2.8	-
Vh HCD+SNOI	57.4 $\pm$ 2.3	-	22.2 $\pm$ 0.9	-
VE HCD+SNOI	32.6 $\pm$ 2.2*•	-	13.5 $\pm$ 0.8*•	-
HCI+SNOD	-	48.4 $\pm$ 4.3	-	21.1 $\pm$ 3
Vh HCI+SNOD	-	48.1 $\pm$ 4.2	-	19.4 $\pm$ 1.9
VE HCI+SNOD	-	38.2 $\pm$ 4.7	-	15.3 $\pm$ 1.9

\*p < 0.05 vs. HCD+SNOI ; •p < 0.05 vs. Vh HCD+SNOI  
(Prueba Andeva, seguida por la prueba de Tukey).

## **Peso Relativo de Órganos**

En los grupos con hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo inyectados o no con Vh o VE, no se encontraron cambios significativos en el peso corporal, siendo este efecto similar en los grupos con hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho, con y sin Vh o VE (Tabla 8).

No se encontraron diferencias significativas en la masa adrenal de los grupos tratados con hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo tratados o no con Vh o VE, ni en las ratas sometidas a la hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho inyectados o no con Vh o VE (Tabla 8).

En los grupos con hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo inyectados o no con Vh o VE, no se modificó el peso del útero al igual que en los grupos con hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho inyectados o no con Vh o VE (Tabla 8).

**Tabla 8.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal y del **peso relativo (mg/100g de p.c)** de la masa adrenal y útero de los grupos inyectados a los 10 días con vehículo o valerato de estradiol y a los 24 días de edad Hemicastrados del lado Derecho más la Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo (HCD+SNOI; Vh HCD+SNOI; VE HCD+SNOI), Hemicastrados del lado Izquierdo más la sección del Nervio Ovárico Superior Derecho (HCI+SNOD; Vh HCI+SNOD; VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

<i>Grupo</i>	<i>Peso Corporal</i>	<i>Masa Adrenal</i>	<i>Útero</i>
<b>HCD+SNOI</b>	239.4 $\pm$ 11.7	24.6 $\pm$ 2	185.6 $\pm$ 18
<b>Vh HCD+SNOI</b>	259.8 $\pm$ 6.4	23.8 $\pm$ 1.1	177.5 $\pm$ 8.5
<b>VE HCD+SNOI</b>	239.4 $\pm$ 11.7	23.7 $\pm$ 1.4	151.4 $\pm$ 17.7
<b>HCI+SNOD</b>	243.6 $\pm$ 14.3	25.2 $\pm$ 2.4	173.1 $\pm$ 3
<b>Vh HCI+SNOD</b>	248.6 $\pm$ 7.5	23.7 $\pm$ 1	168.2 $\pm$ 5.1
<b>VE HCI+SNOD</b>	250.7 $\pm$ 7.1	23.1 $\pm$ 1.6	147.1 $\pm$ 9.1

## *Resumen de Resultados*

<i>PARÁMETROS</i>	<i>VE HCD +SNOI</i>	<i>VE HCI +SNOD</i>
<b>Respuesta Ovulatoria</b>	=	↓
<b>LH</b>	↓	↓
<b>FSH</b>	↓	=
<b>P<sub>4</sub></b>	=	↑
<b>E<sub>2</sub></b>	↑	↑
<b>Peso Corporal</b>	=	=
<b>Peso de Ovarios</b>	<i>OI</i> ↓	<i>OD</i> =
<b>Masa Adrenal</b>	=	=
<b>Peso de Útero</b>	=	=

*vs. Vh HCD+SNOI ó Vh HCI+SNOD*

## Experimento 4.

*Análisis comparativo de la Operación Simulada y la Sección del Nervio Ovárico Superior, en la rata con Ovariectomía unilateral y Síndrome del Ovario Poliquístico, sobre la ovulación, las concentraciones de gonadotropinas y de hormonas esteroideas.*

### Respuesta Ovulatoria

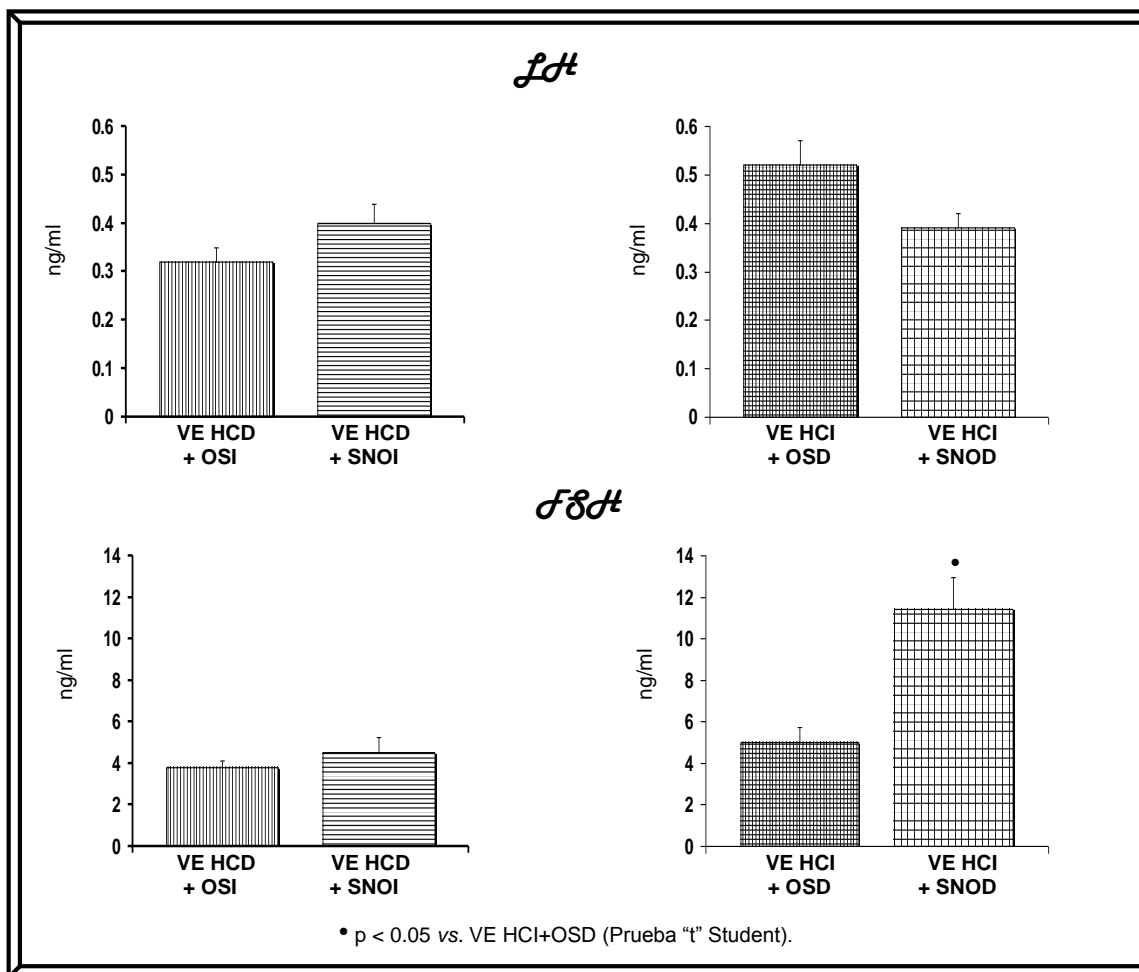
La sección del NOS izquierdo o derecho en los animales con SOPQ no modifica el bloqueo en la ovulación que se presenta por la inyección de VE (Tabla 9).

**Tabla 9. Proporción de Animales Ovulantes** y media  $\pm$  e.e.m. del **número de ovocitos liberados** de ratas inyectadas con VE a los 10 días y a los 24 días de edad con hemicastración derecha más operación simulada izquierda (VE HCD+OSI), hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo (VE HCD+SNOI), hemicastración izquierda más operación simulada derecha (VE HCI+OSD) o hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho (VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

Grupos	Proporción de animales ovulantes por ovario <i>in situ</i>		Número de ovocitos liberados por ovario <i>in situ</i>	
	Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
VE HCD+OSI	0/10	-	0	-
VE HCD+SNOI	0/10	-	0	-
VE HCI+OSD	-	2/10	-	( 8 ) ( 17 )
VE HCI+SNOD	-	0/10	-	0

## Gonadotropinas

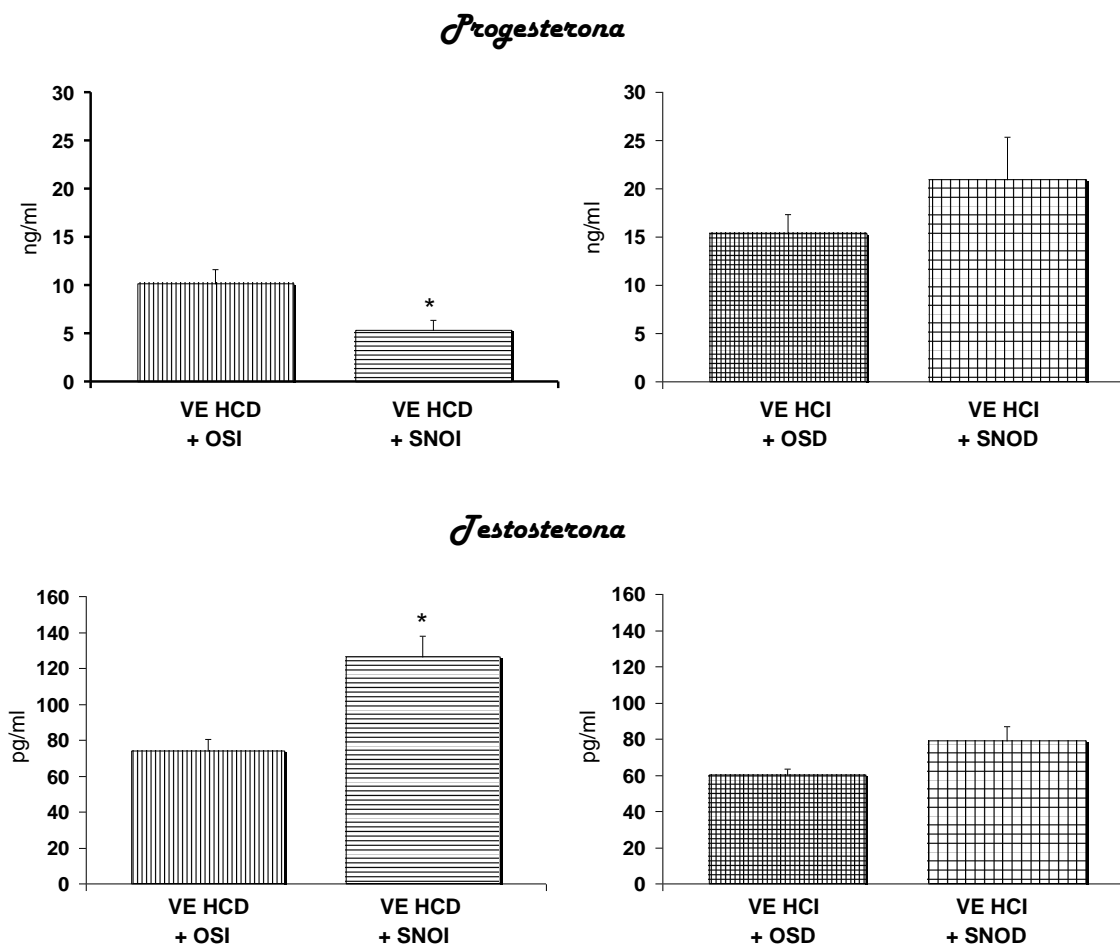
En los animales con SOPQ y hemicastrados, la sección del NOS izquierdo o derecho no modificó de manera significativa la concentración sérica de **LH**, mientras que la sección del NOS derecho resultó en una concentración mayor de la **FSH** (Figura 27).



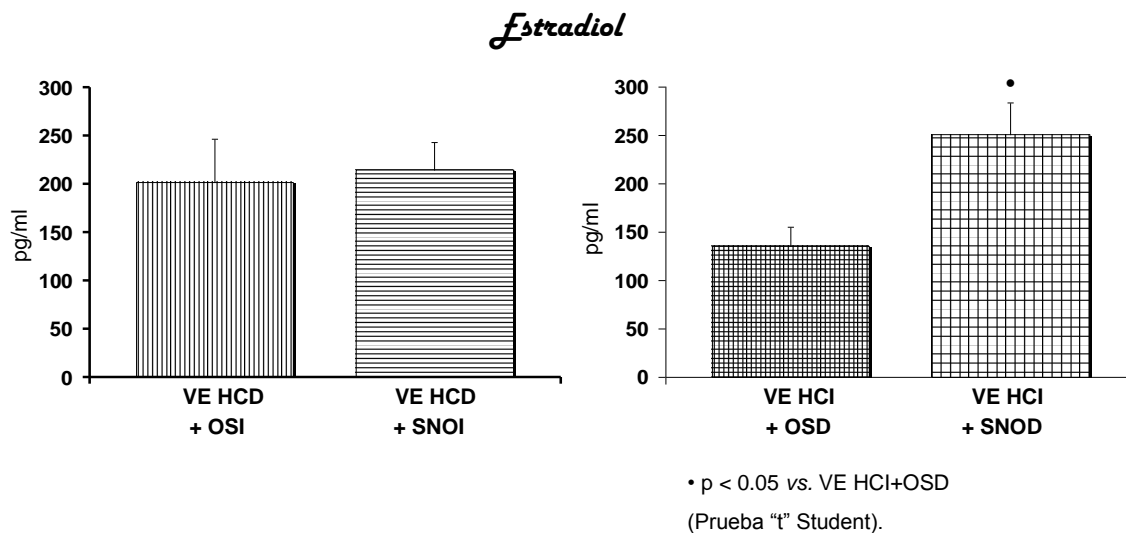
**Figura 27.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **LH** y **FSH** de animales inyectados con VE a los 10 días y a los 24 días de edad hemicastración derecha más operación simulada izquierda (VE HCD+OSI), hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo (VE HCD+SNOI), hemicastración izquierda más operación simulada derecha (VE HCI+OSD) o hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho (VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

## Hormonas Esteroides

En la figura 28 se observa que los animales inyectados con VE y con hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo presentaron una concentración menor de **Progesterona** mientras que en la concentración de **Testosterona** fue mayor. La concentración sérica de **Estradiol** es mayor en el grupo VE con hemicastración izquierda más sección del NOS derecho, comparado con su grupo testigo.



\* $p < 0.05$  vs. VE HCD+OSI  
(Prueba "t" Student).



**Figura 28.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de **Estradiol**, **Progesterona** y **Testosterona** de animales inyectados con VE a los 10 días y a los 24 días de edad hemicastración derecha más operación simulada izquierda (VE HCD+OSI), hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo (VE HCD+SNOI), hemicastración izquierda más operación simulada derecha (VE HCI+OSD) o hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho (VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.



## Peso de Ovarios

En los animales con SOPQ y hemicastrados, la sección del NOS izquierdo o derecho no modificó el peso absoluto o relativo del ovario remanente comparado con su correspondiente grupo con operación simulada (Tabla 10).

**Tabla 10.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso absoluto (mg)** y **peso relativo (mg/100g de peso corporal)** del ovario izquierdo o derecho, de los grupos inyectados a los 10 días con VE y a los 24 días de edad hemicastración derecha más operación simulada izquierda (VE HCD+OSI), hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo (VE HCD+SNOI), hemicastración izquierda más operación simulada derecha (VE HCI+OSD) o hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho (VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

<i>Grupo</i>	<i>Peso Absoluto del ovario</i>		<i>Peso Relativo del Ovario</i>	
	<i>Izquierdo</i>	<i>Derecho</i>	<i>Izquierdo</i>	<i>Derecho</i>
VE HCD+OSI	34.2 $\pm$ 3.4	-	14.9 $\pm$ 1.6	-
VE HCD+SNOI	32.6 $\pm$ 2.2	-	13.5 $\pm$ 0.8	-
VE HCI+OSD	-	44.5 $\pm$ 4.1	-	18.4 $\pm$ 1.8
VE HCI+SNOD	-	38.2 $\pm$ 4.7	-	15.3 $\pm$ 1.9

## Peso Relativo de Órganos

En los grupos inyectados con VE y hemicastrados más sección del nervio ovárico contralateral, no se modificó el peso corporal, ni la masa adrenal ni el útero, al compararse con su grupo con operación simulada (Tabla 11).

**Tabla 11.** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal y el **peso relativo** de la masa adrenal y útero de animales inyectados con VE a los 10 días y a los 24 días de edad hemicastración derecha más operación simulada izquierda (VE HCD+OSI), hemicastración derecha más sección del nervio ovárico superior izquierdo (VE HCD+SNOI), hemicastración izquierda más operación simulada derecha (VE HCI+OSD) o hemicastración izquierda más sección del nervio ovárico superior derecho (VE HCI+SNOD) y autopsiados a los 90 días de edad.

<i>Grupo</i>	<i>Peso Corporal</i>	<i>Masa Adrenal</i>	<i>Útero</i>
VE HCD+OSI	240.1 $\pm$ 7.1	21.9 $\pm$ 1.3	166.8 $\pm$ 16.3
VE HCD+SNOI	239.4 $\pm$ 11.7	23.7 $\pm$ 1.4	151.4 $\pm$ 17.7
VE HCI+OSD	248.1 $\pm$ 9.1	23.1 $\pm$ 1.3	151.1 $\pm$ 7.8
VE HCI+SNOD	250.7 $\pm$ 7.1	23.1 $\pm$ 1.6	147.1 $\pm$ 9.1

## *Resumen de Resultados*

<i>PARÁMETROS</i>	<i>VE</i> <i>HCD</i> <i>+SNOI</i>	<i>VE</i> <i>HCI</i> <i>+SNOD</i>
<b>Respuesta Ovulatoria</b>	=	=
<b>LH</b>	=	=
<b>FSH</b>	=	↑
<b>P<sub>4</sub></b>	↓	=
<b>T</b>	↑	=
<b>E<sub>2</sub></b>	=	↑
<b>Peso Corporal</b>	=	=
<b>Peso de Ovarios</b>	<i>OI</i> =	<i>OD</i> =
<b>Masa Adrenal</b>	=	=
<b>Peso de Útero</b>	=	=

*vs. VE HCD+OSI ó VE HCI+OSD*

## ***DISCUSIÓN***

En la hembra con SOPQ, la ovariectomía unilateral seguida de la sección del NOS del ovario *in situ* no reestableció la respuesta ovulatoria, que se acompañó por una disminución en la concentración sérica de LH y aumento en la de  $E_2$ , lo que sugiere que el NOS es una de las vías que mantiene en comunicación a los ovarios.

En estudios previos de nuestro laboratorio la administración de una dosis de VE a ratas de 10, 14 ó 21 días de edad resulta en un adelanto en el inicio de la pubertad (Rosas, 2006). Esta respuesta es similar a la obtenida en el presente estudio, donde tanto la edad de la apertura vaginal como la del primer estro mostraron un adelanto, además de un incremento en la concentración sérica de estradiol. En la rata, la administración del VE, que es un estrógeno de larga actividad (Stener-Victorin y col., 2000), es la responsable de la mayor actividad estrogénica que estimula la proliferación y cornificación del epitelio, lo que desencadena la ruptura de la membrana vaginal (Wuttke y col., 2004).

A la fecha es controversial el efecto de la administración del VE sobre la secreción de gonadotropinas. Hay quienes postulan que ambas gonadotropinas aumentan (Schulster y col., 1984) o disminuyen (Lara, 2000), mientras que otros indican que FSH disminuye y LH permanece normal (Shirwalkar y col., 2007). El grupo de Francou (2008) mostró que la administración de este estrógeno induce disminución en la densidad y proliferación de los gonadotropos en la hipófisis de estos animales, lo que se vería reflejado en la alteración de la concentración de gonadotropinas. En el presente estudio observamos que la

concentración de FSH disminuyó y la de LH no se modificó. Esto podría ser explicado por el aumento en la concentración de E<sub>2</sub>, el cual al actuar en el hipotálamo establece una retroalimentación inhibitoria sobre la secreción de FSH. Al momento, no contamos con apoyo bibliográfico para explicar el porque en el animal con SOPQ no se modifica la LH.

La inducción del SOPQ por la administración del VE, no modificó el peso del útero, aún cuando hay aumento en el estradiol. Esto podría indicar que disminuyó el número de receptores a estradiol, o la sensibilidad del útero al esteroide. En apoyo a esta interpretación se ha mostrado que los receptores a estradiol varían en función del estado fisiológico del animal (Chávez y col., 2002).

La ausencia de ovulación, en respuesta a la administración de VE, es similar a la descrita por otros autores (Rosa-E-Silva y col., 2003; Rosas, 2006). En nuestros animales tratados con VE, la disminución en la concentración sérica de FSH podría ser la responsable de un menor desarrollo folicular y explicar la falta de ovulación.

Los grupos de Brawer (1986) y de Stener-Victorin (2000) al usar como modelo a la rata adulta inyectada con VE, observaron un menor peso y tamaño de los ovarios. Esta respuesta fue similar a la encontrada en el presente estudio y sugerimos que podría ser explicado por un menor número de folículos en crecimiento, producto de las bajas concentraciones de FSH y por la ausencia del compartimiento luteal (reflejo de la falta de ovulación).

Estudios previos de nuestro laboratorio muestran que en la rata con SOPQ, la sección unilateral o bilateral del NOS resulta en una menor concentración de estradiol (Linares, 2006). Esta respuesta difiere si

aunado a la denervación se realiza, en el mismo acto quirúrgico, la ovariectomía unilateral. En este modelo experimental, la sección del nervio ovárico superior del ovario *in situ* modula de manera asimétrica la secreción de E<sub>2</sub>, donde el NOS derecho regula de manera inhibitoria la secreción de esta hormona, mientras que el NOS izquierdo no parece participar.

Rosa-E-Silva y colaboradores en el 2003 mostraron que en la rata con SOPQ, la sección bilateral del NOS disminuyó la concentración sérica de FSH y de LH, comparado con animales inyectados con Vh más sección bilateral del NOS. Los autores atribuyen este comportamiento a la falta de información que transcurre por el NOS. En el presente estudio, en las hembras con SOPQ la ovariectomía unilateral más la sección del NOS del ovario *in situ*, resultó en una disminución de la concentración sérica de FSH y LH, comparada con el grupo inyectado con aceite de maíz y sometido a la misma cirugía. Dado que la diferencia entre estos dos grupos es la presencia del VE, sugerimos que en el animal con hemicastración, la caída en la concentración de las gonadotropinas podría resultar de la acción de los estrógenos circulantes sobre el hipotálamo, ejerciendo una retroalimentación inhibitoria sobre la secreción de la GnRH y por ende de las gonadotropinas (Matalliotakis y col., 2006).

Carriere y col., en 1988 mostraron que los animales con SOPQ y ovariectomía bilateral presentan menor concentración de gonadotropinas respecto al animal sin el síndrome y sometido a la misma operación. En nuestro modelo experimental, los animales con SOPQ y sometidos a la ovariectomía unilateral más una operación simulada del ovario *in situ*, es decir conserva intacto el NOS, también

resultó en una caída de la concentración de las gonadotropinas. Debido a esto, la patología del SOPQ no puede ser explicada exclusivamente por la falta de la información neural que transcurre por el NOS.

En el SOPQ se ha atribuido la falta de ovulación a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el NOS, de manera que cuando a ambos ovarios se les priva de esta fuente nerviosa resulta una ovulación normal (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Sin embargo, resultados previos de nuestro laboratorio muestran que cuando se realiza la denervación unilateral del NOS, es el ovario inervado el que ovula y no lo hace el denervado, aún cuando presenta una menor concentración de NA (Linares, 2006). Estos resultados nos permiten sugerir que la ovulación no depende únicamente de la concentración de NA. En apoyo a esta idea, se ha visto que en la rata con SOPQ, la eliminación de la información catecolaminérgica, inducida por la administración de guanetidina (se eliminan las fibras noradrenérgicas pero quedan intactas las fibras peptidérgicas) no es capaz de restablecer la ovulación (Ruiz, 2009).

Por otra parte, se ha sugerido que la inervación sensorial que recibe el ovario está participando en el desarrollo del SOPQ. Así, el grupo de Krishna en el 2001, mostró en el ovario de los animales con SOPQ, inducido por la administración de dihidroepiandrosterona (DHEA), una mayor densidad de las fibras nerviosas positivas al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), péptido característico de las fibras sensoriales.

En nuestro modelo del animal con SOPQ y con ovariectomía unilateral más laparotomía o sección del NOS del ovario *in situ*, se observó bloqueo de la ovulación. Es posible que esto sea el reflejo del

escaso desarrollo folicular, como respuesta a la baja concentración de FSH, lo que se traduciría en la falta de ovulación, como se mencionó anteriormente. Las bajas concentraciones de FSH no permiten un adecuado crecimiento folicular, ni ejercer el efecto de rescate de la atresia de los folículos, por lo que habría una menor población de folículos preovulatorios que serían incapaces de ovular por la baja concentración de LH. O bien, lo que puede estar presente en los ovarios son quistes foliculares, los cuales carecen de ovocito.

En las hembras con ovariectomía unilateral y sección del NOS, privamos al ovario *in situ* del aporte de VIP, por lo que es más fácil que se incremente la atresia. Al respecto, el grupo de Flaws (1995) mostró que el cultivo de los ovarios previamente estimulados con eCG (gonadotropina coriónica equina), la adición de VIP rescata a los folículos de la atresia.

En la rata adulta la secreción de las hormonas ováricas se produce de manera asimétrica (Flores y col., 2006; Cruz y col., 2006; Flores y col., 2008). En la rata con SOPQ con ovariectomía unilateral y sección del NOS del ovario *in situ*, la secreción de  $P_4$  es modulada de manera estimulante por el NOS izquierdo, y no parece ser fundamental la información que transcurre por el NOS derecho. En el grupo con SOPQ y con ovariectomía derecha más sección del NOS izquierdo disminuyó la concentración de  $P_4$ , esto posiblemente sea el resultado de su biotransformación hacia T, lo que explicaría las altas concentraciones de esta hormona. En cambio, parece ser que cuando se seccionó el NOS derecho el proceso de biotransformación de la  $P_4$  a T es más lento por lo que nuestros resultados nos permiten sugerir que el ovario izquierdo es más eficiente en la transformación de  $P_4$  a T. Aún cuando el ovario *in*



*situ* carece de la información catecolaminérgica proveniente del NOS, no podemos descartar la participación de las catecolaminas en el proceso de esteroidogénesis, ya que por una parte sigue presente el plexo ovárico y por otra, estarían las catecolaminas aportadas por las neuronas intrínsecas del ovario (Leung y Adashi, 2004).

Otro de los factores que participa en el control de la esteroidogénesis es el VIP. Al parecer, en la rata con el SOPQ este péptido es un candidato más para explicar el origen del incremento en la concentración de esteroides característico de la patología. El grupo de Parra en el 2007 cultivó células de la granulosa de ovarios de ratas con SOPQ en presencia de VIP y observó incremento en la secreción de estradiol y de andrógenos, comparado con el cultivo de las células sin VIP. Nuestro grupo de trabajo recientemente mostró que en la rata púber con SOPQ, al dejar intactas las fibras VIPérgicas y eliminar las noradrenérgicas por la administración de la guanetidina, se incrementó en un 50% la concentración de  $P_4$  y en un 300% la de  $E_2$  (Ruiz, 2009). Este conjunto de evidencias apoyan la hipótesis de que en el animal con SOPQ la esteroidogénesis se ve aumentada por efecto del VIP y no sólo por la NA. En nuestro modelo con SOPQ y sometida a la ovariectomía unilateral y sección del NOS, se observó aumento en la concentración de  $E_2$ , comparado con un animal sin el síndrome. Al momento no tenemos una explicación a este hecho, ya que se esperaba que al quedar el ovario *in situ* privado de la principal fuente de VIP, debería de haber disminuido la concentración de esteroides. Una alternativa podría ser que al quedar el ovario libre del control simpático ejercido por el NOS, se "active" el nervio vago el cual transporta entre otros péptidos al VIP.

Dado que previamente se estableció que en el animal con SOPQ que tiene ambas gónadas y sección unilateral del NOS, la ovulación ocurre en el ovario que mantiene intacto dicho nervio, y que esta respuesta se debe a una comunicación entre los ovarios, nuestro modelo experimental nos permitió establecer que el NOS es una de las vías de comunicación entre los ovarios, debido a que el ovario *in situ* no ovuló al carecer de la información que transcurre por el NOS.

En conclusión, podemos señalar que en el desarrollo del SOPQ no sólo se debe considerar la información simpática, sino que se tendría que tener en cuenta la información sensorial y parasimpática que llega al ovario.

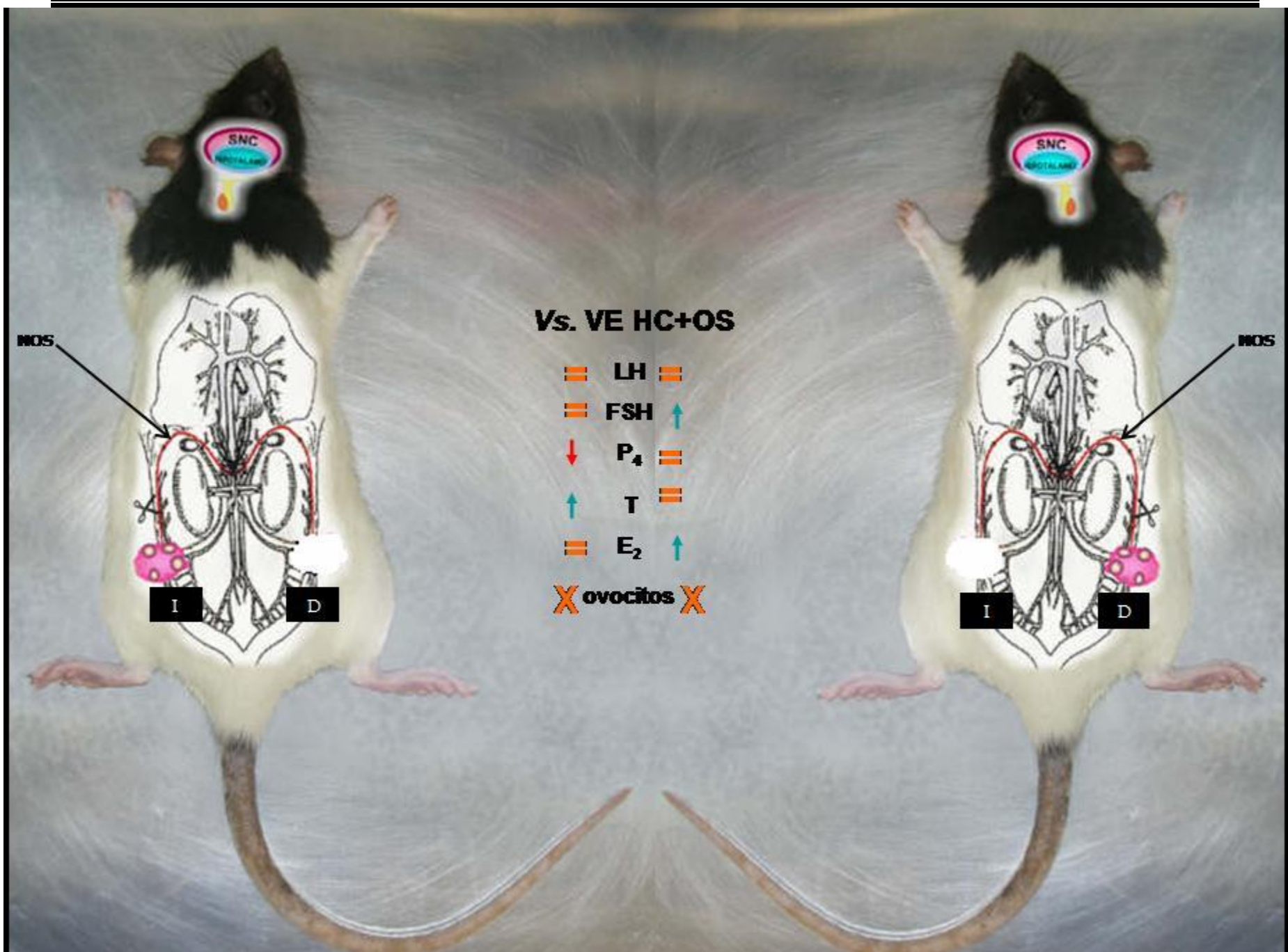


Figura 29. Vista dorsal de la rata con SOPQ, con ovariectomía unilateral y sección del nervio ovárico superior del ovario *in situ*.

En la Figura 29. Se muestra el modelo utilizado en este estudio. Animales con SOPQ y con ovariectomía unilateral más sección del NOS en el ovario *in situ*, las comparaciones se realizaron con respecto a los animales inyectados con el VE y con ovariectomía unilateral pero sin sección del NOS. Como se puede apreciar los cambios en las concentraciones hormonales son asimétricas. En estos animales no se observó ovocitos en los oviductos. Esto nos podría indicar que el NOS es una importante vía de comunicación entre ovarios.

## CONCLUSIONES

En la rata con SOPQ, con ovariectomía unilateral y sección del NOS del ovario *in situ*:

- Se presenta una respuesta asimétrica en la secreción de estradiol y FSH, donde el NOS derecho modula de manera inhibitoria la secreción de estas hormonas, mientras que el NOS izquierdo no parece participar.
  
- La secreción de P<sub>4</sub> es modulada de manera estimulante por el NOS izquierdo, y no parece ser fundamental la información que transcurre por el NOS derecho.
  
- El ovario izquierdo es más eficiente en la biotransformación de P<sub>4</sub> a T.
  
- En el modelo del animal con SOPQ, el NOS es una de las vías de comunicación entre las gónadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✦ Abdel GA, Khatim MS, Mowafi RS, Alzaid HGN, Sham RW. (1991) "Polycystic ovaries: Do these represent a specific endocrinopathy?". **Gynecology Obstetrics.** 98:300-305
- ✦ Aguado LI y Ojeda SR. (1984) "Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion". **Endocrinology.** 114 (5):1944-1946
- ✦ Aguado LI. (2002) "Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function". **Microscopy Research and Technique.** 59: 462-473
- ✦ Arizaga HC. (2007) "Monografía, Síndrome Ovario Poliquístico". 1ra Cátedra de Clínica Médica y Terapéutica Facultad de Ciencias Médicas. **Universidad Nacional de Rosario.** 1-11
- ✦ Barco A, Flores A, Chavira R, Matsumura PD, Domínguez R y Cruz ME. (2003) "Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormonal secretion by the *in situ* ovary". **Endocrine.** 21:(3) 209-215
- ✦ Barria A, Leyton V, Ojeda SR, Lara HE. (1993) "Ovarian steroidal response to gonadotropins and b-adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovarian syndrome. Role of the sympathetic innervation". **Endocrinology.** 133:2696-2703

- ✦ Best y Taylor. (2003) "Bases fisiológicas de la práctica médica". 13ª Edición. Editorial **Médica Panamericana**. Madrid-España. 659, 663-664
- ✦ Brawer JR, Farookhi R y Hemmings R. (1986) "Unilateral ovariectomy restores ovulatory ciclicity in rats whit a polycystic ovarian condition". **Biology of Reproduction**. 32:530-540
- ✦ Brown RE. (1994) "Introduction to neuroendocrinology". **Cambrige University Press**. Great Britain, 40-55
- ✦ Burden HW. (1978) "Ovarian innervation". En: Jones R E (ed.) **The Vertebrate Ovary Comparative Biology**. Plenium Press. New York. 615-628
- ✦ Burden HW. (1985) "The adrenergic innervation of mammalian ovaries" En: Ben-Jonathan N, Barh J M, Weiner R I (eds.) **Catecholamines as Hormone Regulator**. Raven Press. New York. 261-278
- ✦ Carriere P, Brawer J, Farookhi R. (1988) "Pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor content in rats with polycystic ovaries". **Biology of Reproduction**. 38, 562-567
- ✦ Chávez R, Domínguez R. (1994) "Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle". **Journal of Endocrinology**. 140: 197-201

- ✦ Chavez R, Crutcher K, Viettro L, Richeri A, Brauer MM. (2002) "Differential effects of oestrogen on developing and mature uterine sympathetic nerves. **Cell Tissue Research.** 308:61-73
- ✦ Cormack D. (1987). "Histología de HAM". 9ª Edición. Editorial **Harla.** México. 774-775
- ✦ Crafts RC. (1996) "Anatomía Humana Funcional". **Noriega editores.** México. 328-332
- ✦ Cruz E, Flores A, Domínguez R (2006) "The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model". **Reproductive Biology and Endocrinology.** 4:43
- ✦ Dahl W, Flaskamp W. (1937) "Innervation der weiblichen geschlechtsorgane". In: Muller LR, editor. **Vegatative nervensystem.** Madrid: Labor. 719-736 En: Ojeda y D´Albora 2002
- ✦ Devlin TM. (2000) "Bioquímica" 3ª Edición. Editorial **Reverté.** Barcelona. (2):894-909
- ✦ Díaz BN. (2004) "Bioquímica básica de las hormonas esteroideas: biología y clínica del cáncer". **Departamento de Bioquímica y Fisiología.** Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 1-17
- ✦ Díaz JC, Hicks JJ. (1995) "Bioquímica". 2a Edición. Editorial **Interamericana.** México. 606-639



- ✦ Díaz JC, Juárez MA. (2007) "Bioquímica". Editorial **Mc Graw Hill/Interamericana**. México. 586-595
- ✦ Dissen A, Ojeda R. (1999) "Ovarian Innervation". En: Knobil E, Nelly J (Eds.) **Encyclopedia of the Reproduction**. Academic Press. USA. 3:583-589
- ✦ Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. (1991) "La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico". En: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. **Miguel Ángel Porrua**. México. 161-192
- ✦ Domínguez R, Cruz ME y Sánchez M. (2001) "Asimetrías funcionales del sistema reproductor". Biología de la reproducción II. Ed. Javier Velásquez. **UAM – PUIS**. 75-91
- ✦ Domínguez R, Morales L, Cruz ME. (2003) "Ovarian Asymmetry". **Biomedical Science**. 5:95-104
- ✦ Erickson GF. (1991) "Folliculogenesis in polycystic ovary syndrome". En: Polycystic ovary syndrome. **Blackwell Scientific**. Boston. 111-128
- ✦ Farookhi R, Hemmings R, Brawer JR. (1985) "Unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicity in rats with a polycystic ovarian condition". **Biology of Reproduction**. 32:530-540
- ✦ Fawcett D. (1995) "Tratado de Histología". 12ª Edición. Editorial **Interamericana**. Madrid. 886-894

- ✦ Flaws JA, Desanti A, Tilly KI. (1995) "Vasoactive intestinal peptide-mediated suppression of apoptosis in the ovary: potential mechanisms of action and evidence of a conserved antiatretogenic role through evolution". **Endocrinology**. 10(136): 4351-4359
- ✦ Flores A, Rodríguez J, Domínguez R. (2006) "The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system". **Reproductive Biology and Endocrinology**. 4:11
- ✦ Flores A, Gallegos AI, Velasco J, Domínguez R. (2008) "The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed". **Reproductive Biology and Endocrinology**. 6:48
- ✦ Francou M, Durdos M, Salvetti NR. (2008) "Characterization of pituitary cell populations in rats with induced polycystic ovaries". **Cells Tissues Organs**. 188(3):310-9
- ✦ Gallardo M, Cuixart L, Fuentes S. (2006) "Síndrome del Ovario Poliquístico"; Guías Clínicas; Barcelona España; 6 (22)
- ✦ Ganong W. (2000) "Fisiología Médica". 19ª Edición. Editorial **El Manual Moderno**. México D.F. 481-496
- ✦ Geneser F. (2000) "Órganos de la Reproducción". En: Histología sobre Bases Moleculares. 3ra edición. Editorial **Médica-Panamericana**. Buenos Aires. 22: 613-638

- ✦ Gerendai I, Kocsis K, Halász B. (2002) "Supraspinal connections of the ovary: Structural and functional aspects". **Microscopy Research and Technique.** 59:474-483
- ✦ Gómez RA. (2006) "Síndrome de ovario poliquístico en la adolescencia". Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. **Revista de Endocrinología y Nutrición.** 14(1):13-19
- ✦ Guyton AC, Hall, JE (2001) "Tratado de Fisiología Médica". 10ª Edición. **McGraw Hill-Interamericana.** México. 1117-1129
- ✦ Klein CM, Burden HW. (1989) "Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary". **Neuroscience Letters.** 85:217-222
- ✦ Krishna A, Rifai A, Hubner B. (2001) "Increase in calcitonin gene related peptide (CGRP) and decrease in mast cells in dihydroepiandrosterone (DHEA)-induced polycystic rat ovaries". **Anatomical Embryology.** 203:375-382
- ✦ Lara HE, Dees WL, Hiney JK, Dissen GA, Rivier C, Ojeda SR. (1991) "Functional recovery of the developing rat ovary after transplantation: contribution of the extrinsic innervation". **Endocrinology.** 129:1849-1860
- ✦ 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, Dissen GA, Leyton V. (2000) "An increased intraovarian synthesis of 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.
- ✦ Lawrence IE Jr. y Burden HW. (1980). "The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary". **Anatomical Record.** 196:51-59
- ✦ Leung P, Adashi E. (2004) "The Ovary". Capítulo 1. Neural and Neurotrophic Control of Ovarian Development. 2a Edición. **Academic Press.** 1-23
- ✦ Linares R. (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.
- ✦ Malishevskaja VA y Brindak OI. (1980) "Arkhiv Anatomii". **Gistologii I Embriologii.** (79):95-99
- ✦ Marques MJ. (2001) "Estadística básica un enfoque no paramétrico" **UNAM.** México

- ✦ Matalliotakis I, Kourtis A, Koukoura O. (2006) "Polycystic ovary syndrome: ethiology and pathogenesis". **Gynecology Obstetrics**. 274:187-197
- ✦ Miller K, Levine J. (2004) "Biología". **Prentice Hall**. New Jersey. 1009, 1011-1014
- ✦ Morales L, Domínguez R, Chávez R. (1993) "Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve". **Medical Science Research**. 21:15-17
- ✦ Morán C, Hernández M, Cravioto M. (2006) "Síndrome de ovario poliúístico". Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. Rev. **Endocrinología y Nutrición** 14:(1)
- ✦ Murray RK, Mayes PA, Granner DK. (2001) "Bioquímica de Harper". Editorial **El manual moderno**. México. 679-687
- ✦ Ojeda R, D' Alhora H. (2002) "Intrinsic neurons in mammalian ovary". **Microscopy Research and Technique**. 59:484-489
- ✦ Parra C, Fieldler J, Luna S. (2007) "Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary". **Society for Reproduction and Fertility**. 133:147-154
- ✦ Pedernera E. (1993) "Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides". En: Comunicación neuroendocrina. Editado por: **Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas**. México. 33-46

- ✦ Ramírez D. (2007) "Efecto agudo de la ovariectomía unilateral en la rata juvenil, sobre la esteroidogénesis y la respuesta compensadora del ovario". **Tesis de Licenciatura**. UNAM. FES Zaragoza.
- ✦ Ricu M, Paredes A, Greiner M, Ojeda SR, Lara H. (2008) "Functional development of the ovarian noradrenergic innervation". **Endocrinology**. 149(1):50-56
- ✦ Rosa-E-Silva A, Guimares MA, Padmanabhan V. (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(10):4289-4297
- ✦ Rosas G. (2006) "Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción de hormonas esteroides". **Tesis de Licenciatura**. UNAM. FES Zaragoza.
- ✦ Ross M, Kaye G, Paulina W. (2005). "Histología texto y atlas a color con biología celular y molecular". 4ª edición. Editorial **Médica Panamericana**. Buenos Aires. 735, 736
- ✦ Ruiz KV. (2009) "Efecto de la denervación catecolaminérgica del ovario, realizada desde la etapa infantil, sobre el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico en la rata". **Tesis de Licenciatura**. UNAM. FES Zaragoza.
- ✦ Salas M, Torrero C, Pulido S, Pérez H. (1991) "Acciones neurotrópicas de las hormonas tiroideas durante la ontogenia neural". En: **Ontogenia neuronal, aspectos corporativos y mecanismos de regulación**. 177-198

- ✦ Schmidt G, Jorgensen J, Owman C. (1991) "The influence of neuropeptide Y and norepinephrine on ovulation in the rat ovary". **Peptides.** 12(5): 975-982
- ✦ Schulster A, Farookhi R, Brawer J. (1984) "Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: Spontaneous changes in characteristic endocrine features". **Biology of Reproduction.** 31:587-593
- ✦ Shirwalkar H, Modi D, Maitra A. (2007) "Exposure of adults rats to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles". **Molecular and Cellular Endocrinology.** 272:22-37
- ✦ Sotomayor R, Dorfman M, Lara E. (2008) "Neonatal exposure to estradiol valerate programs ovarian sympathetic innervation and follicular development in the adult rat". **Biology of Reproduction.** 78: 673-680
- ✦ Stener-Victorin E, Lundenberg T, Janson PO. (2000) "Effects of electroacupuncture on nerve growth factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycystic ovaries". **Biology of Reproduction.** 763: 1497-1503
- ✦ Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson B. (2005) "Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity". **Reproductive Biology and Endocrinology.** 3:44
- ✦ Stener-Victorin E, Jedel E, Manneras L. (2008) "Acupuncture in polycystic ovary syndrome: Current experimental and clinical evidence". **Journal of Neuroendocrinology.** 20: 290-298

- ✦ Tresguerres J.A.F. (1999) "Fisiología Humana". Segunda edición. Editorial **Mc Graw Hill interamericana**. Madrid. 1020-1032
- ✦ Trujillo A, Morales L, Domínguez R. (2004) "Effects of Capsaicin treatment on the regulation of ovarian compensatory hipertrophy and compensatory ovulation". **Endocrine**, 25: (2), 155-162
- ✦ Yen SSC. (2001) "Síndrome del Ovario Poliquístico: Anovulación Crónica Hiperandrogenica". En: Endocrinología de la Reproducción. 4ª edición. (Eds.) Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri RL. Editorial **Médica Panamericana**. Buenos Aires. Cap. 17. 465-510
- ✦ Winterhalter EH. (1896) "Ein sympathisches ganglion im menschlichen ovarium". **Arch Gyna"kol**. 51:49-55. En: Ojeda y D´Albora 2002.
- ✦ Wuttke D, Jarry H, Wuttke W. (2004) "Pure estrogenic effect of benzophenone-2(BP2) but not of bisphenol A (BPA) and dibutylphtalate (DBP) in uterus, vagina and bone"; **Toxicology**. 205:103-112