



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

“PARTICIPACIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN EL  
MODELO DEL ANIMAL CON SOPQ INDUCIDO CON  
PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

**JUAN ANTONIO DÍAZ RAMOS**

Directora de tesis: Dra. Leticia Morales Ledesma

México D.F.

15 Junio 2010





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

“PARTICIPACIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO  
SUPERIOR EN EL MODELO DEL ANIMAL CON  
SOPQ INDUCIDO CON PROPIONATO DE  
TESTOSTERONA AL NACIMIENTO”

TESIS PRESENTADA POR: JUAN ANTONIO DÍAZ RAMOS

DIRECTORA DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

REALIZADA EN EL LABORATORIO DE FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DE LA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

FES-ZARAGOZA UNAM.

---

ESTE PROYECTO FUE APOYADO POR DGAPA-PAPIIT CLAVE IN-213110-2

---

---

---

¿QUÉ PUES? ORARÉ CON EL ESPÍRITU, Y ORARÉ TAMBIÉN CON EL ENTENDIMIENTO: CANTARÉ CON EL ESPÍRITU, Y CANTARÉ TAMBIÉN CON EL ENTENDIMIENTO.

**1 CORINTIOS 14:15**

“NUESTRA MAYOR GLORIA NO ESTÁ EN NO HABER CAÍDO NUNCA, SINO EN LEVANTARNOS CADA VEZ QUE CAEMOS.”

**OLIVER GOLDSMITH**

“LA ALEGRÍA DE VER Y ENTENDER ES EL MÁS PERFECTO DON DE LA NATURALEZA.”

**ALBERT EINSTEIN**

---

---

## **AGRADESCO:**

### **A MI DIOS:**

A ti Padre Mío, por darme vida, luz y alegría, entendimiento, salud y ganas de seguir adelante, porque por sobre en la vida tú siempre has estado conmigo.

### **A LA DRA. LETICIA MORALES LEDESMA:**

Por compartir su conocimiento conmigo y poder cultivar en mí esta semilla, por permitirme cumplir esta meta y retribuir a la universidad a través de usted, por su amistad, apoyo y por sobre todo darme su confianza.

### **A LOS MIEMBROS DEL JURADO:**

Dra. María Esther Cruz Beltrán  
Dra. Leticia Morales Ledesma  
Dra. María Elena Ayala Escobar  
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez  
Dra. Juana Monroy Moreno

Por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis, los conocimientos compartidos, por todas las observaciones y comentarios que lograron mejorar, enriquecer y ampliar este estudio.

### **A MARÍA LUISA ILLESCA VERA**

Por su valiosa labor y apoyo en la realización de los cortes histológicos.

### **AL DR. ROBERTO CHÁVIRA Y AL DR. MARIO CÁRDENAS**

Por su colaboración en la determinaciones de las concentraciones hormonales.

### **A LA DRA. ADRIANA ALTAMIRANO, AL DR. ROMÁN HERNÁNDEZ, AL SEÑOR ROBERTO Y LA SEÑORA LOURDES,**

Por habernos proporcionado y cuidado los animales de este estudio.

### **A MIS CHOCHITOS ADORADOS**

Por haber participado en este estudio de la manera más humilde y más valiente que pudieron haber hecho, con su vida.....

Gracias.

## **DEDICO ESTA TESIS:**

### **A MIS MAMIS:**

Por su gran ejemplo, por que los sacrificios de su vida han hecho en mí, ver que es posible alcanzar todo lo que te propongas sin importar cuanto duela, por su ejemplo, su coraje, sus fuerzas, y por todo su apoyo incondicional;

Gracias a ustedes dos logre ser alguien mejor, la prueba esta en que logre esto por su amor.

### **MAMÁ CRISTY:**

Gracias madrecita que me diste el regalo más preciado, mi vida, aunque no sea el hijo perfecto puedo decir que mi logro es fruto de tu esfuerzo y perseverancia, que siempre luchaste con todo lo que podías por mí, gracias por todo esto mamá te amare por siempre.

### **MAMÁ LIDIA:**

Gracias madrecita por todos tus consejos, por tus palabras y sacrificios, porque aunque yo no brote de tu vientre soy tu hijo también y con todo eso puedo decir que logre esto por ti mamita gracias porque ni con toda mi vida podre recompensar lo que tú me has dado.

### **A MI HERMANO:**

Gracias por tu apoyo, por ser mi ejemplo a seguir, mi apoyo incondicional, mi mejor amigo, por dejarme ser tu más grande orgullo, porque siempre me has amado como yo a ti, porque nunca me has dejado caer.

Y porque si la vida no hubiese sido así, no podría haber dicho que mi mejor regalo en la vida has sido siempre tú. El mejor hermano del mundo.

### **Gracias manito...**

### **A MI CUÑADA:**

Gracias “hermana”, porque ahora en ti también puedo encontrar un gran apoyo y muchísimos consejos.

### **A MI AZUCENA:**

Cuando entre a la universidad, no pensé que te encontraría aquí, hoy le doy gracias a él por ponerte en mi camino.

Gracias con todo mi corazón, por todo lo que has hecho por mí, “bebé” sin ti no habría podido... porque tú me das ánimos cuando ya no soporto, por el amor, apoyo y confianza y muchos más sentimientos y valores que a tu lado descubrí, que me compartiste y que me ayudaron a lograr esto.

Espero en un futuro muy pero muy pronto logremos más cosas juntos. Gracias mi cielo

**\*TE AMO\***

### **SEÑORA MARI:**

Gracias por su infinito apoyo porque desde que nos conocemos no ha dejado de apoyarnos. Usted ha sido una gran influencia en mí porque me ha hecho ver sentimientos y cosas que sólo una persona como usted puede expresar, porque desde que la conozco se ha vuelto parte de mi familia muchas gracias.

### **A MI DOC. LETY:**

Por su confianza, paciencia, respeto y amistad que son y serán siempre invaluable, porque en usted guardo una grandiosa figura de amor que se ha ganado con todos los consejos que ha vertido en mí para formar una persona mejor, gracias doctora por que a usted la veo como algo más que un mentor, usted para mi es de la familia.

**Muchas gracias doctora.**

### **A MI DOC. PATY**

Por su infinito apoyo y amistad, confianza y consejos, que guarde en mi baulito y siempre estaré agradecido por todo su apoyo y porque sin ellos yo no hubiera podido realizar esto.

**Gracias.**

## **MIS AMIGAS**

### **ANDY, CIPA, Y ADRIANA, GRACIAS CHICAS ¡¡**

Aprendí de Uds. que la amistad no se puede medir y mucho menos analizar estadísticamente, simplemente se otorga a borbotones

Las quiero.

### **A CADA UNO DE MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.**

Verito, Denisse, Elizabeth, Andy, Deyra, Rosa, Gaby, Cipactli, Adriana, Azucena, Ricardo, Dan, Claudia, Alexis, Carlos, Rocio, Tzayaka, Natalia y los mas chiquitos, Ivan, Iosif, Rafael y Raúl.

Porque de cada uno de ustedes aprendí que un laboratorio se forma por un equipo, y que ese equipo esta creado por personas maravillosas como todos ustedes. Que aunque no somos todos los del comienzo y no seremos todos al final, el vinculo que formamos irá mas allá del presente.

**"NUNCA, NUNCA, NUNCA, NUNCA, NUNCA, NUNCA, NUNCA, SE RINDAN."**

**Winston Churchill**

### **A MIS AMIGOS DE LA CARRERA:**

Gracias Víctor, Miguel, Nadia, Carmelita, Carmencita y Vianey, porque crecimos juntos durante la carrera y ahora logramos crear estas cosas de provecho por nuestros esfuerzos.

### **A MIRIAM Y BLANCA:**

Gracias chaparritas, donde quiera que estés Miriam, Se que me sigues echando la mano gracias amiguita se que sin ti no estuviera aquí

Gracias "conchita" por todo tu apoyo y consejos, por que espero que algún día yo pueda tener tu tesis junto a la mía. Te quiero mucho ¡¡

**Gracias a ustedes dos llegue hasta acá ¡¡ gracias.**



# ÍNDICE

	PÁGINAS
<b>ABREVIATURAS</b> .....	i
<b>RESUMEN</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2
 <b>MARCO TEÓRICO</b> .....	 4
EJE HIPOTÁLAMICO HIPOFISIARIO GONADAL.....	4
DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA.....	5
 PERIODOS DEL DESARROLLO POSTNATAL.....	 6
NEONATAL.....	6
INFANTIL.....	7
JUVENIL.....	7
PERIPUBERAL.....	7
 PUBERTAD.....	 8
CICLO ESTRAL.....	8
PROESTRO.....	8
ESTRO.....	9
DIESTRO-1.....	9
DIESTRO-2.....	9
 EL OVARIO.....	 10
FOLICULOGÉNESIS.....	11
FOLÍCULOS PRIMORDIALES.....	12
FOLÍCULOS EN CRECIMIENTO.....	13
PRIMARIOS.....	13
SECUNDARIOS.....	13
TERCIARIOS.....	13
 ATRESIA FOLICULAR.....	 14
ESTEROIDOGÉNESIS.....	17
ACCIÓN BIOLÓGICA DE LOS ESTEROIDES.....	20
INERVACIÓN OVÁRICA.....	21
EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO (SOPQ).....	23
PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN SIMPÁTICA EN EL SOPQ.....	25
ANDROGENIZACIÓN.....	25
EFECTOS DE LA ANDROGENIZACIÓN.....	27
DENERVACIÓN OVÁRICA.....	29
EFECTOS DE LA DENERVACIÓN SOBRE LA ANDROGENIZACIÓN POSTNATAL.....	29

	PÁGINAS
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	30
<b>HIPÓTESIS.....</b>	31
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	32
<b>OBJETIVOS PARTICULARES.....</b>	32
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	33
<b>DISEÑO EXPERIMENTAL.....</b>	36
<b>RESULTADOS PRIMER ESTRO VAGINAL.....</b>	37
<b>EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL PÚBER .....</b>	37
INICIO DE LA PUBERTAD.....	37
OVULACIÓN.....	37
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	39
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	40
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	40
<b>EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA UNI O BILATERAL SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL PÚBER.....</b>	42
INICIO DE LA PUBERTAD .....	42
OVULACIÓN.....	42
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	43
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	45
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	45
<b>EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR EN EL ANIMAL PÚBER.....</b>	47
INICIO DE LA PUBERTAD .....	47
OVULACIÓN.....	47
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	49
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	50
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	50
<b>RESULTADOS 90 DÍAS .....</b>	52
<b>EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL ADULTO.....</b>	52
CICLICIDAD ESTRAL.....	52
OVULACIÓN.....	52
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	54
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	55
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	55
MORFOLOGÍA OVÁRICA Y DESARROLLO FOLICULAR.....	56

	PÁGINAS
<b>EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA UNI O BILATERAL SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL ADULTO.....</b>	58
LA CICLICIDAD ESTRAL.....	58
OVULACIÓN.....	58
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	59
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	61
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	61
MORFOLOGÍA OVÁRICA Y DESARROLLO FOLICULAR.....	62
<b>EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIJO OVÁRICO SUPERIOR EN EL ANIMAL ADULTO.....</b>	66
CICLICIDAD ESTRAL.....	66
OVULACIÓN.....	66
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES.....	67
CONCENTRACIÓN DE HORMONAS GONADOTROPINAS.....	69
PESO DE OVARIOS Y ÚTERO.....	69
MORFOLOGIA OVÁRICA Y DESARROLLO FOLICULAR.....	70
<b>DISCUSIÓN.....</b>	73
<b>CONCLUSIONES.....</b>	79
<b>MODELOS.....</b>	80
<b>PERSPECTIVAS.....</b>	82
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	83
<b>ANEXO.....</b>	90

## ABREVIATURAS

A	Antro folicular
ABP	Proteína transportadora de andrógenos
ACTH	Hormona adrenocorticotrópica
ANDEVA	Análisis de varianza multifactorial
CGs	Células de la granulosa
CL	Cuerpo lúteo
CT	Células de la teca
DA	Dopamina
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHT	Dihidrotestosterona
DOPA	Dihidroxifenilalanina
D $\beta$ H	Dopamina $\beta$ -hidroxilasa
E <sub>2</sub>	Estradiol
EAV	Edad de apertura vaginal
FSH	Hormona folículo estimulante
GAP	Uniones gap
GC	Ganglio celiaco
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GTD	Guanetidina
H-H-G	Eje hipotálamo hipofisiario gonadal
HPLC	Cromatografía de fase líquida de alta resolución
IGF	Factor de crecimiento semejante a la insulina
LH	Hormona luteinizante
MB	Membrana basal
NA	Noradrenalina
NGF	Factor de crecimiento neural
NOS	Nervio ovárico superior
NPY	Neuropéptido Y
OSB	Operación simulada bilateral
OSD	Operación simulada derecha
OSI	Operación simulada izquierda

P <sub>4</sub>	Progesterona
P450c17	Complejo citocromo p450, para la conversión a andrógenos
P450scc,	Complejo citocromo p450 (complejo de ruptura de la cadena lateral)
PEV	Edad de primer estro vaginal
PO	Plexo ovárico
PT	Propionato de testosterona
rFSH-RP2	Anticuerpo de suero de borrego para FSH
rLH-RP2	Anticuerpo de suero de borrego para LH
SBNO	Sección bilateral del nervio ovárico superior
SNC	Sistema nervioso central
SNOD	Sección del nervio ovárico superior derecho
SNOI	Sección del nervio ovárico superior izquierdo
SNP	Sistema nervioso periférico
SNPS	Sistema nervioso parasimpático
SNS	Sistema nervioso simpático
SOPQ	Síndrome del ovario poliquístico
T	Testosterona
TA	Testigo absoluto
TH	Tirosina hidroxilasa
VE	Valerato de estradiol
Vh	Vehículo
VIP	Péptido intestinal vasoactivo
α-FP	α-Feto proteína
Δ <sup>4</sup>	Ruta de biosíntesis de esteroides Δ <sup>4</sup>
Δ <sup>5</sup>	Ruta de biosíntesis de esteroides Δ <sup>5</sup>

## RESUMEN

El SOPQ es una patología compleja que afecta del 6 al 10% de las mujeres en etapa fértil. En años recientes se ha relacionado el origen del síndrome, con el incremento en la concentración plasmática de andrógenos.

La administración de Valerato de estradiol (VE) o propionato de testosterona (PT), provocan el desarrollo de características ováricas del SOPQ muy similares, como anovulación, desarrollo de quistes foliculares y anomalías en las concentraciones de hormonas sexuales, sin embargo entre ambos modelos la secreción de esteroides y gonadotropinas son diferentes. En el presente estudio se analizó en la rata androgenizada al nacimiento, la participación del nervio ovárico superior (NOS) sobre la persistencia del síndrome del ovario poliquístico. Para ello, se utilizaron ratas hembras de la cepa CII-ZV, recién nacidas, las cuales fueron inyectadas vía subcutánea con 100 µg de PT disueltos en 0.05 ml de aceite de maíz, a los 24 días de edad fueron sometidos a la sección uni o bilateral del NOS. Al momento de la canalización de la vagina se procedió a la toma de frotis y un grupo fue sacrificado al momento de presentar el primer estro vaginal, y otro fue sacrificado aproximadamente a los 90 días de edad y presentar un estro precedido de un proestro.

En los animales tratados con PT, más la sección uni o bilateral del NOS no modificó la aciclicidad estral y el bloqueo de la ovulación. En comparación con las hembras inyectadas con vehículo y sección del NOS, en el grupo con PT más sección del NOS derecho disminuyó, a la edad del primer estro vaginal, la concentración de progesterona (**2.30 ± 0.31 vs. 11.0 ± 2.4 p < 0.05**); con la sección del NOS izquierdo aumentó la LH (**0.33 ± 0.09 vs. 0.11 ± 0.03, p < 0.05**); mientras que con la sección bilateral fue menor la FSH (**2.77 ± 0.27 vs. 11.5 ± 2.1, p < 0.05**). En comparación con las hembras inyectadas con vehículo y sección del NOS, en los animales sacrificados a los 90 días mostraron una disminución de la concentración de progesterona con la sección izquierda del NOS (**5.37 ± 0.9 vs. 20.3 ± 2.8 p < 0.05**) o con la sección bilateral (**3.62 ± 0.93 vs. 20.3 ± 2.5 p < 0.05**). La concentración aumentó con la sección unilateral. Con la sección del NOS izquierdo aumentan ambas gonadotropinas, en tanto que con la sección derecha disminuyen.

En ratas hembras con SOPQ, la participación del NOS sobre la regulación de la secreción de hormonas esteroides es diferente en el animal al primer estro vaginal y en la hembra de 90 días de edad. La eliminación de la información que transcurre por el NOS no restablece la función ovulatoria ni la morfología ovárica.

## INTRODUCCIÓN

El ovario es una glándula encargada de realizar la esteroidogénesis, la gametogénesis y la ovulación. Las funciones ováricas son reguladas por dos vías; una hormonal, por medio del eje H-H-G y otra neural, por la inervación que recibe el propio ovario (Riboni 2002).

En la mujer, las patologías asociadas con la infertilidad, frecuentemente se deben a anomalías fisiológicas y hormonales que involucran los ovarios, uno de estos, es el SOPQ caracterizado por hiperandrogenismo, anovulación, amenorrea y concentraciones variables de gonadotropinas, acompañado de obesidad e hirsutismo (Barria y col., 1993). Afecta del 6 al 10 % de las mujeres; tanto en mujeres adolescentes como en adultas, reconocido como la principal causa de infertilidad en mujeres en edad reproductiva (Stener-Victorin y col., 2005).

Se ha sugerido que el SOPQ puede originarse incluso desde el desarrollo intrauterino, de manera que si el embrión es expuesto a un ambiente con concentraciones muy altas de andrógenos puede desarrollarse dicha patología (Stener-Victorin y col., 2005; Xita y Tsatsoulis. 2006;).

Algunos investigadores sugieren que la inervación simpática contribuye en la regulación de la función ovárica. Regula la ovulación mediante la liberación de GnRH, y la respuesta del ovario a las gonadotropinas de origen hipofisiario (Flores y Domínguez. 1992). Y por la información catecolaminérgica que arriva al ovario por medio del NOS y el PO (Chavez y col., 1994; Klein y Burden 1988; Lawrence y Burden 1980).

La complejidad del SOPQ, lleva a la necesidad de buscar nuevas alternativas para explicar el origen de la disfunción que provoca el síndrome; la alteración en el control neurogénico del ovario tiene un papel importante en el establecimiento o mantenimiento del SOPQ. Dado que la eliminación del NOS, principal fuente de inervación simpática que recibe el ovario, restablece los ciclos ovulatorios (Linares 2006), podría llegar a utilizarse esta metodología como una alternativa para el tratamiento contra el SOPQ (Barria y col., 1993; Lara y col., 1993).

La administración de andrógenos a ratas hembras durante etapas tempranas del desarrollo postnatal resulta en aciclicidad estral representada por un estro persistente, desarrollo de quistes foliculares y anovulación. En ratas androgenizadas la secreción masculinizada de gonadotropinas, se

atribuye a cambios irreversibles en el centro cíclico hipotalámico que responde a la retroalimentación de los esteroides sexuales (De la Iglesia y Schwartz 2006; Krishna y col., 2005).

En el desarrollo del SOPQ inducido por hiperandrogenismo, se han utilizado modelos animales en los que se ha evaluado el efecto dosis-respuesta del PT, DHT, DHEA y testosterona (Krishna y col., 20052005). Sin embargo, al momento existe controversia si este modelo experimental puede ser equiparable con las características observadas cuando se inyecta VE y que suelen emular los síntomas descritos en la mujer.

Por ello, en el presente estudio se analizó en la rata androgenizada al nacimiento por la inyección de PT, la participación del NOS en desarrollo o mantenimiento del SOPQ.



## **MARCO TÉORICO**

En los mamíferos existen diferencias entre el cerebro de la hembra y el macho, que son atribuidas a los esteroides sexuales que actúan durante el desarrollo temprano (Matalliotakis y col., 2006). En los roedores la diferenciación sexual del cerebro, se produce en los primeros cinco días de vida, y a partir de este momento se desencadena una serie de eventos neuroendocrinos en el SNC y las gónadas, que culminan con el inicio de la pubertad (Ojeda y Urbanski., 1994). Cuando se inicia la pubertad, que puede coincidir con la primera ovulación, la secreción gonadotrópica regula la producción y expulsión de ovocitos durante la vida fértil del individuo (Odell 1990).

El hipotálamo secreta GnRH la cual actúa sobre la hipófisis regulando la secreción fásica de FSH y LH. Ambas gonadotropinas ejercen sus efectos sobre el folículo ovárico facilitando su crecimiento y diferenciación que culmina con la ovulación. De igual manera, regulan la secreción de las hormonas esteroides, éstas últimas actúan sobre el SNC, estableciendo una retroalimentación positiva o negativa, dependiendo del momento del ciclo estral (Tresguerres 1999).

## **EJE HIPOTALÁMICO HIPOFISIARIO GONADAL**

En los roedores como en los demás mamíferos el primer “pico” preovulatorio de gonadotropinas es el producto final de la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gonada (Figura. 1). Las neuronas productoras de GnRH liberan el péptido en función de la maduración del animal, así se ha visto que conforme el animal se acerca a la pubertad, se produce un incremento en la secreción de GnRH (Ojeda y col., 1980).

La hipófisis anterior es un tejido muy vascularizado; el drenaje venoso de la hipófisis, sirve de vía para que las hormonas alcancen la circulación sistémica. Este sistema proporciona una conexión corta y directa con la hipófisis anterior desde el hipotálamo (Larrea y col., 1991).

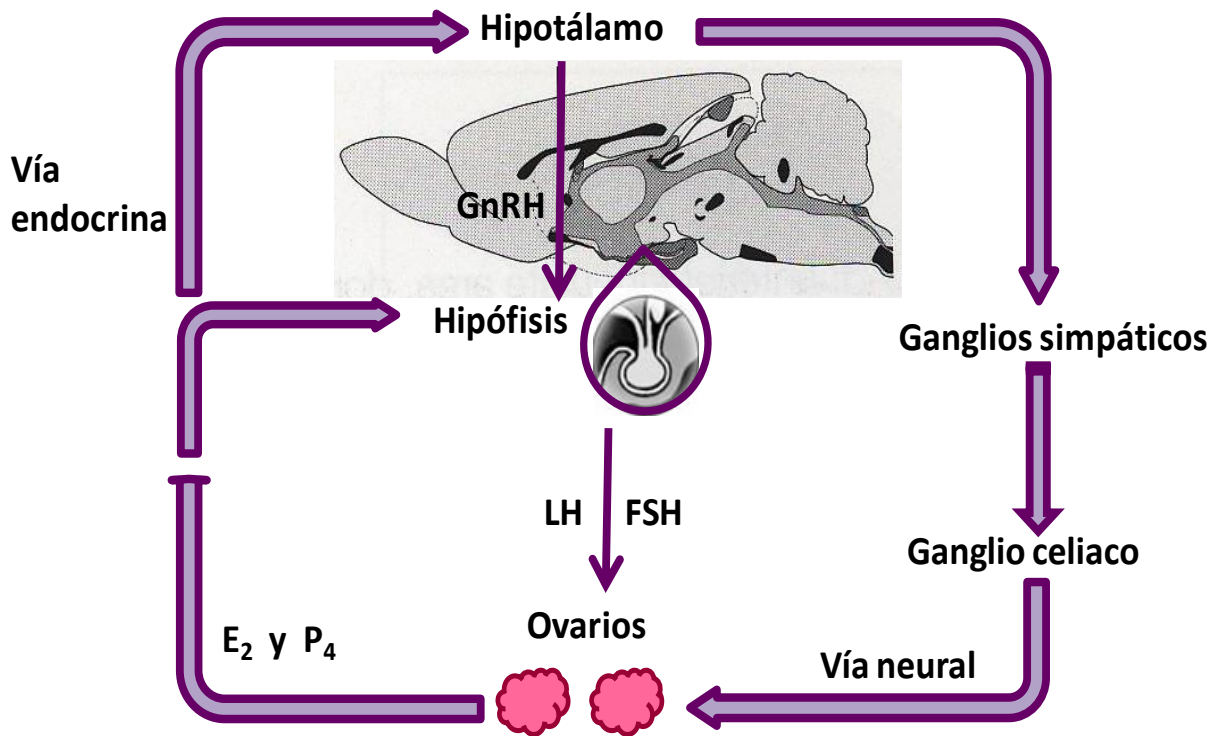


Figura 1. Regulación neuroendócrina del eje hipotálamo hipófisis gónada en la rata hembra. GnRH (hormona liberadora de gonadotropinas), LH (hormona luteinizante), FSH (hormona folículo estimulante) E<sub>2</sub> (estradiol) y P<sub>4</sub> (progesterona) (Modificado de Greenspam 2000).

## DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA

El modelo que ha proporcionado mas ejemplos de similitud con la mujer ha sido el de la rata, este organismo ha sido utilizado frecuentemente, debido a su facil manejo, rápido desarrollo y alto índice reproductivo. El modelo de la rata ha proporcionado datos extrapolables para otras especies, incluido el humano, ejemplo de esto es el modelo de secreción endócrino y función reproductiva (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido 1990).

El comienzo de la función reproductiva de la rata hembra está determinado por una multiplicidad de factores interrelacionados que tienen su origen en etapas muy tempranas del desarrollo, que culminan cuando el ovario es suficientemente maduro para producir E<sub>2</sub> en concentraciones suficientes que permiten que ocurra la primera ovulación, el cual es el punto climax del inicio de la función reproductiva en la rata hembra (Ojeda 1980).

La rata nace en un estado de inmadurez neural que suele equivaler a los 150 días de gestación en el humano, la diferenciación sexual del encéfalo por la presencia o ausencia de la T, secretada por los testículos ocurre en una etapa inmediatamente después del nacimiento. En ratas hembras desde el nacimiento hasta la llegada de la pubertad transcurren entre 30 y 40 días (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido 1990), y el único signo exterior que señala el comienzo de la función reproductiva es la canalización de la vagina, que generalmente ocurre al día posterior de los picos preovulatorios de gonadotropinas, marcando desde este momento el tiempo en el cual la hembra puede ser preñada. Por tanto, el desarrollo de los mecanismos involucrados en la reproducción se producen en un lapso de cinco semanas; en ese tiempo el peso corporal aumenta 15 veces y la longitud del cuerpo 3 veces (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido 1990; Ojeda 1980).

### **PERIODOS DE DESARROLLO POSTNATAL**

Se han descrito 4 estadios antes de llegar a la pubertad, para ello se han tomado parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los diferentes componentes del eje hipotálamo hipófisis gónada (Ojeda y Urbanski 1994).

1. NEONATAL: 0 – 7 días
2. INFANTIL: 8 – 21 días
3. JUVENIL: 22 – 32 días
4. PERIPUBERAL: días antes de la primera ovulación

### **ETAPA NEONATAL**

Abarca desde el nacimiento hasta el día 7; en esta etapa el crecimiento folicular no depende de gonadotropinas debido al bajo contenido de receptores a éstas. Desde el día 5, la FSH induce la producción de E<sub>2</sub> a partir de T. La regulación de tipo inhibitoria de la secreción de E<sub>2</sub> es ineficiente debido a la presencia de la  $\alpha$ -FP la cual se une a los estrógenos y los mantiene sin actividad biológica. De esta manera se protege al cerebro de cantidades excesivas de estrógenos, y se regula la disponibilidad de estos por los sistemas neuronales sensibles a ellos. A finales de esta etapa las gonadotropinas son incapaces de generar una respuesta esteroideogénica por parte del ovario. Las concentraciones plasmáticas de FSH de ser bajas comienzan a incrementarse, mientras que LH se mantiene en concentraciones bajas (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido 1990) .

## **ETAPA INFANTIL**

Esta etapa se caracteriza por concentraciones muy altas de FSH y por la presencia de “picos” esporádicos de LH. Las concentraciones altas de FSH son fundamentales en el reclutamiento y el crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad. A partir del día 15 de vida disminuyen las concentraciones de FSH y desaparecen los picos de LH. Se empieza a detectar inhibina en suero y disminuye la concentración de la  $\alpha$ -FP, lo que permite el establecimiento de los mecanismos de retroalimentación negativa del  $E_2$  sobre las gonadotropinas (Becu-Villalobos y Lacau- Mengido 1990).

## **ETAPA JUVENIL**

En esta etapa disminuye las concentraciones plasmáticas de FSH y de la  $\alpha$ -FP, mientras que las concentraciones de LH son bajas y constantes en el inicio de esta etapa, la LH comienza a secretarse en forma pulsátil y hacia el final de la etapa se incrementan los valores basales y la amplitud de sus pulsos. Las concentraciones más altas se registran en la tarde y presentan un ciclo circadiano. En el ovario se incrementa el número de receptores a LH, lo que se traduce en una mayor esteroidogénesis (Becu-villalobos y Lacau- Mengido 1990).

## **ETAPA PERIPUBERAL**

Alrededor de los 35 días de edad el ritmo circadiano de LH se vuelve estable. Independientemente del control esteroideo, estos picos de LH son los reponsables de la estimulación de los ovarios para una mayor producción de  $E_2$ , que a su vez son capaces de producir una retroalimentación positiva. En el ovario se observa una mayor cantidad de receptores a gonadotropinas lo que se traduce en una mayor concentración de  $P_4$ , estrógenos y T, ésta última responsable de la apertura vaginal. Los esteroides actúan en el hipotálamo el cual libera al sistema porta hipotalámico-hipofisiario la GnRH, ésta desencadena el “pico” preovulatorio de gonadotropinas y la primera ovulación (Becu-Villalobos Y Lacau- Mengido 1990).

## **PUBERTAD**

La pubertad se define como la fase biológica del individuo en la que ocurren una serie de eventos neuroendocrinos y fenotípicos que enlazan la inmadurez con la madurez sexual, en donde se alcanza el estado de desarrollo psicosexual y la capacidad de reproducirse (Becu-Villalobos Y Lacau- Mengido 1990; Goldman 1981; Gorski 1990 ; Odell 1990).

En la rata el inicio de la pubertad depende de la cepa, algunos autores señalan que se presenta entre los 35 y 41 días de edad, con el comienzo del desarrollo de los folículos y la canalización de la vagina, que es precedida por la hinchazón y cambio de color de la membrana vaginal. Al día siguiente, que ocurre la primera liberación preovulatoria de gonadotropinas, los estrógenos estimulan la apertura vaginal. La primera ovulación puede coincidir con la apertura vaginal o se puede presentar en los siguientes dos días (Goldman 1981; Gorski 1990 ; Odell 1990).

A diferencia de la rata infantil, en la rata hembra adulta la concentración plasmática de la FSH es regulada por los esteroides sexuales y la inhibina. La disminución de la secreción de FSH en en la etapa adulta es el resultado del efecto combinado del aumento en la concentración de estradiol y de la producción de inhibina por los folículos que están madurando (Becu-villalobos y Lacau- Mengido 1990).

## **CICLO ESTRAL**

El ciclo estral es una serie de eventos fisiológicos y hormonales continuos y repetitivos que suceden en la hembra; sincronizan su periodo de receptividad con la ovulación. En la rata tiene una duración de 4 a 5 días el ciclo se suspende sólo en caso de que ocurra la preñez o pseudopreñez. El ciclo estral es regulado por la duración del fotoperiodo y la disponibilidad de alimento. A continuación se describen las etapas del ciclo estral de la rata (Hoar 1978):

## **PROESTRO**

En el animal adulto, el útero se dilata y comienza a haber fluido en su interior. En la etapa tardía del proestro, el útero ya se ha alargado y balonado, se llena de fluido, este periodo tiene una duración de 12 horas y en el ovario es la fase de mayor crecimiento folicular (Hoar 1978).

Los folículos preovulatorios secretan grandes cantidades de  $E_2$ , el cual ejerce un efecto estimulante sobre la secreción de gonadotropinas. En esta etapa la liberación de LH produce la ovulación alrededor de las 6 de la tarde, y para la noche de esta etapa la hembra es receptiva y acepta la monta del macho; el frotis vaginal revela presencia de células nucleadas (Hoar 1978).

## **ESTRO**

En el animal púber casi siempre corresponde al día de la EAV y al igual que en el animal adulto, esta etapa puede o no coincidir con la ovulación; la pared vaginal se engruesa y los frotis vaginales usualmente presentan células epiteliales cornificadas. Esta etapa tiene una duración aproximadamente de 36 horas (Feder 1981b; Hoar 1978).

Esta etapa se encuentra bajo la influencia de los estrógenos y  $P_4$ , en la mañana del estro se presenta una segunda elevación de FSH, debido a la disminución de las concentraciones de inhibina, lo cual estimula el comienzo del desarrollo de un nuevo grupo de folículos, el frotis vaginal presenta células epiteliales cornificadas (Feder 1981b; Hoar 1978).

## **DIESTRO-1**

Es la etapa que sigue a la ovulación, dura de 10 a 14 horas, en ella existe secreción de  $P_4$  por la presencia del cuerpo lúteo y de  $E_2$  por parte de los folículos, que inhibe la secreción de gonadotropinas. Esta etapa esta caracterizada por la disminución de la vascularización del útero, mientras que en el frotis vaginal se observa la presencia de leucocitos con células cornificadas, indicando el adelgazamiento de la mucosa y la migración de leucocitos a través de ella (Tresguerres 1999).

## **DIESTRO-2**

Esta etapa dura aproximadamente 60-70 horas, se presenta en hembras maduras sexualmente, siempre y cuando no haya habido fecundación, durante este periodo se lleva a cabo la regresión del cuerpo lúteo y se produce por la insensibilidad del cuerpo lúteo a la LH, en ella el frotis presenta células leucocíticas y pocas anucleadas (Figura 2), (Feder 1981b; Ojeda SR. 1980; Freeman 1994).

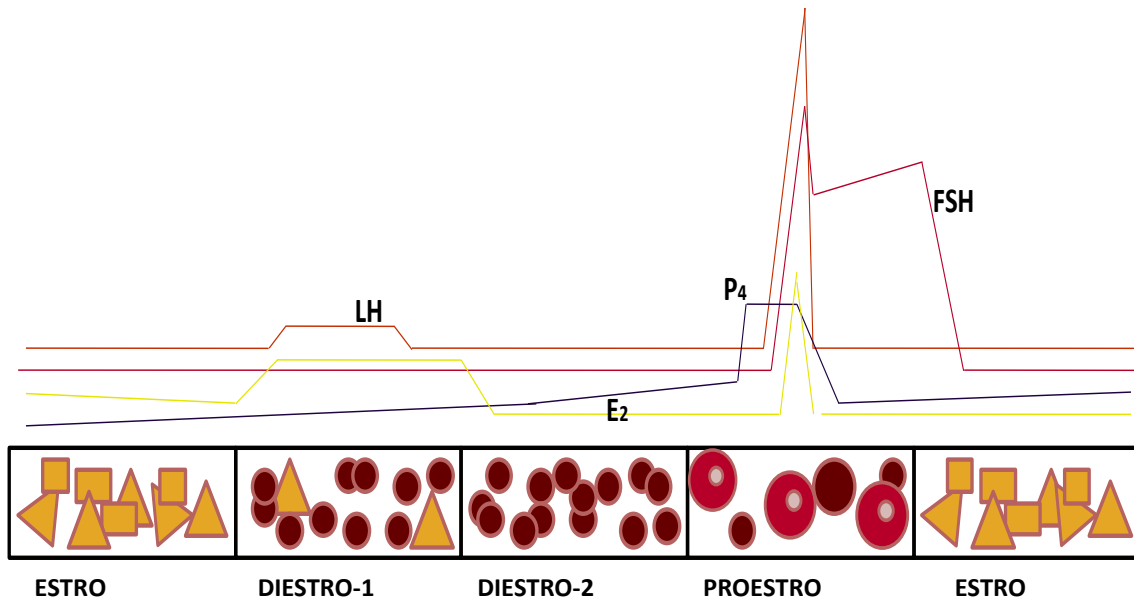


Figura 2. Diagrama que muestra la relación entre las concentraciones hormonales y la citología vaginal en el ciclo estral de la rata (Tomado y modificado de Tresguerres 1999).

## EL OVARIO

En la mujer los ovarios son estructuras de color rosado claro con forma ovalada, miden aproximadamente 3 cm de largo y 1.5 cm de ancho, cada ovario esta sujeto a la parte posterior del ligamento suspensorio llamado mesoovario (Fawcett 1990).

En la rata los ovarios estan situados cerca a los riñones a lo largo del músculo lateral que baja por la pelvis, a cada lado del útero de igual forma suspendidos por el ligamento suspensorio (Bergman 1998).

El ovario realiza dos funciones, la primera es la maduración de las células germinales y la liberación de óvulos maduros y la segunda es la producción de hormonas esteroides y peptídicas. Los ovarios son glándulas de función paracrina y autocrina, en donde se albergan las células germinales llamadas óvulos (Rodríguez 1971). La función endócrina que regula al ovario garantiza la producción regular de ovocitos en el momento adecuado (Tresguerres 1999, Yen 2001).

En el ovario los folículos en crecimiento se localizan en la corteza, entre cada uno de los folículos se encuentran la glándula intersticial, constituida por una red

densa de vasos capilares y tejido conectivo que forma el sosten del ovario. En el interior de la glandula, constituido por el hilio o médula, se encuentran las arterias y venas ováricas, vasos linfáticos y terminaciones nerviosas (Figura 3) (Fawcett 1990; Tresguerres 1999).

## **FOLICULOGÉNESIS**

La foliculogénesis se define como el proceso que comprende el crecimiento y la maduración del folículo ovárico, desde el momento en que se constituyen los folículos con un ovocito primordial, hasta el momento de su ovulación o de la atresia (Malamed y col., 1992).

En la mujer el proceso de foliculogénesis se produce antes del nacimiento mientras que en la rata ocurre después de las primeras 24 horas de vida. En la rata los receptores a FSH y LH se sintetizan a partir del 6<sup>to</sup> día de vida, hecho que apoya la hipótesis que el proceso de foliculogénesis se produce independientemente del estímulo gonadotrópico (Domínguez y col., 1991; Malamed y col., 1992).

El folículo, unidad anatómica-funcional del ovario, está formado por el ovocito, las células de la granulosa, la membrana basal, las células tecointersticiales, que conforman la teca (interna y externa), tejido conjuntivo, capilares y terminaciones nerviosas (Figura 3), (Domínguez 1991).

El ovocito es una célula cuyo tamaño varía entre 20 y 70  $\mu\text{m}$  de diámetro, dependiendo de su etapa de desarrollo, que emite muchas microvellosidades que se interdigitan con prolongaciones de las células de la granulosa que lo rodean y lo aíslan del resto del ovario (Domínguez y col., 1991; Fawcett 1990).

Las CGs están separadas de la médula ovárica y de la glándula intersticial por la membrana basal, después de esta se encuentran las células de la teca, rodeadas por un complejo de fibras de colágeno y tejido conectivo que forman una vaina fibrosa la que al dirigirse a un punto de la superficie del ovario forma un orificio por el cual saldrá el ovocito (Figura 3) (Fawcett 1990).

Las CGs están encargadas de llevar los nutrientes hacia el ovocito y producir las hormonas esteroides, no tienen un aporte vascular directo, lo cual hace que tengan contacto directo con las células vecinas a través de uniones GAP especializadas y fundamentales para el intercambio metabólico. Se distinguen tres



poblaciones de CGs las del cúmulo óforo, las antrales y las murales, éstas últimas son las más activas en la esteroidogénesis (Domínguez y col., 1991).

La proliferación de las CGs es el segundo indicio, después del crecimiento del ovocito, que indica el desarrollo folicular. Una vez que las células de la granulosa han formado siete u ocho capas alrededor del ovocito, comienzan a presentarse entre ellas pequeñas cavidades llamadas cuerpos de callex-ner que se encuentran llenas de líquido folicular originado por extravasación plasmática. Una vez que los cuerpos de call-exner se han vuelto muy grandes y se encuentran muy juntos, se unen hasta formar una gran cavidad que se denomina antro folicular, en el se encuentra concentrado todo el líquido folicular compuesto por proteínas, polipéptidos gonadotropinas, esteroides y noradrenalina (Domínguez y col., 1991).

Las CT se encuentran cercanas a la membrana basal y tienen una mayor capacidad de sintetizar andrógenos y  $P_4$ , pues contienen un mayor número de receptores a LH, lo que permite mediante la activación de la cascada de señalización, transformar el colesterol en T. En los folículos antrales, las CGs presentan abundante retículo endoplásmico rugoso el cual disminuye posterior al “pico” de LH y aumenta el retículo endoplásmico liso, semejante al de las células sintetizadoras de  $P_4$ , permitiendo así formar el CL. Después de que ocurre la ovulación las CT y las CGS, se transforman en células luteínicas del CL, que secretan las hormonas necesarias para preparar el útero a la posible implantación del ovocito fecundado (Domínguez 1991).

Histológicamente los tres tipos básicos de folículos ováricos pueden clasificarse de acuerdo con su estado de desarrollo en: Folículos Primordiales, en Crecimiento y Folículos Maduros (Folículo de De-Graaf en Humanos)

## **FOLÍCULOS PRIMORDIALES**

Están compuestos por el ovocito primario rodeado por una capa de células de la granulosa aplanadas (Yen 2001), que aparecen durante el desarrollo fetal y su crecimiento es independiente de la estimulación por gondotropinas (Ross 2005).

## **FOLÍCULOS EN CRECIMIENTO**

Son todos aquellos folículos que se encuentran en un proceso de crecimiento y diferenciación de sus componentes, a su vez se dividen en:

- **Primarios**
- **Secundarios o antrales**
- **Terciarios**

### **FOLÍCULOS PRIMARIOS**

Están caracterizados por un ovocito primario rodeado por una capa de células de la granulosa de forma cúbica, en la mujer la formación de este tipo de folículos comienza seis semanas después del nacimiento y se mantienen en formación hasta la llegada de la senescencia, mientras que en la rata comienza alrededor de los 21 días de edad y culmina en la vejez del animal (Yen 2001; Becu-Villalobos y Lacau Meningido 1990).

### **FOLÍCULOS SECUNDARIOS**

Están compuestos por un ovocito primario rodeado por algunas capas de células de la granulosa cuboideas, el ovocito se encuentra situado de forma excéntrica y todo el folículo toma una forma ovalada; cuando el folículo alcanza un tamaño de 0.2 mm comienzan a formarse algunos espacios entre las células de la granulosa se forman los cuerpos de call-exner, formando los folículos preantrales, (Yen 2001). Apartir del momento en el que el folículo ha comenzado a formar la cavidad antral, por la unión de los cuerpos de call-exner, se forman lo folículos antrales y el ovocito no crece más, en este momento sólo aumenta el tamaño del folículo hasta alcanzar los 10 ó 15 mm, estos folículos maduran hasta esta etapa apartir del comienzo de la pubertad que es marcada por la primera ovulación y termina hasta la senescencia reproductiva (Fawcett 1990).

### **FOLÍCULOS TERCIARIOS**

Se encuentran en el punto máximo de desarrollo anterior a la ovulación, es decir de 10 a 14 días posteriores al comienzo de su maduración, se convierten en vesículas grandes que ocupan todo el ancho de la corteza ovárica (Figura 3); (Fawcett 1990).

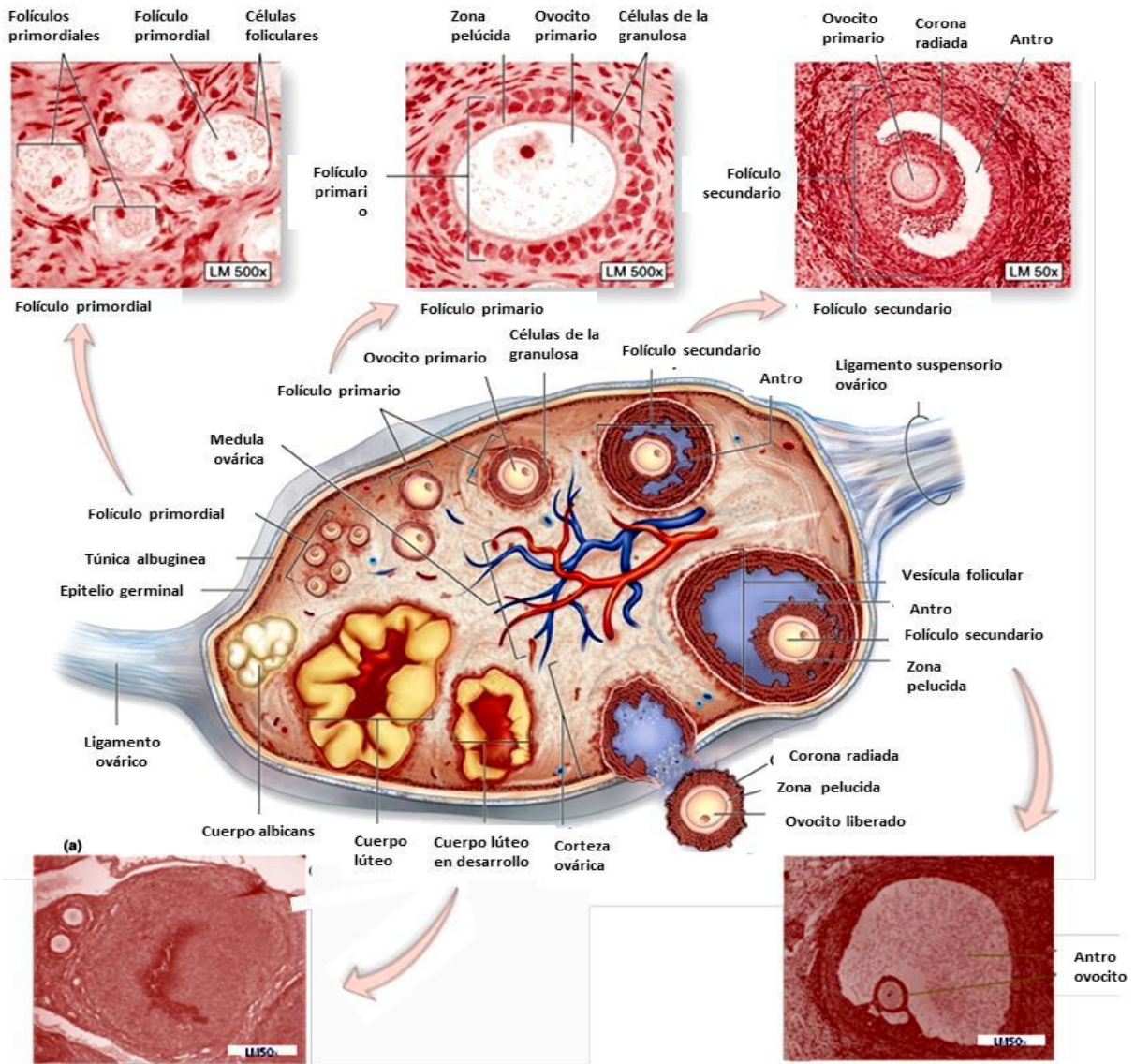


Figura 3. Esquema de las principales estructuras ováricas (tomado y modificado de Hoar 1978; Rosas 2006 y Hernández 2009)

### ATRESIA FOLICULAR

Del griego “a” que significa no, y “tresos” que significa perforación; la atresia folicular es un proceso degenerativo por el cual el ovario pierde más del 99% de sus folículos antes de que estos lleguen a la ovulación, sólo el 1% culmina en la expulsión del ovocito (Devine y col., 2000; Geneser 2000; Hsueh y col., 1994).

El ovario de la mujer tiene una reserva de folículos primordiales, que madura durante el periodo prenatal, pero en otras especies, como en la rata, se

produce durante etapas tempranas del desarrollo postnatal. Una vez que este reservorio está bien diferenciado, sus folículos comienzan gradual y continuamente a crecer.

La atresia folicular se puede presentar en cualquier etapa del desarrollo del animal, una vez que el folículo comienza a crecer puede terminar su desarrollo de dos formas en la ovulación o en la atresia (Fortune 1994; Rosales Torres 1998).

El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito el cual pierde la capacidad de mantener el control metabólico del folículo, o por defectos inherentes en la configuración genética del mismo o de las células de la granulosa, estas alteraciones producen que las células de la granulosa pierdan los receptores a FSH y LH, lo que se traduce en disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos y su acumulación alrededor del folículo, lo que favorece la atresia (Dominguez y col., 1991; Fortune 1994).

La atresia no prevalece de manera equitativa en todas las etapas de desarrollo folicular. Hirshfield (1991) analizó el patrón de crecimiento folicular y señaló que la atresia de los folículos se realaciona con el número de capas de células de la granulosa presentes alrededor del ovocito. Cuando el folículo presenta más de ocho capas de células de la granulosa es más factible que el folículo presente signos de degeneración. La atresia ocurre en un período de tiempo corto dentro del desarrollo folicular, que precede a la formación de la penúltima generación de células de la granulosa (Hirshfield 1991., Fortune 1994).

Se han señalado que existen 6 momentos críticos en los cuales ocurre una degeneración folicular, que suele asociarse al fenómeno de la atresia. Las tres primeras etapas ocurren durante el proceso de la ovogénesis y hasta el momento en que han quedado conformados los folículos primordiales; y las tres etapas posteriores se presentan en cualquier momento durante el reclutamiento folicular y hasta un poco antes de la ovulación (Figura 4), (Biskov 1978; Fortune 1994).

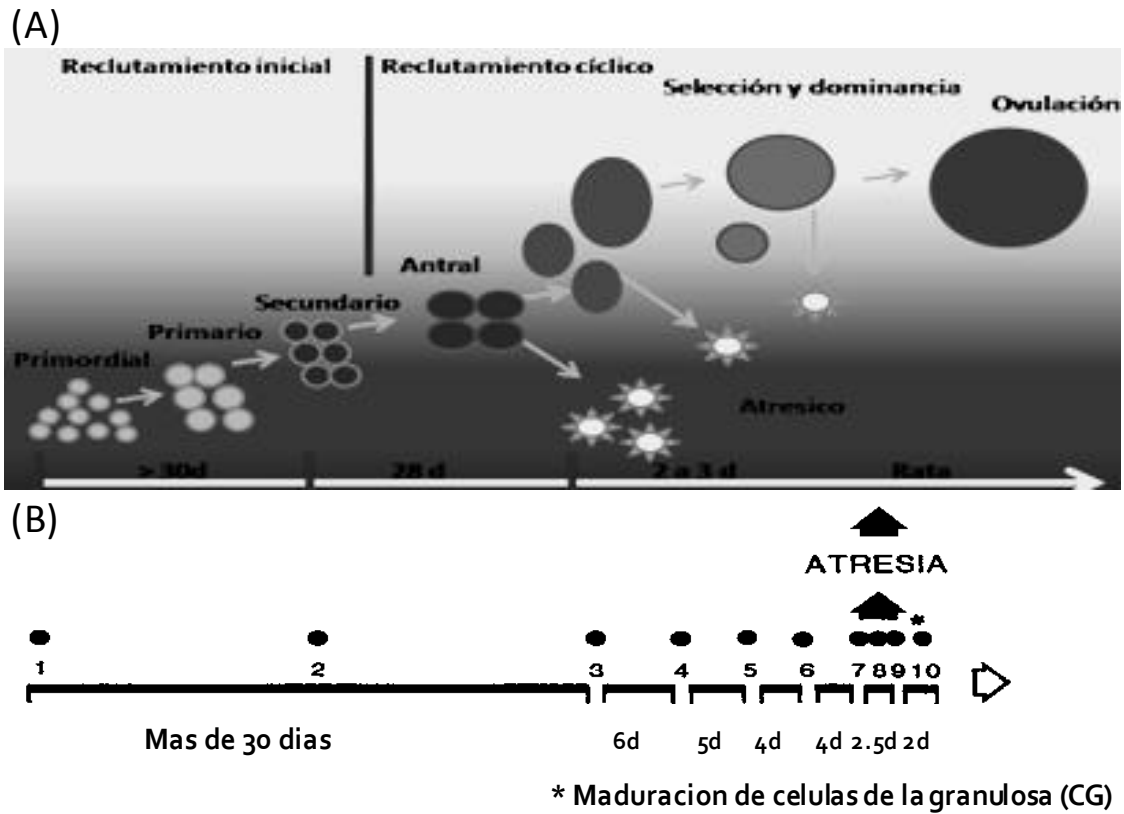


Figura 4. (A) esquema representativo de la atresia folicular. Donde se muestra que durante el reclutamiento inicial se presentan tres etapas de degeneración folicular y tres más durante el reclutamiento cíclico. (B) se representa el número de capas de células de la granulosa y el momento en el cual es más alto el índice de atresia (tomado y modificado de Fortune 1994., Vega 2006).

La atresia folicular es un proceso irreversible que puede dividirse en dos subtipos; 1) el independiente de gonadotropinas, proceso que inicia *in útero*, momento en el cual los folículos están en la etapa primordial, y 2) la atresia dependiente de gonadotropinas que representa un proceso cíclico que involucra folículos de diferentes tamaños e incluso aquellos muy pequeños (Fortune 1994).

Algunos estudios *in vitro* han demostrado que las células de la granulosa son reguladas por diversos factores de crecimiento, así como la FSH y los esteroides sexuales. La integridad estructural y funcional del complejo folicular depende del estado del ovocito. La muerte y degeneración del ovocito son consecuencias inevitables de la atresia, la continuidad de la meiosis y la expulsión de al menos el primer cuerpo polar, pueden ser manifestaciones tempranas de atresia en algunos folículos, y en cualquier caso el ovocito desarrolla picnosis seguida de necrosis y reabsorción completa. La secuencia de eventos de la atresia folicular se observa

por una serie de características morfológicas y moleculares (Ojeda y Urbanski, 1994; Fortune 1994; Biskov 1978 ):

- Encogimiento del ovocito (acompañado o seguido de pseudomaduración)
- Rompimiento de la vesícula germinal
- Disminución de la síntesis de ADN
- Fragmentación internucleosomal del ADN (característico de apoptosis)
- Picnosis nuclear en células de la granulosa y de la teca
- Disminución en la producción de estradiol y progesterona
- Disminución de receptores y su respuesta a gonadotropinas
- Incremento en gránulos ( lípidos y proteínas) en el ovocito
- Ausencia de FSH en el fluido folicular
- Incremento en la expresión de IGF, angiotensina II.
- Disminución de las proteínas que forman las uniones gap en granulosa
- Desprendimiento de las uniones comunicantes
- Modificaciones de la estructura de la zona pelúcida
- Hipertrofia de las células de la teca y formación de células intersticiales
- Producción de inhibidores de tripsina
- Disminución de la colagenasa intersticial en la teca

Todas las señales anteriores se manifiestan de manera visible como una exfoliación de la capa de las células de la granulosa, por lo que flotan libremente en el líquido antral. Posteriormente las células de la granulosa se luteinizan y a pesar de los cambios iniciales, las células de la granulosa finalmente son remplazadas por fibroblastos en los folículos atrésicos. El antro es invadido por capilares y fibroblastos, se colapsa y la zona pelúcida del ovocito desaparece. Las células de la teca se hipertrofian y pasan a formar parte del tejido intersticial. Finalmente se reabsorben los folículos (Domínguez y col.,1991).

## **ESTEROIDOGENESIS**

Las hormonas esteroides regulan múltiples mecanismos involucrados en la vida de los individuos, algunos de los órganos donde se producen y liberan esteroides son el ovario, el testículo, las suprarrenales y la placenta. Todos los esteroides tiene una característica en común poseen un núcleo químico básico, el ciclopentanoperhidrofenantreno (Figura 5) (Diaz y Hicks 1995).

En el proceso de la esteroidogénesis, las hormonas de naturaleza proteica, producto de la síntesis y la secreción hipofisiaria, ejercen sus efectos sobre los órganos productores de esteroides, dichos efectos inician una serie de eventos bioquímicos en la membrana y en el interior de la célula que resultan en la expresión de su actividad biológica.

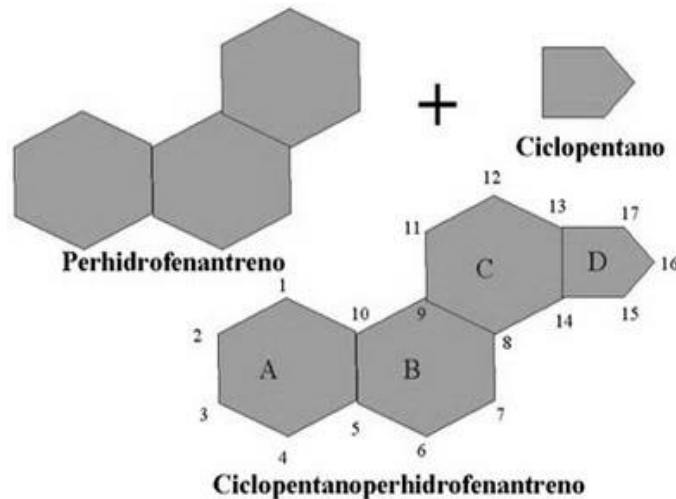


Figura 5. Núcleo de los esteroides, formado por la combinación del perhidrofenantreno y el ciclopentano (Tomado y modificado de Diaz y Juarez 2007).

Durante la pubertad el sistema endócrino es de suma importancia en la inducción de las características propias de cada sexo, finalidad que requiere de la instalación de mecanismos finos de regulación entre la hipófisis y las gonadas. La LH y FSH, representan en ambos sexos, el principal estímulo para el desempeño de las funciones de la gonada (Domínguez y col., 1991).

Dentro del ovario, los folículos en desarrollo, el cuerpo lúteo y el estroma son los tres compartimientos de la gonada responsables de la formación de esteroides. El ovario es regulado por acción de las gonadotropinas, la capacidad del ovario para producir las hormonas esteroides y contribuir a las concentraciones circulantes y sus efectos periféricos de las mismas, se encuentra condicionada a la presencia de sus receptores específicos. Los principales esteroides sintetizados y secretados por el ovario son el  $E_2$ , la  $P_4$ , la androstenediona, la  $17\alpha$ -OH-progesterona y la T. En cualquiera de los casos la síntesis de esteroides se encuentra determinada por tres factores (Domínguez y col., 1991).

1) La estimulación ovárica por parte de las gonadotropinas, 2) La presencia de receptores a las gonadotropinas y 3) La disponibilidad de sustratos suficientes para su síntesis.

La síntesis de  $E_2$  requiere de la presencia de dos estirpes celulares diferentes, las células de la teca, las cuales en respuesta a la LH producen esteroides con actividad androgénica, los cuales son aromatizados por las células de la granulosa para la producción de los estrógenos, proceso estimulado mediante la FSH (Figura 5) (Domínguez y col., 1991).

La biotransformación de los andrógenos a estrógenos se da por medio de enzimas conocidas como aromatasas que representa el paso limitante en la síntesis de hormonas esteroides con actividad estrogénica (Figura 6) (Tresguerres 1995; O'Malley y col., 2001).

La síntesis de  $P_4$  por el ovario tiene como sustrato anatómico principal el cuerpo lúteo, el cual se desarrolla después de la luteinización de las células de la teca y de la granulosa por la acción de la LH. El precursor más importante en la síntesis de la  $P_4$  lo constituye el colesterol, proveniente de las lipoproteínas de baja densidad. El primer paso en esta biosíntesis esteroidea es la conversión de colesterol a pregnenolona que se lleva a cabo en la mitocondria de las CT por la unión de la LH a su receptor y por la activación del citocromo p450<sub>scc</sub>. La pregnenolona posteriormente es biotransformada a  $P_4$  a por enzimas microsomales (O'Malley y col. 2001).

La pregnenolona puede ser biotransformada por dos vías la  $\Delta^4$  o la  $\Delta^5$ . Por la ruta  $\Delta^5$  se convierte a 17-hidroxipregnenolona a través de la acción de la 17 $\alpha$ -hidroxilasa, después por efecto de la 17-20 desmolasa se convierte en DHEA, la cual se transforma a androstenediona por la acción de la 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa y  $\Delta^4$ -5 isomerasa (Tresguerres 1995; O'Malley y col. 2001).

Por la ruta  $\Delta^4$ , la pregnenolona se convierte en progesterona por las enzimas 3 $\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa y la  $\Delta^4$ -5 isomerasa, así la androstenediona es transformada a testosterona por la 17-ceto-reductasa a estrona por el complejo aromatasas de la p450 y ambos metabolitos se pueden convertir en 17  $\beta$ -estradiol por acción de las enzimas aromatasas o la 17-ceto-reductasa (O'Malley y col. 2001; Tresguerres 1995).



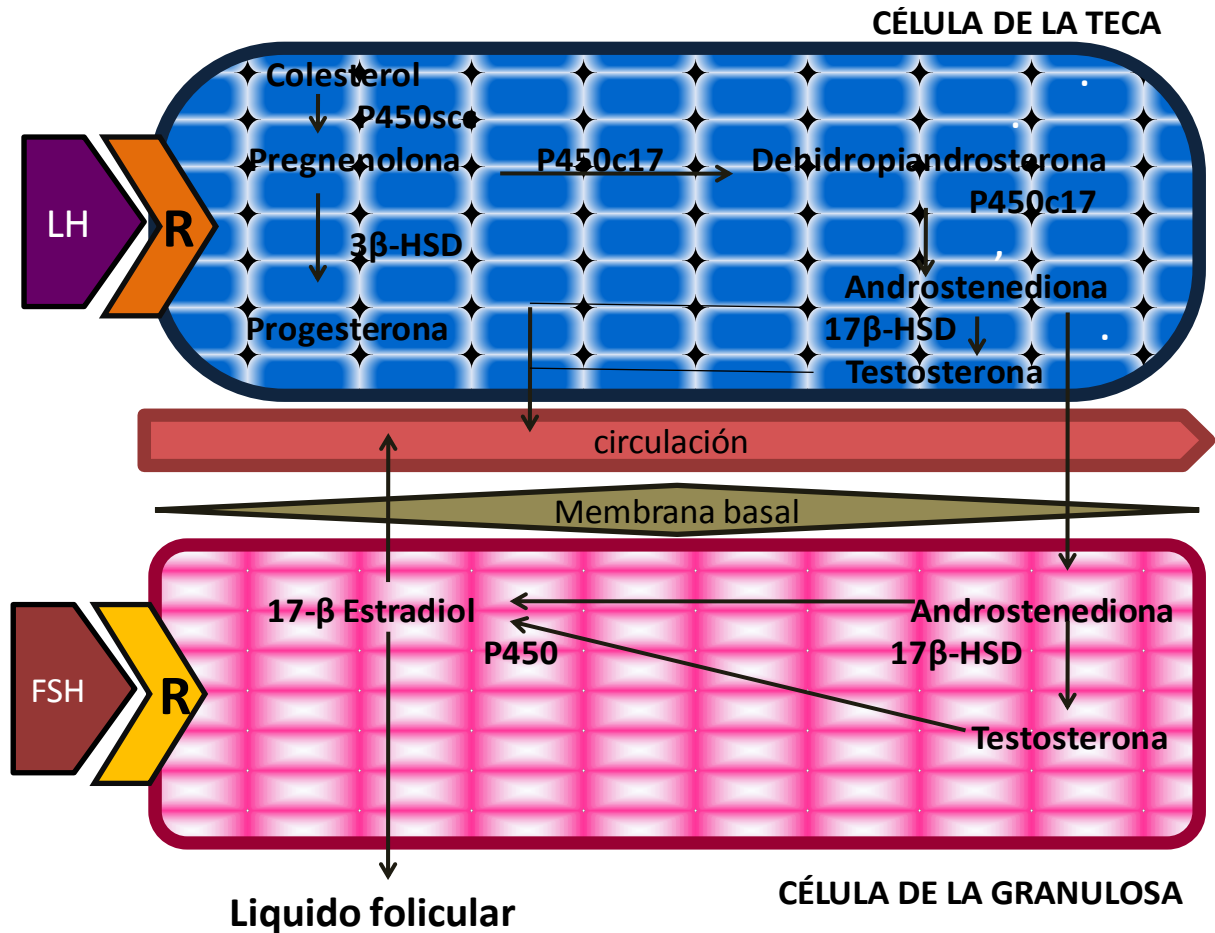


Figura 6. Teoría de la doble célula, representa los pasos esenciales en el proceso de la esteroidogénesis ovárica, (P450sc) complejo citocromo p450 de la cadena lateral, P450c17 para la conversión a andrógenos, (3β-HSD) enzima 3β-hidroxiesteroidedeshidrogenasa, (17β-HSD) enzima 17β- hidroxiesteroidedeshidrogenasa (Tomado y modificado de Tresguerres 1999; Van Voohris 1999).

## ACCIÓN BIOLÓGICA DE LOS ESTEROIDES

Los esteroides ejercen sus efectos en los tejidos blanco por medio de receptores intracelulares y de membrana. Estos complejos esteroide-receptor modifican la codificación genética que da paso a la transcripción de proteínas las cuales llevan a cabo un efecto biológico (Fawcett 1995; Audesirk y Audesirk 1997).

En la rata el estradiol modula el comportamiento sexual del apareamiento, activa e incrementa la percepción de los estímulos sensoriales, olfativos, auditivos y visuales. Durante el ciclo estral, participa en la regulación de la proliferación

celular del epitelio útero-vaginal, la secreción de gonadotropinas y facilita la acción de las mismas en el folículo ovárico, promoviendo su crecimiento y rescatandolos del proceso degenerativo de la atresia (Rosales Torres 1998; Tresguerres 1999).

En la rata hembra la  $P_4$  junto con el  $E_2$ , modula el inicio y duración del comportamiento de receptividad sexual, es primordial en la implantación del embrión en el útero y previene la expulsión prematura del producto. En conjunto con la prolactina inhibe la receptividad durante la preñez y lactancia (Burden y col., 1977; Paolucci y col., 1999; Tresguerres 1999).

## **INERVACIÓN OVÁRICA**

El sistema nervioso está constituido por el SNC (el encéfalo y médula espinal); y el SNP formado por la red de nervios que arrivan a la mayoría de los órganos del cuerpo. El SNP se divide a su vez en simpático y parasimpático, cada uno de los cuales regula una función distinta en los órganos blanco que inervan (Tresguerres 1999).

Los ovarios de los mamíferos están inervados por el sistema nervioso simpático, parasimpático así como por neuronas sensoriales, los cuales llegan a la vasculatura, tejido intersticial y folículos en desarrollo (Dissen y col., 2000). La inervación que recibe el ovario es en su mayoría de naturaleza simpática y transcurre por del NOS y PO (Figura 7). Por estos nervios llega al ovario NA, VIP y NPY (Aguado y Ojeda 1984). Esta inervación contribuye en la regulación de las funciones ováricas (Chávez y col., 1994; Domínguez y col., 1991).

La porción simpática de la inervación ovárica se origina de la onceava vértebra torácica a la cuarta vertebra lumbar (T11-L4) de la cadena de ganglios simpáticos que forman el ganglio celiaco, hacen sinapsis y se proyectan hacia el ovario a través del NOS y PO (Chávez y col., 1994).

La inervación simpática modula la respuesta de las células de la granulosa a las gonadotropinas, el crecimiento y diferenciación de los folículos ováricos y participa en los mecanismos que conducen a la ovulación. Las catecolaminas que actúan sobre el ovario tienen cuatro orígenes: las circulantes, producidas por la médula suprarrenal, las liberadas por las terminaciones nerviosas adrenérgicas, las sintetizadas por las células de la granulosa y las secretadas por las células cromoadrenérgicas. Se ha demostrado que la concentración de NA en el licor

folicular es diez veces superior a la del suero, debido a un sistema de bombeo de catecolaminas desde el plasma hasta el folículo (Domínguez y col., 1991).

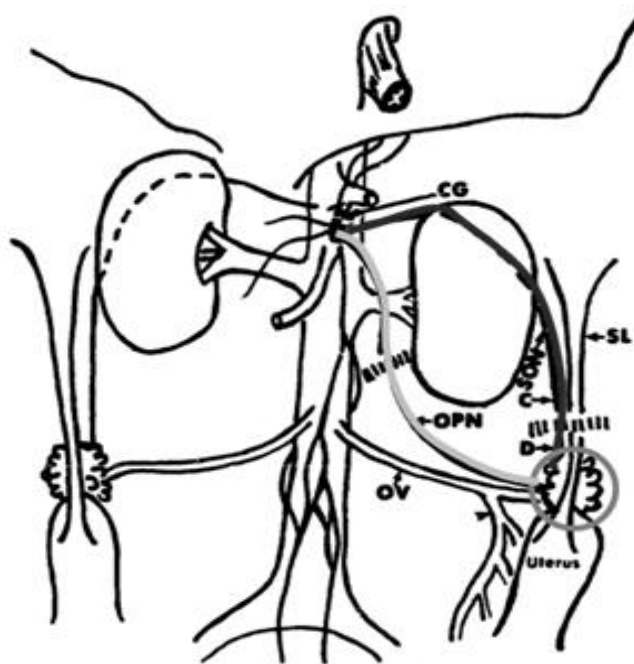


Figura 7. Esquema que muestra la trayectoria de la inervación ovárica de la rata, OV: Vena ovárica, OPN: Plexo ovárico, SON: Nervio ovárico superior, SL: ligamento suspensorio, CG: ganglio celiaco (tomado y modificado de Klein y Burden 1988).

En la rata la sección del NOS resulta en la disminución de la concentración de NA ovárica, que se acompaña por alteraciones en el ciclo estral, disminución del número de folículos grandes y aumento en el número de los folículos pequeños. Estos resultados sugieren que el NOS, participa en la regulación de las funciones ováricas (Chávez y col., 1991).

VIP estimula la secreción de  $P_4$  andrógenos y  $E_2$ , mientras que NA sólo la de  $P_4$  y andrógenos. El VIP estimula la expresión de los receptores a la FSH y la NA produce un efecto amplificador en la recepción de las gonadotropinas facilitando el papel estas en la esteroidogénesis (Hadley 2000).

La NA es una amina que actúa como neurotransmisor, sintetizada principalmente en las células postganglionares simpáticas y en células cromafines adrenales. En la Figura 8 se muestra que la biosíntesis comienza con la biotransformación de la fenilalanina a tirosina, ésta es transportada al interior de la célula y convertida a hidroxifenilalanina (DOPA), por la TH, posteriormente

DOPA es convertida a dopamina y por acción de la dopamina  $\beta$ -hidroxilasa (D $\beta$ H) es transformada a NA (Hadley 2000).

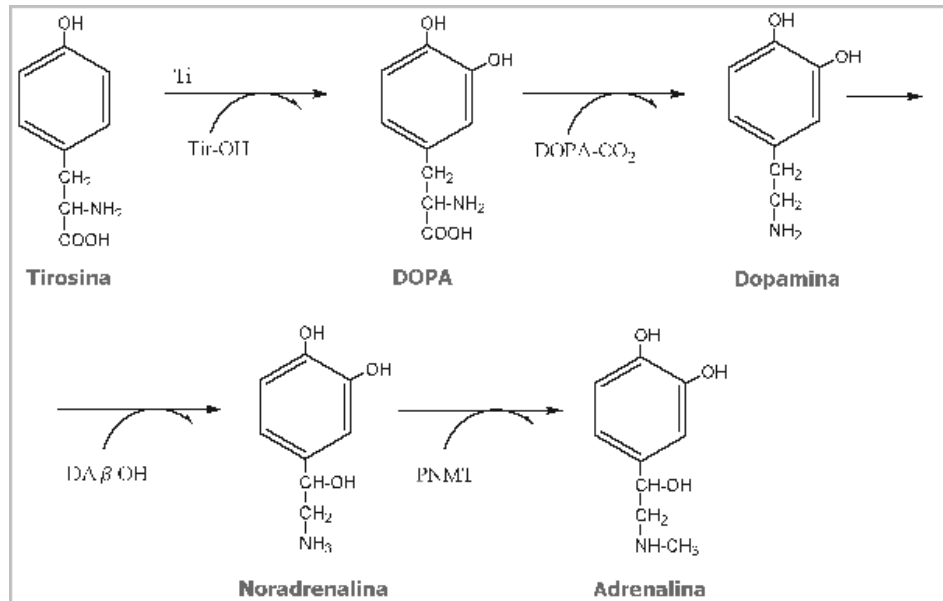


Figura 8. Ruta de la biosíntesis de noradrenalina a partir de la tirosina (tomado y modificado de Jubiz, 1988).

## EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO (SOPQ)

El SOPQ es considerado la causa más frecuente de esterilidad femenina por causas hiperandrogénicas, asociado con la hormona liberadora de gonadotropinas y la resistencia a la insulina (Yen 2001).

El SOPQ también denominado hiperandrogenismo ovárico funcional o anovulación crónica hiperandrogénica, es la causa más común de hiperandrogenismo con una incidencia del 3 al 10% tanto en mujeres adolescentes como adultas (Arizaga 2007).

Las primeras evidencias que se tienen sobre este síndrome son los provenientes de estudios de Stein y Leventhal en 1920 y 1925, quienes documentaron y relacionaron este síndrome con un cuadro de amenorrea e hirsutismo acompañado con cierto grado de obesidad. Stein en 1935 documentó que tras una recesión ovárica bilateral en forma de cuña, se restablecía la fertilidad de la paciente y se observaba normalización de los ciclos ováricos, con lo cual se

postuló que estos padecimientos se debían a una alteración en el ovario, nombrándolo así en un principio como la enfermedad ovárica poliquística (Yen 2001, Arizaga 2007).

Años después se continuaron los estudios sobre la patología y se relacionó con alteraciones funcionales en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, por una hiperfunción de la LH en las células de la teca y una hipofunción de la FSH en las células de la granulosa lo cual genera alteraciones en la secreción de los estrógenos y como consecuencia anovulación (Yen 2001).

La etiología del SOPQ aun es poco conocida, pero se han postulado diversas hipótesis que apuntan a un origen multifactorial, entre los cuales se mencionan brevemente los siguientes (Franks y col., 1998; Abbott y col., 2008; Xita y Tsatsoulis, 2006; Stener-Victorin y col., 2005):

1. Anormalidades en la secreción de la GnRH.
2. Incremento o disminución en las concentraciones de gonadotropinas (incremento de LH respecto a FSH).
3. Anormalidad en la esteroidogénesis ovárica.
4. Insulinorresistencia.
5. Trastorno autosómico dominante: probablemente oligogenético

Estas diferencias producen ciertos rasgos fisiopatológicos y clínicos que son tomados en cuenta para el diagnóstico de pacientes con SOPQ, los cuales son (Barria y col. 1993; Yen 2001):

- Hiperandrogenismo
- Hirsutismo
- Acné
- Anovulación crónica
- Ovarios poliquísticos
- Mayor secreción de LH en relación con FSH
- En algunos casos obesidad

Se ha sugerido que el SOPQ puede originarse incluso desde el desarrollo intrauterino, de manera que si el embrión es expuesto a un ambiente con concentraciones muy altas de andrógenos puede desarrollarse esta patología. Un estudio hecho en ovejas apoya esta idea pues al inducir una condición hiperandrogénica en el organismo en desarrollo, se reduce la sensibilidad a la

GnRH, (Abbott y col., 1997) aumenta la secreción de LH, e incrementa los efectos del hiperandrogenismo. Al mismo tiempo se ha observado que el aumento en la concentración de ACTH resulta en un incremento en la T por parte de las adrenales (Xita y Tsatsoulis, 2006; Stener-Victorin y col., 2005).

La complejidad del síndrome indica la necesidad de buscar alternativas para esta disfunción, con el fin de contribuir a la explicación de los principales factores que desencadenan el síndrome. A principios de la década de los 90's se postuló que el SOPQ podría originarse en respuesta a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario. Así cuando se realiza la sección bilateral del NOS, se produce una disminución en la concentración de noradrenalina que se acompaña del restablecimiento de los ciclos ovulatorios (Barria y col. 1993).

### **PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN SIMPÁTICA EN EL SOPQ.**

El análisis por histofluorescencia de los ovarios con SOPQ muestra una mayor densidad de fibras catecolaminérgicas, que ha sido atribuido a un incremento en el NGF ovárico (Lara y col., 1993), el cual al actuar sobre el ganglio celiaco produce una mayor cantidad de TH, enzima encargada de la síntesis de NA (Lara y col., 2000; Dissen y col., 2000).

El corte en cuña del ovario, especialmente de aquella región que incluye el hilio (el punto donde los nervios entran al ovario), es efectivo en pacientes que no presentan respuesta al tratamiento convencional con citrato de clomifeno (Nakamura y col. 1990). Para probar que el SOPQ es el resultado de una mayor actividad simpática del ovario, el grupo de Barria (1993) realizó la sección bilateral del NOS, principal fuente catecolaminérgica del ovario, y observaron el restablecimiento del ciclo estral y de las funciones ováricas. Recientemente nuestro grupo de trabajo mostró que el SOPQ no es debido únicamente a una mayor actividad de las fibras simpáticas, ya que la sección unilateral del NOS en el animal con SOPQ, restablece la función ovárica del ovario inervado, no así en el denervado (Linares. 2006).

### **ANDROGENIZACIÓN**

La testosterona es un andrógeno, esteroide derivado del ciclo-pentano-perhidro-fenantreno, que tiene 19 átomos de carbono, un doble enlace entre C4 y

C5, un átomo de oxígeno en C3 y un radical hidroxilo (OH) en C17, cuya fórmula condensada es  $C_{19}H_{28}O_2$  (Figura 9). Esta estructura es necesaria para el mantenimiento de la actividad androgénica. La testosterona puede ser aromatizada en varios tejidos para formar estradiol, de tal manera que en el hombre es normal una producción diaria de 50  $\mu\text{g}$  (Budavari y col., 1996).

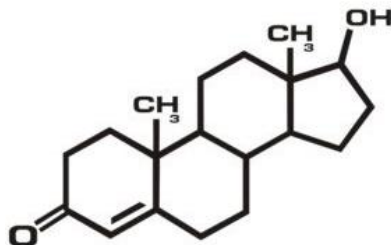


Figura 9. Estructura de la molécula de testosterona (Tomado de Budavari y col., 1996).

En la rata recién nacida la captación específica, la fijación y la capacidad de aromatización de la testosterona a estrógeno es un proceso importante en el desarrollo y diferenciación del encéfalo (Yen 2001). Los mecanismos que regulan la secreción de la LH son diferentes en la hembra y en el macho, estas diferencias parecen no depender exclusivamente de la información genética de cada sexo, sino que están vinculadas a la acción de las hormonas testiculares sobre los centros nerviosos durante el proceso de maduración hipotalámica en el desarrollo postnatal inmediato (Gorski y col., 1990).

El propionato de testosterona (PT) es un andrógeno derivado sintéticamente de la testosterona, alquilado en la posición c17 en el radical OH lo que permite una acción rápida y con efectos que duran de 2 a 3 semanas. Su aplicación es parenteral, epidérmica o subcutánea y en hembras provoca masculinización.

Los efectos de la administración de una dosis de PT a ratas hembra de diferentes días de edad, muestra que existe una fase crítica o de máxima susceptibilidad para inducir la masculinización de los centros nerviosos que controlan la liberación de las gonadotropinas y esto ocurre dentro de los primeros cinco días de edad (Gorski 1968; Flores. 1991).

En el SOPQ el mayor marcador de la morfología poliquística es el hiperandrogenismo, visible por anomalías ováricas en el proceso de maduración de los ovocitos. La administración de andrógenos resulta en la alteración de la secreción hipotalámica de GnRH y del patrón de secreción de gonadotropinas. La heterogeneidad del síndrome se refleja en muchos modelos

animales, sin embargo uno de los más utilizados es el de la rata, en donde se han observado varias de las características que presenta la mujer con SOPQ (Krishna y col., 2005 y col., 2005; Manneras y col., 2007).

## **EFFECTOS DE LA ANDROGENIZACIÓN**

El papel del estradiol en el hombre aun no está aclarado, pero su exceso puede provocar feminización, así como en las mujeres la presencia de testosterona puede provocar la masculinización. La esterificación de la T en el (R-OH) en C17, aumenta su liposolubilidad y prolonga su acción. Es el principal andrógeno y afecta directa o indirectamente todas las partes del cuerpo y sus sistemas durante la vida fetal y el desarrollo puberal hacia la vida adulta (Abbott y col., 1997).

En la pubertad el incremento de las concentraciones de andrógenos promueve el crecimiento corporal y la virilización, mantiene la función sexual, el desarrollo de las células germinales y características sexuales secundarias (Knobill 1998 ).

Estudios previos de Pfeiffer (1941) y Barraclough (1960), sugieren que los mecanismos que regulan la secreción de LH son diferentes en la rata hembra y macho. Estas diferencias no dependen exclusivamente de la información genética de cada sexo, si no que están vinculadas a las acciones que las hormonas gonadales ejercen sobre los centros nerviosos durante su proceso de maduración (especialmente hipotalámicos) y cuya diferenciación se realiza durante la etapa postnatal inmediata (Barraclough 1960; Pfeiffer 1941).

Durante el desarrollo temprano de la rata macho, la falta de andrógenos testiculares, sea por castración o por la administración de antiandrógenos, da como resultado el modelo de secreción de las gonadotropinas de tipo cíclico o fásico, característico de la hembra. Esto se demuestra por el hecho de que si a una hembra recién nacida se le injerta un testículo, se induce la aparición pospuberal de un cuadro caracterizado por estro vaginal persistente, ovario poliquístico, falta de ovulación y esterilidad permanente, denominado así como el síndrome de androgenización. La administración de testosterona induce los mismos efectos de las secreciones testiculares, sobre la diferenciación del sistema de regulación de la secreción de las gonadotropinas (Feder 1981a).

Barraclough al analizar los efectos de la administración de una dosis de PT a ratas hembras de diferentes días de edad, muestra que existe una fase crítica o de



máxima susceptibilidad para provocar la masculinización del modelo de liberación de las gonadotropinas y que ocurre dentro de los primeros 5 días de vida postnatal. La testosterona no se administra por vía oral ya que es rápidamente metabolizada en el hígado. En cambio los ésteres, propionato, cipionato o enantato administrados por vía intramuscular no son metabolizados. La metiltestosterona, fluoximesterona y los andrógenos anabólicos pueden administrarse por vía oral, son de acción corta y generan importantes efectos adversos después de un uso prolongado. En un 98-99% la testosterona circula ligada a la proteína unidora de andrógenos (ABP), también se une débilmente a la albúmina y entre 1-2% circula libre (Budavari y col., 1996).

Una vez que la testosterona se introduce, dada su liposolubilidad en las células diana, es convertida enzimáticamente a dihidroxiestero (DHT) por la acción de una enzima llamada 5-alfa-reductasa. El PT es un andrógeno que puede causar efectos en la maduración y comportamiento de sistemas y órganos, como en el caso del aparato reproductor y el sistema endocrino (Gorski 1968).

Algunos investigadores sugieren que el exceso de andrógenos (de origen fetal o materno) en la etapa temprana del desarrollo podrían explicar el origen del SOPQ en el animal adulto (Abott y col., 1997; Xita y Tsatsoulis, 2006 ).

En la actualidad los mecanismos potenciales de una programación fetal que desarrolle el fenotipo del SOPQ, por un exceso en la cantidad de andrógenos, aún no está del todo comprendido, sin embargo existen algunos mecanismos biológicos que pueden estar implicados:

El **Primero** podría ser el tiempo en el cual el organismo está expuesto a los andrógenos, ya que sus órganos y sistemas podrían encontrarse en una etapa indiferenciada de su desarrollo, especialmente aquellos que se encargan de la regulación de la reproducción y del metabolismo (Xita y Tsatsoulis, 2006). El **Segundo**, implicaría que el exceso androgénico esté determinado por un origen epigenético, al producirse cambios durante el desarrollo fetal en la activación de los genes (Xita y Tsatsoulis, 2006). El **Tercero** se debe a un posible síndrome metabólico por desnutrición que desencadena procesos homeostáticos del metabolismo que inhiben la función reproductiva como un mecanismo de adaptación y supervivencia (Xita y Tsatsoulis 2006).

## **DENERVACIÓN OVÁRICA**

El desarrollo de la función ovárica está sujeta al control endócrino y a las influencias neurales que recibe el propio ovario (Lara y col., 1993). La inervación simpática del ovario participa en el control del desarrollo folicular y en la capacidad esteroidogénica del mismo.

En la rata juvenil sin ninguna patología, la sección bilateral del NOS no modifica el inicio de la pubertad, la secreción de gonadotropinas pero resulta en una disminución de la concentración de estradiol (Aguado y Ojeda 1984). En la rata prepúber o adulta la sección unilateral del NOS resulta en la disminución del número de ovocitos liberados por la gónada denervada (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993) y la respuesta ovulatoria por el ovario denervado no se restablece ante el estímulo gonadotrópico. Estos resultados han permitido sugerir que la inervación que transcurre por el NOS modula de manera estimulante la respuesta del ovario a las gonadotropinas (Morales y col. 1998).

## **EFFECTOS DE LA DENERVACIÓN SOBRE LA ANDROGENIZACIÓN POSTNATAL**

Poco se ha estudiado sobre el papel de la inervación simpática en el modelo del animal androgenizado. En la rata androgenizada al nacimiento con PT no ovula, sin embargo cuando estos animales son denervados previamente por la guanetidina (GTD) resulta en la ovulación en el 57% de los animales, con una cuota ovulatoria normal. Estos resultados permiten postular que en el animal androgenizado, la inervación simpática modula de manera inhibitoria el proceso ovulatorio (Flores y Domínguez 1992).

Actualmente se ha profundizado en el estudio del animal con SOPQ, inducido por la administración de andrógenos (Feng y col. 2009; Wu y col. 2010). En la rata tratada con DHT la electroacupuntura de baja frecuencia, restablece la morfología ovárica y la ciclicidad estral (Feng y col. 2009).

Sin embargo, falta aun por conocer el mecanismo de acción de los andrógenos en el desarrollo del SOPQ, y su relación con la inervación simpática.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La actividad ovárica es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-gonada. Cuando el ovario es sometido a una condición hiperandrogénica, reduce su sensibilidad a las gonadotropinas, lo que altera la retroalimentación negativa del eje neuroendocrino, lo que es traducido por la hipófisis como incremento en la secreción de LH y por el ovario en aumento en la secreción de andrógenos.

La etiología del SOPQ es amplia y poco conocida, lo cual significa que puede ser atribuida a múltiples causas. Una de las hipótesis que se ha planteado en los últimos cincuenta años, plantea que el síndrome pueda ser el resultado de un aumento en la concentración sérica de andrógenos, sea la causa o el efecto; esta característica se observa en alrededor del 50% de las pacientes.

En el intento de esclarecer el origen del síndrome se han desarrollado varios modelos experimentales, entre los más utilizados están la inducción mediante la inyección de una dosis de VE, PT, DHT o bien al mantener a los animales en luz constante. En estos modelos se presenta alteraciones en el patrón de la secreción de gonadotropinas y la formación de quistes foliculares. Dado que en la rata con SOPQ, la sección bilateral del NOS restablece las funciones ováricas, se ha postulado que el SOPQ es el resultado de una mayor actividad de las fibras simpáticas.

En ratas hembras la administración de andrógenos desarrolla características similares a las encontradas en mujeres con el SOPQ. Se ha reportado que ante la administración de VE o PT el ovario presenta una histología similar, sin embargo, los modelos de secreción de gonadotropinas y de esteroides son diferentes. Esta discrepancia podría deberse a que la inervación simpática participa de manera diferente en el desarrollo del SOPQ, en función del estímulo empleado para su desarrollo. Para analizar esta posibilidad, en el presente estudio se analizó en la rata androgenizada al nacimiento, por la administración de PT, la participación de la información neural que transcurre por el NOS, sobre la respuesta ovulatoria y la secreción de hormonas esteroides ováricas.

## **HIPÓTESIS**

En la rata recién nacida, la administración de propionato de testosterona conduce al desarrollo del SOPQ, si éste se produce por el incremento en la actividad de las fibras simpáticas, entonces la sección del NOS restablecerá la ovulación y normalizará las concentraciones séricas de las hormonas esteroides ováricas.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Estudiar la participación del nervio ovárico superior sobre las funciones ováricas en el desarrollo del SOPQ, inducido en la etapa neonatal por la administración de PT.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Analizar la participación de la inervación simpática en el animal SOPQ, inducido por la administración PT en la etapa neonatal, en la ovulación del animal púber y adulto.
- Estudiar el efecto de la sección uni o bilateral del NOS, en ratas con SOPQ, inducido por el PT, sobre la ciclicidad estral.
- Estudiar el efecto de la sección uni o bilateral del NOS, en ratas con SOPQ, inducido por el PT, sobre la concentración sérica de  $E_2$ ,  $P_4$ , LH y FSH en el animal púber y adulto.
- Estudiar el efecto de la sección uni o bilateral del NOS, en ratas con SOPQ, inducido por el PT, sobre la morfología ovárica del animal púber y adulto.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

### **ANIMALES**

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas de la cepa CII-ZV en condiciones controladas de luz y oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 hrs) y temperatura de  $22 \pm 2$  °C.

### **TRATAMIENTO CON PROPIONATO DE TESTOSTERONA (PT)**

En el día del nacimiento (día cero) las ratas se distribuyeron en grupos de 7 individuos (6 hembras y 1 macho), las hembras fueron inyectadas, entre las 8:00 y 12:00 hrs, vía subcutánea con una dosis de 100 µg de propionato de testosterona (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo. USA) disuelto en 0.05 ml de aceite de maíz comercial, que fungió como vehículo (Vh). Todos los animales se mantuvieron con libre acceso a la madre hasta el día del destete (día 24), a partir de entonces tuvieron libre acceso al agua y alimento hasta el día de la autopsia.

### **SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO (SNO)**

A los animales que fueron inyectados con la solución de propionato de testosterona o vehículo se les practicó a los 24 días de edad, la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos nervios (SBNO). Para ello se anestesiaron a los animales con éter etílico y se procedió a limpiar el área de incisión con jabón quirúrgico, se rasuró la zona, y se realizó una incisión dorsal de piel y músculo de aproximadamente 1 cm, a través de la cual se extrajo el ovario unido al útero y se localizó el ligamento suspensorio por el cual corre el nervio ovárico superior, se realizó la sección y el ovario y útero se regresaron a la cavidad peritoneal, terminada la cirugía se suturó la herida.

### **OPERACIÓN SIMULADA (OS)**

Se procedió como en el caso anterior, los animales una vez anestesiados, se les practicó la incisión lateral de piel y músculo y sin tocar ningún órgano se procedió a suturar la herida.

### **GRUPOS DE COMPARACIÓN**

Como grupos de comparación se utilizaron los siguientes grupos experimentales:

- Animales sin ningún tratamiento farmacológico o quirúrgico y que no se les realizó ninguna cirugía (TA).
- Animales inyectados con el Vh y sin cirugía (Vh).

- Animales inyectados con Vh y laparotomizados uni o bilateral (Vh OS).
- Animales inyectados con Vh y seccionados del NOS uni o bilateralmente (Vh SNO)

### **MONITOREO DE LA APERTURA VAGINAL Y DEL CICLO ESTRAL**

En todos los grupos experimentales a partir de los 20 días de edad se revisó la vagina, en el momento en que se observó la canalización vaginal se inició la toma de frotis y se registró la edad de la apertura vaginal (EAV) y la edad del primer estro vaginal (EPEV). En los animales sacrificados en la etapa adulta (90 días de edad), se tomaron frotis vaginal diario durante los 15 días posteriores a la apertura vaginal (AV) y 15 días antes del sacrificio.

### **AUTOPSIA**

Al primer estro vaginal (PEV) o cuando los animales cumplieron 90 días de edad y presentaron un estro vaginal precedido por un proestro, se llevó a cabo el sacrificio por decapitación entre las 8:00 y 10:00 hrs. A la autopsia se extrajo el útero y los ovarios y se pesaron en la balanza analítica.

En los animales con sección uni o bilateral del nervio ovárico superior (NOS) se verificó que el ovario unido al útero se encontrara libre en la cavidad abdominal. Se disecaron los oviductos y se buscó la presencia de ovocitos, los cuales fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico, siguiendo la metodología habitual del laboratorio.

Se colectó la sangre del tronco, que se mantuvo a temperatura ambiente durante 30 min y se centrifugó a 3500 (RPM) durante 15 mín. Se separó el suero del botón celular, se depositó en tubos Eppendorf y se almacenaron a -20 °C hasta el momento en que se realizó la cuantificación de progesterona, 17 $\beta$ -estradiol, FSH y LH.

### **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES Y GONADOTROPINAS**

La concentración sérica de progesterona y estradiol se cuantificó por RIA de fase sólida, mediante reactivos comerciales Coat-A-Count (diagnostic products, los angeles, CA, USA), en tubos de polipropileno que contenían anticuerpo específico anti-progesterona- $I^{125}$ , y anti-estradiol-  $I^{125}$ , se adicionaron 100 $\mu$ l de la muestra problema además de 1000  $\mu$ l de hormona radioactiva  $I^{125}$ . La mezcla se agitó por un minuto y se incubó durante tres horas a temperatura ambiente, después se decantó y finalmente se midió la concentración de hormonas en función de una curva de calibración con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 50005, Packard <sup>TM</sup>.

La medición de FSH y LH se realizó por RIA de doble anticuerpo. Se procedió de la siguiente manera: a 100 µl de suero problema se le añadieron 100 µl de la hormona marcada con I<sup>125</sup>, posteriormente se le añadió el anticuerpo de suero de borrego para LH (rLH- RP2) o para FSH (rFSH-RP2) según fue el caso, después se incubó a temperatura ambiente por 24 hrs, después se agregaron 100 µl del segundo anticuerpo (suero normal de conejo) y se incubó durante dos horas, posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 RPM a -4°C por 30 minutos, el sobrenadante fue decantado, se secaron las paredes del tubo y se colocaron para ser analizados en un contador de centelleo gama modelo cobra 5005, Packard<sup>TM</sup>.

### **MORFOLOGÍA OVÁRICA**

Se extrajeron los ovarios de los animales y se colocaron en un tubo de ensayo con solución fijadora de Bouin, al día siguiente se colocaron en alcohol al 70%, y se conservaron de esta forma hasta su posterior inclusión. Para ello se realizó una serie de cambios para deshidratar el tejido ovárico, utilizando alcohol al 96% y cloroformo. Después de estos cambios se realizó la inclusión en parafina durante tres horas, posteriormente se realizaron los cortes de 10 µm de grosor y fueron teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina. En los cortes histológicos se revisó la presencia de cuerpos lúteos, para verificar si se produjo la ovulación, aún cuando no se hayan visto ovocitos en el oviducto. Se observó si los ovarios presentaron quistes foliculares como indicadores del desarrollo del síndrome del ovario poliquístico. Se consideraron como quistes foliculares aquellos folículos que presentaron una cavidad antral amplia, disminución de las capas de las células de la granulosa, hiperplasia tecal y ausencia del ovocito (Brawer y col., 1986 Lara y col., 2000; Rosas 2006).

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El resultado del registro de los pesos de los órganos y las concentraciones hormonales fue analizado por una prueba de ANDEVA (análisis de varianza multifactorial) seguida de una prueba de Tukey. Cuando se realizó la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba de “t” de Student. La edad de apertura vaginal y el número de ovocitos liberados se analizó con la prueba de Kruskal – Wallis seguida por una prueba de U de Mann Whitney. La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan entre el número total de animales por 100) se analizó con una prueba de Fisher o de Ji<sup>2</sup>. Se consideró estadísticamente significativas las diferencias cuya probabilidad sea igual o menor a 0.05.



## DISEÑO EXPERIMENTAL

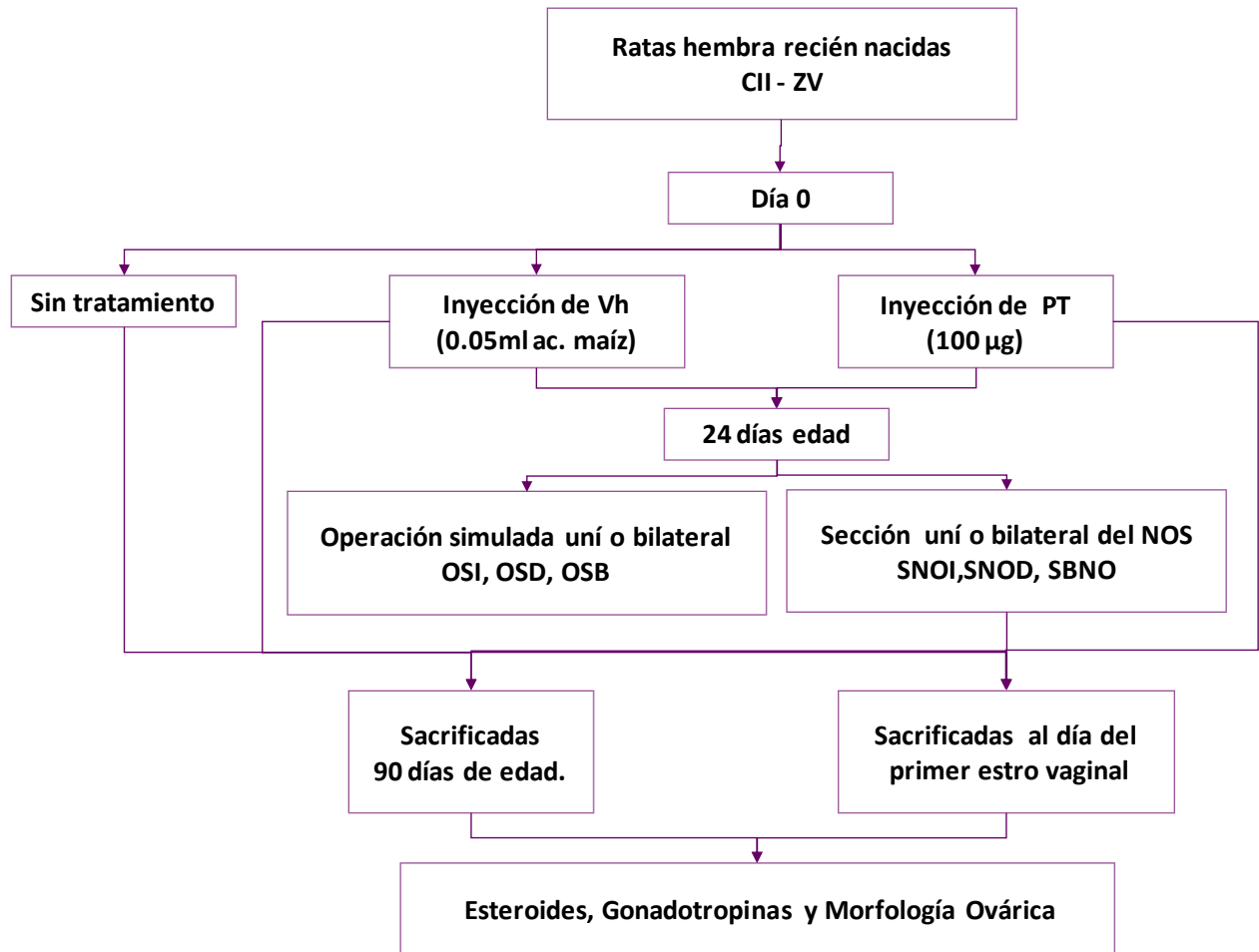


Figura 10. Cuadro del diseño experimental realizado.

## PRIMER ESTRO VAGINAL

### EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL PÚBER

#### INICIO DE LA PUBERTAD

Las hembras inyectadas con Vh o con PT al nacimiento y sacrificadas 1 primer estro vaginal (PEV), mostraron un retraso significativo en la edad de apertura vaginal (EAV), y en la edad del primer estro vaginal (EPV), comparado con el grupo de hembras intactas (Figura 11).

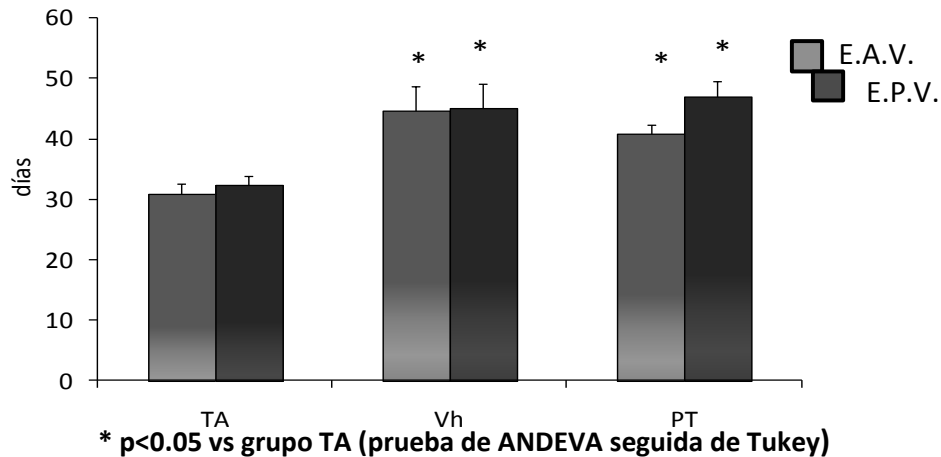


Figura 11. Media  $\pm$  e.e.m. de la edad de apertura vaginal (EAV) y de la edad del primer estro vaginal (EPV) de hembras testigo (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

#### OVULACIÓN

El 100% de los animales intactos ovuló al primer estro vaginal. La administración del Vh no modificó esta respuesta, mientras que en las hembras inyectadas con PT se bloqueó la ovulación (Figura 12).

Los animales testigo absoluto y los tratados con vehículo, presentaron una mayor cuota ovulatoria por parte de su ovario derecho; en las hembras tratadas con el vehículo el número de ovocitos liberados por ambos ovarios fue mayor al presentado por las hembras del grupo sin tratamiento (Figura 13).

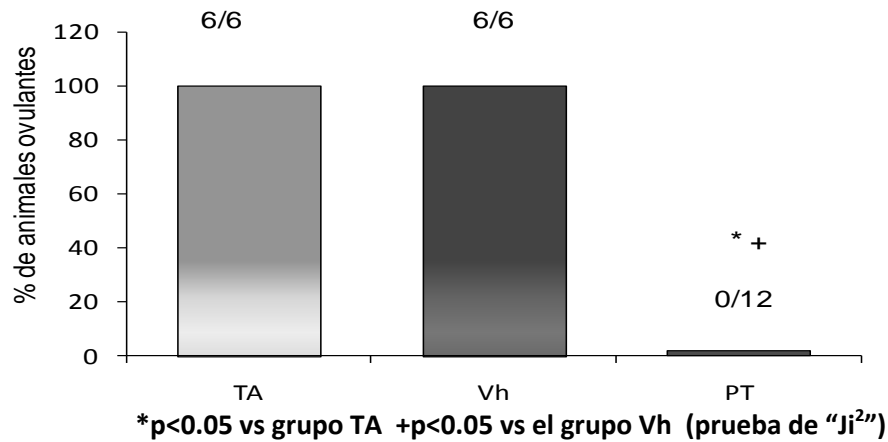


Figura 12. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

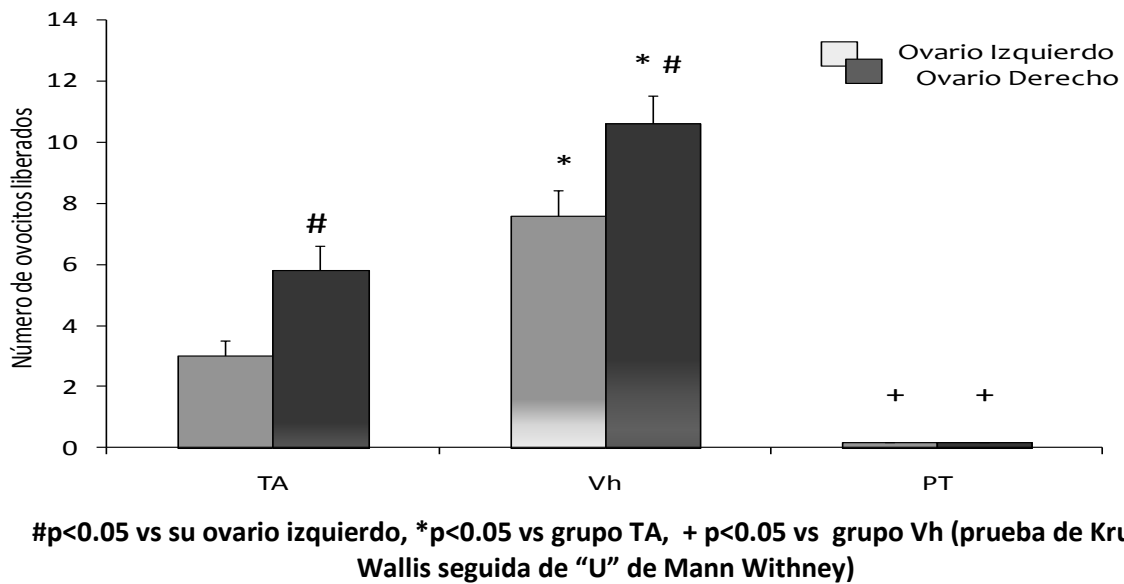


Figura 13. Media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

Las hembras inyectadas con el Vh o con PT, presentaron un aumento significativo en la concentración de  $P_4$ , respecto al grupo control (Figura 14).

En las hembras con PT la concentración de estradiol fue semejante al grupo con Vh al primer estro vaginal (Figura 15).

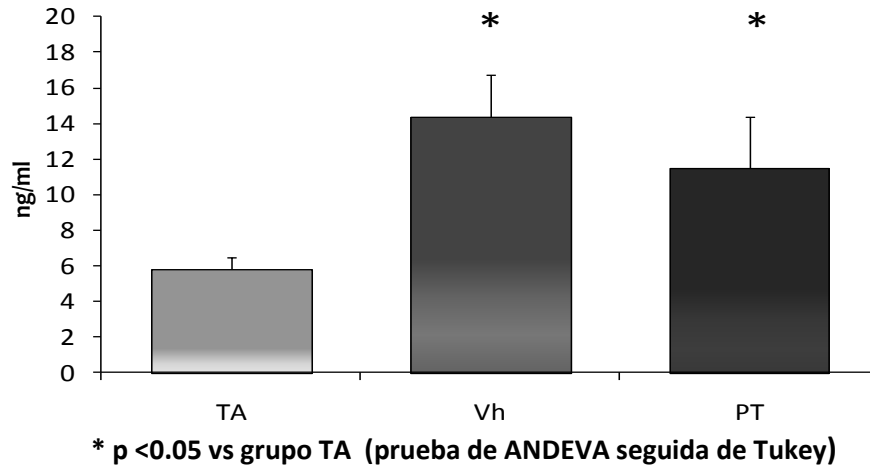


Figura 14. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

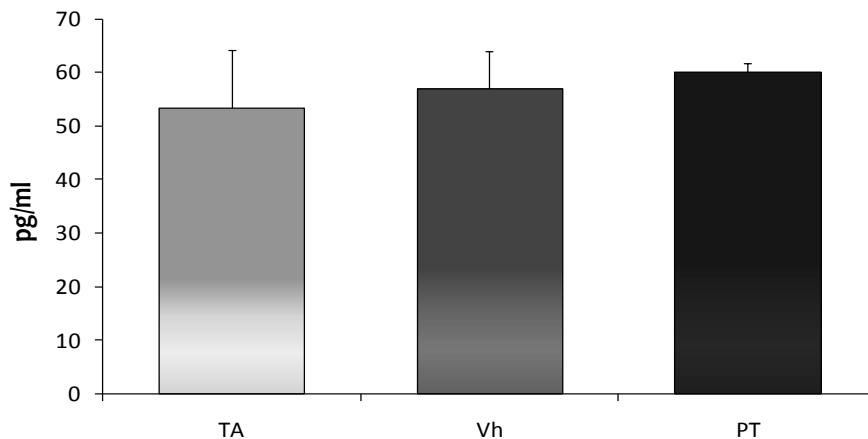


Figura 15. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de estradiol en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

La administración del vehículo al nacimiento no modificó la concentración de LH ni de FSH al primer estro vaginal. El grupo de animales que recibieron PT, presentaron una menor concentración de FSH, respecto a la de los grupos testigo (Tabla 1).

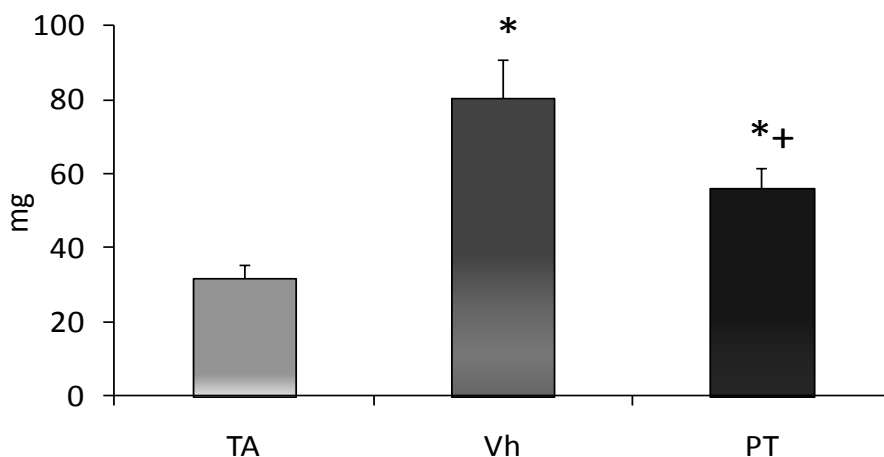
Tabla 1. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de la hormona luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

	LH ng/ml	FSH ng/ml
TA	0.10 $\pm$ 0.03	3.68 $\pm$ 0.69
Vh	0.11 $\pm$ 0.07	11.38 $\pm$ 2.66*
PT	0.06 $\pm$ 0.02	0.06 $\pm$ 0.02*+

\*p<0.05 vs grupo TA, +p<0.05 vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

Las hembras inyectadas con el vehículo o el andrógeno presentaron un aumento significativo en el peso de ambos ovarios y del útero en comparación con el TA (Figura 16Y 17).



\* p < 0.05 vs grupo TA, + p < 0.05 vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 16. Media  $\pm$  e.e.m. del peso absoluto de la masa ovárica en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

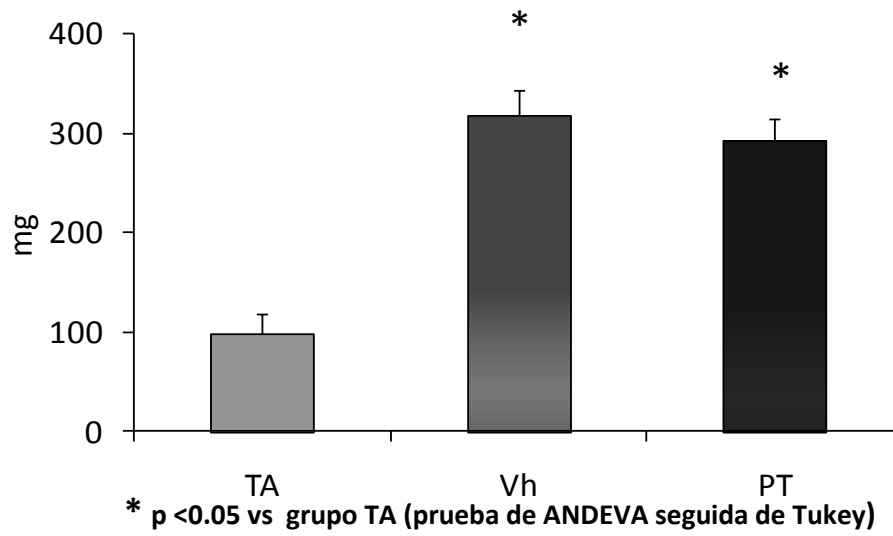


Figura 17. Media  $\pm$  e.e.m. del peso absoluto del útero en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA UNI O BILATERAL SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL PÚBER

### INICIO DE LA PUBERTAD

Los animales inyectados al nacimiento con PT que fueron sometidos a la laparotomía izquierda o bilateral, realizada a los 24 días de edad, presentaron un retraso significativo en la EAV, con respecto al de las hembras del grupo con Vh más la misma laparotomía; y sólo las hembras con PT más la laparotomía izquierda presentaron retraso de la edad del PEV (Tabla 2).

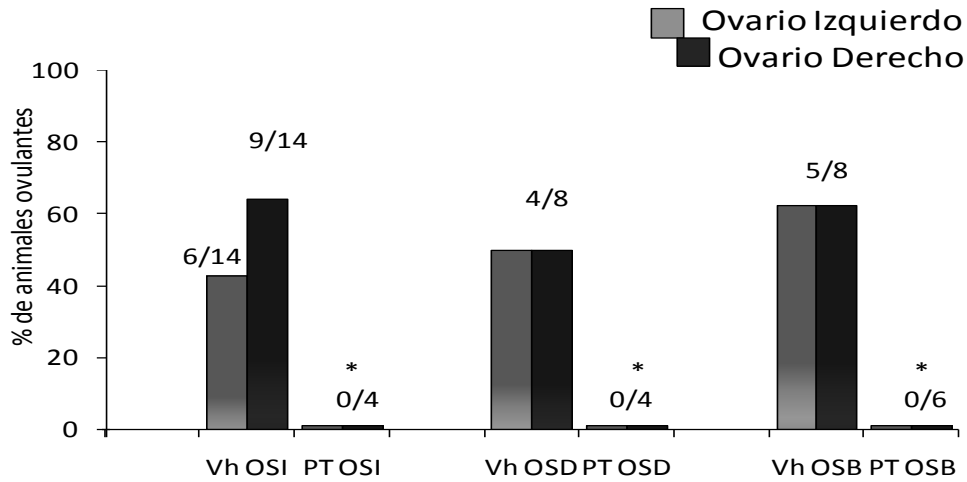
Tabla 2. Media  $\pm$  e.e.m. de la edad de apertura vaginal( EAV ) y del primer estro vaginal (EPEV) de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.

	EAV	EPEV
<b>Vh OSI</b>	38.90 $\pm$ 0.70	42.10 $\pm$ 1.10
<b>PT OSI</b>	58.25 $\pm$ 7.40*	68.25 $\pm$ 6.10*
<b>Vh OSD</b>	37.25 $\pm$ 0.90	39.37 $\pm$ 1.50
<b>PT OSD</b>	42.25 $\pm$ 2.10	42.25 $\pm$ 2.10
<b>Vh OSB</b>	38.5 $\pm$ 1.00	44.75 $\pm$ 1.80
<b>PT OSB</b>	54.16 $\pm$ 7.30*	54.16 $\pm$ 7.30

\*  $p < 0.05$  vs su grupo Vh más laparotomía (prueba de ANDEVA seguida de Tukey).

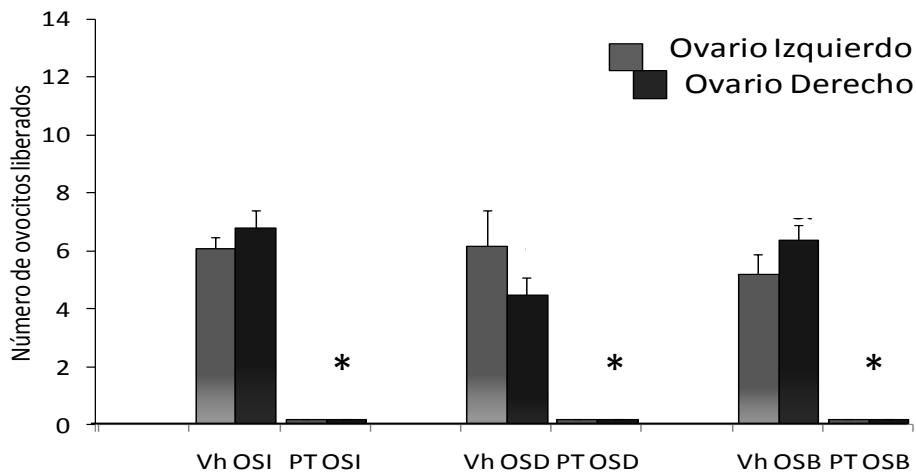
### OVULACIÓN

La operación simulada uni o bilateral de aquellos animales inyectados con PT al nacimiento, resultó en el bloqueo de la ovulación (Figura18). En la hembra con Vh, la laparotomía uni o bilateral no modificó la cuota ovulatoria por el ovario izquierdo y derecho (Figura 19).



\* $p < 0.05$  vs grupo Vh más laparotomía (prueba de "Fisher")

Figura 18. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a la operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.



\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh más laparotomía (prueba de Kruskal Wallis, seguida de U de Mann-Whitney)

Figura 19. Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.

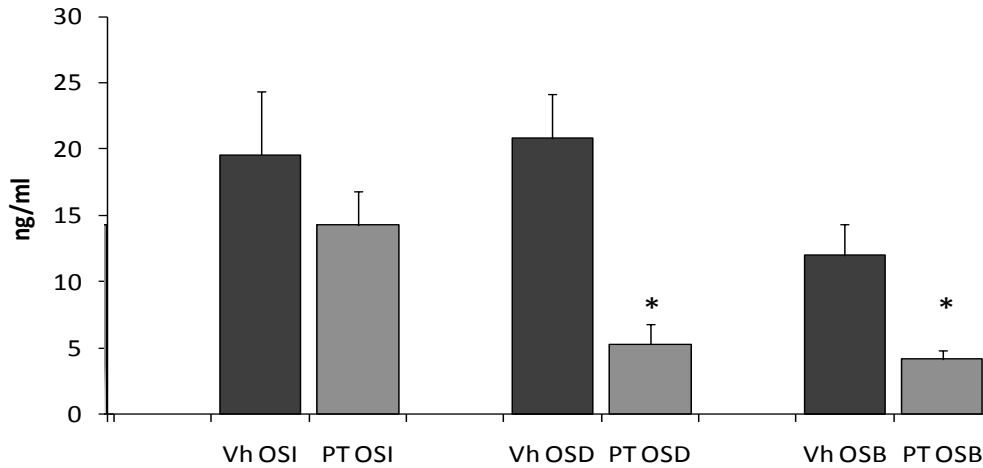
## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

Las hembras androgenizadas y laparotomizadas del lado derecho o bilateralmente, presentaron una menor concentración de  $P_4$  con respecto a su



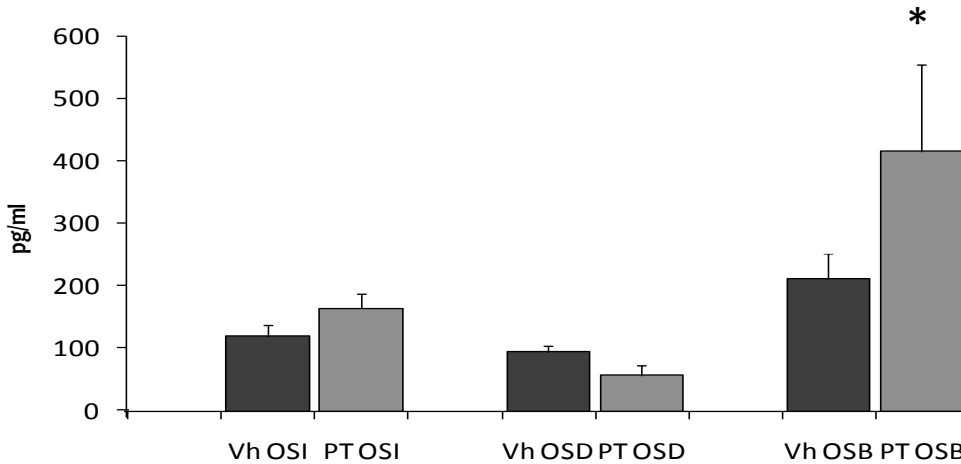
grupo con Vh, que no llegó a ser significativa con la laparotomía izquierda (Figura20).

En el grupo con Pt y sometido a la laparotomía bilateral se observó una mayor concentración de estradiol al primer estro vaginal (Figura21).



\*  $p < 0.05$  vs su grupo con Vh más laparotomía (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 20. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.



\*  $p < 0.05$  vs el grupo Vh más laparotomía (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 21. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de estradiol de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

La laparotomía en los animales inyectados con el PT no modificó la concentración de LH. La androgenización al nacimiento seguida de la laparotomía izquierda resultó en la disminución de la concentración de FSH, mientras que con la laparotomía derecha aumentó (Tabla 3).

Tabla 3 Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de la hormona luteinizante (LH) y de la foliculo estimulante (FSH) de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB) y sacrificadas al primer estro vaginal.

	LH ng/ml	FSH ng/ml
<b>Vh OSI</b>	0.29 $\pm$ 0.06	12.66 $\pm$ 3.28
<b>PT OSI</b>	0.05 $\pm$ 0.01	2.64 $\pm$ 0.27*
<b>Vh OSD</b>	0.26 $\pm$ 0.10	1.99 $\pm$ 0.70
<b>PT OSD</b>	0.04 $\pm$ 0.01	5.52 $\pm$ 1.43*
<b>Vh OSB</b>	0.18 $\pm$ 0.11	2.93 $\pm$ 0.45
<b>PT OSB</b>	0.11 $\pm$ 0.03	3.78 $\pm$ 0.68

\* $p < 0.05$  vs su grupo Vh más laparotomía (prueba de ANDEVA seguida por Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

Respecto a los grupos con vehículo más la laparotomía, la androgenización al nacimiento no modificó el peso de los ovarios (Figura22).

Los animales que fueron inyectados con PT y laparotomizados de lado izquierdo o de ambos lados, presentaron un aumento en el peso del útero con respecto a su grupo con vehículo (Figura23).

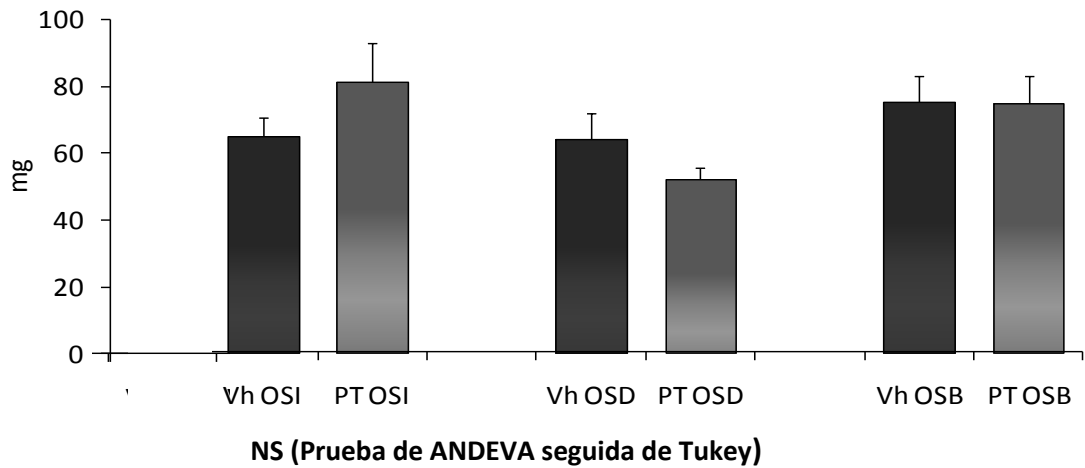


Figura 22. Media  $\pm$  e.e.m. de la masa ovárica de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB ) y sacrificadas a los 90 días de edad.

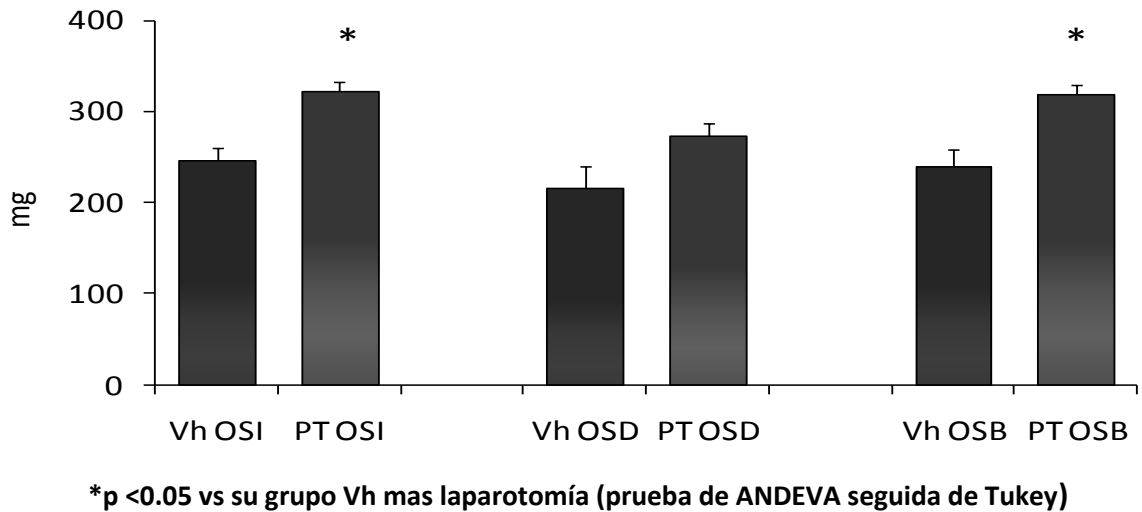


Figura 23. Media  $\pm$  e.e.m. del peso absoluto del útero de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada izquierda (OSI), derecha (OSD), o bilateral (OSB ) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNI O BILATERAL DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN EL ANIMAL PÚBER

### INICIO DE LA PUBERTAD

Las hembras inyectadas con PT y sometidas a la sección unilateral del NOS, presentaron un retraso estadísticamente significativo en la EAV, respecto al grupo con Vh, y sólo aquellas con la sección izquierda del NOS presentaron un retraso en la edad del primer estro vaginal (Tabla 4).

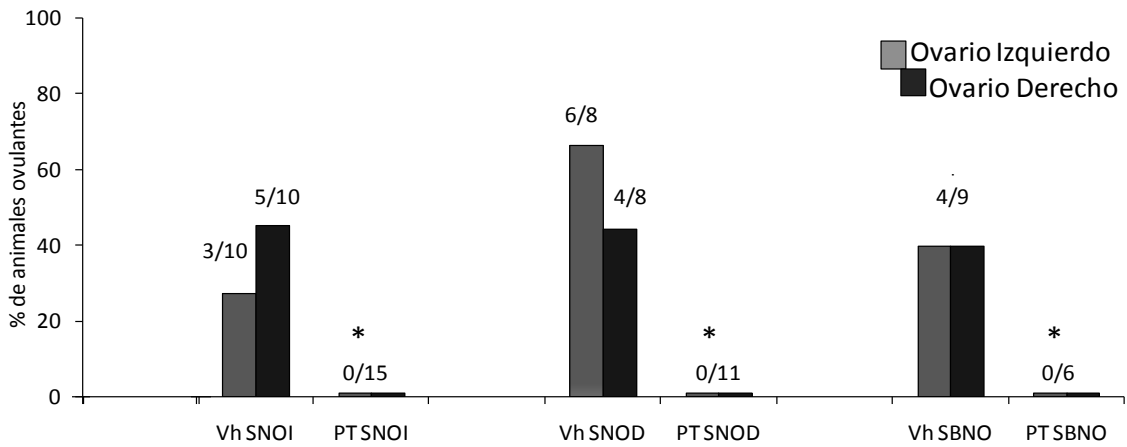
Tabla 4. Media  $\pm$  e.e.m. de las edades de apertura vaginal y del primer estro vaginal de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.

	EAV	EPEV
<b>Vh SNOI</b>	37.30 $\pm$ 0.70	41.50 $\pm$ 1.33
<b>PT SNOI</b>	58.50 $\pm$ 3.30*	58.60 $\pm$ 3.34*
<b>Vh SNOD</b>	37.87 $\pm$ 0.70	43.87 $\pm$ 2.80
<b>PT SNOD</b>	45.40 $\pm$ 2.15*	47.50 $\pm$ 2.09
<b>Vh SBNO</b>	42.00 $\pm$ 0.83	48.3 $\pm$ 1.82
<b>PT SBNO</b>	39.14 $\pm$ 1.14	39.14 $\pm$ 1.14

\*  $p < 0.05$  vs el grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

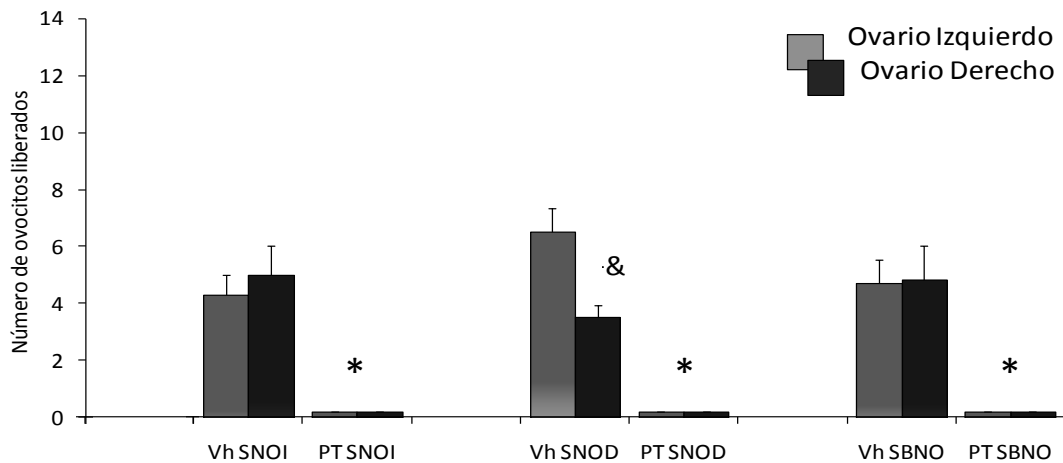
### OVULACIÓN

Las hembras tratadas con el andrógeno más la sección uni o bilateral del NOS, presentaron un bloqueo total de la ovulación (Figura 24 y 25).



**\*p<0.05 vs el grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de "Fisher")**

Figura 24. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.



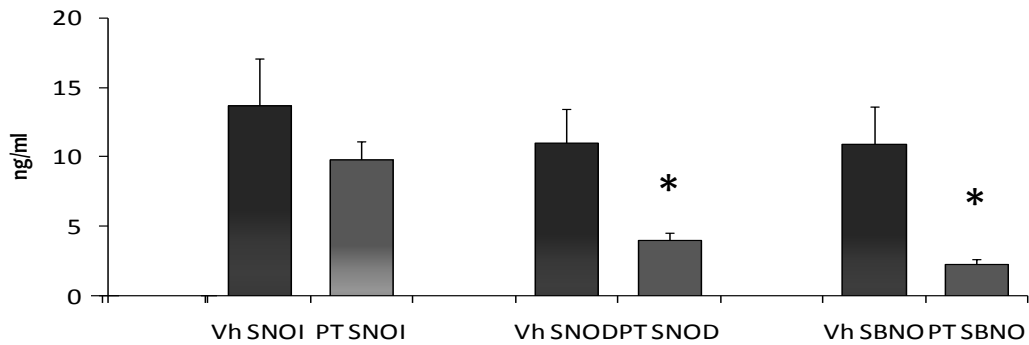
**\*p<0.05 vs el grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS; & p<0.05 vs su grupo contra lateral (prueba de Kruskal Wallis, seguida de U de Mann-Whitney)**

Figura 25. Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

En los animales con PT mas la sección derecha o bilateral del NOS, la concentración de  $P_4$  disminuyó significativamente, en comparación con su grupo con Vh (Figura 26).

Las concentraciones de estradiol, en ratas androgenizadas, no presentaron modificaciones, cuando se realizó la sección uni o bilateral del NOS (Figura 27).



\* $p < 0.05$  vs Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 26. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.

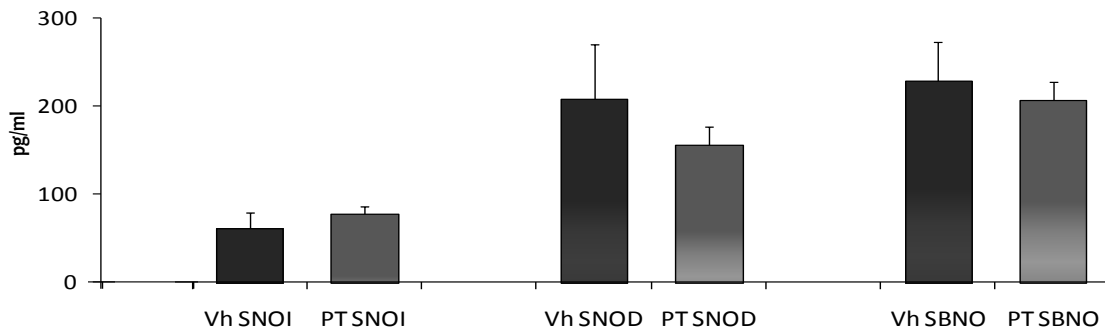


Figura 27. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de estradiol en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

En hembras inyectadas con PT más la sección izquierda del NOS, la concentración de LH fue mayor en comparación con su grupo con Vh (Tabla 5).

Las hembras androgenizadas y sometidas a la sección derecha o bilateral del NOS presentaron una menor concentración de FSH en comparación con el grupo con Vh (Tabla 5).

Tabla 5. Media  $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de hormona luteinizante (LH) y de hormona folículo estimulante (FSH) en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.

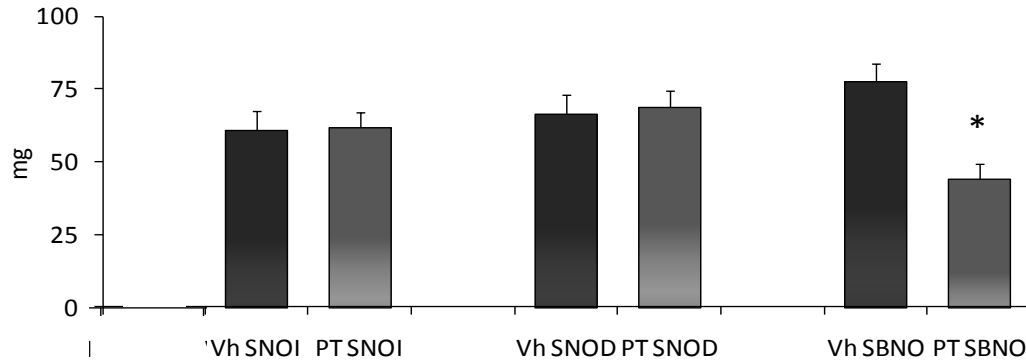
	LH ng/ml	FSH ng/ml
Vh SNOI	0.11 $\pm$ 0.03	3.45 $\pm$ 0.51
PT SNOI	0.33 $\pm$ 0.09 *	3.25 $\pm$ 0.99
Vh SNOD	0.08 $\pm$ 0.03	5.96 $\pm$ 1.71
PT SNOD	0.13 $\pm$ 0.03	3.0 $\pm$ 0.54*
Vh SBNO	0.05 $\pm$ 0.01	11.52 $\pm$ 2.14
PT SBNO	0.15 $\pm$ 0.04	2.77 $\pm$ 0.27 *

\*  $p < 0.05$  vs el grupo Vh más la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

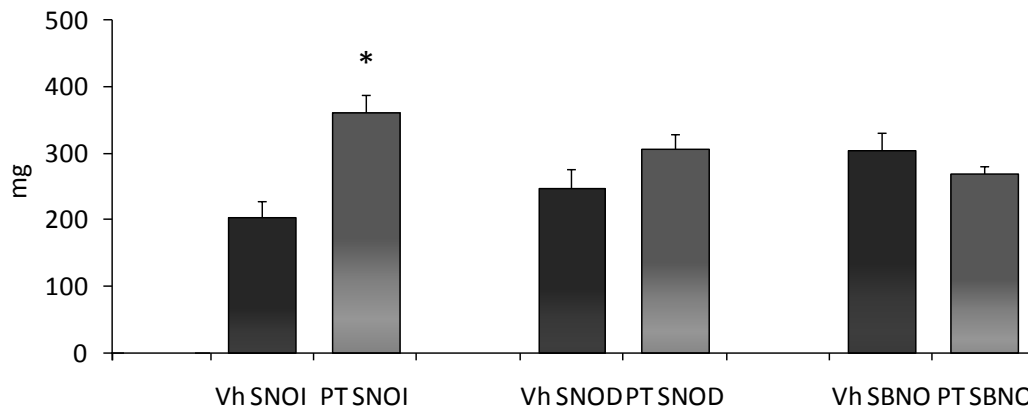
En los animales inyectados con PT más la sección bilateral del NOS, se observó disminución en el peso de ambos ovarios, comparado con aquellos animales con Vh (Figura 28).

Los animales tratados con PT más la sección izquierda del NOS, presentaron un incremento en el peso del útero en comparación con los animales con Vh (Figura 29).



**+  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)**

Figura 28. Media  $\pm$ e.e.m. de la masa ovárica de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal



**\* $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección unilateral izquierda del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)**

Figura 29. Media  $\pm$ e.e.m. del peso del útero hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas al primer estro vaginal.



## 90 DÍAS DE EDAD

### EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PROPIONATO DE TESTOSTERONA AL NACIMIENTO SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL ADULTO

#### CICLICIDAD ESTRAL

Se inició la toma de frotis vaginales al presentar la apertura vaginal y se continuó por un período aproximado de 15 días, después del cual se suspendió y se reinició 15 días antes de que los animales cumplieran los 90 días de edad. Los grupos inyectados con Vh no modificaron el patrón de ciclicidad estral, comparado con los animales TA. Las hembras inyectadas con PT presentaron aciclicidad estral, reflejada por la persistencia del estro vaginal (Figura 30).

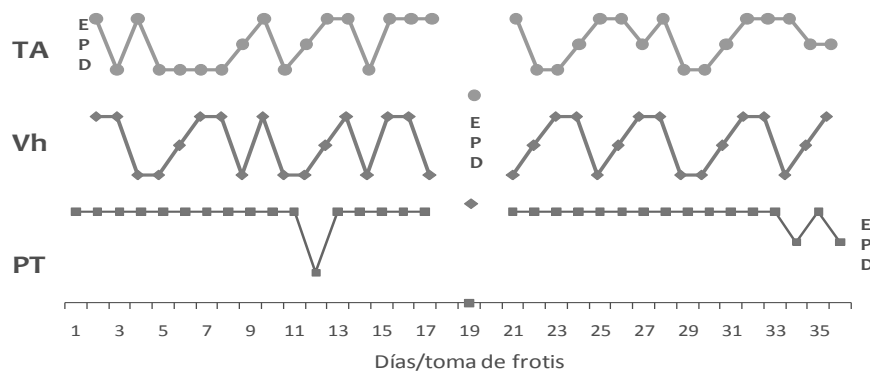


Figura 30. Monitoreo de la ciclicidad vaginal de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.

#### OVULACIÓN

El 70% de los animales inyectados al nacimiento con el Vh ovularon en la etapa adulta, similar a lo observado en los animales TA. Mientras que la administración de PT bloqueó la ovulación en el 100% de los animales (Figura 31).

En los animales testigo absoluto el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y derecho fue semejante, mientras que en las hembras inyectadas con el Vh el ovario izquierdo liberó un número menor de ovocitos respecto al grupo TA; esta diferencia no se observó en el ovario derecho. En los

animales con Vh se aprecia que el ovario derecho liberó un número mayor de ovocitos que el izquierdo (Figura32).

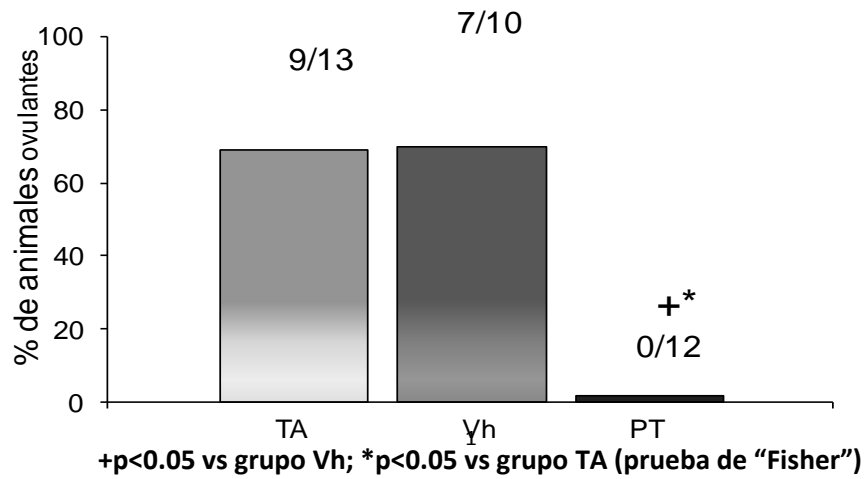


Figura 31. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona y sacrificadas a los 90 días de edad.

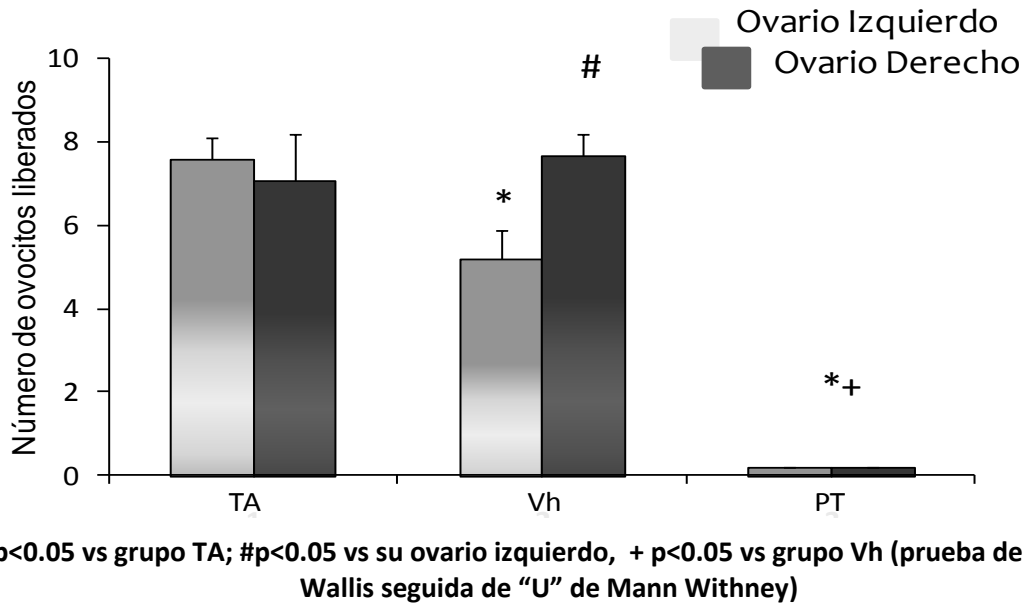
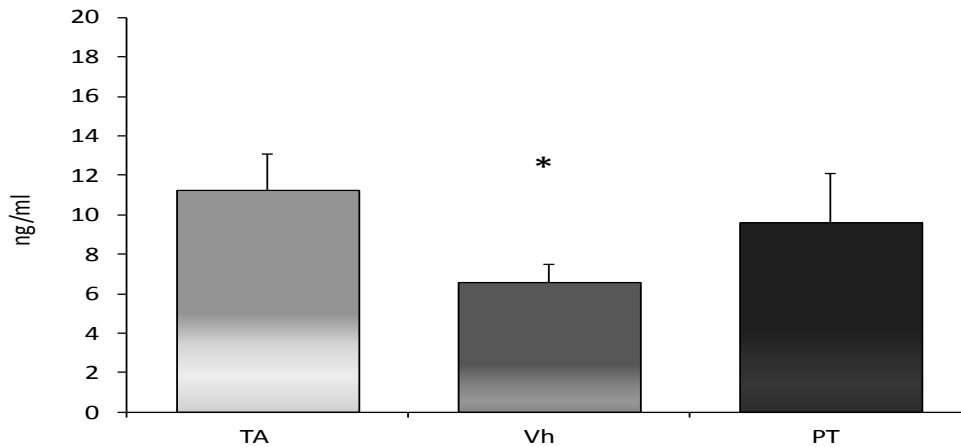


Figura 32. Media ± e.e.m del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

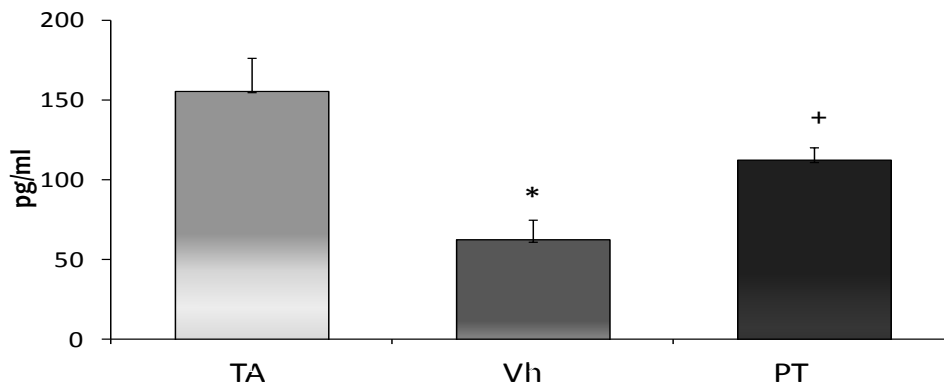
La administración de Vh al nacimiento resultó en una disminución de  $P_4$  en los animales sacrificados en la etapa adulta, comparado con los animales TA, en tanto en el grupo inyectado con el PT la disminución no llegó a ser estadísticamente significativa (Figura 33).

En las hembras inyectadas con el Vh se observó disminución en la concentración de  $E_2$ . En las ratas inyectadas con el PT la concentración de  $E_2$  fue mayor en comparación con el grupo Vh (Figura 34).



\*  $p < 0.05$  vs grupo TA (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 33. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs grupo TA; +  $p < 0.05$  vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 34. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de estradiol en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

La inyección del vehículo no modificó la concentración de LH, en comparación con los animales testigo, a diferencia del grupo tratado con el PT, donde se incrementan las concentraciones de LH, y disminuyen las de FSH (Tabla 6).

Tabla 6. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo estimulante (FSH) de hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.

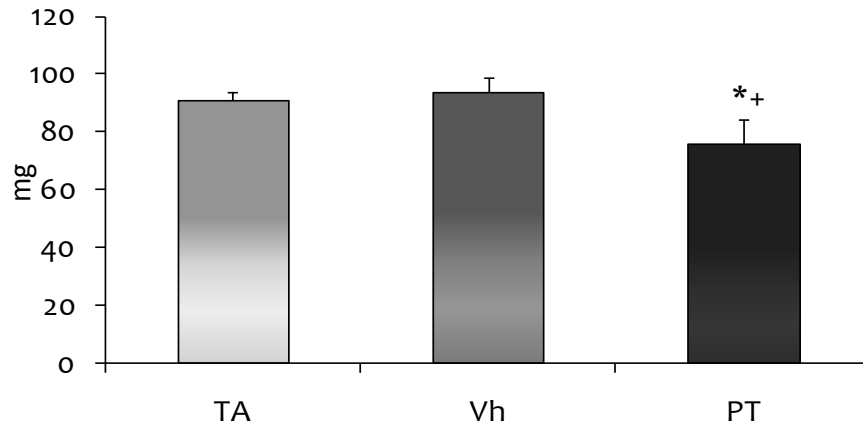
	LH ng/ml	FSH ng/ml
TA	0.37 $\pm$ 0.08	11.90 $\pm$ 0.70
Vh	0.71 $\pm$ 0.18	9.44 $\pm$ 3.20
PT	0.89 $\pm$ 0.34*	2.29 $\pm$ 0.38*+

\* $p < 0.05$  vs grupo TA; + $p < 0.05$  vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

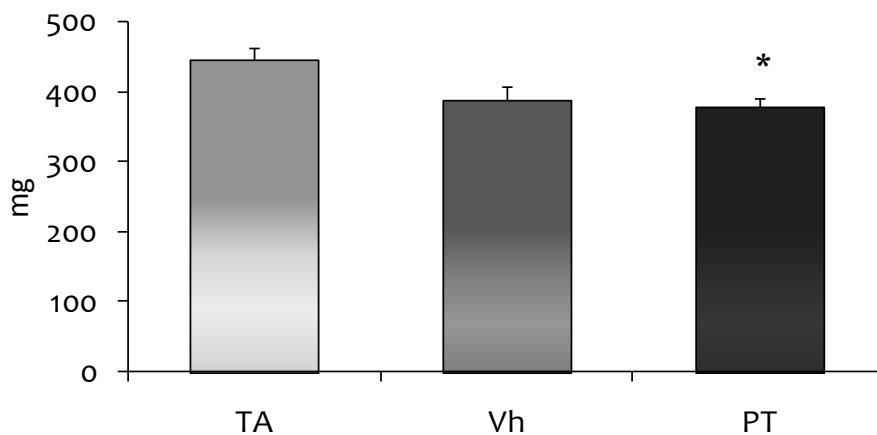
El peso absoluto de la masa ovárica de las hembras inyectadas con PT fue menor en comparación con las hembras que no fueron inyectadas (Figura 35). Este comportamiento también se observó cuando los resultados se expresan como pesos relativos (30.8 $\pm$ 3.5 vs. 37.3 $\pm$ 1.2,  $p < 0.05$ )

El peso absoluto (Figura 36) y el peso relativo del útero de las hebras androgenizadas fue menor (154.5 $\pm$  8.8 vs. 183.5 $\pm$  7.1,  $p < 0.05$ ) en comparación con su grupo con Vh y al grupo testigo absoluto.



\*  $p < 0.05$  vs grupo TA +  $p < 0.05$  vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 35. Media  $\pm$  e.e.m. de la masa ovárica en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs el grupo TA (Prueba de ANDEVA seguida por una prueba de Tukey)

Figura 36. Media  $\pm$  e.e.m. del peso uterino en hembras testigo absoluto (TA), inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sacrificadas a los 90 días de edad.

### MORFOLOGÍA OVÁRICA Y EL DESARROLLO FOLICULAR.

Los cortes histológicos de aquellas hembras que no fueron inyectadas, presentaron todas las estructuras típicas de un ovario sano con folículos en todas las etapas de desarrollo y cuerpos lúteos (Figura 37). Los cortes histológicos de los animales inyectados con aceite de maíz al nacimiento no presentaron alteración alguna en el desarrollo folicular o en la morfología ovárica, se muestran todas las estructuras típicas de un ovario sano y señales de ovulación, representadas por los cuerpos lúteos (Figura 37). Los cortes

histológicos de los animales inyectados con PT, muestran el desarrollo de quistes foliculares, disminución en la reserva folicular y abundancia de folículos tipo tres o prequistes, no se observan cuerpos lúteos y se ve una disminución en el tamaño total de los ovarios (Figura37).

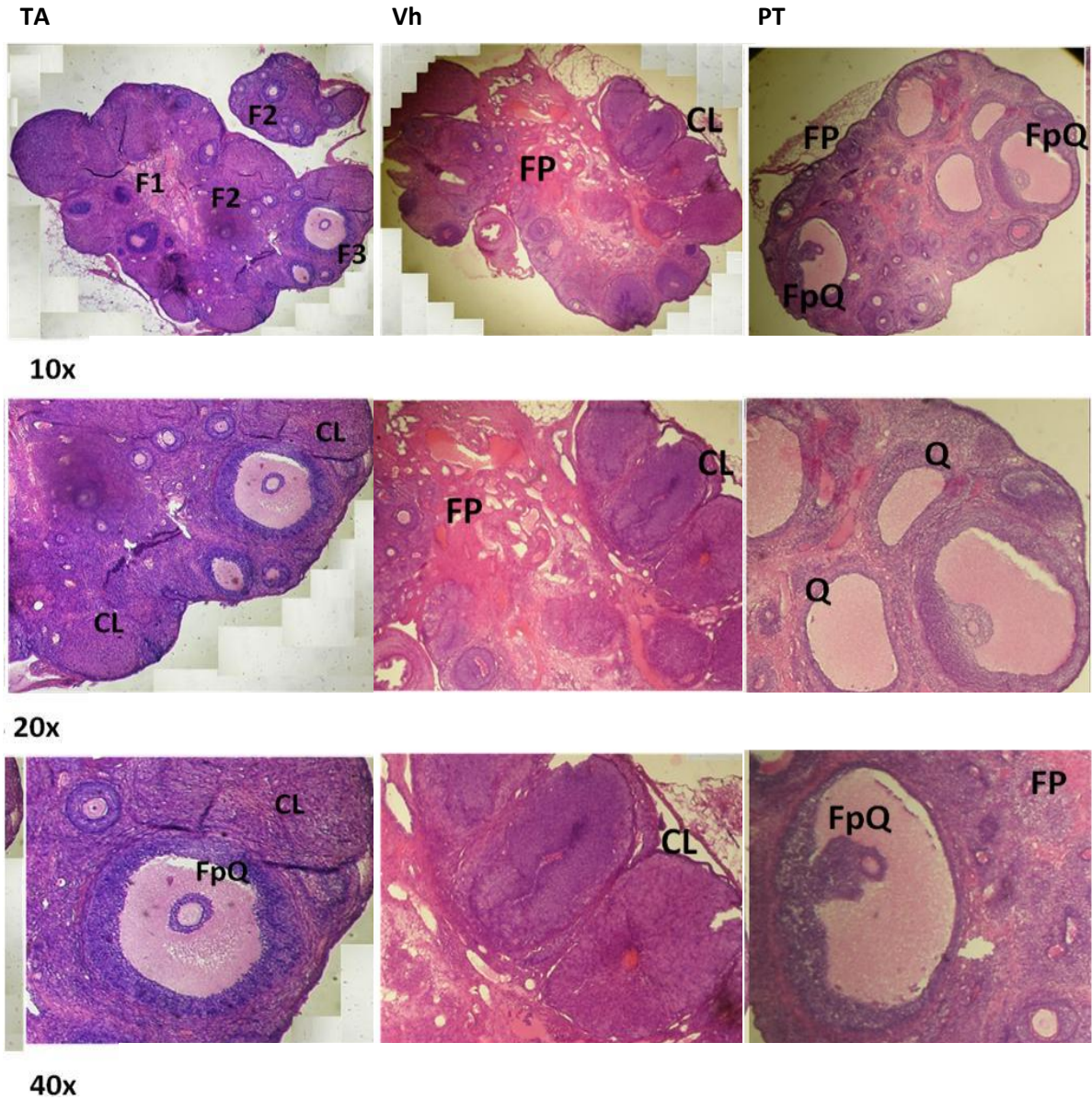


Figura 37. Microfotografía de ovario de rata sin tratamiento (TA), inyectada con aceite de maíz (Vh) o con propionato de testosterona al nacimiento (PT), evaluada en la etapa adulta a los 90 días; Donde: F1 es Folículo Primario, F2 es Folículo Secundario, F3 es Folículo Terciario, FP son Folículos Primordiales, CL Cuerpo Lúteo, FpQ es Folículo Prequístico y Q es Quiste Folicular.

## EFFECTOS DE LA LAPAROTOMÍA UNI O BILATERAL SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL ADULTO

### CICLICIDAD ESTRAL

En las hembras tratadas con el vehículo el ciclo estral no se modificó en respuesta a la operación simulada, mientras que en las hembras androgenizadas presentaron periodos prolongados de estro (Figura 38).

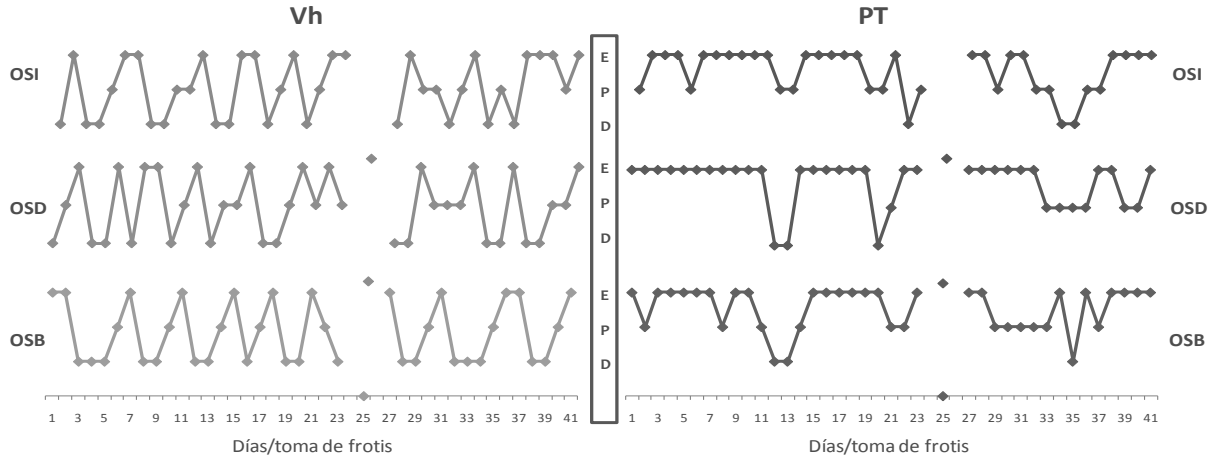
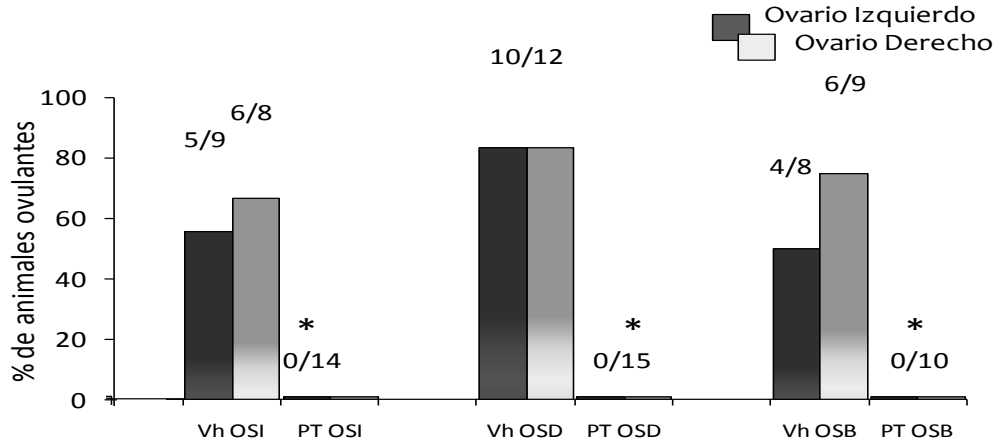


Figura 38. Monitoreo de la ciclicidad vaginal de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.

### OVULACIÓN

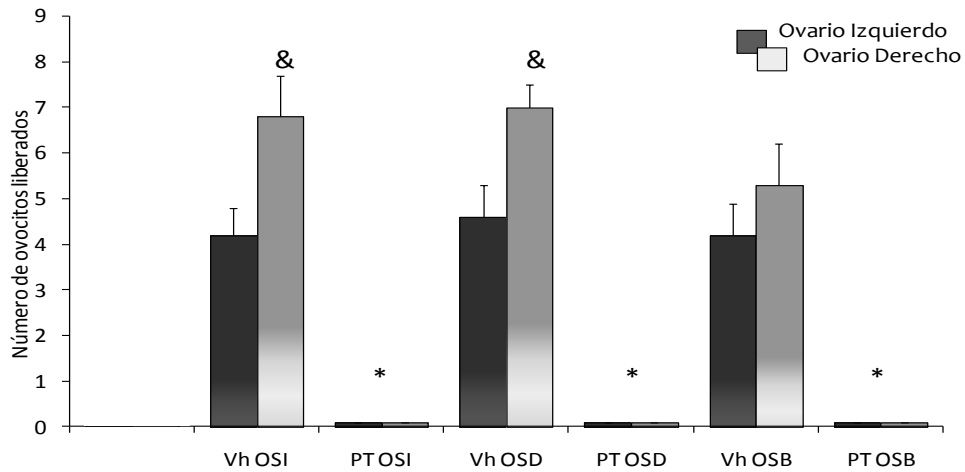
En el 100% de los animales tratados con el andrógeno y la operación simulada se bloqueó la ovulación (Figura 39).

Cuando se analiza la respuesta del ovario derecho y la del izquierdo en las hembras con laparotomía unilateral se observa una mayor respuesta ovulatoria por parte del ovario derecho; En el grupo androgenizado y con operación simulada se bloqueó la ovulación (Figura 40).



\* $p < 0.05$  vs grupo Vh mas laparotomía uni o bilateral (prueba de "Fisher")

Figura 39. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.



&  $p < 0.05$  vs su ovario izquierdo, \*  $p < 0.05$  vs el grupo con Vh (prueba de Kruskal Wallis, seguida U de Mann-Whitney)

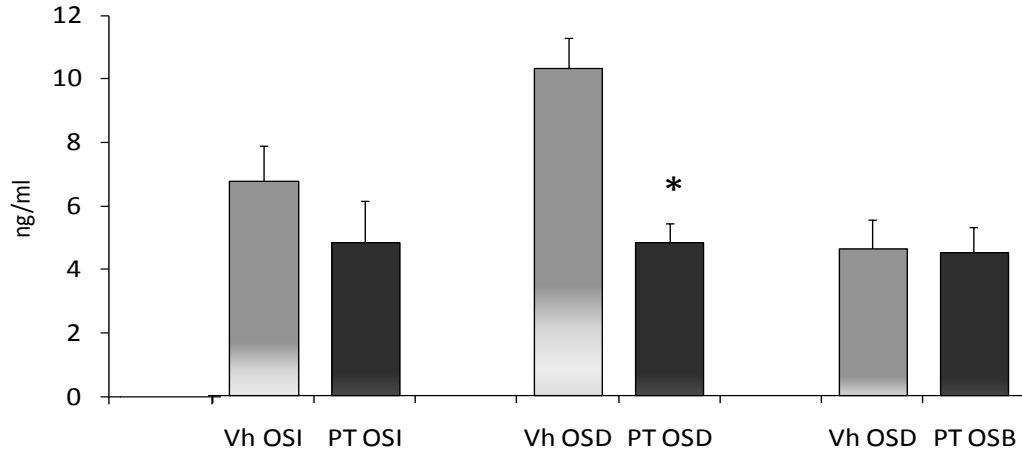
Figura 40. Media  $\pm$  e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

Con la operación simulada derecha en las hembras androgenizadas disminuyó la concentración de  $P_4$  respecto al grupo con Vh (Figura 41).

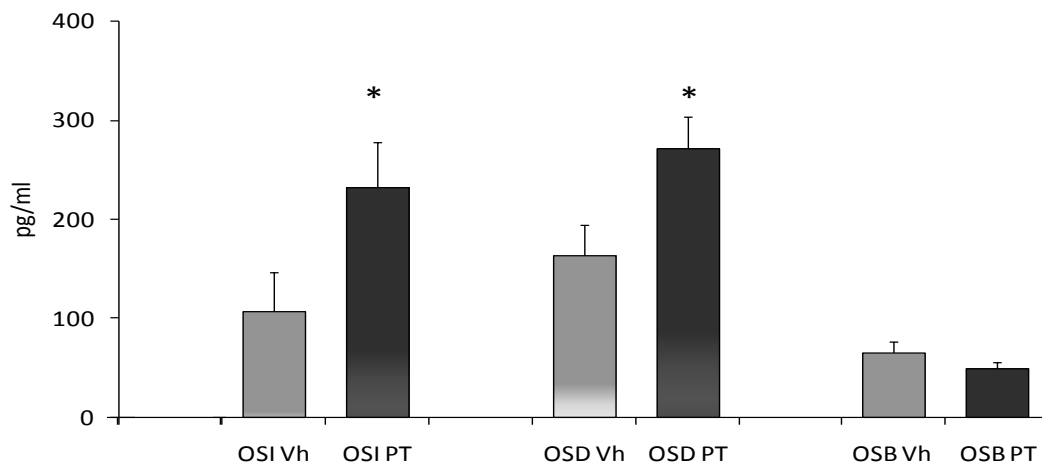


La concentración de E<sub>2</sub> en las hembras androgenizadas y sometidas a laparotomía unilateral, presentó un aumento con respecto a su grupo con Vh; en el caso de la operación bilateral no se observó dicho efecto (Figura 42).



\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la laparotomía derecha (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 41. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de progesterona de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.



\*  $p < 0.05$  vs Vh mas la laparotomía unilateral (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey).

Figura 42. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de estradiol de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

La concentración de LH en hembras tratadas con PT, fue más alta en el grupo con operación simulada derecha, con respecto a su grupo con vehículo (Tabla 7).

Las hembras androgenizadas al nacimiento y sometidas a la operación simulada unilateral presentaron una menor concentración de FSH, respecto a su grupo con Vh (Tabla 7).

Tabla 7. Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración sérica de la hormona luteinizante (LH) y de la hormona folículo estimulante (FSH) de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.

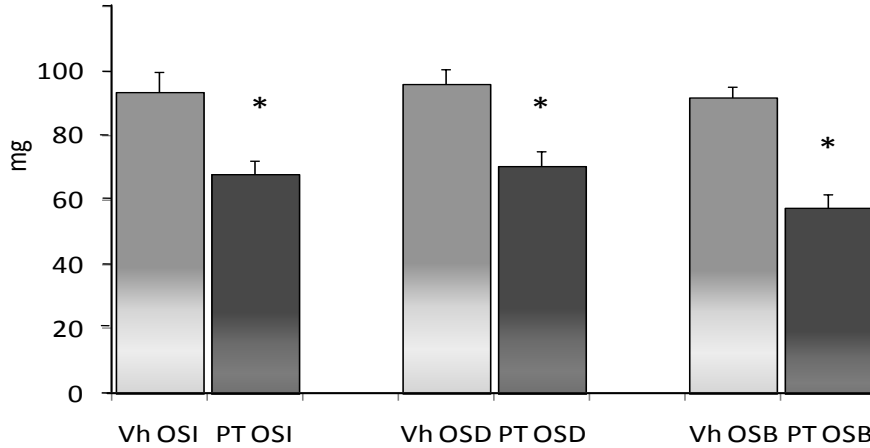
	LH ng/ml	FSH ng/ml
<b>Vh OSI</b>	0.33 $\pm$ 0.12	10.62 $\pm$ 1.15
<b>PT OSI</b>	0.48 $\pm$ 0.07	3.30 $\pm$ 0.61*
<b>Vh OSD</b>	0.14 $\pm$ 0.03	9.94 $\pm$ 1.80
<b>PT OSD</b>	0.44 $\pm$ 0.13*	3.10 $\pm$ 0.37*
<b>Vh OSB</b>	0.19 $\pm$ 0.05	3.47 $\pm$ 1.67
<b>PT OSB</b>	0.11 $\pm$ 0.05	1.90 $\pm$ 0.32

\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la laparotomía unilateral (Prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

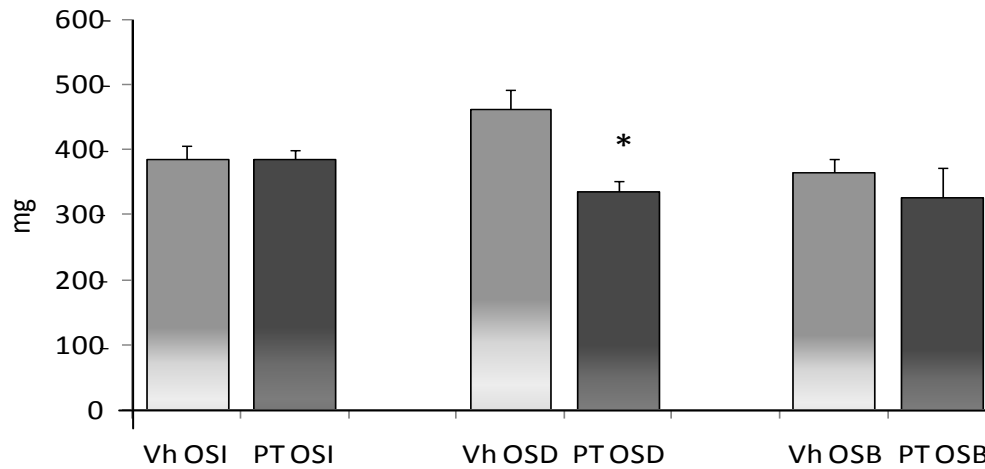
El peso de ambos ovarios presentó una disminución significativa en los grupos que fueron inyectados con PT y sometidos a la operación simulada uni o bilateral, comparados contra su grupo con Vh y sometidos a la misma laparotomía (Figura 43).

El peso del útero no se modificó en las hembras androgenizadas y con laparotomía uni o bilateral, excepto en el caso de los animales con operación simulada derecha, los cuales presentan disminución estadísticamente significativa comparada con su grupo con vehículo (Figura 44).



\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas laparotomía uni o bilateral (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 43. Media  $\pm$  e.e.m. de la masa ovárica de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.



\* $p < 0.05$  vs grupo Vh (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 44. Media  $\pm$  e.e.m. del peso uterino de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT), sometidas a los 24 días de edad a una operación simulada uni o bilateral y sacrificadas a los 90 días de edad.

### MORFOLOGÍA OVÁRICA Y EL DESARROLLO FOLICULAR.

Se puede observar que en los animales tratados con vehículo, predominaron los cuerpos lúteos (+) y en algunos casos como en la

laparotomía bilateral se presentan folículos en estados de desarrollo avanzados como folículos secundarios (F2) y preovulatorios (F3) (Figura 45).

En los animales tratados con PT, la estructura característica es el folículo prequístico (FpQ); y aquellos que se han transformado en quistes (+), (Figura 46).

Las hembras inyectadas con PT y sometidas a la laparotomía uni o bilateral mostraron diferencias en la morfología ovárica respecto a aquellas tratadas con Vh, mientras que en aquellos animales inyectados con vehículo se observan todas las estructuras características de un ovario sano, en los animales con PT se observan quistes foliculares y folículos prequísticos (Figs. 45 y 46).

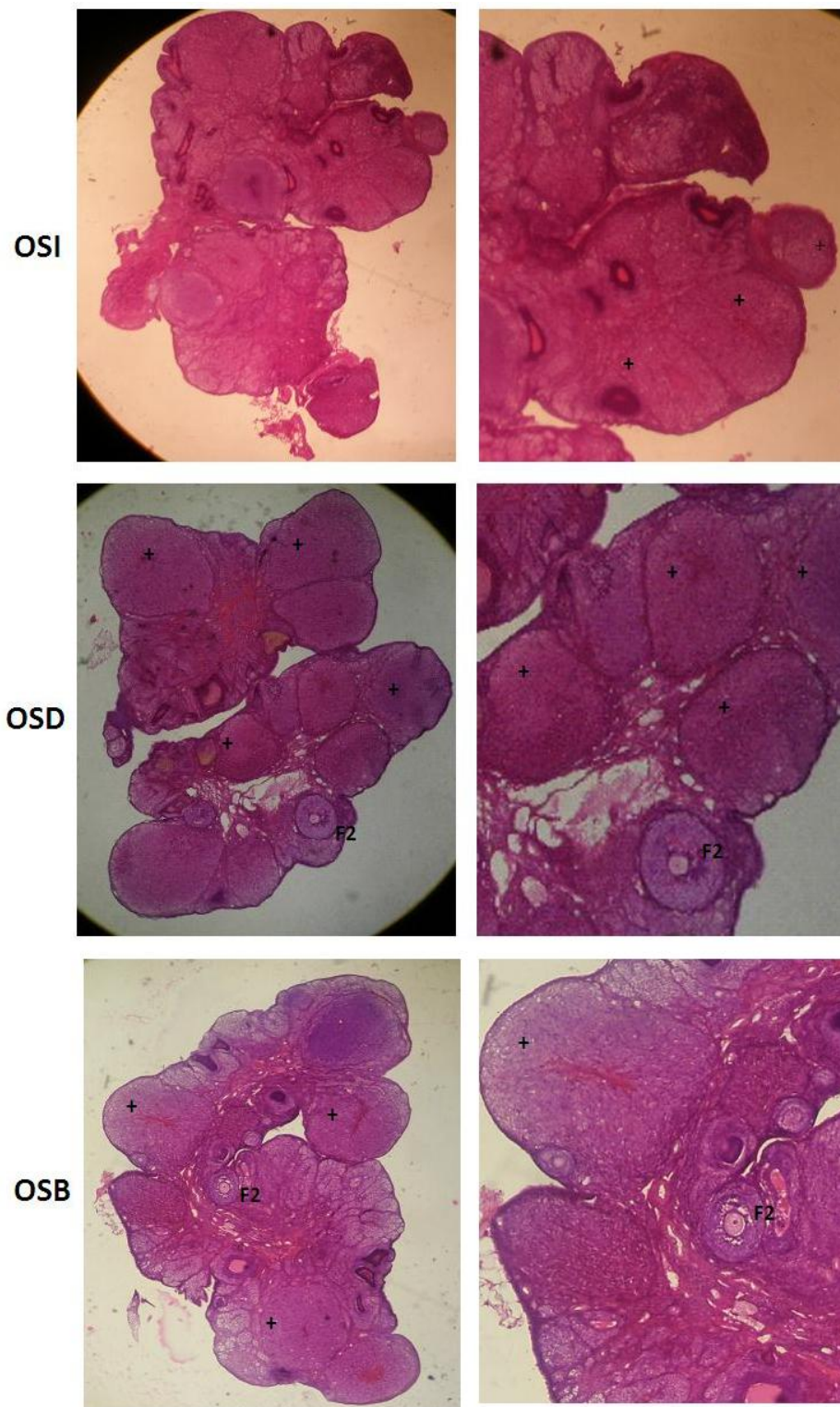


Figura 45. Microfotografía a, 10x, y un acercamiento fotográfico de ovario de ratas inyectadas al nacimiento con aceite de maíz (Vh), y sometidas a la laparotomía uni o bilateral y evaluada en la etapa adulta a los 90 días, donde (+) cuerpo lúteo y (F2) folículo secundario.

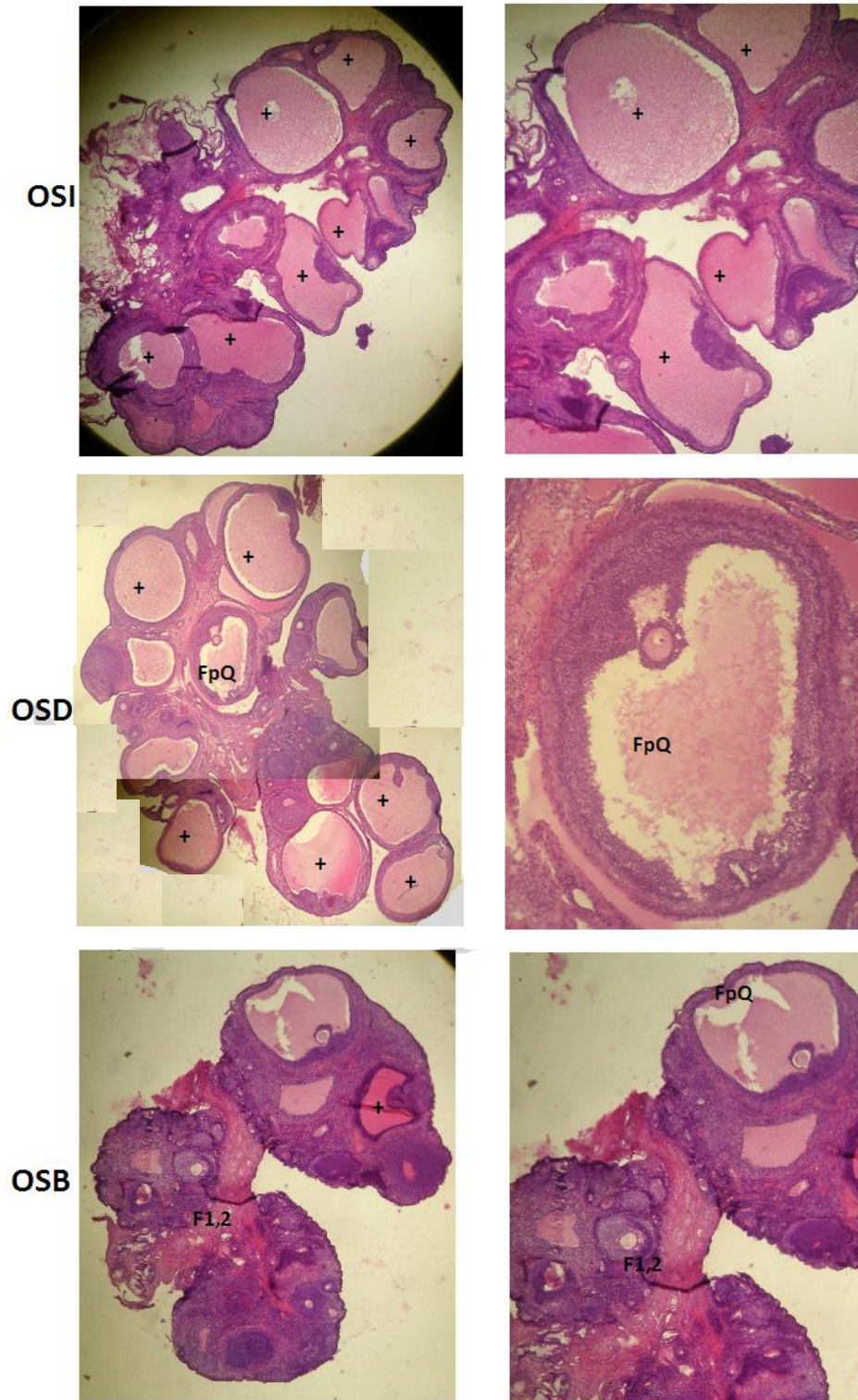


Figura 46. Microfotografía a, 10x, y un acercamiento fotográfico de ovario de ratas inyectadas al nacimiento con propionato de testosterona (PT), y sometidas a la laparotomía uni o bilateral y evaluada en la etapa adulta a los 90 días donde (FpQ) folículo prequístico, (+) quiste y (F1,2)folículo primario y secundario.

## EFFECTOS DE LA SECCIÓN UNILATERAL O BILATERAL DEL NERVI O VÁRICO SUPERIOR EN EL ANIMAL ADULTO

### LA CICLICIDAD ESTRAL

Las hembras inyectadas con el Vh al nacimiento más la sección uni o bilateral del NOS a los 24 días de edad, no modificaron el patrón de ciclicidad. Los animales androgenizados y sometidos a la sección del NOS izquierdo presentan una tendencia a recuperar el ciclo estral, en tanto que con la sección del NOS derecho o de ambos nervios se sigue presentando de manera continua varios días de estro vaginal (Figura 47).

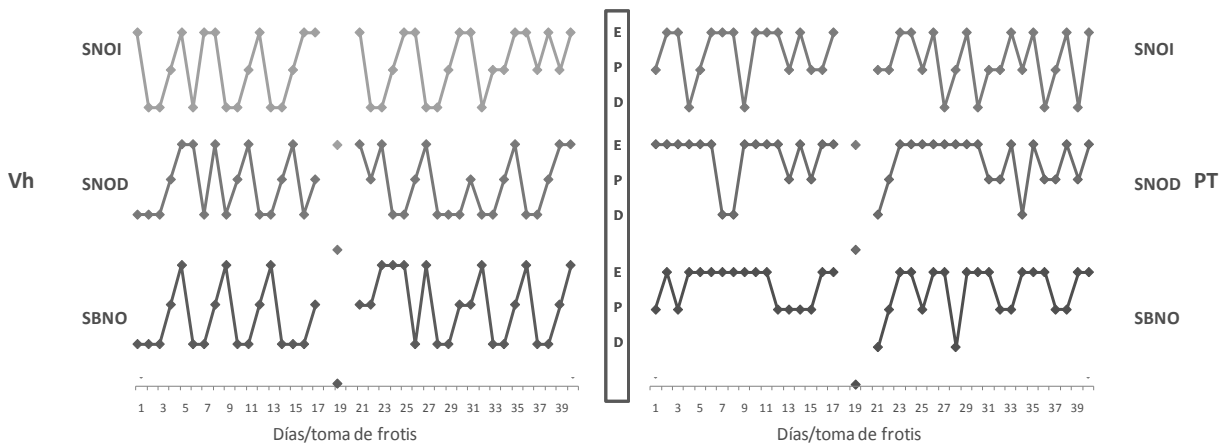
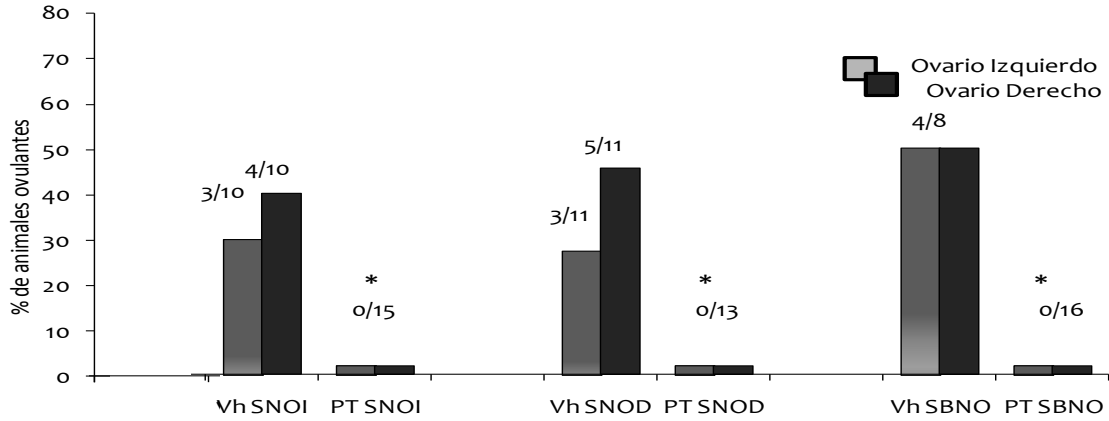


Figura 47. Monitoreo de la ciclicidad vaginal de hembras tratadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.

### OVULACIÓN

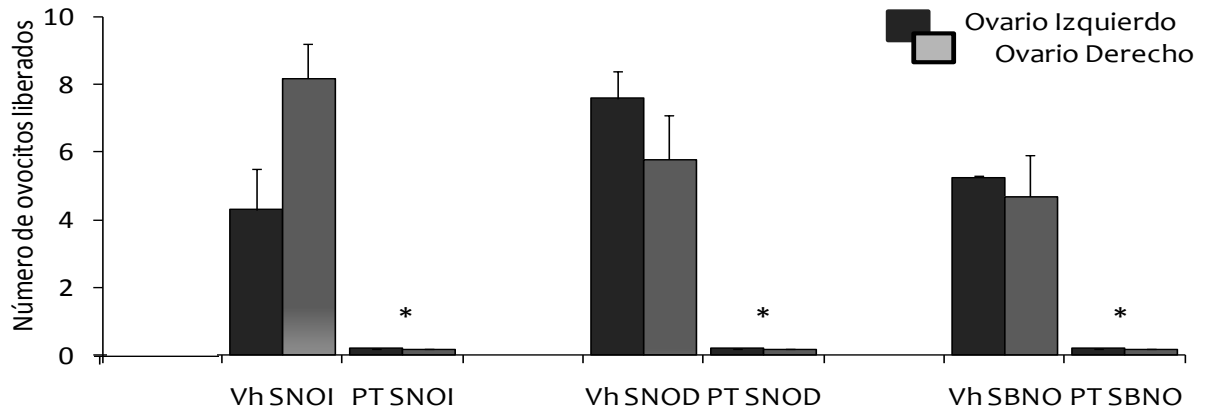
El 100% de los animales tratados con el andrógeno más sección del nervio ovárico superior no ovularon (Figura 47).

En las hembras inyectadas al nacimiento con Vh mas la sección del NOS izquierdo, el ovario derecho liberó un mayor número de ovocitos que el ovario izquierdo. Los grupos de animales androgenizados y con sección del nervio ovárico superior no ovularon (Figura 48).



\*p<0.05 vs grupo con Vh (prueba de "Fisher")

Figura 48. Porcentaje de animales ovulantes, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.



\*p<0.05 vs grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de Kruskal Wallis, seguida de U de Mann-Whitney)

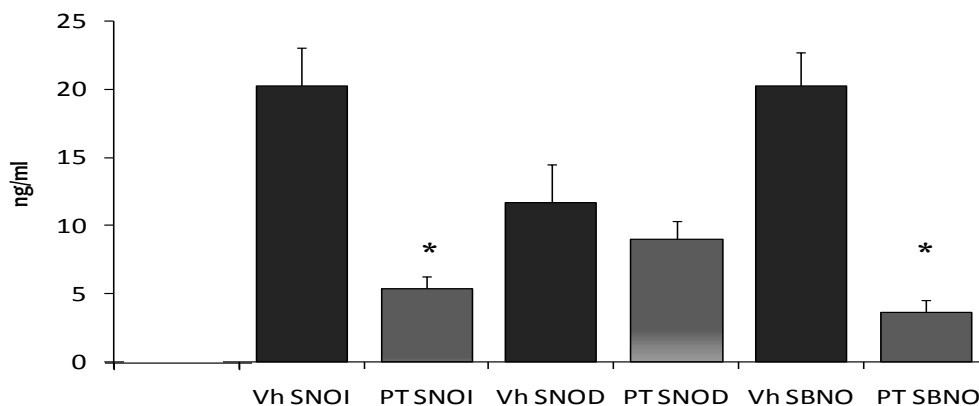
Figura 49. Media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho, de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES

Las hembras tratadas con PT, y sometidas a la sección izquierda o bilateral del NOS presentaron una disminución en la concentración de la P<sub>4</sub> con respecto al grupo con Vh y la misma operación (Figura 50).

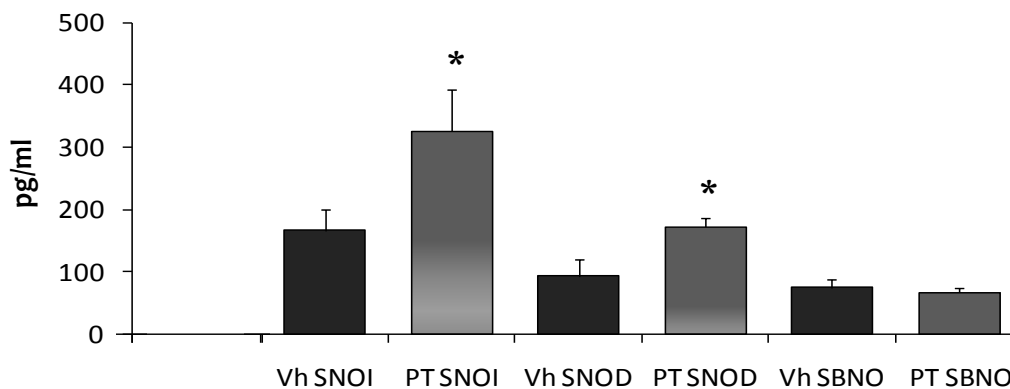


Las hembras inyectadas con PT mas la sección unilateral del NOS mostraron un incremento significativo en la concentración de estradiol, con respecto a sus grupos con Vh (Figura 51).



**\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección unilateral o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)**

Figura 50. Media  $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de progesterona en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.



**\*  $p < 0.05$  vs el grupo Vh mas la unilateral del NOS, (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)**

Figura 51. Media  $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de estradiol en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.

## CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS

En las ratas androgenizadas la sección del NOS izquierdo resultó en el aumento de la concentración de LH, mientras que con la sección del lado derecho fue menor, respecto al grupo con Vh (Tabla 8).

La concentración de FSH, en hembras inyectadas con el andrógeno y sometidas a la sección del NOS derecho o de ambos nervios fue menor en comparación con sus grupos con el vehículo, mientras que con la sección del NOS izquierdo se invierte la respuesta (Tabla 8).

Tabla 8. Media  $\pm$ e.e.m. de la concentración sérica de hormona luteinizante (LH) y de hormona folículo estimulante (FSH) en hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.

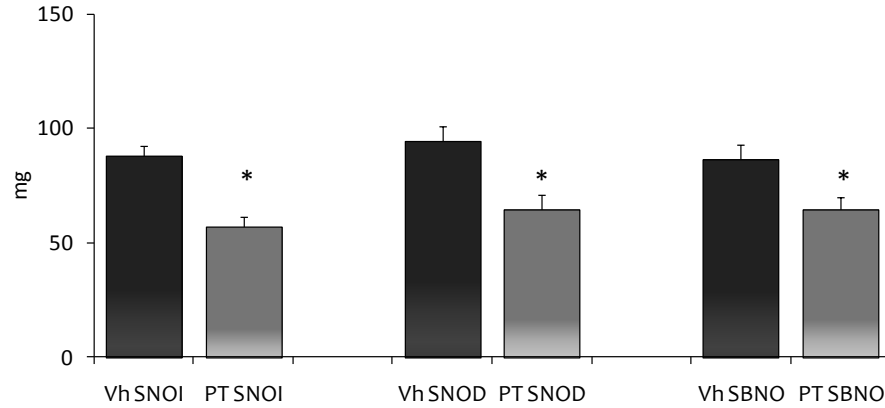
	LH ng/ml	FSH ng/ml
Vh SNOI	0.17 $\pm$ 0.04	1.81 $\pm$ 0.33
PT SNOI	0.44 $\pm$ 0.04 *	3.70 $\pm$ 0.55 *
Vh SNOD	0.40 $\pm$ 0.07	10.44 $\pm$ 2.09
PTSNOD	0.16 $\pm$ 0.05*	2.70 $\pm$ 0.20 *
Vh SBNO	0.20 $\pm$ 0.06	12.86 $\pm$ 1.20
PT SBNO	0.33 $\pm$ 0.08	2.25 $\pm$ 0.44 *

\*  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

## PESO DE OVARIOS Y DE ÚTERO

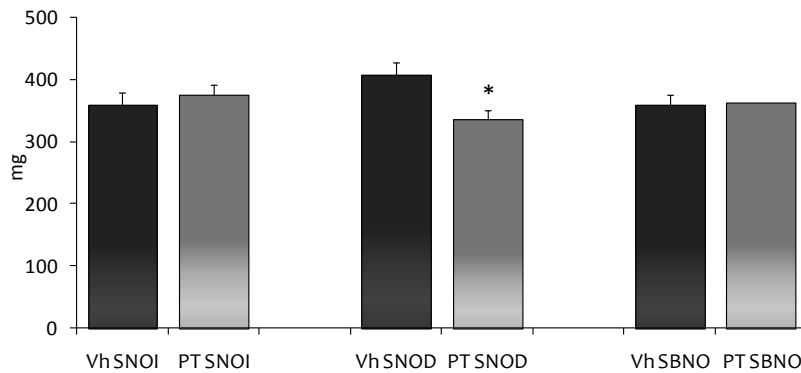
Las hembras tratadas con el andrógeno y sometidas a la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior, presentaron una disminución en el peso de ambos ovarios, comparado con su grupo con Vh mas la misma operación (Figura 52).

Las hembras inyectadas con PT y sección del NOS derecho, presentaron una disminución significativa en el peso del útero con respecto al grupo de animales inyectados con vehículo (Figura 53).



\* $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 52. Media  $\pm$ e.e.m. de la masa ovárica de hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) y sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.



#  $p < 0.05$  vs grupo Vh mas la sección uni o bilateral del NOS (prueba de ANDEVA seguida de Tukey)

Figura 53. Media  $\pm$ e.e.m. del peso del útero hembras inyectadas al nacimiento con vehículo (Vh) o con propionato de testosterona (PT) sometidas a los 24 días de edad a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o de ambos nervios (SBNO) y sacrificadas a los 90 días de edad.

## MORFOLOGÍA OVÁRICA Y EL DESARROLLO FOLICULAR.

En las hembras inyectadas con Vh más la sección uni o bilateralmente del NOS, se observó la presencia de cuerpos lúteos y algunos folículos en crecimiento (Figura 54).

En los ovarios de ratas inyectadas al nacimiento con PT y sección uni o bilateral del NOS se la presencia de quistes foliculares y la ausencia de cuerpos lúteos (Figura 55).

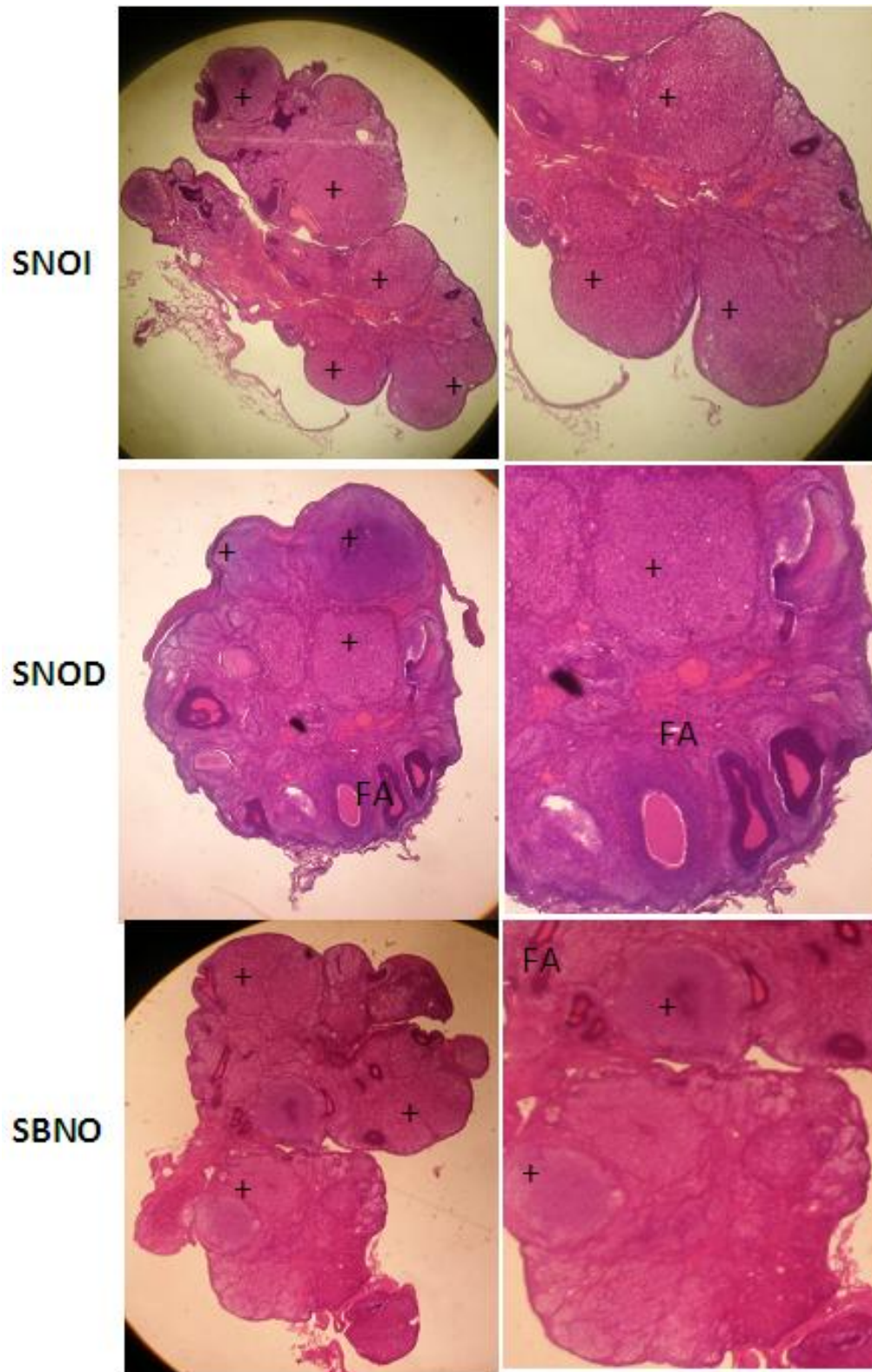


Figura 54. Microfotografía a, 10x, de ovario de ratas inyectadas al nacimiento con aceite de maíz (Vh), y sometidas a la sección uni o bilateral del NOS y evaluada en la etapa adulta a los 90 días, donde (+) cuerpo lúteo, (FA) folículo atresico

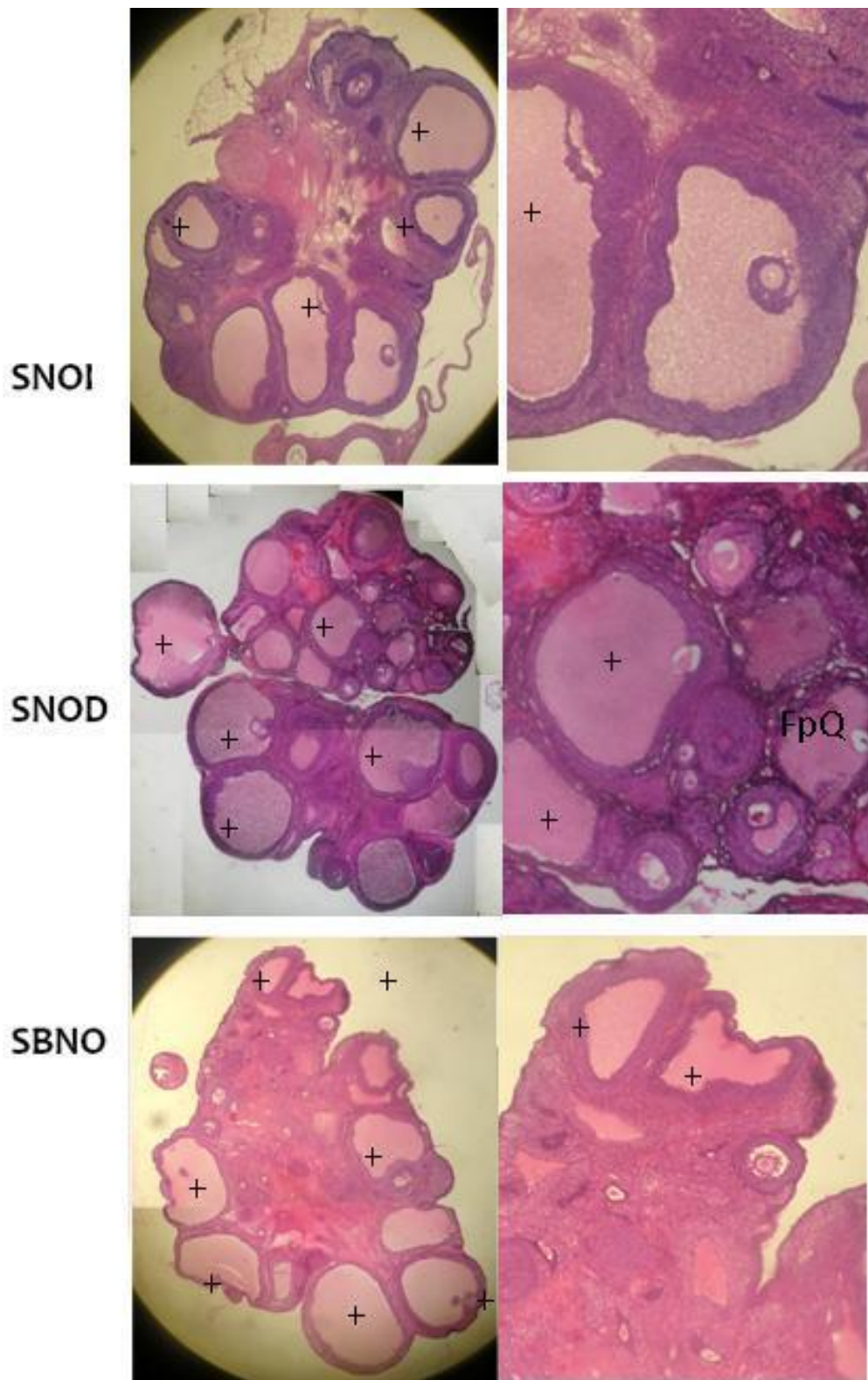


Figura 55. Microfotografía a, 10x, de ovario de ratas inyectadas al nacimiento con propionato de testosterona (PT), y sometidas a la sección uni o bilateral del NOS y evaluada en la etapa adulta a los 90 días, donde (+) quistes ováricos y (FpQ) folículo prequístico.

## DISCUSIÓN

En las hembras tratadas con PT se desarrolla el SOPQ que se caracteriza por la falta de ovulación, quistes foliculares, disminución en la concentración de FSH y concentraciones variables de hormonas esteroides. En este modelo experimental, la aparición del síndrome no puede explicarse por una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario por el NOS, ya que la sección unilateral o bilateral del nervio no restableció la ovulación ni la secreción hormonal.

En la rata la inyección de una dosis de valerato de estradiol en diferentes etapas del desarrollo, produce la formación de quistes foliculares que carecen de ovocito, folículos pequeños y anovulación (Rosas 2006). En el presente estudio, observamos que la androgenización al nacimiento resulta en la ausencia de ovulación y desarrollo de múltiples quistes foliculares, caracterizados por un antro folicular grande, hipertecosis, disminución del número de células de la granulosa y en algunos la presencia de ovocito desprendido del cúmulo oóforo, ausencia de cuerpos lúteos y pocos folículos en desarrollo. Si bien, en los dos modelos experimentales hay ausencia de ovulación, las características histológicas de los ovarios difirieren, ya que en los animales androgenizados prácticamente no hay folículos y predominan los quistes. Esto podría atribuirse a que ambos fármacos actúan en diferentes regiones. El andrógeno al actuar sobre sus receptores en el hipotálamo, produce un patrón de secreción de GnRH tónico característico del macho (Feng y col. 2009), mientras que el estrógeno lo podría hacer directamente sobre el ovario, aumento la concentración de NA ovárica (Lara y col., 2000).

Existen varias hipótesis para explicar la etiología del SOPQ; una plantea que es el resultado de un cambio en el patrón de secreción de la GnRH; otra que se debe a un cuadro hiperandrogénico, producido por una exposición temprana a esteroides en el desarrollo del individuo (Legro y col. 2005; Manneras y col., 2007; Stener-Victorin 2005; Xita y Tsatoulis, 2006 y Wu y col. 2010) y recientemente se sugiere que resulta de una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario (Lara y col. 1993; Rosa-e-Silva y col., 2003).

Barraclough y Gorski (1960) mostraron que a ratas hembra la administración de PT a diferentes edades del desarrollo postnatal, indujo en el ovario la formación de quistes ováricos y bloqueo de la ovulación. Este grupo de investigación plantea que el desarrollo del SOPQ se debe a la acción de los andrógenos sobre la secreción de la GnRH y de la LH (Barraclough y col., 1961). Más recientemente, el grupo de Feng señala que como producto de la acción del

andrógeno sobre centros hipotalámicos, se produce una programación diferente de varios tejidos, entre ellos el ovario (Feng y col. 2009).

La hipótesis que apoya que el SOPQ es el resultado de una mayor actividad de las fibras simpáticas, se basa en el hecho de que el tratamiento con VE induce aumento en la concentración de NA ovárica como respuesta al incremento en la concentración del NGF y de su receptor de baja afinidad (Lara y col. 2000; Stener-Victorin y col., 2000). De manera que cuando se disminuye el tono simpático del ovario, por la sección bilateral del NOS, se restablece la morfología ovárica y se observan cuerpos lúteos, indicadores de que se produjo la ovulación, folículos en crecimiento y desaparecen los quistes (Barria y col., 1993; Rosa-e-Silva y col., 2003). En la hembra androgenizada con DHT los ovarios revelan la presencia de quistes (Manneras y col. 2007; Gorski y col. 1965; Yan y col. 1997; Wu y col. 2010) los que presentan escasas células de la granulosa ya que en estos animales se produce un descenso en la expresión del ARNm de la ciclina D2 y como resultado una menor proliferación celular (Pradeep y col., 2002). Cuando la hembra es androgenizada con PT y previamente es denervada con guanetidina, se restablece la ovulación en el 57 % de los animales (Flores y Domínguez 1992). En el presente trabajo en el animal androgenizado al nacimiento, la eliminación de la información simpática por la sección uni o bilateral del NOS no restableció la morfología ovárica. Esto nos podría indicar que en este modelo experimental, una vez que se desarrolla el síndrome es ya irreversible.

Las mujeres jóvenes con SOPQ presentan un adelanto de la menarquía (Arizaga 2007). De igual manera, cuando en la rata se induce el síndrome por la administración de VE se presenta adelanto de la pubertad, mientras que si se induce por la administración de DHT se retrasa y pierden el patrón del ciclo estral (Abbott y col., 2005; Flores 1991; Rosas 2006; Sotomayor-Zárate y col., 2008;). En la rata recién nacida tratada con 75  $\mu$ g PT no se produce la canalización de la vagina, debido al efecto masculinizante del andrógeno (Flores 1991). En el presente estudio se observó en las hembras tratadas con 100  $\mu$ g de PT una canalización incompleta de la vagina y un patrón de estro persistente, característico del SOPQ. Estos resultados nos permiten sugerir que el efecto del andrógeno sobre la canalización de la vagina depende de la dosis.

En la rata inyectada con VE, la disminución del tono simpático por la sección unilateral o bilateral del NOS restablece el ciclo estral (Lara y col., 2002; Linares 2006,). Esta recuperación también se observa cuando los animales tratados con

DHT o VE, son sometidos al estímulo eléctrico (electro acupuntura) de baja frecuencia (Feng y col., 2009; Manneras y col., 2007; Stener-Victorin y col., 2005). En el presente estudio, la laparotomía o la sección del NOS no restablece la ciclicidad estral; conforme el animal se acerca a los 90 días de edad ya no se observa estros continuos aunque no es cíclico. El hecho de que los animales no sean cíclicos podría deberse a la persistencia de los quistes ováricos.

La inducción del SOPQ resultó de la alteración en la secreción de las hormonas ováricas que depende del fármaco empleado (Gorski y col. 1965; Manneras y col. 2007; Schulster y col. 1984; Wu y col. 2010). En la rata infantil la inyección de VE, no modifica la concentración de  $P_4$  cuando el animal alcanza la etapa adulta (Lara y col., 2003), mientras que la aplicación en la etapa infantil, de "pellets" con DHT, resulta en una disminución de la concentración de la hormona (Manneras 2007). La exposición prenatal a T o DHT, resulta en aumento de la concentración de  $P_4$  (Wu y col. 2010). En el presente estudio, la administración al nacimiento de PT resultó en un aumento en la concentración de  $P_4$  al PEV, que no se observa cuando el animal tiene aproximadamente 90 días de edad. Con estos resultados se aprecia que la respuesta del ovario varía en función de la edad del animal, lo que podría ser debido a la variación que hay en la cantidad de fibras que llegan a las gónadas (Morán y col., 2005). Si bien, en todos estos modelos resulta en el desarrollo del SOPQ, éste no siempre se acompaña por las mismas variaciones en las concentraciones de las hormonas ováricas. El grupo de Shirwalkar (2007) mostraron que la administración de VE resulta en una mayor concentración de  $P_4$  durante las dos primeras semanas post-tratamiento y posteriormente se normalizan. Estos resultados son semejantes a los del presente estudio.

El efecto del VE depende de la etapa en la cual se inicia el tratamiento. Así, cuando se administra en la rata prepúber se observa una mayor concentración de  $E_2$  a las 9 y 22 semanas post-inyección (Schulster y col. 1984), mientras que cuando se administra en la rata adulta se produce un incremento inicial (dos semanas) y posteriormente se normaliza la concentración de la hormona (Shirwalkar y col., 2007), o bien no hay cambios en respuesta al VE evaluados 10 semanas después (Stener- Victorin y col. 2005).

La inducción del síndrome por la exposición a VE en la etapa neonatal, no modifica la concentración de  $E_2$  (Sotomayor-Zarate y col. 2008). En la rata la exposición prenatal a T o DHT, resulta en el aumento de la concentración de



hormonas esteroides, cuando se analizó en el animal adulto (Wu y col. 2010). Cuando se administra la DHT en la etapa infantil, no cambia las concentraciones de  $E_2$  en la etapa adulta (Manneras y col. 2007). En el presente estudio, la concentración de  $E_2$  no se modificó al primer estro vaginal, sin embargo disminuyó en la etapa adulta. Estos resultados pueden ser un reflejo de la morfología ovárica, ya que se observan una gran cantidad de quistes los cuales presentan una escasa presencia de células de la granulosa.

En la rata prepúber con SOPQ la eliminación de la principal fuente catecolaminérgica del ovario, por la sección bilateral del NOS, resulta en una disminución de las concentraciones de  $P_4$  (Rosa-e-Silva y col., 2003), mientras que son más altas cuando se induce el síndrome en la etapa adulta (Barria y col., 1993). En estudios previos de nuestro laboratorio mostramos que en la rata tratada con VE en la etapa infantil, la sección unilateral del NOS resulta en la disminución de las concentraciones de  $P_4$  y  $E_2$  (Linares 2006).

En los animales androgenizados al nacimiento la sección del NOS derecho o la sección bilateral del nervio resulta en una disminución en la concentración de  $P_4$  al primer estro vaginal, que se acompaña por el aumento en la concentración de  $E_2$ . Esta respuesta difiere cuando el animal es sacrificado en la etapa adulta. Con estos resultados podemos sugerir que en la hembra androgenizada la modulación que ejerce el NOS depende de la edad del animal, así al primer estro vaginal el nervio ovárico derecho modula de manera inhibitoria la conversión de  $P_4$  a  $E_2$ , en tanto que en el animal adulto es el nervio izquierdo quien lo realiza.

Existe controversia sobre la respuesta de la hipófisis a la administración del VE. Algunos autores sugieren que no se modifican las concentraciones de gonadotropinas (Shirwalkar y col. 2007), mientras que otros plantean que la concentración de LH aumenta y la de FSH no se modifica o bien puede aumentar (Rosa-e-Silva y col. 2003). En la rata adulta joven la inducción del SOPQ, por la administración del VE, resulta en el aumento de la concentración de LH y FSH que se presenta desde las primeras 6 semanas post-tratamiento y permanecen elevadas hasta las 22 semanas (Farookhi y col., 1985; Schulster y col., 1984).

La administración de PT al nacimiento modifica el patrón de secreción de las gonadotropinas, de manera que en la etapa adulta se presenta en la hipófisis una mayor proporción de isoformas ácidas de la FSH, similar a las de un macho adulto, por lo que los autores sugieren que estas isoformas podrían estar implicadas en el desarrollo de los quistes foliculares presentes en los animales androgenizados

(Ulloa-Aguirre y col., 1989). La exposición a andrógenos induce a nivel del hipotálamo aumento en la actividad de los receptores a andrógenos hipotalámicos, lo que resulta en una modificación del patrón de secreción de las gonadotropinas, alteración en el crecimiento folicular, ausencia en la ovulación y finalmente en el desarrollo del SOPQ (Walters y col. 2008).

En el presente trabajo la androgenización con PT al nacimiento resultó en la disminución en la concentración de FSH, tanto al primer estro vaginal así como en la etapa adulta. Dado que la FSH ejerce un efecto mitogénico, la disminución en la concentración de esta hormona podría explicar porque los folículos que se transforman en quistes presentan un menor número de capas de la granulosa, además del escaso desarrollo folicular. Mientras que, la regulación de LH parece depender de la edad del animal ya que no hay cambios al primer estro vaginal pero aumenta en la etapa adulta. Estas evidencias apoyan la interpretación del grupo de Wu quienes dicen que la exposición prenatal de la rata hembra a T o DHT, resulta en un aumento de la concentración de E<sub>2</sub> como respuesta a la aromatización de la T a estrógenos, éstos actúan sobre el hipotálamo aumentando la frecuencia de descarga de la GnRH, que estimula en la hipófisis la liberación de LH, pero no la de FSH (Wu y col. 2010).

Se ha sugerido que la información neural que transcurre por el NOS no participa en la regulación de la secreción de las gonadotropinas, ya que en la rata de 24 días de edad la sección bilateral del NOS no modifica la concentración plasmática de FSH y LH, evaluada a los 31 días de edad (Aguado y Ojeda 1984). Mientras que hay quienes dicen que en la rata neonata el NOS participa de manera estimulante en la secreción de FSH, y al parecer no interviene en regulación de la secreción de la LH (Forneris y col., 2002).

En la rata con SOPQ el NOS regula de manera estimulante la secreción de LH y parece no participar en la de FSH (Rosa-e-Silva 2003). En el presente estudio, en el animal androgenizado con PT al nacimiento, el NOS derecho modula de manera estimulante la secreción de LH y FSH en el animal de 90 días de edad, mientras que al primer estro vaginal parece no requerirse la información que transcurre por este nervio.

En el presente estudio, la inyección de PT disminuye el peso de los ovarios y del útero. Resultados similares fueron reportados por el grupo de Manneras (2007), quienes mostraron que en el animal adulto la inyección de DHT disminuye el peso de ambos ovarios (Manneras y col. 2007). En las hembras con SOPQ,

inducido por el VE, resulta de igual manera en una disminución del peso ovárico lo que ha sido explicado por los autores como respuesta a una menor concentración de gonadotropinas (Lara y col. 1993).

En la rata con SOPQ, inducido por el VE, la sección bilateral del NOS o la electro acupuntura restablece las funciones ováricas (Barria 1993; Rosa E. Silva 2003; Stener-Victorin y col., 2005), mientras que con la sección unilateral, el ovario denervado no se restablece la ovulación y sí lo hace el ovario inervado (Linares 2006).

En el presente estudio, en la rata androgenizada la sección del NOS no se restablece la ovulación, aun cuando suponemos que se produce la disminución en el contenido de NA ovárica en respuesta a la sección del NOS, tal y como ha sido mostrado en el animal prepúber (Chávez y col., 1994).

En conclusión, nuestros resultados nos permiten sugerir que en el desarrollo del SOPQ, la participación del NOS es diferente en el animal androgenizado que en el tratado con el VE.

## CONCLUSIONES

- La inducción del SOPQ, por la administración de PT, no se debe a una mayor actividad de las fibras simpáticas, aportadas por el NOS.
- La sección unilateral o bilateral del NOS no modifica el bloqueo de la ovulación inducido por la administración de PT al nacimiento.
- La información simpática aportada por el NOS, participa de manera diferencial en la regulación del desarrollo folicular y la esteroidogénesis.
- El SOPQ, puede deberse a la programación temprana de los órganos involucrados en la regulación de las funciones reproductivas, y por tanto, no existir una hiperactividad nerviosa, en este modelo.

**MODELO 1**

En la hembra intacta, la retroalimentación negativa ejercida por  $E_2$  secretado por el folículo dominante, estimula al hipotálamo, el cual produce un pulso de GnRH de menor amplitud y mayor frecuencia, que estimula la secreción de LH, y conlleva a la liberación del ovocito. La posterior luteinización del folículo, incrementa la concentración de  $P_4$ , lo que estimula un patrón de secreción más lento y pulsos de mayor amplitud de la GnRH, estimulando la secreción de un segundo pico de FSH que da inicio al desarrollo de una nueva cohorte de folículos (Figura 56).

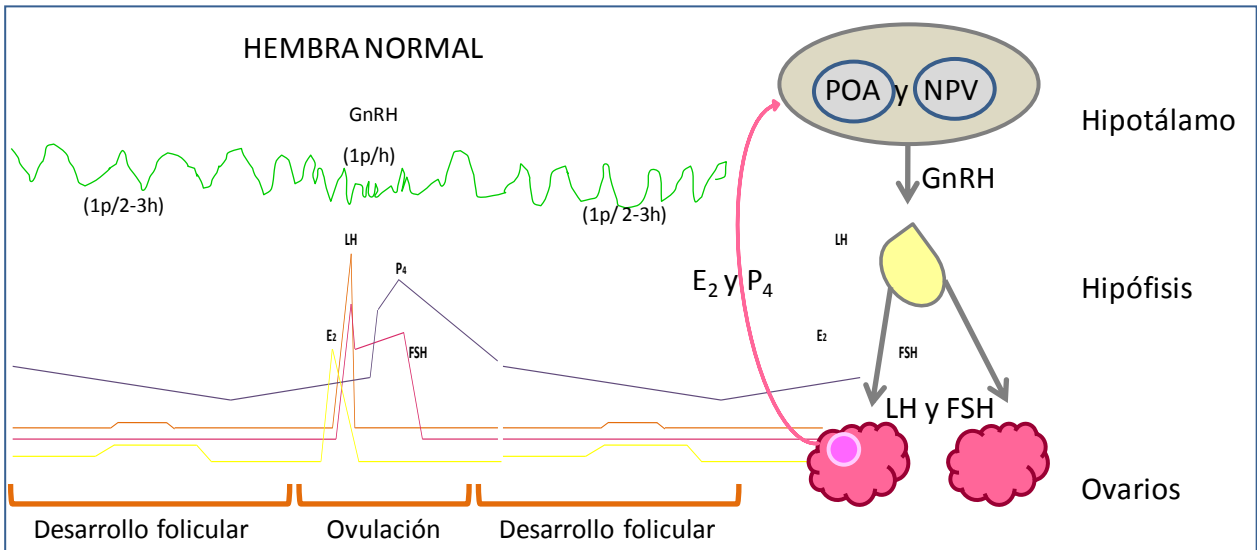


Figura 56. Interacciones hormonales en la regulación del eje reproductivo en la hembra normal intacta

## MODELO 2

En la hembra androgenizada, la inyección de PT al nacimiento resulta en la programación hipotalámica de la secreción de GnRH, traducida en un patrón de secreción tónico, debido a la hiperactivación de los receptores a andrógenos.

En la hembra androgenizada la alteración en el patrón de la secreción de GnRH se traduce en un aumento de la concentración de LH, la cual a su vez estimula en el ovario la producción de andrógenos y de esta manera se establece un circuito cerrado.

En nuestro modelo experimental planteamos que dado que el PT fue administrado antes de que se de la foliculogénesis, entonces el efecto primario del fármaco sería a nivel central y como producto se da la alteración en el ovario sobre la dinámica del crecimiento de los folículos. La inervación simpática modula la acción de las gonadotropinas y dado que en la hembra androgenizada se mantiene la secreción tónica de gonadotropinas, suponemos que la información neural que transcurre por el NOS no es relevante en el SOPQ (Figura 57).

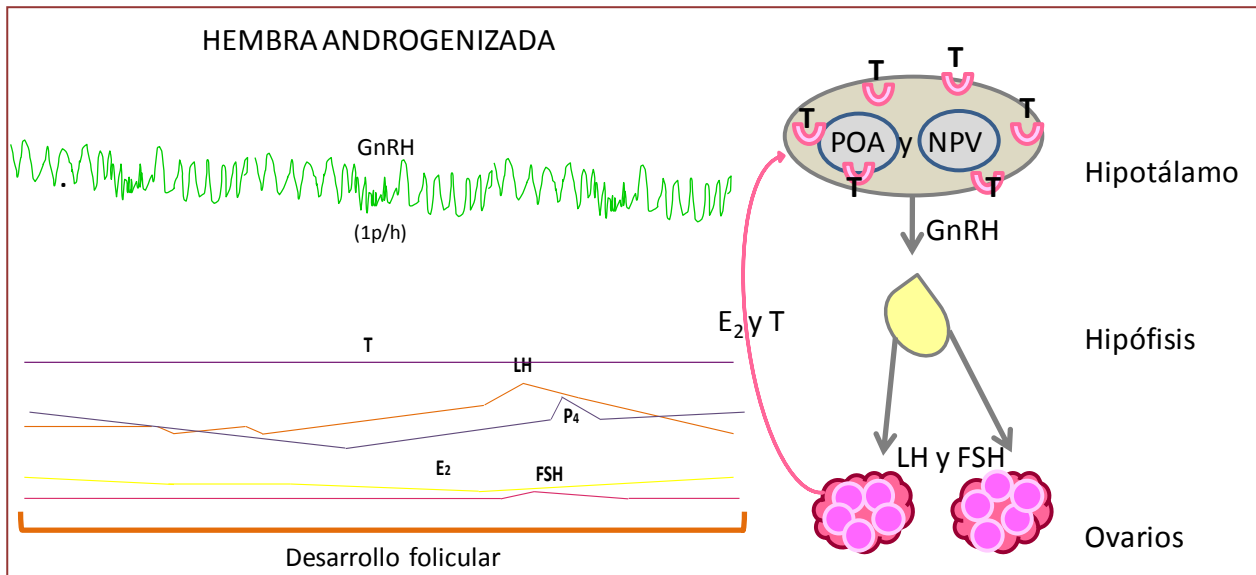


Figura 57. Interacciones hormonales en el eje reproductivo de la hembra androgenizada al nacimiento.

## PERSPECTIVAS

Con base en los resultados y las conclusiones obtenidas se plantea:

- Partiendo del hecho de que la diferenciación del hipotálamo se produce a los cinco días de edad, se plantea analizar si la administración de PT en la rata infantil es capaz de inducir el SOPQ.
- Si la administración de VE, resulta en un incremento en la concentración de NGF, lo que provoca el SOPQ, entonces se necesita determinar en el modelo del animal androgenizado la concentración o expresión de la neurotropina implicada en el síndrome.
- Existe la posibilidad de que el SOPQ sea el resultado de una mayor concentración de estradiol, como respuesta de una mayor aromatización de la testosterona. Para analizar esta posibilidad se plantea inducir el SOPQ con VE o con PT y administrar una antiandrógeno, como es flutamida, y ver si el síndrome es reversible.
- En la rata con SOPQ, inducido por andrógenos, se requiere medir la actividad neural del ovario. Esto podría hacerse por la medición de C-FOS ovárico

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott D.H., Barnett D.K., Bruns C.M., y Dumesic D.A. (2005). "Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental etiology for polycystic ovary syndrome?" *Human Reproduction* Vol.11, No.4 357–374.
- Abbott D.H. Zhou R., Bird I.M., Dumesic D.A. y Conley A.J. (2008). "Fetal programming of adrenal androgen excess: lessons from a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome" *Endocrinology Dev.* 13: 145–158.
- Abott D.H., Dumesic D.A., Eisner J.R., Kemnitz J.W., y Goy R.W.,(1997). "The prenatally androgenized female rhesus monkey as a model for polycystic ovarian syndrome" en Azziz R. Nestler J.E., androgen excess disorders in women, Lippincott-Raven Press. Philadelphia, 369-382
- Aguado L.I. y Ojeda S.R. (1984). "Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation", *Endocrinology* 114;1845.
- Arizaga H.C. (2007). "Síndrome Ovario Poliquístico", 1era Cátedra de Clínica Médica y Terapéutica Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario. Monografía, pp 1-8.
- Audesirk T. y Audesirk G. (1997). "Biología, La vida en la tierra" 4ta edición, Pearson ed. México DF. pp 765-775.
- Barraclough C.A. (1960). "Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate". *Endocrinology* 68: 62-67.
- Barraclough C.A. y Gorski R.A. (1961). "Evidence that hypothalamus is responsible for androgen- induced sterility in the female rat". *Endocrinology* 68: 68-79.
- Barria A., Leyton V., Ojeda S.R. y Lara H.E. (1993). "Ovarian steroidal response to gonadotropins and  $\beta$ - adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation". *Neuroscience* 133: 2696-2703.
- Becu-Villalobos D. y Lacau-Mengido I. (1990). "Control Hormonal del Desarrollo Puberal de la Rata Hembra" *Act. Physiol. Pharmacol. Latinoam.* Vol 40, 1-17.
- Bergman R.A., Afifi A.K. y Heidger P.M. (1998). "Sistema reproductor femenino histología". Edit McGraw Hill-Interamericana, México 16 pp 307-320.
- Brawer J.R., Muñoz M. y Farookhi R. (1986). "Development of the Polycystic Ovarian Condition (PCO) in the Estradiol Valerate-Treated Rat", *Biology of Reproduction* 35:647-65.
- Budavary S., O'Neil M., Smith A. y Heckelman P.E. (1996). "The Merck Index", editorial Whitehouse Statiton NJ, USA, 12<sup>va</sup> edición. pp 1569.
- Burden H.W., Lawrence Jr.Louis T.M. (1977). "The effect of abdominal vagotomy during pregnancy on ovarian prostaglandin F, plasma progesterone concentration, and ovarian  $\Delta$ -5-3 $\beta$ hydroxysteroid dehydrogenase localization". *Anat Rec.* 187: 542-543.
- Byskov A.G.S. (1978). "Follicular atresia" en: *The vertebrate ovary.* Plenum press newyork, Jones RE,1<sup>ra</sup> edicion USA. pp 234.
- Chaparro A. (2006). Tesis de licenciatura "Regulación del síndrome del ovario poliquístico por el nervio ovárico superior, la rata como modelo de estudio" Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México DF.



- Chávez R., Carrizosa L. Domínguez R. (1991). "Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats". *Medical Science Research* 19: 41-42.
- Chávez R., Morales L., González Ma E., y Domínguez R. (1994). "Ovarian norepinephrine content in prepubertal rats with superior ovarian nerve section: temporal studies. *Medical Science Research*. 22:789-790.
- De la Iglesia H.O., y Schwartz W.J. (2006). "Minireview: timely ovulation: circadian regulation of the female hypothalamo-pituitary-gonadal axis". *Endocrinology*. 147(3): 1148-53.
- Devine P.J., Payne C.M., McCuskey M.K., y Hoyerp B.P. (2000). "Ultrastructural Evaluation of oocytes during atresia in rat ovarian follicles". *Biology of Reproduction* 63: 1245-1252.
- Díaz J.A., Chaparro A., Domínguez R., y Morales L. (2009). "Efecto de la sección del nervio ovárico superior en la secreción de estradiol y la respuesta ovulatoria en ratas con síndrome del ovario poliquístico inducido con valerato de estradiol o propionato de testosterona" cartel presentado en el V Congreso de investigación en la FES Zaragoza, celebrado del 3-6 noviembre del 2009.
- Diaz J.C. y Hicks J.J. (1995). "Bioquímica" 2da edición, ed. Interamericana mex. México DF. pp 606-640.
- Díaz J.C. y Juez M.A. (2007) "Bioquímica" edit. McGraw Hill-Interamericana México DF. pp 586-595.
- Dissen G. A., Lara H.E., Leyton V., Paredes A., Hill D.F., Costa M.E., Martínez-Serrano A. y Ojeda S.R. (2000). "Intraovarian Excess of Nerve Growth Factor Increases Androgen Secretion and Disrupts Estrous Cyclicity in the Rat". *Endocrinology* 141: 1073–1082.
- Domínguez R., Chávez R. y Cruz M.E. (1991). capítulo VII "La regulación y el crecimiento del desarrollo del folículo ovárico.") En "Tópicos selectos de biología de la reproducción", Domínguez R. (1991). primera edición, Grupo Editorial Porrúa, Méx. DF. pp 161-188.
- Farookhi D.W., Hemmings R. y Brawer J.R. (1985). "unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicity in rats with a polycystic ovarian condition". *Biology of Reproduction*. 32:530-540.
- Fawcett D.W. (1990). "Tratado de Histología" Décima Primera Edición, editorial interamericana, México. pp 865-888.
- Fawcett D.W. (1995). "Tratado de Histología" Décima segunda Edición, editorial interamericana, México. pp 853-861.
- Feder H. (1981a). "estrous ciclicity in mamals" En: *Neuroendocrinology of reproduction. Physiology and behavior*. Eds. Adler, N.T.. Plenum Press, New York and London. Pp. 279-329.
- Feder H. (1981b). "Hormonal actions on the sexual differentiation of the genitalia and the gonadotrophin-regulating systems", En: *Neuroendocrinology of reproduction. Physiology and behavior*. Eds. Adler, N.T.. Plenum Press, New York and London. 90-124, 126,
- Feng Y., Johanson J., Shao R., Manneras L., Fernandez-Rodriguez J., Billing H. y Stener-Victorin E. (2009). "Hypotalamic neuroendocrine functions in rats with dyhydrosterone-induced PCOS: effects of low frequency electroacupunture". *Journal of Endocrinology*: 10:1371.
- Flores A. (1991). Tesis de Maestria, "Estudio de la participación del sistema noradrenérgico periférico sobre la pubertad de la rata hembra" Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México Distrito Federal.

- Flores A. y Domínguez R. (1992). "Noradrenergic peripheral denervation of the female rat accelerates the positive feedback mechanisms resulting in pubertal ovulation, and blocks the modifications induced by administration of testosterone propionate at birth". *Journal of Endocrinology* 135; 415-420.
- Forneris L.M. y Aguado L. (2002). "Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats". *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 82: 75-82.
- Fortune J.E. (1994). "Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals". *Biology of Reproduction* 50, 225-232.
- Franks S., Gharani N., Waterworth D., Batty S. y White D. (1998). "The molecular genetics of polycystic ovarian syndrome. *Trends Endocrine Metab* 9: pp 51-56.
- Freeman M.E. (1994). "The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat" (en). "Encyclopedia of Reproduction". : Knobil, E Neill JD, Editorial Raven Press, New York. pp 615-620.
- Geneser F. (2000). "Órganos de la Reproducción". En: "Histología sobre bases moleculares", 3ra edición, editorial, Médica Panamericana, Bs.As. Argentina. Pp 613-638
- Goldman B.D. (1981) capítulo 8 "Puberty" en: "Neuroendocrinology of Reproduction", Adler NT. Plenum press. Nueva York y Londres. pp. 229-238.
- Gorski R.A. (1968). "Influence of age on the response to prenatal administration of a low dose of androgen". *Endocrinology* 82:1001.
- Gorski R.A. (1990). "Sexual differentiation of the brain: comparative aspects en Control of the onset puberty", autor Melvin M. Grumbach, Pierre C. Sizonenko y MKichel L. Aubert editorial Williams and Wilkins USA. Pp 229-238.
- Greenspan Francis S. (2000). "Endocrinología Básica y Clínica" editorial El Manual Moderno Cuarta edición México pp: 107-179.
- Guyton A.C. (1989). "Anatomía y Fisiología del sistema nervioso. Editorial Médica Panamericana Bs As. Argentina. pp 96-100.
- Hernández D. (2009) Tesis de licenciatura "Efecto de la sección uni o bilateral del nervio vago sobre la persistencia del síndrome del ovario poliquístico, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, México DF.
- Hirshfield A.N. (1991) Development of follicles in the mammalian ovary. *Internat Rev. Cytol*; 124: 43-101.
- Hoar WS. (1978) "Fisiología General y Comparada. Edit Omega, Barcelona. pp 224.
- Hsueh A.J.W., Billing H., Tsafiri A. (1994) "Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process" *Endocr. Rev* 15: pp 707-724.
- Jubiz W. (1988). *Endocrinología clínica* 2a. edición. Ed. El Manual Moderno México, pp 221.
- Klein C.M. y Burden H.W. (1988). "Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary", *Neurosciences lett.* 85(2): 217- 222.
- Knobil E. (1998). "Encyclopedia of Reproduction", Volume 1, Academic Press Univ. Chapt. Androgens Effects in Mammals pp 197- 205.
- Krishna B. y Singh M.D. (2005). "Persistent estrus models of polycystic ovary disease: an update". *fertility and sterility* vol 84: 2:1228-34.
- Lara H.E., Dissen G.A., Leyton V., Paredes A., Fuenzalida H., Fiedler J.L. y Ojeda S.R. (2000). "An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and Its Low Affinity

Receptor Is a Principal Component of Steroid-Induced Polycystic Ovary in the Rat” *Endocrinology* 141: 1059–1072.

- Lara H.E., Dorfman M., Venegas M., Luza S.M., Luna S.L., Mayerhofer A., Guimaraes M.A., Rosa-e-Silva A.A.M., y Ramirez V.D. (2002). “Changes in Sympathetic Nerve Activity of the Mammalian Ovary During a Normal Estrous Cycle and in Polycystic Ovary Syndrome: Studies on Norepinephrine Release”, *Microscopy Research and Technique* 59: 495–502.
- Lara H.E., Ferruz J.L., Suza S., Bustamante D.A., Borges. Ojeda R. (1993). “Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome”. *Endocrinology* 133:2690-2695.
- Larrea., Foliart R.M., Escorza A., Ulloa-Aguirre A. y Valencia X. (1991). capitulo V “Fisiología y mecanismos de acción de las gondotropinas hipofisarias” en “Tópicos selectos de Biología de la Reproducción”, Domínguez R. Grupo Editorial Porrúa, primera edición. México DF. pp107-131.
- Lawrence I.E. y Burden H.W. (1980). “The origin of extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary” *the Anatomical Record* 196 (1): 51-59.
- Legro R.S., Chiu P., Kunselman A.R., Bentley C.H.M., Dodson W.C. y Dunaif A. (2005). “Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenism chronic anovulation but don’t predict metabolic or reproductive phenotype”. *Journal of Endocrinology and Metabolism* 90(5):2571-2579.
- Linares R. (2006). Tesis de licenciatura”Participación del nervio ovárico superior en el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, la rata como modelo de estudio” Facultad de Estudios Superiores Zaragoza México DF.
- Malamed S., Gibney J.A. y Ojeda SR. (1992). “Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat”. *Cell and Tissue Research* 270:87-93.
- Mannerås L., Cajander S., Agneta H., Zamira S., Theodore L., Malin L. y Stener-Victorin E. (2007) “A New Rat Model Exhibiting Both Ovarian and Metabolic Characteristics of Polycystic Ovary Syndrome”. *Endocrinology* 148:3781–3791.
- Matalliotakis I., Kourtis A., Ourania K. y Panidis D. (2006). “Polycystic ovary syndrome : Etiology and pathogenesis”. *Arch. Gynecol. Obstet.* 274:187-197.
- Morales L., Chávez R., Ayala M.E. y Domínguez R. (1998). “Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration”. *Journal of Endocrinology* 158:213–219.
- Morales L., Chávez R y Domínguez R. (1993). “Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateralsection of the nerve”. *Medical Science Research* 21:15-17.
- Morán C., Morales L., Quiróz U. y Domínguez R. (2000). “Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth”, *Journal of Endocrinology* 166:205–211.
- Morán C., Franco A., Morán J.L., Handal A., Morales L. y Domínguez R. (2005). “Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat”, *Endocrine* (6):147- 152.
- Nakamura Y. (1990). “ Treatment of PCOS: an overview” *Horm. Res. Supl.* 2, pp 33-31.
- O’Malley B.W. y Strott C.A. (2001). “Hormonas esteroides: metabolismo y mecanismo de acción”. En *endocrinología de la reproducción, fisiología fisiopatología y manejo clínico*

- 4ta edición ed. SSC Yen, RB Jaffe, y RL Barbieri, ed. Panamericana, Bs. As. Argentina. pp 235.
- Odell W.D. (1990). "Sexual maturation in the rat" en Control of the onset puberty, autor Melvin M. Grumbach, Pierre C. Sizonenko y MKichel L. Aubert editorial Williams and Wilkins USA. pp 211.
  - Ojeda S.R. (1990). "First Preovulatory Gonadotropin Surge in the Rodent", "Sexual maturation in the rat" En: Control of the onset of puberty, Editado por Melvin M. Grumbach. Ed. Williams and Wilkins. Estados Unidos de America.
  - Ojeda S.R., Andrews W.W., Advis J.P., White S.S. (1980). "Recent advances in the endocrinology of puberty" En:Endocrine Reviews. 1:228-257.
  - Ojeda S.R. y Urbanski H.F. (1994). "Puberty in rat" en Knobil, E., Neill J.D. (eds). encyclopedia of reproduction. Editorial Raven Press, New York pp. 1699-1738.
  - Paolucci M., Custodia N. y Callard P.I. (1999). "Estrogen effects and receptors subavian species. In: encyclopedia of reproduction". Academic press. New York 3:87-92.
  - Pfeiffer C.A. (1936). "Sexual differences of the hypophyses and their determination by gonads." American Journal of Anatomy 58: 195-225.
  - Pfeiffer C.A. (1941). "Effect of ovarian transplants upon the development and maintenance of the seminal and prostate gland of the albino rat". Anatomical Record 79:213-237.
  - Pradeep P.K., Li X., Peegel H. yMenon K.M.J. (2002). "Dihydrotestosterone Inhibits Granulosa Cell Proliferation by Decreasing the Cyclin D2 mRNA Expression and Cell Cycle Arrest at G1 Phase", Endocrinology 143(8):2930–2935.
  - Riboni L. (2002). "Effects of sympathetic denervation on follicular distribution on estradiol and progesterone serum levels in prepubertal hemiovariectomized female guinea pig", Animal Reproduction Science 73: pp 63 -71.
  - Rodriguez M. (1971). "Anatomía, Fisiología e Higiene" 3era Edición, Progreso México.
  - Rosa-e-Silva A., Guimaraes M.A., Padmanabhan V. y Lara H.E. (2003). "Prepubertal Administration of Estradiol Valerate Disrupts Cyclicity and Leads to Cystic Ovarian Morphology during Adult Life in the Rat: Role of Sympathetic Innervation" Endocrinology 144: 4289–4297.
  - Rosales Torres A. M. (1998). "Atresia folicular" en: "Biología de la Reproducción", de Velazquez Moctezuma J. UAM-I pp223-262.
  - Rosas G. (2006). Tesis de licenciatura "Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción de hormonas esteroides" Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM México.
  - Ross M. H., Gordon I.K. y Wojciech P. (2005). "Histología Texto y Atlas" 4ta edición, BsAs Argentina.
  - Ruiz P. V. (2009). Tesis de licenciatura " Efecto de la denervación catecolaminérgica del ovario, realizada desde la etapa infantil sobre el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico en la rata" Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM México.
  - Schulster A., Farookhi R. y Brawer J. (1984). "Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: spontaneous changes in characteristic endocrine features ". Biology of reproduction 31:587-593.
  - Shirwalkar H., Deepak N.M. y Anurupa M. (2007). "Exposure of adult rats to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles" Molecular and Cellular Endocrinology 272:22–37.

- Sir-Petermann T., Maliqueo M., Angel B., Lara H.E., Pérez-Bravo F. y Recabarren S.E. (2002). "Maternal serum androgens in pregnant women with polycystic ovarian syndrome: possible implications in prenatal androgenization" *Human Reproduction* 17(10): 2573–2579.
- Sotomayor-Zarate., Dorfman M., Paredes A., y Lara HE. (2008). "Neonatal exposure to estradiol valerate programs ovarian sympathetic innervation and follicular development in the adult rat". En: *Biology of Reproduction*. 78: 673-680.
- Stener-Victorin E., Lundenberg T., Waldenström U., Manni L., Aloe L., Gunarsson S., y Janson P.O. (2000). "Effects o electroacupunture on nerve grow factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycystic ovaries". *Biology of Reproduction*. 63:1497-1503.
- Stener-Victorin E., Lundeberg T., Cajander S., Aloe L., Manni L., Waldenström U. y Olof J.P. (2005). "Rats with steroid induced polycystic ovaries develop hypertension and increased sympathetic nervous system activity " en: *Reproductive Biology and Endocrinology*, 3:44 .
- Tresguerres J.A.F.(1995). Capitulo 3 "Biosíntesis de las hormonas esteroides en el ovario", en: "El ovario fisiología y patología" , Jose Botella Lusía, Madrid España.
- Tresguerres J.A.F. (1999). "Fisiología Humana" 2da Edición, Editorial Mac Graw Hill Madrid España.pp. 488-490; 1036- 1048.
- Ulloa-Aguirre A., Damián-Matsumara P., Espinoza R. Domínguez R., Morales L. y Flores A. (1989). "Effects of neonatal androgenization on the chromatofocusing pattern of anterior pituitary FSH in the female rat". *Journal of Endocrinology* 126:323-332.
- Van Voohris (1999). "Follicular steroidogenesis. Encyclopedia of reproduction 2 en Knobill E. Nelly (Eds) USA, Academic Press. pp 389-395.
- Walters K.A., Allan C.M., y Handelsman D.J., (2008). "Androgen actions and the ovary", *Biology of Reproduction* 78: 380-389.
- Wu X., Li Z., Wu Ch., Liu Y., Lin H., Wang Sh., y Xiao W. (2010). "Endocrine traits of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female Sprague-Dawley rats" *Endocrine Journal* 57: 3; 201-209.
- Xita N. y Tsatsoulis A. (2006). "Review: Fetal proqraming of policystyc ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association estudios". *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 91(5):1660-1666.
- Yan Z., Lee G.Y., y Anderson E. (1997). "Influence of Dehydroepiandrosterone on the Expression of Insulin-Like Growth Factor-1 during Cystogenesis in Polycystic Rat Ovaries and in Cultured Rat Granulosa Cells", *Biology Of Reproduction* 57, 1509-1516.
- Yen S.S.C. (2001). "Síndrome del ovario poliquistico (anaovulación crónica hiperandrogénica)" en: *Endocrinología de la Reproducción* 4ta Edición, Buenos Aires Argentina. Pp 465-510.



## V Congreso de Investigación en la FES Zaragoza

### Programa General



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

3 – 6 Noviembre, 2009

4 DE NOVIEMBRE DE 2009

#### V Congreso de Investigación en la FES Zaragoza

##### Vestíbulo de la Unidad Multidisciplinaria de Investigación Experimental Zaragoza

15:00-18:00 Carteles

**Moderadores:** QFB Roberto C. González Meléndez

**Dra** Martha A. Sánchez Rodríguez

**M** en C Araceli García del Valle

**M** en C Margarita Cruz Millán

**Mtra** Leonor Aguilar Santellises

**Q** María Teresa Mendoza Mata

**M** en C Fernando Tapia Pastrana

##### Área Químico Biológica

**Eloy Solano C, Héctor Serrano C, María de la Luz López M**

Anatomía floral comparativa del género *Polygonum* L. (Agavaceae).

**Ana M. Pichardo R, Eloy Solano C, Carmelo Cortés García**

Inventario de la familia Orchidaceae en las Sierras Triqui-Mixteca del Estado de Oaxaca.

**M. L. Escobar, G. H. Vázquez-Nin, O. M. Echeverría**

Análisis *in situ* e *in vitro* de la muerte celular de ovocitos de rata prepúber.

**Vianey Gutiérrez Serrano, Christian Azucena Don López, María de Lourdes Mora García, Jorge Hernández Montes, Juan José Montesinos Montesinos, Alberto Monroy García**

Participación de las células estromales mesenquimales derivadas de Neoplasias cervicales en el reconocimiento inmune de células tumorales.

**Jorge Hernández Montes, María Del Carmen Zaragoza Ortega, Karyna Pérez Saldaña, Benny Weiss Steider, Alberto Monroy-García, María De Lourdes Mora García**

Detección de linfocitos T CD8+ específicos para antígenos de HPV-16 y HPV-18 en pacientes con infección temprana.

#### V Congreso de Investigación en la FES Zaragoza

**María del Carmen García Rodríguez, Pedro Salvador Pereyra Mejía, Claudia Macedo Evaristo, Mario Agustín Altamirano Lozano**

Efectos genotóxicos de los compuestos de Cromo (III y VI) y de la acción de la clorofila sobre la frecuencia de micronúcleos en ratones de la cepa CD-1 tratados con CrO<sub>3</sub>.

**Roberto Agüero-Pliego, Néstor Adrián Romero-Tirado, Rocío Verónica González-Vázquez, Eloy Solano, Ramiro Ríos-Gómez**

Relación vegetación-suelo en bosque de pino del municipio de Putla Villa de Guerrero, Oaxaca.

**J. A. Díaz, A Chaparro, Roberto Domínguez Casala, Leticia Morales Ledesma**

Efecto de la sección del nervio ovárico superior en la secreción de Estradiol y la respuesta ovulatoria, en ratas con síndrome del ovario poliquístico inducido con valerato de estradiol o propionato de testosterona.

**B. Peña-Mendoza, T. Espinoza-González, J. L. Guzmán-Santiago, L. D. Hernández-Roldán, D. González-Mancilla, J. L. Gómez-Márquez**

Análisis morfométrico de *Cherax quadricarinatus* en el Bordo Xalostoc, Mor.

**Christian Azucena Don López, Vianey Gutiérrez Serrano, Alberto Monroy García, María de Lourdes Mora García, Jorge Hernández Montes, Juan José Montesinos Montesinos**

Efecto de células estromales mesenquimales derivadas de tumores malignos de cuello uterino en la inducción del crecimiento tumoral en ratones de la cepa C57BL/6.

**Eloy Solano Camacho, Ana M. Pichardo Ramírez, Miguel Rivera Lugo, Magdalena Ayala Hernández, Ramiro Ríos-Gómez**

Inventario florístico de las Sierras Triqui-Mixteca del Estado de Oaxaca.

**Janeth A. García Silva, María Patricia Velasco De León**

Descripción taxonómica de hojas fósiles de la localidad de San Miguel, Estado de Veracruz.

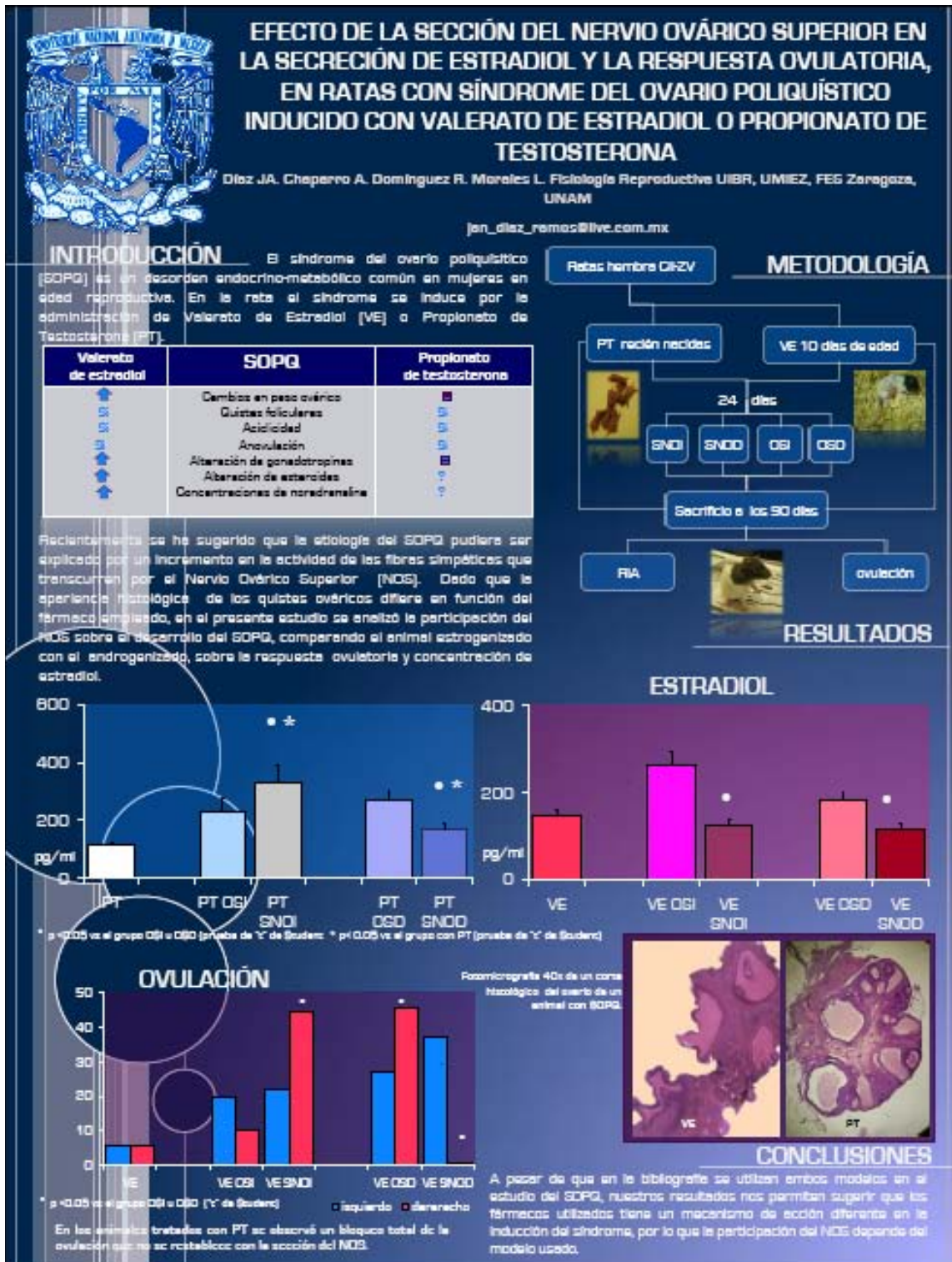


Figura 19. Cartel presentado en el V congreso de investigación en a FES- Zaragoza, presentado el 4 de noviembre bajo la siguiente autoría: J. A. Díaz. A Chaparro, Roberto Domínguez Casalá, Leticia Morales Ledesma Titulado: Efecto de la sección del nervio ovárico superior en la secreción de Estradiol y la respuesta ovulatoria, en ratas con síndrome del ovario poliquístico inducido con valerato de estradiol o propionato de testosterona.

## REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- Biblioteca digital Curtis, [en línea] extraído de la biblioteca digital de la unam el 13 de enero del 2009 de:  
<http://iescarin.educa.aragon.es/depart/biogeo/varios/BiologiaCurtis/Indice%20de%20secciones.htm>
- Facultad de Medicina ,Escuela de medicina "Luis Razetti", Departamento de ciencias morfológicas, "Catedra de anatomía normal " VENEZUELA, extraído en línea el 14 de enero del 2009 de:  
[http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.ucv.ve/anatomia/ovario1.jpg&imgrefurl=http://www.ucv.ve/anatomia/mapa1u6.htm&usq=\\_jCCcVu5pEFuEWMRU0YF45PfePok=&h=229&w=370&sz=36&hl=es&start=19&um=1&tbnid=2\\_ttMkvrHW4QM:&tbnh=76&tbnw=122&prev=/images%3Fq%3DOVARIO%26start%3D18%26ndsp%3D18%26um%3D1%26hl%3Des%26sa%3DN](http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.ucv.ve/anatomia/ovario1.jpg&imgrefurl=http://www.ucv.ve/anatomia/mapa1u6.htm&usq=_jCCcVu5pEFuEWMRU0YF45PfePok=&h=229&w=370&sz=36&hl=es&start=19&um=1&tbnid=2_ttMkvrHW4QM:&tbnh=76&tbnw=122&prev=/images%3Fq%3DOVARIO%26start%3D18%26ndsp%3D18%26um%3D1%26hl%3Des%26sa%3DN)
- Vega B. (2006). "Clase en línea de función ovárica", facultad de medicina universidad de Chile.