



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

UN ESTUDIO DE LOS EFECTOS AGUDOS Y SUB-  
AGUDOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIIO OVÁRICO  
SUPERIOR, EN RATAS PREPÚBERES CON  
OVARIECTOMÍA UNILATERAL, SOBRE EL INICIO  
DE LA PUBERTAD Y LAS FUNCIONES DEL  
OVARIO

# TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

**ELIZABETH VIEYRA VALDEZ**

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA  
MIEMBROS DEL CÓMITE TUTORAL: DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO  
DR. PABLO GUSTAVO DAMIÁN MATZUMURA

MÉXICO, D.F.

MAYO DE 2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de Abril de 2011, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA EXPERIMENTAL)** de la alumna **VIEYRA VALDEZ ELIZABETH** con número de cuenta **402103422** con la tesis titulada **“Un estudio de los efectos agudos y sub-agudos de la sección del nervio ovárico superior en ratas prepúberes con ovariectomía unilateral, sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario.”**, realizada bajo la dirección de la **DRA. LETICIA MORALES LEDESMA**

Presidente: DRA. IVETTE CALDELAS SÁNCHEZ  
Vocal: DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ  
Secretario: DRA. PATRICIA ROSAS SAUCEDO  
Suplente: DRA. LETICIA ROCHA ZAVALETA  
Suplente: DR. PABLO GUSTAVO DAMIÁN MATZUMURA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
**“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”**  
Cd. Universitaria, D.F., a 28 de Abril de 2011.

*María del Coro Arizmendi*

**Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga**  
**Coordinador del Programa**

# AGRADECIMIENTOS

Agradezco al **Posgrado en Ciencia Biológicas de la UNAM** por darme la oportunidad de entrar en su programa en beneficio de mi formación académica y por conducirme a terminar mis estudios de posgrado.

Agradezco al **CONACyT** por la beca 225398 otorgada para realizar mis estudios de maestría y al apoyo financiero de **DGAPA-PAPIIT** convenio IN-203307 y IN-213110.

Agradezco a cada uno de los miembros del jurado:

**Dra. Ivette Caldelas Sánchez**  
**Dra. Margarita Martínez Gómez**  
**Dra. Patricia Rosas Saucedo**  
**Dra. Leticia Rocha Zavaleta**  
**Dr. Pablo Gustavo Damián Matzumura**

Por el tiempo dedicado a la revisión de la tesis, por sus comentarios y sugerencias que la enriquecieron.

Al **Dr. Pablo** y a la **Dra. Paty** por aceptar ser miembros de mi comité tutorial y seguir de cerca mi desarrollo académico dando la mejor crítica en cada uno de los tutorales. Por ayudarme a corregir mis errores, por compartir sus conocimientos y por su valiosa amistad.

En especial a la **Dra. Lety** por trabajar conmigo en la escritura, redacción y discusión del presente estudio, por encaminarme siempre en el campo del conocimiento y la autosuficiencia para terminar mis estudios de maestría. Muchas Gracias.

A **Gaby** y **Rosa** por su gran apoyo en el transcurso de la maestría y por sus críticas que me ayudaron a enriquecer mi trabajo, además de su valiosa amistad. Gracias Chicas.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio que colaboraron en la realización de esta tesis: Rosa, Gaby, Juan, Azucena, Denisse, Andrea, Rocio, Tzayaca, Iván, Iosíf, Betsabeth, Claudia Cipatli, Adriana y en especial a **Deyra**, porque nuestra amistad crezca cada día más.

A la Dra. Adriana y al Dr. Román por su apoyo en el cuidado de las ratas del bioterio utilizadas en el estudio y por su amistad.

Al Biólogo Roberto Chavira y al Biólogo Mario Cardénas por su colaboración en la medición hormonal del presente estudio.

# *DEDICATORIA*

*A mis padres y hermanos*

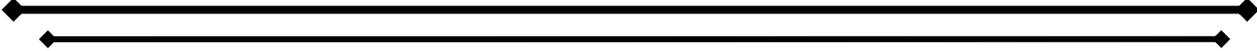
*A Dios, A mis padres (Basilio y Lucina) y hermanos (Omar, Yazmín, Victor y Ximena) por el gran apoyo que siempre me han brindado en los momentos difíciles y han sonreído conmigo en los felices.*

*Con todo mi AMOR Y CARINO les doy las gracias a ustedes papá y mamá por darme la vida, por la fortuna de ser su hija, por su gran apoyo en todos y cada uno de los momentos de mi vida, por su AMOR INCONDICIONAL E INDESCRIPtible y con su ayuda y aliento mi meta alcanzar. A ustedes mis hermanos que siempre han estado conmigo y nunca me han dejado sola, gracias por compartir conmigo, alegrías, tristeza, esperanzas y por brindarme su AMOR INCONDICIONAL.*

*LOS AMO MUCHISIMO.*

*ELIZABETH*

*Mayo de 2011*



*Dra. Lety*

*Por enseñarme a ser autosuficiente y por sus grandes consejos de vida que me alientan a superarme en cada momento y ser mejor cada día, gracias por su cariño y amistad que esperamos que PERDURE POR SIEMPRE Y PARA SIEMPRE. Creo que no hay palabras para demostrarle el gran agradecimiento hacia usted. Gracias por todo.*

*Deyra*

*Por esa gran ayuda que siempre me has brindado en todos y cada uno de los momentos que hemos pasado juntas, en los cuales me has demostrado que estas ahí y que eres una verdadera amiga. PORQUE QUE NUESTRA AMISTAD ESTE SIEMPRE POR DELANTE DE TODO. Gracias*

**ELIZABETH**

*Mayo de 2011*

---

---

# ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<i>i</i>
<b>RESUMEN</b> .....	<i>iii</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>v</i>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>3</b>
<i>El Ovario</i> .....	<b>3</b>
<i>Desarrollo folicular</i> .....	<b>7</b>
<i>Ovulación</i> .....	<b>11</b>
<i>Esteroidogénesis</i> .....	<b>14</b>
<i>Etapas del desarrollo postnatal de la rata</i> .....	<b>20</b>
<i>Pubertad en la rata</i> .....	<b>23</b>
<i>Ovariectomía unilateral</i> .....	<b>26</b>
<i>Inervación ovárica</i> .....	<b>29</b>
<i>Efectos de la denervación simpática sobre las funciones ováricas</i> .....	<b>31</b>
<i>Modelo del animal hemiovariectomizado seguido de la denervación simpática en el ovario in situ</i> .....	<b>34</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>36</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>37</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>38</b>



Páginas

<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
Experimento 1. Efectos de la sección del nervio ovárico superior en la rata con operación simulada sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario.....	<b>46</b>
Experimento 2. Efectos de la sección del nervio ovárico superior en la rata con ovariectomía unilateral sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario.....	<b>51</b>
Experimento 3. Efectos de la operación simulada en la rata prepúber sobre la concentración de hormonas esteroides y gonadotropinas.....	<b>61</b>
Experimento 4. Efectos de la sección del nervio ovárico superior en la rata prepúber con operación simulada o con ovariectomía unilateral sobre la concentración de hormonas esteroides y gonadotropinas.....	<b>66</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>82</b>
<b>MODELOS.....</b>	<b>93</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>95</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>97</b>

---

---

## ABREVIATURAS

<b>3<math>\beta</math>-HSD</b>	3 $\beta$ Hidroxiesteroide deshidrogenasa
<b>ANDEVA</b>	Análisis de varianza multifactorial
<b>AMPc</b>	Monofosfato de adenosina cíclico
<b>CGRP</b>	Péptido relacionado con el gen que codifica para la síntesis de la calcitonina
<b>DHEA</b>	Dehidrohepiandrosterona
<b>E<sub>2</sub></b>	Estradiol
<b>FSH</b>	Hormona folículo estimulante
<b>GnRH</b>	Hormona liberadora de gonadotropinas
<b>HCO</b>	Hipertrofia compensadora ovárica
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad
<b>IGF-I</b>	Factor de crecimiento semejante a la insulina
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad
<b>LH</b>	Hormona luteinizante
<b>NA</b>	Noradrenalina
<b>NOS</b>	Nervio ovárico superior
<b>NPY</b>	Neuropéptido Y
<b>OC</b>	Ovulación compensadora
<b>OSI</b>	Operación simula izquierda
<b>OSD</b>	Operación simulada derecha
<b>OSB</b>	Operación simulada bilateral
<b>OUL</b>	Ovariectomía unilateral



<b>OUL-I</b>	Ovariectomía unilateral izquierda
<b>OUL-D</b>	Ovariectomía unilateral derecha
<b>P450c17</b>	Citocromo P450, 17 hidroxilasa, 17,20 liasa
<b>P<sub>4</sub></b>	Progesterona
<b>PEV</b>	Primer estro vaginal
<b>PO</b>	Plexo ovárico
<b>RIA</b>	Radioinmunoanálisis
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SNOI</b>	Sección del nervio ovárico superior izquierdo
<b>SNOD</b>	Sección del nervio ovárico superior derecho
<b>SP</b>	Sustancia P
<b>StAR</b>	Proteína reguladora de la esteroidogénesis
<b>T</b>	Testosterona
<b>TA</b>	Testigo absoluto
<b>TAO</b>	Tasa de animales ovulantes
<b>VIP</b>	Péptido intestinal vasoactivo

---

---

## RESUMEN

La extirpación de un ovario, conocido como ovariectomía unilateral (OUL), es un modelo usado en el análisis de la asimetría funcional entre los ovarios y en el estudio de las conexiones neurales entre los ovarios y el sistema nervioso central (SNC). La OUL resulta en el incremento del tamaño del ovario *in situ* (hipertrofia compensadora ovárica) (HCO) y en el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* (ovulación compensadora) (OC). Esta respuesta se ha explicado por cambios hormonales hipofisarios y mecanismos neuroendocrinos.

Con el fin de analizar la participación del NOS sobre la regulación de la respuesta ovárica en ratas con ovariectomía unilateral, en el presente estudio evalué, los efectos agudos y sub-agudos de la sección del NOS en la rata prepúber con OUL sobre el inicio de la pubertad, las concentraciones en suero de progesterona ( $P_4$ ), testosterona (T), estradiol ( $E_2$ ), hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), así como la respuesta compensadora del ovario (HCO y OC). Para lo cual se utilice ratas juveniles de 32 días de edad de la cepa CII-ZV sometidas a la ovariectomía unilateral derecha (OUL-D), seguida de la sección del NOS izquierdo o a la ovariectomía unilateral izquierda (OUL-I) seguida de la sección del NOS derecho. Como grupos de comparación utilice animales con OUL-D o OUL-I seguida de la operación simulada contralateral y animales con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección del NOS contralateral. Los diferentes grupos fueron sacrificados a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas o al presentar el primer estro vaginal (PEV).

Los resultados muestran que en el día del primer estro vaginal, en la rata con OUL-D la sección del NOS izquierdo en el ovario *in situ*, resultó en el aumento del número de ovocitos liberados y en la OC, mientras que en la rata con OUL-I la sección del NOS derecho resultó en la disminución de la tasa de animales ovulantes. La hipertrofia compensadora de la gónada *in situ* denervada se observa a partir de las 72 horas post-cirugía.



En comparación con el grupo con OUL-D+OSI, la concentración de  $P_4$  en ratas con **OUL-D+SNOI** resultó en mayor concentración de la hormona en los animales sacrificados a los 30 minutos, 1 ó 5 horas después de la cirugía. Las modificaciones en las concentraciones de T y  $E_2$  dependieron del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia. Las concentraciones de FSH fueron mayores a partir de las 5 horas y hasta el PEV.

En ratas con **OUL-I+SNOD**, los cambios en las concentraciones  $P_4$ , T y  $E_2$  dependieron del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia en comparación con OUL-I+OSD.

Los resultados obtenidos en el presente estudio soportan la idea de la regulación que ejerce el NOS en la rata juvenil hemiovariectomizada, sobre la secreción de hormonas esteroideas, depende del nervio seccionado, del ovario *in situ* y del tiempo de evolución.

---

---

## ABSTRACT

Unilateral ovariectomy (ULO) is an experimental tool used in the analysis of the functional asymmetry between the ovaries, as well as the study of neural connections between the ovaries and central nervous system (CNS). The ULO results in the increase of the size of the in situ ovary (compensatory ovarian hypertrophy) (COH) and the number of ova shed by the in situ ovary (compensatory ovulation) (CO). These effects have been explained as resulting from pituitary hormonal changes and neuroendocrine mechanisms.

In order to analyze the participation of the superior ovarian nerve (SON) on the regulation of ovarian function in unilateral ovariectomized rats, in the present study I evaluated the acute and sub-acute effects of the SON section in prepubertal rats in the onset of puberty, progesterone (p4), testosterone (t), estradiol (e2), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) serum levels, CO and COH. For this purpose, juvenile female rats of the CII-ZV strain were subjected to right unilateral ovariectomy (R-ULO) followed by the section of the left SON or left unilateral ovariectomy (L-ULO) followed by the section of the right SON. For comparison groups I used groups of animals with R-ULO or L-ULO followed of the contralateral laparotomy and rats with right (R-LAP) or left (L-LAP) laparotomy followed of the contralateral section of the SON. All groups of animals were sacrificed 30 minutes, 1, 5, 48 or 72 hours after surgery or on the day of first vaginal estrus (FVE).

The results showed that the section of the left SON to rats with R-ULO performed on the day of FVE, the left ovary released more ova (CO) than rats with R-ULO. In rats with L-ULO the section of the Right SON resulted in decrease of ovulation rate. The COH in the denervated ovary occurred 72 hours after surgery.



In R-ULO+L-SON group, the P4 levels were higher than in R-ULO+L-LAP treated animals sacrificed 30 m, 1 or 5 h after surgery. The modifications in T and E2 concentrations depended on the time elapsed between surgery and autopsy. Five, 48, 72 hours after surgery and at the FVE, the levels of FSH were higher.

In R-ULO+L-SON treated animals, the changes in P4, T and E2 levels, compared to L-ULO+R-LAP treated animals, depended on the time elapsed between surgery and autopsy.

The results obtained in present study support the idea that the regulation exerted by the SON in hemiovariectomized rats on the steroid hormone secretion depends on the sectioned nerve, the in situ ovary and time elapsed between surgery and autopsy.

---

---

## INTRODUCCIÓN

La ovulación y la esteroidogénesis (producción de hormonas esteroideas como progesterona, testosterona y estradiol) están bajo control hormonal y neural del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

El ovario posee tanto inervación intrínseca, como extrínseca. La primera se conforma de ganglios, algunos de los cuales son catecolaminérgicos (Dees y col., 1995; D' Alhora y col., 2002). La extrínseca está conformada por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales derivadas de neuronas que se encuentran en el sistema nervioso periférico y hacen multisinapsis con el sistema nervioso central (SNC) (Klein y Burden, 1988; Gerendai y col., 1998).

La inervación simpática llega al ovario por medio del plexo ovárico (PO), que viaja a lo largo de la arteria ovárica y por el Nervio Ovárico Superior (NOS), que se encuentra asociado al ligamento suspensorio (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999).

La inervación simpática y parasimpática modulan la respuesta del folículo a las gonadotropinas y de esta manera, se regula la secreción de hormonas esteroideas y la ovulación (Lawrence y Burden, 1980; Aguado y Ojeda, 1984a, b; Morales y col., 1993, 1998, 2007; Chávez y Domínguez, 1994; De Bortoli y col., 1998, 2000; Gerendai y col., 2000; Sosa y col., 2000, 2004; Delgado y col., 2004, 2006).

La ovariectomía unilateral (eliminación de una gónada) es un modelo experimental, frecuentemente usado para analizar la existencia de asimetría funcional entre los ovarios (Domínguez y col., 2003; Morales y col., 2007) y para estudiar las conexiones neurales entre los ovarios y el sistema nervioso central (Trujillo y col., 2004).



La extirpación de un ovario, resulta en dos fenómenos: 1) en la hipertrofia compensadora ovárica (HCO), que hace referencia al aumento de peso del ovario remanente (Burden y Lawrence, 1977; Trkulja y Lackovic, 2001; Trkulja y col., 2004), y 2) la ovulación compensadora (OC), que es la liberación de un número de ovocitos semejante a lo que ovularían ambos ovarios en una rata intacta (Chávez y Domínguez, 1994; Trujillo y col., 2004). Ambos fenómenos son modulados por la inervación que reciben las gónadas (Chávez y col., 1987; Burden y Lawrence 1977; Chávez y Domínguez, 1994; Morales y col., 2011).

Debido a que en el animal juvenil hemiovariectomizado no se tienen reportes de la regulación inmediata que ejerce el NOS en las funciones del ovario, en el presente estudio se analizaron los efectos agudos y sub-agudos de la sección del NOS en la rata juvenil con ovariectomía unilateral, sobre la secreción de hormonas esteroides y gonadotropinas, así como la respuesta compensadora del ovario.



## MARCO TEÓRICO

La capacidad reproductora es en esencia uno de los ejes primordiales sobre los que se mueve la evolución de los seres vivos. Para asegurar en mayor medida el éxito reproductivo, los animales presentan épocas de celo, en las cuales por medio de olores, marcas, feromonas, etc., saben cuando ocurre la **ovulación** en las hembras y así aseguran que después de la realización de la cópula tendrá lugar la fecundación del óvulo y consiguientemente el nacimiento de nuevos seres, logrando su continuidad en el tiempo (Peña, 1998). Entre especies la ovulación es un proceso específico y básico para la supervivencia.

### EL OVARIO

Los ovarios tienen dos funciones: la producción de hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos), protéicas (activina e inhibina) y la gametogénesis (producción y liberación de ovocitos viables capaces de ser fecundados) (Peters y McNatty, 1980). Estas funciones dependen de la interacción entre las gonadotropinas y los factores ováricos intrínsecos, a su vez el control de la secreción de gonadotropinas depende de la interacción entre el eje hipotálamo-hipófisis-ovario y probablemente la glándula adrenal (Domínguez y col., 2003).

---

---

En la rata, los ovarios están situados cerca de los riñones a lo largo del borde del músculo lateral y se encuentran rodeados de grasa. Es un órgano extremadamente vascularizado (Yao y Bahr, 1999). Durante la etapa adulta la superficie del ovario es nodular y se encuentra cubierta por una capa monoestratificada de células cúbicas o poliédricas, llamada epitelio germinal (Burden, 1985).

El ovario esta formado por:

- **La corteza:** Es la zona más externa del ovario, se encuentra revestida por el epitelio germinal y contiene los folículos que se encuentran en diversas fases de desarrollo, algunos presentan signos típicos de atresia, se encuentran incluidos en el estroma, el cual esta formado por elementos de tejido conjuntivo como los fibroblastos y células del músculo liso, mismas que regulan la contracción de los vasos sanguíneos (Yao y Bahr, 1999; Silverthorn, 2008; Carlson, 2009) (Figura 1).
- **La médula:** Es la parte más interna del ovario (Figura 1), está formada por tejido conjuntivo laxo con fibras elásticas, algunas fibras musculares lisas y numerosos vasos arteriales y venosos de los que se originan pequeñas ramas que se dirigen hacia la corteza. La **corteza** y la **médula** se continúan de forma imperceptible sin que exista entre ellas una separación visible (Fawcett, 1995; Yao y Bahr, 1999).
- **El hilio ovárico:** Es la vía por la cual las fibras nerviosas, los vasos sanguíneos y linfáticos entran y salen del ovario. El hilio se continúa con la médula (Figura 1). Las células hiliares son células redondas u ovaladas, con citoplasma granuloso y eosinófilo (Stevens, 1999; Yao y Bahr, 1999; Silverthorn, 2008; Carlson, 2009).

---

---

El ovario está constituido por un tejido en constante transformación, formado por tres compartimentos que interactúan de forma altamente integrada para cumplir con las funciones del ovario (Yen y col., 2001). Los compartimentos que constituyen el ovario son:

**1.- El folicular:** Donde se lleva a cabo el proceso de foliculogénesis (Tresguerres, 2003). Formado por los folículos primordiales y en diferentes fases de desarrollo.

**2.-El luteal:** Tras la ovulación, los folículos se reorganizan para convertirse en los cuerpos lúteos. El cuerpo lúteo se origina a partir de células de la granulosa mural que sufren cambios morfológicos conocidos como luteinización (inclusiones lipídicas y aumento en el diámetro de las células), la cual da un aspecto amarillento. Estas células, junto con las células teca-intersticiales circundantes y la invasión por la vascularización se entremezclan para originar el cuerpo lúteo (Guyton y Hall, 2001; Yen y col., 2001). La comunicación entre las células lúteas está dada por las uniones de hendidura (Krishna y col., 1986).

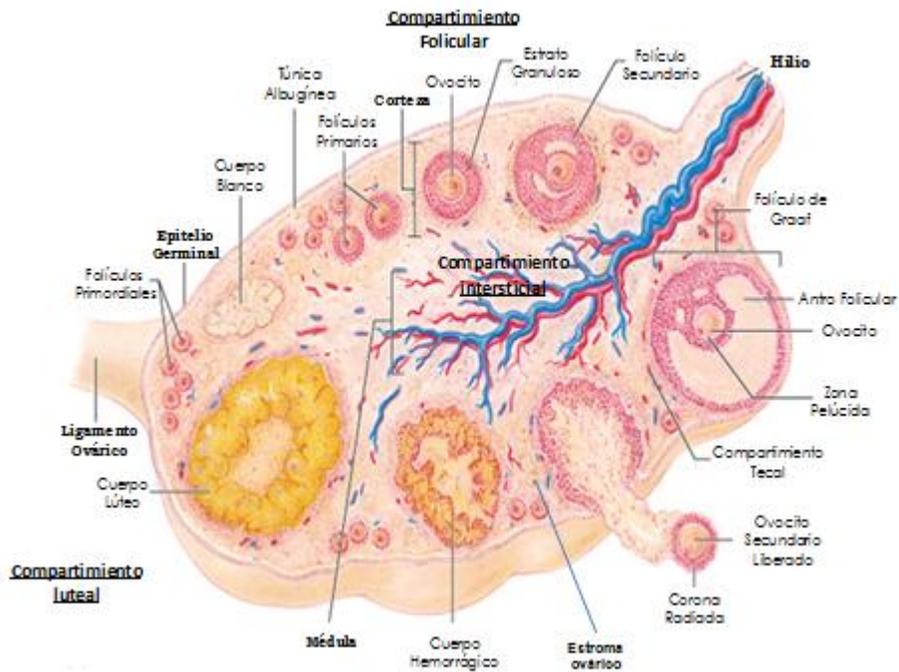
La regulación del cuerpo lúteo está a cargo de la hormona luteinizante (LH) y del factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I), el cual se encarga de promover la producción de estrógenos y progesterona en las células luteínicas humanas (Chun y col., 1996; Johnson y col., 1996). Se han localizado receptores a estrógenos y progesterona en el cuerpo lúteo por lo que se ha postulado que estas hormonas también regulan la función del cuerpo lúteo (Dinarello, 1984).

Después de que el cuerpo lúteo involuciona espontáneamente, es reemplazado por una cicatriz avascular, formada por fibras de colágeno abundantes conocida como cuerpo *albicans*. El cuerpo lúteo secreta grandes cantidades de progesterona (Yen y col., 2001).



**3.- El intersticial:** Se forma de las células de la teca de aquellos folículos que van a la atresia. Secreta andrógenos, principalmente androstenediona y testosterona, en respuesta al estímulo de la LH (Sánchez-Criado, 1999). La glándula intersticial se compone de cuatro clases principales de células, que se clasifican por sus características y posición en el ovario en:

- *Células Intersticiales Primarias:* Constituyen una población transitoria de células productoras de andrógenos localizada en el compartimiento medular del ovario fetal (Yeh y Adashi, 2001).
- *Células Teco-intersticiales:* Son el componente principal de la glándula intersticial que produce andrógenos (Yen y col., 2001), tras su diferenciación (adquisición de receptores a la LH), originan la teca interna y externa de los folículos (Sánchez-Criado, 1999).
- *Células Intersticiales Secundarias.* Cuando los folículos degeneran y van a la atresia, las células teco-intersticiales se transforman en células intersticiales secundarias las cuales mantienen su actividad esteroidogénica y son el blanco de la inervación noradrenérgica (Sánchez-Criado, 1999; Yeh y Adashi, 2001).
- *Células Intersticiales Hiliares.* Constituyen el hilio ovárico y se encuentran asociadas con fibras nerviosas simpáticas no mielinizadas (Yeh y Adashi, 2001).



**Figura 1.** Esquema que muestra las partes del ovario (corteza, médula e hilio), así como los compartimentos ováricos: compartimento folicular, luteal e intersticial (Tomado y modificado de Arechavaleta-Velasco y col., 2009).

## DESARROLLO FOLICULAR

La foliculogénesis se define como el proceso que comprende el crecimiento y la maduración de los folículos, dicho proceso no se detiene y culmina en la ovulación o en la atresia. La selección del o los folículos que van a ovular es diferente en cada una de las especies estudiadas. La mayoría de los folículos terminan en la atresia, proceso degenerativo que sufren la mayoría de los folículos presentes en el ovario de los vertebrados, mamíferos y no mamíferos (Ryan y Lee, 1976), el cual puede presentarse en cualquier etapa del desarrollo folicular siendo más frecuente en los folículos antrales (Domínguez y col., 1991; Hirshfield, 1991; Tresguerres, 2003).

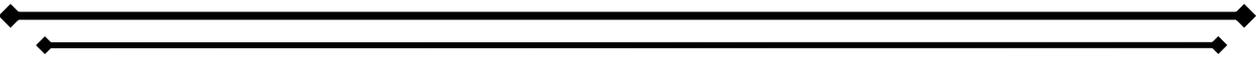


El folículo es la unidad anátomo-funcional del ovario (Yen y col., 2001) y está constituido por un ovocito I rodeado por células de la granulosa, la membrana basal que separa a las células de la granulosa de los otros componentes del folículo, y las células de la teca interna que rodean a la membrana basal (Freeman, 1994; Gore-Langton y Armstrong, 1994). Además de las células de la granulosa y las de la teca interna, el folículo está rodeado por un complejo sistema de fibras de colágeno, células del tejido conectivo, fibras musculares lisas las cuales forman la teca externa (Richards, 1978).

En la mujer, la foliculogénesis se inicia durante el periodo fetal después de la semana 16 de gestación (Yen y col., 2001). En la rata dicho proceso comienza poco después del nacimiento (24 horas de vida) y la población total de folículos queda establecida 48 horas después del nacimiento (Malamed y col., 1992).

Los estadios por los cuales pasan los folículos permiten clasificarlos en: *folículos primordiales, primarios, secundarios y preovulatorios o de Graaf.*

***Folículos primordiales.*** En la mujer los folículos primordiales se observan en el ovario fetal a partir de la semana 22 de gestación (Picton y col., 1999) y en la rata después del nacimiento. Este folículo es la unidad reproductiva fundamental del ovario y está formado por un ovocito de alrededor de 25  $\mu\text{m}$  de diámetro detenido en la etapa diploteno de la profase meiótica, rodeado por la membrana basal y por fuera de ella una única capa de células precursoras de las células de la granulosa (células foliculares), que acompañan al folículo desde su formación (Figura 2). Estos folículos se encuentran principalmente en la periferia de la corteza por debajo de la túnica albugínea (Italo y Pineda, 1988). Son los más numerosos y constituyen la reserva de folículos en reposo que durante la vida reproductiva van disminuyendo como resultado de dos procesos, la atresia o su reclutamiento a la fase de crecimiento (Van Voorhis, 1999).



**Folículos primarios o preantrales.** El proceso de transformación del folículo primordial en primario, implica el aumento del volumen del ovocito que casi triplica su tamaño inicial, debido a la síntesis de ADN y proteínas (Figura 2)(Italo y Pineda, 1988).

Los folículos primarios se aproximan a la médula ovárica y poseen un diámetro de alrededor de 200  $\mu\text{m}$ , que comienza a aproximarse a la médula ovárica para iniciar la formación de las células de la teca, las células foliculares pierden su configuración epitelial aplanada, apareciendo inicialmente con morfología cilíndrica, y proliferan hasta formar dos o tres capas de células de la granulosa por estímulos de la hormona estimulante del folículo (FSH) y de los estrógenos, los cuales actúan sinérgicamente (efecto mitogénico) (Domínguez y col., 1991). El ovocito y las células de la granulosa adyacentes quedan separados por una estrecha hendidura en la que se proyectan microvellosidades. En este espacio o hendidura se acumula un material amorfo que se condensa gradualmente formando la *zona pelúcida*, una capa glucoproteíca (Fawcett, 1995; Geneser, 2000).

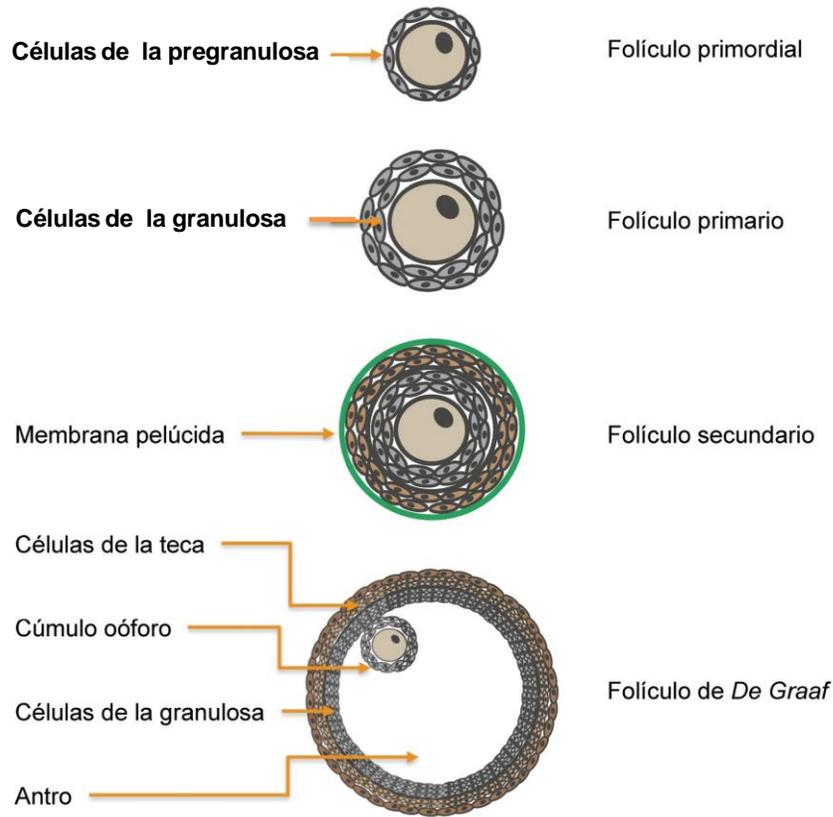
**Folículos secundarios o antrales.** En la figura 2 se observan los folículos secundarios, los cuales están conformados de varias capas de células de la granulosa las cuales se caracterizan por no tener aporte vascular directo, presentar abundante retículo endoplásmico rugoso y mitocondrias, además de estar interconectadas por extensas uniones de hendidura, lo cual resulta en un extenso sincitio integrado y funcional (Amsterdam y col., 1981; Domínguez y col., 1991). Durante esta etapa se forman espacios entre estas células por acumulación del líquido folicular, en el cual se encuentran FSH, LH, prolactina, estrógenos, progesterona y noradrenalina (Domínguez y col., 1991) y reciben el nombre de cuerpos de Call-Exner, que al fusionarse entre sí, forman un espacio amplio dentro de la granulosa, llamando antro folicular. Al mismo tiempo, el compartimiento tecal se diferencia en una teca interna y una externa (Ross y col., 2005).



La teca interna adquiere una rica vascularización y sus células tienen la capacidad de sintetizar hormonas esteroideas, mientras que la teca externa mantiene su naturaleza de tejido conectivo con células musculares lisas (Freeman, 1994; Fawcett, 1995; Silverthorn, 2008).

***Folículos de Graaf o preovulatorios.*** Su tamaño aumenta considerablemente debido a la acumulación rápida de líquido folicular y alcanzan un diámetro mayor a 500  $\mu\text{m}$ , caracterizados por la presencia del cúmulo oóforo y la corona radiada (Figura 2), los cuales se forman a partir de células de la granulosa y proporcionan nutrientes así como numerosos factores necesarios para el crecimiento del ovocito (Gore-Langton y Armstrong, 1994). El ovocito junto con el cúmulo oóforo es desplazado de modo gradual hacia una posición excéntrica de la cavidad folicular (Sánchez-Criado, 1999; Goldfien y Monroe, 2000). Las células de la granulosa de estos folículos presentan receptores a LH y alta producción de inhibina. En este estadio del desarrollo es cuando el folículo es capaz de ovular (Geneser, 2000).

Se caracterizan por una baja tasa mitótica de las células de la granulosa y altas concentraciones de hormonas en el fluido folicular, donde la síntesis de progesterona es estimulada por la LH, la prolactina y la noradrenalina, la cual actúa como mensajero a nivel central, informando que el folículo ha alcanzado su máximo nivel de maduración y que está en condiciones de ovular (Zsolnai y col., 1982; Hsueh y col., 1983).



**Figura 2.** Crecimiento y desarrollo del folículo. (Tomado y modificado de Arechavaleta-Velasco y col., 2009).

## LA OVULACIÓN

El crecimiento y diferenciación folicular culmina con la salida del ovocito secundario u ovocito en fase II del folículo de Graff, a este proceso se le conoce como ovulación (Domínguez y col., 1991).

Para que se lleve a cabo la ovulación se necesita que se de el aumento y la disminución brusca en la concentración de LH. El aumento en la liberación de LH es precedido por el aumento de estradiol en plasma, lo cual es estimulado por la FSH y LH a nivel folicular (Domínguez y col., 1991).



La ovulación es considerada como el resultado de un proceso inflamatorio localizado, ya que antes de que se produzca la salida del ovocito del folículo de Graff se produce un edema en la teca interna, muerte celular y aumentan las prostaglandinas en el área (Domínguez y col., 1991).

Dentro de los cambios que deben de ocurrir en la pared del folículo y en las células de la teca y granulosa para que se lleve a cabo la ovulación están:

1) La desaparición de los desmosomas que presentan las células de la granulosa y de la teca, así como la degradación de las fibras colágenas, provocada por la fibrinolisis sintetizada por las células de la granulosa (Domínguez y col., 1991). La desaparición de los desmosomas y los nexos entre las células de la granulosa trae como consecuencia la disminución de la concentración de estrógenos en el licor folicular y aumento de la progesterona (Espey y col., 1981; Driancourt y Cahill, 1984).

Las células de la teca liberan enzimas proteolíticas, que causan la disolución de la matriz colágena de un punto de la pared folicular con el consiguiente debilitamiento, lo que forma una pequeña protuberancia que recibe el nombre de estigma (una pequeña zona en el centro de la cápsula folicular de la superficie del ovario) (Guyton, 1989; Arias, 2003).

2) Simultáneamente se produce el crecimiento rápido de nuevos vasos sanguíneos en el interior de la pared del folículo, y al mismo tiempo aumenta la producción de prostaglandinas, lipoxinas, kininas, el factor de activación plaquetaria y otros agentes vasoactivos que provocan la dilatación de los capilares de la teca interna y de la pared del folículo, lo cual trae consigo que el tamaño del folículo incremente al cuádruple (Lawrence y Espey, 1999; Guyton y Hall 2001).



El ovario es una fuente importante de prostaglandinas entre ellas la PG-E2 y la PG-F2 $\alpha$  (Axel y col., 1977), las cuales tienen acción diferente y complementaria en la ovulación. La PG-E2 actúa sobre el tejido conjuntivo de la teca, provocando la lisis del colágeno, lo que facilita la ruptura del folículo (Thebault y col., 1983). Por otro lado, la PG-F2 $\alpha$  estimula las contracciones ováricas (Botella, 1987). Además las prostaglandinas modulan la acción intracelular de la LH mediante su acción sobre el AMPc (MacNatty y col., 1982; Rhodes y col., 1985).

Los factores antes mencionados producen trasudación de plasma al interior del folículo, que también contribuye a que éste aumente de tamaño. Finalmente, la combinación del aumento de tamaño del folículo con la degeneración simultánea del estigma hace que el folículo se rompa con la consecuente expulsión del ovocito.

En la mujer la liberación del ovocito se da en la mitad del ciclo menstrual, es decir, el día 14 de un ciclo de 28 días (Ross y col., 1997). En la rata, el ciclo estral es de cuatro o cinco días y la ovulación se produce en el día del estro vaginal (Ojeda y Urbanski, 1994). Para que ocurra la ovulación en la rata, se requiere que el folículo que va a llegar a ovular, se exponga por los menos a cuatro picos preovulatorios de gonadotropinas, de tal forma que después de tres o cuatro ciclos estrales ocurre la ovulación (Domínguez y col., 1991).

---

---

## ESTEROIDOGÉNESIS

Los principales esteroides sexuales producidos en el ovario son el estradiol y la progesterona, aunque también se producen pequeñas cantidades de estrona, androstenediona, testosterona y varias hormonas no esteroides, como la inhibina, activina y la relaxina (Tresguerres y col., 2003).

Todas las hormonas esteroides derivan del colesterol. El colesterol posee una estructura formada por tres anillos ciclohexano y un anillo ciclopentano, que fusionados se denomina núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno. Tal estructura posee grupos metilo en el C-10 y C-13, un grupo hidroxilo en el C-3 del anillo A, una cadena alifática ramificada de 8 carbonos en la posición C-17 del anillo D y una insaturación entre el C-5 y C-6 (Baynes y Dominiczak, 2006).

El colesterol utilizado para la producción de hormonas esteroides se obtiene principalmente de tres fuentes (Brown, 1999; Tresguerres y col., 2003).

- 1) Del que circula en la sangre unido a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) o alta densidad (HDL) y que es captado por un receptor en la superficie celular (Yoshinaga, 1999).
- 2) El que se sintetiza de *novo* en las mitocondrias del ovario a partir de acetil coenzima A (Berne y col., 1999).
- 3) El que se libera de los ésteres de colesterol almacenados en las gotas lipídicas (Yoshinaga, 1999).

La fuente principal de colesterol utilizado por el ovario deriva de la captación del colesterol lipoprotéico, concretamente de las lipoproteínas LDL (Brown y Goldstein, 1976). Las lipoproteínas se unen a receptores específicos de membrana y los complejos lipoproteína-receptor ingresan a las células por endocitosis (Anderson y col., 1977; Goldstein y col., 1979).

---

---

Para la síntesis de esteroides, las vesículas endocíticas se fusionan con los lisosomas, en los que se hidrolizan los ésteres de colesterol LDL y liberan el colesterol (Brown y col., 1975). El colesterol libre es reesterificado y almacenado en el citoplasma en gotas lipídicas. Cuando se necesita colesterol, los ésteres son hidrolizados y transportados a la mitocondria donde comienza la síntesis de esteroides (Yeh y Adashi, 2001). La proteína implicada en el transporte de colesterol al interior de la mitocondria, es la proteína transportadora o reguladora de la esteroidogénesis (StAR) (Yoshinaga, 1999).

Las señales para iniciar la síntesis de hormonas esteroides proceden de la presencia de la LH, que al unirse a su receptor en la membrana activa la síntesis intracelular de AMPc, que actúa como segundo mensajero (Pedernera, 1993).

El primer paso de la síntesis de las hormonas esteroides es la *conversión del colesterol (esteroide de 27 carbonos) a pregnenolona (esteroide de 21 carbonos)*, la cual comienza en la membrana interna de las mitocondrias. La reducción del número de carbonos se produce por oxidaciones catalizadas por enzimas de la familia de los citocromos P450 (Hinshelwood, 1999; Van Voorhis, 1999). La enzima que actúa en primer lugar es la P450<sub>scc</sub> (desmolasa), es decir la enzima que corta la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol, produciendo ácido isocaproico y pregnenolona (Brow, 1999). La P450<sub>scc</sub> se ha encontrado en los folículos y cuerpos lúteos de diferentes especies entre ellas humanos, gatas y ratas. El sistema enzimático que media la transformación es complejo, incluyendo tres enzimas, el citocromo P450<sub>scc</sub> propiamente dicho, una segunda proteína, la adenoxina, y una flavoproteína (NADPH: adenoxin reductasa), además de fosfolípidos que crean la interacción entre el colesterol y las enzimas. El proceso consume NADPH+H, y oxígeno molecular y ocurre sin liberación de productos intermediarios (Pedernera, 1993).

---

---

## RUTA $\Delta 4$ Y $\Delta 5$ DE LA ESTEROIDOGÉNESIS

Las dos rutas metabólicas de la pregnenolona son llamadas ruta  $\Delta 4$  ó  $\Delta 5$  y hacen referencia al número del carbono de la molécula esteroide que presenta el doble enlace (Figura 3) (Van Voorhis, 1999).

Una vez sintetizada la pregnenolona en las células de la teca interna del ovario, esta puede tomar dos rutas diferentes:

1.- **La ruta  $\Delta 4$  o de las cetonas**, es la vía de la enzima  $3\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa ( $3\beta$ -HSD), que se encarga de la conversión de pregnenolona a progesterona, por lo general esta ruta se presenta en el cuerpo lúteo (Brown, 1999; Van Voorhis, 1999). Esta vía la toman aquellas moléculas esteroides que tienen el enlace de insaturación en el C-4 y un grupo ceto en el C-3.

La pregnenolona se convierte a progesterona por acción de la  $3\beta$ -HSD, la cual provoca una deshidrogenación del grupo hidroxilo convirtiéndolo en cetona (carbono-3), además se produce una isomerización del doble enlace presente en la pregnenolona cambiándolo de posición del carbono 5 al 4.

La progesterona formada viaja a torrente sanguíneo para cumplir con sus funciones o por medio del complejo enzimático P450c17, es convertida a 17-hidroxiprogesterona.

2.- La ruta  $\Delta 5$ , conduce a la síntesis de andrógenos y estrógenos por medio de la vía del citocromo P450, 17 hidroxilasa, 17,20 liasa (P450c17). La P450c17 se localiza en el retículo endoplásmico de las células esteroidogénicas y es responsable de la conversión de pregnenolona a dehidroepiandrosterona (DHEA). Por lo general esta ruta se presenta en los folículos (Van Voorhis, 1999; Tresguerres, 2003). Esta vía la toman aquellas moléculas esteroides que tienen el doble enlace en la posición C-5 y un grupo hidroxilo en el C-3.

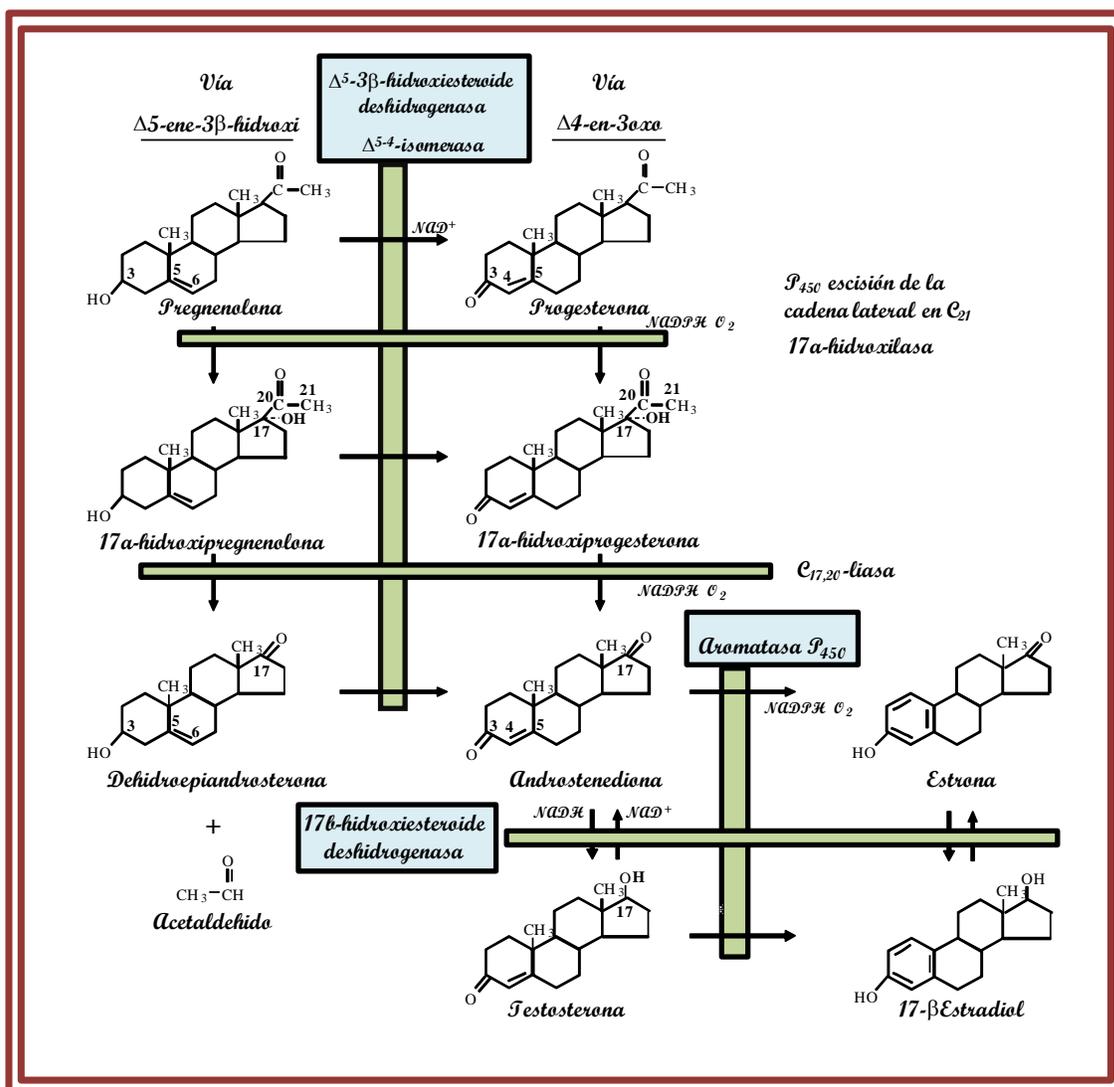


Figura 3. Ruta  $\Delta 4$  y  $\Delta 5$  de la esteroidogénesis (Tomado y Modificado de Yoshinaga, 1999).

---

---

## BIOSÍNTESIS DE ESTRÓGENOS

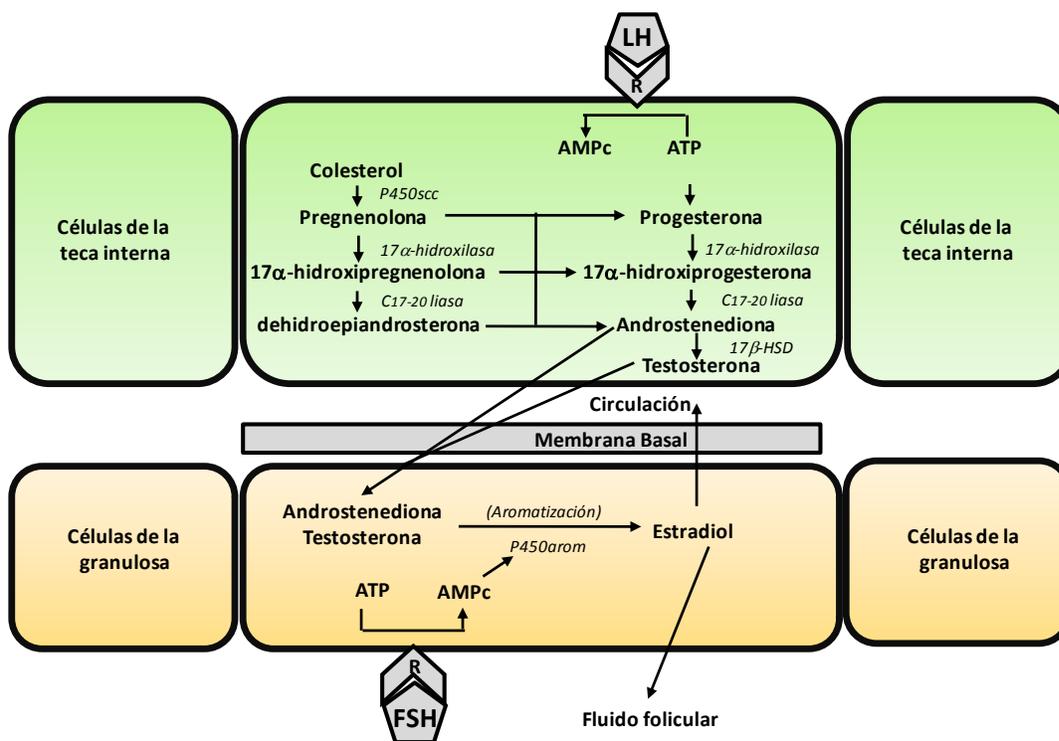
En la figura 4 se esquematiza La “teoría de la doble célula-doble hormona” que implica la cooperación de las células de la granulosa y las células tecales con las gonadotropinas (FSH y LH) en la síntesis de estrógenos (Falck, 1959; Adashi y col., 1994; Hillier y col., 1994).

Las células de la teca interna tienen las enzimas (17  $\alpha$ -hidroxilasa y 17,20-desmolasa) que les permiten sintetizar andrógenos, como la dehidroepiandrosterona y androstenediona a partir de la pregnenolona y progesterona respectivamente. El paso limitante en la biosíntesis de los andrógenos es la expresión del complejo P450c17, el cual es estimulado por la LH (Van Voorhis, 1999; Yen y col., 2001).

Las células de la granulosa constituyen el sitio primario de la aromatización (implica la pérdida del grupo metilo en el carbono-19 y la eliminación esteroideo-específica de los hidrógenos 1 $\beta$  y 2 $\beta$  del anillo A del precursor androgénico), además son el principal sitio de biosíntesis estrogénica en el folículo preovulatorio dominante. Esto sugiere que los andrógenos, principalmente la androstenediona, producida por las células tecales dependientes de LH, son el principal sustrato de la síntesis de estrógenos en células de la granulosa dependientes de FSH (Yen y col., 2001).

Los andrógenos, androstenediona y testosterona, atraviesan la membrana basal y son incorporados al citoplasma de las células de la granulosa. En las células de la granulosa la FSH se une a su receptor y aumenta la transcripción del gen de la aromatasa, la enzima específica en la síntesis de estradiol, lo que posibilita que los andrógenos sean aromatizados a estrógenos (Figura 4) (Pedernera, 1993; Gore-Langton y Armstrong, 1994). La acción de la FSH y LH es mediada por el sistema adenilato ciclasa (AMPC) (Yoshinaga, 1999).

## BIOSÍNTESIS DE ESTRÓGENOS “TEORÍA DE LA DOBLE CÉLULA- DOBLE HORMONA”



**Figura 4:** Biosíntesis de hormonas esteroides en el ovario, explicado a través de la “teoría de la doble célula-doble hormona” (Modificado de Adashi y Hsueh, 1981; Gore-Langton y Armstrong, 1994).

---

---

## ETAPAS DEL DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA

La rata nace con un estado de inmadurez, equivalente a los 150 días de gestación humana (5 meses) (Ojeda y col., 1980). El desarrollo de los mecanismos que participan en la regulación de la pubertad se producen en un lapso de cinco semanas en ese tiempo el peso corporal aumenta 15 veces y la longitud del cuerpo tres veces (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

Tomando en consideración parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados con los diferentes componentes del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, Ojeda y colaboradores (1980) propusieron una clasificación de las etapas del desarrollo postnatal de la rata hembra, que abarca desde el nacimiento hasta la apertura vaginal.

Con base en su propuesta el desarrollo prepuberal de la rata hembra se divide en cuatro etapas:

**1) Neonatal:** Esta etapa abarca desde el nacimiento, hasta el día 7 de vida y se caracteriza por la insensibilidad del ovario a las gonadotropinas (Peter, 1970). El crecimiento folicular se inicia de forma independiente a las gonadotropinas. La retroalimentación del estradiol no se establece claramente debido a la elevada concentración plasmática de la  $\alpha$ -feto proteína, que se une fuertemente a los estrógenos tornándolos biológicamente inactivos (Raynaud, 1973).

La concentración sérica de FSH empieza a aumentar y la de LH se mantiene igual (Dohler y Wuttke, 1974) (Figura 5). Al final de esta etapa se hace evidente la respuesta esteroideogénica del ovario a las gonadotropinas, debido a que entre el cuarto y quinto día comienzan a formarse los receptores de la FSH y dos días más tarde los de la LH (Lamprecht y col., 1976; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). La FSH al unirse a su receptor, estimula la síntesis de aromatasas y por ello la producción de estradiol a partir de la testosterona.

---

---

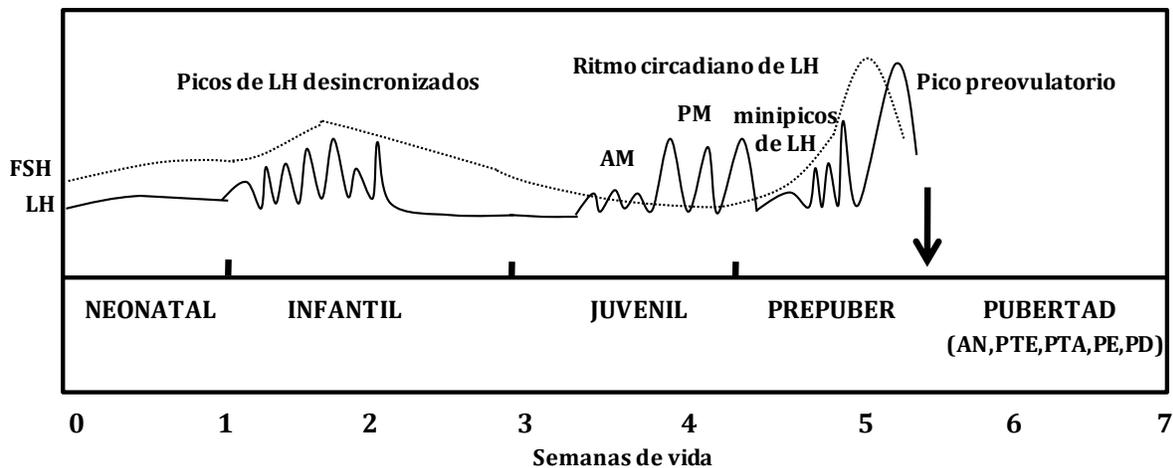
La concentración de prolactina es baja desde el nacimiento, esta hormona es un factor luteotrófico importante, capaz de mantener altas concentraciones de receptores ováricos a LH previamente inducidos por la FSH, también se ha descrito que tiene acción a nivel hipotalámico aumentando la tasa de recambio de dopamina (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

**2) Infantil:** Esta etapa abarca del día 8 al 21 de vida. Esta caracterizada por el aumento en la concentración de FSH, que alcanza su máxima concentración a los 12 días de edad y declina gradualmente a partir del día 15, por la presencia de elevaciones esporádicas de la concentración de la LH especialmente en las horas de la tarde (Figura 5). A medida que finaliza esta etapa, las elevaciones esporádicas dejan de producirse y la concentración tiende a disminuir (Dohler y Wuttke, 1974; Mackinnon y col., 1976; Wuttke y col., 1980). El aumento en la FSH estimula el crecimiento de los folículos que van a llegar a ovular en la pubertad (Hage y col., 1978; Ojeda y col., 1980).

**3) Juvenil:** Esta etapa abarca de los 22 a los 32 días de vida. A partir de esta etapa la concentración de FSH ha disminuido sensiblemente y en su comienzo las concentraciones de LH son bajas y constantes (Figura 5). A nivel ovárico se observa un aumento en el número de receptores a LH (Smith-White y Ojeda, 1981) que junto con el patrón de secreción pulsátil de la LH se traduce en una mayor esteroidogénesis. Hacia el final del periodo la concentración basal de LH es mayor que en las etapas anteriores, así como la amplitud de los pulsos que se producen durante la tarde, lo que establece un ritmo de secreción circadiano (Andrew y Ojeda, 1981; Meijs-Roelofs y col., 1983; Urbanski y Ojeda, 1983). Este hecho parece estar dirigido por el hipotálamo y no por los esteroides circulantes. El aumento gradual de la concentración de prolactina y la hormona de crecimiento (GH) facilita la acción estimuladora de las gonadotropinas (Ojeda y col., 1986).

**4) Peripuberal:** Esta etapa inicia en el día 33 de vida y culmina con la primera ovulación. En esta etapa se establece clara y regularmente el ritmo circadiano de LH, aumenta la frecuencia de sus pulsos de secreción lo que estimula el aumento en la producción de estradiol por parte de los ovarios. En el ovario se observa un número máximo de receptores para FSH y LH, lo que se traduce en una máxima respuesta esteroidogénica de la gónada (Ojeda y Urbanski, 1988).

En esta etapa las concentraciones de estradiol, progesterona y testosterona son mayores que en las etapas anteriores. Las concentraciones elevadas de los esteroides estimulan la liberación de GnRH por parte del hipotálamo, la cual actúa sobre la adenohipófisis y estimula la liberación de FSH y LH, los que ejercen su función sobre el ovario que resulta en la primera ovulación (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990) (Figura 5).



**Figura 5:** Secreción de LH y FSH a lo largo del desarrollo de la rata hembra. La pubertad se divide en 5 fases (Anaestro (AN), Proestro Temprano (PTE), Proestro Tardío (PTA), Primer Estro (PE) y Primer Diestro (PD)). (Tomado Modificado de Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990).

---

---

## LA PUBERTAD EN LA RATA

La pubertad se define como la etapa biológica en la que el individuo pasa de la inmadurez, a la madurez sexual (Ramírez, 1973; Ramaley, 1980). En esta etapa se produce la maduración anatómica y fisiológica del eje hipotálamo-hipófisis-gónada. El inicio de la pubertad depende de la información genética particular de cada individuo y de factores externos como la nutrición, los estímulos sociales, el fotoperíodo, la temperatura ambiental y las feromonas (Ramírez, 1973; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990; Ojeda y Urbanski, 1994).

En la actualidad se han identificado varios genes que actúan como reguladores de transcripción del proceso puberal (Ojeda, 2006). Entre ellos encontramos al Oct-2 por sus siglas en inglés (octamer transcription factor), es un regulador transcripcional de la familia “POU-domain” de genes “homeobox” (Treacy y Rosenfeld, 1992), cuando se impide su expresión con oligodeoxinucleótidos “antisentido” retrasa el inicio de la pubertad (Ojeda y col., 1999). Otro gen es el TTF-1 por sus siglas en inglés (Thyroid transcription factor-1), es necesario para la morfogénesis del diencefalo; la delección condicionada del gen TTF-1 en los subconjuntos de neuronas del hipotálamo donde normalmente se expresa, resulta en retraso puberal, la interrupción del ciclo estrogénico y disminución en la capacidad reproductiva (Mastronardi y col., 2004). Por último el gen EAP-I por sus siglas en inglés (Enhanced At Puberty) codifica una proteína, que se expresa en grupos de neuronas implicadas en la estimulación e inhibición de la secreción de GnRH. Cuando se impide la expresión del EAP-1 en el hipotálamo con ARNis, se retrasa la pubertad y se interrumpe el ciclo estrogénico (Heger y col., 2005).

---

Dependiendo de la cepa, en la rata hembra desde el nacimiento hasta alcanzar la pubertad transcurren entre 35 y 40 días. En la rata y en el ratón hembra el inicio de la pubertad se asocia con la apertura vaginal (Critchlow y Bar-sela, 1967). El signo exterior que señala el comienzo de la función reproductora es la apertura vaginal, la cual ocurre el día posterior a las elevaciones bruscas en la concentración de gonadotropinas y el frotis vaginal muestra células cornificadas típicas del primer estro (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990). A diferencia de lo que pasa en el hámster en donde la primera ovulación ocurre días antes a la apertura vaginal (Smith y Stetson, 1980).

Conforme la rata se acerca a la pubertad se producen una serie de cambios a nivel del eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En el hipotálamo se incrementa la secreción de la GnRH, que estimula la secreción de LH y FSH por la hipófisis (en donde sólo se necesita una tercera parte de lo que secreta la rata adulta), que tiene como resultado final un aumento en la secreción de estrógenos por parte de los ovarios (Foster y Ebling, 1999).

Según Ojeda y Urbansky (1994) en la rata, la serie de eventos que culmina con la apertura vaginal y la primera ovulación se caracteriza por cambios morfológicos y fisiológicos en el útero, los ovarios y la vagina que son indicativos de que está por iniciarse la *pubertad*. La etapa puberal se divide en las siguientes fases:

1) **Anaestro:** Esta fase de la pubertad es considerada como parte del periodo juvenil tardío porque los animales tienen de 30-32 días de edad (Ojeda y col., 1980). Corresponde a la fase en la cual hay un incremento en el número de receptores a LH, el útero es pequeño con un peso menor a 110 mg y no contiene fluido intrauterino. La vagina se mantiene cerrada y no hay signos de ovulación.



- 2) ***Proestro temprano:*** Los animales presentan un útero grande con un peso entre 120-190 mg lo cual se debe a la presencia de líquido intrauterino, la vagina aún se mantiene cerrada.
  
- 3) ***Proestro tardío:*** Esta fase corresponde al día del primer proestro. Los animales presentan el útero balonado, es decir con bastante fluido intrauterino lo que hace que este órgano alcance el peso máximo mayor a 200 mg. En los ovarios se observan folículos preovulatorios. En la tarde de ese día se observa la máxima concentración de estrógenos, lo que estimula la secreción de GnRH, por ende el pico preovulatorio de las gonadotropinas las cuales estimulan la maduración final de los folículos y la ovulación. La vagina aún permanece cerrada.
  
- 4) ***El primer estro:*** El útero es pequeño y no presenta fluido. Se presenta el día de la primera ovulación, por lo cual se encuentran cuerpos lúteos recién formados, se produce la canalización de la vagina y en la citología vaginal se observan células cornificadas.
  
- 5) ***Primer diestro:*** Es la última fase de la pubertad, la cual se presenta 1 ó 2 días después del estro, se caracteriza por la presencia de cuerpos lúteos maduros, además en la citología vaginal predominan los leucocitos.

---

---

## OVARIECTOMÍA UNILATERAL

En el estudio de los mecanismos de regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario se han utilizado diversos modelos experimentales. Entre ellos se encuentra la ovariectomía unilateral (eliminación de una gónada), en donde se han estudiado los cambios que se producen a nivel hormonal (Morales y col., 2007).

La ovariectomía unilateral (OUL), es un modelo experimental, frecuentemente usado para analizar la existencia de asimetría funcional entre los ovarios (Domínguez y col., 2003; Morales y col., 2007) y para estudiar las conexiones neurales entre los ovarios y el sistema nervioso central (Trujillo y col., 2004). La extirpación de un ovario, resulta tanto en el aumento de peso del ovario remanente, fenómeno denominado hipertrofia compensadora del ovario (HCO) (Burden y Lawrence, 1977; Trkulja y col., 2001, 2004), como en la liberación de un mayor número de ovocitos, semejante a los que ovularían ambos ovarios en una rata intacta ovulación compensadora (OC) (Chávez y Domínguez, 1994; Trujillo y col., 2004).

El fenómeno de HCO se ha explicado como resultado de la eliminación de una fuente importante de esteroides como lo es el ovario, lo que se traduce en modificaciones en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, donde la hipófisis libera mayor cantidad de FSH y de LH (Butcher, 1977) las cuales estimulan al ovario remanente e inducen el crecimiento folicular, disminuyen el porcentaje de atresia folicular y generan la liberación de un mayor número de ovocitos (Peppler y Greenwald, 1970).



La respuesta compensadora del ovario no sólo se ha explicado por las variaciones hormonales, sino también por mecanismos neuroendocrinos, donde la inervación del ovario modula la respuesta del ovario remanente a las gonadotropinas (Burden y Lawrence, 1977; Gerendai y col., 1978; Flores y col., 1990).

En la rata adulta, en respuesta a la OUL se presentan mayores concentraciones séricas de gonadotropinas. Hay quienes señalan que tanto la FSH como la LH se incrementan cuatro horas posteriores a la OUL (De Greef y col., 1975; Ackland y col., 1990), mientras que otros mencionan que la elevación es mayor para la FSH que para la LH, cinco horas post-cirugía (Welschen y Dullaart, 1974).

Butcher (1977) observa que la concentración de progesterona en la rata adulta hemiovariectomizada, resulta en una mayor concentración de la hormona 2 horas posteriores a la cirugía, mientras que la concentración de estradiol en el metaestro disminuye una hora después, con un aumento significativo a las 22 horas post-operación, por lo que el autor sugiere que en este modelo experimental la concentración de progesterona depende del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia. Contradictoriamente, Gerendai y colaboradores (1995) no observaron cambios en la concentración de progesterona nueve días después de la ovariectomía sin embargo, en este estudio no se consideró la etapa del ciclo estral en la que se realizó el estudio.



Barco y colaboradores en 2003 reportaron, que una hora después de la OUL realizada en el día del estro, la concentración de progesterona y estradiol en suero no depende del ovario extirpado. Cuando la OUL se realiza en el día del diestro 1, diestro 2 o proestro, las concentraciones de progesterona, testosterona y estradiol variaron en función del ovario extirpado y del día del ciclo estral en el que se realizó el estudio. Estos resultados indican que la respuesta asimétrica de los ovarios está en función del día del ciclo estral (Flores y col., 2005, 2006; Cruz y col., 2006).

En la rata prepúber con ovariectomía derecha, el ovario remanente (*in situ*) compensa el número de ovocitos liberados en el primero y segundo estro vaginal. En el animal adulto con OUL, la FSH estimula el reclutamiento de folículos antrales pequeños. Los autores sugieren que este reclutamiento podría explicar la ovulación compensadora que se observó en la rata púber. De igual manera, postulan que la actividad del ovario *in situ* no solo se duplica, sino que el organismo establece un nuevo balance entre las gonadotropinas y las funciones del ovario para que se llegue a la homeostasis (Meijs-Roelofs y col., 1984).

A partir de resultados previos en los que se realizó la OUL en la rata prepúber, se ha sugerido que la capacidad de cada ovario en las funciones ováricas compensatorias (OC y la HCO), así como su capacidad para la liberación de hormonas es diferente por el ovario izquierdo y derecho, además depende de la edad del animal en el cual se practica la OUL (Morales y col., 2007).

---

---

## INERVACIÓN OVÁRICA

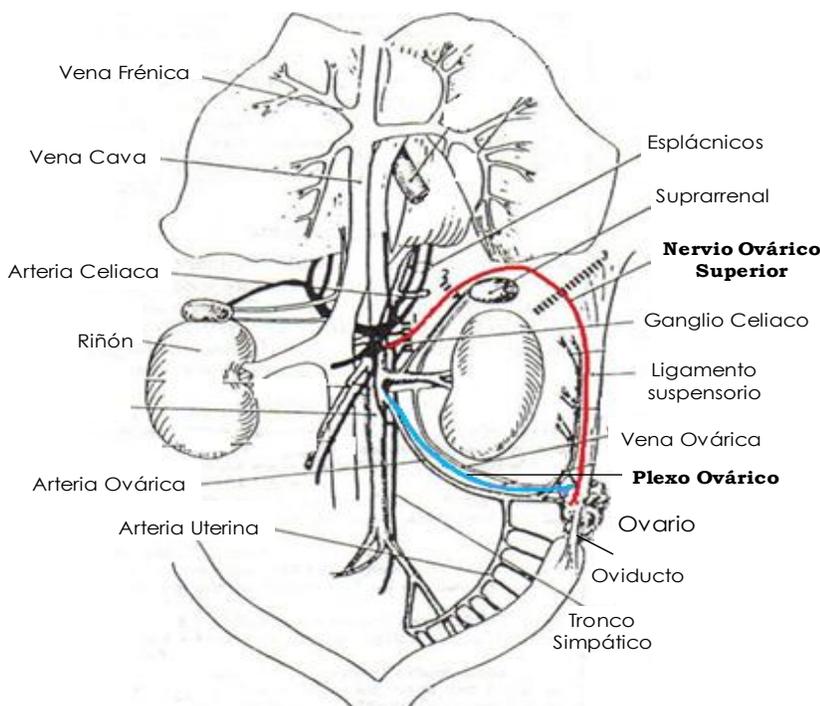
El ovario posee tanto inervación intrínseca, como extrínseca. La primera se conforma de ganglios, algunos de los cuales son catecolaminérgicos (Dees y col., 1995; D'Albora y col., 2002). Las neuronas positivas a tirosina hidroxilasa se localizan en la corteza y médula del ovario. En la rata la presencia de neuronas intraováricas depende de la cepa de rata estudiada, ya que algunas neuronas fueron identificadas en la cepa Wistar, pero no en la Long-Evans y Sprague-Dawley (D'Albora y col., 2000). La extrínseca está conformada por fibras simpáticas, parasimpáticas y sensoriales derivadas de neuronas que se encuentran en el sistema nervioso periférico y hacen multisinapsis con el SNC (Klein y Burden, 1988; Gerendai y col., 1998). Las fibras nerviosas que llegan al ovario, inervan los diferentes compartimentos ováricos incluyendo vasos sanguíneos, glándula intersticial y folículos en crecimiento (Owman y col., 1992; Dissen y Ojeda, 1999).

En la rata, la inervación ovárica simpática proviene de la porción torácica T11 al segmento lumbar L4 de la médula espinal y hace sinapsis con los ganglios celiaco y mesentérico superior (Dissen y Ojeda, 1999). Este tipo de inervación llega al ovario por medio del plexo ovárico (PO), que viaja a lo largo de la arteria ovárica y por el Nervio Ovárico Superior (NOS) que se encuentra asociado al ligamento suspensorio (Figura 6) (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999).

***PLEXO OVÁRICO (PO):*** El plexo ovárico viaja a lo largo de la arteria ovárica, está constituido en su mayoría por fibras de naturaleza sensorial, las cuales tienen una distribución perivascular y se encuentran más relacionadas con el flujo sanguíneo (Lawrence y Burden, 1980; Burden, 1985). Las fibras del PO transportan neurotransmisores como la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen que codifica para la síntesis de calcitonina (CGRP) (Klein y Burden, 1988; Dees y col., 1995).

**NERVIO OVÁRICO SUPERIOR (NOS):** Se origina en el ganglio celiaco mesentérico superior y está asociado con el ligamento suspensorio. Sus fibras penetran al ovario por medio del hilio, inervan células de la glándula intersticial, células de la teca interna y vasos sanguíneos (Burden, 1978; Lawrence y Burden, 1980).

El NOS está formado por fibras de naturaleza noradrenérgica, vipérgicas y otras que liberan el neuropéptido Y (NPY) (Burden, 1978; Lawrence y Burden, 1980; Ojeda y Lara, 1989). La noradrenalina (NA), el péptido intestinal vasoactivo (VIP) y el NPY participan en la regulación de la síntesis de las hormonas esteroides ováricas (Lawrence y Burden, 1980).



**Figura 6.** Esquema que muestra la inervación simpática del ovario conformada por el nervio ovárico superior (NOS) y el plexo ovárico (Tomado y Modificado de Lawrence y Burden, 1980).

Los neurotransmisores que viajan por el NOS participan en diversas funciones ováricas entre ellas tenemos que:

---

---

Las fibras que contienen el VIP se distribuyen en el tejido intersticial del ovario de la rata y se encuentran asociadas con las células de la teca y con los folículos en desarrollo (Davoren y Hsueh, 1985). En células de la granulosa de ovarios de ratas fetales o neonatales, el VIP estimula la actividad de las aromatasas, lo que resulta en una mayor síntesis de estradiol (Ahmed y col., 1986). Debido a que en los primeros cuatro días de vida, el ovario no presenta receptores a gonadotropinas, se ha propuesto que el VIP podría ser uno de los factores que inicia la diferenciación de los folículos (George y Ojeda, 1987).

El NPY estimula la liberación NA (Ferruz y col., 1992), la cual modula el efecto estimulante de las gonadotropinas sobre la secreción de esteroides (Hsueh y col., 1984). Las catecolaminas estimulan la esteroidogénesis ovárica vía la activación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos, lo que se traduce en una mayor síntesis de progesterona por parte de las células de la granulosa y luteales (Aguado y Ojeda, 1984a), y a su vez en una mayor secreción de andrógenos por parte de las células de la teca.

## **EFFECTOS DE LA DENERVACIÓN SIMPÁTICA SOBRE LAS FUNCIONES OVÁRICAS**

Evidencias experimentales apoyan la idea de que la HCO y las funciones del ovario como son la ovulación, el desarrollo folicular y la esteroidogénesis ovárica son moduladas por dos vías neurales; 1) la inervación simpática, por la vía del NOS y del PO; 2) y la inervación parasimpática, a través del nervio vago (Lawrence y Burden, 1980; Aguado y Ojeda, 1984a,b; Morales y col., 1993, 1998, 2007; Chávez y Domínguez, 1994; De Bortoli y col., 1998, 2000; Gerendai y col., 2000; Sosa y col., 2000, 2004; Delgado y col., 2004, 2006).

---

---

En la rata adulta la sección bilateral del NOS, provoca la disminución del 50% del contenido de NA ovárica (Lawrence y Burden, 1980). Un resultado semejante se observa cuando la sección del nervio se realiza en la rata prepúber, donde la caída de la amina es del 60%, acompañada por el incremento en el número de receptores  $\beta$ -adrenérgicos y el descenso agudo de la concentración de progesterona, sin que se observen modificaciones en el inicio de la pubertad y la primera ovulación (Aguado y Ojeda, 1984a).

Aguado y Ojeda (1984b) mostraron en ratas adultas que la sección bilateral del NOS realizada en la mañana del proestro, resulta en el descenso de la concentración de progesterona y estrógenos minutos después de la sección, disminución que se acompaña de una caída en la concentración de NA ovárica. Estos resultados han sido interpretados como que el NOS facilita la secreción de esteroides por el ovario.

Estudios previos de nuestro laboratorio muestran que tanto en la rata adulta, como en la prepúber la sección bilateral del NOS no modifica la cuota ovulatoria espontánea (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993). Cuando se realiza la sección unilateral del nervio, la gónada denervada libera un número menor de ovocitos. Este tipo de sección realizada en la rata prepúber provoca que en la gónada intacta se presente una respuesta compensadora semejante a lo que ocurre en el animal hemicastrado (Morales y col., 1993). Forneris y Aguado (2002) describieron que en la rata de 4 días de edad (neonata) la sección bilateral del NOS retrasa la edad de apertura vaginal y la del primer estro. Los autores sugieren que se debe a la disminución en la concentración de estradiol. Cuando estos animales son sacrificados en la etapa de prepúber, púber o adulta, las concentraciones de FSH aumentan significativamente, mientras que las de LH no se modifican. Los autores postulan que durante la etapa neonatal información que transcurre por el NOS es fundamental para que se de la regulación de la función ovárica en el animal adulto.

---

---

Estudios realizados *in vitro* utilizando el sistema *Ganglio Celiaco-NOS-Ovario Izquierdo*, muestran que la estimulación del ganglio con agentes colinérgicos y adrenérgicos estimulan la liberación de progesterona por parte del ovario y que los resultados varían dependiendo del día del ciclo estral en el que se obtienen los ovarios (Sosa y col., 2000, 2004).

Recientemente mostramos los efectos agudos y sub-agudos (30', 1, 5, 48, 72 h y el primer estro vaginal (PEV)) de seccionar el NOS, en donde observamos que en la rata juvenil y púber el nervio ovárico superior izquierdo se encuentra más comprometido con la secreción de testosterona y modula de forma estimulante la secreción de estradiol, mientras que el NOS derecho actúa inhibiendo la secreción de dicha hormona. Estas variaciones encontradas en la regulación de las hormonas esteroides podrían deberse a la cantidad de neurotransmisores que viajan por los nervios (izquierdo y derecho), los cuales se encuentran modulando la esteroidogénesis (Vieyra, 2007).

La estimulación eléctrica del NOS en la rata adulta en el día del estro vaginal, provoca la disminución en la secreción ovárica de estradiol, sin cambios cuando se realiza la estimulación del PO. Los autores postulan que la información simpática que viaja por el NOS tiene un rol inhibitorio en la secreción de estradiol (Kagitani y col., 2008).

Zhang y colaboradores (2010) describieron que en la rata neonata de 2 días de edad, la sección bilateral del NOS disminuye el número y tamaño de los folículos ováricos, aumenta la atresia folicular e incrementa las concentraciones de estradiol, sin que se modifique la de progesterona cuando los efectos son evaluados en la rata púber y adulta. Los autores postulan que la inervación simpática del ovario aportada por el NOS, es necesaria en la regulación del desarrollo folicular y de la función del ovario.

---

---

## MODELO DEL ANIMAL HEMIOVARIETOMIZADO SEGUIDO DE LA DENERVACIÓN SIMPÁTICA DEL OVARIO *IN SITU*

En el estudio de los mecanismos que regulan la ovulación, asociada con la hipertrofia compensadora del ovario, se ha utilizado el modelo de la rata hemiovariectomizada con sección unilateral del NOS o sección uni o bilateral del nervio vago (Chávez y col., 1987; Trkulja y Lackovic, 2001; Morales y col., 2007).

La regulación de las funciones ováricas por el nervio vago izquierdo es diferente al derecho. En la rata adulta, la ovariectomía unilateral derecha (OUL-D) seguida de la sección del vago izquierdo, resulta en el incremento en la tasa de animales ovulantes, en la hipertrofia y la ovulación compensadora, esta respuesta se invierte cuando el ovario derecho fue el *in situ*. Con estos resultados los autores concluyeron que en el animal hemiovariectomizado, las funciones del ovario dependen del vago seccionado y del ovario remanente (Chávez y col., 1987).

Trkulja y Lackovic (2001) mostraron que en la rata adulta la vagotomía bilateral bloquea la HCO siempre y cuando se realice inmediatamente después de la ovariectomía unilateral, ya que cuando han transcurrido más de cuatro horas, dicho efecto desaparece.

En la rata ovariectomizada del lado derecho a los 28 ó 32 días de edad la sección del nervio vago izquierdo resultó en la disminución en el porcentaje de HCO y del número de animales que ovularon al primer estro vaginal. Cuando el ovario extirpado fue el izquierdo y se seccionó el vago derecho, la ovulación compensadora fue mayor (Morales y col., 2007). La secreción de progesterona, testosterona y estradiol dependió del nervio seccionado, del ovario *in situ* y de la edad del animal cuando se realizó la cirugía. Estos resultados permitieron sugerir que en la rata prepúber con ovariectomía unilateral, el nervio vago regula de manera asimétrica la secreción de hormonas esteroideas, y varía con la edad del animal (Morales y col., 2007).



En la mayoría de los estudios relacionados con el NOS, las evaluaciones han sido en períodos largos y frecuentemente se ha utilizado a la rata adulta (Burden y Lawrence, 1977; Chávez y col., 1987; Chávez y Domínguez, 1994).

En ratas de 16 ó 32 días de edad la OUL-izquierda, acompañada de la sección del NOS derecho, resultó en una disminución de la proporción de animales ovulantes, donde sólo lo hizo el 30%, mientras que el 64% de los animales ovulan cuando el ovario extirpado es el derecho y se secciona el nervio ovárico izquierdo. Con estos resultados se ha sugerido que el proceso ovulatorio es modulado de manera asimétrica por la información neural que transcurre por el NOS (Morales y col., 1993).

En la rata adulta ovariectomizada, la sección del NOS inhibe la ovulación compensadora ovárica, mientras que la hipertrofia compensadora se presenta de manera asimétrica y depende del día del ciclo estral de la rata (Chávez y Domínguez, 1994).



## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

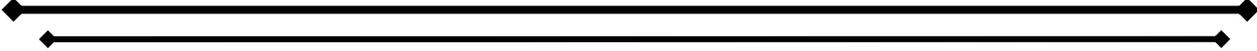
Las funciones del ovario, esteroidogénesis y ovulación son reguladas por el control hormonal del eje hipotálamo-hipófisis y por la inervación simpática aportada por el NOS. En ratas con ambos ovarios, el NOS regula de manera diferencial la esteroidogénesis ovárica, lo cual depende de la edad del animal y del momento en el que se realiza la denervación.

En el animal juvenil hemiovariectomizado no existen estudios que demuestren de que forma el NOS regula de forma inmediata la esteroidogénesis ovárica y si la capacidad de adaptación del ovario remanente depende o no de la inervación simpática. Por ello, en el presente estudio se analizó, en el modelo del animal juvenil con ovariectomía unilateral, los efectos agudos o sub-agudos de la sección del NOS del ovario remanente, en la regulación de la secreción de progesterona, testosterona, estradiol, FSH y LH que pudieran explicar el inicio de la pubertad y la primer ovulación.



## HIPÓTESIS

Dado que la secreción de las hormonas esteroides ovárica es regulada por la inervación extrínseca e intrínseca de las gónadas en forma asimétrica, y que la extirpación de un ovario resulta en la alteración de la información nerviosa que recibe el SNC, particularmente el hipotálamo, entonces la eliminación de la información simpática que transcurre por el NOS en animales con la extirpación de uno de los ovarios, modificará la secreción ovárica, lo cual dependerá del nervio seccionado, del ovario *in situ* y del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia.



## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar los efectos agudos y sub-agudos de la sección unilateral del nervio ovárico superior en ratas juveniles con ovariectomía unilateral sobre las funciones ováricas.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Estudiar los efectos agudos y sub-agudos de la sección unilateral del NOS en ratas juveniles con ovariectomía unilateral, sobre la concentración de progesterona, testosterona y  $17\beta$ -estradiol.
2. Estudiar los efectos agudos y sub-agudos de la sección unilateral del NOS en ratas juveniles con ovariectomía unilateral, sobre la concentración de LH y FSH.
3. Estudiar los efectos agudos y sub-agudos de la sección unilateral del NOS en ratas juveniles con ovariectomía unilateral, sobre la hipertrofia y ovulación compensadora.
4. Estudiar los efectos de la sección unilateral del NOS en ratas hemiovariectomizadas, sobre el inicio de la pubertad y la ovulación espontánea.

---

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembras prepúberes de la cepa CIIZ-V mantenidas bajo condiciones controladas de iluminación 14 h de luz por 10 h de oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h) y temperatura  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ . En todos los casos se siguió lo establecido por la Ley Mexicana de Protección Animal para el uso de Animales de Experimentación. El Subcomité del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM aprobó el protocolo experimental. Al nacimiento, las crías fueron colocadas en camadas de 6 individuos por caja, cinco hembras y un macho, con agua y alimento *ad libitum* y con libre acceso a la madre hasta el momento del destete (24 días). A los 32 días de edad las hembras se asignaron al azar a uno de los siguientes grupos experimentales conformados de 8 a 10 animales por grupo.

### **GRUPOS EXPERIMENTALES**

#### **➤ Grupo Testigo Absoluto (TA)**

Se conformó por grupos de 10 ratas intactas sacrificadas a los mismos tiempos que los grupos experimentales.

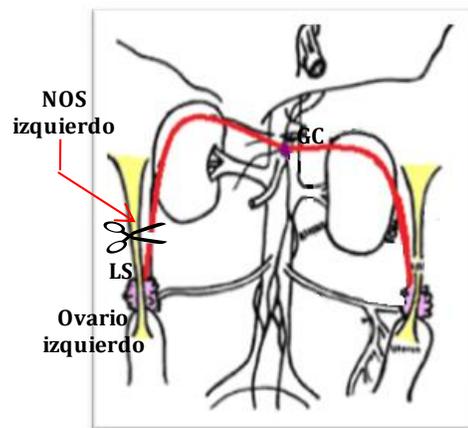
#### **➤ Grupo con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD)**

Ratas de 32 días de edad fueron anestesiadas con éter etílico, se les practicó una incisión dorso-lateral del lado derecho o izquierdo de aproximadamente 1 cm que abarcó piel y músculo (laparotomía), sin tocar órganos internos. Terminada la laparotomía se suturó la herida, las ratas permanecieron por un lapso de 10 minutos en cajas separadas para su restablecimiento, pasado el tiempo fueron colocadas en sus cajas de origen.

### ➤ Grupos con operación simulada seguida de la sección del NOS

Las ratas fueron anestesiadas con éter etílico y se les practicó una operación simulada derecha (OSD), inmediatamente después se identificó el ligamento suspensorio del ovario izquierdo y se seccionó el nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) aproximadamente a una distancia de un cm del ovario. El ovario fue retornado a la cavidad abdominal y se suturó la herida (Figura 7).

A otro grupo de ratas se les practicó una operación simulada izquierda (OSI), inmediatamente después se seccionó el nervio ovárico superior derecho (SNOD). El ovario fue retornado a la cavidad abdominal y se suturó la herida.

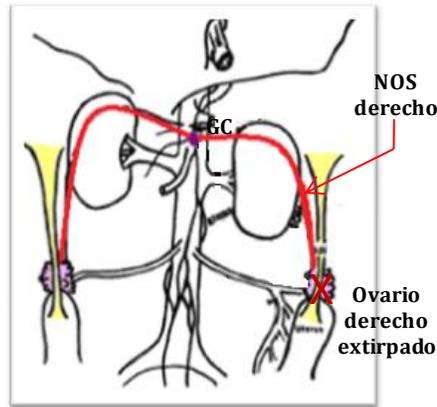


**Figura 7.** Esquema que muestra el lugar en donde se realizó la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI). Ligamento suspensorio (LS); Ganglio celiaco (GC) (Tomado y Modificado de Klein y Burden, 1988).

### ➤ Grupos con ovariectomía unilateral seguida de la operación simulada

Las ratas fueron anestesiadas con éter etílico y se les practicó una incisión dorso-lateral de aproximadamente 1 cm, que abarcó piel y músculo por donde se exteriorizó el ovario derecho y se procedió a su extirpación (*ovariectomía unilateral derecha, OUL-D*), inmediatamente después del lado contralateral se realizó una operación simulada izquierda (OSI). Terminada la cirugía se suturó la herida (Figura 8).

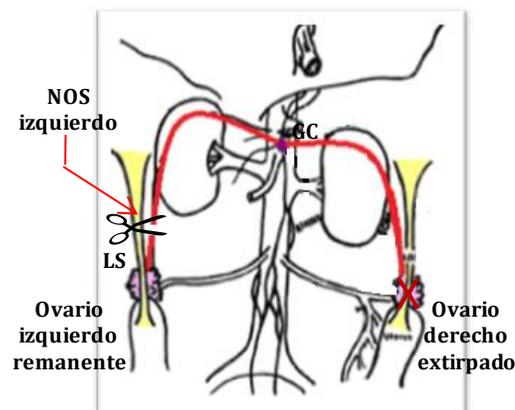
A otro grupo de ratas se le extirpó el ovario izquierdo (*ovariectomía unilateral izquierda, OUL-I*), inmediatamente después del lado contralateral, se realizó una operación simulada derecha (OSD). Terminada la cirugía se suturó la herida.



**Figura 8.** Esquema que muestra la extirpación del ovario derecho (OUL-D). Ligamento suspensorio (LS); Ganglio celiaco (GC) (Tomado y Modificado de Klein y Burden, 1988).

➤ **Grupos con ovariectomía unilateral seguida de la sección del NOS en el ovario *in situ***

A ratas anestesiadas con éter etílico se les practicó la OUL-D o la OUL-I, siguiendo la metodología previamente descrita. En el mismo acto quirúrgico, se identificó el ligamento suspensorio del ovario izquierdo y se seccionó el nervio ovárico superior izquierdo (*SNOI*) o derecho (*SNOD*). Terminada la cirugía se procedió a suturar la herida (Figura 9).



**Figura 9.** Esquema que muestra la extirpación del ovario derecho (OUL-D) seguida de la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI). Ligamento suspensorio (LS); Ganglio celiaco (GC) (Tomado y Modificado de Klein y Burden, 1988).

---

---

## **PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA**

Los animales control y experimental fueron pesados y sacrificados por decapitación a los 30 minutos, 1, 5, 48 ó 72 horas post-cirugía y en la mañana del día del primer estro vaginal (PEV).

Se colectó la sangre del tronco del animal y se centrifugó a 3,000 gravedades (xg) durante 15 minutos. Se separó el suero y se almacenó a -20°C hasta el momento de la cuantificación de progesterona, testosterona, estradiol, LH y FSH por radioinmunoanálisis (RIA). En aquellos grupos de animales sacrificados en el PEV, se disecaron los oviductos y se buscó la presencia de ovocitos, los cuales fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Se disecaron y pesaron los ovarios y el útero

## **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES**

Las concentraciones en suero de progesterona, testosterona, y estradiol fueron cuantificadas por RIA de fase sólida, mediante estuches comerciales Coat-A-Count (Diagnostic Products, Los Ángeles, CA, USA). En tubos de polipropileno que ya contienen el anticuerpo específico: anti-progesterona o anti-estradiol se adicionó 100µl de la muestra problema, en el caso de los tubos que contenían anti-testosterona se adicionó 50µl de la muestra. En todos los casos, se adicionó 1 ml de la hormona marcada con I<sup>125</sup>. Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente. Luego se decantó el sobrenadante y se determinó la cantidad de radiactividad con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005, (Packard). Mediante una curva estándar se calculó la concentración de hormona en la muestra problema. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml, mientras que la de testosterona y estradiol en pg/ml en suero.

---

Los coeficientes de variación intra e interespecíficos fueron 8.35% y 9.45% para progesterona, 9.65% y 10.2% para testosterona y 8.12% y 9.28% para estradiol. La sensibilidad del análisis fue de 0.02 ng/ml para progesterona, de 4 ng/ml para testosterona y de 8 pg/ml para estradiol.

### **CUANTIFICACIÓN DE HORMONAS PROTEÍCAS (FSH Y LH)**

Las mediciones de FSH y LH se realizaron por RIA de doble anticuerpo. Se procedió de la siguiente manera: a 100 µl de suero problema se le añadieron 100 µl de hormona marcada con I<sup>125</sup>, posteriormente se le adicionó el anticuerpo contra FSH o LH respectivamente. Con la finalidad de realizar las curvas patrón se utilizaron los estándares para LH (rLH-RP2) o para FSH (rFSH-RP2) según sea el caso. Después se incubó a temperatura ambiente por 24 horas.

A continuación se agregaron 100 µl del segundo anticuerpo suplementado con suero normal de conejo y se incubó durante dos horas, posteriormente los tubos se centrifugaron a 3000 gravedades (xg) a 4 °C por 40 minutos, el sobrenadante fue decantado, se secaron las paredes de cada tubo y fueron analizadas en un contador gamma Cobra 5005 (Packard USA):

Las concentraciones de FSH y LH se expresaron en ng/ml de suero. Los coeficientes de variación inter e intraespecíficos fueron 5.1% y 6.5% para LH y 4% y 7.9% para FSH. La sensibilidad del análisis fue de 0.02 ng/ml para LH y de 0.1 ng/ml para FSH

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

---

---

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados del peso corporal, el peso de órganos (ovarios y útero), las concentraciones de hormonas esteroides y de gonadotropinas fueron analizados por un Análisis de Varianza Multifactorial (ANDEVA) seguida de la prueba de Tukey. La edad de apertura vaginal, del PEV y el número de ovocitos liberados, la hipertrofia compensadora y la ovulación compensadora se analizaron por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunn's o de U de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes (número de animales que ovulan/ el número total de animales) se analizó por la prueba exacta de Fisher para proporciones o de Ji<sup>2</sup>. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05. Cuando se realizó la comparación entre dos grupos se utilizó la prueba "t" de Student.

La Hipertrofia Compensadora del ovario *in situ* (**HCO**) fue calculada de acuerdo a la metodología descrita previamente por Morales y col., 1993; y Chávez y Domínguez, 1994.

La HCO se calculó de forma diferente, dependiendo del tiempo de evolución:

En los animales sacrificados en tiempos cortos (agudos), es decir 30 min, 1 ó 5 horas, se aplicaron las siguientes formulas:

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

**A** = el peso del ovario *in situ* de animales con OUL-D o OUL-I seguida de la sección contralateral del NOS.

**B** = la media del peso del ovario extirpado de animales con OUL-D o OUL-I

En los animales sacrificados en tiempos largos (sub-agudos), es decir 48, 72 horas o al PEV, se aplicaron de la siguiente manera:

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

Para el cálculo de la HCO de los grupos OUL-D+SNOI o OUL-I+SNOD se consideró:

A = el peso del ovario *in situ*

B = la media del peso del ovario izquierdo o derecho de sus grupos de comparación (OSD+SNOI o OSI+SNOD).

Para el cálculo de la HCO de los grupos OUL-D+OSI o OUL-I+OSD, se consideró:

A = el peso del ovario *in situ*

B = la media del peso del ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada bilateral (OSB).

En el cálculo de la ovulación compensadora del ovario *in situ* (OC) de animales sacrificados al PEV, se aplicó la siguiente fórmula:

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

Para el cálculo de la OC de los grupos con OUL-D+OSI o OUL-I+OSD se considero:

A = el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ*

B = la media del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de animales con operación simulada bilateral (OSB).

Para el cálculo de la OC de los grupos OUL-D+SNOI o OUL-I+SNOD se considero:

A = el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ*

B = la media del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo o derecho de sus grupos de comparación (OSD+SNOI o OSI+SNOD).

---

# **RESULTADOS**

## **EXPERIMENTO 1**

### **EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN LA RATA CON OPERACIÓN SIMULADA SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD Y LAS FUNCIONES OVÁRICAS**

En este apartado se analizó en la rata juvenil sometida a una laparotomía la participación del NOS (izquierdo y derecho), en la secreción de hormonas esteroides y de gonadotropinas al inicio de la pubertad.

#### **INICIO DE LA PUBERTAD**

La sola operación simulada derecha o izquierda o combinada con la sección del NOS contralateral, no modificó el peso corporal de los animales sacrificados al primer estro vaginal. La operación simulada derecha retrasó la edad del primer estro vaginal, comparada con el grupo testigo absoluto, sin cambios en la edad de apertura vaginal, mientras que la operación simulada izquierda no modificó dichos parámetros. En el animal con operación simulada derecha o izquierda seguida de la sección del NOS contralateral no se modificó el inicio de la pubertad, el número de ovocitos liberados, ni la tasa de animales ovulantes (TAO) (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Media  $\pm$  e.e.m del **peso corporal** (mg), **de la edad de apertura vaginal** (EAV), **primer estro vaginal** (PEV) y **número de ovocitos liberados** por el ovario izquierdo o derecho de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida o no de la sección contralateral del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.

GRUPOS	(n)	Peso Corporal (mg)	Edad de Apertura Vaginal	Primer Estro Vaginal	Número de ovocitos liberados por ovario		Total	TAO
					Izquierdo	Derecho		
TA	10	116.3 $\pm$ 6.5	36.5 $\pm$ 0.4	37.4 $\pm$ 0.6	3.5 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.6	8/10
OSD	10	111.0 $\pm$ 5.0	38.0 $\pm$ 0.8	40.2 $\pm$ 1.2 $\blacklozenge$	4.1 $\pm$ 0.7	4.8 $\pm$ 0.4	8.0 $\pm$ 1.0	9/10
OSD+SNOI	10	115.0 $\pm$ 2.4	38.1 $\pm$ 0.5	39.5 $\pm$ 0.7	4.5 $\pm$ 0.4	3.2 $\pm$ 0.6	7.2 $\pm$ 0.8	8/10
OSI	10	109.0 $\pm$ 6.0	37.2 $\pm$ 0.6	38.0 $\pm$ 0.9	5.1 $\pm$ 1.0	4.7 $\pm$ 0.5	9.2 $\pm$ 1.6	8/10
OSI+SNOD	6	106.0 $\pm$ 2.5	37.6 $\pm$ 1.2	39 $\pm$ 0.6	3.5 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.3	6.7 $\pm$ 0.5	4/6

$\blacklozenge$ p<0.05 vs. TA (ANDEVA seguida de Tukey).

## HORMONAS ESTEROIDES Y GONADOTROPINAS

En los animales con operación simulada derecha o izquierda, sacrificados al primer estro vaginal, la concentración de **progesterona** y **estradiol** en suero disminuyó respecto al testigo absoluto (Cuadro 2).

La operación simulada derecha resultó en una mayor concentración de **testosterona** y menor de **FSH**, mientras que la operación simulada izquierda aumentó la secreción de **LH** (Cuadro 2).

En el animal con operación simulada más la sección del NOS izquierdo o derecho disminuyó la concentración de **testosterona** y aumentó la de **FSH**, respecto a su grupo con operación simulada. La sección del NOS derecho en la rata con operación simulada izquierda provocó el aumento en la concentración de **progesterona** y disminución en la **LH** (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Media  $\pm$  e.e.m de la **concentración de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T), estradiol (E<sub>2</sub>), FSH y LH en suero** de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida o no de la sección contralateral del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas al **primer estro vaginal (PEV).**

GRUPOS	ESTEROIDES			GONADOTROPINAS	
	P <sub>4</sub> (ng/ml)	T (pg/ml)	E <sub>2</sub> (pg/ml)	FSH (ng/ml)	LH (ng/ml)
TA	8.6 $\pm$ 1.0	14.0 $\pm$ 2.2	43.7 $\pm$ 3.6	7.1 $\pm$ 2.0	0.40 $\pm$ 0.08
OSD	3.9 $\pm$ 0.5 $\blacklozenge$	35.0 $\pm$ 4.9 $\blacklozenge$	15.5 $\pm$ 1.6 $\blacklozenge$	0.6 $\pm$ 0.2 $\blacklozenge$	0.46 $\pm$ 0.06
OSD+SNOI	3.5 $\pm$ 0.6	10.2 $\pm$ 1.7 *	12.5 $\pm$ 1.9	5.5 $\pm$ 0.8 *	0.51 $\pm$ 0.05
OSI	4.4 $\pm$ 0.9 $\blacklozenge$	19.6 $\pm$ 3.0	15.8 $\pm$ 2.2 $\blacklozenge$	3.7 $\pm$ 1.2	0.71 $\pm$ 0.06 $\blacklozenge$
OSI+SNOD	8.7 $\pm$ 1.6 *	9.2 $\pm$ 2.8 *	17.6 $\pm$ 3.1	12.3 $\pm$ 3.2 *	0.22 $\pm$ 0.02 *

$\blacklozenge$ p < 0.05 vs. TA; \*p < 0.05 vs. su respectiva operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) (ANDEVA seguida de Tukey).

## MASA OVÁRICA

En ratas con operación simulada unilateral sacrificadas 48 horas posteriores a la cirugía, la masa ovárica fue mayor que el grupo testigo absoluto (Cuadro 3).

Con respecto al grupo con operación simulada derecha, en la rata con con sección del NOS izquierdo, la masa ovárica fue mayor a los 30 minutos, a la hora o al primer estro vaginal, y fue menor a las 48 horas post-cirugía (Cuadro 3).

Una hora después de la sección del NOS derecho en el animal con OSI, la masa ovárica fue mayor que el grupo con OSI, efecto inverso se observó a las 48 horas (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Media  $\pm$  e.e.m de la masa ovárica de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida o no de la sección contralateral del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los **30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).**

MASA OVÁRICA (mg)						
GRUPOS	AGUDOS			SUB-AGUDOS		
	30´	1 h	5 h	48 h	72 h	PEV
TA	20.6 $\pm$ 2.1	20.6 $\pm$ 2.1	18.0 $\pm$ 1.1	13.3 $\pm$ 1.2	20.0 $\pm$ 1.7	26.9 $\pm$ 2.3
OSD	17.3 $\pm$ 0.3	17.4 $\pm$ 1.1	18.6 $\pm$ 1.1	21.5 $\pm$ 1.4 $\blacklozenge$	19.0 $\pm$ 0.7	27.4 $\pm$ 1.1
OSD+SNOI	21.7 $\pm$ 0.9*	22.1 $\pm$ 0.8*	18.1 $\pm$ 0.6	15.6 $\pm$ 1.3*	21.3 $\pm$ 1.0	34.4 $\pm$ 2.0*
OSI	17.9 $\pm$ 0.6	18.3 $\pm$ 1.0	20.2 $\pm$ 1.1	25.0 $\pm$ 1.3 $\blacklozenge$	18.4 $\pm$ 1.2	29.6 $\pm$ 1.8
OSI+SNOD	18.7 $\pm$ 1.2	27.7 $\pm$ 0.4*	19.4 $\pm$ 1.1	15.4 $\pm$ 1.2*	23.0 $\pm$ 2.3	31.8 $\pm$ 5.4

$\blacklozenge$ p < 0.05 vs. TA; \*p < 0.05 vs. su respectiva operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) (ANDEVA seguida de Tukey).

## PESO DEL ÚTERO

En las hembras con operación simulada derecha, sacrificadas al primer estro vaginal, el peso del útero fue menor que el grupo testigo absoluto. Con la OSI, el peso del útero fue mayor a las 72 horas post-cirugía (Cuadro 4).

La sección del NOS izquierdo en el animal con OSD, resultó en un mayor peso del útero que el grupo con OSD, cuando los animales fueron sacrificados al primer estro vaginal. En los animales con OSI la sección del NOS derecho resultó en un aumento del peso del útero a la hora post-cirugía, y fue menor a las 48 horas, respecto a su grupo de comparación (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Media  $\pm$  e.e.m del peso húmedo del útero (mg) de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida o no de la sección contralateral del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los **30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).**

PESO HÚMEDO DEL ÚTERO ( mg)						
	AGUDOS			SUB-AGUDOS		
GRUPOS	30´	1 h	5 h	48 h	72 h	PEV
TA	58.5 $\pm$ 5.2	58.56 $\pm$ 5.2	57.92 $\pm$ 5.5	83.6 $\pm$ 12.9	71.9 $\pm$ 6.6	150.6 $\pm$ 8.5
OSD	54.6 $\pm$ 3.4	65.2 $\pm$ 8.3	61.6 $\pm$ 8.4	50.4 $\pm$ 3.7	65.1 $\pm$ 10.2	124 $\pm$ 7.5 $\blacklozenge$
OSD+SNOI	64.9 $\pm$ 4.0	57.3 $\pm$ 4.1	37.1 $\pm$ 7.1	48.7 $\pm$ 6.24	62.4 $\pm$ 4.2	150 $\pm$ 9.0*
OSI	55.3 $\pm$ 6.3	49.0 $\pm$ 4.1	72.7 $\pm$ 7.0	81.4 $\pm$ 5.1 $\blacklozenge$	141 $\pm$ 11.0 $\blacklozenge$ $\blacklozenge$	145.9 $\pm$ 8.5
OSI+SNOD	56.7 $\pm$ 3.6	94.5 $\pm$ 9.2*	58.5 $\pm$ 10.6	51.6 $\pm$ 3.6*	114.2 $\pm$ 16.6	139.2 $\pm$ 9.8

$\blacklozenge$ p < 0.05 vs. TA; \*p < 0.05 vs. su respectiva operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI);  $\blacklozenge$ p < 0.05 vs. OSD (ANDEVA seguida de Tukey).



## EXPERIMENTO 2

### EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN LA RATA CON OVARIECTOMÍA UNILATERAL SOBRE EL INICIO DE LA PUBERTAD Y LAS FUNCIONES OVÁRICAS

En este experimento, se estudio el papel del NOS en la rata juvenil con un solo ovario sobre la secreción de hormonas ováricas y de gonadotropinas al inicio de la pubertad, así como la respuesta compensadora del ovario *in situ*.

#### INICIO DE LA PUBERTAD

En las ratas con OUL seguida de la sección del nervio ovárico superior o de la operación simulada no se modificó el peso corporal (Cuadro 5).

En los animales con ovariectomía derecha o izquierda la sección del nervio ovárico superior no modificó la edad de apertura vaginal, ni la edad del primer estro (Cuadro 5). En las ratas con OUL seguidas de la operación simulada o de la sección del NOS, el ovario *in situ* liberó un número mayor de ovocitos, en comparación con el ovario denervado de los animales con operación simulada (Cuadro 6). En la rata con ovariectomía unilateral derecha la sección del NOS izquierdo aumentó el número de ovocitos liberados por el ovario *in situ* en comparación con OUL-D+OSI (Cuadro 6). La sección del NOS derecho en la rata con OUL-I disminuyó el número de animales ovulantes, sin modificaciones en el número de ovocitos liberados (Cuadro 6).

**Cuadro 5.** Media  $\pm$  e.e.m del **peso corporal** (mg), de la **edad de apertura vaginal** (EAV), **primer estro vaginal** (PEV), de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección contralateral del NOS o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.

GRUPOS	Peso corporal (mg)	(n)	Edad de apertura vaginal	Edad del primer estro
TA	116.3 $\pm$ 6.5	10	36.5 $\pm$ 0.4	37.4 $\pm$ 0.6
OSD+SNOI	115.0 $\pm$ 2.4	10	38.1 $\pm$ 0.5	39.5 $\pm$ 0.7
OUL-D+OSI	111.4 $\pm$ 5.3	10	38.7 $\pm$ 0.6	40.6 $\pm$ 0.9
OUL-D+SNOI	117.7 $\pm$ 2.6	9	38.5 $\pm$ 0.8	39.3 $\pm$ 1.0
OSI+SNOD	106.0 $\pm$ 2.5	6	37.6 $\pm$ 1.2	39 $\pm$ 0.6
OUL-I+OSD	114.5 $\pm$ 6.5	10	38.9 $\pm$ 0.4	39.7 $\pm$ 0.8
OUL-I+SNOD	105.0 $\pm$ 4.6	10	38.3 $\pm$ 0.9	38.4 $\pm$ 1.3

**Cuadro 6.** Media  $\pm$  e.e.m del **número de ovocitos liberados** por el ovario izquierdo o derecho y **tasa de animales ovulantes (TAO)**, de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección contralateral del NOS o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.

GRUPOS	Número de ovocitos liberados		Total	TAO
	Izquierdo	derecho		
TA	3.5 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.5	7.7 $\pm$ 0.6	8/10
OSD+SNOI	4.5 $\pm$ 0.4	3.2 $\pm$ 0.6	7.2 $\pm$ 0.8	8/10
OUL-D+OSI	8.1 $\pm$ 0.9	-	8.1 $\pm$ 0.9	6/10
OUL-D+SNOI	10.5 $\pm$ 0.5 *	-	10.5 $\pm$ 0.5	9/9
OSI+SNOD	3.5 $\pm$ 0.5	4.3 $\pm$ 0.3	6.7 $\pm$ 0.5	4/6
OUL-I+OSD	-	8.3 $\pm$ 0.8	8.3 $\pm$ 0.8	9/10
OUL-I+SNOD	-	8.0 $\pm$ 1.3	8.0 $\pm$ 1.3	5/10♦

\*p < 0.05 vs. OUL-D+OSI (Prueba "t" Student); ♦p<0.05 vs. OUL-I +OSD ( Ji. Cuadrada).

## HORMONAS ESTEROIDES

La sección del NOS izquierdo en el animal con OUL-D no modificó la concentración de progesterona, testosterona y estradiol al primer estro vaginal. Mientras que la sección del NOS derecho en la rata con OUL-I ocasionó el aumento de la concentración de **progesterona** y disminución en la concentración de **testosterona** en comparación con su grupo con OUL-I+OSD (Cuadro 7).

En la rata con OUL-I+SNOD, la concentración de **progesterona** y **estradiol** fue mayor que en los animales hemiovariectomizados con sección del NOS izquierdo (Cuadro 7).

**Cuadro 7.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T) y estradiol (E<sub>2</sub>) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección contralateral del NOS o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.

PRIMER ESTRO VAGINAL CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES			
GRUPOS	P <sub>4</sub> (ng/ml)	T (pg/ml)	E <sub>2</sub> (pg/ml)
TA	8.6 $\pm$ 1.0	14.0 $\pm$ 2.2	43.7 $\pm$ 3.6
OSD+SNOI	3.5 $\pm$ 0.6	10.2 $\pm$ 1.7	12.5 $\pm$ 1.9
OUL-D+OSI	3.1 $\pm$ 0.5	8.1 $\pm$ 2.0	19.5 $\pm$ 1.9
OUL-D+SNOI	3.8 $\pm$ 0.3	15.2 $\pm$ 3.0	13.2 $\pm$ 2.1
OSI+SNOD	8.7 $\pm$ 1.6	9.2 $\pm$ 2.8	17.6 $\pm$ 3.1
OUL-I+OSD	3.3 $\pm$ 0.6	17.0 $\pm$ 1.7	17.5 $\pm$ 1.8
OUL-I+SNOD	5.8 $\pm$ 0.7* $\diamond$	10.6 $\pm$ 2.0*	24.1 $\pm$ 3.7 $\diamond$

\*p < 0.05 vs. OUL-I+OSD;  $\diamond$ p<0.05 vs. OUL-D+SNOI (Prueba ANDEVA seguida de Tukey).

## GONADOTROPINAS

Respecto a su grupo con operación simulada, la sección del NOS izquierdo en la rata con OUL-D aumentó la concentración de **FSH**, sin modificar la de **LH**. En la rata con OUL-I la sección del NOS derecho no modificó la concentración de **FSH**, mientras que disminuyó la de **LH** (Cuadro 8). La concentración de **FSH** en los animales con el ovario izquierdo *in situ* denervado (OUL-D+SNOI), fue mayor que el grupo con OSD seguido de la sección del NOS izquierdo. En el grupo con OUL-I+SNOD, la concentración de **LH** fue menor, en comparación con el grupo con OUL-D seguida de la sección del NOS izquierdo (Cuadro 8).

**Cuadro 8.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de **FSH** y **LH** en suero de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección contralateral del NOS o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.

PRIMER ESTRO VAGINAL CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS		
GRUPOS	FSH (ng/ml)	LH (ng/ml)
TA	7.1 $\pm$ 2.0	0.40 $\pm$ 0.08
OSD+SNOI	5.5 $\pm$ 0.8	0.51 $\pm$ 0.05
OUL-D+OSI	7.8 $\pm$ 1.4	0.48 $\pm$ 0.07
OUL-D+SNOI	11.0 $\pm$ 0.5* $\blacklozenge$	0.42 $\pm$ 0.05
OSI+SNOD	12.3 $\pm$ 3.2	0.22 $\pm$ 0.02
OUL-I+OSD	13.5 $\pm$ 3.0	0.48 $\pm$ 0.08
OUL-I+SNOD	14.3 $\pm$ 2.6	0.19 $\pm$ 0.02* $\blacklozenge$

\*p < 0.05 vs. su respectivo grupo con ovariectomía unilateral seguido de la operación simulada contralateral;  $\blacklozenge$ p<0.05 vs. OSD+SNOI;  $\blacklozenge$ p<0.05 vs. OUL-D+SNOI (Prueba ANDEVA seguida de Tukey).



## **PESO DE OVARIOS**

A los 30 minutos post-operación, el peso del ovario izquierdo *in situ* de animales con OUL-D seguida de la sección del NOS izquierdo fue menor que su grupo con operación simulada (Cuadro 9). La operación simulada derecha en ratas con OUL-I provocó la disminución del peso del ovario remanente a las 48 horas. En los animales sacrificados a las 72 horas post-cirugía el peso del ovario remanente de los animales con OUL-D u OUL-I fue mayor, independientemente del nervio seccionado. En las ratas con OUL-D seguida de la sección del NOS izquierdo el peso del ovario izquierdo *in situ* fue mayor al primer estro vaginal (Cuadro 9).

**Cuadro 9.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso de ovario izquierdo o derecho** de ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los **30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).**

PESO DE OVARIOS (mg)				
GRUPOS	AGUDOS		SUB-AGUDOS	
	Ovario izquierdo <i>in situ</i>	Ovario derecho <i>in situ</i>	Ovario izquierdo <i>in situ</i>	Ovario derecho <i>in situ</i>
	30 MINUTOS		48 HORAS	
OUL-D+OSI	12.6 $\pm$ 0.7	-	11.9 $\pm$ 0.9	-
OUL-D+SNOI	10.3 $\pm$ 0.4*	-	11.9 $\pm$ 0.7	-
OUL-I+OSD		11.6 $\pm$ 0.8		6.5 $\pm$ 0.5♦
OUL-I+SNOD		11.0 $\pm$ 0.4		11.6 $\pm$ 0.9
	1 HORA		72 HORAS	
OUL-D+OSI	10.2 $\pm$ 0.6	-	11.5 $\pm$ 1.0	-
OUL-D+SNOI	10.7 $\pm$ 0.4	-	16.6 $\pm$ 1.3*	-
OUL-I+OSD		9.6 $\pm$ 0.4		10.3 $\pm$ 0.7
OUL-I+SNOD		10.7 $\pm$ 0.4		17.8 $\pm$ 1.2*
	5 HORAS		PRIMER ESTRO VAGINAL	
OUL-D+OSI	8.4 $\pm$ 0.4	-	17.9 $\pm$ 1.8	-
OUL-D+SNOI	8.5 $\pm$ 0.6	-	23.3 $\pm$ 1.1*	-
OUL-I+OSD		7.4 $\pm$ 0.5		18.1 $\pm$ 1.4
OUL-I+SNOD		7.9 $\pm$ 0.6		17.5 $\pm$ 1.3

\*p < 0.05 vs. su respectivo grupo con ovariectomía unilateral seguido de la operación simulada contralateral; ♦p < 0.05 vs. OUL-I+SNOD (Prueba "t" de Student).

## PESO DE ÚTERO

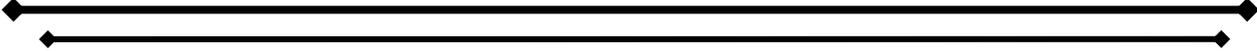
La sección del NOS izquierdo en el animal con OUL-D resultó en el aumento del peso del útero a la hora, 72 horas post-cirugía o al presentar el primer estro vaginal, en comparación con su grupo con operación simulada (Cuadro 10).

La OUL-I+SNOD resultó en un mayor peso del útero cuando los animales fueron sacrificados a las 5, 48 ó 72 horas post-cirugía en comparación con su grupo con operación simulada (Cuadro 10).

**Cuadro 10.** Media  $\pm$  e.e.m. del **peso húmedo del útero** (mg) de ratas testigo absoluto (TA) o con operación simulada derecha (OSD) o izquierda (OSI) seguida de la sección contralateral del NOS o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS contralateral, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los **30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV)**.

PESO HÚMEDO DEL ÚTERO (mg)						
	AGUDOS			SUB-AGUDOS		
GRUPOS	30'	1 h	5 h	48 h	72 h	PEV
TA	58.5 $\pm$ 5.2	58.56 $\pm$ 5.2	57.92 $\pm$ 5.5	83.6 $\pm$ 12.9	71.9 $\pm$ 6.6	150.6 $\pm$ 8.5
OSD+SNOI	64.9 $\pm$ 4.0	57.3 $\pm$ 4.1	37.1 $\pm$ 7.1	48.7 $\pm$ 6.24	62.4 $\pm$ 4.2	149.7 $\pm$ 9.0
OUL-D+OSI	81.5 $\pm$ 7.0	53.2 $\pm$ 3.1	47.0 $\pm$ 4.8	71.5 $\pm$ 5.8	90.6 $\pm$ 10.4	132.7 $\pm$ 8.2
OUL-D+SNOI	68.4 $\pm$ 8.0	66.4 $\pm$ 3.7*	48.2 $\pm$ 7.3	65.4 $\pm$ 7.2	132 $\pm$ 9.5*♦	152 $\pm$ 3.6*
OSI+SNOD	56.7 $\pm$ 3.6	94.5 $\pm$ 9.2	58.5 $\pm$ 10.6	51.6 $\pm$ 3.6	114.2 $\pm$ 16.6	139.2 $\pm$ 9.8
OUL-I+OSD	65.5 $\pm$ 4.2	53.6 $\pm$ 6.6	30.8 $\pm$ 3.1	34.0 $\pm$ 2.3	67.5 $\pm$ 9.8	140.5 $\pm$ 6.6
OUL-I+SNOD	54.1 $\pm$ 3.6	71.4 $\pm$ 9.9	45.9 $\pm$ 6.5*	49.8 $\pm$ 4.9*	96.8 $\pm$ 6.8*	128.0 $\pm$ 8.1

\*p < 0.05 vs. su respectivo grupo con ovariectomía unilateral seguido de la operación simulada contralateral . ♦p < 0.05 vs. OSD + SNOI (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).



## RESPUESTA COMPENSADORA DEL OVARIO *IN SITU*

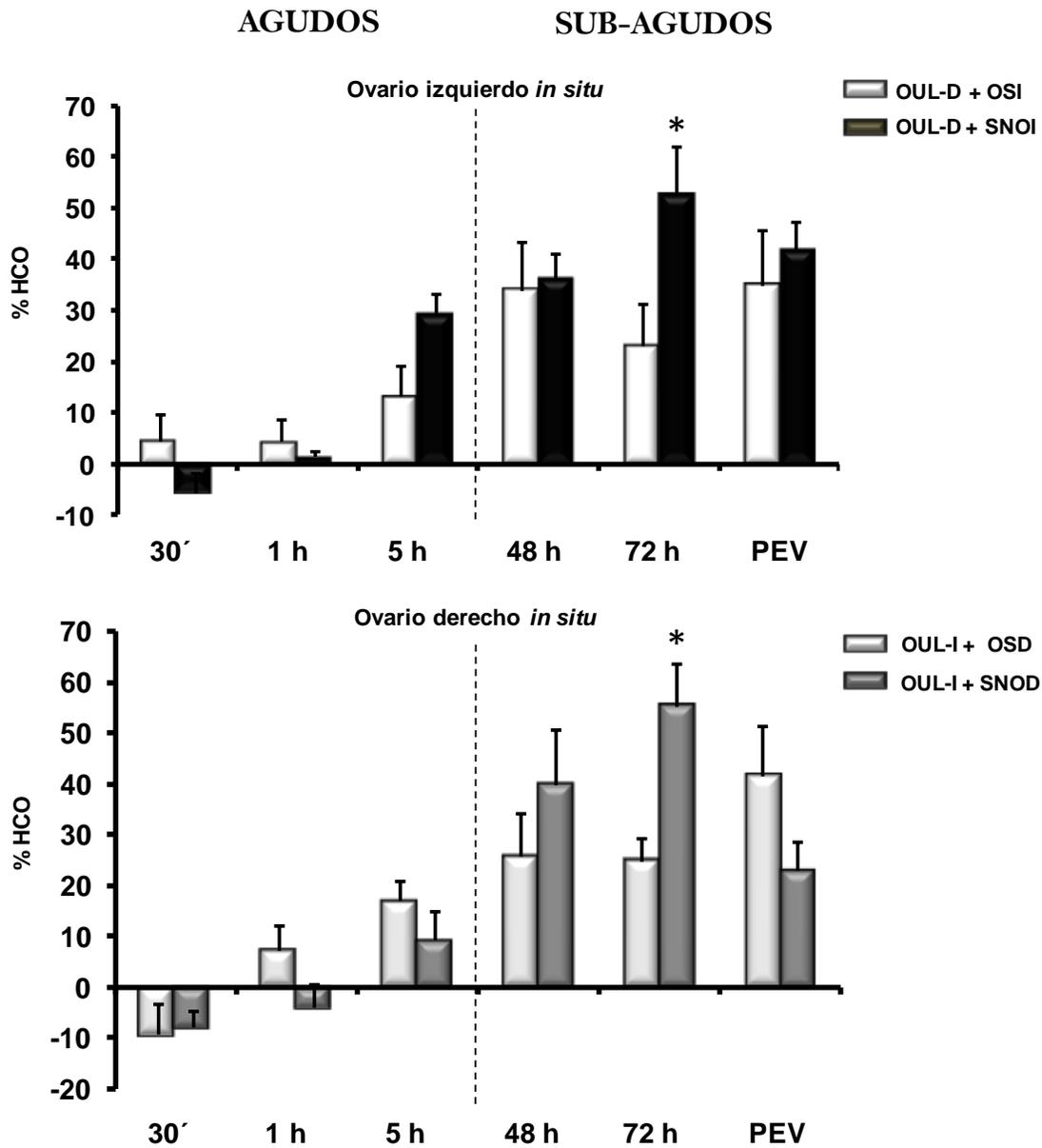
### PORCENTAJE DE HIPERTROFIA COMPENSADORA OVÁRICA (HCO)

En la Figura 10 se puede observar que **30 minutos, 1 ó 5 horas** después de la cirugía, el ovario remanente no aumentó su peso, independientemente del ovario extirpado y del nervio seccionado.

A las **48 horas** después de la cirugía, se observó una ganancia en peso similar entre los ovarios remanentes denervados, **72 horas** después de la cirugía, el ovario *in situ* con la sección del NOS izquierdo o derecho aumentó su peso, en comparación con su grupo con operación simulada (Figura 10).

Al **primer estro vaginal**, el porcentaje de hipertrofia compensadora de animales con OUL-I seguida de la sección del NOS derecho fue menor que en animales con OUL-D seguida de la sección del NOS izquierdo (OUL-I+SNOD  $22.8 \pm 5.5$  vs. OUL-D+SNOI  $41.7 \pm 5.6$   $p < 0.05$ ).

**Figura 10.** Media  $\pm$  e.e.m. del **porcentaje de hipertrofia compensadora del ovario *in situ*** de ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **30', 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía ó al presentar el primer estro vaginal.**

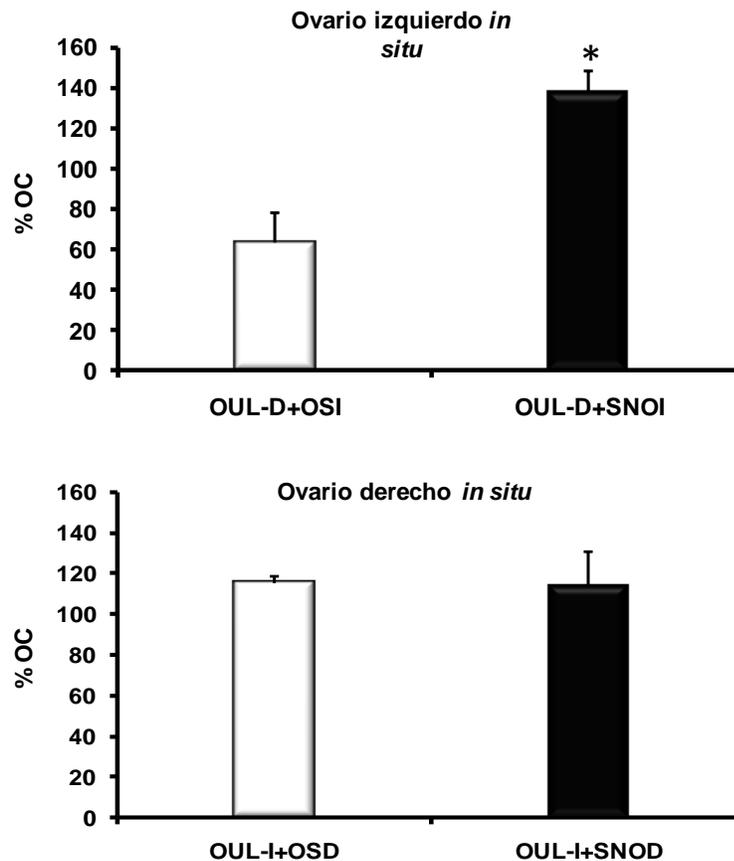


\* $p < 0.05$  vs. su respectivo grupo son OUL seguida de la sección del NOS en el ovario *in situ* (Prueba de Kruskal-Wallis seguida de U de Mann-Whitney).

## PORCENTAJE DE OVULACIÓN COMPENSADORA

En las ratas con OUL-D+SNOI resultó en el aumento de la ovulación compensadora, en comparación con el grupo con OUL-D+OSI. En el grupo con OUL-I+SNOD no se modificó el porcentaje de ovulación compensadora al primer estro vaginal (Figura 11). La ovulación compensadora de los animales con OUL-I+OSD fue mayor en comparación con OUL-D+OSI ( $115.2 \pm 3.7$  vs.  $63.0 \pm 15.2$   $p < 0.05$ ).

**Figura 11.** Media  $\pm$  e.e.m de la **ovulación compensadora** de ratas con con ovariectomía derecha (OUL-D) o izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada contralateral o de la sección del NOS, realizada a los 32 días de edad y autopsiadas **al primer estro vaginal (PEV)**.



\* $p < 0.05$  vs. OUL-D+OSI (Prueba Kruskal-Wallis seguida de Dunn's).

---

---

## EXPERIMENTO 3

### EFECTOS DE LA OPERACIÓN SIMULADA EN LA RATA PREPÚBER SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES Y GONADOTROPINAS

Dado que en esta tesis las evaluaciones post-cirugía se realizaron en períodos agudos (30', 1 y 5 horas post-cirugía) y sub-agudos (48, 72 horas post-cirugía y PEV), se analizó si la sola laparotomía tiene efectos sobre la concentración de hormonas esteroides y gonadotropinas.

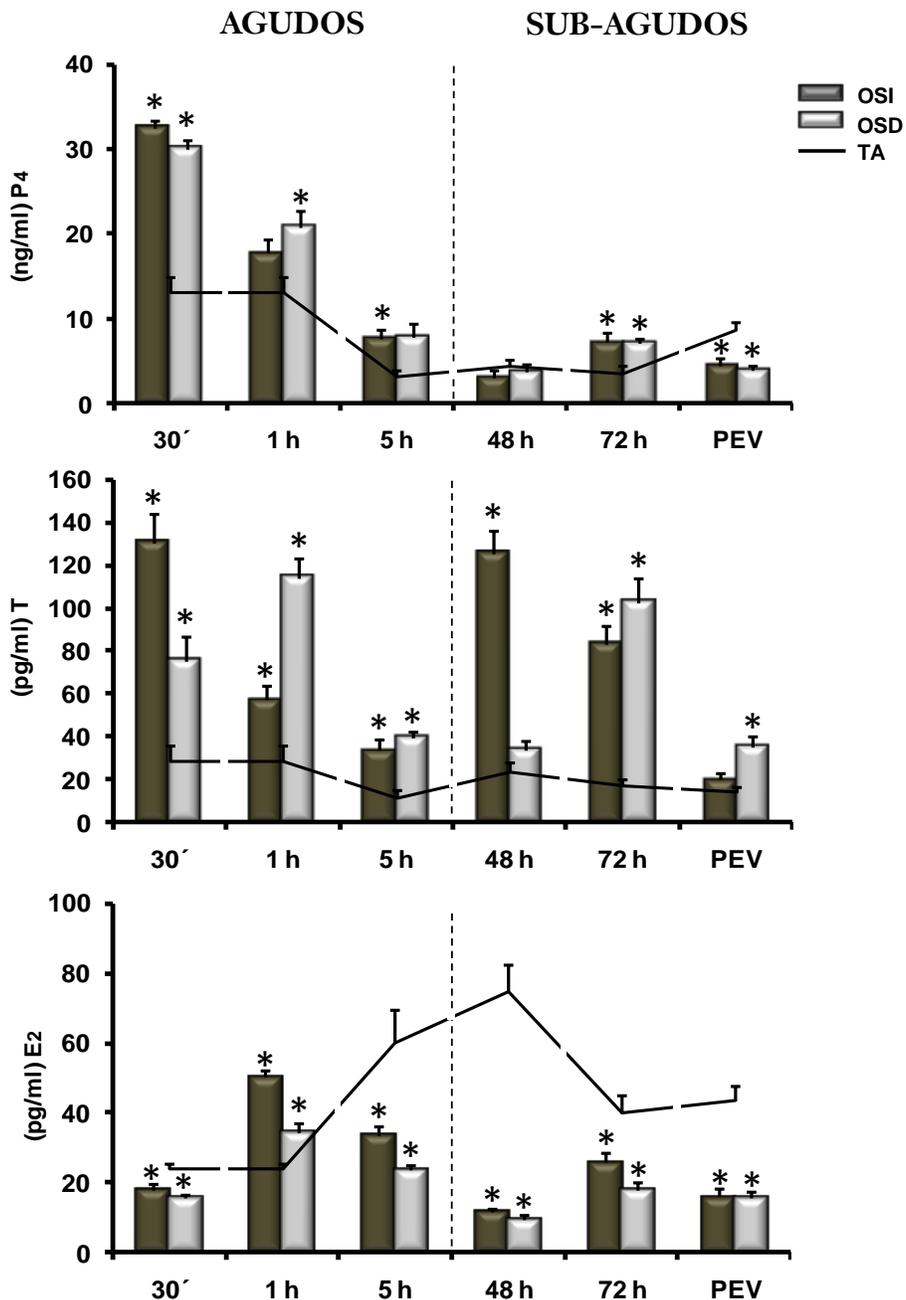
#### HORMONAS ESTEROIDES

En ratas con operación simulada izquierda o derecha sacrificadas a los 30 minutos ó 72 horas después de la cirugía, la concentración de **progesterona** aumentó, mientras que al primer estro vaginal disminuyó. Cuando los animales con operación simulada derecha fueron sacrificados una hora después de la cirugía la concentración de la hormona fue mayor, este mismo efecto se observó 5 horas post-cirugía con la laparotomía izquierda (Figura 12).

La concentración en suero de **testosterona** en los grupos con operación simulada unilateral sacrificados a los 30 minutos, 1, 5, ó 72 horas después de la cirugía, fue mayor que en el grupo control. En las ratas con operación simulada izquierda sacrificadas a las 48 horas la concentración de la hormona también fue mayor, este mismo efecto se observó al primer estro vaginal con la operación simulada derecha (Figura 12).

La concentración de **estradiol** en animales con operación simulada izquierda o derecha sacrificados a los 30 minutos, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al presentar el primer estro vaginal fue menor en comparación con el testigo absoluto. Una hora después de la cirugía la concentración de la hormona fue mayor (Figura 12).

**Figura 12.** Media  $\pm$  e.e.m de la concentración de progesterona (ng/ml), testosterona (pg/ml) y estradiol (pg/ml) en suero de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD), realizada a los 32 días de edad y sacrificadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).



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

En línea punteada se representa la concentración de la hormona correspondiente al grupo de animales testigo absoluto, sacrificadas en los diferentes tiempos del estudio.

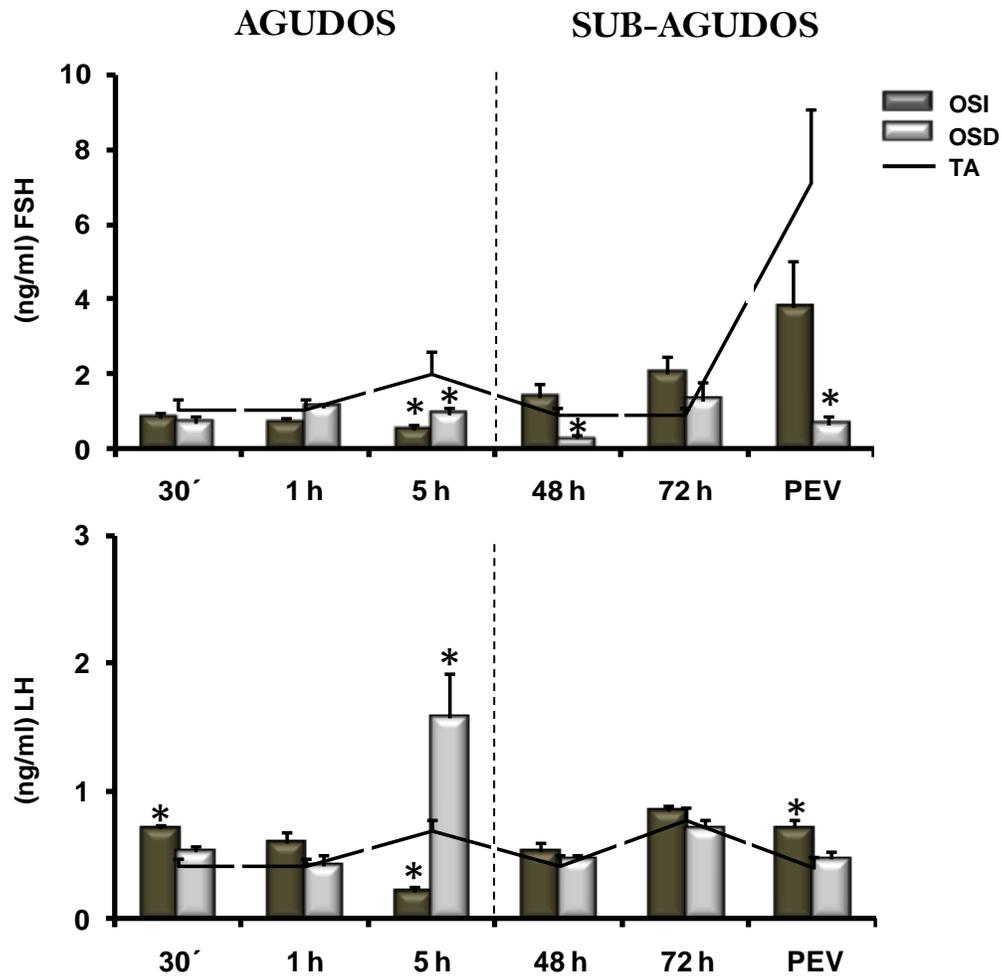


## **CONCENTRACIÓN DE GONADOTROPINAS**

En los animales con operación simulada izquierda o derecha sacrificados a las 5 horas después del tratamiento la concentración de **FSH** fue menor respecto al grupo testigo absoluto, el mismo efecto se observó a las 48 horas después de la cirugía o al presentar el primer estro vaginal cuando se practicó la operación simulada derecha (Figura 13).

La concentración de **LH** fue mayor en ratas con operación simulada izquierda sacrificadas a los 30 minutos o al presentar el primer estro vaginal, mientras que a las 5 horas la concentración de la hormona fue menor en comparación con el testigo absoluto. La operación simulada derecha ocasionó el aumento en la concentración de **LH** 5 horas después del tratamiento (Figura 13).

**Figura 13.** Media  $\pm$  e.e.m de la concentración de FSH (ng/ml) y LH (ng/ml) en suero de ratas testigo absoluto (TA), con operación simulada izquierda (OSI) o derecha (OSD), realizada a los 32 días de edad y sacrificadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).



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

En línea punteada se representa la concentración de la hormona correspondiente al grupo de animales testigo absoluto, sacrificadas en los diferentes tiempos del estudio.



Debido a que la operación simulada en los tiempos evaluados resultó en cambios en las concentraciones de hormonas esteroides y de gonadotropinas, los grupos de animales con operación simulada seguida de la sección del NOS se compararon con su respectivo grupo con operación simulada, para **observar el efecto del NOS en la rata con ambos ovarios**. Los grupos con ovariectomía unilateral derecha (OUL-D) ó izquierda (OUL-I) seguida de la sección del NOS contralateral se compararon con su grupo con operación simulada seguida de la sección del NOS contralateral, para **observar el efecto del ovario remanente** ó con su grupo de OUL seguida de la operación simulada contralateral, para **observar los efectos del NOS en la rata con ovariectomía unilateral**.

---

---

## EXPERIMENTO 4

### EFFECTOS DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN LA RATA PREPÚBER CON OPERACIÓN SIMULADA O CON OVARIECTOMÍA UNILATERAL SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE HORMONAS ESTEROIDES Y GONADOTROPINAS

Con este experimento se analizó el efecto de la sección del NOS en la rata con ambos ovarios (operación simulada) o con un solo ovario (ovariectomía unilateral), sobre las concentraciones de hormonas esteroides y gonadotropinas evaluados en períodos agudos y sub-agudos.

#### CONCENTRACIÓN DE PROGESTERONA

En ratas con operación simulada derecha la sección del NOS izquierdo aumentó la concentración de **progesterona** 30 minutos ó 72 horas después de la cirugía, a las 5 horas la concentración de la hormona fue menor (Figura 14, panel superior). La sección del NOS derecho en el animal con operación simulada izquierda resultó en el aumento de la concentración de la hormona a los 30 minutos, 48, 72 horas o al presentar el primer estro vaginal en comparación con la OSI (Figura 15, panel superior).

La concentración de **progesterona** en los animales con el ovario izquierdo *in situ* denervado (OUL-D+SNOI), fue mayor a la 1 o 5 horas posteriores a la cirugía, efecto contrario se observó a las 72 horas, en comparación con el grupo OSD+SNOI (Figura 14, panel intermedio). En los animales con OUL-I+SNOD (ovario derecho *in situ* denervado), la concentración de la hormona fue menor a los 30 minutos a las 48 y 72 horas post-cirugía, respecto al grupo con OSI+SNOD (Figura 15, panel intermedio).

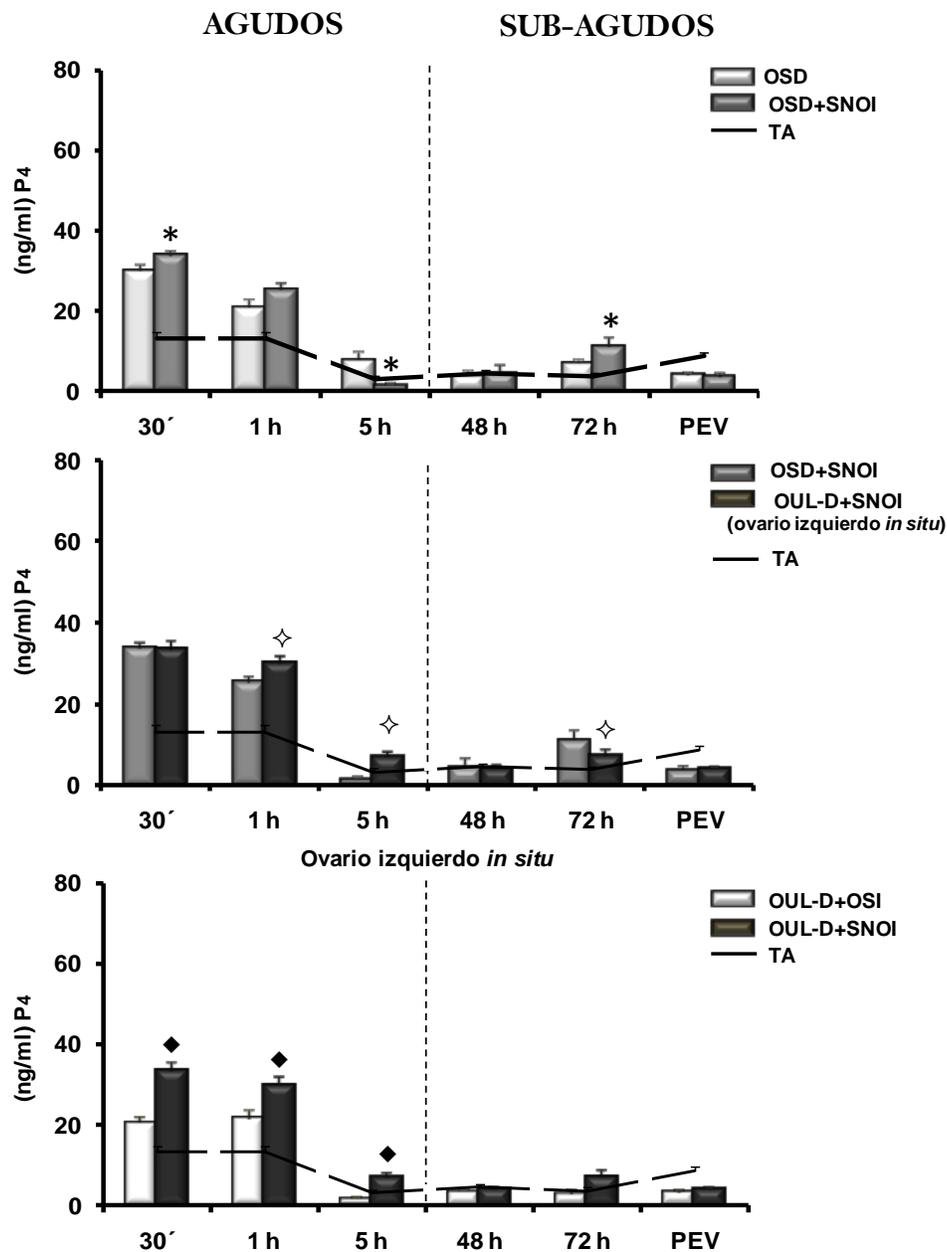


En el panel inferior de la figura 14 se observa que en las ratas con OUL-D la sección del NOS izquierdo aumentó la concentración de **progesterona** 30 minutos, 1 y 5 horas después de la cirugía, respecto al grupo con OUL-D+OSI.

En las ratas con OUL-I más la sección del NOS derecho resultó en una mayor concentración de la hormona a los 30 minutos después de la cirugía y al primer estro vaginal, mientras que 72 horas posteriores a la cirugía la concentración de **progesterona** fue menor (Figura 15, panel inferior).

**Figura 14.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de progesterona (P<sub>4</sub>) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada derecha (OSD) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (SNOI) o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) seguida de la operación simulada izquierda (OSI) o de la sección del NOS izquierdo (SNOI), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

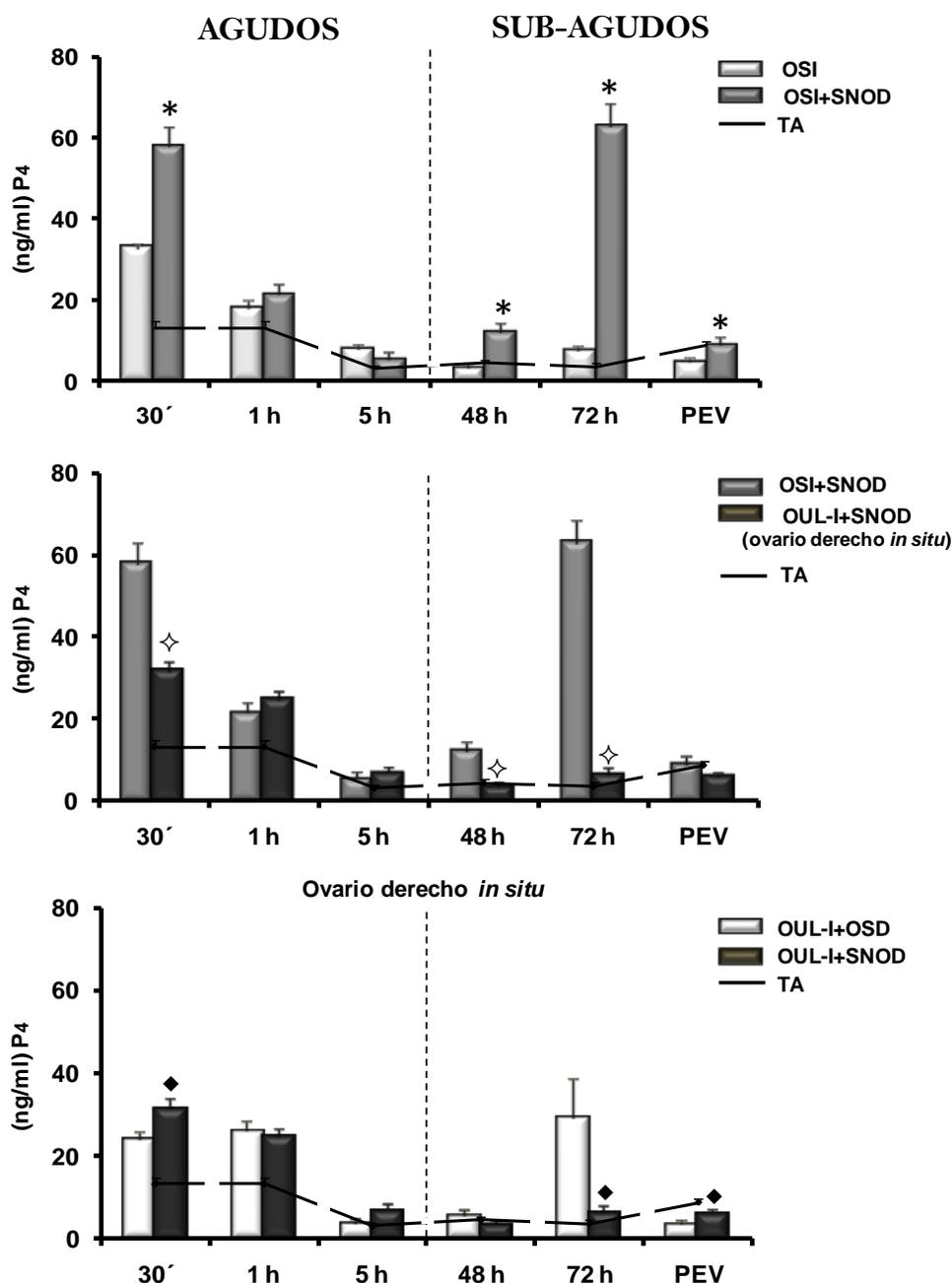
## PROGESTERONA



\*p<0.05 vs. OSD; ◇p<0.05 vs. OSD + SNOI; ◆p<0.05 vs. OUL-D+OSI. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

**Figura 15.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de progesterona (P<sub>4</sub>) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada izquierda (OSI) seguida o no de la sección del NOS derecho (SNOD) o ratas con ovariectomía izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada derecha (OSD) o de la sección del NOS derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

## PROGESTERONA



\*p<0.05 vs. OSI; ◇p<0.05 vs. OSI + SNOD; ◆p<0.05 vs. OUL-I+OSD (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

---

---

## CONCENTRACIÓN DE TESTOSTERONA

La sección del NOS izquierdo en la rata operación simulada derecha disminuyó la concentración de **testosterona** a la 1, 5, 72 horas después de la cirugía o al presentar el primer estro vaginal en comparación con la OSD (Figura 16, panel superior). La concentración de la hormona fue menor en animales con OSI seguida de la sección del NOS derecho sacrificados desde los 30 minutos post-cirugía y hasta el primer estro vaginal, respecto al grupo con OSI (Figura 17, panel superior).

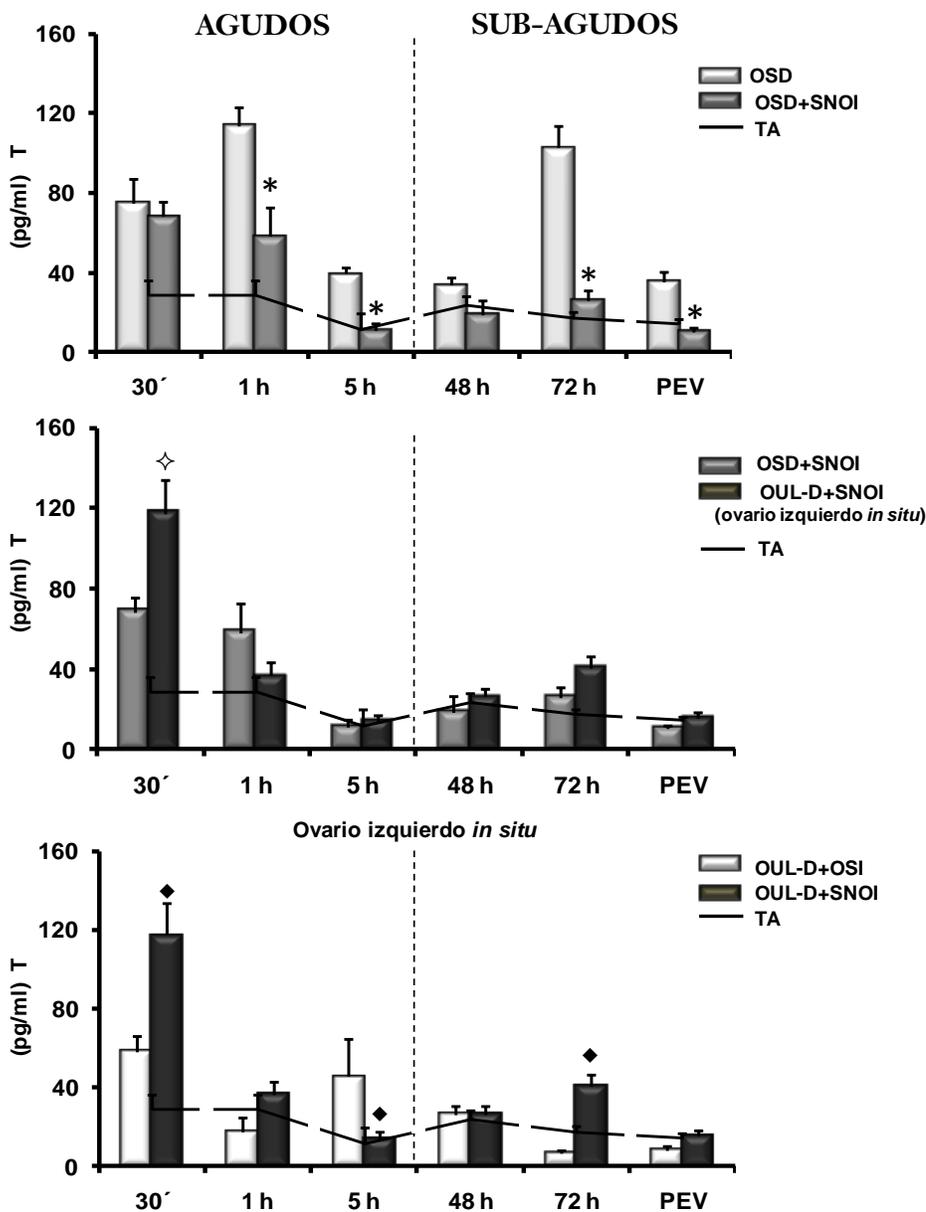
En el panel intermedio de la figura 16 se muestra, que la concentración de **testosterona** en el animal con el ovario izquierdo *in situ* (OUL-D+SNOI), fue mayor a los 30 minutos posteriores a la cirugía, en comparación con el grupo OSD + SNOI. En el grupo con OUL-I+SNOD no se observaron cambios en la concentración de la hormona (Figura 17, panel intermedio)

La sección del NOS izquierdo en el animal con OUL-D resultó en una mayor concentración de **testosterona** a los 30 minutos y 72 horas post-cirugía, efecto inverso se observa a las 5 horas en comparación con el grupo OUL-D + OSI (Figura 16, panel inferior).

En la rata con OUL-I la sección del NOS derecho resultó en una mayor concentración de la hormona a los 30 minutos posteriores a la cirugía, a las 5 horas o primer estro vaginal la concentración de **testosterona** fue menor respecto al grupo con OUL-I+OSD (Figura 17, panel inferior).

**Figura 16.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de testosterona (T) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada derecha (OSD) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (SNOI) o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) seguida de la operación simulada izquierda (OSI) o de la sección del NOS izquierdo (SNOI), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los **30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).**

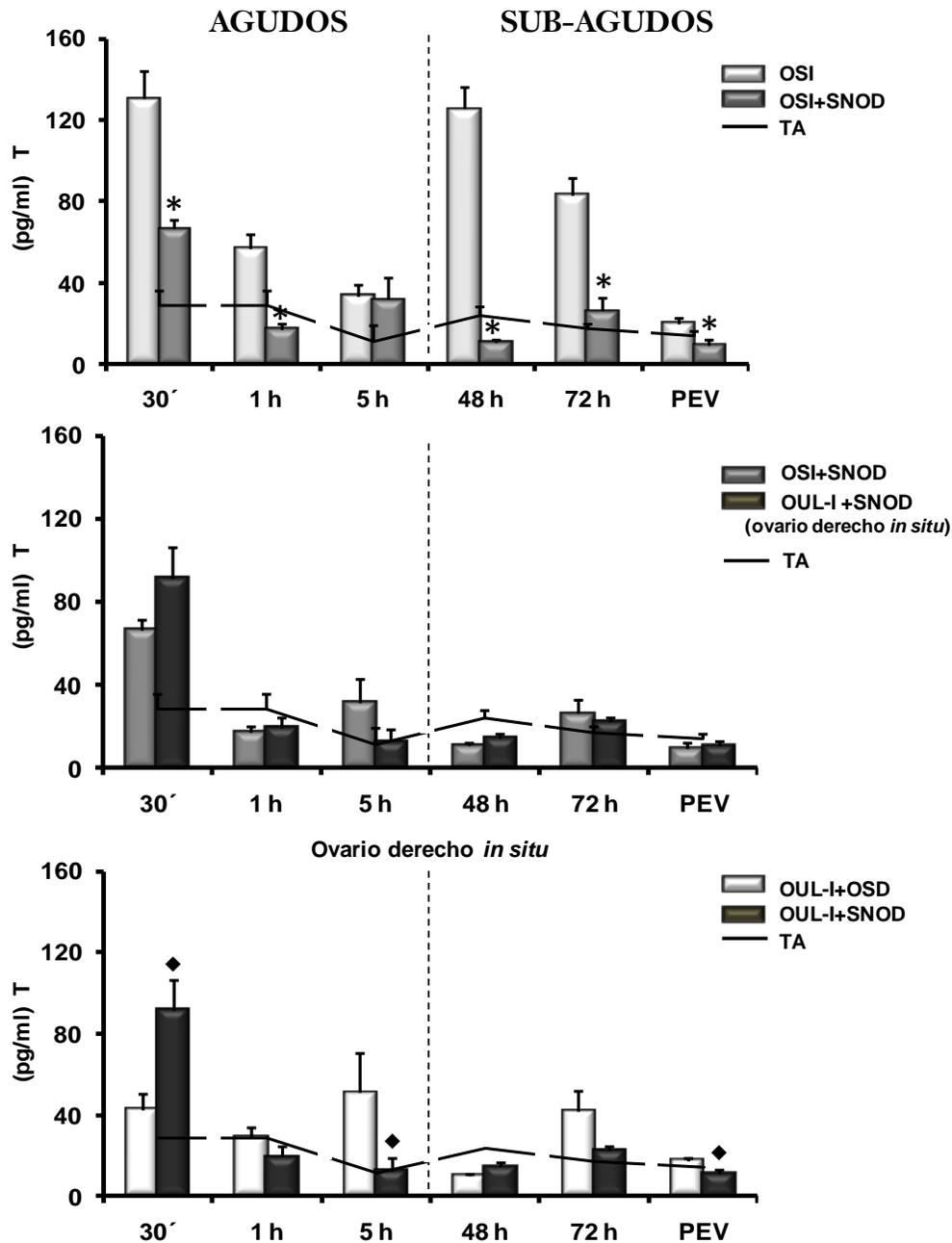
## TESTOSTERONA



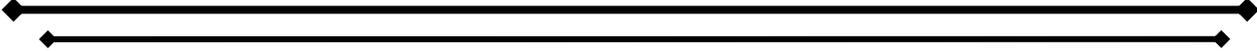
\* $p < 0.05$  vs. OSD; ◇ $p < 0.05$  vs. OSD + SNOI; ◆ $p < 0.05$  vs. OUL-D+OSI. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

**Figura 17.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de testosterona (T) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada izquierda (OSI) seguida o no de la sección del NOS derecho (SNOD) o ratas con ovariectomía izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada derecha (OSD) o de la sección del NOS derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

## TESTOSTERONA



\* $p < 0.05$  vs. OSI;  $\blacklozenge p < 0.05$  vs. OUL-I+OSD. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).



## CONCENTRACIÓN DE ESTRADIOL

La concentración de **estradiol** en los animales con operación simulada izquierda o derecha seguida de la sección contralateral del NOS fue menor en los grupos sacrificados a la una o 5 horas después del tratamiento, a las 48 horas la concentración de la hormona fue mayor (Panel superior de las Figuras 18 y 19). La concentración de la hormona fue menor en los animales con OSI+SNOD sacrificados 72 horas post-cirugía en comparación con el grupo con OSI (Figura 19, panel superior).

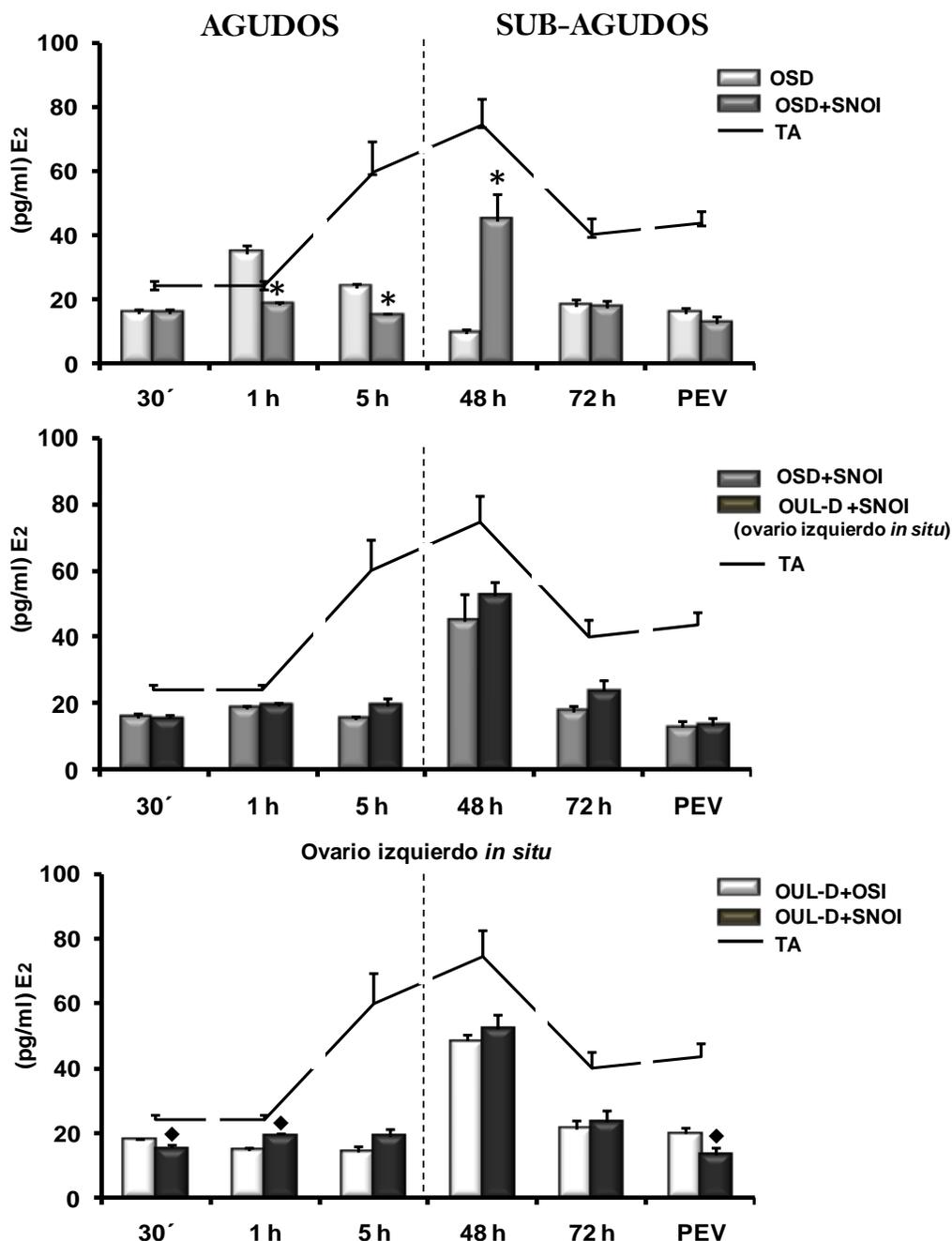
En ratas con el ovario derecho *in situ* denervado (OUL-I+SNOD) sacrificadas 48 horas después del tratamiento la concentración de **estradiol** fue menor que el grupo con OSI+SNOD (Figura 19, panel intermedio). Mientras que la sección del NOS-izquierdo no modificó la concentración de la hormona (Figura 18, panel intermedio).

En el panel inferior de la figura 18, se puede observar que en el animal con OUL-D la sección del NOS izquierdo resultó en una menor concentración de **estradiol** a los 30 minutos después de la cirugía o al presentar el primer estro vaginal, una hora post-tratamiento la concentración de la hormona fue mayor respecto al grupo con OUL-D+OSI.

La concentración de **estradiol** fue mayor en el grupo con OUL-I seguida de la sección del NOS derecho cuando los animales se sacrificaron a los 30 minutos, 5 ó 72 horas post-cirugía en comparación con el grupo con OUL-I+OSD (Figura 19, panel inferior).

**Figura 18.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de estradiol (E<sub>2</sub>) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada derecha (OSD) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (SNOI) o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) seguida de la operación simulada izquierda (OSI) o de la sección del NOS izquierdo (SNOI), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

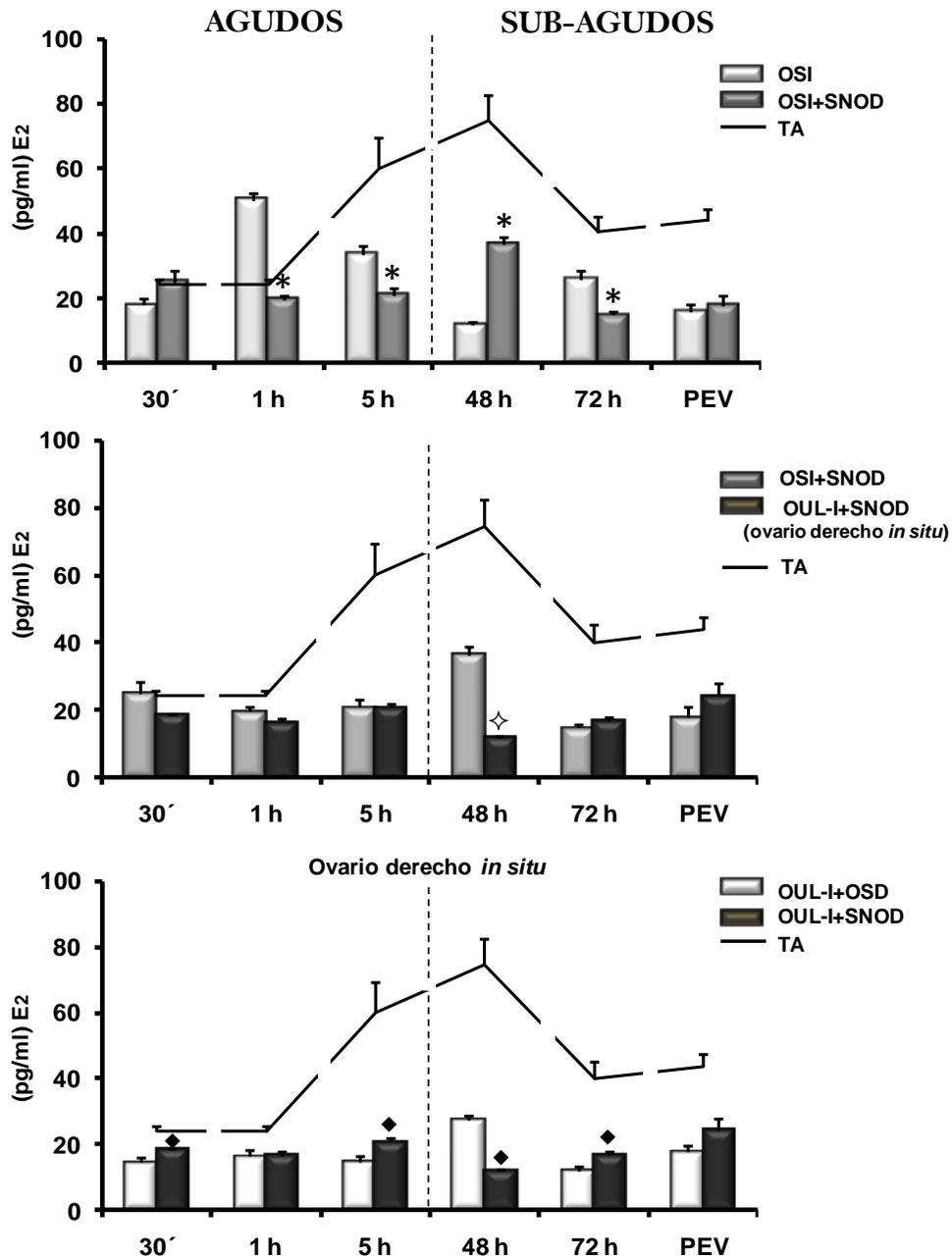
## ESTRADIOL



\*  $p < 0.05$  vs. OSD; ◆  $p < 0.05$  vs. OUL-D+OSI. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

**Figura 19.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de estradiol (E<sub>2</sub>) en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada izquierda (OSI) seguida o no de la sección del NOS derecho (SNOD) o ratas con ovariectomía izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada derecha (OSD) o de la sección del NOS derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

## ESTRADIOL



\* $p < 0.05$  vs. OSI; ◇ $p < 0.05$  vs. OSI + SNOD; ◆ $p < 0.05$  vs. OUL-I+OSD. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).



## CONCENTRACIÓN DE FSH

En el panel superior de la Figura 20 y 21 se observa que en los animales con operación simulada la sección unilateral del NOS aumentó la concentración de **FSH** cuando fueron sacrificados a los 30 minutos, 1, 5, 48 horas después de la cirugía o al presentar el primer estro vaginal, respecto a su grupo con operación simulada.

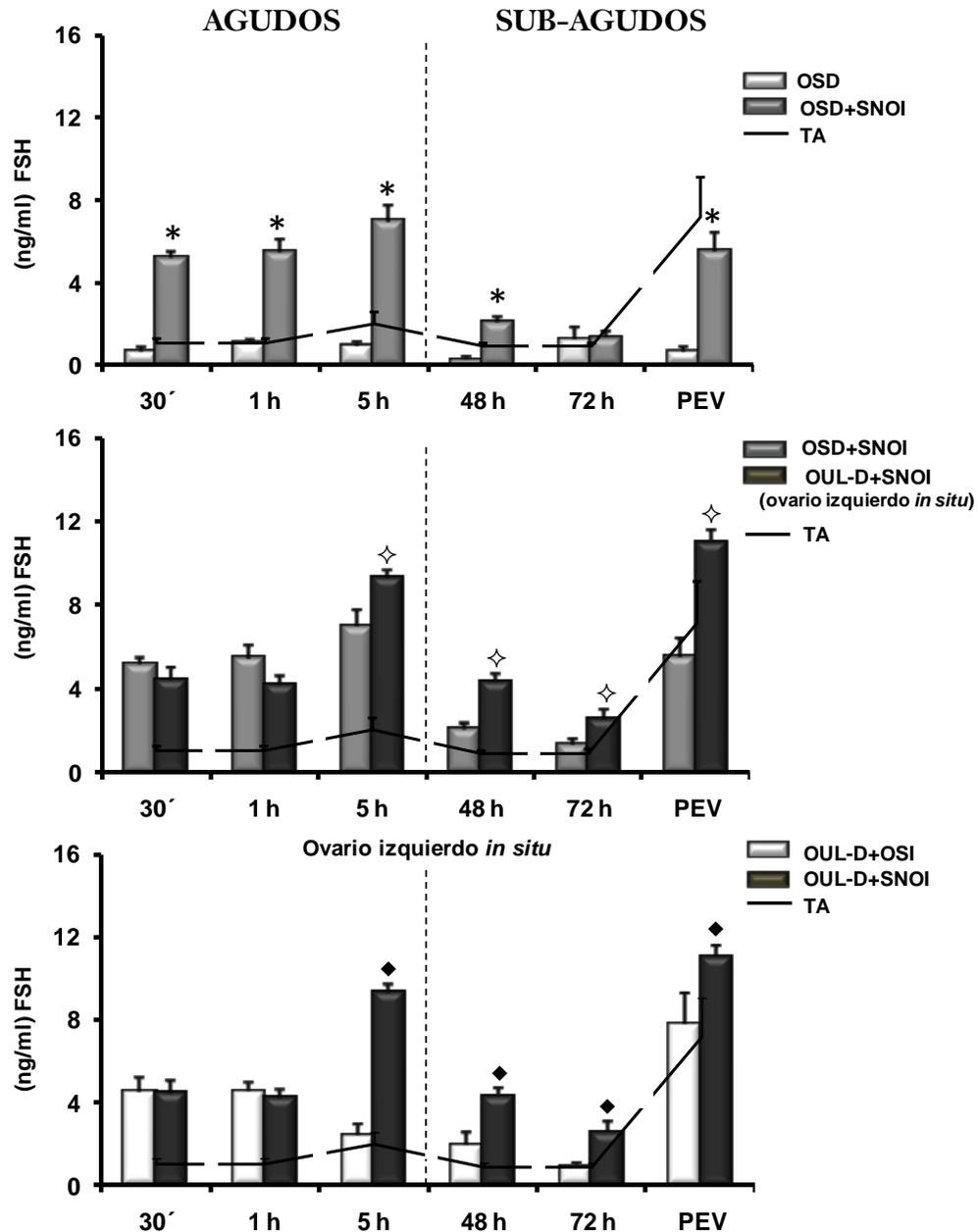
La concentración de **FSH** fue mayor en animales con el ovario izquierdo *in situ* denervado (OUL-D+SNOI) sacrificados desde las 5 horas post-cirugía y hasta que presentaron el primer estro vaginal en comparación con el grupo con OSD+SNOI (Figura 20, panel intermedio). En animales con el ovario derecho *in situ* denervado (OUL-I+SNOD) la concentración de la hormona fue mayor a los 30 minutos y 5 horas respecto al grupo con OSI+SNOD (Figura 21, panel intermedio).

La sección del NOS izquierdo en la rata con OUL-D resultó en una mayor concentración de **FSH** de los animales sacrificados a las 5, 48, 72 horas post-cirugía o al presentar el primer estro vaginal respecto al grupo con OUL-D+OSI (Figura 20, panel inferior).

En el panel inferior de la figura 21 se observa que la concentración de **FSH** de animales con OUL-I seguida de la sección del NOS derecho fue mayor en comparación con el grupo con OUL-I+OSD.

**Figura 20.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de FSH en suero de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada derecha (OSD) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (SNOI) o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) seguida de la operación simulada izquierda (OSI) o de la sección del NOS izquierdo (SNOI), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

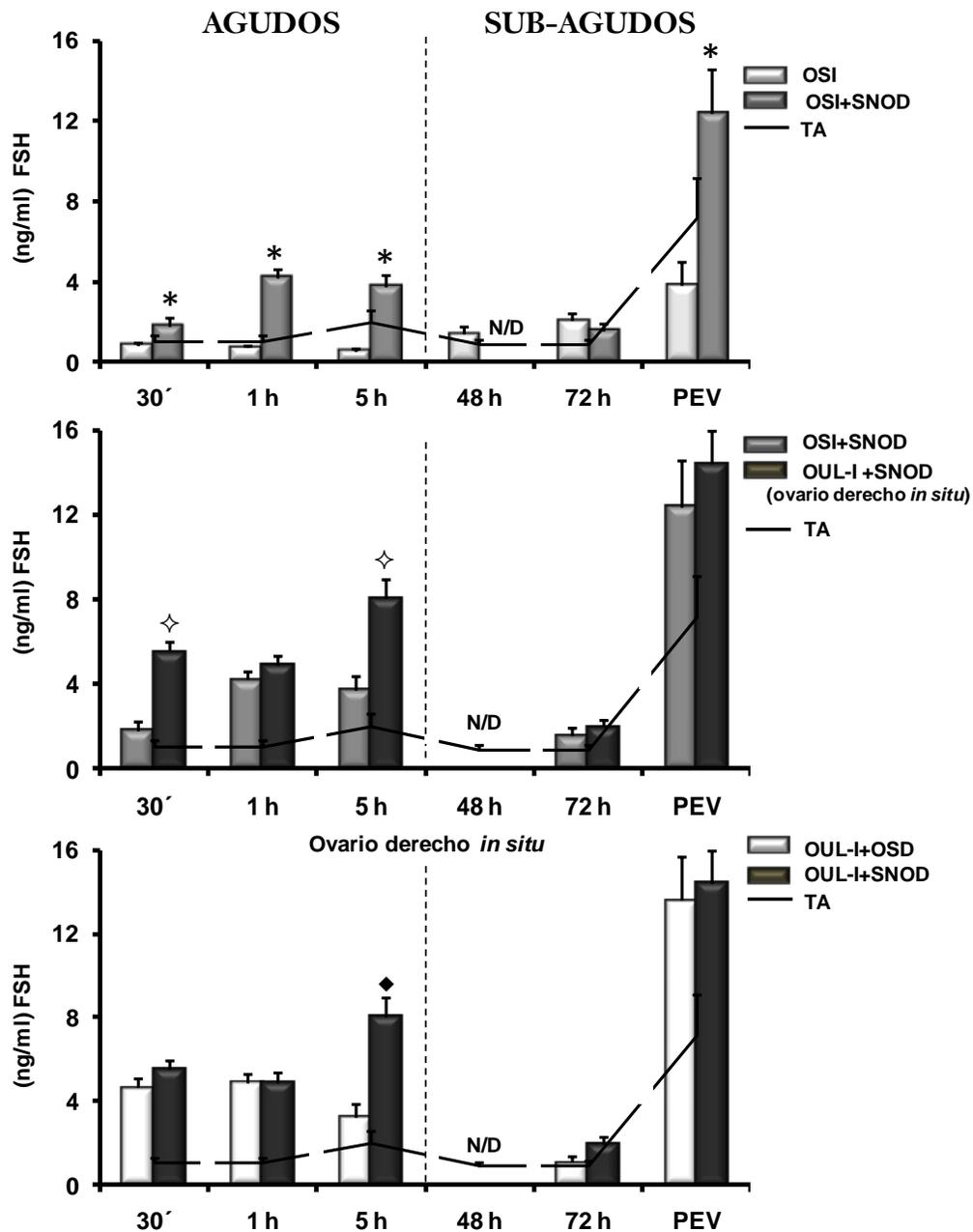
## FSH



\* $p < 0.05$  vs. OSD;  $\diamond p < 0.05$  vs. OSD + SNOI;  $\blacklozenge p < 0.05$  vs. OUL-D+OSI. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

**Figura 21.** Media  $\pm$  e.e.m. de la concentración de FSH en suero de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada izquierda (OSI) seguida o no de la sección del NOS derecho (SNOD) o ratas con ovariectomía izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada derecha (OSD) o de la sección del NOS derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

## FSH



\* $p < 0.05$  vs. OSI; ◇ $p < 0.05$  vs. OSI + SNOD; ◆ $p < 0.05$  vs. OUL-I+OSD. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).



## CONCENTRACIÓN DE LH

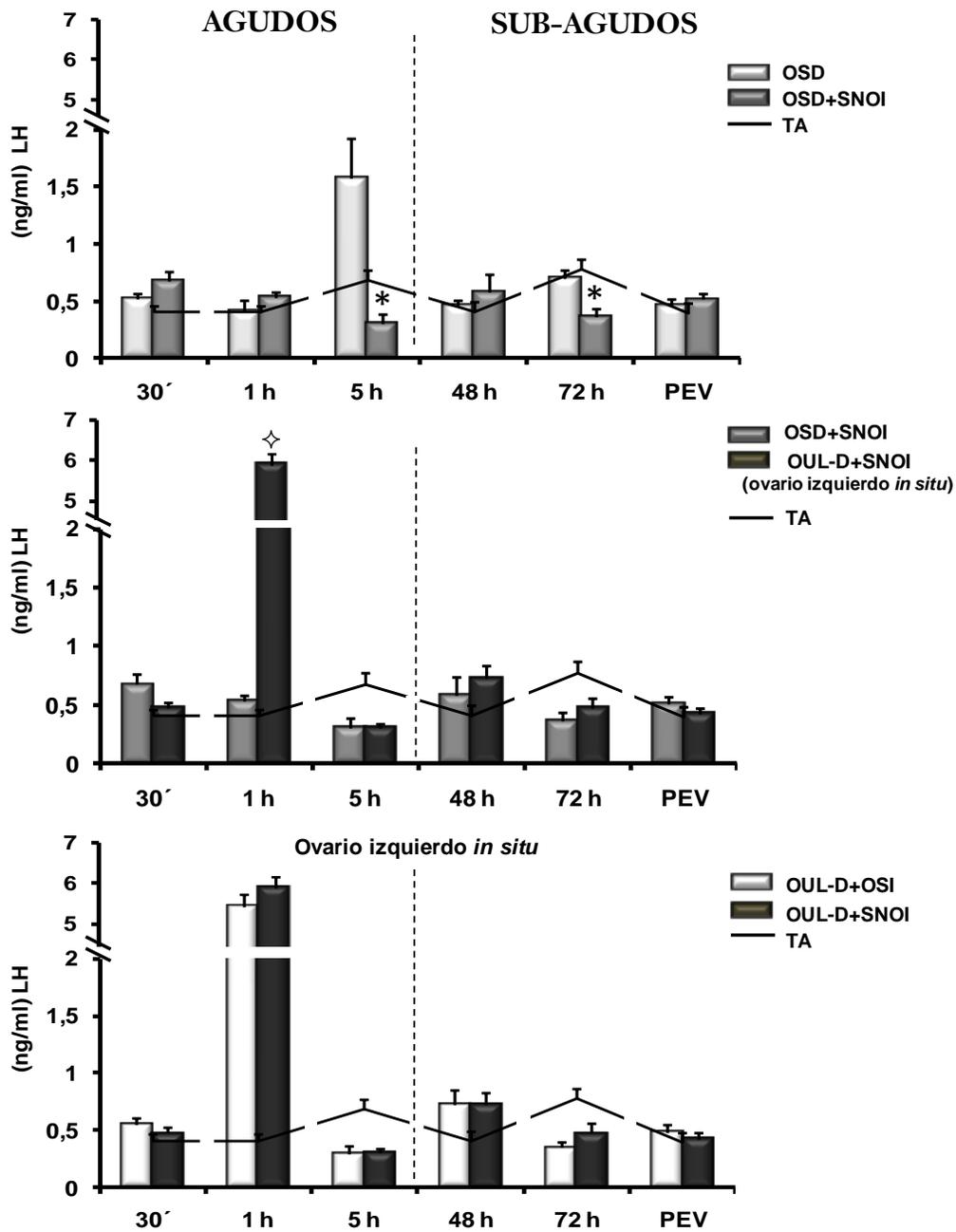
La sección del NOS izquierdo en ratas con OSD y sacrificadas a las 5 ó 72 horas después de la cirugía resultó en una menor concentración de **LH** comparadas con el grupo con OSD (Figura 22, panel superior). Con la sección del NOS derecho en la rata con OSI se observó una mayor concentración de la hormona a la hora de la cirugía, efecto inverso ocurrió a las 72 horas o al presentarse el primer estro vaginal, respecto al grupo con OSI (Figura 23, panel superior).

En ratas con el ovario izquierdo *in situ* denervado (OUL-D+SNOI), la concentración de **LH** es mayor a la hora de la cirugía respecto al grupo con OSD+SNOI (Figura 22, panel intermedio). Sin que se modificara cuando el ovario *in situ* fue el derecho (Figura 23, panel intermedio).

La sección del NOS izquierdo en el animal con OUL-D no modificó las concentraciones de **LH** en los tiempos de evaluación (Figura 22, panel inferior). En el animal con OUL-I la sección del NOS derecho resultó en mayor concentración de la hormona a la hora post-tratamiento, mientras que al primer estro vaginal se observó una menor concentración, respecto al grupo con OUL-I+OSD (Figura 23, panel inferior).

**Figura 22.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de LH en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada derecha (OSD) seguida o no de la sección del NOS izquierdo (SNOI) o ratas con ovariectomía derecha (OUL-D) seguida de la operación simulada izquierda (OSI) o de la sección del NOS izquierdo (SNOI), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

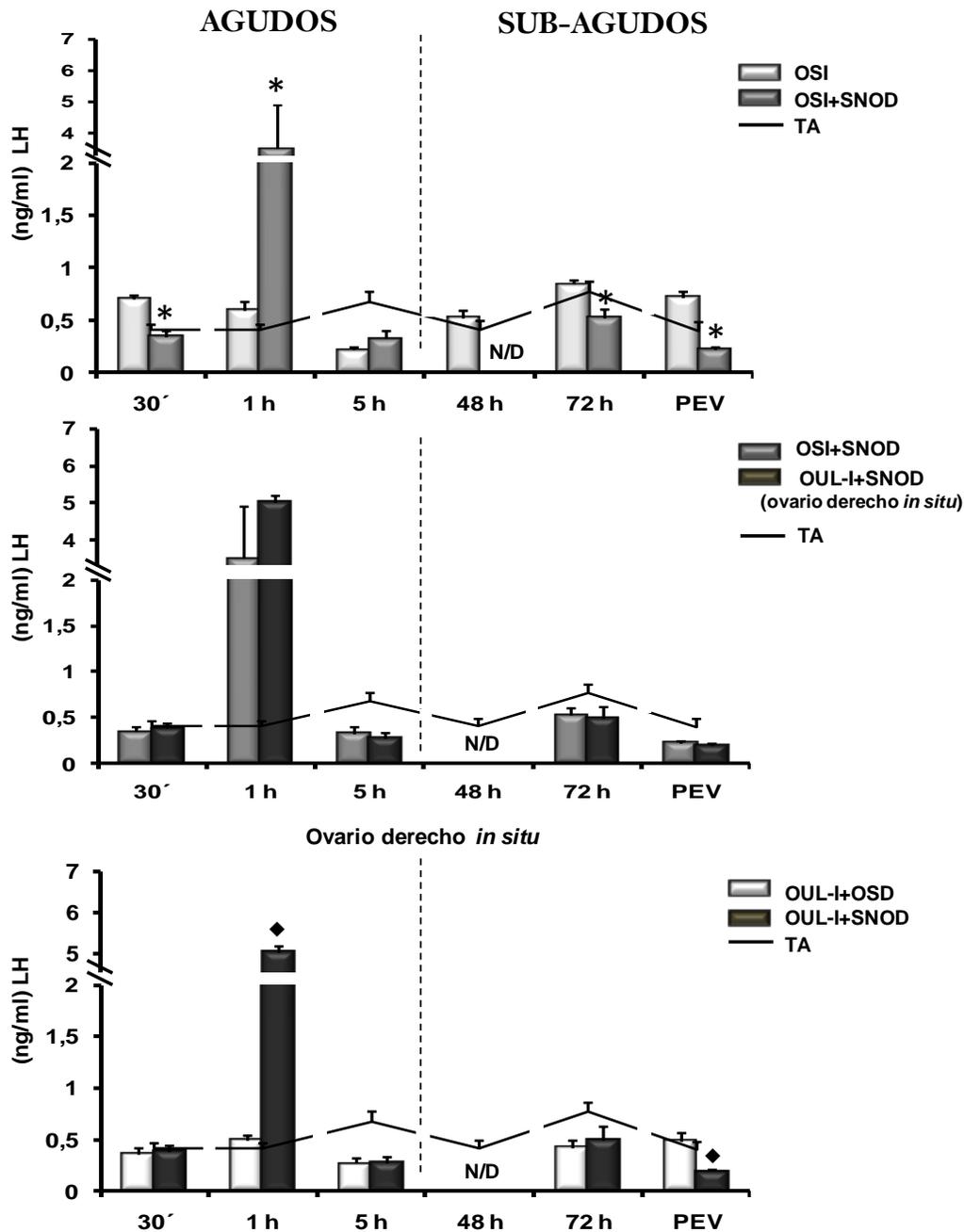
## LH



\* $p < 0.05$  vs. OSD; ◇ $p < 0.05$  vs. OSD + SNOI (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

**Figura 23.** Media  $\pm$  e.e.m. de la **concentración de LH en suero** de ratas testigo absoluto (TA) representado en línea punteada, con operación simulada izquierda (OSI) seguida o no de la sección del NOS derecho (SNOD) o ratas con ovariectomía izquierda (OUL-I) seguida de la operación simulada derecha (OSD) o de la sección del NOS derecho (SNOD), realizada a los 32 días de edad y autopsiadas a los 30 minutos, 1, 5, 48, 72 horas post-cirugía o al primer estro vaginal (PEV).

## LH



\*  $p < 0.05$  vs. OSI; ◆  $p < 0.05$  vs. OUL-I+OSD. (Prueba ANDEVA seguido de Tukey).

N/D: No determinada

---

---

## D I S C U S I Ó N

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que en la rata juvenil hemiovariectomizada, el NOS modula de manera asimétrica los procesos ovulatorios, la secreción de P<sub>4</sub>, T, E<sub>2</sub>, FSH y LH depende del nervio seccionado, del ovario extirpado, así como del tiempo transcurrido entre la cirugía y la autopsia.

Los efectos de la laparotomía dependieron del lado en el que se realizó la incisión y del período en el que se evaluaron. Trabajos previos de nuestro grupo, han mostrado que en la rata adulta, la laparotomía resulta en una activación de la vía neural que llega del peritoneo a los ovarios y adrenales, la cual regula la secreción de hormonas ováricas y que además la respuesta depende del día del ciclo estral y de la hora del día en el que se realice la laparotomía (Barco y col., 2003; Flores y col., 2005; Cruz y col., 2006; Ramírez, 2011).

La transición de un estado prepuberal a uno puberal, implica cambios en la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Meza-Herrera, 2008). El proceso de canalización de la vagina se ha explicado por el aumento en la concentración de estradiol (Ojeda y col., 1983) o de testosterona (Becu-Lacau Villalobos y Mengido, 1999), que a nivel de vagina producen hinchazón y una hiperemia en la membrana vaginal, provocando la reabsorción de ésta y su canalización (Ojeda y col., 1990). En nuestros animales la laparotomía unilateral, resultó en una menor concentración de estradiol y mayor de testosterona, estos cambios hormonales no modificaron la edad de apertura vaginal, resultados que nos permiten sugerir que el inicio de la pubertad no depende exclusivamente del ambiente hormonal.

---

---

Se ha mostrado que la apertura vaginal y el primer estro son eventos independientes. En el hámster la apertura vaginal ocurre varios días antes de la primera ovulación (Smith y Stetson, 1980) y en la rata la primera ovulación se puede presentar días después de la apertura vaginal (Ojeda y Urbansky, 1994). La laparotomía unilateral retrasó la aparición del primer estro vaginal, lo cual puede ser atribuido al estrés post-operación que sufrieron estos animales que se tradujo en la alteración de la concentración del factor liberador de corticotropina (CFR) o de la hormona liberadora de corticotropina (ACTH), las cuales inhiben el eje reproductivo. El CRF es un factor que actúa inhibiendo la secreción de GnRH a nivel hipotalámico, lo cual se traduce en una inhibición en la secreción de gonadotropinas por la hipófisis, dando como resultado alteraciones en la primera ovulación y en la edad del primer estro vaginal (Kinsey-Jones y col., 2010).

Además de los factores hormonales, la inervación ovárica es otro componente que participa en los mecanismos que culminan con el inicio de la pubertad (Aguado y Ojeda 1984a; Morales y col., 1993; 2004; Morán y col., 2003).

En la rata juvenil, la eliminación de la información neural parasimpática por la sección uni o bilateral del nervio vago (Ojeda y col., 1983; Morales y col., 2004) o la denervación sensorial por la administración de capsaicina al tercer día de nacimiento (Morán y col., 2003), resulta en el retraso del inicio de la pubertad, que se acompaña de la disminución en la concentración de estradiol circulante.

Se ha propuesto que la inervación simpática, aportada por el NOS, es esencial sólo durante la etapa neonatal para que se produzca toda la serie de eventos que culminan con el inicio de la pubertad. En la rata infantil o juvenil la sección bilateral o unilateral del NOS no altera el inicio de la pubertad (Aguado y Ojeda, 1984a; Morales y col., 1993), mientras que, en la rata neonata la sección bilateral del nervio la retrasa, sin cambios en la concentración plasmática de estradiol (Forneris y Aguado, 2002). Los resultados del presente estudio muestran que en el animal

---

---

hemiovariectomizado, la sección del NOS de la gónada *in situ* no modifica el inicio de la pubertad, aún y cuando haya disminuido la concentración de testosterona. Lo cual nos permite postular que el ovario *in situ* es capaz de mantener el ambiente hormonal adecuado que se requiere para la canalización de la vagina. Se ha reportado que la extirpación de uno de los ovarios no modifica la edad de apertura vaginal (Meijs-Roelfos, 1984; Morales y col., 2011).

Estudios realizados en los años 80' mostraron que en la rata prepúber la sección bilateral del NOS no modifica la cuota ovulatoria (Aguado y Ojeda 1984a; Selstam y col., 1985). Sin embargo, cuando se realiza la sección unilateral del NOS en ratas de 16 a 28 días de edad, disminuye la respuesta ovulatoria por parte del ovario denervado, respuesta que no se produce si la denervación se realiza a los 32 días de edad (Morales y col., 1993). Estos resultados permiten señalar que la modulación que ejerce el NOS en la respuesta ovulatoria, va a depender de la maduración del animal. Interpretación se ve apoyada por los resultados del presente estudio, donde en la rata de 32 días de edad la sección del NOS, realizada inmediatamente a la laparotomía contralateral, no modificó la respuesta ovulatoria al primer estro vaginal.

La modulación que ejerce el NOS en la ovulación es diferente en el modelo del animal hemiovariectomizado. Cuando se extirpa el ovario derecho, el NOS izquierdo regula la ovulación de manera inhibitoria, mientras que cuando se elimina la gónada izquierda el NOS derecho la modula de manera estimulante. Estos resultados son parcialmente semejantes a lo reportado para el animal adulto, donde el NOS derecho modula de manera estimulante la ovulación y la sección del NOS izquierdo no la modifica (Chávez y Domínguez, 1994).

---

---

Los cambios en la respuesta ovulatoria después de haber realizado la hemiovariectomía seguida de la sección del NOS pueden ser atribuidos a la falta de un ovario, a la eliminación parcial de la información neural, a un cambio en el flujo sanguíneo o a la combinación de estos factores.

Si bien se ha reportado que en la rata adulta la sección bilateral del NOS no modifica el flujo sanguíneo (Aguado y Ojeda, 1984b), recientemente el grupo de Zackrisson (2000) mostró que la ligadura de la arteria ovárica o uterina reduce el porcentaje de ovulación que se acompaña de la disminución en el flujo sanguíneo y de una menor concentración de progesterona. Los autores han interpretado estos resultados como respuesta a una disminución en el flujo sanguíneo, sin descartar que al momento de realizar la ligadura se produzca la estimulación de los nervios ováricos.

La ovulación compensadora es regulada por la inervación sensorial o simpática del ovario (Chávez y Domínguez, 1994; Morales y col., 1998; Trujillo y col., 2004) y depende de la edad en la cual se realiza la ovariectomía unilateral (Morales y col., 1993, 2007; Morán y col., 2003). En la rata adulta hemiovariectomizada, el NOS derecho modula de manera estimulante la ovulación compensadora (Chávez y Domínguez, 1994). Esta respuesta difiere a lo que observamos en el presente estudio, donde el NOS izquierdo la modula de manera inhibitoria. Por lo que proponemos que la regulación que ejerce el NOS en el ovario *in situ*, depende del estado endocrino del animal.

El útero presenta receptores a estrógenos (Yen y col., 2001; Brauer, 2008; Latini y col., 2008) y progesterona (Ohta y col., 1993; Brauer, 2008) cuyo número varía a lo largo de la vida del animal y su función es modular la acción de los esteroides ováricos en el tejido uterino (Zoubina y col., 1998). Aún cuando el útero es un órgano blanco de los estrógenos, no siempre se encuentra una correlación entre el peso del órgano y la concentración del esteroide. En el presente estudio

---

---

observamos que en las hembras laparotomizadas o hemiovariectomizadas sometidas a la sección del NOS, el peso del útero aumenta, en ocasiones éste aumento coincide con una mayor concentración de estradiol, mientras que en otros la concentración de la hormona es menor.

El aumento en el peso del útero se registró inmediatamente después de la cirugía, efecto que puede ser atribuido a un proceso inflamatorio agudo, ya que se ha reportado que este tipo de inflamación ocurre de manera inmediata a una lesión o cirugía habitualmente en el transcurso de las primeras dos horas (Robbins y Cotran, 2006).

El aumento en el peso del útero que se presentó después de las 48 horas post-cirugía, puede ser atribuido a cambios en el flujo sanguíneo que a su vez pudo inducir mayor acumulación de sangre. El cambio en el flujo puede ser atribuido; 1) a la estimulación indirecta de las fibras simpáticas del útero, provocada por la sección del NOS, ya que se ha reportado que la inervación simpática del útero tiene un origen similar a la del ovario, a partir de los ganglios celiaco, mesentérico inferior y el paracervical (Brauer, 2008) y esta asociada con vasos sanguíneos, tejido conectivo y muscular (Haase y col., 1997); 2) a un aumento en la densidad de las fibras simpáticas del útero, inducido por la extirpación de uno de los ovarios, tal y como se ha reportado que ocurre en el animal ovariectomizado (McKercher y col., 1973).

Previamente se ha mostrado que en la rata adulta hemiovariectomizada, la secreción de hormonas esteroideas por parte de los ovarios es asimétrica (Barco y col., 2003; Flores y col., 2005; Cruz y col., 2006), donde la inervación simpática del ovario modula dichos efectos (Domínguez y col., 2003).

En el presente estudio mostramos que en la rata laparotomizada seguida de la sección unilateral del NOS, el nervio izquierdo regula la secreción de progesterona en función del tiempo transcurrido, mientras que el derecho, la modula de manera inhibitoria, independientemente de si se evalúa en un período agudo o sub-agudo.

---

---

Cuando se extirpa el ovario derecho, el efecto diferencial que se observa por el NOS izquierdo se pierde, siendo ahora la modulación de tipo inhibitorio durante el período agudo. Cuando en el animal hemiovariectomizado del ovario izquierdo se secciona el NOS derecho, la modulación que ejerce ahora el nervio depende del tiempo transcurrido durante el periodo sub-agudo.

Previamente se postuló que en la rata adulta en el día del proestro, el NOS modula la secreción de progesterona de manera estimulante (Aguado y Ojeda, 1984b) mientras que, en la rata prepúber va a depender de la edad del animal (Morán y col., 2000). Por estudios *in vitro* se postula que el NOS izquierdo regula de manera inhibitoria la secreción de progesterona en ratas prepúberes y púberes (Delgado y col., 2004; 2006; Delgado y col., 2010). En el presente estudio, los cambios observados en la concentración de progesterona sugieren que ante la sección del NOS se produce una estimulación masiva de las fibras simpáticas que provocaría la liberación de NA y VIP, los cuales podrían actuar de la siguiente manera:

La NA ejerce un efecto inhibitorio en la liberación de progesterona, ya que en la rata en diestro 1 o diestro2 la inyección intracerebroventricular de NA induce disminución en la concentración de la hormona en la vena ovárica (De Bortolí y col., 1998). En ovarios de ratas al primer estro vaginal, la presencia de VIP *in vitro* tiene un efecto estimulante en la secreción de progesterona que también se observa en la rata adulta en el día del diestro 2 (Ahmed y col., 1986; Garraza y col., 2004).

La modulación que ejerce el NOS en el animal hemiovariectomizado depende del ovario *in situ*. En un período agudo, el NOS-izquierdo modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona. Esta respuesta podría ser atribuida a la comunicación que existe entre la glándula adrenal y los ovarios, donde ambas glándulas reciben inervación simpática originada del ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS) (Morales y col., 2011; Tóth y col., 2008). Por tanto el incremento en

---

---

la concentración de progesterona puede ser de origen adrenal, en apoyo a esta idea, se ha mostrado que en la rata adulta en el día del diestro 2, proestro y estro la principal fuente de progesterona son las adrenales (Barco y col., 2003; Flores y col., 2005).

En un período sub-agudo, en el animal con ovariectomía izquierda, el NOS-derecho modula la secreción de progesterona de una manera diferencial. Previamente mostramos que en la rata prepúber, el ovario izquierdo y derecho tienen la misma capacidad de secretar progesterona (Morales y col., 2011). Los resultados del presente estudio indican que la síntesis de progesterona depende de la inervación simpática.

Las células de la teca, inervadas por el NOS, secretan como producto principal androstenediona (Erickson y col., 1985). En cultivo de células teco-intersticiales en presencia de hCG, la adición de un agente catecolaminérgico amplifica la acción de la gonadotropina, lo que resulta en un incremento en la síntesis de andrógenos (testosterona y androstenediona) (Dyer y Erickson, 1985). De igual manera, la inyección intracerebroventricular de NA, en la rata adulta en el diestro 2, incrementa la concentración de androstenediona en los ovarios denervados e incubados en presencia de LH. Estos resultados llevaron a los autores a postular que el NOS modula de manera inhibitoria la liberación de la hormona y el efecto depende de la presencia de gonadotropinas (De Bortolí y col., 2000).

Cuando se realiza la sección bilateral del NOS en la rata neonata y sus efectos son evaluados en la etapa prepuberal, el NOS modula de manera inhibitoria la secreción de andrógenos, mientras que lo hace de manera estimulante a la pubertad (Forneris y Aguado, 2002). En la rata laparotomizada la sección del NOS resultó en la disminución de la concentración de testosterona, tanto en el período agudo como en el sub-agudo. Resultados que nos permiten sugerir que en días previos al inicio de la pubertad, el NOS regula de manera estimulante la secreción de testosterona.



En la rata adulta hemiovariectomizada, la secreción de hormonas esteroides por los ovarios se produce de manera asimétrica y varía a lo largo del ciclo estral (Barco y col., 2003; Flores y col., 2006). En el presente estudio se muestra que en la rata juvenil hemiovariectomizada, la modulación que ejerce el NOS en la secreción de testosterona depende del tiempo de evolución. Es posible que los cambios observados en las concentraciones de testosterona de estos animales se deban a que cada ovario *in situ*, presenta una capacidad diferente para sintetizar activina e inhibina. En apoyo a esta interpretación, se sabe que la concentración de éstas hormonas proteicas varían en función del estado de desarrollo del folículo, donde el folículo inmaduro sintetiza predominantemente activina, lo que se traduce en una menor secreción de andrógenos, mientras que el folículo preovulatorio sintetiza inhibina, lo incrementa la secreción de andrógenos (Hillier, 1991; Philip y Claire, 2001).

Dado que a nivel de ganglio celiaco se localizan los somas de las fibras del NOS y fibras provenientes del nervio vago (Berthoud y Powley, 1996), no podemos descartar que en la rata juvenil hemiovariectomizada, ante la falta de la información aportada por el NOS, el nervio vago participe en la regulación de la secreción de testosterona. Se ha reportado que en la rata prepúber con ovariectomía unilateral, el nervio vago regula de forma asimétrica la secreción de la hormona, la cual depende del nervio seccionado y varía con la edad del animal (Morales y col., 2007).

Los resultados del presente estudio muestran que en un período agudo, la FSH regula a la baja la secreción de estradiol, mientras que en el período sub-agudo la secreción de la hormona parece depender más de la integridad de la inervación ovárica.

---

---

Son varios los trabajos que señalan que el papel del NOS en la secreción de estradiol depende del estado endócrino del animal (Morán y col., 2000, 2009; Vieyra, 2007). En la rata adulta en el día del proestro, el NOS modula de manera estimulante la secreción de estradiol, ya que la sección bilateral del nervio o la estimulación eléctrica del NOS, resulta en la disminución de la concentración de la hormona (Aguado y Ojeda, 1984b; Kagitani y col., 2008), sin embargo, cuando la denervación se realiza en la rata neonata y sus efectos son evaluados en la etapa prepúber, púber o adulta, la concentración de la hormona aumenta (Forneris y Aguado, 2002; Zhang y col., 2010). Este comportamiento diferencial, también lo observamos cuando analizamos los efectos de la sección del NOS en un período sub-agudo. De igual manera, en la rata juvenil hemiovariectomizada, el papel que juega el NOS en la regulación de estradiol, depende del ovario *in situ* o del periodo de evolución.

En la rata hemiovariectomizada, la respuesta en la secreción de estradiol, a la sección del NOS depende del ovario *in situ*. Esta asimetría podría deberse a que en la rata, la gónada derecha recibe fibras provenientes del ganglio celiaco izquierdo y derecho, mientras que la gónada izquierda, sólo recibe del ganglio izquierdo (Morán y col., 2009), lo cual lleva a pensar que, el ovario derecho tiene mayores conexiones neurales con centros superiores que el izquierdo. Klein y Burden (1988) mostraron que el ovario derecho de la rata adulta, posee mayor inervación simpática que el ovario izquierdo. Esta diferencia en el número de fibras podría explicar el hecho de que el ovario derecho tiene mayor capacidad de secretar estradiol (Morales y col., 2011).

Estudios realizados por Forneris y Aguado en el 2002 mostraron que en la rata de 4 días de edad, el NOS modula de manera estimulante la secreción de FSH, cuando los efectos fueron evaluados en la etapa prepuberal, puberal o adulta. Nuestros resultados muestran que en la rata juvenil laparotomizada el NOS modula de manera inhibitoria la secreción de FSH ya que en los diversos tiempos de

---

---

evaluación la concentración de la hormona fue mayor. La discrepancia entre estos estudios podría deberse al momento en el que se realizó la denervación, ya que en el estudio anterior fue en la etapa neonata y en nuestro caso al final de la etapa juvenil.

Se ha reportado que en la rata adulta hemiovariectomizada las concentraciones de gonadotropinas aumentan a las 5 horas después de la extirpación del ovario (Welschen y Dullaar, 1974; De Greff y col., 1975). En el presente estudio se muestra que en la rata prepúber con ovariectomía unilateral la sección del NOS izquierdo resultó en el aumento de las concentraciones de FSH desde las 5 horas después de la cirugía, manteniéndose hasta el primer estro vaginal. Por lo que podemos sugerir que en la rata hemiovariectomizada, el NOS izquierdo regula de manera inhibitoria la secreción de FSH.

La sección bilateral del NOS en la rata neonata (Forneris y Aguado, 2002) o juvenil (Aguado y Ojeda, 1984a) no modifica la concentración de LH cuando sus efectos son evaluados en la etapa prepúberal, puberal o adulta. Mientras que en la rata adulta el NOS modula de manera estimulante la secreción de LH (Ramírez, 2011). En el presente estudio mostramos que en la rata laparotomizada, la sección del NOS derecho resultó en una disminución de la concentración de LH en tiempos sub-agudos de evaluación, indicándonos que el NOS regula de manera estimulante la secreción de la hormona. Dichos efectos podrían explicarse por el aumento en la concentración de progesterona, la cual podrían estar actuando a nivel de hipotálamo regulando la secreción de gonadotropinas.

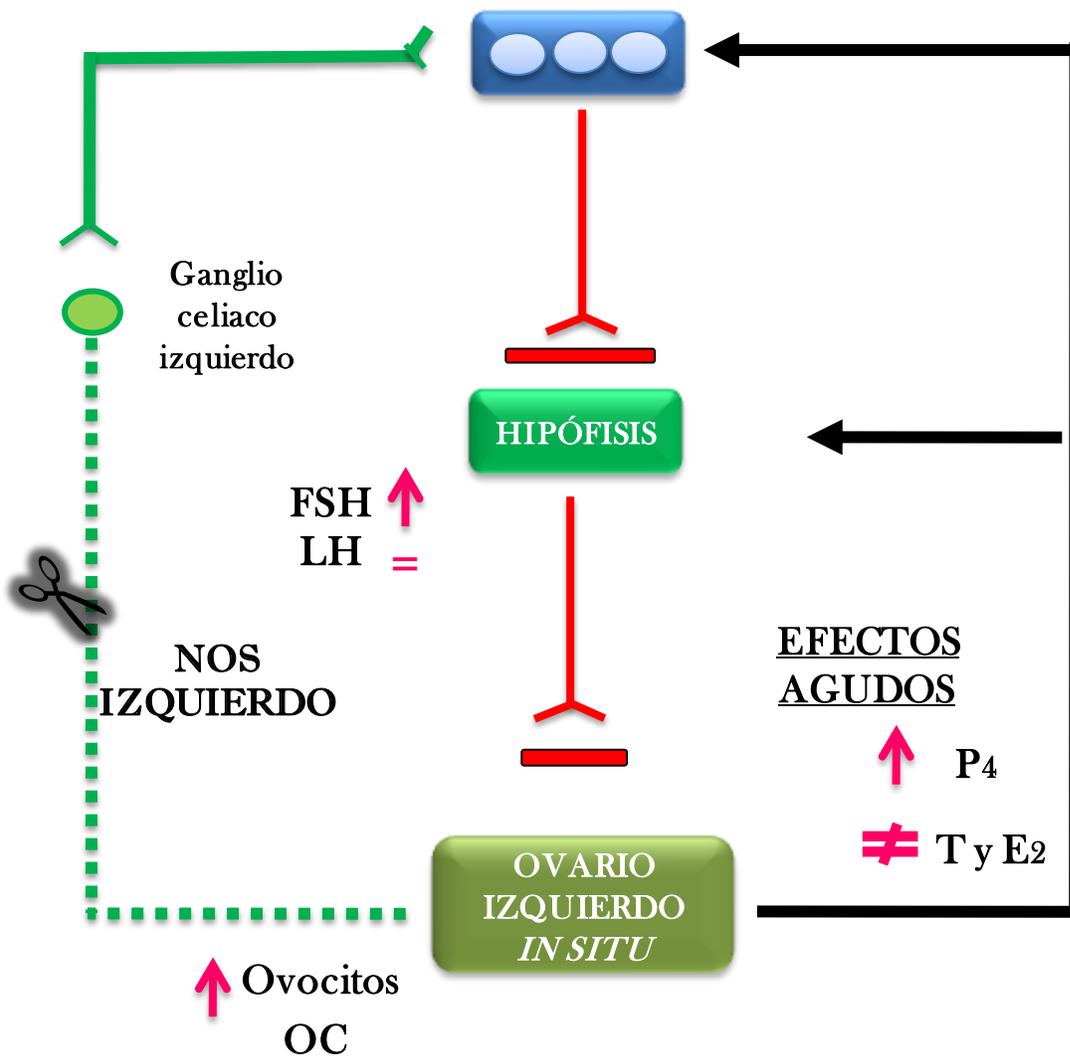
La hipertrofia compensadora ovárica que se produce después de la extirpación de un ovario, se había explicado por cambios en las concentraciones de gonadotropinas por la hipófisis y la de esteroides por los ovarios (Butcher, 1977). Nuestros resultados muestran, que en la rata hemiovariectomizada sometida a la sección del NOS, la hipertrofia compensadora que se presenta en las primeras 48 horas post-cirugía es de la misma magnitud que cuando el ovario remanente



mantiene intacta su inervación. Sin embargo, conforme el animal se acerca a la pubertad, el NOS tiene un papel relevante en la regulación de dicho proceso. Con base en nuestros resultados, planteamos que la ganancia en el peso ovárico puede ser regulado por dos vías: 1) cuando seccionamos el NOS-izquierdo, depende del aumento en la concentración de FSH, que se produce desde las primeras 5 horas post-cirugía. Tal y como se ha reportado que ocurre cuando se realiza la ovariectomía unilateral en la rata adulta (Burden y Lawrence 1977; Ackland y col., 1990; Flores y col., 1990). 2) cuando seccionamos el NOS-derecho, la hipertrofia no se correlaciona con las concentraciones de gonadotropinas, lo que nos permite sugerir que depende de la inervación simpática, tal y como ya se ha postulado (Flores y col., 1990). Previamente se ha mostrado que en la rata adulta la hipertrofia compensadora es asimétrica y depende de la integridad del nervio ovárico superior (Chávez y Domínguez, 1994), mientras que en la prepúber depende del tiempo de evaluación (Morales y col., 1993). No descartamos la participación del nervio vago en este proceso, ya que se sabe que la vagotomía bilateral o la vagotomía izquierda bloquea la HCO (Burden y Lawrence, 1977; Morales y col., 2007), si esta se realiza inmediatamente a la ovariectomía y no la modifica si se realiza 4.5 horas después (Trkulja y Lackovic, 2001).

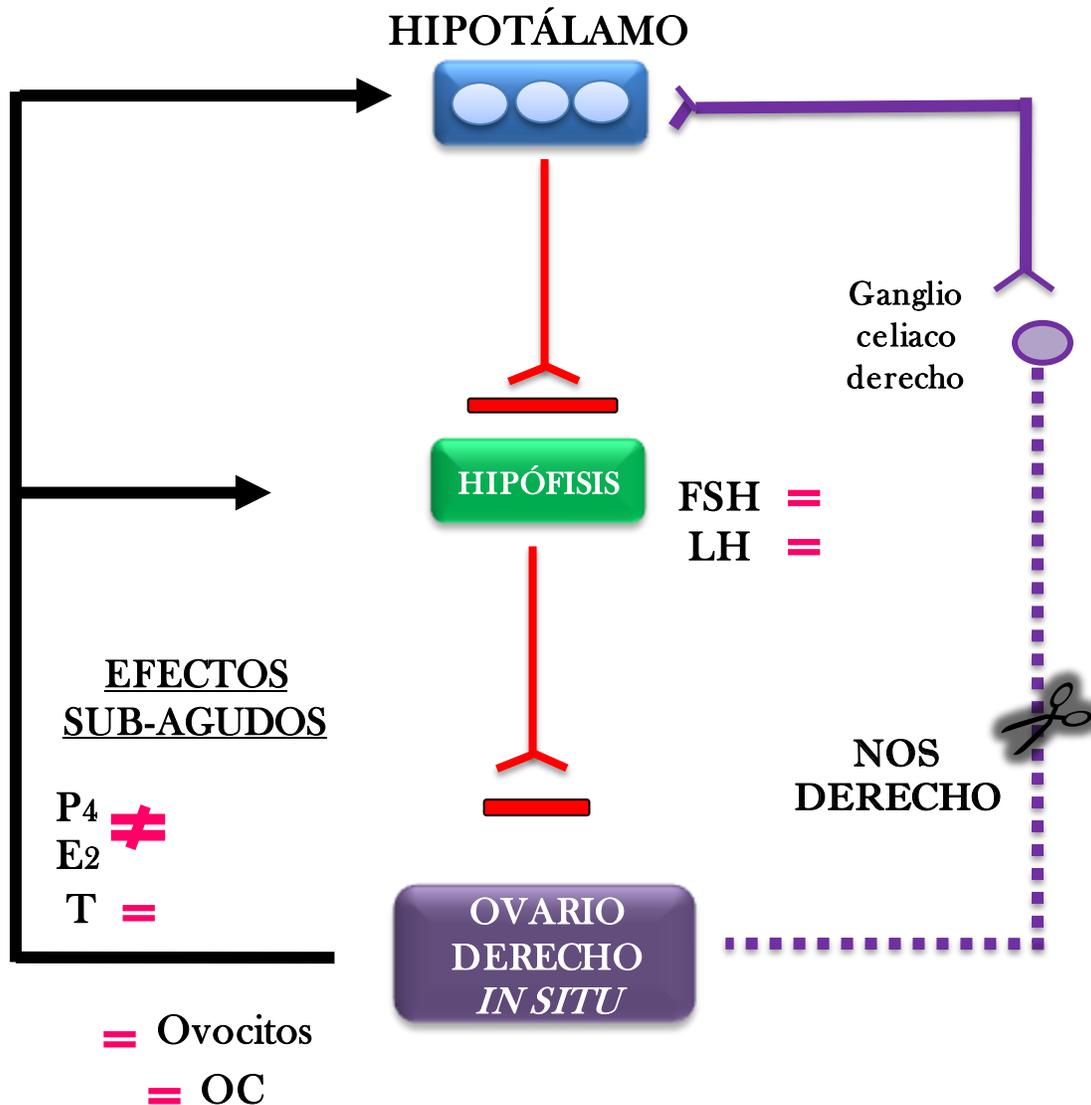
En resumen, los resultados del presente estudio muestran que en la rata juvenil hemiovariectomizada, la regulación que ejerce el NOS sobre las concentraciones séricas de hormonas esteroides y gonadotropinas depende del nervio seccionado, del ovario *in situ* y del tiempo de evolución, mientras que los procesos compensatorios son regulados de manera inhibitoria por parte del NOS.

## MODELO



En el presente modelo se resumen los efectos de la sección del **nervio ovárico superior izquierdo** (NOS-I) (en color verde) en la ratona juvenil con ovariectomía unilateral derecha (OUL-D) a los 32 días de edad y evaluados en tiempos agudos y sub-agudos post-denervación, sobre la concentración de progesterona (P<sub>4</sub>), testosterona (T), estradiol (E<sub>2</sub>), de la hormona folículo estimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH) en suero, el número de ovocitos liberados y la ovulación compensadora (OC). Donde la flecha ↑ indica incremento en la concentración de las hormonas, el signo (=) indica variaciones en la concentración de hormonas a lo largo de los tiempos evaluados, el signo (≠) muestra que no hubo cambios significativos. Como se observa en el modelo, en la ratona juvenil con OUL-D, el **NOS izquierdo** regula de manera **inmediata** la concentración de hormonas esteroides, siendo **inhibitoria** para la de P<sub>4</sub>, y **diferencial** para la de T y E<sub>2</sub>, mientras que la de FSH es regulada de forma **inhibitoria** en el periodo **sub-agudo**, sugiriéndonos que la información nerviosa del ovario *in situ*, llega a centros hipotalámicos regulando la secreción de gonadotropinas a nivel hipotalámico y por tanto la secreción de esteroides.

# MODELO



En el presente modelo se resumen los efectos de la sección del **nervio ovárico superior derecho** (NOS-D) (en color morado) en la rata juvenil con ovariectomía unilateral izquierda (OUL-I) a los 32 días de edad y evaluados en tiempos agudos y sub-agudos post-denervación, sobre la concentración de progesterona ( $P_4$ ), testosterona (T), estradiol ( $E_2$ ), de la hormona folículo estimulante (FSH), hormona luteinizante (LH) en suero, el número de ovocitos liberados y la ovulación compensadora (OC). Donde el signo (=) muestra que no hubo cambios significativos, el signo ( $\neq$ ) indica variaciones en la concentración de hormonas a lo largo de los tiempos evaluados. Como se observa en el modelo, en la rata juvenil con OUL-I, el **NOS derecho** regula de manera diferencial en el período **sub-agudo** la concentración de  $P_4$ , y  $E_2$  y no participa en la regulación de la secreción de T, FSH y LH.

---

---

## CONCLUSIONES

En la rata laparotomizada, la regulación que ejerce el NOS en el periodo agudo sobre la secreción de progesterona, depende del tiempo de evolución, mientras que en el periodo sub-agudo el NOS regula de manera inhibitoria la secreción de la hormona. La regulación de testosterona en ambos periodos, por el NOS es estimulante. La regulación en la secreción de estradiol en el periodo agudo es estimulante, mientras que en el sub-agudo depende del tiempo de evolución.

En la rata laparotomizada, el NOS regula de forma inhibitoria las concentraciones de FSH tanto en el periodo agudo como en el su-agudo, mientras que la de LH es regulada de forma estimulante sólo en el periodo sub-agudo.

En la rata juvenil con OUL, el NOS *izquierdo* modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona en el periodo agudo, mientras que la de FSH es regula de la misma forma en el periodo sub-agudo, la regulación de testosterona y estradiol depende del tiempo de evolución.

En la rata juvenil con OUL, el NOS *derecho* modula de manera diferencial la secreción de progesterona en el periodo sub-agudo, este mismo comportamiento es observado en la secreción de testosterona en el periodo agudo. La regulación de estradiol por del NOS se da de forma inhibitoria en ambos periodos.



En la rata juvenil hemiovariectomizada, los procesos compensatorios del ovario son regulados de forma inhibitoria por parte del NOS. La ovulación compensadora es modulada por el NOS izquierdo, mientras que el fenómeno de HCO no depende del nervio seccionado.

En conjunto, los resultados indican que en la rata juvenil hemiovariectomizada, la regulación que ejerce el NOS sobre la concentración de hormonas esteroides, depende del nervio seccionado, del ovario *in situ* y del tiempo de evolución, en donde las concentraciones de gonadotropinas y la respuesta compensadora del ovario son reguladas de forma inhibitoria por parte del NOS.

---

---

## REFERENCIAS

- ✓ Ackland JFD', Agostino J, Ringstrom SJ, Hostetler JP, Mann BG y Schwartz NB (1990). Circulating radioimmunoassayable inhibin during periods of transient follicle-stimulating hormone rise: Secondary surge and unilateral ovariectomy. **Biology of Reproduction** 43:347-352.
- ✓ Adashi EY (1994). Endocrinology of the ovary. **Human Reproduction** 9(5):815-827.
- ✓ Adashi EY y Hsueh AJW (1981). Stimulation of  $\beta_2$ -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormona in rat granulosa cells *in vitro* and *in vivo*. **Endocrinology** 108:2170-2178.
- ✓ Aguado LI y Ojeda SR (1984a). Prepuberal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation. **Endocrinology** 114(5):1845-1853.
- ✓ Aguado LI y Ojeda SR (1984b). Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. **Endocrinology** 114 (5):1944-1946.
- ✓ Ahmed CE, Dess WL y Ojeda SR (1986). The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP) containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. **Endocrinology** 118:1682-1689.
- ✓ Amsterdam A, Knecht M y Catt KJ (1981). Hormonal regulation of cytodifferentiation and intercellular communication in cultured granulosa cells. **Proceedings of the National Academy of Science (PNAS) USA** 78:300.
- ✓ Anderson RG, Brown MS y Goldstein JL (1977). Role of the coated endocytotic vesicle in the uptake of receptor-bound low density lipoprotein in human fibroblasts. **Cell and Tissue Research** 10:351.
- ✓ Andrew WW y Ojeda SR (1981). A detailed analysis of the serum luteinizing hormone secretory profile in conscious, free-moving female rats during the time of puberty. **Endocrinology** 109:2032-2039.
- ✓ Arechavaleta-Velasco F, Laura DC y Pablo DL (2009). Pesticidas organoclorados y sus efectos en la esteroidogénesis ovárica. Mensaje Bioquímico Vol XXXIII. Departamento de Bioquímica Facultad de Medicina. UNAM. pp. 61-70.

- 
- 
- ✓ Arias P (2003). "Endocrinología de la Reproducción" En: Dvorkin MA, Cardinali DP. (Eds.) **Bases Fisiológicas de la Práctica Médica**. 13a. edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 38, pp. 659-681.
  - ✓ Axel S, Schomberg DW y Hammond CB (1977). Prostaglandin F-2 alpha production in the human ovary. **Obstetrics and Gynecology** 50:347-350.
  - ✓ Barco AI, Flores A, Chavira R, Damián-Matsumura P, Domínguez R y Cruz ME (2003). Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. **Endocrine** 21:209-215.
  - ✓ Baynes JW y Dominiczak MH (2006). **Bioquímica Médica**. 2ª ed. Elsevier. España. pp. 213-224.
  - ✓ Becú-Villalobos DB y Lacau-Mengido MI (1990). Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra. **Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican** 40:1-17.
  - ✓ Berne RM, Levy M y Harcourt B (1999) **Fisiología**. 2ª ed. España. pp. 697-701.
  - ✓ Berthoud HR y Powley TL (1996). Interaction between parasympathetic and sympathetic nerves in prevertebral ganglia morphological evidence for vagal afferent innervation of ganglion cells in the rat. **Microscopy Research and Technique** 35:80-86.
  - ✓ Botella Lluisa J (1987). Prostaglandinas y reproducción. **Acta ginecológica** 44:149-158.
  - ✓ Brauer MM (2008). Cellular and molecular mechanisms underlying plasticity in uterine sympathetic nerves. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical** 140:1-16.
  - ✓ Brown MS, Dana SE y Goldstein JL (1975). Receptor-dependent hydrolysis of cholesterol esters contained in plasma low density lipoprotein. **Proceedings of the National Academy of Science (PNAS) USA** 72:2925.
  - ✓ Brown MS y Goldstein JL (1976). Receptor-mediated control of cholesterol metabolism. **Science** 191:150.

- 
- ✓ Brown TR (1999). Steroid Hormones, Overview. En Encyclopedia of Reproduction, Vol 4. **Academic Press**. pp. 634-644.
  - ✓ Burden HW (1978). Ovarian Innervation. En: Jones R.E. (Ed.) **The Vertebrate Ovary Comparative Biology**. Plenum Press. New York. pp. 615-628.
  - ✓ Burden HW (1985). The adrenergic innervation of mammalian ovaries. **En: Catecholamines as Hormone Regulator**. N. Ben-Jonathan, J.M. Barh y R.I. Weiner (Eds.). Reven Press, New York.
  - ✓ Burden HW y Lawrence IE (1977). The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. **Neuroendocrinology** 23:368-378.
  - ✓ Butcher RL (1977). Changes in gonadotropins and steroids associated with unilateral ovariectomy of the rat. **Endocrinology** 101:830-839.
  - ✓ Carlson DM (2009). **Embriología humana y biología del desarrollo**. 4ª edición. Elsevier. Amsterdam. Cap. I. pp. 416-428.
  - ✓ Chávez R, Sánchez S, Ulloa-Aguirre A y Domínguez R (1987). Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrus cycle in the rat. **Endocrinol** 123:441-444.
  - ✓ Chávez R, Carrizosa L y 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 y Domínguez R (1994). Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. **Journal of Endocrinology** 140:197-201.
  - ✓ Chun SY, Eisenhauer KM y Minami S (1996). Hormonal regulation of apoptosis in early antral follicles: Follicle-stimulating hormone as a major survival factor. **Endocrinology** 137:1447.
  - ✓ Critchlow V, Bar-Sela ME (1967). Control of the onset of Puberty En: Martini L y Ganong W.F. (eds) **Neuroendocrinology**. Vol. II Academic Press New York Pp: 101-162.

- 
- ✓ Cruz ME, Flores A, Palafox MT, Mélenz G, Rodríguez OJ, Chavira R y Domínguez R (2006). The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model. **Reproductive Biology and Endocrinology** 4(43):1-8.
  - ✓ D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Dess W y Ojeda SR (2002). Intrinsic neurons in the mammalian ovary. **Microscopy Research and Technique** 59:484-489.
  - ✓ Davoren J y Hsueh A (1985). Vasoactive intestinal peptide: A novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. **Biology of Reproduction** 33:37-52.
  - ✓ De Bortoli MA, Garraza MH y Aguado LI (1998). Adrenergic intracerebroventricular stimulation affects progesterone concentration in the ovarian vein of the rat: participation of the superior ovarian nerve. **Journal of Endocrinology** 159:61-68.
  - ✓ De Bortoli MA, Garraza MH y Aguado LI (2000). Epinephrine intracerebroventricular stimulation modifies the LH effect on ovarian progesterone and androstenedione release. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology** 74:19-24.
  - ✓ De Greef WJ, Dullaart J y Zeilmaker GH (1975). Serum luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, prolactin and progesterone concentrations and follicular development in the pseudopregnant rat after unilateral ovariectomy. **J Endocrinol** 66:249-256.
  - ✓ Dees WL, Hiney JK, Shultea TD, Mayherhofer A, Danilchik M, Diseen GA y Ojeda SR (1995). The primate ovary contains a population of catecholaminergic neuronlike cells expressing nerve growth factor receptors. **Endocrinology** 136:5760-5768.
  - ✓ Delgado SM, Sosa Z, Domínguez N, Casais M, Aguado LI y Rastrilla AM (2004). Effect of the relation between neural cholinergic action and nitric oxide on ovarian steroidogenesis in prepubertal rats. **Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology** 91:139-145.
  - ✓ Delgado SM, Casais M, Sosa Z y Rastrilla AM (2006). Ganglionic adrenergic action modulates ovarian steroids and nitric oxide in prepubertal rat. **Journal of Endocrinology** 53:547-554.

- 
- ✓ Delgado SM, Escuderoa CG, Casais M, Gordillo M, Ana Cecilia Anzulovich AC, Sosa Z y Rastrilla AM (2010). Ovaric physiology in the first oestral cycle: Influence of noradrenergic and cholinergic neural stimuli from coeliac ganglion. **Steroids** 75:685-694.
  - ✓ Dinarello CA (1984). Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute phase response. **New England Journal of Medicine** 311: 1413.
  - ✓ Dissen AG y Ojeda SR (1999). Innervation in ovarian. **En: Encyclopedia of Reproduction** (Eds.) E. Knobil y J. D. Neill. Academic Press. (3):583-589.
  - ✓ Dohler KD y Wuttke W (1974). Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats. **Endocrinology** 94:1003-1008.
  - ✓ Domínguez R, Chávez R y Cruz ME (1991). "La Regulación del Crecimiento y del Desarrollo del Folículo Ovárico". **En: Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción**. Miguel Ángel Porrúa. México 161-192.
  - ✓ Domínguez R, Morales L y Cruz ME (2003). Ovarian asymmetry. **ARBS. Annual Review of Biomedical Sciences** 5:95-104.
  - ✓ Driancourt MA y Cahill LP (1984). Preovulatory Follicular events in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility** 71:205-211.
  - ✓ Dyer Ch y Erickson GF (1985). Norepinephrine amplifies human chorionic gonadotropin-stimulated androgen biosynthesis by ovarian theca-interstitial cells. **Endocrinology** 116:1645-1652.
  - ✓ Erickson GF, Magofin CA, Dyer C y Hofeditz (1985). The ovarian androgen producing cells: a review of structure/function relationships. **Endocrinol** 6:371-399.
  - ✓ Espey LL, Coons PJ, Marsh JM y Lemaire WL (1981). Effect of indomethacin on preovulatory changes in the ultrastructure of rabbit graafian follicles. **Endocrinology** 108:1040-1048.
  - ✓ Falck B (1959). Site of production of oestrogen in rat ovary as studied by micro-transplants. **Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum** 47:1.
  - ✓ Fawcett DW (1995). **Tratado de Histología**. McGraw-Hill Interamericana. 12<sup>o</sup> ed. pp. 886-904.

- 
- ✓ Ferruz J, Ahmed CE, Ojeda SR y Lara HE (1992). Norepinephrine release in the immature ovary is regulated by autoreceptors and neuropeptide Y. **Endocrinology** 130:1345-1351.
  - ✓ Flores A, Morales L, Ulloa-Aguirre A y Domínguez R (1990). Acute changes in serum levels of luteinising hormone and follicle stimulating hormone, ovulation and follicular growth induced by stress, unilateral ovariectomy or mechanical stimulation of the ovarian pedicle at different stages of the oestrous cycle of the rat. **Medical Science Research** 18:819-821.
  - ✓ Flores A, Mélendez G, Palafox MT, Rodríguez OJ, Barco AI, Chavira R, Domínguez R y Cruz ME (2005). The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle. **Endocrine** 28:145-151.
  - ✓ Flores A, Rodríguez OJ, Palafox MT, Mélendez G, Barco AI, Chavira R, Cruz ME y Domínguez R (2006). The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system. **Reproductive Biology and Endocrinology** 4(11):1-10.
  - ✓ Forneris LM y Aguado LI (2002). Neonatal superior ovarian nerve transaction disturbs the cyclic activity of the female rats. **Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology** 82:75-82.
  - ✓ Foster LD y Ebling FJ (1999). Puberty, in nonprimate mammals. **En: The Physiology of Reproduction**. 2a ed. Knobil, E., Neill, J. (Eds.). New York: Raven Press. Vol. 5. pp. 142-151.
  - ✓ Freeman M (1994). The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. **En: The Physiology of Reproduction**. 2a ed. Raven Press, New York, USA: 620-634.
  - ✓ Garraza MH, Aguado LI y De Bortoli MA (2004). *In vitro* effect of neuropeptides on ovary or celiac ganglion affects the release of progesterone from ovaries in the rat. **Medical Science Monitor** 10(12):BR440-446.
  - ✓ Geneser F (2000). Órganos de la Reproducción. **En: Histología sobre Bases Biomoleculares**. 3ª ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 22. pp.613-638.

- 
- ✓ George FW y Ojeda SR (1987). Vasoactive intestinal peptide enhances aromatasa activity in the neonatal rat ovary before development of primary follicles or responsiveness to follicle-stimulating hormone. **Proceedings of the National Academy of Science (PNAS) USA** 84:5803-5807.
  - ✓ Gerendai I, Marchetti B, Maugeri S, Amico Roxas y Scapagini U (1978) Prevention of compensatory ovarian hypertrophy by local treatment of the ovary with 6-OHDA. **Neuroendocrinology** 27:272-278.
  - ✓ Gerendai I, Csaba Zs, Voko Z y Csernus V (1995). Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal function. **Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology** 53:299-305.
  - ✓ Gerendai I, Toth IE, Boldogkoi Z, Medveczky I y Halasz B (1998). Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral tracing technique. **Neuroendocrinology** 68:244-256.
  - ✓ Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medveczky I y Halász B (2000). CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. **Journal Autonomic Nervous System** 80:40-45.
  - ✓ Goldfien A y Monroe S.E. (2000) "Ovarios". En: Greenspan F.S, Strewler G.J. (Eds.) **Endocrinología Básica y Clínica**. 4a ed. Editorial El Manual Moderno. México D.F. Cap. 13. pp. 497-554.
  - ✓ Goldstein JL, Anderson RG y Braw MS (1979). Coated pits, coated vesicles, and receptor mediated endocytosis. **Nature** 279:679.
  - ✓ Gore-Langton R y Armstrong DT (1994). Follicular steroidogenesis and its control **En: The Physiology of Reproduction**, 2a ed. Knobil E. Neill JD (Eds.) New Cork: Raven Press Ltd. Vol 1 pp. 571-627.
  - ✓ Guyton A.C. (1989). "Anatomía y Fisiología del Sistema Nervioso". **Editorial Panamericana**. Buenos Aires.
  - ✓ Guyton AC y Hall JE (2001). Fisiología femenina antes de la gestación y hormonas femeninas. **En: Tratado de Fisiología Médica**. 10ª. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Cap. 81. pp: 1117-1133.

- 
- 
- ✓ Hage AJ, Groen-Klevant AC y Welschen R (1978). Follicle growth in the immature rat ovary. **Acta endocrinol (Copenh)** 88:375-382.
  - ✓ Haase E.B, Buchman J, Tietz A.E y Schramm L.P. (1997) "Pregnancy induced uterine neuronal degeneration in the rat". **Cell and Tissue Research** 288: 293-306.
  - ✓ Heger S, Mastronardi C, Lomniczi A, Cabrera R, Roth C, Sippell WG, Jung H, Dissen GA y Ojeda SR (2005). Role of a novel gene (Enhanced at Puberty, EAP-1) in the regulation of female puberty. **Hormone Research** 64(1):22.
  - ✓ Hillier SG (1991). Regulatory functions for inhibin and activin in human ovaries. **Journal of Endocrinology** 131:171-175.
  - ✓ Hiller SG, Whitelaw PF y Smith CD (1994). Follicular oestrogen synthesis. The "two-cell, two gonadotrophin" model revisited. **Molecular and cellular Endocrinology** 100:51-54.
  - ✓ Hinshelwood MM (1999). Steroidogenesis, Overview. **En: Encyclopedia of Reproduction**, Vol 4. Academic Press pp. 644-653.
  - ✓ Hirshfield AN (1991). Development follicles in the mammalian ovary. **International Review of Cytology** 124:43-101.
  - ✓ Hsueh AJW, Erickson GF y Papkoff H (1983). Effects of diverse mammalian gonadotropins on estrogen and progesterone production by cultured rat granulosa cells. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 225:505-511.
  - ✓ Hsueh AJW, Adashi EY, Jones PBC y Welsh THJ (1984). Hormonal regulation of the differentiation of cultured ovarian granulosa cells. **Endocrinology Review** 5: 76-127.
  - ✓ Italo TR y Pineda RL (1988). Fisiología del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en la edad reproductiva de la mujer. **Avances de Reproducción Humana**. Sociedad argentina de esterilidad y fertilidad. Ed Panamericana. Pp: 21-49.

- 
- 
- ✓ Johnson MC, Devoto L, y Retamales I (1996). Localization of insulin-like growth factor (IGF-I) and IGF-I receptor expression in human corpora lutea: Role on estradiol secretion. **Fertility and Sterility** 65: 489.
  - ✓ Kagitani F, Uchida S y Hotta H (2008) Effects of electrical stimulation of the superior ovarian nerve and the ovarian plexus on the ovarian estradiol secretion rate in rats. **The Journal of Physiological Sciences** 58(2):133-138.
  - ✓ Kinsey-Jones JS, Li XF, Knox AM, Lin YS, Milligan SR, Lightman SL y O'Byrne KT (2010). Corticotrophin-releasing factor alters the timing of puberty in the female rat. **Journal of Neuroendocrinol** 22(2):102-109.
  - ✓ Klein CM y Burden HW (1988). Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. **Neuroscience Letters** 85: 217-222.
  - ✓ Krishna A, Terranova PF, Materri RL y Papkoff H. (1986). Histamine and increased ovarian blood flow mediate LH-induced superovulation in the cyclic hamster. **Journal of Reproduction and Fertility** 76: 23.
  - ✓ Lamprecht SA, Kohen F, Ausher J, Zor U y Lindner HR (1976). Hormonal stimulation of estradiol-17 $\beta$  release from the rat ovary during early postnatal development. **Journal of Endocrinology** 68: 343-344.
  - ✓ Latini C, Frontine A, Morroni M, Marzioni D, Castellucci M, Smith PG (2008). Remodeling of uterine innervations. **Cell and Tissue Research** 334:1-6.
  - ✓ Lawrence IE y Burden HW (1980). The origin of the Extrinsic Adrenergic innervation to the rat ovary. **The Anatomical Record** 196: 51-59.
  - ✓ Lawrence y Espey (1999). Ovulation. **Encyclopedia of Reproduction. Volumen 3**. Academic Press Pp: 606-614.
  - ✓ Mackinnon PCB, Mattock JM y Ter Haar MB (1976). Serum gonadotrophin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormone levels. **Journal of Endocrinology** 70:361-371.

- 
- 
- ✓ MacNatty KP, Gibb M y Dobson C (1982). Preovulatory and follicular development in sheep treated with prostaglandins. **Journal of Reproduction and Fertility** 65: 111-125.
  - ✓ Malamed S, Gibney JA y Ojeda SR (1992). "Ovarian Innervation Develops Before Initiation of Folliculogenesis in the Rat". **Cell and Tissue Research** 270: 87-93.
  - ✓ Mastronardi C, Smiley G, Kuswakabe T, Kawagushi A, Cabrera R, Mungenast A, Kimura S y Ojeda SR (2004). Neuronal deletion of the T/EBP gene delays female puberty and causes premature reproductive senescence. Program No. 143 2, 2004 Abstract Viewer Washington, D.C: **Society for Neuroscience**.
  - ✓ McKercher TC, Van Orden LS, Bhatnagar RK, Burke JP (1973). Estrogen-Induced biogenic amine reduction in rat uterus. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 185:514-422.
  - ✓ Meijs-Roelofs HMA, Kramer P y Sander HJ (1983). Changes in serum concentrations of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty. **Journal of Endocrinology** 98:241-249.
  - ✓ Meijs-Roelofs HMA, Kramer P, Osman P y Sander HJ (1984). Compensatory ovulatory mechanisms operative after first ovulation in rats unilaterally ovariectomized prepubertally. **Biology of Reproduction** 31:44-51.
  - ✓ Meza-Herrera CA (2008). Mecanismos reguladores de la pubertad en la cabra: Actualización de algunos conceptos. **Tropical and Subtropical Agroecosystems** 9: 29-38.
  - ✓ Morales L, Chávez R y Domínguez R (1993). Participation of the superior nerve in the regulation of ovulation in the prepuberal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve. **Medical Science Research** 21:15-17.
  - ✓ Morales L, Chávez R y Domínguez R (1998). Effect 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, Betanzos R y Domínguez R (2004). Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. **Archives of Medical Research** 35:279-283.
  - ✓ Morales L, Ricardo B, Bolaños A, Chavira R y Domínguez R (2007). Ipsilateral vagotomy to unilaterally ovariectomized pre-pubertal rats modifies compensatory ovarian responses. **Reproductive Biology and Endocrinology** 5:24.
  - ✓ Morales L, Ramírez D, Vieyra E, Trujillo A, Chavira, R, Cardenas M y Domínguez R (2011). The effects acute unilateral ovariectomy pre-pubertal rat on steroid hormones secretion and compensatory ovarian responses. **Biology of Reproduction** 9:40.
  - ✓ Morán C, Morales L, Razo RS, Apolonio J, Quiroz U, Chavira R y Domínguez R (2003). Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy. **Life Sciences** 73: 2113-2125.
  - ✓ Morán C, Morales L, Quiróz U y Domínguez R (2000). Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section infantile rats on follicular growth. **Journal of Endocrinology** 166: 205-211.
  - ✓ Morán C, Zarate F, Morán JL, Handal A y Domínguez R (2009). Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. **Reproductive Biology and Endocrinology** 7:50.
  - ✓ Ohta Y, Sato T y Iguchi T (1993). Immunocytochemical localization of progesterona receptor in the reproductive tract of adult female rats. **Biology of Reproduction** 48: 205-213.
  - ✓ Ojeda SR (2006). La regulación neuroendocrina de la pubertad normal y precoz: nuevos genes y nuevos conceptos. **Official Journal of the American Academy of Pediatrics** 64:8-14.

- 
- 
- ✓ Ojeda SR, Andrews WW, Advis JP y Smith-White S (1980). Recent advances in the endocrinology of puberty. **Endocrine Rev** 1:228-257.
  - ✓ Ojeda SR, Smith WS, Aguado LI, Advis JP y Andersen JM (1983). "Abdominal Vagotomy delays the onset of Puberty and Inhibits Ovarian function in the female Rat". **Neuroendocrinology** 36:261-267.
  - ✓ Ojeda SR, Urbanski HF y Ahmed (1986). The onset puberty: Studies in the rat. **Recent Progress in Hormone Research** 42:385-395.
  - ✓ Ojeda SR y Urbanski HF (1988). Puberty in the rat. **En: The Physiology of Reproduction**. Knobil, E., Neill, J., ET AL. Eds Raven Press Ltd, Nueva York. 1699-1737.
  - ✓ Ojeda SR y Lara HE (1989). Role of the Sympathetic Nervous System in the Regulation of Ovarian Function. En: Pirke K.M, Wuttke W, Schweiger U (Eds.) **The menstrual cycle and its disorders**. Springer-Verlag. Berlin. pp. 26-32.
  - ✓ Ojeda SR, Smith WS, Advis JP, Andrews WW y Aguado LI (1990). First Preovulatory Gonadotropin Surge in the Rodent. **En: Control of the Onset of Puberty**. Ed. Williams y Wilkins. Pp:156-182.
  - ✓ Ojeda SR y Urbanski HF (1994). Puberty in the Rat. **En: The physiology of Reproduction**. ( Edits) E. Knabil y J. D. Neill. Raven Press. New York, USA: 363-409.
  - ✓ Ojeda SR, Hill J, Hill DF, Costa ME, Tapia V, Cornea A y Ma YJ (1999). The Oct-2 POU-domain gene in the neuroendocrine brain: A transcriptional regulator of mammalian puberty. **Endocrinology** 140:3774-3789.
  - ✓ Owman C, Kannisto P, Liedberg F, Schmidt G, Sjoberg NO, Stjernquist M y Walles B (1992). Innervation of the ovary. **In Local Regulation of Ovarian Function** 149-170.

- 
- 
- ✓ Pedernera E (1993). Cooperación celular en la biosíntesis de hormonas esteroides. Comunicación neuroendocrina bases celulares y moleculares. **Sociedad Mexicana de Ciencia Fisiológicas, México**. 33-46.
  - ✓ Peña J (1998). Educación ambiental y tecno-reproducción. **Pedagogía social**. No. 2 Segunda edición. 109-120.
  - ✓ Pepler RD y Greenwald GS (1970). Influence of unilateral ovariectomy on follicular development in cycling rats. **American Journal of Anatomy** 132:423-428.
  - ✓ Peter H (1970). Some aspects of early follicular development. **En Ovarian Follicular Development and Function**. Eds. Raven Press, Nueva York: 1-3.
  - ✓ Peters H y McNatty K (1980). The ovary. **Granada Publishing**, London.
  - ✓ Picton HM, Mkandla A, Salha O, Wynn P y Gosden RG (1999). Initiation of human primordial follicle growth in vitro in ultra-thin slices of ovarian cortex. **Human Reproduction**: 172-177.
  - ✓ Philip GK y Claire G (2001). Potential local regulatory functions of inhibins, activins and follistatin in the ovary. **Reproduction** 121:503-512.
  - ✓ Ramaley JD (1980). Biological clocks and puberty onset. **Federation Proceedings** 39:2355-2359.
  - ✓ Ramírez DA (2011). ¿La participación del nervio ovárico superior en la regulación de la ovulación y la esteroidogénesis depende del ciclo circádico? La rata adulta como modelo de estudio. Tesis de maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas UNAM, México.
  - ✓ Ramírez VD (1973). Endocrinology of puberty. En: Handbook of Physiology. Greep RO, Astwood EB (Eds). Washington: **American Physiological Society** 2(7):1-28.

- 
- ✓ Raynaud JP (1973). Influence of rat estradiol binding plasma protein (EBP) on uterotrophic activity. **Steroids** 21:249-258.
  - ✓ Rhodes RC, Fleming MW, Mordoch WS y Inskleep EK (1985). Formation of cyclic adenosine monophosphate (AMPC) in the preovulatory follicle: Role of prostaglandins and steroids. **Prostaglandins** 29:217-231.
  - ✓ Richards JS (1978). Hormonal control of follicular growth and maturation in mammals. **En: The Vertebrate Ovary**. Comparative Biology. Ed. R. E. Jones. Pp: 331-360. Plenum Press. Nueva York.
  - ✓ Robbins y Cotran (2006). **Patología estructural y funcional**. Capítulo 2. Editorial Elsevier 7ma. edición. Pp: 47-85.
  - ✓ Ross M, Romrell L y Kaye G (1997). **Histología**. 3ª ed. Panamericana. México. 674-688.
  - ✓ Ryan RJ y Lee CY (1976). The role of membrane bound receptors. **Biology of Reproduction** 14:16-29.
  - ✓ Sánchez-Criado JE (1999). **Fisiología del ovario**. En Tresguerres JA (Ed). Fisiología humana. 2ª edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. Cap.75. pp. 1020-1032.
  - ✓ Selstam G, Norjavaara E, Tegenfelt T, Lundberd S, Sandström C y Persson S (1985). Partial denervation of the ovaries by transaction of the suspensory ligament does not inhibit ovulation in rats treated with pregnant mare serum gonadotropin. **The Anatomical Record** 213:392-395.
  - ✓ Silverthorn DU (2008). **Fisiología humana**. Un enfoque integrado. 4ª edición. Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina.
  - ✓ Smith SG y Stetson MH (1980). Maturation of the clock-timed gonadotropin release mechanism in hamsters: a key event in the puberty process. **Endocrinology** 107:1334-1337.
  - ✓ Smith-White S y Ojeda SR (1981). Changes in ovarian luteinizing (LH) and follicle stimulating hormone (FSH) receptor content and in gonadotropin-induced ornithine decarboxylase activity during prepubertal and pubertal development of the rat. **Endocrinology** 109:152-161.

- 
- 
- ✓ Sosa Z, Casais M, Rastrilla AM y Aguado L (2000). Adrenergic influences on celiac ganglion affect the release of progesterone from cycling ovaries: characterization of an in vitro system. **Journal of Endocrinology** 166: 307.
  - ✓ Sosa Z, Delgado M, Casais M, Aguado L y Rastrilla AM (2004). Release of ovarian progesterone during the rat oestrous cycle by ganglionic cholinergic influence. The role of norepinephrine. **Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology** 91: 179-184.
  - ✓ Stevens A. (1999). **Histología Humana**. Ed Harcourt. 2da edición, España. Pp: 320-330.
  - ✓ Thebault A, Lefevre B y Testar J (1983). Role of extrafollicular compartment in the ovulation of isolated rabbit ovarian follicles. **Journal of Reproduction and Fertility** 68:419-424.
  - ✓ Tóth IE, Wiesel O, Dorina E, Tóth, Boldogkoi Z, Halász B y Gerendai I (2008). Transneuronal Retrograde Viral Labeling in the Brain Stem and Hypothalamus Is More Intense From the Left Than From the Right Adrenal Gland. **Mycroscopy Research and Technique** 71:503-509.
  - ✓ Treacy MN y Rosenfeld MG (1992). Expression of a family of POU-domain protein regulatory genes during development of the central nervous system. **Annual Review of Neuroscience** 15:139-165.
  - ✓ Tresguerres JA (2003). **Fisiología Humana**. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 2º edición. Pp: 1036-1048.
  - ✓ Trkulja V y Lackovic Z (2001). Vagal influence on compensatory ovarian growth is important only briefly after hemicastration. **Experimental Biology and Medicine** 226(8):776-781.
  - ✓ Trkulja V, Crljen-Manestar V, Banfic H y Lackovic Z (2004). Involvement of the peripheral cholinergic muscarinic system in the compensatory ovarian hypertrophy in the rat. **Experimental Biology and Medicine** 229:793-805.

- 
- 
- ✓ Trujillo A, Morales L, Vargas X, Alba L y Domínguez R (2004). Effects of capsaicin treatment on the regulation of ovarian compensatory hypertrophy and compensatory ovulation. **Endocrine** 25(2): 155-162.
  - ✓ Urbanski HF y Ojeda SR (1983). The juvenile-peripuberal transition period in the female rat: establishment of a diurnal pattern of pulsatile luteinizing hormone secretion. **Endocrinology** 117:644-649.
  - ✓ Van Voorhis BJ (1999). Follicular steroidogenesis. En: Encyclopedia of Reproduction, Vol 2. **Academic Press**. Pp: 389-395.
  - ✓ Vieyra E (2007). Efecto agudo de la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata prepúber como modelo de estudio. Tesis de Licenciatura. Carrera de Biología, UNAM.
  - ✓ Welschen R, Dullaart J (1974). Serum concentrations of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone after unilateral ovariectomy in the adult rat. **Journal of Endocrinol** 63:421-422.
  - ✓ Wuttke W, Honma K, Lamberts J y Hohn KG (1980). The role of monoamines in female puberty. **Federation Proceedings** 39:2378-2383.
  - ✓ Yao HCH y Bahr JM (1999) Ovary, Overview. En: Knobil E, Neill J (Eds.) **Encyclopedia of Reproduction**. Academic Press. USA. 3: 590-597.
  - ✓ Yen S.S.C, Jaffe RB y Barbieri (2001) "Hormonas Esteroides: Metabolismo y Mecanismo de Acción". En: Endocrinología de la Reproducción. 4ª Edición. Yen S.S.C, Jaffe R.B, Barbieri R.L. (Eds.) Editorial **Médica Panamericana**. Buenos Aires. Cap. 4: 118-143.
  - ✓ Yeh J y Adashi EY (2001). El ciclo ovárico. **En: Endocrinología de la Reproducción, fisiología, fisiopatología y manejo clínico**. 4ta. Edición. Editorial. Medica Panamericana. Pp: 164-202.
  - ✓ Yoshinaga K (1999). Estrogen secretion, regulation of. En: Encyclopedia of Reproduction, Vol 2. **Academic Press**. 108-118.



- ✓ Zackisson Ulf, Masato Mikuni, Matthew C. Peterson, Bengt Nilsson, Per-Olof Janson y Mats Bränaström (2000). Evidence for the involvement of blood flow-related mechanisms in the ovulatory process of the rat. **Human Reproduction** 15(2)264-272.
- ✓ Zhang X, Zhang L, Huo S, Wang J y Cui S (2010). Neonatal superior ovarian nerve transection inhibits follicle development by enhancing follicular atresia and suppressing granulosa cell proliferation in rats. **Reproduction, Fertility and Development** 22:1148-1158.
- ✓ Zoubina EV, Fan Q y Smith P (1998). Variations in uterine innervation during the estrous cycle in rat. **The Journal of Comparative Neurology** 397: 561-571.
- ✓ Zsolnai B, Varga B y Horvath E (1982). Increase ovarian progesterone secretion by beta2 adrenergic stimulation in oestrous rats. **Acta Endocrinol** 101; 268-272.