

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

### LABORATORIO DE BIOLOGÍA DEL DESARROLLO. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior en los días del diestro  
sobre la secreción de  $17\beta$ -Estradiol en la rata adulta.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:  
TERESA GUZMÁN BAJONERO



M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez  
DIRECTORA DE TESIS

Durante el desarrollo de esta tesis se contó con el apoyo  
Financiero de DGAPA-PAPIIT IN200405-3, IN209508-3.

MÉXICO, D.F.

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
ZARAGOZA**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior en los días del  
diestro sobre la secreción de 17  $\beta$ -Estradiol en la rata adulta**

**Tesis presentada por: Teresa Guzmán Bajonero**

**Directora de tesis: M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez**

**Realizada en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de la Unidad  
de Investigación en Biología de la Reproducción.**

**Durante esta tesis se contó con el apoyo financiero de DGAPA-  
PAPIIT convenio IN200405-3, IN209508-3.**

**No hay que confundir nunca el conocimiento con la sabiduría. El primero nos sirve para ganarnos la vida; la sabiduría nos ayuda a vivir.**

**Sorcha Carey**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la **UNAM** ya que me abrió las puertas para estudiar una carrera universitaria, así como brindarme conocimientos mil gracias.

A todos mis maestros que me brindaron conocimientos, por que representan el pilar de mi formación profesional.

A mi directora de tesis **M. en IBSH Angélica Flores Ramírez**. Gracias en la realización de esta tesis, por haberme enseñado a trabajar en equipo, por su bendita paciencia y sobre todo por sus palabras que me sirvieron para tomar decisiones en mi vida. Gracias que dios la bendiga.

**A los miembros del jurado:**

**M. en C. Raúl Zavala Chavero, M. en IBSH Angélica Flores Ramírez, M. en C. Marisela Valdez Ruiz, Biól. Carlos Martínez Montoya y Biól. Pamela Ma. Everardo Arévalo** por su colaboración y sus importantes aportaciones durante la revisión de esta tesis.

A la **Q.F.B. Ma. Elena Díaz G.** mi jefa de laboratorio la sección de inmunología en Hospital Ignacio Zaragoza ISSSTE por confiar en mí y la que me impulsó a seguir una carrera profesional mil gracias jefa.

## DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a:

Dios

Por que siempre esta conmigo en todo momento, por tu gran amor. Gracias padre por darme la oportunidad de experimentar la vida misma, por llegar a mi meta y por la gracia de tener una familia que me quieren.

A mi madre Carmen Bajonero

Porque eres una persona excepcional, por amarme tanto, porque me has apoyado en todo momento, por tus desvelos y porque nunca te olvidaste de nosotros tus hijos y te olvidaste que eras MUJER, porque nunca me dejarás a mi suerte, porque gracias a ti pude culminar mi carrera y he podido superarme como persona. Te doy las gracias por confiar en mí y tener todavía la esperanza de acabar mi meta, ah mil gracias por haber cuidado a mi bebita "Te amo muchoooooote mamá".

A mi padre Juan R. Guzmán Flores

Te doy gracias por haberme dado la vida y la satisfacción de ser una MUJER PREPARADA.

A mis abuelitos

Carmen Bajonero aunque no te conocí, gracias por que eres un ángel que me guió en este camino.

Martha Flores García gracias por que fuiste un gran ejemplo a seguir, siempre te llevare en mi corazón.

Abuelito Ramón Gracias porque siempre creíste en mí, porque me enseñaste que en la vida debemos de luchar por lo que queremos y tus palabras bien marcadas "El apellido GUZMÁN siempre va estar arriba" y nunca voltees al pasado siempre mira de frente. Donde quiera que estés ahora te digo, gracias por tu actitud de un padre que quiere a sus hijos, tu fortaleza, por tus cuidados y por el amor hacia tu familia. Te queremos mucho y "Nunca te olvidare".

A mi amigo José (Don pepe, el gordo ò la melcocha) que fuiste como un integrante más en nuestra familia gracias por toda la ayuda que nos brindó a mi mamá y a mis hermanos donde estés MIL GRACIAS esto va para ti.

A mi cuñado Saúl Vera Concha (mi compadrito) gracias por que fuiste alguien especial en mi camino te dedico esta tesis aunque no estuvieras aquí en este día tan especial para nuestra familia mil gracias y te quiero con todo mi corazón y esto va por ti donde quieras y cumpliré mi promesa.

A mis sobrinos Emmanuel y Saúl esto esta dedicado para ustedes ya que me apoyaron fielmente y a pesar que han sufrido un trago de la vida muy duro y a pesar de esto deben de levantarse y ser mas fuertes cada día, los AMO.

Emmanuel, Saúl Roberto y Alfonso de Jesús, gracias mis niños por que cada día que pasa me dieron una sonrisa, alegría y apoyo incondicional por ello les digo que me gustaría que los tres tenga una profesión para el bienestar de ustedes y puedan apoyar a sus mamás y que tengan en la mente "el apellido GUZMÁN va estar siempre arriba si ustedes lo quieren ver así".

A mi cuñado Jaime Medina Núñez (compadrejo) gracias por su gran apoyo por sus consejos, a mi hermana Beatriz mi gran confidente que a pesar de nuestros problemas familiares crecimos muy juntas y en verdad te agradezco de tu gran apoyo, ah échale ganas por lo que te falta vivir por que tienes un hijo que vale oro ahora tienes por quien luchar y sacar adelante te amo.

A José Ramón gracias por tu apoyo que me brindaste al termino de mi carrera mil gracias. A Lorena gracias por el apoyo incondicional.

A mis suegros Aída Araceli Cruz y Francisco Zambrano por haberme apoyado en la culminación de está tesis mil gracias. A mi cuñado Rene Alejandro Zambrano Cruz mil gracias, no sé como podré pagarte por todos los favores que me has hecho, sobre todo cuando me alivie de mi pequeña, y lo de mi cuñado MIL GRACIAS que dios los bendiga.

A mis amigas de laboratorio **Jacqueline, Pamela, Aiko y Gladys** quienes formaron parte del equipo en el laboratorio y me apoyaron en la práctica. Gracias chicas por su ayuda y su compañía.

A mis amigos con los que compartieron momentos inolvidables **GRACIAS** a **Martha, Abigail, Berci, Erika, Cristina, Miriam R, Vanessa, Araceli, Rodrigo, Cassandra, José (Enano), David, Fidencio (Richi) y Donaciano** y a todos mis compañeros de la **FES Zaragoza** que me brindaron su amistad.

A mi pequeña

En mi vida llego una angelita llamada **Andrea Vanesa Zambrano Guzmán** esta tesis esta dedicada a ti por que en los momentos más difíciles de mi vida, pero una sonrisa tuya apagaba ese mal día y me ayudaba a seguir adelante ya que el hecho de verte me inspirabas a terminar con este proyecto tan importante.

Gracias por **ser mi pequeña Andrea "TE AMO"**. Cuando leas esto chiquita recuerda que debes de luchar por todas tus metas aunque a veces tengas días malos o buenos disfruta tu vida al máximo ya que el camino es largo, pero si se puede lograrlo, si te lo propones, siempre estaremos contigo tu papá y yo.

A mi gran amor

En especial a un pimpón llamado **Jonathan Adrián**, ya que fuiste mi fuente de inspiración, te agradezco por tu gran paciencia, tu comprensión y sobre todo tu tolerancia. Esto es para ti chiquito gracias por apoyarme tanto. **TE AMO**.

## ÍNDICE

	Página
RESUMEN. . . . .	i
INTRODUCCIÓN. . . . .	1
<b>MARCO TEORICO</b>	
<b>HIPOTÁLAMO. . . . .</b>	<b>3</b>
<b>HIPÓFISIS. . . . .</b>	<b>4</b>
<b>OVARIOS. . . . .</b>	<b>7</b>
➤ <b>Anatomía. . . . .</b>	<b>8</b>
➤ <b>Funciones del Ovario. . . . .</b>	<b>11</b>
➤ <b>Ovulación. . . . .</b>	<b>11</b>
➤ <b>Atresia Folicular. . . . .</b>	<b>13</b>
<b>Esteroidogénesis. . . . .</b>	<b>13</b>
➤ <b>Estrógenos. . . . .</b>	<b>14</b>
➤ <b>Funciones de los estrógenos. . . . .</b>	<b>15</b>
➤ <b>Síntesis y regulación. . . . .</b>	<b>17</b>
➤ <b>Metabolismo. . . . .</b>	<b>21</b>
<b>CICLO ESTRAL DE LA RATA. . . . .</b>	<b>21</b>
<b>Asimetrías. . . . .</b>	<b>26</b>
<b>Inervación del Ovario. . . . .</b>	<b>28</b>
<b>Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior. . . . .</b>	<b>32</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. . . . .</b>	<b>36</b>
<b>HIPOTESIS. . . . .</b>	<b>37</b>
<b>OBJETIVOS. . . . .</b>	<b>38</b>
<b>MATERIALES Y METODOS. . . . .</b>	<b>39</b>
<b>RESULTADOS. . . . .</b>	<b>42</b>



<b>DISCUSIÓN. . . . .</b>	<b>63</b>
<b>CONCLUSIONES. . . . .</b>	<b>69</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA. . . . .</b>	<b>70</b>

## **RESUMEN**

Los estrógenos son un grupo de hormonas esteroides que en forma conjunta con la progesterona, aseguran la función gametogénica del ovario, lo cual les confiere un papel esencial en la regulación de la función reproductora de los mamíferos.

Para ser sintetizados por los ovarios se requiere de la participación del hipotálamo y de la hipófisis. Así el hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que al ser secretada hacia el sistema portal hipotalámico-hipofisiario estimula en la hipófisis la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de la hormona luteinizante (LH) que al ser liberadas al torrente sanguíneo llegan al ovario donde estimulan la esteroidogénesis.

En estudios previos se ha mostrado que los efectos agudos de la anestesia, la perforación uni o bilateral del peritoneo, así como los de la ovariectomía uni o bilateral sobre las concentraciones séricas de  $17 \beta$ -estradiol ( $E_2$ ) varían durante el ciclo estral. Además, que los efectos dependen del lado en que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual indica la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios. Para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de los órganos pares, se ha propuesto que las funciones de los ovarios son reguladas en parte por la inervación que reciben. El Nervio Ovárico Superior (NOS) es una de las vías nerviosas que comunican al ovario con el sistema nervioso central, lo que hace posible suponer que esta vía nerviosa participa en la regulación de los cambios en la secreción hormonal que se suceden al extirpar uno de los ovarios.

En este estudio se propuso analizar los efectos agudos de la sección unilateral o bilateral del NOS en animales con ovariectomía unilateral en los días del diestro de la rata adulta, sobre la concentración sérica de  $E_2$  como indicador de la función secretora de los ovarios cuando son sacrificados 24 horas después.

En los animales con laparotomía ventral realizada en el día del diestro-1 se observó menores concentraciones séricas de  $E_2$ , al ser sacrificadas en el diestro-2, mientras que la anestesia o la laparotomía en el diestro-2 no resultó en alteraciones en la concentración del esteroide cuando fueron sacrificados en el proestro. Ello, sugiere que la laparotomía es un factor estresante que altera los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de la hormona.

La estimulación del NOS en ambos días del diestro no resultó en cambios en la concentración sérica de  $E_2$ , sin embargo, la sección del NOS del lado izquierdo en el diestro-2 resultó en disminución del esteroide en el proestro. Por tanto, se sugiere que sólo el NOS del lado izquierdo modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el ovario.

Respecto a las capacidades secretoras de  $E_2$  en cada ovario, se observó que en el día del diestro-1 la extirpación de cualquiera de los ovarios no resultó en modificación de la concentración de la hormona al ser evaluada en el diestro-2. A diferencia de ello, la operación en el día del diestro-2 mostró que el ovario derecho aporta más concentración del esteroide a la circulación que el ovario izquierdo al ser evaluada en el proestro.

En animales en el diestro-1 con sección del NOS del lado izquierdo y ovariectomía izquierda, o cuando se realiza la ovariectomía izquierda con la sección del NOS del lado izquierdo, no se alteraron las concentraciones de la hormona, pero la operación en el diestro-2 resultó en aumento de la misma cuando primero se realizó la ovariectomía y enseguida la sección del nervio al ser evaluada en el proestro. Estos resultados ponen en evidencia la importancia que tiene saber el orden en que se realiza la operación y sugiere para los animales sacrificados en el proestro que el NOS tiene un papel de tipo inhibitorio sobre los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción del esteroide.

En animales en el diestro-1 con sección del NOS del lado derecho y ovariectomía derecha, o al realizar la ovariectomía derecha con sección del NOS del lado derecho, resultó en disminución de la secreción del esteroide al ser evaluada en el día del diestro-2, pero, cuando estas operaciones quirúrgicas se

realizan en el diestro-2 se observó aumento de la secreción de la hormona al ser evaluada en el proestro, independientemente del orden de la cirugía en estos grupos experimentales. Con base en lo anterior se sugiere que el NOS en el animal con el ovario izquierdo modula en forma estimulante la secreción de la hormona en el diestro-2 y en forma inhibitoria en el proestro.

En animales con ovario derecho *in situ*, la sección del NOS del lado derecho antes o después de la ovariectomía en el diestro-1 resultó en disminución de la secreción del esteroide al ser evaluada en el diestro-2, mientras que esta intervención en el diestro-2 no resultó en alteraciones en la secreción de la hormona al ser cuantificada en el proestro. Se sugiere que el NOS en el animal con el ovario derecho modula en forma estimulante la secreción de la hormona en el diestro-1 y en el proestro no participa en la regulación de la secreción de E<sub>2</sub>.

Cuando permanece el ovario izquierdo *in situ* y se secciona el NOS del lado izquierdo en el diestro-1 se observó disminución del esteroide 24 horas después, independientemente del orden de la cirugía. Ello sugiere que el NOS tiene un papel de tipo estimulante en la secreción del esteroide. Si la operación se realiza en la etapa del diestro-2 se observó aumento de la concentración hormonal 24 horas después, lo que indica un papel de tipo inhibitorio en la regulación de E<sub>2</sub>.

Así, los resultados del presente estudio muestran que existe una relación funcional entre los ovarios en la regulación de la secreción de E<sub>2</sub> y que el NOS modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas. Asimismo, que dichas relaciones funcionales dependen del ovario, del lado del NOS, el día en que se realiza la operación, el día en que se cuantifican los resultados y el orden de la cirugía.

## **INTRODUCCIÓN**

El hipotálamo produce la GnRH que al ser liberada al sistema portal hipotalámico-hipofisiario llega a las células gonadotropas de la adenohipófisis donde estimula la secreción de la FSH y la LH; llamadas también gonadotropinas. Estas son liberadas al torrente sanguíneo y al llegar a los ovarios estimulan sus funciones; la liberación de óvulos (ovulación) y la secreción de hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona y andrógenos) y peptídicas (inhibina, activina entre otros) (Fox, 2003; Ganong, 1988).

El E<sub>2</sub> es una hormona esteroide de 18 átomos de carbono secretado por las células de la granulosa de los folículos ováricos y por la placenta (Tresguerres, 1999; Yeh y col. 1999). Estimula el crecimiento, la división celular de las células de la granulosa, en el útero incrementa la contractilidad del músculo liso uterino, favorece en el transporte del cigoto hacia el útero, estimula la secreción del moco en las glándulas del cuello uterino, en las mamas induce el aumento de tamaño, el desarrollo del estroma, en el sistema tubular y los acinos (Loza y col., 1995).

Existen evidencias de que la mayor parte que los órganos endocrinos pares presentan asimetría. La expresión “asimetría funcional”, alude a las diferencias puestas de manifiesto por las partes constituyentes de los llamados órganos pares en sus respuestas ante un estímulo (Domínguez y col., 2003).

La extirpación de un ovario se utiliza frecuentemente como una herramienta experimental para analizar la existencia de asimetría entre los ovarios. En la rata, el ovario izquierdo libera más ovocitos que el derecho. Cuando se extirpa el ovario izquierdo (ovario derecho *in situ*), la proporción de animales que ovulan en el día del estro es el doble que cuando queda el ovario izquierdo (Cruz y col., 2001).

Asimismo, se ha mostrado que las concentraciones séricas de las hormonas esteroideas en animales con ovariectomía unilateral dependen del lado que se realiza la extirpación glandular, lo cual indica la existencia de asimetría en

las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios y de la etapa del ciclo estral en que se realiza la cirugía (Barco y col., 2003; Cruz y col., 2006; Flores y col., 2006; Flores y col., 2008).

Para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de parte de los órganos pares, se ha propuesto que ellos reciben distintas informaciones nerviosas y que por ende, las funciones de los ovarios son reguladas por las hormonas tróficas secretadas por la hipófisis, pero sus acciones a nivel periférico son moduladas por la inervación que recibe las gonadas (Burden y Lawrence, 1977; Burden, 1978; Domínguez, 2003).

El NOS es una vía nerviosa que comunica a los ovarios con el sistema nervioso central (SNC) lo que hace posible suponer que esta vía nerviosa participa en la regulación de los cambios en la secreción hormonal que se suceden al extirpar uno de los ovarios. Se origina de nervios localizados en el ganglio cefálico-mesentérico superior y contiene neurotransmisores como la noradrenalina y el péptido intersticial vasoactivo (VIP) que estimulan la secreción de hormonas esteroides ováricas (Dissen y Ojeda, 1999).

Montiel (2005) y Mendoza (2007) han mostrado que los efectos de la sección del NOS en animales con ovariectomía uni o bilateral en los días del diestro-1 o diestro-2 sobre la concentración sérica de E<sub>2</sub> evaluada a la hora postcirugía son diferentes. En este estudio se propuso analizar los efectos de la la sección del NOS en animales enteros o con ovariectomía unilateral en los días del diestro-1 y diestro-2 de la rata adulta sobre la secreción sérica de E<sub>2</sub> evaluada 24 horas después de la cirugía para investigar si los resultados observados a una hora son los mismos que se presentan 24 horas después de los tratamientos quirúrgicos.

## MARCO TEÓRICO

## HIPOTÁLAMO

El hipotálamo se localiza en la base del diencefalo, por debajo del tálamo y está dividido por el tercer ventrículo en hipotálamo derecho e hipotálamo izquierdo. Asimismo, para su estudio, el hipotálamo se divide en tres regiones hipotálamo anterior, hipotálamo medio e hipotálamo posterior (Fig. 1; Audesirk, 2003).

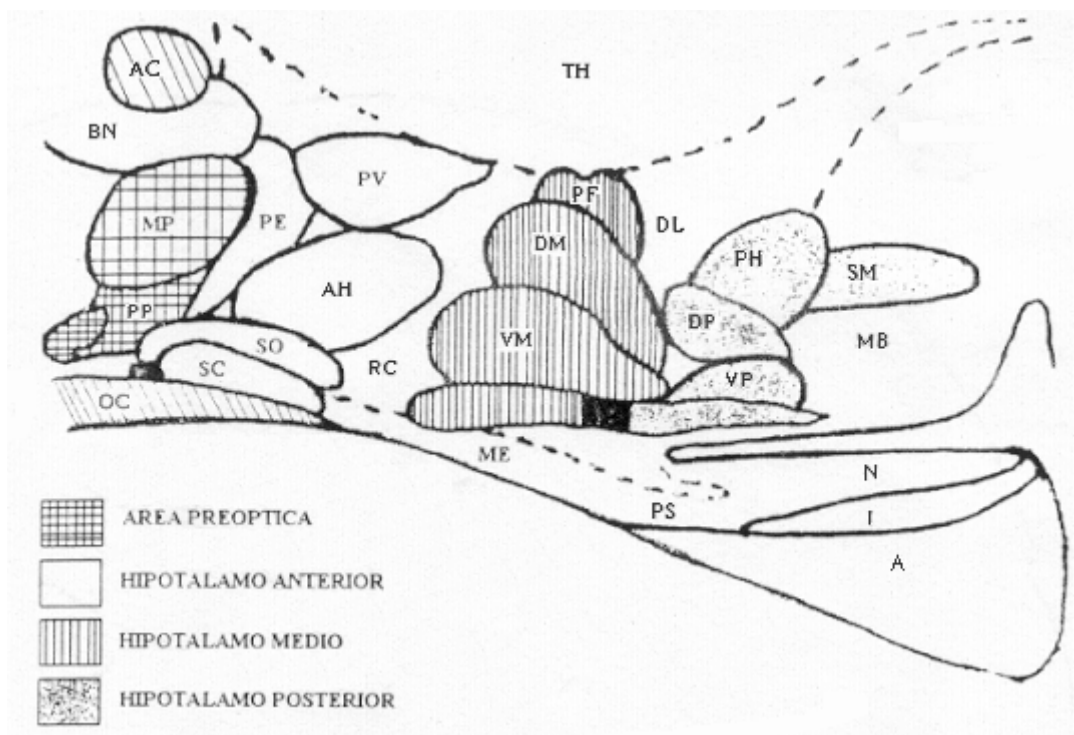


Figura 1. Corte sagital del cerebro de la rata, que muestra la distribución topográfica de los núcleos y áreas del hipotálamo. A: Hipófisis anterior, AC: comisura anterior, AH: núcleo hipotalámico anterior, AR: núcleo arcuato, Bn: base del núcleo de la estría terminal, DL: área hipotalámica dorsolateral DM: núcleo dorsomedial, DP: núcleo dorsal premamilar, I: lóbulo de la hipófisis intermedia, LT: núcleo lateral tuberal, MB: cuerpo mamilar, ME: eminencia media, MP: núcleo preóptico medial, N: hipófisis posterior, O: órgano vasculoso de la lamina terminal, OC: quiasma óptico, PE: núcleo hipotalámico periventricular, PF: núcleo perifornical, PH: núcleo hipotalámico posterior, PP: núcleo preóptico periventricular (medio), PS: tallo hipofisario, PV: núcleo paraventricular, RC: área retroquiasmática, SC: núcleo supraquiasmático, SM: núcleo supramamilar, SO: núcleo supraóptico, TH: tálamo, VM: núcleo ventromedial, VP: núcleo premamilar ventral (Audesirk, 2003).

El hipotálamo participa en la regulación de la homeostasis (funciones vitales que mantienen constante el medio corporal interno), el comportamiento sexual y las emociones. Ejerce efectos importantes sobre el sistema endocrino (centros productores de hormonas), sobre el sistema nervioso autónomo (que controla las acciones involuntarias) y sobre un sistema neuronal que se denomina sistema límbico (relacionado con la motivación y los instintos). Además, es capaz de detectar cambios en la osmolaridad de la sangre y se ve afectado por las concentraciones de las distintas hormonas presentes en el torrente sanguíneo (Beck, 1977). De este modo, el hipotálamo puede integrar señales físicas y emocionales procedentes de todo el cuerpo y poner en marcha las respuestas corporales adecuadas (Curtis, 2001).

El hipotálamo también tiene células neurosecretoras que secretan neurohormonas o factores de liberación que son transportados por el sistema portal-hipotalámico-hipofisiario a la adenohipófisis donde estimulan o inhiben la liberación de hormonas específicas (Beck, 1977) tales como la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), la hormona liberadora de la tirotrina (TRH, por sus siglas en inglés), la hormona liberadora de la hormona de crecimiento (GHRH, por sus siglas en inglés), la hormona inhibidora de la hormona de crecimiento (GHIH, por sus siglas en inglés), hormona liberadora de la corticotropina (CRH, por sus siglas en inglés), factor liberador de la prolactina (PRF, por sus siglas en inglés), factor inhibidor de la prolactina (PIF, por sus siglas en inglés) (Brown, 1994;.Ganong, 1996; Hib, 2001)

## **HIPÓFISIS**

La hipófisis se encuentra en la base del cerebro alojada en el esfenoideas y cubierta por la duramadre (Fink, 2000). Está unida al hipotálamo por el tallo hipofisiario el cual contiene el sistema portal hipofisiario de vasos sanguíneos. Es un órgano complejo dividido en tres partes: el lóbulo anterior (parte distal), el lóbulo intermedio (parte intermedia) y el lóbulo posterior (parte nerviosa). El lóbulo anterior y el intermedio forman una glándula endocrina verdadera llamada



adenohipófisis. El lóbulo posterior también llamado neurohipófisis es una extensión del hipotálamo (Arimura, 2000).

Ante el estímulo de las neurohormonas del hipotálamo, la adenohipófisis sintetiza diferentes hormonas: la hormona del crecimiento (GH, por sus siglas en inglés), la hormona adrenocorticotrópica (ACTH, por sus siglas en inglés), la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés), la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés), la prolactina (PRL) (Brown, 1994).

La GnRH estimula en los gonadotropos de la adenohipófisis la síntesis de la FSH y la LH; llamadas en conjunto gonadotropinas. Ambas son liberadas al torrente sanguíneo para alcanzar a órganos blanco donde ejercerán sus efectos biológicos (Fig.2; Fox, 2003).

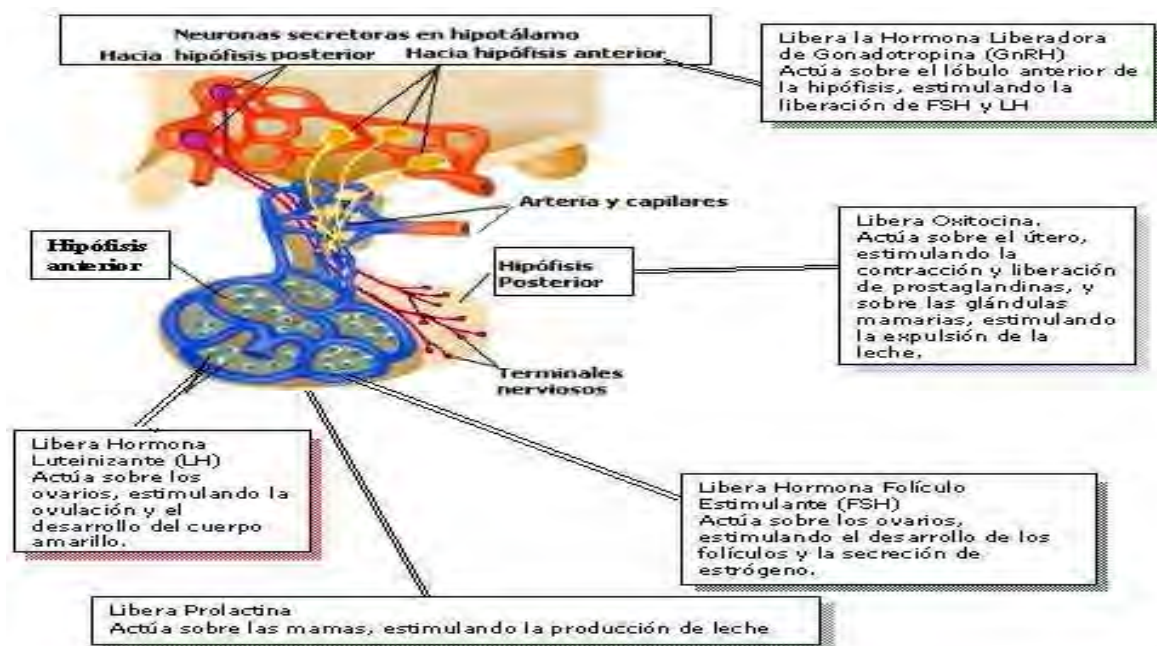


Figura. 2: Esquema de la hipófisis y su secreción de hormonas (Tomada de Fox, 2003).

La GnRH es la neurohormona clave en los mecanismos de regulación de la secreción de las gonadotropinas, y por ende de la secreción de las hormonas gonadales y la producción de gametos. Es un decapeptido cuya estructura primaria es Piroglu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> (PM 1182.4). En los roedores, la GnRH se sintetiza en neuronas del área preóptica y el área anterior del hipotálamo (POA-AHA), mientras que en primates los cuerpos

celulares se encuentran localizados en el hipotálamo medio basal (MBH). La secreción de la GnRH es de tipo pulsátil infrecuente e irregular y está altamente controlada por la retroalimentación que puedan efectuar las gonadotropinas (Arimura, 2000; Brown, 1994; Domínguez, 1997; Halász, 2000; Yen, 2001).

La secreción de la GnRH está regulada por neurotransmisores, neuropéptidos y hormonas ováricas (Fig. 3). Las células que presentan receptores a estrógenos y andrógenos están concentradas en el POA-AHA, núcleo ventromedial, núcleo arcuato y núcleo premamilar ventral (Halász, 2000). En la rata hembra, las células que secretan la GnRH desde POA-AHA a la adenohipófisis estimulan la secreción preovulatoria de la LH en respuesta a la retroalimentación estimulante de los estrógenos ováricos. Este múltiple mecanismo de control permite que una gran variedad de estímulos internos y externos influyan sobre la regulación de la secreción de la neurohormona (Brown, 1994).

La capacidad funcional de la hipófisis depende de sus conexiones nerviosas y vasculares con el hipotálamo. Estas conexiones anatómicas hacen posible que el órgano produzca su rendimiento hormonal en respuesta a estímulos que se originan en el exterior, lo mismo que dentro del organismo. La hipófisis es un eslabón esencial del sistema neuroendocrino, pero tiene poca capacidad para funcionar independientemente (Ruiz, 1988).

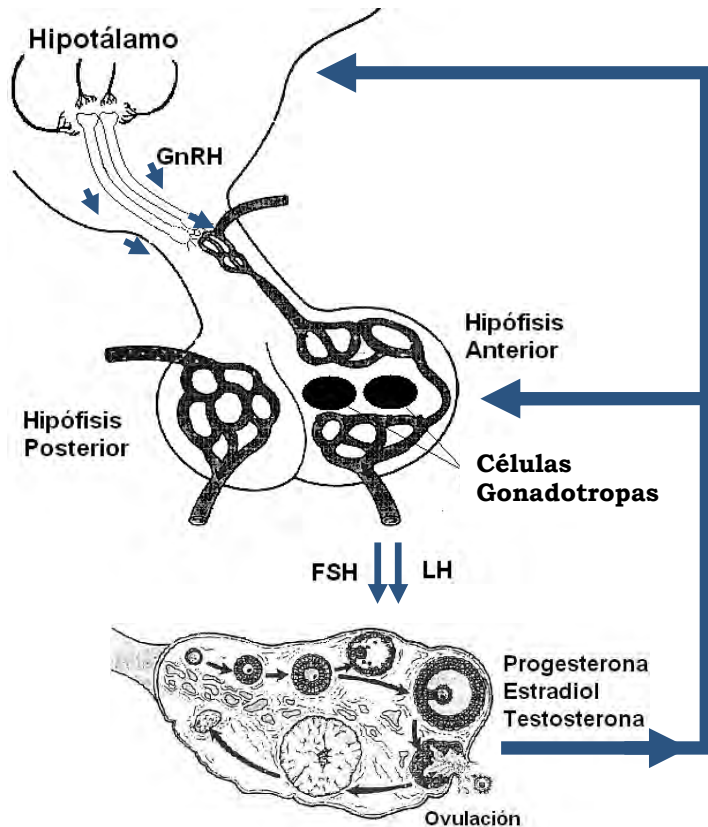


Figura. 3: Eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) y en la hipófisis anterior o adenohipófisis estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas llegan a los ovarios y estimulan la secreción de progesterona, testosterona y estradiol (Tomada de Berne y Levy, 1992).

## OVARIOS

Los ovarios o gónadas femeninas, son los órganos femeninos de la reproducción. Son estructuras pares con forma de almendra situadas contra la pared pélvica a ambos lados de la cavidad pélvica. Están suspendidos en un pliegue peritoneal llamado mesovario. La arteria ovárica ó arteria útero-ovárica recibe el riego sanguíneo por la aorta abdominal que llega al ovario a lo largo del mesovario, rama que entra a través del hilio, por donde salen las venas (Fawcett 1995; Yao y Bahr, 1999).

## Anatomía

En el ovario se distingue una médula y una corteza. La médula está formada por estroma, nervios, abundantes vasos sanguíneos arteriales y venosos con poco tejido conectivo y la glándula intersticial (Yao y Bahr, 1999).

En la corteza se localizan los folículos en diferentes estadios de crecimiento y maduración embebidos en el estroma. La parte más externa de la corteza está tapizada por el epitelio germinal escamoso o cuboide que se apoya en túnica albugínea, una capa de tejido conectivo denso, que da al ovario su color (Yao y Bahr, 1999).

El estroma está compuesto de al menos cuatro tipos celulares diferentes: células de tejido conectivo (fibroblastos) con funciones de soporte, células del músculo liso, que regulan las contracciones de los folículos, células intersticiales que incluyen células de la teca y células foliculares, que provienen de folículos atresicos así como cuerpos lúteos en regresión (Yao y Bahr, 1999).

El folículo ovárico es la unidad anatómico funcional del ovario, a partir de la cual se originan los tres compartimientos del órgano: el folicular, el luteal y el intersticial (Fig. 4) (Domínguez, 1991).

El folículo está formado por el ovocito I, una membrana basal que aísla a las células de la granulosa del resto de los componentes del ovario y las células tecales; estas últimas conforman la denominada teca interna. Además de las células de la granulosa y las tecales, el folículo está rodeado por un complejo sistema de fibras colágenas, células del tejido conectivo, sustancia fundamental y fibras musculares lisas, todo lo que recibe el nombre de teca externa (Domínguez, 1991).

Todos estos elementos forman una vaina fibrosa, la que al disgregarse en un punto cercano a la superficie al ovario, forma un orificio por el cual saldrá el ovocito. El ovocito y las células foliculares no reciben riego sanguíneo ni inervación en forma directa (Domínguez, 1991).

Los folículos de reserva son todos los primordiales que consisten en un gran ovocito esférico rodeado por una única capa de células planas o cilíndricas bajas. La formación de los folículos primarios durante la primera mitad del ciclo es independiente de las hormonas gonadotropinas, pero su desarrollo posterior hacia folículos antrales y hacia fases posteriores requiere la participación de la FSH. Al inicio de la fase folicular del ciclo, la elevación en las concentraciones de la FSH estimula el crecimiento de una cohorte de los folículos primarios (Hib, 2001).

La FSH estimula el crecimiento del folículo ovárico conduciéndolo hasta los diversos grados de maduración del folículo primario, secundario y terciario o de De Graaf (Fig. 4). Dicho crecimiento es posible gracias a que estimula la mitosis de las células de la granulosa y la formación de la teca (Hib, 2001).

Las células de la granulosa se apoyan sobre una membrana basal, que las separa de las células del estroma circundante que forman una capa de glicoproteínas que se deposita sobre la superficie del ovocito y forma la zona pelúcida. A medida que continúa el crecimiento de los folículos, las células de la teca folicular se organizan en una capa interna de células secretoras, la teca interna y una cápsula fibrosa externa, la teca externa. Así mismo, pequeñas prolongaciones digitiformes de las células foliculares atraviesan la zona pelúcida y se interdigitan con las microvellosidades de la membrana plasmática del ovocito. Estas prolongaciones son importantes para el transporte de sustancias desde las células foliculares al ovocito (Guyton, 1994).

A medida que continúa el desarrollo, aparecen espacios ocupados por líquido entre las células de la granulosa. La coalescencia de estos espacios forma el antro y el folículo se denomina secundario (vesicular de De Graff). Al principio, el antro tiene forma semilunar, pero con el tiempo aumenta mucho de volumen. Las células de la granulosa que rodean al ovocito permanecen intactas y forman el cúmulo oóforo (cúmulo prolífero). Alcanzada la madurez, el folículo secundario podría tener un diámetro de 25 mm o más. Se encuentra rodeado por la teca

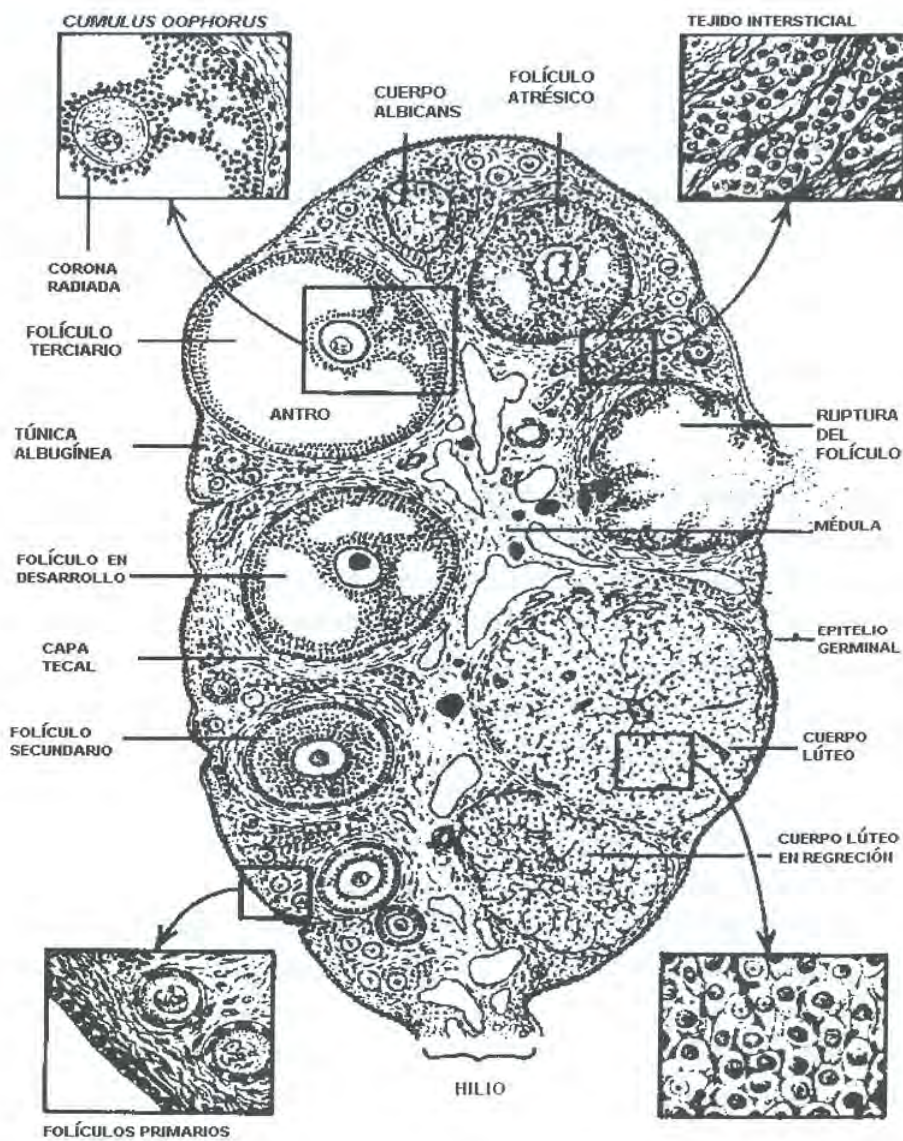


Figura. 4: Esquema de la morfología de un ovario de la mujer durante el periodo el periodo de desarrollo folicular, formación del cuerpo lúteo y su regresión (Tomada de Yao y Bahr, 1999).

interna, que está compuesta de células con características de secreción esteroides, rica en vasos sanguíneos y por la teca externa, que gradualmente se va fusionando con el estroma ovárico (Guyton, 1994).

En cada ciclo ovárico comienzan a desarrollarse varios folículos, pero por lo general sólo uno alcanza la madurez completa. Los otros degeneran y se tornan atrésicos (Hib, 2001).

El crecimiento y diferenciación folicular culmina con la liberación del ovocito; recibe el nombre de Ovulación (Domínguez, 1991).

### **Funciones del Ovario**

Los ovarios son las gónadas femeninas responsables de la liberación de gametos femeninos (ovocitos) y la síntesis de hormonas necesarias para la regulación de las funciones reproductivas (Domínguez y col, 1991; Yao y Bahr, 1999).

### **Ovulación**

La ovulación es considerada como el resultado de un proceso inflamatorio localizado, ya que antes de que se produzca la salida del ovocito hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento de 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 tecales (Fig. 5) (Domínguez y col., 1991).

La ovulación se produce 10 a 14 horas después de la liberación preovulatoria de la gonadotropina; una vez que este ha alcanzado el tamaño y el grado de diferenciación adecuada según la especie en estudio (Domínguez y col., 1991; Espey, 1998).



Figura. 5: Esquema del proceso de ovulación (Tomado de Ross, 2004).

El “pico” de FSH que se presenta en la tarde de proestro y en la mañana del estro selecciona los folículos que van a crecer hasta alcanzar la etapa preovulatoria (Domínguez y col., 1991).



### **Atresia Folicular**

La atresia se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular, tanto en la vida fetal, como en la etapa prepuberal, puberal y la vida adulta (Domínguez y col., 1991).

El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. Esta alteración sería seguida por modificaciones de las células de la granulosa, las que pierden gradualmente los receptores a FSH y LH, lo que se traduce en una disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos, por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo (Domínguez y col., 1991).

Durante el proceso de atresia, además de la alteraciones que se producen en la síntesis de estrógenos, también disminuye la capacidad de síntesis de andrógenos por las células tecales, en parte por pérdida de la actividad de la C 17-20 liasa (Domínguez y col., 1991).

### **Esteroidogénesis**

Es el proceso por el cual se sintetiza las hormonas esteroides por las adrenales, los ovarios, los testículos, la placenta, el cerebro, el tejido adiposo, la piel, los huesos y numerosos tejidos fetales. La síntesis de las hormonas esteroides depende de las enzimas presentes en el tejido, así como de la disponibilidad (Trzeciak, 1986).

### Hormonas esteroides ováricas

Los esteroides son moléculas primordiales que evolucionaron antes que los eucariota hace aproximadamente 2.000 millones de años. Constituyen una de las primeras formas de transmisores de información y han sido descritos como biorreguladores antiguos que ejercían su mensaje en su célula de origen (Yen, 2001).

Los esteroides forman una subclase de lípidos caracterizados por una estructura bioquímica básica de cuatro anillos fusionados denominada ciclo pentanoperhidrofenantreno (Fig. 6) (Yen, 2001). La subcategoría de las moléculas esteroides forma parte de una familia extraordinariamente grande y diversa de compuestos químicos que reciben el nombre de terpenos o isoprenoides (Yen, 2001).

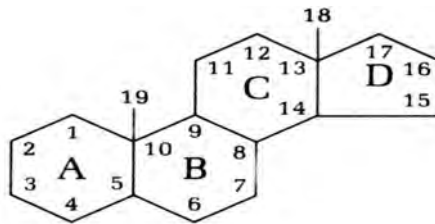


Figura. 6: Estructura del ciclo pentanoperhidrofenantreno perhidrociclopentanofenantreno (Tomada de O'Malley y Srtott 2001).

### Estrógenos

Pertenecen a la familia de los derivados del estrano, con 18 átomos de carbono (Brown, 1999), que en el anillo fenólico A de la molécula presenta tres dobles enlaces (Domínguez, 1997). El estrógeno que más secretan los ovarios es el E<sub>2</sub>, pero la variedad de hormonas estrogénicas incluye la estrona y el estriol. En el ovario, el estradiol y la estrona son sintetizados por células de la granulosa (Brown, 1999; Domínguez, 1997).

### **Funciones de los estrógenos**

Los estrógenos en el folículo ovárico estimula su crecimiento, de igual manera estimula la división celular de las células de la granulosa, el estrógeno actúa de manera sinérgica con la FSH sobre las células de la granulosa (Domínguez, 1993).

En el útero incrementa la contractibilidad del músculo liso, así como el número de proteínas contráctiles (actina y miosina), con lo que favorece el transporte del cigoto hacia el útero. Estimula la secreción de moco en las glándulas del cuello uterino, estimula el crecimiento del endometrio y el miometrio (Domínguez, 1993; Ganong, 2000).

Los estrógenos inducen el aumento del tamaño de las mamas, el desarrollo del estroma, el sistema tubular y los acinos (Loza y col., 1995).

En la vagina, los estrógenos regulan los cambios citológicos típicos del ciclo vaginal, aumenta el contenido de glucógeno que por acción bacteriana se transforma en ácido láctico, hecho que acidifica las secreciones y con ello evita las infecciones vaginales. Estimula el desarrollo y la función de las glándulas de Bartolino, cuya secreción sirve de lubricante vaginal durante el coito (Loza y col., 1995).

En el cuerpo, los estrógenos estimulan el crecimiento y desarrollo de las características sexuales secundarias (estimula el comportamiento reproductivo; el crecimiento del vello axilar y pubiano; la pigmentación regional de la piel del pezón, la aréola y la región genital; estimulan la síntesis proteica y determinan el depósito de grasa en las caderas de la mujer) (Domínguez, 1997).

Junto con la progesterona, los estrógenos regulan de manera estimulante o inhibitoria la secreción de GnRH (Ganong, 2000).

Los estrógenos en su efecto anabólico estimula la secreción de angiotensinógeno y de la proteína fijadora de tiroxina que de algún modo reflejan

el efecto anabólico proteico. En los huesos estimulan la actividad osteoblástica y producen la fusión temprana de la epífisis con la diáfisis. Tiene efectos similares a los mineralocorticoides ya que estimulan retención de sal y agua, por lo que incrementa el peso corporal durante el periodo premenstrual (Audesirk, 2003).

Los estrógenos actúan directamente sobre el ovocito y las células de la granulosa y otros se difunden a la circulación general (Domínguez, 1991). Estimulan la receptividad sexual (estro) de la hembra (Yao y Bahr, 1999), e influyen sobre la temperatura corporal, textura de la piel, distribución de la grasa, división de las células de la granulosa, el crecimiento folicular, estimulan la contracción de la musculatura del oviducto y el batido de las cilias de las células epiteliales que tapizan la mucosa, las cuales, favorecen la captura del ovocito, y participan en numerosas funciones enzimáticas, circulatorias e inmunes (Brown, 1994).

## Síntesis y regulación

Se muestran los pasos de la biotransformación del colesterol a estradiol (Fig. 7). La conversión de colesterol en pregnenolona se realiza en la mitocondria. Este paso consiste en la remoción de los seis átomos de carbono de la cadena lateral del núcleo colestano, dando como productos finales la pregnenolona y el ácido isocáproico. Esta reacción se realiza en la mitocondria en presencia de NADPH, oxígeno molecular y la enzima citocromo  $P_{450sc}$ , que hidroxila al colesterol en los átomos de carbono 20 y 22 por la acción conjunta de la 20, 22-hidroxilasa y la 20, 22-desmolasa (Larrea y col., 1991).

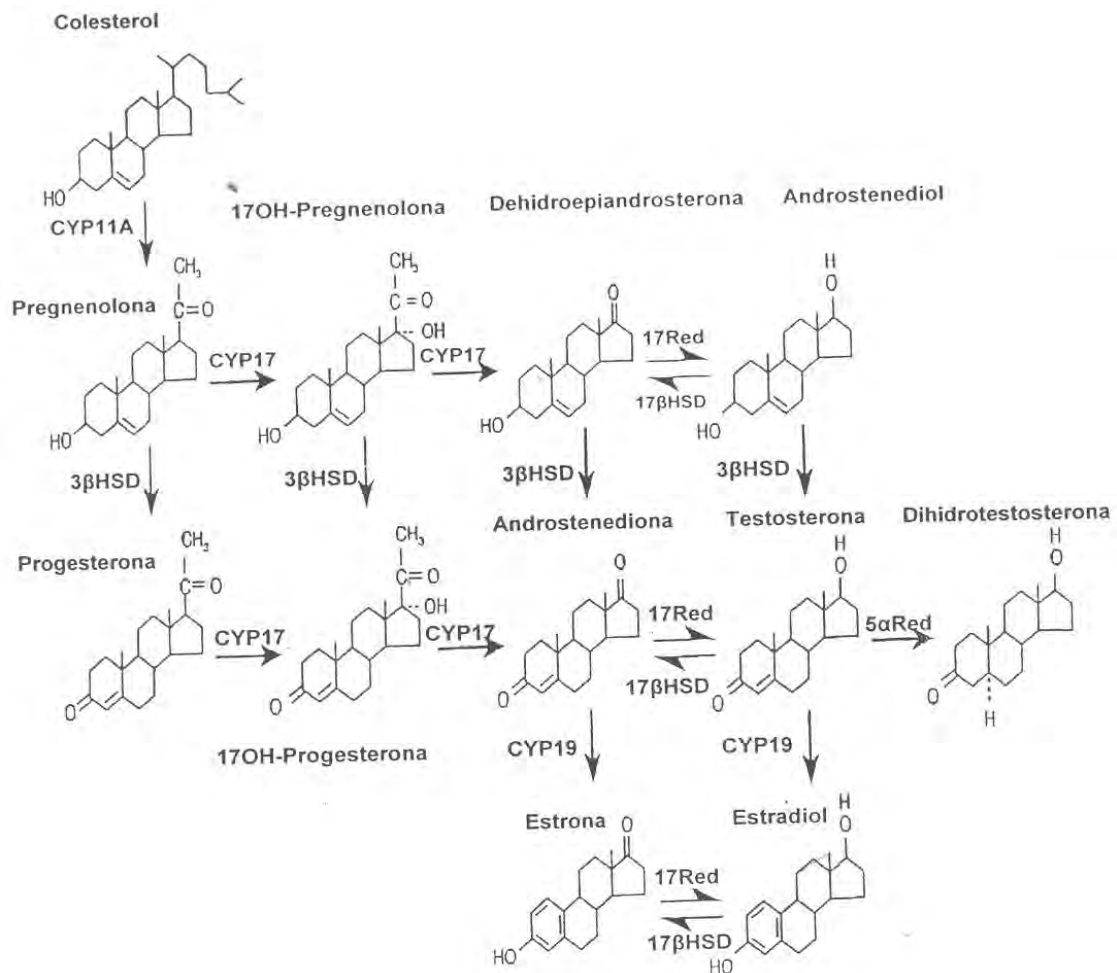


Figura 7: Ruta esteroidogénica a partir del colesterol (Tomada de Hinshelwood, 1999).

La conversión de pregnenolona a progesterona requiere de la acción de dos enzimas: 1) la  $\Delta^5$ ,  $3\beta$  hidroxisteroide-deshidrogenasa y la  $\Delta^5$ - $\Delta^4$  isomerasa. El resultado es una estructura llamada  $\Delta^4$ -3cetona, localizado en la parte microsomal y el átomo de hidrógeno generado durante la reacción es captado por el NAD.

Posteriormente la progesterona es convertida a los andrógenos: androstenediona y testosterona, por la  $17\alpha$ -hidroxilasa (Larrea y col., 1991), que actúa en la posición del átomo de carbono 17 eliminando la cadena lateral del carbono 21 (C-21). El andrógeno de 19 átomos de carbono a su vez es convertido a estrógeno de 18 átomos de carbono por hidroxilación, pérdida subsecuente de un grupo metilo en el átomo de carbono 19 y la aromatización del anillo A (Baird, 1982; Brown, 1999).

En este último paso de la síntesis intervienen dos tipos de células: 1) las de la teca y 2) las de la granulosa (Domínguez, 1997). La LH regula la secreción de andrógenos y estrógenos por las células de la teca y las de la granulosa respectivamente. Estimula la síntesis de sus receptores en las células de la teca ("up regulation"). Enseguida del "pico de LH", inhibe la síntesis de sus receptores en las células de la granulosa ("down regulation"), lo que disminuye la síntesis de estrógenos (Hsueh y col., 1983).

En las células de la granulosa (previamente estimuladas con FSH) la LH también estimula la síntesis y actividad de la aromatasa; lo que en la rata ocurre en la tarde del diestro 2. En el folículo preovulatorio, la síntesis de progesterona por las células tecales y de la granulosa es estimulada por la LH, la prolactina y la noradrenalina, cuyos efectos son mediados por el adenosín monofosfato cíclico (AMPc) (Domínguez, 1991).

En los folículos pre-antrales, las células de la granulosa carecen de receptores a LH y su síntesis es estimulada por los estrógenos y la FSH. La FSH estimula la secreción de estrógenos por las células de la granulosa; el complejo receptor-hormona actúa sobre el sistema de la adenilato ciclasa, provocando el aumento del AMPc y estimula la síntesis y la actividad de la aromatasa (Domínguez, 1991).

La acción sinérgica de la LH y FSH sobre la producción de andrógenos en células de la teca y la síntesis de estrógenos en las células de la granulosa, respectivamente, establecen la base de la teoría de la doble célula-doble hormona (Fig. 8) (Yao y Bahr, 1999).

En las células de la granulosa el número de receptores a FSH es constante durante el ciclo estral de la rata, mientras que los de LH aparecen en diestro-1, aumentan en la tarde del diestro-2 y alcanzan su máximo antes del “pico de LH” y no a consecuencia de este. En la tarde del diestro-2 y mañana del proestro, en las células de la granulosa aparecen receptores a prolactina, resultado de la estimulación de FSH, LH y prolactina. Las células de la granulosa de los folículos preantrales también presentan receptores a prolactina (Domínguez, 1991).

La prolactina inhibe la actividad aromatasa de las células de la granulosa y bloquea los efectos de la FSH sobre las mismas, lo que disminuye la secreción de estrógenos, y bloquea la síntesis de andrógenos en las células tecales, (Domínguez, 1991).

La síntesis de estrógenos es regulada de manera estimulante por la noradrenalina y la prostaglandina E (PGE<sub>2</sub>). Los efectos de la noradrenalina sobre las células de la granulosa no son directos, sino que requieren de la interacción con la FSH o la LH. En las células tecales, la estimulación de los  $\beta$ -receptores provoca el aumento en la síntesis de progesterona y de andrógenos. La PGE<sub>2</sub> estimula la síntesis de estrógenos por las células de la granulosa y de progesterona por las células tecales (Domínguez, 1991).

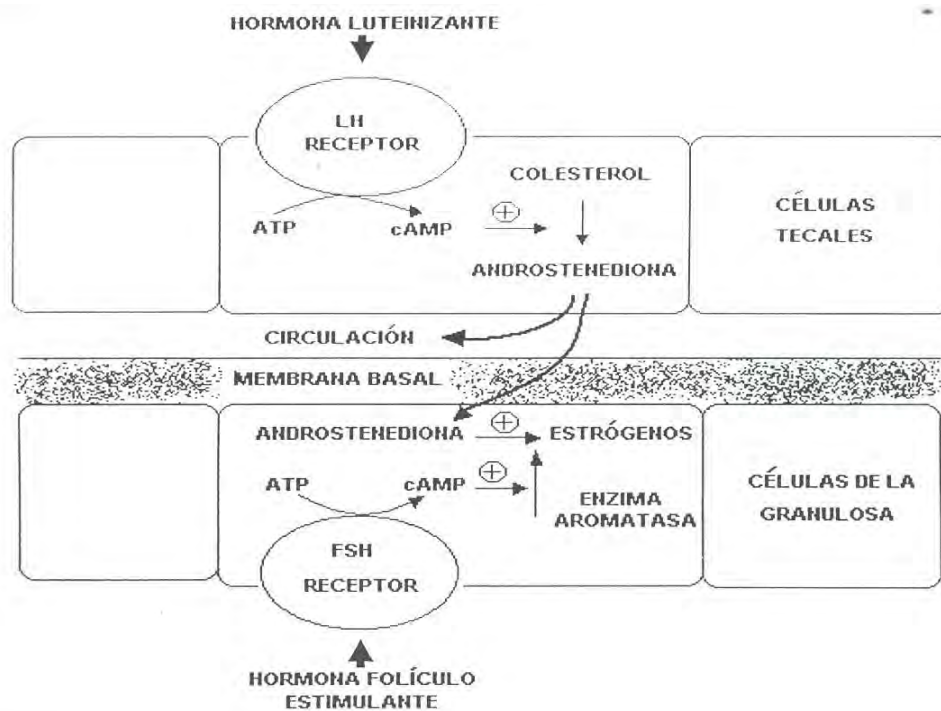


Figura. 8: Teoría “doble célula, doble hormona” que explica el proceso de la esteroidogénesis en el folículo ovárico (tomada de Yao y Bahr, 1999).

La regulación de la secreción de estrógenos además de la FSH, LH y prolactina, incluye otros factores de efectos generales acoplados a los de las gonadotropinas:

- a) La GnRH inhibe la síntesis de andrógenos en las células de la teca e impide los efectos estimulantes de la FSH sobre la actividad aromatásica de las células de la granulosa.
- b) La oxitocina inhibe la actividad de la 17 $\alpha$ -hidroxilasa y la 20-22 desmolasa.
- c) El factor de crecimiento epidermal bloquea los efectos de la FSH sobre la aromatasa y la síntesis de receptores a la LH en las células de la granulosa.
- d) La vasopresina y la arginina-vasopresina (secretadas por el cuerpo lúteo), inhiben la secreción de estrógenos por un mecanismo semejante al de la oxitocina.



- e) Los estrógenos y los corticoides adrenales inhiben la síntesis y secreción del estradiol, al modificar la síntesis de andrógenos por las células de la teca.
- f) Los corticoides adrenales bloquean el desarrollo de los receptores a la LH, inducidos por la FSH, en las células de la granulosa (Domínguez, 1991).

## Metabolismo

En el hígado, el estradiol, la estrona y el estriol se convierten a conjugados glucorónico y sulfato. Aproximadamente la quinta parte de estos productos conjugados son excretados en la bilis, mientras que la mayor parte son eliminados por la orina. Un 2% del E<sub>2</sub> circulante está libre y el resto enlazado a proteínas: 60% a la albúmina y 38% al mismo con la globulina específica ligadura de esteroides gonadales (GBG) que enlaza a la testosterona (Guyton, 2001).

## CICLO ESTRAL DE LA RATA

La etapa fértil de la vida de las hembras se caracteriza por cambios periódicos en la secreción de hormonas secretadas por la hipófisis y los ovarios que resultan en el crecimiento, la maduración y la liberación de ovocitos fértiles, así como los cambios en la conducta sexual (que aseguran la máxima receptividad de la hembra durante la etapa ovulatoria) que recibe el nombre de ciclo estral (Kilen y Schwartz, 1999).

El término “**estro**” proviene del latín *oestrus* y éste a su vez del griego *oistros*, que significa tábano, aguijón o frenesí. Este término lo acuñó Walter Heape en el año 1900 para describir el periodo de deseo sexual de la hembra y distinguirlo del celo del macho (Kilen y Schwartz, 1999).

El ciclo estral de la rata tiene una duración de 4 a 5 días y es regulado principalmente por factores endógenos, particularmente por la interacción del eje

hipotálamo-hipófisis-ovario, el cual a su vez recibe influencias de factores exógenos como el periodo de luz-oscuridad, temperatura, alimentación, agua y las sustancias químicas que se perciben por el sentido del olfato (Kilen y Schwartz, 1999).

Con base en los cambios que se presentan en el epitelio vaginal, el ciclo estral para su estudio se le divide en cuatro fases: diestro-1, diestro-2, proestro y estro. Algunos autores definen al diestro-1 como metaestro y el diestro-2 como diestro (Kilen y Schwartz, 1999).

La etapa de **diestro-1** tiene una duración de 6 a 8 horas y las concentraciones de la LH, FSH, los estrógenos y progesterona son menores en comparación con otros días del ciclo (Fig. 9). En el ovario se observan folículos en todas las etapas de crecimiento, excepto los folículos preovulatorios normales; en caso de que se observe este tipo de folículos, todos son atrésicos. Los cuerpos lúteos de formación reciente son la principal fuente de secreción de progesterona y ésta hormona al igual que el estradiol secretado por los folículos maduros, modulan de manera inhibitoria la secreción de gonadotropinas. La vascularización y motilidad del útero son menores que lo observado en otros días del ciclo estral. Durante este día comienza la regresión funcional del cuerpo lúteo, siempre y cuando no haya habido cópula; que en algunos roedores estimula la liberación de prolactina. En la tarde de ese día comienza el aumento muy gradual de la secreción de estradiol por los folículos en crecimiento. En el exudado de la mucosa vaginal (frotis vaginal) se aprecia la presencia de leucocitos y algunas células cornificadas (Smith y col., 1975).

La etapa de **diestro-2** dura de 55 horas. Al igual que la fase de diestro-1, los esteroides ováricos modulan de manera inhibitoria la secreción de gonadotropinas; estas a su vez estimulan el crecimiento folicular. La FSH estimula la división mitótica de las células de la granulosa, efecto que es potenciado por el estradiol, lo que se traduce en el crecimiento y diferenciación de los folículos que ovularán en ese ciclo. La concentración plasmática de estrógenos aumenta en la tarde de este día (Fig. 9), resultado de la estimulación de la enzima aromatasa por la FSH. El cuerpo lúteo continúa en proceso de regresión. El útero es

pequeño y su contractilidad es muy baja. En un exudado de la mucosa vaginal (frotis vaginal) se observa la presencia de leucocitos y algunas células redondas con núcleo central (Kilen y Schwartz, 1999; Smith y col., 1975).

El **proestro** tiene una duración de 12 a 14 horas. Los folículos han llegado al estado de folículos preovulatorios y secretan grandes cantidades de estradiol. En este momento se produce un cambio en la participación del estradiol como hormona que modula la secreción de gonadotropinas, al pasar de tener un efecto modulador inhibitorio, a un efecto modulador estimulante. En la mañana de este día la concentración plasmática de estradiol aumenta bruscamente hasta alcanzar un máximo y luego desciende en el transcurso de dos a tres horas (Fig. 9). A este proceso de aumento y descenso bruscos de la concentración hormonal se le describe como "incremento hormonal" (Kilen y Schwartz, 1999; Smith y col., 1975).

En esta etapa los estrógenos y posteriormente la progesterona estimulan la actividad de las neuronas secretoras de GnRH, lo que aunado al aumento de la actividad noradrenérgica de neuronas del propio hipotálamo y del locus coeruleus, y a un descenso de la actividad inhibitoria de las neuronas GABAérgicas, resulta en un aumento de la frecuencia y amplitud de la secreción de GnRH, lo que a su vez estimulan la liberación preovulatoria de FSH y LH lo que genera los incrementos preovulatorios de FSH y LH. El aumento en la liberación de FSH ocurre ligeramente antes que el de LH. En la tarde de este mismo día, se alcanza las máximas concentraciones de estas hormonas (Kilen y Schwartz, 1999; Smith y col, 1975).

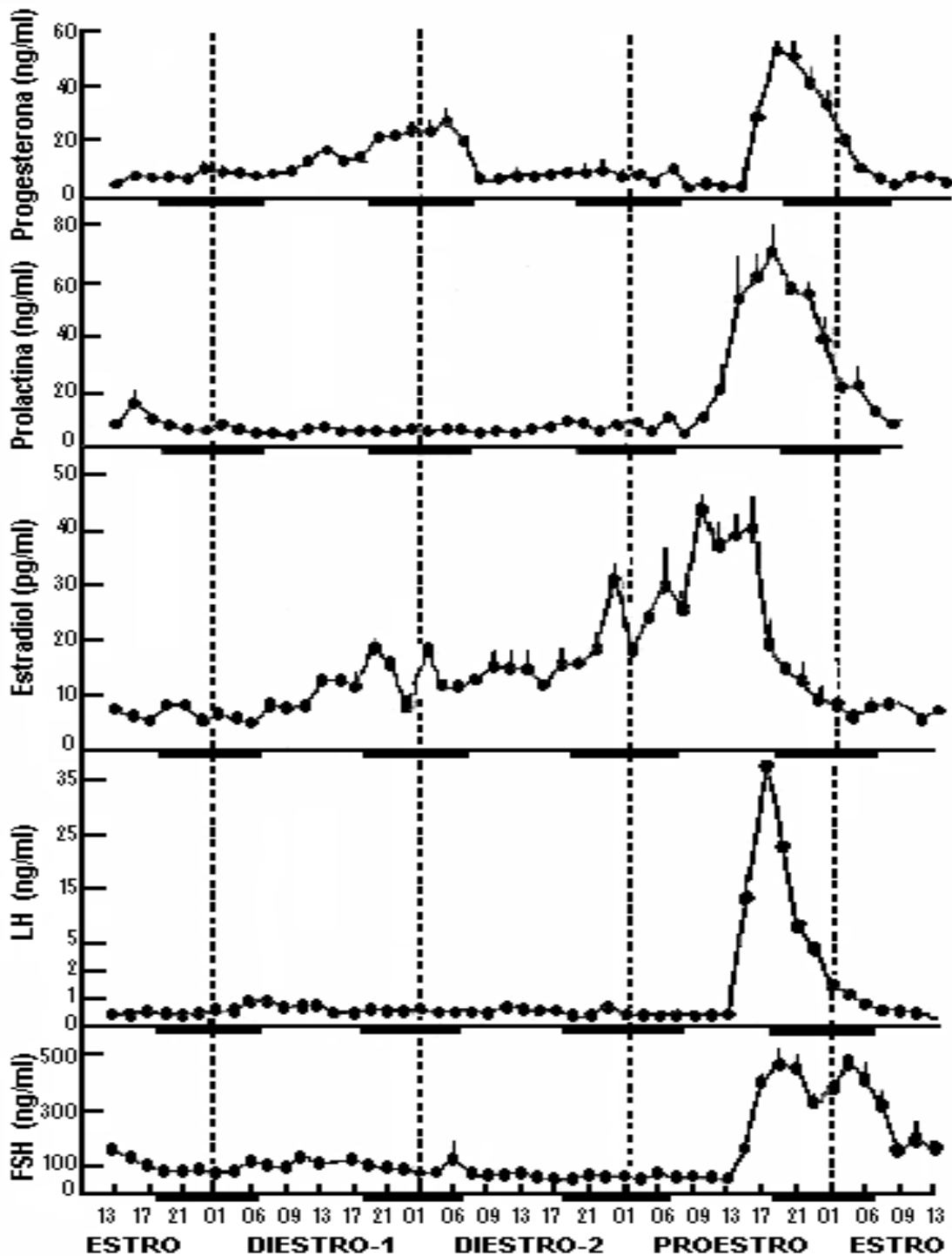


Figura. 9: Concentración de progesterona, prolactina, 17- $\beta$  estradiol, LH y FSH obtenido del plasma periférico cada 2 horas de intervalo en cada día del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de hormona de 5 a 6 ratas. Las barras negras representan las horas de oscuridad en el que se encuentran los animales (18:00 – 06:00 h) (Tomada de Freeman, 1994).

El aumento en la concentración plasmática de LH estimula la síntesis de plasminógeno en el ovario, lo que inicia los mecanismos celulares que llevan al rompimiento de la pared del folículo y permite que el ovocito pueda ser expulsado horas más tarde (ovulación). El folículo y la glándula intersticial aumentan la secreción de progesterona, la cual favorece la secreción de GnRH y por ende la ovulación. La LH también estimula la luteinización del folículo post-ovulatorio. El útero, por efectos del estradiol, se hace extremadamente contráctil. En un exudado de la mucosa vaginal (frotis vaginal) se observa la presencia de células epiteliales nucleadas y pocas células escamosas (Kilen y Schwartz, 1999; Smith y col, 1975).

En la madrugada del estro ocurre la ovulación y los óvulos se encuentran en el oviducto. Se observa un segundo incremento en la concentración de FSH, el cual es importante en el reclutamiento de los folículos que pasan de los folículos primordiales a primarios. El folículo postovulatorio comienza a estructurarse como cuerpo lúteo, mientras que varios folículos secundarios comienzan a acelerar su crecimiento y ovularán en el próximo ciclo. En la mucosa vaginal se encuentran numerosas mitosis, que desplazan a las capas más superficiales (epitelio escamoso y cornificado), que son exfoliados a la luz de la vagina. La presencia de estas células en el frotis vaginal es indicativa del estro y señal de probable ovulación (Kilen y Schwartz, 1999; Smith y col., 1975).

## Asimetrías

Hay evidencias de que la mayor parte de los órganos endocrinos pares presentan asimetría. La expresión “asimetría funcional”, alude a las diferencias puestas de manifiesto por las partes constituyentes de los llamados órganos pares en sus respuestas ante un estímulo. Tales diferencias entre los órganos derecho e izquierdo, puede observarse en humanos y en los animales silvestres y como consecuencia de una condición patológica o cuando los animales son sometidos a ciertos procedimientos experimentales (Domínguez y col., 2003).

La asimetría ovárica alcanza su máxima expresión en las aves, donde sólo el ovario izquierdo es funcional. La gónada derecha se reduce a una capa de tejido localizado por debajo de la vena cava (Cruz y col., 2001; Domínguez y col., 2003).

Desde el punto de vista anatómico, el riego sanguíneo que recibe cada ovario se origina de fuentes diferentes. La cantidad de somas neuronales que envían o reciben fibras nerviosas es diferente. Desde el punto de vista funcional existen numerosas diferencias entre los ovarios, las que se pueden resumir en los siguientes parámetros: en la rata el número de ovocitos que libera el ovario izquierdo es mayor que en el derecho; en otras especies el ovario con mayor capacidad ovulatoria es el derecho (Cruz y col., 2001).

En el caso de los mamíferos, las diferencias ováricas pueden ser observadas en los murciélagos, donde la ovulación ocurre predominantemente en la gónada derecha; el ovario contralateral tiene la capacidad de ovular sólo si se extirpa el ovario dominante (Cruz y col., 2001). En la musaraña diente blanco, el ovario izquierdo juega un papel dominante sobre el ovario derecho. En la cerda se han observado diferencias bioquímicas entre los cuerpos lúteos del ovario derecho y del izquierdo. (Cruz y col., 2001; Gerendai y Halász., 1997).

En humanos, el ovario derecho recibe mayor inervación que el ovario izquierdo y la sangre venosa del ovario derecho llegan a la vena cava inferior, mientras que la vena del ovario izquierdo entra en la vena renal izquierda. El ovario derecho se desarrolla más temprano que el izquierdo (Cruz y col., 2001; Domínguez y col., 2003).

Montiel en el 2006, realizó ovariectomías unilaterales a ratas a las 13:00 h del diestro-1 y que fueron sacrificados una hora después de la cirugía. Los animales que mantuvieron el ovario izquierdo *in situ* no presentaron cambios significativos en la concentración sérica de E<sub>2</sub> respecto a la de los animales con laparotomía, mientras que, en los animales que conservaron el ovario derecho *in situ* se presentó disminución de la concentración sérica de E<sub>2</sub>.

Se tienen evidencias de que la perforación del peritoneo del lado izquierdo (PPI) resultó en menor concentración de E<sub>2</sub> en los días del diestro o proestro. En los animales con perforación del peritoneo del lado derecho (PPD) en el diestro-2 se observó mayor concentración de la hormona, pero en proestro resultó en menor concentración de la misma. Cuando la perforación del peritoneo se realizó en el lado izquierdo y derecho (perforación bilateral del peritoneo: PPB) en los días del diestro no se observaron diferencias significativas en la concentración de estradiol mientras que en el día del estro se observó disminución en la concentración del esteroide (Palafox, 2007).

En los animales con ovariectomía unilateral que mantuvieron el ovario derecho *in situ* la concentración de estradiol en el día del proestro fue menor respecto a la de los animales con PPI. En los que permaneció el ovario izquierdo *in situ* el resultado dependió del día del ciclo estral en el que se realizó la cirugía; en el día del diestro-1 no se observaron diferencias significativas en la concentración de la hormona; en el día del diestro-2 se observó menor concentración de estradiol, mientras que en el día del proestro resultó en mayor concentración de la hormona. Cuando a los animales se les extirparon ambos ovarios se observó menor concentración de estradiol en los días del ciclo en que se realizó la cirugía, en comparación con los resultados obtenidos en el grupo con PPB (Palafox, 2007).

Con base en dichos resultados, la autora sugiere que la capacidad de secreción de estradiol por parte de los ovarios varían durante el ciclo estral y es diferente para cada ovario: en diestro-2 sería de tipo inhibitorio sobre el ovario derecho, mientras que, en el día del proestro la regulación sería de tipo estimulante sobre el ovario izquierdo (Palafox, 2007).

### **Inervación del ovario**

Existen evidencias de que los órganos pares reciben distinta información nerviosa y por ende, para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de los órganos pares, se ha propuesto que las funciones de los ovarios son reguladas en parte por la inervación que reciben.

Aunque existen variaciones considerables entre las especies, los ovarios de los mamíferos están inervados por fibras simpáticas, parasimpáticas y por neuronas sensoriales aferentes cuyos somas están localizados por debajo de los ganglios de la raíz dorsal torácica y por arriba de la lumbar y en el ganglio nodoso del nervio vago (Gerendai, 1997).

Las fibras llegan al ovario vía nervio ovárico superior (NOS) que viaja a lo largo del ligamento suspensorio y el plexo nervioso ovárico acompañando a las arterias ováricas. Los nervios simpáticos se originan por debajo de la raíz torácica de la columna vertebral (Gerendai, 1997).

En la rata, el plexo ovárico corre a lo largo de la arteria y vena ovárica y sus fibras inervan principalmente la vasculatura ovárica (Burden, 1985; Dissen y Ojeda, 1999). El nervio ovárico superior es un nervio predominantemente noradrenergico y se encuentra en el borde libre del ligamento suspensor e inerva al ovario, al oviducto y la porción rostral del útero (Fig. 10) (Dissen y Ojeda, 1999; Lawrence y Burden, 1980).



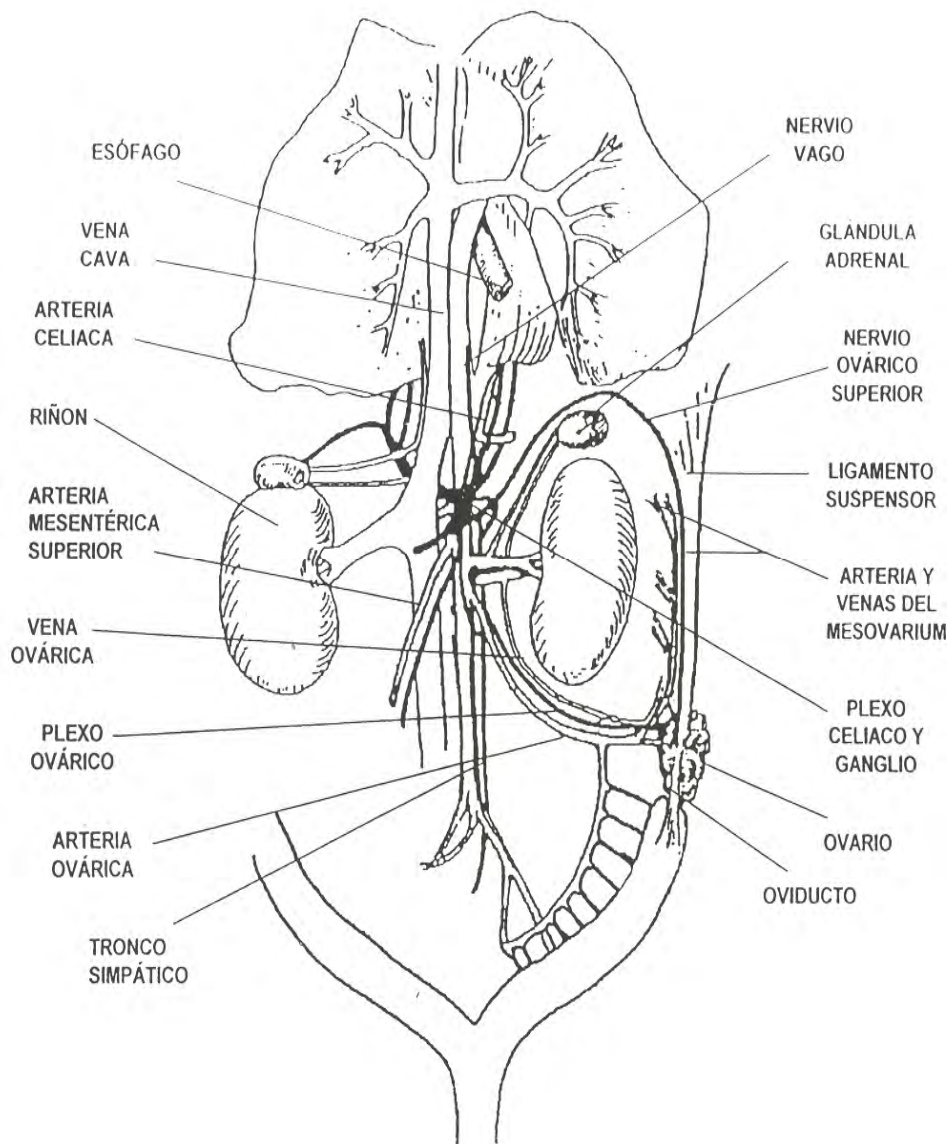


Figura. 10: Representación esquemática de la trayectoria del nervio ovárico superior (NOS) desde su origen en neuronas postganglionares localizadas en el complejo ganglionar celíaco-mesentérico superior y extendiéndose a lo largo del ligamento suspensorio para arribar al ovario. El NOS forma parte de la información simpática que recibe el ovario y es su principal vía de inervación noradrenérgica (Tomada de Lawrence y Burden, 1980).

La noradrenalina y el VIP, dos neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos, estimulan la producción de esteroides ováricos. Ambos aumentan la secreción de progesterona y andrógenos, pero el VIP estimula la producción de estradiol. La noradrenalina también facilita el efecto estimulador de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica. Recientes experimentos han mostrado que VIP y noradrenalina contribuyen a la diferenciación bioquímica de los nuevos folículos al inducir la formación de receptores a FSH, de tal forma que el folículo adquiere la capacidad de responder a las gonadotropinas (Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai, 1997).

La importancia de los nervios ováricos intrínsecos sobre el desarrollo folicular ha sido mostrada por experimentos en los que la inervación simpática del ovario neonatal se elimina por inmunoneutralización del factor del crecimiento neural (NGF). En esos animales se retrasó el desarrollo folicular y la pubertad y disminuyó la concentración de estradiol. Así el sistema nervioso afecta procesos específicos de la función ovárica, facilitando la acción estimuladora de las gonadotropinas sobre el desarrollo folicular y la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999).

Por estudios histológicos se ha mostrado que el ovario derecho es más rico en inervación simpática que el izquierdo (Klein y Burden, 1988). La inervación ovárica tiene un papel en la regulación de la ovulación compensadora y la hipertrofia ovárica. En ratas a las que se les ha extirpado el ovario derecho, la sección del nervio vago izquierdo incrementa la proporción de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y estimula la hipertrofia compensadora del ovario; la sección del nervio vago en ratas con extirpación del ovario izquierdo disminuye los parámetros antes mencionados. En ratas con ovariectomía unilateral, la hipertrofia compensadora ovárica se reduce por la sección bilateral del nervio vago (Chávez y col., 1987).

La síntesis de noradrenalina por el ovario en la fase folicular disminuye por la inyección de gonadotropinas de suero de yegua preñada (PMSG) (Aguado, 2002). En cambio, la inyección intrabursal de noradrenalina o de agonistas adrenérgicos resultó en el incremento del número de cuerpos lúteos en ratas prepúberes tratadas con PMSG (Aguado, 2002).

Se ha postulado que las funciones de los ovarios son moduladas por la inervación desde etapas muy tempranas del desarrollo (Forneris y Aguado, 2002; Morales y col, 1993, 1998; Morán y col, 2000) y que en el animal adulto varía durante el ciclo estral y se considera al Nervio Ovárico Superior (NOS) como la vía nerviosa que regula las funciones del ovario (Chávez y Domínguez, 1994; Erskine y Weaver, 1988; Flores y col, 2008; Luna y col, 2003; Riboni, 2002, 2002b; Weiss y col 1982).

En el cuyo recién nacido, el bloqueo del desarrollo de la inervación simpática por inmunoneutralización del factor de crecimiento nervioso (NGF, por sus siglas en inglés), resultó en el retraso del desarrollo folicular, la pubertad, y disminución de la secreción de estradiol. Este resultado es interpretado como prueba de que el sistema nervioso modula procesos específicos de la función ovárica y facilita la acción estimuladora de las gonadotropinas sobre el crecimiento folicular y la esteroidogénesis (Dissen y Ojeda, 1999).

En la rata prepúber la simpatectomía química con guanetidina, disminuye la secreción de estrógenos y LH, retrasa la edad de la primera ovulación, altera el desarrollo folicular y los ciclos estrales subsecuentes (Lara y col., 1990; Lara y col., 1991; Albuquerque-Araújo y col., 1995).

La denervación noradrenérgica periférica, inducida por la administración de sulfato de guanetidina, resulta en una disminución significativa en el contenido de noradrenalina ovárica, efecto mayor en el ovario izquierdo que en el derecho. En esos animales la concentración de estrógenos, así como el tamaño de los folículos fueron diferentes, dependiendo de la etapa del ciclo estral en el que fueron realizados (Trujillo y Riboni, 2002).

### **Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior**

En la rata prepúber, la sección unilateral del NOS provoca la disminución del número de ovocitos liberados por el ovario denervado. Esta respuesta varía con la edad del animal y el lado del NOS seccionado, es decir, el NOS modula la respuesta ovulatoria de manera estimulante y lateralizada. Este efecto no se observa al seccionar el NOS bilateralmente (Morales y col., 1993). Sin embargo, ratas de 32 días con previa denervación bilateral y tratados con gonadotropinas, la ovulación fue 50% más baja en el ovario derecho que en el izquierdo (Morales y col., 1998). Estos resultados indican que el NOS modula la capacidad de respuesta de los ovarios a las gonadotropinas de manera estimulante y asimétrica (Domínguez, 2003).

En la rata adulta, la sección del ligamento suspensorio disminuye el contenido de noradrenalina ovárica y no se observa la presencia de nervios perivasculares (Burden y Lawrence, 1980).

La sección del NOS del lado izquierdo o del lado derecho en la etapa del diestro-1 no resultó en cambios en la concentración sérica del E<sub>2</sub> respecto a la observada en los animales con laparotomía (Montiel, 2006).

En el día del diestro-1, la extirpación del ovario en un animal con sección unilateral del NOS afecta de manera asimétrica la respuesta aguda de la secreción de E<sub>2</sub>. En los animales en los que se extirpó primero el ovario derecho y posteriormente se les seccionó el NOS del lado izquierdo (OI *in situ* +NOS-I) se presentó aumento en la concentración sérica de E<sub>2</sub> en comparación de las ratas que sólo se les extirpó el ovario derecho. Al invertir el orden de la cirugía (NOS-I+OI *in situ*) se observó aumento de la concentración sérica del esteroide (Montiel, 2006). Los resultados son interpretados como indicación que el NOS izquierdo lleva información que regula de forma inhibitoria la secreción de estradiol secretada por el ovario izquierdo, mientras que el NOS derecho no participaría en la regulación de la secreción de estradiol (Montiel y col., 2005).

En los animales que se les extirpó el ovario derecho y luego se les seccionó el NOS del lado derecho (OI *in situ* + NOS-D) se observó aumento en la concentración sérica de E<sub>2</sub> respecto a la de los animales con ovariectomía derecha. Cuando se invirtió el orden de la operación, es decir, primero se seccionó el NOS del lado derecho y luego se extirpó el ovario derecho no se observaron cambios en la concentración sérica del esteroide (Montiel, 2006).

Cuando los animales se someten a la extirpación del ovario izquierdo y luego a la sección del NOS del lado izquierdo (OD *in situ* + NOS-I), aumentó la de estradiol respecto a la de los animales con el ovario derecho *in situ*. Si en la operación primero se secciona el NOS del lado izquierdo y luego se elimina el ovario izquierdo (NOS-I+ OD *in situ*) aumenta la concentración de estradiol (Montiel, 2006).

En aquellas ratas en las que se extirpó primero el ovario izquierdo y posteriormente se les seccionó el nervio derecho (OD *in situ* +NOS-D) se presentó aumento en la concentración sérica de estradiol en comparación de las ratas que sólo se les extirpó el ovario derecho. Al invertir el orden de la cirugía (NOS-D+OD *in situ*) no se observó cambios en la concentración sérica del esteroide (Montiel, 2006).

Mendoza (2007) mostró que en el día del diestro-2 la fuente principal de estradiol son los ovarios, que en los animales enteros, el NOS izquierdo regula de manera inhibitoria la secreción de E<sub>2</sub>, que si hay asimetría en la información que llega y sale del ovario por medio del NOS.

Gallegos (2005) mostró que la sección del NOS del lado izquierdo en el día del proestro a las 13:00 h resulta en disminución de la concentración de E<sub>2</sub> respecto a la de los animales con laparotomía cuando es evaluada una hora después de la cirugía; mientras que la sección del NOS del lado derecho no resultó en modificaciones.

Los grupos de animales sometidos a la estimulación mecánica o a la sección del NOS del lado izquierdo o del lado derecho en el día del estro a las 13:00 h presentaron disminución de la concentración de E<sub>2</sub>, en relación a la del grupo sometido a la laparotomía cuando los animales fueron sacrificados una hora después de la cirugía (Reyes, 2007).

En los animales que en el día del estro se les realizó ovariectomía izquierda (queda el ovario derecho *in situ*) seguida de la sección del NOS del lado izquierdo (ovario derecho *in situ* inervado) no se observó cambios en la concentración sérica del estradiol respecto a la de los animales con ovariectomía. A diferencia de ello, en aquellos que se les practicó ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS del lado derecho (permanece el ovario derecho *in situ* denervado) disminuyó la concentración del estradiol (Reyes, 2007).

En los animales que se les realizó ovariectomía derecha (queda el ovario izquierdo *in situ*) seguida de la sección del NOS del lado derecho (ovario izquierdo *in situ* inervado) no se observó cambios en la concentración sérica del estradiol respecto a la de los animales con ovariectomía. Los resultados de este estudio nos permiten corroborar que en la rata, la información neural que llega por el NOS actúa de manera estimulante y asimétrica sobre la secreción de la hormona (Reyes, 2007).

El efecto de la sección del NOS derecho en animales con ovariectomía izquierda en el día del proestro resultó en menor número de ovocitos liberados, mientras que no se modificó la tasa de animales ovulantes y la concentración de progesterona y 17-β estradiol. Los resultados indican que el NOS derecho modula de manera estimulante la ovulación (Velasco, 2007).

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 (Dissen y Ojeda, 1999). En la rata adulta, la sección unilateral del NOS resulta en la disminución o en la falta total de ovulación por el ovario denervado, y

los efectos sobre la ovulación varían según el día del ciclo estral en el que se halla realizado la sección (Chávez y Domínguez, 1994; Aguado y Ojeda, 1984).

En ratas adultas la sección bilateral del NOS, en la mañana del proestro, resulta en la disminución aguda de la secreción de  $E_2$ . Asimismo, el tratamiento realizado a las 16:00 horas, resulta en el aumento de la concentración de progesterona y no modifica la de  $E_2$ . La sección del NOS durante el estro no altera las concentraciones de esteroides, ni el flujo sanguíneo (Aguado y Ojeda, 1984).

La estimulación eléctrica del NOS causa la liberación de progesterona del ovario de ratas en el día del diestro. Inversamente, cuando se realiza la sección del NOS en ratas en el día del proestro, resulta en una repentina caída en la concentración de progesterona y estradiol en el afluyente de la vena ovárica (Aguado, 2002).

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En estudios previos se ha mostrado que los efectos agudos de la anestesia, la perforación uni o bilateral del peritoneo, así como los de la ovariectomía uni o bilateral sobre las concentraciones séricas de estradiol varían durante el ciclo estral. Además, que los efectos dependen del lado en que se realiza la perforación del peritoneo o la extirpación glandular, lo cual indica la existencia de asimetría en las capacidades secretoras de hormonas por parte de los ovarios.

Para explicar las diferencias en las capacidades secretoras de los órganos pares, se ha propuesto que las funciones de los ovarios son reguladas en parte por la inervación que reciben ya que existen evidencias de que los órganos pares reciben distinta información nerviosa.

El Nervio Ovárico Superior es una de las vías nerviosas que comunican al ovario con el sistema nervioso central, por medio del ganglio celiaco-mesentérico superior, lo que hace posible suponer que esta vía nerviosa participa en la regulación de los cambios en la secreción hormonal que se suceden al extirpar uno de los ovarios en cada etapa del ciclo estral.

Puesto que la participación de la inervación en los mecanismos que regulan las funciones del ovario varían en función del día del ciclo estral, en este estudio se propuso analizar los efectos agudos de la sección unilateral o bilateral del Nervio Ovárico Superior en animales a los que se les extirpará uno o ambos ovarios en los días del diestro-1 o diestro-2 de la rata adulta, sobre la secreción sérica de estradiol como indicador de la función secretora de los ovarios.



## **HIPÓTESIS**

Dado que el Nervio Ovárico Superior inerva a los ovarios y modula su respuesta a las gonadotropinas y es una vía de comunicación neural entre ellos (los ovarios) y el Sistema Nervioso Central, entonces, la denervación de uno o ambos ovarios producida por la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior afectará de manera diferente e inmediata la secreción de estradiol lo que dependerá de la etapa del ciclo estral de la rata en que se realice la denervación.

## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar de la participación del Nervio Ovárico Superior sobre la concentración sérica de 17  $\beta$ -estradiol secretada por los ovarios de la rata.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Objetivo 1.- Analizar los efectos agudos de la ovariectomía unilateral o bilateral realizada en los días del diestro de la rata sobre las concentraciones séricas de 17  $\beta$ -estradiol, el peso del útero y el ovario *in situ*.

Objetivo 2.- Analizar los efectos provocados por la estimulación (presión mecánica) uni o bilateral del NOS sobre las concentraciones séricas de 17  $\beta$ -estradiol, el peso del útero y los ovarios.

Objetivo 3.- Analizar los efectos agudos de la sección uni o bilateral del NOS sobre las concentraciones séricas de 17  $\beta$ -estradiol, el peso del útero y los ovarios.

Objetivo 4.- Analizar los efectos agudos de la sección unilateral del NOS en animales con ovariectomía unilateral sobre las concentraciones séricas de 17  $\beta$ -estradiol, el peso del útero y el ovario *in situ*.

Objetivo 5.- Analizar los efectos agudos de la ovariectomía unilateral en animales con sección unilateral del NOS sobre las concentraciones séricas de 17  $\beta$ -estradiol, el peso del útero y el ovario *in situ*.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron ratas hembras adultas de la cepa CIIZ-V, de tres meses de edad (195-225 g de peso), mantenidas en condiciones controladas de iluminación (luz de 05:00 a 19:00 horas), con libre acceso al agua y al alimento (Purina S.A., México). Se les tomó el frotis vaginal diariamente y sólo se utilizaron aquellos animales que presentaron dos ciclos consecutivos de cuatro días. A las 13:00 h en el día del diestro-1 o diestro-2, los animales fueron destinados a algunos de los siguientes grupos experimentales y sacrificados 24 horas después de la intervención quirúrgica (13:00 h) del día siguiente.

**GRUPOS EXPERIMENTALES (10 animales en cada grupo):**

Grupo Testigo: Ratas cíclicas intactas fueron sacrificadas a las 13:00 horas en los días del diestro-2 o proestro.

Grupo con Anestesia: Con el fin de analizar los efectos provocados por la anestesia sobre las concentraciones plasmáticas de E<sub>2</sub>, un grupo de ratas fueron anestesiadas con éter durante 3 a 4 minutos, que es el tiempo que se necesitó para realizar las cirugías.

Grupo con Laparotomía (PP): Para estudiar la acción que provoca la anestesia seguida de la laparotomía, las ratas que fueron anestesiadas con éter y se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) se cortó piel, músculo y peritoneo, sin tocar órganos internos. Posteriormente, se suturó la herida por planos.

Grupos con Ovariectomía: A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I, ovario derecho *in situ*), el ovario derecho (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*) o extirpar ambos ovarios (castración).

Grupos con Operación Estimulación del Nervio Ovárico Superior (SNOS): A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les exteriorizó el ovario y una vez identificado el ligamento suspensorio se presionó el NOS ligeramente con unas pinzas Kelly, aproximadamente a 1 cm de altura del ovario. Esta operación se hizo en el NOS del lado izquierdo (SNOS-I), derecho (SNOS-D) o de ambos lados (SNOS-B). Cabe aclarar que se presionó el nervio por un segundo, a modo que no se fuera a dañar o seccionar.

Grupos con Sección del Nervio Ovárico Superior (NOS): A ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les seccionó el NOS del lado izquierdo (NOS-I), derecho (NOS-D), o de ambos lados (NOS-B).

Grupos con Sección del Nervio Ovárico Superior y ovariectomía unilateral (NOS + Hovx) ipsilateral o contralateral al ovario *in situ*: Con el propósito de conocer el papel que tiene el NOS sobre la secreción de la hormona esteroide en el ovario inervado y denervado, a los animales se les seccionó el NOS-I y se extirpó el ovario izquierdo (NOS-I + Hovx-I; operación contralateral) o el ovario derecho (NOS-I + Hovx-D; operación ipsilateral). A otros grupos de ratas se les seccionó el NOS derecho y se les extirpó el ovario derecho (NOS-D + Hovx-D; operación contralateral) o el ovario izquierdo (NOS-D + Hovx-I; operación ipsilateral).

### **Procedimiento de autopsia**

Todos los animales fueron sacrificados por decapitación. Se recolectó la sangre del tronco, la cual se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 minutos y se centrifugó a 3000 rpm durante 15 minutos. Una vez terminada la centrifugación se separó el suero del botón celular y fue almacenado a -20°C, hasta la cuantificación de la concentración de la hormona.

## **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES EN SUERO**

La cuantificación del 17  $\beta$ -estradiol se realizó por radioinmunoanálisis de fase sólida, para lo cual se utilizó un estuche (Coat-A-Count, USA), que consistió de tubos de polipropileno impregnados con anticuerpos de coneja, viales de hormona marcada ( $^{125}\text{I}$ -Estradiol) y calibradores para la realización de la curva patrón (Estradiol: 2.5, 5, 10, 20, 50, 150, 250, 500, 900 pg/ml). A cada tubo se le adicionaron 100  $\mu\text{l}$  de suero problema, mas 1000  $\mu\text{l}$  de la hormona marcada, todos los tubos se agitaron y se incubaron a temperatura ambiente durante tres horas. Posteriormente se decantó el sobrenadante de cada tubo, se secaron las paredes del mismo y se colocaron en un contador de centelleo gama para su análisis. La concentración de la estradiol se expresó en pg/ml de suero.

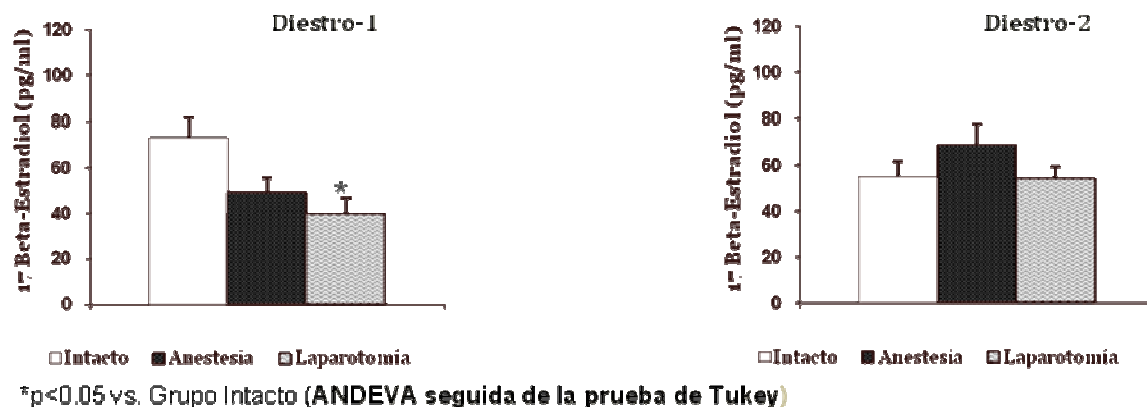
## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los datos de las concentraciones séricas de las hormonas fueron analizados mediante la prueba de análisis de varianza (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. En los casos en que se compararon dos grupos, el análisis se realizó por medio de la prueba "t" de Student. En todos los casos sólo se aceptaron como significativas aquellas diferencias en las que la probabilidad fuera igual o menor a 0.05.

## RESULTADOS

## EFECTOS DE LA ANESTESIA O DE LA LAPAROTOMÍA VENTRAL

En los animales sometidos a la laparotomía ventral en el día del diestro-1 se observó menor concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol respecto a la de los animales intactos, mientras que la anestesia o la laparotomía en el diestro-2 no resultó en alteraciones en la concentración del esteroide (Gráfica 1).



Gráfica 1. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de  $17\beta$ - estradiol en animales intactos, anestesiados o con laparotomía a las 13:00 h en el día diestro-1 o diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

La laparotomía en el diestro-1 resultó en mayor peso corporal y menor masa ovárica respecto a la de los animales sometidos a la anestesia (Tabla 1). La anestesia en el día del diestro-2 resultó en disminución del peso corporal y mayor masa ovárica respecto a la de los animales intactos (Tabla 2).

Tabla 1: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales sometidos a anestesia o a la laparotomía a las 13:00 h del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Intacto <sup>©</sup>	10	256.4 $\pm$ 7.9	10	21.6 $\pm$ 1.3	10	134.2 $\pm$ 7.2
Anestesia	10	244.7 $\pm$ 6.0	10	25.1 $\pm$ 0.8	10	153.4 $\pm$ 10.2
Laparotomía	10	273.1 $\pm$ 5.4 <sup>♣</sup>	9	20.5 $\pm$ 0.9 <sup>♣</sup>	10	128.3 $\pm$ 11.9

<sup>©</sup>intactos sacrificados en el día del diestro-2 a las 13:00 h.

\*p<0.05 vs. Grupo Intacto (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey); <sup>♣</sup>p<0.05 vs. Grupo sometido a la anestesia (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Tabla 2: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales sometidos a anestesia o a la laparotomía a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Intacto	10	275.0 $\pm$ 5.3	10	25.8 $\pm$ 0.9	10	170.4 $\pm$ 6.2
Anestesia	10	242.1 $\pm$ 7.4*	10	30.3 $\pm$ 1.2*	10	196.3 $\pm$ 18.4
Laparotomía	10	252.5 $\pm$ 7.4	10	27.4 $\pm$ 1.5	10	169.1 $\pm$ 10.5

©intactos sacrificados en el día del proestro a las 13:00 h.

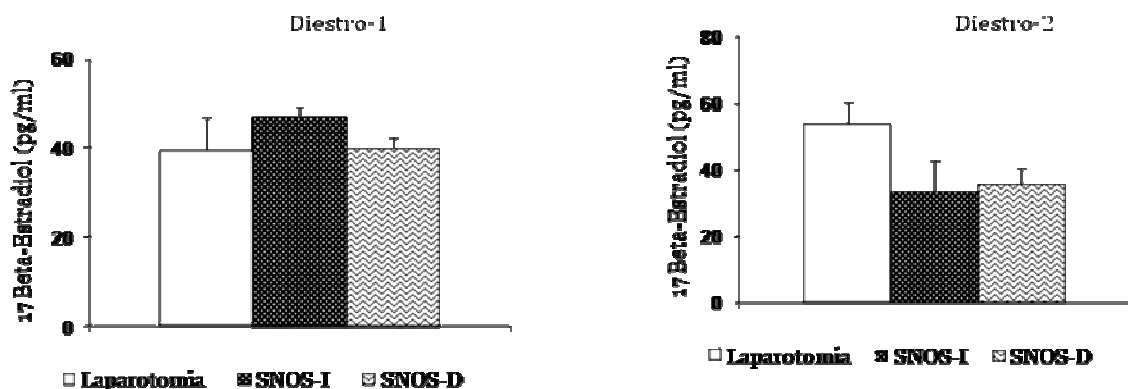
\*p<0.05 vs. Grupo Intacto (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

## EFFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN DEL NERVIÓ OVÁRICO SUPERIOR (SNOS)



Figura 11: Esquema de la cirugía de la estimulación del NOS unilateral del lado izquierdo o derecho.

En los animales sometidos a la estimulación del NOS en ambos días del diestro no se observaron cambios en la concentración sérica del 17  $\beta$ -estradiol con respecto a la del grupo con laparotomía (Gráfica 2).



Gráfica 2. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17 $\beta$ -estradiol en animales con laparotomía, estimulación del nervio ovárico superior del lado izquierdo ó derecho a las 13:00 h en el día diestro-1 o diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

La estimulación mecánica del NOS del lado izquierdo o del lado derecho en el día del diestro-1 resultó en disminución del peso corporal respecto al del grupo de animales con laparotomía, lo que se acompañó de aumento del peso de los ovarios (Tabla 3). Estos procedimientos quirúrgicos en el día del diestro-2 no resultaron en cambios en los parámetros cuantificados (Tabla 4).

**Tabla 3: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (SNOS-I) ó derecho (SNOS-D) a las 13:00 h del día del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	273.1 $\pm$ 5.4	9	20.5 $\pm$ 0.9	10	128.3 $\pm$ 11.9
SNOS-I	10	241.6 $\pm$ 4.2*	10	26.0 $\pm$ 0.9*	10	130.0 $\pm$ 3.9
SNOS-D	10	253.0 $\pm$ 6.1*	10	27.2 $\pm$ 1.1*	10	119.6 $\pm$ 6.4

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**Tabla 4: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (SNOS-I) ó derecho (SNOS-D) a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	252.5 $\pm$ 7.4	10	27.4 $\pm$ 1.5	10	169.1 $\pm$ 10.5
SNOS-I	10	257.0 $\pm$ 9.6	10	27.6 $\pm$ 1.7	10	188.7 $\pm$ 26.0
SNOS-D	10	258.2 $\pm$ 7.6	10	28.4 $\pm$ 1.8	10	145.6 $\pm$ 7.2

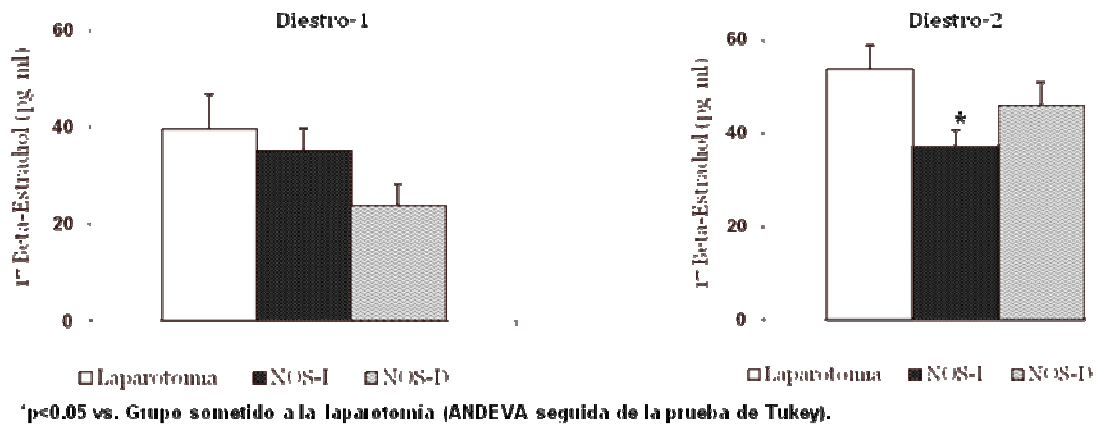


**EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIU OVÁRICO SUPERIOR (NOS)**



Figura 12: Esquema de la cirugía de la sección del NOS unilateral del lado izquierdo o derecho.

La sección del NOS del lado derecho en ambos días del diestro no se tradujo en alteraciones en la concentración del esteroide con respecto a la de los animales sometidos a la laparotomía. A diferencia de ello, la sección del NOS del lado izquierdo sólo en el diestro-2 se tradujo en disminución de la secreción de estradiol (Gráfica 3).



Gráfica 3. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con laparotomía o sometidos a sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) ó lado derecho (NOS-D) a las 13:00 h en el día diestro-1 o diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

La falta de la información nerviosa que llega a cada ovario en el día del diestro-1 resultó en menor peso corporal y en mayor masa ovárica respecto a la del grupo con laparotomía (Tabla 5).

**Tabla 5: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) ó derecho (NOS-D) a las 13:00 h del día del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	273.1 $\pm$ 5.4	9	20.5 $\pm$ 0.9	10	128.3 $\pm$ 11.9
NOS-I	10	245.7 $\pm$ 4.1*	10	24.7 $\pm$ 0.8*	10	123.8 $\pm$ 14.3
NOS-D	10	248.1 $\pm$ 5.9*	10	24.6 $\pm$ 1.3*	10	153.2 $\pm$ 14.5

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

En el día del diestro-2, la falta de información neural del lado derecho resultó en disminución del peso corporal de los animales que se acompañó de aumento en el peso de los ovarios respecto a la del grupo de ratas con laparotomía o con sección del NOS del lado izquierdo (Tabla 6).

**Tabla 6: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) ó derecho (NOS-D) a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	252.5 $\pm$ 7.4	10	27.4 $\pm$ 1.5	10	169.1 $\pm$ 10.5
NOS-I	10	253.2 $\pm$ 6.3	10	28.2 $\pm$ 1.8	10	145.4 $\pm$ 8.9
NOS-D	10	240.6 $\pm$ 8.2*♣	10	37.5 $\pm$ 3.6*♣	10	170.4 $\pm$ 6.8

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la Laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey); ♣p<0.05 vs. Grupo con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN MECÁNICA DEL NERVO OVÁRICO SUPERIOR DEL LADO IZQUIERDO CON LA SECCIÓN DEL NERVO OVÁRICO SUPERIOR**

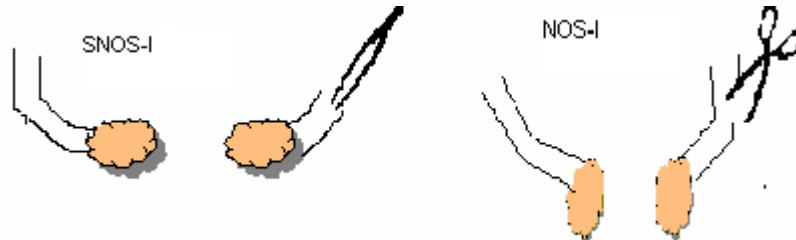
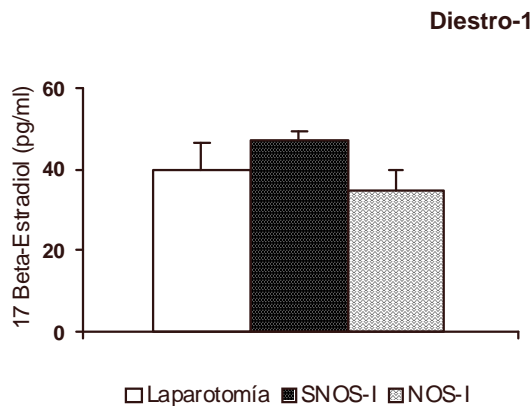


Figura 13: Esquema de la cirugía de la estimulación del NOS unilateral del lado izquierdo y sección del NOS unilateral del lado izquierdo.

En el día del diestro-1, la estimulación mecánica del NOS del lado izquierdo comparada con la sección del nervio no se tradujo en alteraciones significativas de la secreción de la hormona respecto a la del grupo con laparotomía (Gráfica 4). Sin embargo, ambos procedimientos quirúrgicos resultaron en menor peso corporal y en mayor masa ovárica respecto a la del grupo con laparotomía (Tabla 7).



Gráfica 4. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17 $\beta$ -estradiol en animales con laparotomía o sometidos a la estimulación del nervio ovárico superior del lado izquierdo (SNOS-I), sección del nervio izquierdo (NOS-I) a las 13:00 h en el día del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

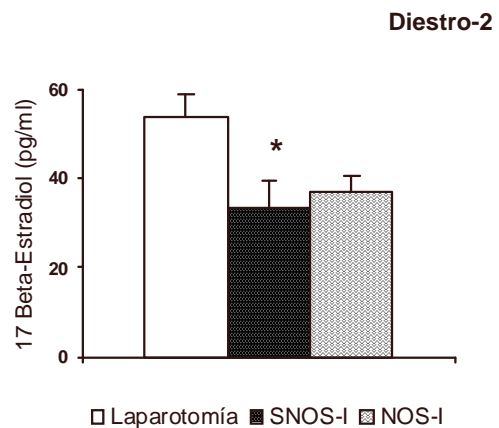
**Tabla 7: Media ± e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (SNOS-I) ó sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) a las 13:00 h del día del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	N	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	273.1±5.4	9	20.5±0.9	10	128.3±11.9
SNOS-I	10	241.6±4.2*	10	26±0.9.0*	10	130.0± 3.9
NOS-I	10	245.7±4.1*	10	24.7±0.8*	10	123.8±14.3

\*p<0.01 vs. Grupo con Laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Cuando se comparan los efectos de la estimulación mecánica del NOS del lado izquierdo con los de la sección del NOS en el día del diestro-2, se observó que la reducción de la concentración de la hormona es mayor en animales con la estimulación mecánica del nervio comparada con la del grupo con laparotomía (Gráfica 5), pero no se presentaron alteraciones en el peso corporal ni en el de los órganos (Tabla 8).

**Gráfica 5. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con laparotomía o sometidos a la estimulación del nervio ovárico superior del lado izquierdo (SNOS-I), sección del nervio izquierdo (NOS-I) a las 13:00 h en el día del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**



\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la lapartomía (ANDEVAseguida de la prueba de Tukey).

**Tabla 8: Media ± e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (SNOS-I) ó sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (NOS-I) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	252.5±7.4	10	27.4±1.5	10	169.1±10.5
SNOS-I	10	257.0±9.6	10	27.6±1.7	10	188.7±26.0
NOS-I	10	253.2±6.3	10	28.2±1.8	10	145.4± 8.9

**COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA ESTIMULACIÓN MECÁNICA DEL NERVI OVARICO SUPERIOR DEL LADO DERECHO CON LA SECCIÓN DEL NERVI OVARICO SUPERIOR**

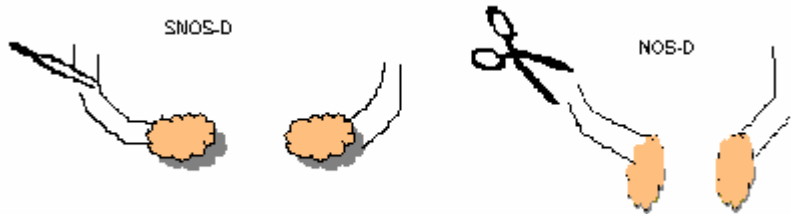
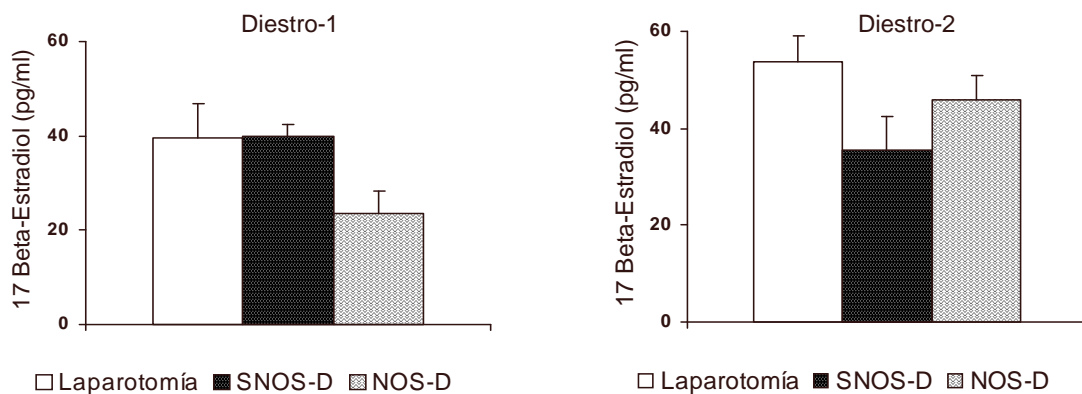


Figura 14: Esquema de la cirugía de la estimulación del NOS unilateral del lado derecho y sección del NOS unilateral del lado derecho.

La estimulación mecánica o la sección del NOS del lado derecho en los días del diestro no resultó en alteraciones significativas de la concentración del esteroide cuando fue evaluado 24 horas después de los procedimientos quirúrgicos (Gráfica 6).



Gráfica 6. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con laparotomía o sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (SNOS-D) ó la sección del Nervio Ovárico Superior (NOS-D) a las 13:00 h en el día diestro-1 o diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

A pesar de la ausencia de cambios hormonales, en los animales con estimulación mecánica del NOS en el día del diestro-1, se observó aumento en el peso de los ovarios, mientras que en los animales con sección del NOS del lado derecho en la misma etapa del ciclo estral se presentó disminución del peso corporal y aumento de la masa ovárica (Tabla 9).

**Tabla 9: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (SNOS-D) ó la sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (NOS-D) a las 13:00 h del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	273.1 $\pm$ 5.4	9	20.5 $\pm$ 0.9	10	128.3 $\pm$ 11.9
SNOS-D	10	253.0 $\pm$ 6.1	10	27.2 $\pm$ 1.1*	10	119.6 $\pm$ 6.4
NOS-D	10	248.1 $\pm$ 5.9*	10	24.6 $\pm$ 1.3*	10	153.2 $\pm$ 14.5

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Asimismo, el en día del diestro-2, en los animales con sección del nervio ovárico superior del lado derecho se presentó mayor el peso de la masa ovárica con respecto a los animales con laparotomía o con estimulación mecánica del nervio (Tabla 10).

**Tabla 10: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), la masa ovárica y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (SNOS-D) ó la sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (NOS-D) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.**

GRUPO	n	PC (g)	n	Masa Ovárica (mg/ 100 g. P.C.)	n	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	252.5 $\pm$ 7.4	10	27.4 $\pm$ 1.5	10	169.1 $\pm$ 10.5
SNOS-D	10	258.2 $\pm$ 7.6	10	28.4 $\pm$ 1.8	10	145.6 $\pm$ 7.2
NOS-D	10	240.6 $\pm$ 8.2	10	37.5 $\pm$ 3.6*&	10	170.4 $\pm$ 6.8

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey); &p<0.05 vs. Grupo sometido a la Estimulación del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

## EFFECTOS DE LA OVARIECTOMÍA UNILATERAL

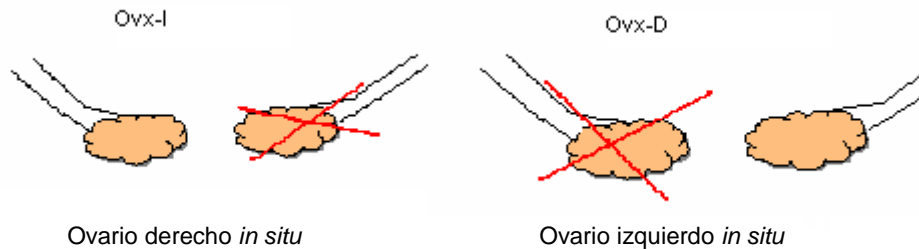
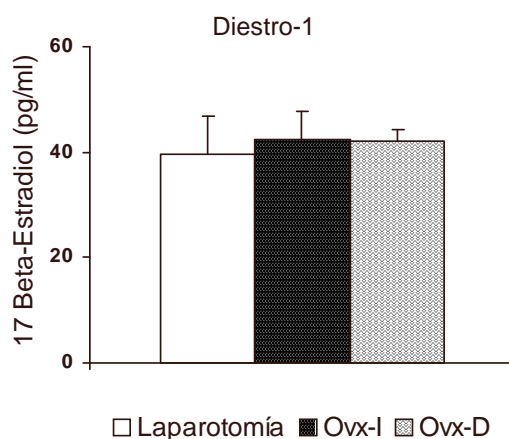


Figura 15: Esquema de la ovariectomía unilateral izquierdo o derecho

Respecto a las capacidades secretoras de  $17\beta$ -estradiol de cada ovario, se observó que en el día del diestro-1 la extirpación de cualquiera de los ovarios no resultó en modificación de los parámetros evaluados respecto a los del grupo sometido a la laparotomía (Gráfica 7 y Tabla 11).

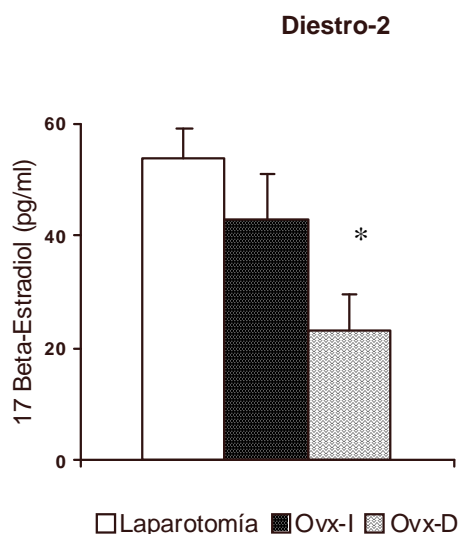


Gráfica 7. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol en animales con laparotomía o sometidos a la ovariectomía del lado izquierdo (OVX-I) o del lado derecho (OVX-D) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

Tabla 11: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), el ovario *in situ* y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I) o del lado derecho (Ovx-D) a las 13:00 h del día del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	Ovario Izquierdo <i>in situ</i> (mg/100g.P.C.)	Ovario Derecho <i>in situ</i> (mg/100g P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	273.1 $\pm$ 5.4	10.5 $\pm$ 0.6	10.0 $\pm$ 0.6	128.3 $\pm$ 11.9
Ovx-I	10	252.5 $\pm$ 8.0		11.8 $\pm$ 0.6	145.1 $\pm$ 9.6
Ovx-D	10	250.5 $\pm$ 7.0	11.7 $\pm$ 0.9		152.2 $\pm$ 16.7

En el día del diestro-2 se observó que cuando queda el ovario izquierdo *in situ* (se extirpó el ovario derecho) los animales presentaron disminución en la concentración del esteroide respecto a la de los animales con laparotomía (Gráfica 8).



Gráfica 8. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17 $\beta$ -estradiol en animales con laparotomía o sometidos a la ovariectomía del lado izquierdo (OVX-I) o del lado derecho (OVX-D) a las 13:00 h en el diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

\*p<0.05 vs. Laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey)

Respecto al peso de los órganos se observó que en los animales con el ovario derecho *in situ* se presentó aumento en el peso del útero respecto al de los animales con laparotomía y con el ovario izquierdo *in situ* (Tabla 12).

Tabla 12: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero de animales con laparotomía, sometidos a la ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I) o del lado derecho (Ovx-D) a las 13:00 h del día del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	Ovario Izquierdo <i>in situ</i> (mg/100g. P.C.)	Ovario Derecho <i>in situ</i> (mg/100g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Laparotomía	10	252.5 $\pm$ 7.4	14.3 $\pm$ 1.1	13.1 $\pm$ 0.7	169.1 $\pm$ 10.5
Ovx-I	10	226.4 $\pm$ 8.5		15.5 $\pm$ 1.1	211.5 $\pm$ 15.0*
Ovx-D	10	245.0 $\pm$ 7.4	14.7 $\pm$ 0.8		157.5 $\pm$ 9.4&

\*p<0.05 vs. Grupo sometido a la laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey); &p<0.01 vs. Grupo con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I) (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).



---

---

**EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NOS Y LA OVARIECTOMÍA DEL LADO IZQUIERDO**

Estos procedimientos experimentales se realizaron para analizar los resultados que se observan en animales que se les elimina primero la información neural (sección del NOS del lado izquierdo) y luego se elimina la información hormonal (extirpación del ovario izquierdo) (Fig. 16) contra aquellos resultados donde se hace la operación inversa, es decir, primero quita el aporte hormonal (Ovx-I) y luego la información neural (NOS-I) (Fig. 16); debido a que en la bibliografía consultada no aclara cuál es el orden en que se realizan los procedimientos quirúrgicos. En ambas cirugías el ovario *in situ* queda innervado.

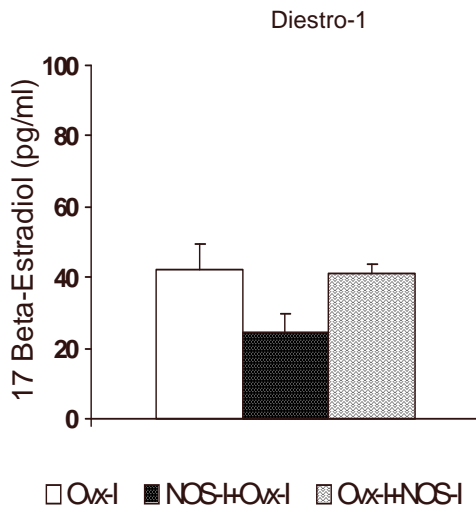


Ovario derecho *in situ* innervado

Ovario derecho *in situ* innervado

Figura 16: Esquema de la sección del NOS unilateral del lado izquierdo con ovariectomía unilateral del lado izquierdo o la ovariectomía unilateral del lado izquierdo con sección del NOS del lado izquierdo (ipsilateral).

Como se observa en la Gráfica 9 y en la Tabla 13, en el día del diestro-1 las operaciones quirúrgicas antes mencionadas no resultaron en alteraciones hormonales respecto a lo observado en el animal con ovariectomía del lado izquierdo.

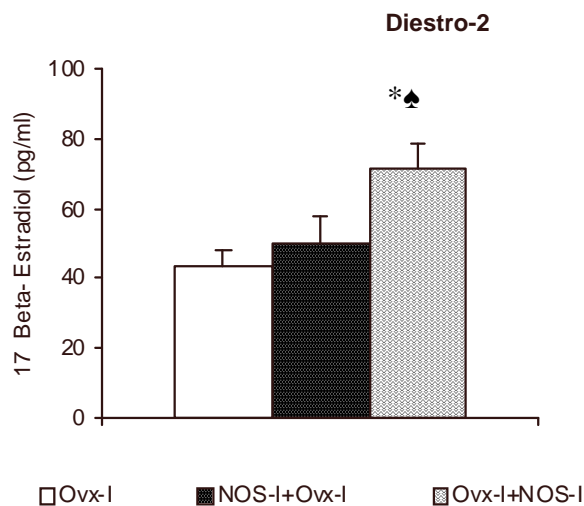


**Gráfica 9.** Media  $\pm$  e.e.m de la concentración sérica de 17 $\beta$ - estradiol en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-I + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (Ovx-I + NOS-I) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

**Tabla 13:** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-I + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (Ovx-I + NOS-I) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	Ovario Derecho <i>in situ</i> (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-I	10	252.5 $\pm$ 8.0	11.8 $\pm$ 0.6	145.1 $\pm$ 9.6
NOS-I + Ovx-I	10	250.9 $\pm$ 3.4	12.6 $\pm$ 0.7	132.4 $\pm$ 6.2
Ovx-I + NOS-I	10	248.9 $\pm$ 4.0	12.3 $\pm$ 0.9	129.3 $\pm$ 5.4

En el día del diestro-2 si se elimina primero el aporte hormonal y luego se elimina la información neural resulta en aumento de la concentración de estradiol con respecto a la del grupo de animales con ovariectomía unilateral o a la de los animales que primero se les eliminó el aporte neural y enseguida el aporte hormonal (Gráfica 10).



**Gráfica 10.** Media  $\pm$  e.e.m de la concentración sérica de 17 $\beta$ - estradiol en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-I + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (Ovx-I + NOS-I) a las 13:00 h en el diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

\*p<0.01 vs. Ovx-I ♠p<0.05 vs. NOS-I+Ovx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

A pesar de la falta de alteración hormonal en los animales a los que se les eliminó primero la información neural y luego el aporte hormonal (NOS-I+Ovx-I), se presentó aumento del peso del ovario derecho *in situ* con respecto al de los animales con Ovx-I (Tabla 14).

**Tabla 14:** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-I + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo (Ovx-I + NOS-I) a las 13:00 h en el día diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	Ovario Derecho <i>in situ</i> (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-I	10	226.4 $\pm$ 8.5	15.5 $\pm$ 1.1	211.5 $\pm$ 15.0
NOS-I + Ovx-I	10	235.4 $\pm$ 4.4	21.6 $\pm$ 1.5*	173.5 $\pm$ 7.8
Ovx-I + NOS-I	10	252.2 $\pm$ 8.0	17.3 $\pm$ 1.7	203.1 $\pm$ 15.1

\*p<0.05 vs. Grupo con ovariectomía izquierda (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NOS Y LA OVARIECTOMÍA DEL LADO DERECHO**

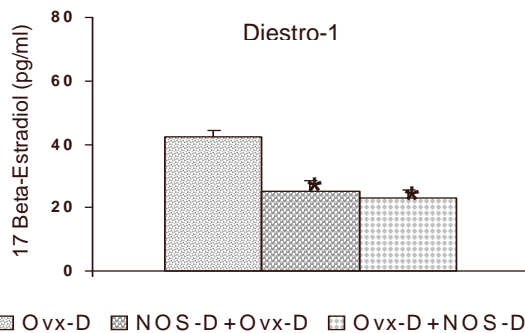


Ovario izquierdo *in situ* inervado

Ovario izquierdo *in situ* inervado

Figura 17: Esquema de la sección del NOS unilateral del lado derecho con ovariectomía unilateral del lado derecho o la ovariectomía unilateral del lado derecho con sección del NOS del lado derecho (ipsilateral).

La sección del NOS del lado derecho y la extirpación de la gonada del mismo lado (Fig. 17) en el diestro-1 se tradujo en disminución de la concentración de la hormona respecto a la del grupo con ovariectomía del lado derecho. Este resultado es similar al observado en los animales que primero se les eliminó el ovario y luego se seccionó el NOS del lado derecho (Fig. 17) (Gráfica 11). A pesar de dicha reducción hormonal no se presentaron cambios en los pesos de órganos (Tabla 15).



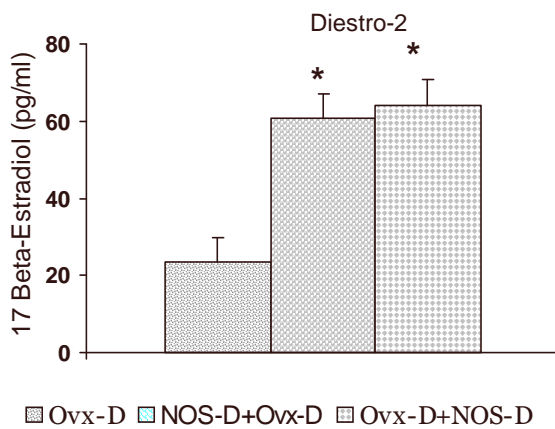
\*p<0.01 vs. Ovx-D ♣p<0.05 vs. NOS-D+Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey)

Gráfica 11. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con ovariectomía unilateral derecha (OVX-D) o sometidos a la sección del nervio ovárico superior derecho con ovariectomía unilateral del lado derecho (NOS-D + OVX-D) ó animales con la ovariectomía unilateral del lado derecho con sección del NOS derecho (OVX-D + NOS-D) a las 13:00 h del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

Tabla 15: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado derecho (Ovx-D), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado derecho (NOS-D + Ovx-D) o con ovariectomía del lado derecho y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-D + NOS-D) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	N	PC (g)	Ovario Izquierdo <i>in situ</i> (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-D	10	250.5 $\pm$ 7.1	11.7 $\pm$ 0.9	152.1 $\pm$ 16.7
NOS-D + Ovx-D	10	235.7 $\pm$ 9.0	14.0 $\pm$ 2.7	129.0 $\pm$ 7.1
Ovx-D + NOS-D	10	232.9 $\pm$ 6.4	14.0 $\pm$ 0.8	144.0 $\pm$ 8.0

Inversamente a lo que sucedió en el diestro-1, la sección del NOS del lado derecho y la extirpación de la gonada del mismo lado en el diestro-2 se tradujo en aumento de la concentración de la hormona respecto a la del grupo con ovariectomía del lado derecho. Este resultado es similar al observado en los animales que primero se les eliminó el ovario y luego se seccionó el NOS del lado derecho (Gráfica 12), donde además se presentó aumento del peso del útero respecto al de los animales con NOS-D+Ovx-D (Tabla 16).



Gráfica 12. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17 $\beta$ -estradiol en animales con ovariectomía unilateral derecha (OVX-D) o sometidos a la sección del nervio ovárico superior derecho con ovariectomía unilateral del lado derecho (NOS-D + OVX-D) ó animales con la ovariectomía unilateral del lado derecho con sección del NOS derecho (OVX-D + NOS-D) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

\*p<0.01 vs. Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Tabla 16: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado derecho (Ovx-D), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado derecho (NOS-D + Ovx-D) o con ovariectomía del lado derecho y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-D + NOS-D) a las 13:00 h en el diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	N	PC (g)	Ovario Izquierdo Denervado (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-D	10	245.0 $\pm$ 7.4	14.7 $\pm$ 0.8	157.5 $\pm$ 9.4
NOS-D + Ovx-D	10	245.3 $\pm$ 5.7	18.8 $\pm$ 2.8	146.4 $\pm$ 3.2
Ovx-D + NOS-D	10	245.8 $\pm$ 4.9	20.9 $\pm$ 1.7	175.7 $\pm$ 7.2&

&p<0.05 vs. Grupo con NOS-D+Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NOS DEL LADO DERECHO Y LA OVARIECTOMÍA DEL LADO IZQUIERDO**

Estos procedimientos experimentales se realizaron para analizar los resultados que se observan en animales que se les elimina primero la información neural (sección del NOS del lado derecho) y luego se elimina la información hormonal (extirpación del ovario izquierdo) (Fig. 5) contra aquellos resultados donde se hace la operación inversa, es decir, primero quita el aporte hormonal (Ovx-I) y luego la información neural (NOS-D) (Fig. 6); debido a que en la bibliografía consultada no aclara cuál es el orden en que se realizan los procedimientos quirúrgicos. En ambas cirugías el ovario *in situ* queda denervado, es decir, no recibe la información neural proveniente del NOS.

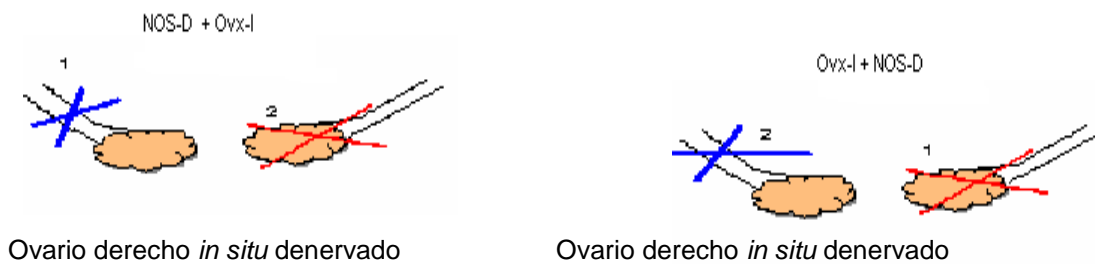
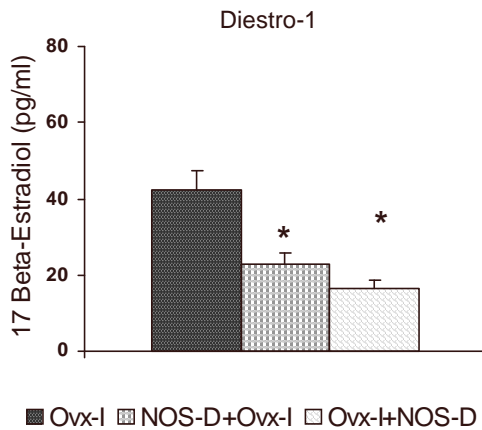


Figura 18: Esquema de la sección del NOS unilateral del lado derecho con ovariectomía unilateral del lado izquierdo o la ovariectomía unilateral del lado izquierdo con sección del NOS del lado derecho (contralateral).

Cuando las cirugías descritas se realizaron en el diestro-1, se observó disminución de la concentración de la hormona sobre todo cuando se quitó primero el aporte hormonal y luego la información neural (Gráfica 13), aunque en este último procedimiento los animales presentaron aumento del peso del ovario *insitu*(Tabla17).



Gráfica 13. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del nervio ovárico superior del lado derecho y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-D + OVX-I) o en animales con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del NOS del lado derecho (OVX-I + NOS-D) a las 13:00 h del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

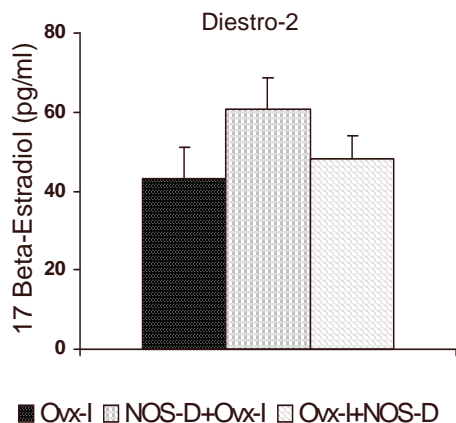
\*p<0.01 vs. Ovx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Tabla 17: Media ± e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-D + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-I + NOS-D) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	N	PC (g)	Ovario derecho denervado (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-I	10	252.5± 8.0	11.8±0.6	145.1± 9.6
NOS-D + Ovx-I	10	248.2± 8.3	12.9±0.6	115.8±10.1
Ovx-I +NOS-D	10	217.4±13.3	16.8±1.5*&	135.5±11.6

\* p<0.05 vs. Grupo con Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). &p<0.05 vs. Grupo con NOS-D+Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Los procedimientos quirúrgicos en la etapa del diestro-2 no resultaron en cambios en las concentraciones hormonales (Gráfica 14), pero el peso del útero presentó disminución respecto al de los animales con ovariectomía izquierda (Tabla 18).



Gráfica 14. Media ± e.e.m. de la concentración sérica de 17β-estradiol en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del nervio ovárico superior del lado derecho y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-D + OVX-I) o en animales con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del NOS del lado derecho (OVX-I + NOS-D) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

Tabla 18: Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I), con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado izquierdo (NOS-D + Ovx-I) o con ovariectomía del lado izquierdo y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-I + NOS-D) a las 13:00 h en el diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	n	PC (g)	Ovario derecho denervado (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-I	10	226.4 $\pm$ 8.5	15.5 $\pm$ 1.1	211.5 $\pm$ 15.0
NOS-D + Ovx-I	10	242.7 $\pm$ 5.4	20.5 $\pm$ 2.0	173.1 $\pm$ 13.0
Ovx-I +NOS-D	10	244.6 $\pm$ 4.6	20.0 $\pm$ 2.3	159.7 $\pm$ 8.1*

\* p<0.05 vs. Grupo con Ovariectomía del lado izquierdo (Ovx-I) (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

### EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NOS DEL LADO IZQUIERDO Y LA OVARIECTOMÍA DEL LADO DERECHO

En los animales que permanecieron con el ovario izquierdo *in situ* denervado en el diestro-1 se presentó disminución de la concentración sérica del esteroide (Gráfica 15), independientemente si primero se quita el aporte hormonal y enseguida la información neural (Ovx-D + NOS-I; Fig.18) o primero se elimina la información neural y luego la hormonal (NOS-I + Ovx-D; Fig. 18).

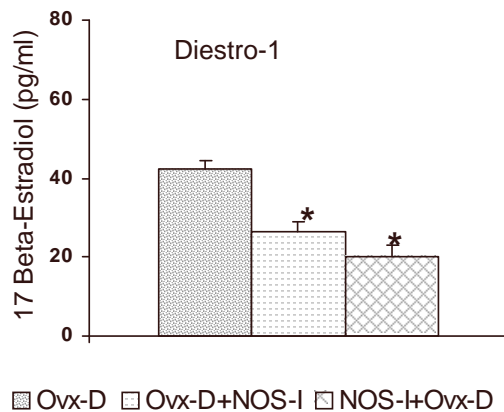


Ovario izquierdo *in situ* denervado

Ovario izquierdo *in situ* denervado

Figura 18: Esquema de la ovariectomía unilateral del lado derecho con sección del NOS del lado izquierdo o la sección del NOS unilateral del lado izquierdo con ovariectomía unilateral del lado derecho (contralateral).





**Gráfica 15.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17 $\beta$ -estradiol en animales con ovariectomía del lado derecho (OVX-D), con ovariectomía del lado derecho con sección del NOS del lado izquierdo (OVX-D + NOS-I), ó con sección del NOS del lado izquierdo y con ovariectomía del lado derecho (NOS-I + OVX-D) a las 13:00 h del diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

\*p<0.001 vs. Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

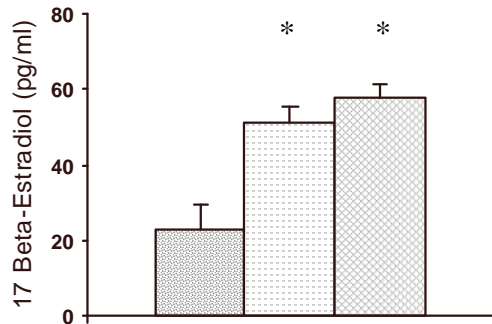
Eliminar el ovario derecho y luego seccionar el NOS del lado opuesto en el diestro-1 resultó en disminución del peso corporal y aumento del peso del ovario izquierdo *in situ* respecto a los pesos de los animales con ovariectomía del lado derecho (Tabla 19).

**Tabla 19:** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado derecho (Ovx-D), con ovariectomía del lado derecho y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-D + NOS-D-) o con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado derecho (NOS-D + Ovx-D) a las 13:00 h en el diestro-1 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	N	PC (g)	Ovario izquierdo denervado (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-D	10	250.5 $\pm$ 7.1	11.7 $\pm$ 0.9	152.1 $\pm$ 16.7
Ovx-D +NOS-I	10	194.7 $\pm$ 14.1*	17.8 $\pm$ 1.9*	155.4 $\pm$ 12.2
NOS-I + Ovx-D	10	232.7 $\pm$ 10.3&	13.4 $\pm$ 1.1	129.6 $\pm$ 12.9

\*p<0.05 vs. Grupo de Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). &p<0.05 vs. Grupo con Ovx-D +NOS-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

Contrariamente a lo que sucedió en el diestro-1, las cirugías en el diestro-2 resultaron en aumento de la hormona y del peso del ovario *in situ*, y también, independientemente del orden de la cirugía (Gráfica 16 y Tabla 20).



■ Ovx-D ■ Ovx-D+NOS-I ■ NOS-I+Ovx-D  
\*p<0.001 vs. Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

**Gráfica 16.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de 17  $\beta$ -estradiol en animales con ovariectomía del lado derecho (OVX-D), con ovariectomía del lado derecho con sección del NOS del lado izquierdo (OVX-D + NOS-I), ó con sección del NOS del lado izquierdo y con ovariectomía del lado derecho (NOS-I + OVX-D) a las 13:00 h del diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

**Tabla 20:** Media  $\pm$  e.e.m. del peso corporal (PC), del ovario *in situ* y del útero en animales con ovariectomía del lado derecho (Ovx-D), con ovariectomía del lado derecho y con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho (Ovx-D + NOS-D-) o con sección del Nervio Ovárico Superior del lado derecho y con ovariectomía del lado derecho (NOS-D + Ovx-D) a las 13:00 h en el diestro-2 y sacrificados 24 horas después de la cirugía.

GRUPO	N	PC (g)	Ovario Izquierdo denervado (mg/ 100 g. P.C.)	Útero (mg/ 100 g. P.C.)
Ovx-D	10	245.0 $\pm$ 7.4	14.7 $\pm$ 7.8	157.5 $\pm$ 9.4
Ovx-D + Nos-I	10	229.5 $\pm$ 5.0	25.0 $\pm$ 1.1*	176.0 $\pm$ 12.5
NOS-I + Ovx-D	10	244.3 $\pm$ 6.2	23.2 $\pm$ 1.0*	173.0 $\pm$ 9.5

\*p<0.05 vs. Grupo de Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey).

## **DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

Los resultados del presente estudio muestran que existe una relación funcional entre los ovarios en la regulación de la secreción de hormonas y que el nervio ovárico superior modula la respuesta de los ovarios a las gonadotropinas. Asimismo, que dichas relaciones funcionales dependen del ovario, del lado del nervio ovárico superior remanente, el día en que se realiza la operación, el día en que se cuantifican los resultados y el orden de la cirugía.

Montiel (2005) mostró que en los animales sometidos a la anestesia en el diestro-1, y que fueron sacrificados una hora después, se presentó menor concentración sérica de  $17\beta$ -estradiol respecto a la de los animales intactos; sin cambios en la concentración de este esteroide en animales sometidos a la laparotomía. A diferencia de ello, Mendoza (2007) en el diestro-2 no observó alteraciones en la concentración del esteroide en animales sacrificados a la hora. En este estudio, se mostró que 24 horas después de dichos tratamientos experimentales se presentó disminución en la concentración de la hormona en los animales que fueron sometidos a la laparotomía. Estos resultados implican que la anestesia representa un factor estresante que sólo de manera inmediata (una hora) altera los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción del esteroide, pero que transcurridas 24 horas el sistema neuroendocrino llega a la homeostasis.

A diferencia de ello, la laparotomía representa un factor estresante más agresivo donde la señal neural que recibe el peritoneo lleva la información al SNC y se traduce en disminución de la secreción hormonal por parte de los ovarios, que se acompañó de la disminución del peso de estos. Al respecto, Tanaka y col., (2002) mostraron que la mayor parte del peritoneo parietal recibe inervación sensorial que proviene del ganglio de la raíz dorsal, mientras que el peritoneo visceral recibe inervación por parte de los nervios espinales y del nervio vago. Con base en los resultados, se sugiere que al llegar la información que transcurre por el peritoneo al SNC, los gonadotropos de la adenohipófisis responden con disminución en la secreción de la FSH y de esa forma ya no se estimula el

crecimiento de los ovarios y la aromatización de los andrógenos a estrógenos (Fink, 2000).

Por otra parte, al igual que lo observado por Mendoza (2007), la anestesia y la laparotomía en el diestro-2 no resultaron en cambios en la concentración de la hormona. Sin embargo, aunque la diferencia no es significativa, en el presente estudio se observó aumento en la concentración del esteroide cuando los animales fueron sometidos a la anestesia acompañado de aumento del peso de los ovarios y el útero que son órganos blanco de los estrógenos (Domínguez, 1993; Ganong, 2000). Los receptores a estrógenos se expresan de manera diferente según el tejido donde se localicen. Los receptores alfa se encuentran fundamentalmente en el endometrio, la mama y el estroma ovárico, mientras que los receptores beta predominan en las células de la granulosa del folículo ovárico (Terán y Teppa 2005).

A diferencia de lo que sucedió en el diestro-1, se podría sugerir que la anestesia podría estimular la secreción de FSH, el aumento del peso de los ovarios y la secreción del esteroide cuantificado. Al respecto, se sabe que además de la acción de la FSH y la LH en la transformación del folículo primordial a la etapa de preovulatorio, otras hormonas hipofisarias también regulan este proceso como son la prolactina (PRL) y la hormona del crecimiento (GH), que al actuar en el ovario estimulan el desarrollo del folículo y la formación de los receptores a la LH en las células de la granulosa y aumenta la producción de las hormonas esteroideas (Ojeda y Urbanski, 1983). Knudsen y colaboradores (1974) mostraron que el aumento del peso del ovario está asociado con el aumento en el número de folículos antrales grandes y un mayor peso del útero.

En este estudio también se mostró que la estimulación mecánica del NOS o la sección del NOS del lado izquierdo, sólo en el diestro-1, así como la sección del NOS del lado derecho en ambas etapas estudiadas del ciclo estral resultó en disminución del peso corporal pero aumento de la masa ovárica de los animales. Este resultado nos muestra que el peso de los ovarios no sólo depende de las hormonas que le llegan a ellos (Domínguez, 1991), sino que también en dicho proceso participa la información neural que proviene del NOS (Burden, 1985;

Diseen y Ojeda, 1999; Gallegos y col., 2005). Esto se afirma, ya que la interrupción transitoria de la información neural del ovario hasta el SNC produjo cambios en los parámetros antes mencionados.

Es importante volver a mencionar que los animales que fueron utilizados en este estudio tuvieron acceso al alimento sin restricción. Por tanto, la disminución en dicho parámetro puede ser explicado por la acción de los estrógenos sobre la hipófisis. Al respecto, Dany y colaboradores (2009) mostraron que los estrógenos inhiben la expresión de la hormona del crecimiento (GH) en la adenohipófisis y por tanto se altera el peso corporal de los animales.

Mendoza realizó la ovariectomía en el diestro-2 y sacrificó una hora después de la operación. Observó que el ovario derecho aportó con menor concentración a la circulación que el ovario izquierdo. La diferencia con nuestros resultados se puede atribuir a que el autor observa la respuesta de manera inmediata y en este estudio han transcurrido 24 horas después de la operación y por tanto los animales ya están en otra etapa del ciclo estral (proestro), que finalmente refleja la adaptación de los mecanismos neuroendocrinos al estímulo.

Respecto a los resultados obtenidos en los animales con ovariectomía unilateral en este estudio, se puede sugerir que en los animales que fueron sacrificados en el diestro-2 cada ovario aporta la misma concentración de hormona a la circulación, mientras que, en los animales que fueron sacrificados en el proestro el ovario derecho aporta mayor concentración de estradiol a la circulación que el ovario izquierdo. La respuesta asimétrica observada en el proestro por tanto explica el peso del útero observado en estos animales. Así, cuando permanece el ovario derecho y hay más estrógenos en la circulación aumenta el peso del útero y cuando el ovario remanente es el izquierdo y por tanto hay menos estrógenos en la circulación disminuye el peso del útero respecto al de los animales que conservan el ovario derecho.

La respuesta de tipo asimétrico en glándulas pares varios autores la han atribuido a la inervación que reciben. Según Klein y Burden (1988), el ovario derecho recibe más fibras simpáticas que el ovario izquierdo, por lo que se

sugiere que en este estudio, al eliminar el ovario izquierdo, éste manda una señal, vía inervación ovárica, al ovario derecho y se estimula la secreción de la estradiol. Esta idea supone que incrementa la actividad neural de la terminal intraovárica, libera noradrenalina en respuesta a la ovariectomía y se une a los receptores  $\beta$ -noradrenérgicos que se expresan en células de la teca y de la granulosa y modula en forma estimulante la respuesta esteroidogénica del ovario a las gonadotropinas (Gerendai y col., 2005; Hernandez y col., 1988; Ricu y col., 2008).

En este estudio, el NOS no participó en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de estradiol en animales sacrificados en el diestro-2. Sin embargo, el NOS del lado izquierdo tiene un papel de tipo estimulante en la secreción del esteroide cuando los animales son sacrificados en el día del proestro. Estos resultados difieren de lo observado por Mendoza (2007) que observó que el NOS del lado izquierdo tiene un papel de tipo estimulante en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción de la hormona en animales sacrificados en diestro-2. Cabe mencionar, que en ambos estudios se seccionó el NOS a las 13:00 h del diestro-2 pero los animales fueron sacrificados en diferentes periodos de evolución (una hora (Mendoza, 2007) ó 24 horas (este estudio)). Por tanto, se puede sugerir que ante el mismo estímulo, los mecanismos neuroendocrinos se ajustan dependiendo de la etapa del ciclo estral, el ovario y el lado del Nervio Ovárico Superior en el que se observen los resultados.

Los resultados en los animales con sección del NOS y ovariectomía sugieren que el ovario derecho en los animales que fueron sacrificados en el diestro-2 requiere estar inervado por el NOS del lado derecho para que éste module en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis. Al respecto, se conoce que la noradrenalina y el VIP, dos neurotransmisores contenidos en los nervios ováricos, estimulan la producción de esteroides ováricos. Ambos aumentan la secreción de progesterona y andrógenos, pero el VIP estimula la producción de estradiol. La noradrenalina también facilita el efecto estimulatorio de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica (Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai, 1997).

En los que fueron sacrificados en el proestro la inervación que llega al ovario no parece jugar un papel en la regulación de la secreción del esteroide, ya que en los animales con denervación del ovario derecho la concentración de estradiol no cambió respecto a la de los animales con el ovario derecho inervado. Esto sugiere que existe una regulación neuroendocrina de la esteroidogénesis que varía a lo largo del ciclo estral.

En el análisis de los efectos de la estimulación o la sección del NOS unilateral, se ha mostrado que estos efectos dependen del día del ciclo estral en que se realizan los estudios, (Dissen y Ojeda, 1999; Agudo y Ojeda, 1984; Aguado 2002).

La secreción de estradiol por parte del ovario derecho en los animales que se sacrificaron en el día del proestro es inhibida por la información que transcurre en el Nervio Ovárico Superior del lado izquierdo ya que cuando el ovario derecho queda inervado pero se secciona el NOS del lado izquierdo y se sacrifican los animales en el proestro se presentó mayor concentración sérica de estradiol. Esto nos hace suponer que el NOS es un puente de comunicación entre los ovarios.

La secreción de estradiol por parte del ovario izquierdo también es modulada por la información que llega a través del NOS. Con base en nuestros resultados se puede sugerir que el NOS en los animales sacrificados en el diestro-2 modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre los ovarios, ya que cuando se secciona el NOS, izquierdo o derecho, se produjo disminución de la secreción del esteroide y por tanto disminución del peso del útero. Es fascinante observar que la acción del NOS es diferente cuando los animales son sacrificados en el día del proestro, donde se puede observar que su acción es de tipo inhibitoria, ya que cuando se secciona el NOS, izquierdo o derecho, se produce aumento de la secreción del esteroide que se acompañó del aumento del peso del útero. Estos resultados coinciden a lo ya reportado por Mendoza (2007) aun cuando los animales fueron sacrificados una hora después de la intervención quirúrgica.

Tomados en conjunto los resultados obtenidos en el presente estudio y otros ya mencionados, se puede sugerir que la información que llega al ovario por parte del NOS modula la respuesta de los tres compartimientos ováricos a las gonadotropinas, lo cual se traduce en la capacidad secretora de hormonas por parte de los ovarios. Los resultados también dan soporte a nuestra hipótesis de que la información que llega y sale del ovario por medio del NOS es diferente para el ovario derecho e izquierdo y también depende de la etapa del ciclo estral (Chávez y Domínguez, 1994; Domínguez y col. 1988, 2003).



## **CONCLUSIONES**

- ❖ La laparotomía realizada en el diestro-1 representa un factor estresante que resulta en disminución de la secreción sérica de estradiol en el diestro-2.
- ❖ La operación simulada del Nervio Ovárico Superior en los días del diestro no altera los mecanismos neuroendocrinos que regulan la secreción sérica de estradiol.
- ❖ El NOS del lado izquierdo modula en forma estimulante la secreción de estradiol en el proestro.
- ❖ Cada ovario aporta la misma concentración de estradiol a la circulación en el día del diestro-2.
- ❖ El ovario derecho aporta mayor concentración sérica de estradiol a la circulación que el ovario izquierdo en el día del proestro.
- ❖ El NOS del lado derecho modula en forma estimulante la secreción sérica de estradiol por el ovario derecho en el diestro-2, pero no participa en dicha secreción en el día del proestro.
- ❖ El NOS del lado izquierdo modula en forma estimulante la secreción sérica de estradiol por el ovario izquierdo en el diestro-2 y de manera inhibitoria en el proestro.
- ❖ El NOS es un puente de comunicación entre los ovarios.

**BIBLIOGRAFÍA**

**Aguado LI.** (2002). Role of the Central and Peripheral Nervous System in the Ovarian Function. *Micros Res and Tech* 59: 462-473.

**Aguado LI, Ojeda SR.** (1984). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114: 1944-1946.

**Albuquerque-Araújo WIC, Silva RE, Antunes-Rodríguez J, Favaretto ALV.** (1995). Is ovarian adrenergic innervation essential to gonadal function in adult rats? *Arch Physiol Biochem* 1: 109-113.

**Arimura A.** (2000). Hypothalamic hormones. En: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 41-58.

**Audersik T.** (2003). Biología. En: *El sistema Endocrino*. Ed. Pearson Educación. México. pp.644-661.

**Baird DT.** (1982). Hormonas reproductoras. En: *Hormonas en la reproducción*. CR Austin y RV Short. (Eds.) La Prensa Médica Mexicana. México. pp. 1-27.

**Barco AI, Flores A, Chavira R, Damian-Matsumura P, Domínguez R, Cruz ME.** (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine* 21: 209-215.

**Beck W.** (1977). Fisiología molecular, celular y sistemática. Publicaciones culturales. México. 522-603.

**Berne RM, Levy MN.** (1992). La corteza suprarrenal. En: *Fisiología*. Ed. Mosby/Doyma Libros. España, pp. 558-571.

**Brown RE.** (1994). Introduction to Neuroendocrinology. Cambridge University Press. pp. 19-55.

**Brown TR.** (1999). Steroid hormones, overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 634-644.

**Burden HW.** (1978). Ovarian innervation. En: The vertebrate ovary. RE Jones. (Ed.) Plenum Press, New York. pp. 615-638.

**Burden HW, Lawrence IE, Jr.** (1977). The effects of denervation on compensatory hypertrophy. *Neuroendocrinology* 23: 360-378.

**Burden HW, Lawrence IE.** (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat Recor* 196: 51-59.

**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. *J Endocrinol* 140: 197-201.

**Chávez R, Morales L, González ME, Domínguez R.** (1987). Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats effect of ipsi and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *J Endocrinol* 113: 397-401.

**Cruz ME, Sánchez MA, Domínguez R.** (2001). *Biología de la Reproducción II*. Editor. Velásquez Moctezuma J. UNAM. PUIS, México 75-91.

**Curtis. B.** (2001). *Biología*. Editorial Panamericana. México. 335-450

**Dissen GA, Ojeda SR.** (1999). Ovarian innervation. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA, 3: 583-589.

**Domínguez R, Chávez R, Cruz ME.** (1991). La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. *Tópicos selectos de Biología de la Reproducción*. Miguel Ángel, Porrúa (Ed.). México. pp. 161-192.

**Domínguez R.** (1993). Las secreciones periódicas y la regulación de la ovulación, En: *Comunicación Neuroendocrina. Bases celulares y moleculares*. Domínguez R. (Ed.) Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. México. pp. 251-258.

**Domínguez R.** (1997). Endocrinología de las gónadas, En: actualización en fisiología, curso internacional precongreso. XL Congreso Nacional en Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. (Ed.). Morelia, Mich. pp. 271-279.

**Domínguez-González A, Cruz ME, Domínguez R.** (1998). Effects of hemiovariectomy and unilateral mechanical stimulation of the ovarian pedicle performed on ovulation rate and monoamine neural activity in the preoptic-anterior hypothalamic area. *Med Sci Res.* 26: 545-547.

**Domínguez R, Morales L, Cruz ME.** (2003). Ovarian Asymmetry. *Annu Rev Biomed Sci* 5: 95-104.

**Erskine MS y Weaver CE Jr.** (1988). The role ovarian sympathetic innervation in the control of estrous responsiveness in the rat. *Horm Behav.* pp. 22: 1-11.

**Espey LL.** (1999). Ovulation. En: *Encyclopedia of Reproduction.* E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 605-614.

**Fawcett DW.** (1995). *Tratado de histología.* 12<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill Interamericana. España. pp. 885-893.

**Fink G.** (2000). Neuroendocrine regulation of pituitary function. En *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine.* Humana Press Inc. Totowa, NJ. pp. 107-133.

**Flores A, Rodríguez JO, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Cruz ME, Domínguez R.** (2006). The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. Participation of the cholinergic system. *Reprod Biol Endocrinol* 4: 11.

**Flores A, Gallegos AI, Velasco J, Mendoza FD, Montiel C, Everardo PM, Cruz ME, 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. *Reprod Biol Endocrinol*. pp. 6 (1): 48-52.

**Freeman ME.** (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: *The Physiology of Reproduction*. 2a. ed. Editores: Knobil E, Neill JD. Raven Press, New York, USA, Vol.2, capítulo 46: 613-658.

**Forneris ML, Aguado LI.** (2002). Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*. pp. 82 (1): 75-82.

**Fox S.** (2003). *Fisiología Humana*. Editorial. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 678-703.

**Gallegos AI, Montiel C, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R.** (2005). Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro previo a la ovariectomía unilateral (ULO) sobre la concentración de estradiol (E2), progesterona (P4). XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-214. Guadalajara, Jal.

**Ganong WF.** (1988). *Fisiología médica*. 11ª ed. El Manual Moderno. México. 621 pp.

**Gerendai I, Banczerowski P, Halász B.** (2005). Functional significance of the innervation of the gonads. *Endocrine* 28:309-18

**Gerendai I, Halász B.** (1997). Neuroendocrine asymmetry. *Front Neuroendocrinol* 18: 354-381.

**Guyton AC, Hall JE.** (1994). *Tratado de fisiología médica*. 10ª ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México. pp. 100-110.

**Guyton AC, Hall JE.** (2001). *Tratado de fisiología médica*. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. México. pp. 70-110.

**Halász B.** (2000). The hypothalamus as an endocrine organ. En: Neuroendocrinology in Physiology and Medicine. Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 3-21.

**Hernandez ER, Jimenez JL, Payne DW, Adashi EY.** (1988). Adrenergic regulation of ovarian androgen biosynthesis is mediated via beta 2-adrenergic theca-interstitial cell recognition sites. *Endocrinology*. 122(4):1592-602.

**Hib J.** (2001). *Histología de Di Fiore. Texto y Atlas*. Editorial. El Atencio. Buenos Aires Argentina. 306-356.

**Hinshelwood MM.** (1999). Steroidogenesis, overview. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 644-653.

**Hsueh, AJW, Erickson GF, Papkoff H.** (1983). Effect of diverse mammalian gonadotropins on estrogen and progesterone production by cultured rat granulosa cells. *Arch Biochem Biophys* 225: 505-511.

**Kilen SM, Schwartz NB.** (1999). Estrous cycle. En: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). Academic Press, USA. pp. 127-135.

**Klein CM, Burden HW.** (1980). The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat Rec* 196: 51-59.

**Klein CM, Burden HW.** (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurosc Lett*. 85: 217-222.

**Klein CM, Ray RH, Burden HW.** (1989). Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats causes an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. *Brain Res* 479: 194-200.

**Knudsen JF, Cosff A, Mahesh VB.** (1974). Correlation of serum gonadotropins, ovarian and uterine histology in immune and prepubertal rats. *Anat. Rec.* 180 (3):497-507

**Lara HE, McDonald JK, Ojeda S R.** (1990). Involvement of nerve growth factor in female sexual development. *Endocrinology* 126: 364-375.

**Lara HE, McDonald JK, Ahmed CE, Ojeda SR.** (1991). Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. *Endocrinology* 127: 2199-2209.

**Larrea F, Oliart RM, Escorza A, Ulloa-Aguirre A, Valencia X.** (1991). Fisiología y mecanismos de acción de las gonadotropinas hipofisarias. Tópicos selectos de Biología de la Reproducción. Miguel Ángel, Porrúa (Ed.). México. pp. 107-131.

**Loza MC, Lemus AE, Pérez G.** (1995). Metabolismo de hormonas esteroides. En: *Bioquímica*. 2ª. Ed., Editores: Díaz JC, Hicks JJ. Ed. McGraw-Hill, Interamericana, México. Capítulo 32: 605-639.

**Luna F, Cortés M, Flores M, Hernández B, Trujillo A, Domínguez R.** (2003). The effects of superior ovarian nerve sectioning on ovulation in the guinea pig. *Reprod Biol Endocrinol.* pp. 61-66.

**Mendoza FD.** (2007). Estudio de la participación del ovario por el nervio ovárico superior en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol. Interacciones entre los ovarios y las adrenales en el día del diestro-2 de la rata. Tesis para obtener título de biólogo. FES Zaragoza, UNAM.

**Montiel C, Gallegos AI, Mendoza F, Chavira R, Cruz ME, Flores A, Domínguez R.** (2005). Efectos de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior (NOS) en diestro1 (D1) sobre la concentración sérica de estradiol (E<sub>2</sub>) y progesterona (P<sub>4</sub>) en la rata adulta. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias

Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad: C-204, p.169. Guadalajara, Jal.

**Morales L, Chávez R, Ayala ME, Domínguez R.** (1998). Effects of the unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats, on the ovulatory response to gonadotrophins administration. *J Endocrinol* 158: 213-219.

**Morales L, Chávez R, Domínguez R.** (1993). Participation of superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. *Med Sci Res* 21: 15-17.

**Morán C, Morales L, Quiróz U, Domínguez R.** (2000). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. *J Endocrinol* 166: 205-211.

**Ojeda SR, Urbanski.** (1983). Abdominal vagotomy delays the onset of puberty and inhibits ovarian function in the female rat. *Neuroendocrinology* 36:261-267.

**O'Malley BW, Strott CA.** (2001). Hormonas esteroides: metabolismo y mecanismo de acción. En: *Endocrinología de la Reproducción*. 4ª. Ed., Editores: Yenn SSC, Jaffé RB, Barbieri RL. Editorial Médica- Panamericana, Argentina, capítulo 4: 122-141.

**Palafox MT.** (2007). Un estudio de las interacciones funcionales de las adrenales y la secreción de estrógenos por parte de los ovarios. Tesis para obtener el título de Bióloga.

**Reyes RJ.** (2007). Efectos de la sección del nervio ovárico superior en los animales con ovariectomía en el día del estro sobre la concentración sérica de progesterona y 17  $\beta$ -estradiol evaluados 24 horas después de la cirugía. Servicio Social de la Carrera de Biología. No. de clave: 2007 – 0012/0048-3878.



**Riboni L.** (2002a). Effects of guanethidine administration on compensatory ovarian hypertrophy, compensatory ovulation and follicular development in the prepubertal female guinea pig. *Gen Comp Endocrinol.* pp. 127 (3): 279-84.

**Ricu M, Paredes A, Greiner M, Ojeda SR, Lara HE.** (2008). Functional development of the ovarian noradrenergic innervation. *Endocrinology.* 149(1):50-6

**Ross HM, Romrell LJ, Kaye GI.** (2004). Glándulas endocrinas. En: *Histología Texto y Atlas a color.* 3ª ed. Editorial Médica Panamericana. México. pp. 610-618.

**Ruiz-Durá F.** (1988). Ciclos reproductores de los vertebrados, En: *Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción.* UNAM (Ed.). México. pp. 81-108.

**Smith LC.** (1975). Estrogens, Ovariew En: *Enciclopedia of Reproduction,* Editores: Knobil E, Neil JD. Academic Press, USA, vol.2:119-126

**Tanaka K, Matsugami T, Chiba T.** (2002).The origin of sensory innervations of the peritoneum in the rat. *Anat Embryol* 4: 307-313.

**Terán D. J. Teppa Garrán Alejandro D.** (2005). Nuevos aspectos bioquímicos y moleculares de la acción de los estrógenos. *Ginecol Obste* t73:436-42

**Tresguerres JAE** (1999). Fisiología del ovario. En: *Fisiología humana.* 2ª edición. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. España. pp: 170-175.

**Trzeciak WH, Ahmed CE, Simpson ER, Ojeda SR.** (1986). Vasoactive intestinal peptide induces the synthesis of the cholesterol side-chain cleavage enzyme complex in cultured rat ovarian granulosa cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 83(19): 7490-7494.

**Trujillo A, Riboni L.** (2002). Effects of functional peripheral sympathetic denervation induced by guanethidine on follicular development and ovulation of the adult female guinea pig. *Gen Comp Endocrin.* 127: 273-278.

**Velasco MJ** (2007). Efectos agudos de la sección del Nervio Ovárico Superior en el día del proestro de ratas con ovariectomía, adrenalectomía o ambas, sobre la ovulación y la secreción de progesterona y 17- $\beta$  estradiol. Tesis para obtener el título de Bióloga.

**Weiss GK, Dail WG, Ratner A.** (1982). Evidence for direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats. *J Reprod Fertil.* 65(2): 507-511.

**Yen SS.** (2001a). Síndrome del ovario poliquístico. En: *Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico.* Editores: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri, RL. 4ª. Ed. Editorial Médica Panamericana, Argentina, Capítulo 17, pp. 455-510.

**Yen SS.** (2001b). Anovulación crónica causada por trastornos endocrinos periféricos. *Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico.* Editores: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri, RL. 4ª. Ed. Editorial Médica Panamericana, Argentina, Capítulo 18, pp. 511-550.

**Yeh J, Adashi EY.** (1999). El ciclo ovárico. En: *Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, fisiopatología y manejo clínico.* Editores: Yen SSC, Jaffe RB, Barbieri, RL. 4ª. Ed. Editorial Médica Panamericana, Argentina, Capítulo 6, pp. 164-202.

**Yen SS, Jaffe RB, Barbieri RL.** (2001). Neuroendocrinología de la reproducción. En: *Endocrinología de la reproducción.* Editorial Panamericana. pp. 31-85.