



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**INFLUENCIA DEL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR A
LAS 7:00 H DURANTE EL CICLO ESTRAL DE LA
RATA ADULTA CON O SIN OVARIECTOMÍA
UNILATERAL SOBRE LA OVULACIÓN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
B I Ó L O G A

PRESENTA:
LEYDI ESTEFANI GONZÁLEZ ESPINOSA

DIRECTORA DE TESIS
M. EN IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ



DURANTE EL DESARROLLO DE ESTA TESIS SE CONTÓ CON EL APOYO
FINANCIERO DE DGAPA-PAPIIT CLAVE IN 209508-3, IN218911-3.

MÉXICO, D.F.

JUNIO 2012

Asignación de sinodales y comunicado



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

JEFATURA DE LA CARRERA DE BIOLOGÍA

ASUNTO: ASIGNACIÓN DE SINODALES

ESTIMADOS MAESTROS:

La Dirección de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, los ha nombrado como Sinodales del Examen Profesional de la alumna:

GONZÁLEZ ESPINOSA LEYDI ESTEFANI

Quien presenta como trabajo recepcional: **Influencia del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h durante el ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la ovulación.**

PRESIDENTE M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO
VOCAL M. en IBSH ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ
SECRETARIO M. en C. MARISELA VALDES RUIZ
SUPLENTE BIÓL. CARLOS MARTÍNEZ MONTOYA
SUPLENTE DRA. ELIA ROLDÁN REYES

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarles.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D. F., a 22 de mayo de 2012.

DR. CARLOS CASTILLEJOS CRUZ
JEFE DE LA CARRERA



c.c.p. Departamento de Control de Escolar
c.c.n. Interesado

Leydi Estefani González Espinosa

Asignación de sinodales y comunicado



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"
DIRECCIÓN

JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.

Comunico a usted que la alumna **GONZÁLEZ ESPINOSA LEYDI ESTEFANI**, con número de cuenta **407022735**, de la carrera de Biología se le ha fijado el día **20** del mes de **junio** de 2012 a las **14:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

PRESIDENTE M. C. RAÚL ZAVALA CHAVERO

VOCAL M. en IBSH ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ

SECRETARIO M. en C. MARISELA VALDES RUIZ

SUPLENTE BIÓL. CARLOS MARTÍNEZ MONTOYA

SUPLENTE DRA. ELIA ROLDÁN REYES

El título de la tesis que presenta es: **Influencia del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h durante el ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la ovulación.**

Opción de titulación: tesis.

Agradeceré por anticipado su aceptación y hago propia la ocasión para saludarle.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÉ CON ESPÍRITU"
México, D. F., 26 de junio de 2012.

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NUÑEZ
DIRECTOR
ZARAGOZA
DIRECCION

RECIBÍ
OFICINA DE EXÁMENES
PROFESIONALES Y DE GRADO

VO. BO.
DR. CARLOS CASTILLEJOS CRUZ
JEFE DE CARRERA

Leydi Estefani González Espinosa

Dedicatorias

A mis padres:

Les dedico este logro principalmente a ustedes, por que gracias a su apoyo incondicional e interminable en todo momento de mi vida he conseguido mi meta tan anhelada, quiero que sepan que los amo muchísimo, que son mi ejemplo más grande a seguir y que soy una persona muy afortunada al tenerlos a ustedes como padres.

Gracias por todo su amor, por su comprensión, por todo lo que me han enseñado, pero por sobre todas las cosas gracias por haberme enseñado a luchar por lo que quiero y a levantarme de mis tropiezos y comenzar con más fuerza.

A mi hija:

Gracias por iluminar cada día de mi vida con tu pequeña sonrisa mi niña hermosa, te dedico este logro, porque tu mi pequeño angelito eres el principal motor en mi vida, quiero que sepas que TE AMO y que espero que en un futuro logres mucho más que tu madre.

A mi esposo:

Te agradezco con todo mi corazón amor, porque a pesar de que en momentos no entendías mi empeño por lograr esta meta, me apoyaste y me comprendiste, gracias por todos estos años en los que hemos aprendido juntos.

A mis hermanos:

Espero que también valoren todo el apoyo de nuestros padres y que se esfuercen por lograr sus sueños, los quiero mucho.

Leydi Estefani González Espinosa

Agradecimientos

¡A Dios, por que sin su voluntad no se logra absolutamente nada!

A mi directora de tesis:

M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez: por su apoyo para la realización de esta tesis.

A mis sinodales:

M. C. Raúl Zavala Chavero

M. en C. Marisela Valdés Cruz

Biól. Carlos Martínez Montoya

Dra. Elia Roldán Reyes

Por sus valiosas aportaciones y comentarios que hicieron de esta tesis un mejor trabajo.

A todo el equipo de laboratorio:

Por el apoyo brindado en la realización de este estudio

A mi pequeño equipo: Adriana Zarate y Laura Santiago:

Por todas y cada una de las experiencias vividas en el laboratorio, gracias por su amistad y por su apoyo, espero volverlas a ver alguna vez.

ÍNDICE

Resumen 1
Introducción 3

Marco teórico

I. Los ovarios 4
II. Foliculogénesis 7
III. Atresia folicular 13
IV. Ovulación 15
V. Cuerpo lúteo..... 17
VI. Síntesis de hormonas esteroides 19
VII. Teoría de la doble célula-doble hormona 19
VIII. Ciclo estral 21
IX. Regulación hormonal de las funciones del ovario 24
X. Asimetría ovárica..... 26
XI. Inervación del tracto reproductivo..... 28
XII. Inervación del ovario..... 29
XIII. Inervación simpática del ovario 31
XIV. Nervio Ovárico Superior 33
**XV. Rol del Nervio Ovárico Superior sobre la regulación de las
funciones ováricas 35**
XVI. Rol del VIP y la NA..... 38

Planteamiento del problema..... 40
Hipótesis 41
Objetivos 42
Materiales y Métodos 43

Resultados	48
Análisis de Resultados	74
Conclusiones	83
Referencias	85
Participación en Foros y Congresos de Investigación	97

RESUMEN

Las funciones de los ovarios, la ovulación y la secreción de hormonas, están regulados por una vía hormonal a través de las señales que provienen del hipotálamo y la hipófisis. Sin embargo, son moduladas por una vía neural a través de la inervación que recibe la gónada por medio del Nervio Ovárico Superior.

Existe la evidencia de que entre las fibras nerviosas del NOS se encuentran neurotransmisores como Noradrenalina y Péptido Intestinal Vasoactivo que a su vez, modulan la acción de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica en la rata adulta y los efectos dependen del día del ciclo estral. Por ello, el propósito de este estudio fue analizar la participación del NOS a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados.

Para ello, se utilizaron ratas hembra adultas que a las 7:00 h de cada etapa del ciclo estral, bajo anestesia con éter, fueron sometidas a los siguientes tratamientos: Laparotomía ventral, ovariectomía unilateral, sección unilateral del NOS seguida o no de ovariectomía unilateral y ovariectomía unilateral seguida de la sección unilateral del NOS. Una vez que los animales presentaron el estro vaginal fueron sacrificados a las 7:00 h para analizar la respuesta ovulatoria. Se incluyeron grupos de animales intactos (testigo) sacrificados a las 7:00 h en el estro vaginal.

La respuesta ovulatoria de los animales que fueron sometidos a la laparotomía ventral en las diferentes etapas del ciclo estral no alteró la tasa de animales ovulantes respecto a lo observado en los animales intactos. En contraste, en la etapa de Diestro-2 resultó en aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo respecto a lo registrado en animales intactos; mientras que, en el día del Estro se observó disminución en el número de ovocitos liberados por parte del ovario izquierdo. Estos resultados muestran que la laparotomía ventral, es un factor estresante que alteró los mecanismos neuroendocrinos que regulan el proceso ovulatorio en el Diestro-2 y Estro.

En los animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1, Proestro y Estro se observó ovulación solo en el 42.9% de ellos; cuando se considera el ovario izquierdo, mientras que la sección del NOS derecho en el Diestro-1 se tradujo en 28.6% de animales ovulantes y en el Proestro 42.9%; cuando se considera el ovario derecho, respecto a su grupo control respectivo. La sección del NOS izquierdo en Diestro-1 resulta en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho, lo que refleja el menor número de ovocitos cuando se considera la suma de los liberados por el ovario izquierdo y derecho respecto a su grupo control respectivo. La sección del NOS derecho resultó en la liberación de solo 1 y 4 ovocitos por cada uno de los dos animales que liberaron su ovocito por el ovario derecho, lo que se refleja en el menor número de ovocitos liberados cuando se consideran a ambos ovarios.

En el Diestro-2, la sección unilateral del NOS resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, lo que contrasta con el aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho. En el Proestro, ambas secciones del NOS se tradujeron en menor número de ovocitos liberados por los ovarios respecto a la de sus grupos control respectivos. Solo los animales con sección del NOS-I en el Estro liberaron mayor número de ovocitos por el ovario izquierdo respecto a la de su grupo control.

La ovariectomía izquierda en el Diestro-1 resultó en bloqueo de la ovulación en el 85.7% de los animales. En la etapa del Diestro-2, se observó aumento en el número de ovocitos liberados cuando se realizó la ovariectomía izquierda. Cuando se extirpó el ovario izquierdo o derecho en el día del Estro, se observó aumento en el número de ovocitos liberados sin alteraciones en la tasa de animales ovulantes, respecto a lo registrado en animales con laparotomía. La ovariectomía derecha en animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1 resultó en aumento en el porcentaje de animales ovulantes, por tanto, el NOS izquierdo modula en forma inhibitoria el número de animales que ovulan por parte del ovario izquierdo *in situ*.

La ovariectomía derecha en animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1 resultó en aumento en el porcentaje de animales ovulantes, por tanto, el NOS izquierdo modula en forma inhibitoria el número de animales que ovulan por parte del ovario izquierdo *in situ*. La sección del NOS izquierdo en animales con ovariectomía derecha resulta en el bloqueo de la ovulación en Diestro-1, Proestro y Estro, por ende dicho nervio modula en forma estimulante la ovulación en el ovario izquierdo *in situ* en esas etapas.

En los animales con sección del NOS derecho y ovariectomía izquierda, el NOS derecho modula de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en Diestro-2 y Estro. En aquellos con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho, el NOS derecho modula de manera estimulante la función de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en la etapa del Proestro.

Con base en los resultados se sugiere que existe conexión entre los ovarios y el SNC, a través de la inervación simpática dada por el NOS, y que la información neural que llega a las gónadas por medio de este nervio modula en forma estimulante o inhibitoria los mecanismos neuroendocrinos que regulan el proceso ovulatorio, lo que depende del día del ciclo estral en que se realice el estudio, del nervio y la gónada que se estén analizando y del tiempo que transcurre entre la cirugía y el momento de la evaluación de los resultados.

INTRODUCCIÓN

La comunicación neuroendocrina que existe entre el Sistema Nervioso Central (SNC) y los ovarios, que se da a través de las señales hormonales que provienen del hipotálamo y la hipófisis, en donde el hipotálamo secreta la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), la cual es conducida por el sistema portal hipotalámico-hipofisiario a los gonadotropos de la adenohipófisis donde estimula la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH). Estas son liberadas a la circulación sanguínea y al llegar a los ovarios estimulan la ovulación y la síntesis y secreción de sus hormonas (Freeman, 2006; Knobil y Neill, 2006b; Ross y Wojciech, 2007; Yao y Bahr, 1999; Yen *et al.*, 2000a,b).

Las funciones ováricas, además de estar reguladas por señales hormonales; son moduladas por la inervación extrínseca de la gónada (Aguado y Forneris, 2002; Alburquerque-Araujo *et al.*, 1995; Barco *et al.*, 2003; Burden *et al.*, 1983; Lawrence y Burden, 1980; Gerendai *et al.*, 2005, 2009). El Nervio Ovárico Superior lleva en sus fibras Noradrenalina y Péptido Intestinal Vasoactivo, a su vez, se ha mostrado que modulan la acción de las gonadotropinas sobre la esteroidogénesis ovárica en la rata adulta y que los efectos dependen del día del ciclo estral en que se analice su participación (Aguado, 2002; Aguado y Ojeda, 1984; Chávez y Domínguez, 1994; Domínguez *et al.*, 1998; Erskine *et al.*, 1988; Flores *et al.*, 2008, 2011; Guzmán, 2009; Mendoza, 2007; Montiel, 2005; Risvanli *et al.*, 2004; Santiago, 2012; Serrano, 2007; Velasco, 2007).

La participación del Nervio Ovárico Superior en las funciones del ovario ha sido analizada por medio de la sección unilateral del nervio a las 13:00 h en el día del Proestro (Velasco, 2007) y a las 15:00 y 19:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ciclicidad y la ovulación (Javier, 2012). Los resultados observados apoyan la hipótesis de que la actividad de las neuronas no sólo varía con base en la etapa del ciclo estral, sino que dicha actividad tiene períodos de quiescencia (quietud) y de actividad que depende de la hora en estudio, del Nervio analizado y de la función analizada: tasa de animales ovulantes o el número de ovocitos liberados.

También se ha mostrado que la extirpación de un ovario modifica los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del ovario remanente y esta modificación depende del ovario remanente, de la inervación vagal y del día y hora en que se realiza el tratamiento (Everardo, 2011).

Con base en ello, el objetivo de este estudio fue analizar si el Nervio Ovárico Superior, forma parte de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación espontánea a las 7:00 h de cada etapa del ciclo estral, en ratas con o sin ovariectomía unilateral.

MARCO TEÓRICO

I. Los Ovarios

En la rata los ovarios son órganos pares de forma ovalada y con superficie irregular semejante a un racimo de uvas que tienen la función de liberar ovocitos viables capaces de ser fecundados y secretar hormonas esteroides (progesterona, andrógenos y estrógenos) además de proteicas (inhibina, activina, folistatina, entre otras) hacia la sangre (Barria *et al.*, 1993; Burden *et al.*, 1983; Freeman, 2006; Knobil y Neill, 2006b; Ross y Wojciech, 2007; Yao y Bahr, 1999).

Localización

Se encuentran a cada lado del útero, y están suspendidos por un pliegue del peritoneo que se llama mesovario y por el ligamento suspensorio. Éste une la parte superior del ovario con la pared de la pelvis (Ross y Wojciech, 2007; Tórtora, 2006).

Irrigación

Están irrigados directamente por la aorta abdominal de donde emerge la arteria ovárica; las ramas de esta arteria penetran al ovario por medio del hilio (Yao y Bahr, 1999).

Histología

La superficie del ovario tiene una capa de epitelio germinativo y debajo de este epitelio se encuentra la túnica albugínea. Posterior a ésta, se pueden distinguir claramente tres regiones (Figura 1):

1. La Corteza: rodea a la médula y contiene los folículos y cuerpos lúteos en diferentes estados de maduración. Los folículos se encuentran en el estroma que a su vez se compone de tres diferentes tipos de células: las células del tejido conjuntivo, las células del músculo liso que regulan la contracción de los vasos sanguíneos y células intersticiales que se encargan de secretar andrógenos (Figura 1) (Ross y Wojciech, 2007; Tresguerres, 2003; Yao y Bahr, 1999).

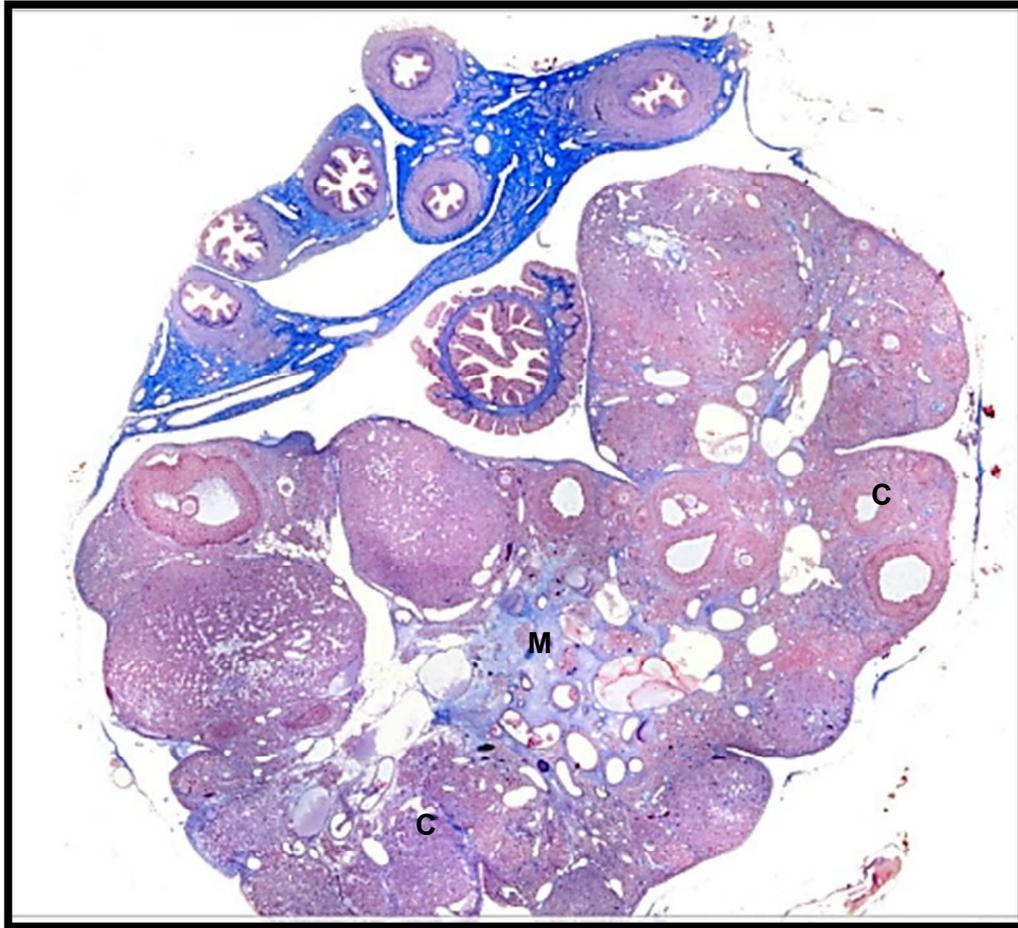


Figura 1. Sección transversal de ovario de rata donde se muestra la Corteza (C) y la médula (M); teñido con tricrómico de Masson (este tipo de tinción permite visualizar claramente el núcleo celular, el citoplasma y las fibras de colágeno (Tomada de Martín, 2011)).

2. La Médula: es la parte central del ovario que contiene el tejido conjuntivo laxo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y terminaciones nerviosas (Figura 1) (Fawcett, 1995; Ross y Wojciech, 2007; Tresguerres, 2003; Yao y Bahr, 1999).
3. El Hilio: es la región por donde las fibras nerviosas, los vasos linfáticos, la arteria y la vena ovárica penetran al ovario (Figura 1) (Martín, 2011; Ross *et al.*, 2005; Ross y Wojciech, 2007; Tresguerres, 2003).

Al folículo ovárico (Figura 2) se le considera como la unidad anatómica funcional del ovario, ya que a partir de él se originan los **compartimentos endocrinos** funcionales del ovario: el folicular, el luteal y el intersticial (Figura 3) (Dominguez *et al.*, 1991; Ying y Zhang, 1999).

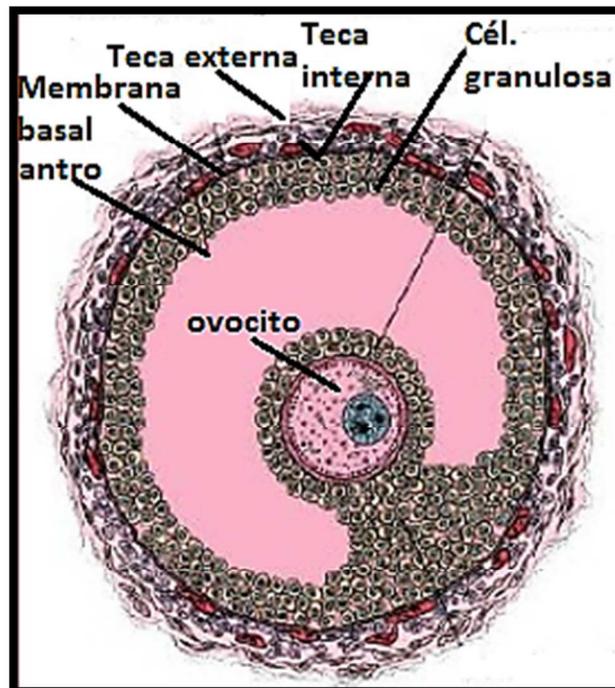


Figura 2. Folículo ovárico y sus componentes (Tomada de Ross et al., 2005)

1. El compartimiento folicular: comprende a los folículos en los distintos estados de crecimiento y diferenciación (Figura 3), estimulados por la acción de la hormona estimulante del folículo (FSH, por sus siglas en inglés) y por la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés), a su vez en este compartimiento se sintetizan y secretan a la circulación sanguínea hormonas esteroideas y proteicas (Domínguez et al., 1991; Yao y Bahr, 1999).
2. El compartimiento luteal: comprende a los cuerpos lúteos en diferentes grados de maduración (Figura 3). Se forma inmediatamente después de la liberación del ovocito y es estimulado por la acción de la LH a partir de las células tecales y de la granulosa. Su función es secretar progesterona a la circulación sanguínea (Domínguez et al., 1991; Yao y Bahr, 1999).
3. El compartimiento intersticial: se localiza entre la médula ovárica y la parte interna de la corteza (Figura 3). Su formación comienza con los folículos atrésicos que tienen receptores a LH. Este compartimiento está encargado de sintetizar y liberar andrógenos a la circulación sanguínea (Domínguez et al., 1991; Yao y Bahr, 1999).

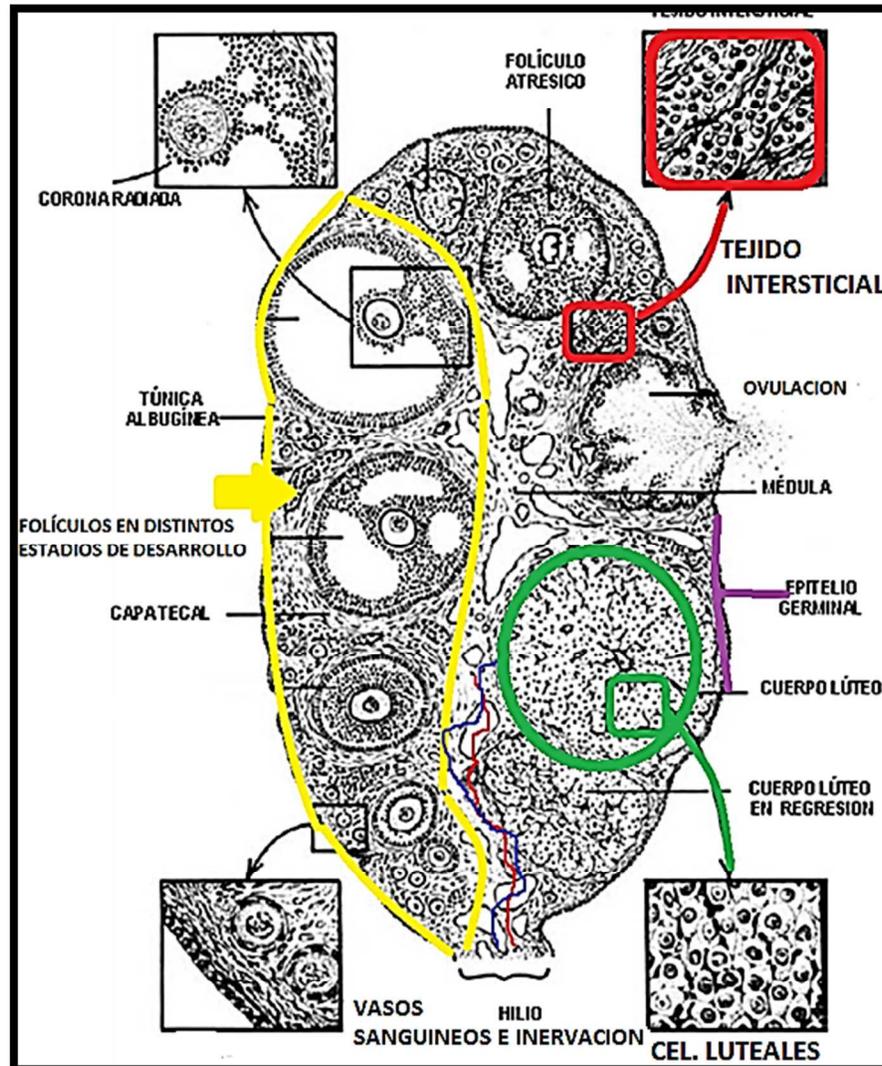


Figura 3. Compartimientos endocrinos del Ovario: Folicular, intersticial y luteal (Tomada y modificada de Freeman, 2006).

II. Foliculogénesis

La foliculogénesis es el proceso de maduración y diferenciación del folículo ovárico en el que las células germinales del folículo se diferencian hasta desarrollarse en células somáticas. En la rata, la iniciación del crecimiento folicular se lleva a cabo durante la primera semana de vida (Knobil y Neil, 2006a; Malamed *et al.*, 1992; Rajah y Hirsfield, 1991; Rajah *et al.*, 1992).

Se ha evidenciado que el inicio de la foliculogénesis depende de los neurotransmisores localizados en el ovario de la rata neonata antes de la formación del folículo primordial (Mayerhofer *et al.*, 1997; Ojeda *et al.*, 2000), tales como la noradrenalina (NA) y el Péptido Intestinal Vasoactivo (VIP),

que regulan el inicio del desarrollo folicular (Advis *et al.*, 1989; Ben-Jonathan *et al.*, 1984; Mayerhofer *et al.*, 1997). En la rata neonata, la eliminación de esta información neural resulta en disminución de la población folicular (Lara *et al.*, 1990).

A su vez, esos neurotransmisores estimulan la formación de receptores a la FSH y a la LH, que empiezan a formarse en el ovario entre los días 5 y 7 de vida de la rata, por medio de la estimulación de la formación del Adenosin Monofosfato Cíclico (AMPc) (Knecht *et al.*, 1983; Mayerhofer *et al.*, 1997; Nakamura *et al.*, 1995; Ranta *et al.*, 1984).

Además de los neurotransmisores, la activina, que está presente en los ovarios de las ratas, antes y después de su nacimiento, estimula el desarrollo de los receptores a FSH en las células de la granulosa, y la diferenciación de estas células en los folículos primordiales al estimular la formación del AMPc (Mayerhofer *et al.*, 1997).

Para que se puedan originar los primeros ovocitos, antes del nacimiento de la rata, un determinado número de células germinales llamadas ovogonias, se diferencian en ovocitos durante la ovogénesis, listos para la primera división meiótica (Tsafriri y Kraicer, 1972).

Ya comenzada la meiosis, el ovocito I, es rodeado por una capa de epitelio folicular y se produce un estado de quiescencia en el estadio de diploteno, profase I, denominado estado dictiático. El ovocito se mantiene en esta etapa hasta que es seleccionado para su maduración en el día del Proestro de la edad adulta de la rata (Domínguez *et al.*, 1991; Fawcett, 1995; Freeman, 2006; Martín, 2011; Rodgers *et al.*, 1999).

Antes de las 72 horas, después del nacimiento de la rata, en el ovario ya existen tres tipos celulares: las células germinales, las epiteliales y las mesenquimáticas. Las células germinales comienzan a migrar hacia el interior de la gónada primitiva donde son rodeadas por células epiteliales; este tipo celular da origen a las células de la granulosa. Posteriormente, las células mesenquimáticas rodean a los ovocitos, los que a su vez, son rodeados por una capa sencilla de células foliculares planas que dan origen a los primeros folículos llamados **folículos primordiales** (Figura 4) (Dissen *et al.*, 2001; Domínguez *et al.*, 1991; Fawcett, 1995; Freeman, 2006; Funkeinstein *et al.*, 1980; Martín, 2011; Rodgers *et al.*, 1999).

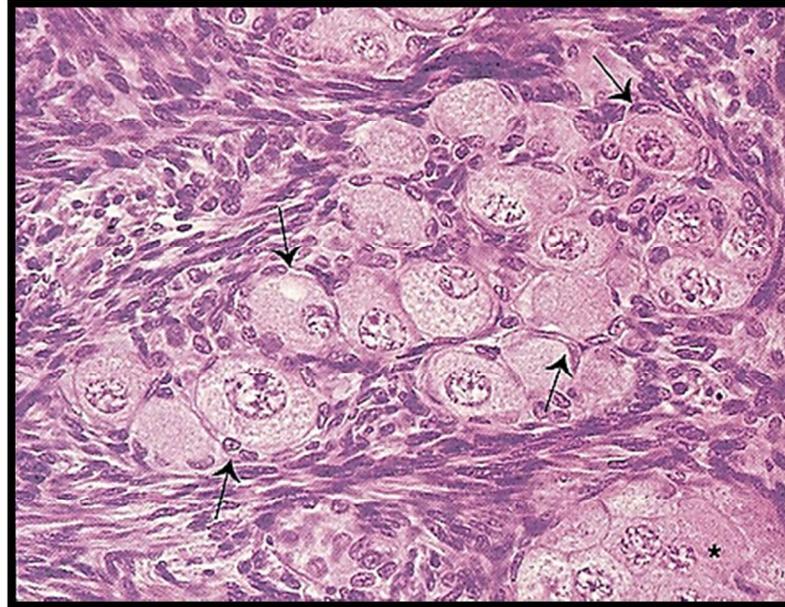


Figura 4. Folículo primordial, observado en la sección transversal de ovario de rata teñido con tricrómico de Masson. Cada folículos está rodeado de células foliculares planas (flecha) (Tomada de Martín, 2011).

Cada día un número de folículos primordiales se activan, y el ovocito comienza a crecer gracias a la síntesis del factor de crecimiento nervioso (NGF) en los tejidos de la gónada, inervados por el Sistema Nervioso Periférico. Una vez que se ha iniciado el crecimiento del folículo, éste no se detiene y prosigue su desarrollo hasta convertirse en un folículo maduro preovulatorio o sufren atresia folicular (Dissen *et al.*, 2001; Domínguez *et al.*, 1991; Fawcett, 1995; Freeman, 2006; Funkeinstein *et al.*, 1980; Martín, 2011; Rodgers *et al.*, 1999).

Los primeros folículos que comienzan a crecer son los que están más cerca del hilio ovárico (Hirshfield, 1991), ya que es la región más densamente inervada por nervios simpáticos (Mayerhofer *et al.*, 1997). Los primeros folículos primordiales se forman 24 horas después del nacimiento de la rata, 12 horas después se observan 500 folículos en cada ovario y 12 horas más tarde ya existen cerca de 1300 folículos en ambas gónadas (Rajah *et al.*, 1992; Malamed *et al.*, 1992; Mayerhofer *et al.*, 1997).

Durante las primeras tres semanas de vida de la rata, el epitelio escamoso de las células foliculares en el folículo primordial aumenta para formar un epitelio columnar; es decir, las células foliculares planas se vuelven cuboides (llamadas ahora células de la granulosa), y es entonces cuando los folículos primordiales son llamados **folículos primarios** (Figura 5) (McGee *et al.*, 1997). Estos

folículos se subdividen en: 1. folículo primario con una sola capa de células foliculares cúbicas y 2. folículo primario con múltiples capas de células foliculares (Kierszenbaum, 2008).

En el **folículo secundario** se observa la zona pelúcida alrededor del ovocito, la cual está formada principalmente por ácido hialurónico, además de mucopolisacáridos (Berne, 2002). El engrosamiento de la capa de células de la granulosa es estimulado por la FSH que durante la mayor parte del desarrollo del folículo cuenta con receptores en estas células (Fawcett, 1995; Xiaoxin *et al.*, 2010).

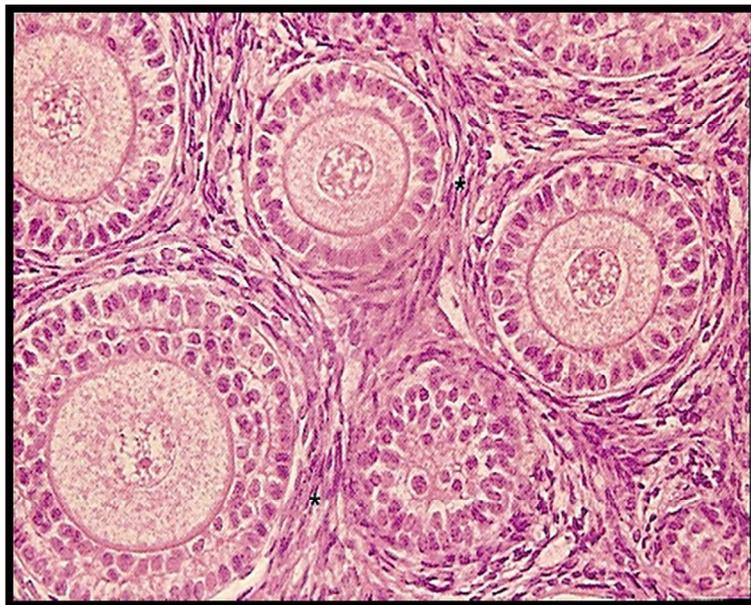


Figura 5. Folículo primario con distinto grado de estratificación de la capa de las células de la granulosa, observado en la sección transversal de ovario de rata teñido con tricrómico de Masson (Tomada de Martín, 2011).

Los folículos secundarios, entran a la segunda fase de maduración (Figura 6), en donde los folículos ya poseen receptores a gonadotropinas y por lo tanto, ya responden a ellas. En esta fase se observa la transición de folículos preantrales a antrales y posteriormente a folículos preovulatorios (Orisaka *et al.*, 2006; Xiaoxin *et al.*, 2010).

Pedersen y Peters, en 1968, clasificaron a los folículos en función del número de capas de las células de la granulosa y el diámetro folicular (Figura 6). Observaron que los folículos primarios o pequeños miden aproximadamente más de 25 μm de diámetro, y constan de un ovocito de menos de 10 μm y un anillo incompleto de células de la granulosa, los que han sido observados en mayor cantidad en el día de Diestro-2 (Hirshfield y Midgley, 1978).

El crecimiento del folículo desde folículo primordial a primario y después a secundario es independiente de las gonadotropinas por lo que se denomina la primera fase del desarrollo folicular (Figura 7) (Funkenstein *et al.*, 1980; Kolena, 1976; Malamed *et al.*, 1992; Mayerhofer *et al.*, 1997, Orisaka *et al.*, 2009; Peters *et al.*, 1973). Sin embargo, para que continúe la foliculogénesis son necesarias las señales hipofisiarias (Knobil y Neil, 2006a).

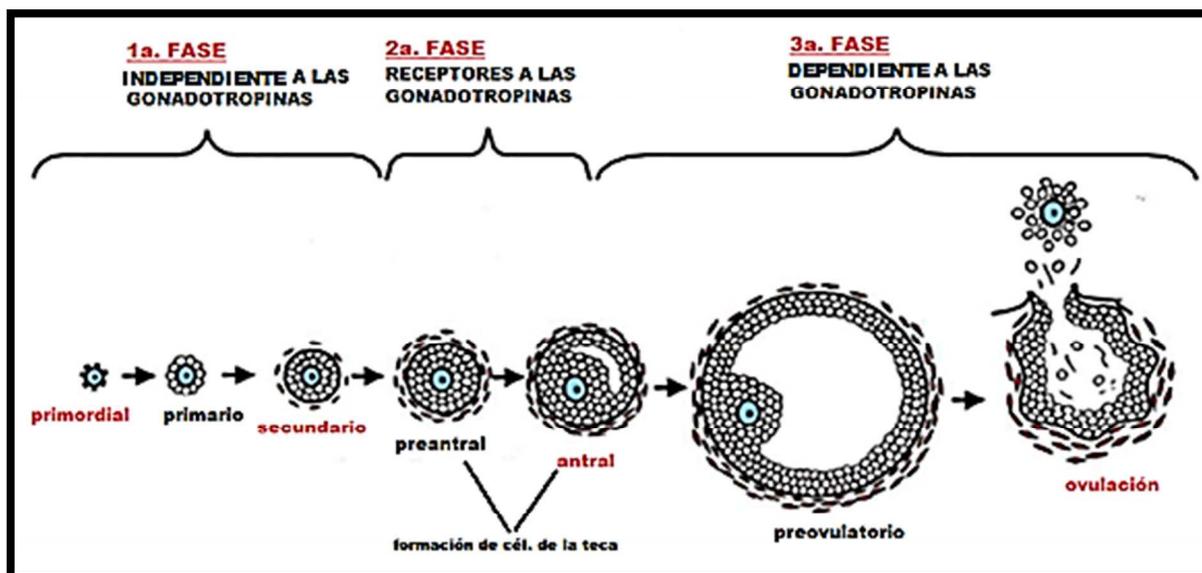


Figura 6. Fases de maduración del folículo ovárico de rata (Tomada de Orisaka *et al.*, 2009).

El folículo secundario se transforma en un **folículo preantral**. Se ha demostrado que el factor de crecimiento y diferenciación 9 (GDF-9) regula el destino del folículo ovárico (crecimiento vs atresia) durante el desarrollo folicular desde el preantral hasta un antral; regulando la apoptosis de las células de la granulosa (Orisaka *et al.*, 2009). Los folículos preantrales son mayores de 390 μm , observados fundamentalmente en el día del Proestro (Figura 7) (Pedersen, 1970; Hirshfield y Midgley, 1978).

Las células de la teca que se han formado en el folículo preantral se dividen en teca interna y externa. Las células de la teca interna proliferan rápidamente y se observan en una red fibrosa y reticular que contiene un plexo de capilares y vasos linfáticos. Por su parte, la teca externa contiene tejido contráctil que es indispensable en la ovulación. Las células de la granulosa proliferan rápidamente para que el folículo llegue al estado antral (Freeman, 2006).

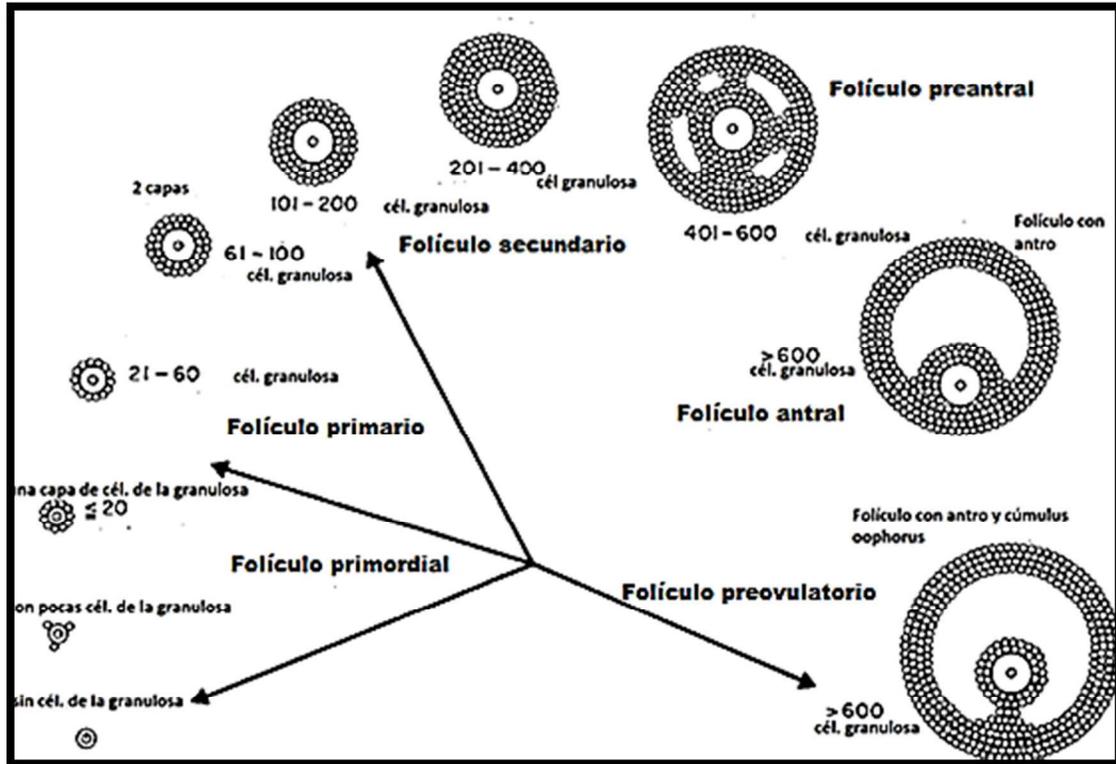


Figura 7. Clasificación de los folículos (Tomada de Pedersen y Peters, 1968)

En las células de la teca interna se forman receptores a LH y comienza la producción de andrógenos que en las células de la granulosa se convertirán a estrógenos (Orisaka *et al.*, 2009; Xiaoxin *et al.*, 2010). Los receptores a LH que se forman en las células tecales aparecen en el día del Diestro-1 y aumentan en la tarde del Diestro-2. Ya entre la tarde del Diestro-2 y la mañana del Proestro, aparecen receptores a prolactina en las células de la granulosa cuya síntesis es estimulada por la FSH y la LH, y la propia prolactina. Asimismo, para que un ovocito I se transforme en ovocito II requiere de la estimulación de la LH (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

A partir de este momento, el desarrollo de los folículos de las etapas subsecuentes es controlado por factores de crecimiento como el IGF-1, citosinas, factores de crecimiento epidérmico, FSH, LH, progesterona y estradiol (Mayerhofer *et al.*, 1997, Orisaka *et al.*, 2009).

Ya en el folículo antral, las células de la granulosa que han formado siete u ocho capas alrededor del ovocito y que los folículos se han transformado en vesiculares, forman espacios entre las células que a su vez, se agrandan y se unen finalmente en una sola cavidad más grande llamada antro. En dicha cavidad hay un líquido o licor folicular que contiene FSH, LH, prolactina, proteínas,

polipéptidos, progesterona, estrógenos y NA; sus concentraciones varían a lo largo del ciclo estral de la rata (Domínguez *et al.*, 1991; Fawcett, 1995).

Los folículos antrales miden más de 500 μm , y su número fluctúa a lo largo del ciclo estral (Figura 7) (Pedersen, 1970); estos se han observado en mayor número en el día del Estro o Diestro-1 (Hirshfield y Midgley, 1978).

Cuando el folículo antral continúa su crecimiento pasa a la tercera fase de desarrollo folicular (Figura 7) en donde es nombrado **folículo preovulatorio**; esta fase es dependiente de las gonadotropinas, y es en esta etapa donde los folículos son seleccionados para la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991; Orisaka *et al.*, 2006). Estos folículos por lo general miden más de 600 μm , y existen algunos de hasta 800 μm (Hirshfield y Midgley, 1978).

En el folículo preovulatorio, las células de la granulosa junto con el ovocito, se colocan en posición excéntrica y forman un cerro llamado cúmulus oophorus. Las células de la granulosa que rodean el ovocito forman un anillo conocido como corona radiada y el volumen del licor folicular aumenta conforme se aproxima la ovulación (Freeman, 2006; Xiaoxin *et al.*, 2010).

El crecimiento del folículo dura 19 días, desde que pasa del estado de reposo hasta que culmina con la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991; Pedersen, 1970). En este periodo de transición, se pueden distinguir distintas fases de maduración que dependen del estadio de diferenciación del folículo y de la capacidad de respuesta que posea hacia las gonadotropinas hipofisarias (Domínguez *et al.*, 1991; Orisaka *et al.*, 2006; 2009).

Por otro lado, existen folículos que habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación, no liberan su ovocito y se eliminan del ovario por medio de un proceso llamado atresia folicular (Orisaka *et al.*, 2009).

III. Atresia folicular

Se define como el proceso normal por el cual se eliminan del ovario todos aquellos folículos que habiendo iniciado el proceso de crecimiento y diferenciación, no ovulan (Domínguez *et al.*, 1991). Además también, selecciona ovocitos sanos y viables para su liberación (Orisaka *et al.*, 2009).

La atresia se presenta en cualquier etapa del desarrollo folicular. Sin embargo, los folículos que se encuentran en etapa preantral, son más susceptibles a los procesos atrésicos. Por ello, la transición de la etapa preantral a la antral, es la fase decisiva en el destino del folículo ovárico: supervivencia/crecimiento o atresia. Esta etapa de transición, desarrollo o atresia, está regulada por factores intrafoliculares, factores de crecimiento, citocinas y esteroides (Orisaka *et al.*, 2009).

En los animales recién nacidos se observa una onda de atresia folicular, la cual se explica por el descenso brusco de la concentración plasmática de las gonadotropinas (FSH y LH) (Austin y Short, 1972; Domínguez *et al.*, 1991; Orisaka *et al.*, 2009).

En el caso de los folículos que liberan su ovocito, si no existe la fecundación, el ovocito sufre atresia folicular (Domínguez *et al.*, 1991). También se ha observado atresia en algunos folículos primordiales y primarios (Freeman, 2006).

Existen algunos estudios, donde se ha evidenciado que el GDF-9 estimula el crecimiento sano de los folículos ováricos. Por otro lado, si este factor de crecimiento se suprime, se observa que el desarrollo de los folículos se detiene, las células de la granulosa ya no proliferan o sufren apoptosis por la actividad de la caspasa-3, y el ovocito crece anormalmente (Orisaka *et al.*, 2009).

Se ha observado que los andrógenos también estimulan el crecimiento de los folículos preantrales y la proliferación de las células de la granulosa de ratones. Por otro lado, las células tecales producen el Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF) que disminuye la apoptosis de las células de la granulosa durante la transición de folículo preantral a antral; además, el factor de crecimiento semejante a la insulina I (IGF-I, por sus siglas en inglés) promueve la no fragmentación del ADN (Orisaka *et al.*, 2009).

El inicio de la atresia parece estar determinado por alteraciones del ovocito, el cual pierde su capacidad para mantener el control metabólico del folículo. La fragmentación del ADN, disminuye la transcripción de genes de la enzima aromatasa y de la síntesis de receptores a gonadotropinas. Esta alteración es seguida por modificaciones de las células de la granulosa, las que pierden gradualmente los receptores a FSH y LH; lo que se traduce en la disminución de la capacidad de aromatización de los andrógenos, en parte por la pérdida de la actividad de la C17-20 liasa. Sin embargo, estas células mantienen la capacidad de síntesis de progesterona y del AMPc; por lo que su concentración aumenta dentro y alrededor del folículo (Austin y Short, 1972; Domínguez *et al.*, 1991).

Los folículos atrésicos que miden aproximadamente de 200 μm a 400 μm se distinguen por la picnosis (que es la contracción del núcleo, la fragmentación del ADN y la condensación de la cromatina de las células de la granulosa), se distinguen también por adelgazamiento del cúmulo ooforo, el núcleo de las células de la granulosa sufre apoptosis y se desintegra la cromatina, hay desprendimiento y aislamiento en el licor folicular de las células picnóticas de los folículos por medio de la contracción de las células de la granulosa, por lo tanto, estas células de la granulosa involucionan. También degeneran la zona pelúcida y el ovocito, mientras que las células que conforman la teca interna o externa pasan a ser parte de la glándula intersticial del ovario (Figura 8) (Freeman, 2006; Hirshfield y Midgley, 1978; Pedersen, 1970; Ross, 2004). Entonces, la glándula intersticial se forma a partir de los folículos atrésicos con antro cuyas células teco-intersticiales poseen receptores a LH, prolactina, hormona

adrenocorticotrópica (ACTH), NA, hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés), progesterona y estradiol (Domínguez *et al.*, 1991).



Figura 8. Folículo atrésico en rata (Tomado de Donagay et al., 2010)

Los folículos atrésicos en cada una de las etapas del ciclo estral se presentan en un porcentaje distinto; en Proestro se les ha observado en un 39%, en Diestro-1 en un 34.5%, en Diestro-2 en un 44.6% y en el día del Estro se observan muy pocos folículos atrésicos. Esto sugiere que la mayor cantidad de folículos sanos se ovula en la mañana del Estro (Hirshfield y Midgley, 1978; Pedersen, 1970).

Por otro lado, si los folículos alcanzan el tamaño y el grado de diferenciación adecuado y además no entran en atresia, entonces están listos para la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991).

IV. La ovulación

Es el resultado de un proceso inflamatorio localizado, en el cual se rompe el folículo y se libera el ovocito (tipo II). Antes de que se produzca la salida del ovocito hay edema en la teca interna, muerte celular y aumento de las prostaglandinas en el área (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006; Knobil y Neill, 2006b).

La ovulación depende del funcionamiento correcto de las glándulas endocrinas que permite el crecimiento folicular (Austin y Short, 1972). El proceso ovulatorio es consecuencia directa del

incremento en la concentración de LH que tiene lugar 10-12 horas antes de la misma; esto ocurre cuando la LH se une a sus receptores localizados en la membrana de las células de la granulosa así como en las células de la teca interna de los folículos ováricos maduros para que se lleve a cabo este proceso (Gaytán *et al.*, 2002; Freeman, 2006; Yen *et al.*, 2001a).

En los roedores, la secreción preovulatoria de FSH (“pico de FSH”) que se presenta en la tarde del Proestro y mañana del Estro, selecciona de manera definitiva los folículos que van a crecer hasta alcanzar la etapa preovulatoria en el próximo ciclo. El pico de LH que se produce en la tarde del Proestro, además de inducir la ovulación, provoca cambios sustanciales en aquellos folículos preovulatorios, o con anro muy desarrollado. La selección de los folículos inducida por la FSH se hace a partir de los folículos pequeños con anro presentes en el Diestro-1, mientras que los mayores irán a la atresia. Una vez que se han seleccionado los folículos que alcanzarán la etapa preovulatoria, estos serán más activos en su capacidad de secreción hormonal; principalmente de estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991).

Cuando se produce el pico preovulatorio de LH, solo el ovocito contenido en el folículo preovulatorio reinicia su meiosis hasta el estadio de ovocito II, metafase II; estadio en el cual ovula y permanece así, hasta que se contacte con el espermatozoide en el momento de la fecundación y se transforme en óvulo. En el ovocito del folículo preovulatorio, la pérdida de la vesícula germinal, la pérdida del nucléolo y el engrosamiento del cromosoma indican el reinicio de la división celular. Este proceso ocurre alrededor de las 17:00-18:00 h del Proestro o aproximadamente dos horas después de que se ha producido el pico de LH, y la culminación de la primera división celular meiótica ocurre aproximadamente seis horas después del pico de LH. La segunda división meiótica ocurre a partir de que el ovocito ha sido fecundado (Domínguez *et al.*, 1991; Freeman, 2006).

El proceso de ovulación comienza cuando los folículos ováricos maduros ocasionan un abultamiento en la superficie del ovario (Fawcett, 1995; Freeman, 2006). En estos folículos desaparecen los desmosomas que presentan las células de la granulosa y de la teca interna y se da la degradación de las fibras colágenas, provocada por la fibrinolisis sintetizada por las células de la granulosa. Esta enzima es activada por el plasminógeno; producto de las células de la granulosa. La desaparición de los desmosomas y los nexos entre las células de la granulosa sería consecuencia de la disminución de la concentración de los estrógenos en el licor folicular, ya que después del pico de LH, la capacidad de síntesis de estrógenos por las células de la granulosa disminuye rápidamente, mientras que aumenta la de progesterona (Domínguez *et al.*, 1991).

La síntesis y liberación del plasminógeno es estimulada por la FSH, la LH y la GnRH, las que también regulan la síntesis de un antiactivador de la fibrinólisis sintetizado por las mismas células. La estimulación de la síntesis del plasminógeno es mediado por las prostanglandinas, principalmente por la

PGE ya que si se inhibe su síntesis con indometacina se bloquea la ovulación, aunque se supone que las prostaglandinas no son determinantes en los efectos ovulatorios de la LH. La plasmina degrada la colágena de la pared folicular y en consecuencia disminuye su rigidez. La inhibición de la actividad colagenolítica por la administración de cisteína en la bursa ovárica bloquea la ovulación. Por otra parte, la actividad de esta enzima es estimulada directamente por la LH, mientras que los efectos de esta hormona sobre el plasminógeno son incrementados por los estrógenos. La colagenasa es producida por los fibroblastos de la teca interna y su actividad es estimulada por el ácido ascórbico y la plasmina (Domínguez *et al.*, 1991).

Una hora antes de que ocurra la ruptura folicular se puede observar que la túnica albugínea ya no está completamente íntegra y que las células de la teca empiezan a degenerarse. La superficie del ovario se torna rojiza ya que se rompen los capilares de la teca interna (Parr, 1974).

La mayoría de los ovocitos pierden su vesícula a las 18:30 h aproximadamente del Proestro. Para las 22:00 h de esta etapa, por medio de la degradación de la colagenasa del ápice del folículo, se estimula al estroma ovárico por medio de las gonadotropinas, para que se forme una bolsa transparente que es llamada ampolla, que a su vez, contiene líquido folicular. Al romperse esta bolsa, aproximadamente a las 02:00 o 03:00 h en el Estro ocurre la ovulación (Tsafriri y Kraicer, 1972), y se expulsa el cúmulus oophorus junto con el ovocito hacia el antro; este evento dura 12 minutos aproximadamente. Una vez que es expulsado se libera el líquido folicular y se forma el primer cuerpo polar. Después de la formación del primer cuerpo polar se completa la primera división meiótica y este primer cuerpo polar se libera 1 hora después de que se libera el cúmulus. Sin embargo, ya que el ovocito es expulsado, los movimientos de las fimbrias y las corrientes producidas por los cilios de las células epiteliales tubáricas son responsables de la captación del ovocito en el extremo abierto del oviducto. Así, la ovulación se completa en 1 o 2 horas (Fawcett, 1995; Freeman, 2006; Tsafriri y Kraicer, 1972).

Después de que se ha completado el proceso ovulatorio, la cavidad folicular se llena de sangre procedente de la rica red vascular de la teca interna, constituyéndose el folículo hemorrágico, el cual es una breve transición hacia la fase luteínica (Botella, 1995). Ya en la fase luteínica, el folículo roto se transforma rápidamente en un cuerpo lúteo, que segrega cantidades crecientes de progesterona, la cual inhibe la regulación estimulante del ovario sobre la adenohipófisis (Fawcett, 1995).

V. Cuerpo lúteo

Se considera como una continuación de la maduración folicular, ya que las células lúteas derivan de las células de la teca interna y de la granulosa (Figura 9) (Freeman, 2006).

Durante el ciclo estral de la rata, tres o más generaciones de cuerpos lúteos pueden estar presentes en el ovario. Cada conjunto de cuerpos lúteos permanecen de 12 a 14 días. En el día del Diestro-1, el cuerpo lúteo recién formado alcanza su máximo tamaño que se mantiene a lo largo del Diestro-2 del ciclo siguiente. En el Diestro-2 de ese segundo ciclo, el cuerpo lúteo entra bruscamente en regresión la cual coincide con el cierre de los vasos sanguíneos, la aparición de áreas de degeneración, la infiltración de leucocitos, el aumento en el contenido de 20- α -hidroxiesteroide deshidrogenasa y el aumento en el contenido de colesterol. Los cuerpos lúteos que se encuentran presentes en animales sin aparearse se consideran cuerpos lúteos "no funcionales" debido a que no segregan suficiente progesterona para tolerar respuestas químicas o mecánicas del endometrio al momento de implantarse el blastocisto, por lo que dada la ausencia de células luteotropas se secretan grandes cantidades de otra progestina, que es un metabolito de la progesterona; la 20 α -hidroxiprogesterona (Freeman, 2006).

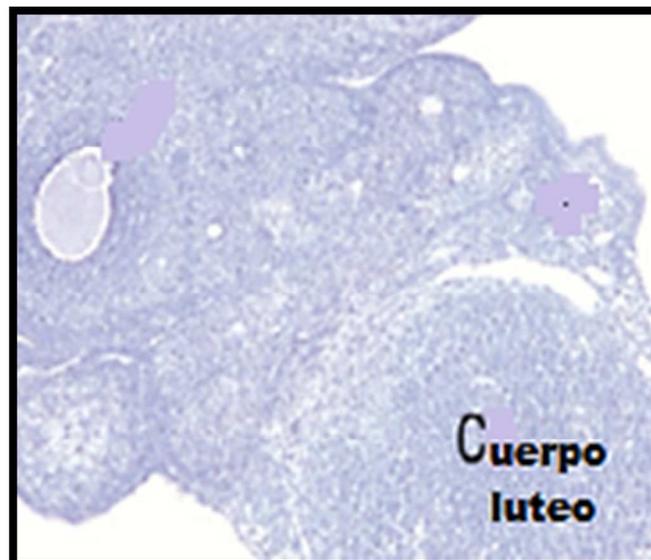


Figura 9. Cuerpo lúteo formado en rata (Tomada de Xiaoxin et al., 2010)

Si el animal se aparea y queda preñado o si el cuello uterino recibe algún estímulo ya sea natural (macho infértil) o artificial, la adenohipófisis secreta cantidades suficientes de una "luteotropina" (prolactina) para rescatar el cuerpo lúteo y permitirle seguir presente durante varios días más. Así pues, si el apareamiento es fértil esta fase lútea persiste todo el período de preñez, es decir, de 20 a 22 días. En caso contrario, si el macho resulta infértil o si el estímulo es artificial, el cuerpo lúteo perdura alrededor de 12 o 14 días, a este periodo se le conoce como "pseudopreñez" (Freeman, 2006).

Además de la primera función del ovario como lo es la ovulación y los procesos que desencadena como la atresia y la formación de los cuerpos lúteos; el ovario lleva a cabo su segunda función que es la secreción de hormonas esteroideas; además de las gonadocrininas (Yen *et al.*, 2001a).

VI. Síntesis de Hormonas Esteroides

Son sintetizadas en células de la corteza adrenal, órganos sexuales, tejido adiposo y en el cerebro. En el sistema reproductor, intervienen en el desarrollo folicular y la ovulación (Hu *et al.*, 2010). Las hormonas esteroides se clasifican en progestinas, glucocorticoides, mineralocorticoides, andrógenos y estrógenos (Hicks, 2007).

La secreción de progesterona y andrógenos

En los roedores la disminución en la actividad de factores que promueven la mitosis (quinasas dependientes de ciclinas CDK), permite que se diferencien las células luteales que secretan principalmente P4, mediante el decremento de la proliferación celular (Stouffer, 2006).

En el folículo preovulatorio, la síntesis de progesterona por las células tecales y de la granulosa es estimulada por la LH, la prolactina y la NA, cuyos efectos son mediados por el AMPc. La mayor parte del colesterol utilizado para la síntesis de progestágenos deriva de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a).

Se sabe que las LDL se unen a receptores específicos de membrana y que los complejos LDL-receptor ingresan en la célula por endocitosis. Luego las vesículas endocíticas se fusionan con los lisosomas, en los que se hidrolizan los esteres del colesterol LDL para general colesterol libre. El colesterol libre es re-esterificado y almacenado en el citoplasma en gotas lipídicas. Cuando se necesita colesterol, los esteres son hidrolizados, y se transporta el colesterol libre a las mitocondrias para la síntesis de esteroides (Yen *et al.*, 2001b).

La secreción de estrógenos

En la regulación de la producción de estrógenos, la LH es la hormona más importante, ya que estimula la síntesis de andrógenos, estimula sus receptores y mantiene la producción de estrógenos por la actividad de la enzima aromatasa en las células de la granulosa (Domínguez *et al.*, 1991).

VII. Teoría de la doble célula doble hormona

El mecanismo de la doble célula doble hormona es producto de la observación de que las células de la granulosa de varias especies secretan estrógenos si tienen como sustrato un andrógeno. El gen CYP17 que codifica 17-hidroxilasa/C₁₇₋₂₀ es regulada activamente por la LH en las células de la teca interna. Las células de la granulosa por otro lado, tienen una pequeña o nula capacidad de producir andrógenos, pero tienen un sistema activo de aromatasas. Esto es evidencia que durante el progreso de la maduración folicular, la habilidad de las células de la granulosa para aromatizar andrógenos se incrementa (Hadley, 2000).

La producción de estrógenos crece en el folículo durante la fase preovulatoria y disminuye antes de la oleada de LH/FSH preovulatoria. Antes de la exposición a las concentraciones preovulatorias de la LH, las concentraciones de andrógenos y estrógenos predominan, después de la liberación de la LH y durante la fase lútea del ciclo, la progesterona es el mayor esteroide producido (Hadley, 2000).

La unión de la LH a su receptor localizado en las células luteales estimula la actividad del AMPc y la actividad de las enzimas encargadas de la conversión del colesterol a androstenediona. La androstenediona atraviesa la membrana basal para llegar a las células de la granulosa en donde la unión de la FSH a sus receptores aumenta la actividad enzimática de la aromatasa encargada de la conversión de la androstenediona en estrógenos (Figura 10); en el caso de la rata adulta ocurre en la tarde del Diestro-2 (Domínguez *et al.*, 1991; Hadley, 2000; Yen *et al.*, 2001a).

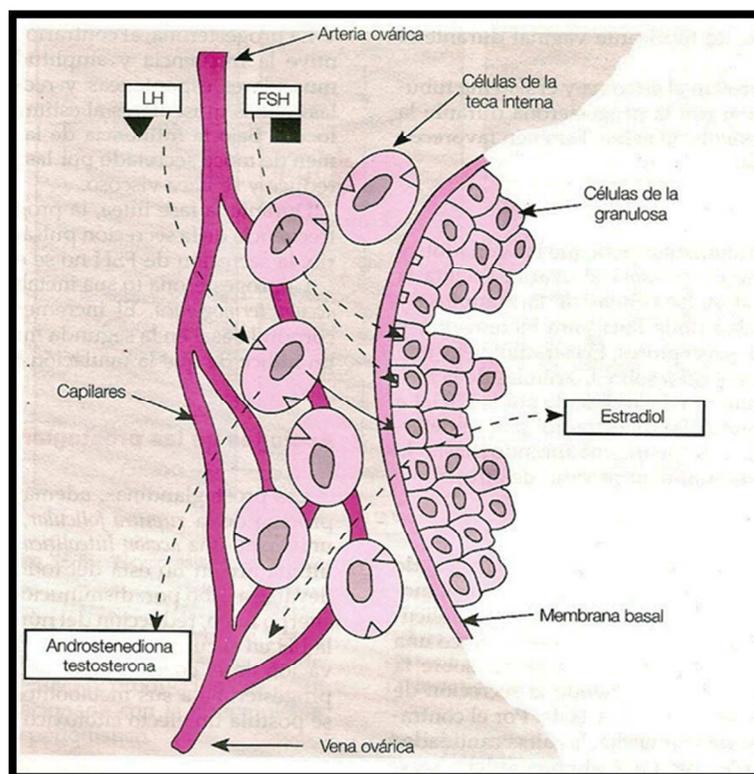


Figura 10. Teoría doble célula-doble hormona (Tomada de Yen *et al.*, 2001a)

La secreción de estrógenos está regulada por los siguientes factores que van acoplados con la FSH y LH:

- ✿ La GnRH inhibe la síntesis de andrógenos en las células de la teca e impide los efectos estimulantes de la FSH sobre la actividad aromatásica en las células de la granulosa (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a).
- ✿ La oxitocina inhibe la actividad de la 17 α -hidroxilasa y la 20-22 desmolasa (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a).
- ✿ El EGF bloquea los efectos de la FSH sobre la aromatasa y la síntesis de receptores a LH en las células de la granulosa (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a).
- ✿ La vasopresina y la arginina-vasopresina (secretadas por el cuerpo lúteo), también inhiben la secreción de estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a).

Las concentraciones hormonales varían con base en la etapa del ciclo estral y la hora del día en que se registran. Esta variación prepara al animal ante la ovulación, la preñez o la etapa de celo (Freeman, 2006).

VIII. Ciclo estral

El ciclo estral se define como el intervalo de tiempo existente desde el comienzo de un periodo de celo hasta el comienzo del siguiente (Caravaca *et al.*, 2003).

El ciclo estral en la rata hembra para su estudio se divide en 4 fases que son: Diestro-1 o Metaestro, Diestro-2, Proestro y Estro. Estas fases se reconocen claramente examinando al microscopio las células de un raspado de la pared de la vagina; "frotis vaginal" (Austin y Short, 1972). De esta manera, se distinguen claramente 2 fases: una Fase Folicular o Estrogénica y una Fase Luteínica, que constituyen dos tercios de la duración total del ciclo estral. La Fase Folicular abarca las fases de Proestro y Estro; y la Fase Luteínica Diestro-1 y Diestro-2 (Caravaca *et al.*, 2003).

El ciclo estral de la rata de laboratorio dura de 4 o 5 días. Cada etapa está caracterizada por diferentes concentraciones hormonales y por la proporción entre los tres tipos de células de la citología vaginal: epiteliales, cornificadas y leucocitos (Freeman, 2006; Nalbandov *et al.*, 1969) (Cuadro 1).

Durante el Metaestro o Diestro-1, en el frotis vaginal hay leucocitos. Por la tarde y hasta la mañana del Diestro-2, las concentraciones plasmáticas de estradiol comienzan a aumentar, mientras que, la secreción de progesterona presenta su primera secreción máxima (pico) la tarde de este día. Aunado a lo anterior, y por efecto de la secreción de progesterona por parte del cuerpo lúteo se inhibe la secreción de gonadotropinas. Con respecto a la presencia de estradiol, es notable que el aumento

que empieza en el Metaestro continúe hasta la mañana del Proestro con el fin de alcanzar los valores más altos y la meseta por la tarde del Proestro (Freeman 2006) (Figura 11).

La liberación preovulatoria de la LH estimula la ovulación. La secreción de progesterona por su parte, presenta su segunda secreción elevada durante la tarde del Proestro. Los leucocitos desaparecen del frotis vaginal y son sustituidos por células redondeadas, algo mayores, con grandes núcleos que casi las ocupan por completo. En la mañana del Estro, se presenta la segunda elevación en la concentración de la FSH, debido a la disminución de la secreción ovárica de inhibina. Este aumento en la FSH estimula el crecimiento folicular de un nuevo grupo de folículos. Como ya se había mencionado anteriormente, en la rata con ciclos de 4 días, las concentraciones plasmáticas de estradiol son basales. Las células que se encuentran en el frotis vaginal son ahora mucho mayores que antes y tienen la forma de láminas aplanadas, sin núcleo y más irregulares (Freeman, 2006) (Figura 11).

Cuadro 1. Histología vaginal durante el ciclo estral de la rata (Tomada de Nalbandov et al., 1969)

Fase del ciclo	Duración	Cambios en los ovarios	Tipos de células en los frotis vaginales
Diestro	½ ciclo total	Cuerpos lúteos	Leucocitos y células Epiteliales
Proestro	12 horas	Los folículos comienzan su crecimiento	Células nucleadas
Estro (comienzo)	12 horas	Cópula	Células Epiteliales nucleadas
Estro (final)		Ovulación	Cornificadas
Diestro-1	18 horas	Cuerpos lúteos formados	Cornificadas y leucocitos
Comienzo de Diestro-2	6 horas	Cuerpos lúteos funcionales durante la primera parte	Desaparecen las células cornificadas

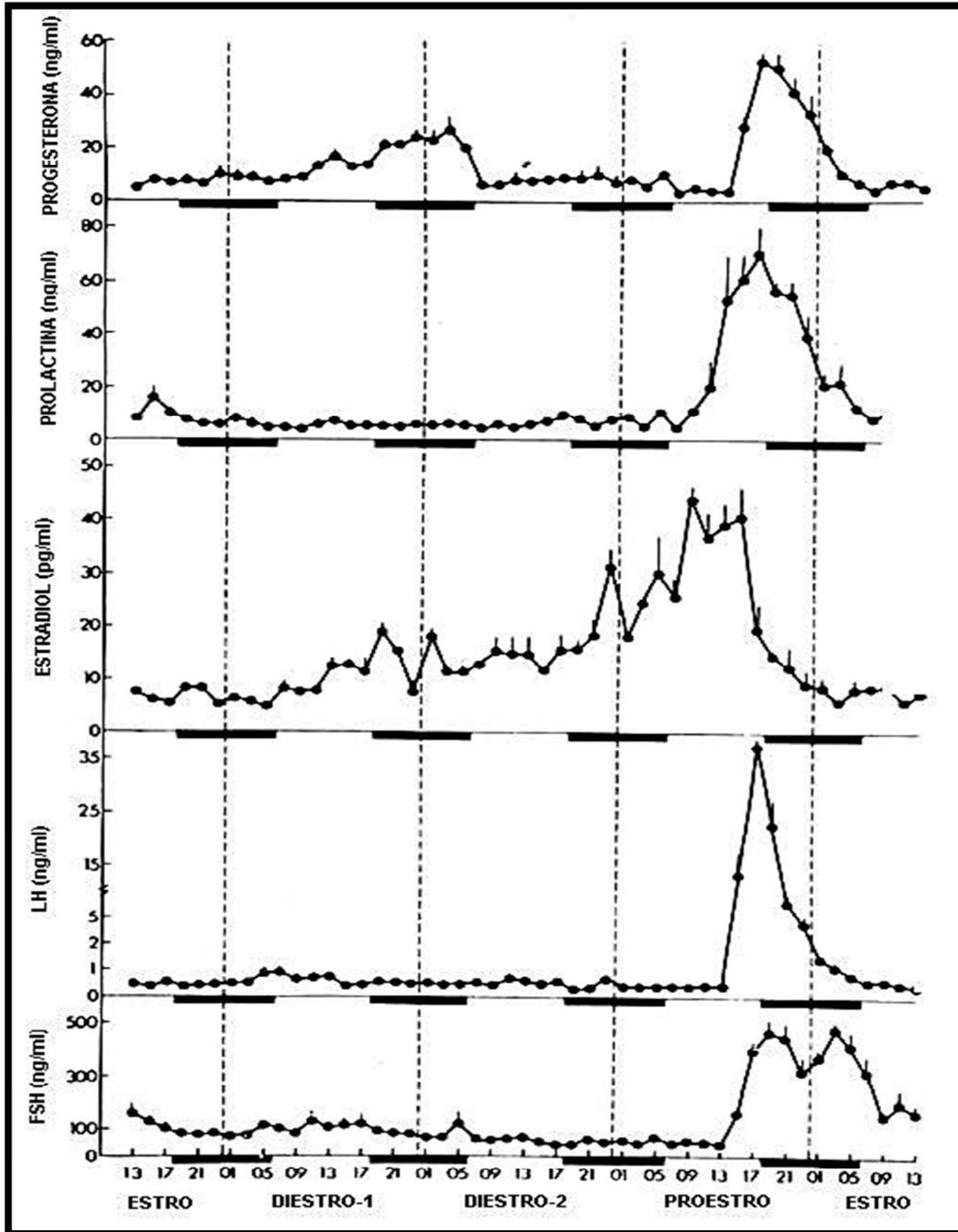


Figura 11. Concentraciones de P₄, PRL, E₂, LH y FSH en plasma venoso periférico a lo largo del ciclo estral de la rata. Cada punto representa la media de la concentración hormonal (± e.e.m.) de 5 ó 6 ratas. Las barras negras representan el intervalo luz-oscuridad (luz de 06:00-18:00) en la sala de los animales y los números de abajo representan las horas del día en términos de 24 h (Tomada de Freeman, 2006).

IX. Regulación hormonal de las funciones del Ovario

Las funciones de los ovarios son reguladas por las señales hormonales que provienen del hipotálamo y la hipófisis. El hipotálamo secreta la GnRH que es un decapeptido cuya estructura primaria es pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ (peso molecular de 1182.4) (Gómez-Prieto y Velázquez-Paniagua, 2002). En los roedores la GnRH se sintetiza en neuronas del área preóptica del hipotálamo anterior (POA-AHA) (Arimura, 2000; Brown, 1994; Halász, 2000).

La GnRH es transportada a lo largo de axones y secretada de las terminales nerviosas dentro del sistema portal hipofisiario, donde existen capilares, que forman el plexo primario del sistema portal-hipofisiario. Esta hormona continúa su recorrido a través de la pars tuberalis hacia el plexo secundario; compuesto por otra serie de capilares en la parte distal de la adenohipófisis. En esa región, la GnRH estimula en las células gonadotropas de la adenohipófisis, la secreción de gonadotropinas hacia el plexo venoso secundario, y por su intermedio pasan a la circulación general (Figura 12) (Callejas, 2001; Guyton, 2006; Levy *et al.*, 2006).

La liberación de la neurohormona desde el hipotálamo es de forma pulsátil y existe una sincronía notable entre los pulsos de GnRH en sangre portal y los pulsos de LH en sangre periférica, los cuales varían de acuerdo al día del ciclo estral (Kyeong-Hoon y Kaiser, 2006). El estradiol estimula la expresión de receptores gonadotrópicos en la membrana plasmática de las células foliculares. Un folículo maduro cuando está dotado de la población adecuada de receptores gonadotrópicos es sensible a ambas gonadotropinas (Espey, 1999).

La naturaleza pulsátil de la secreción de la GnRH resulta en la liberación pulsátil de la FSH y la LH (Gómez-Prieto y Velázquez-Paniagua, 2002). La FSH es la responsable del proceso de esteroidogénesis ovárica, crecimiento y maduración folicular, mientras que, la LH estimula la esteroidogénesis ovárica, ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Callejas, 2001; Levy *et al.*, 2006; Yao y Bahr, 1999; Yen *et al.*, 2001c).

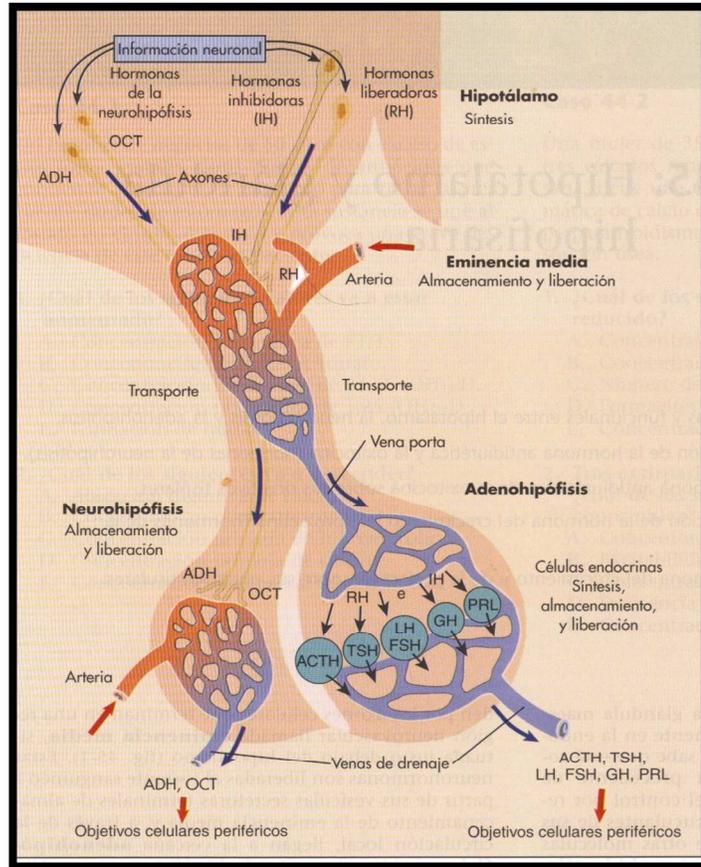


Figura 12. Relaciones entre el hipotálamo y la hipófisis (Tomada y modificada de Levy et al., 2006)

Las células de la granulosa secretan proteínas que activan o inhiben la síntesis y liberación de FSH en la hipófisis; activina y la inhibina, respectivamente. Sin embargo, estas proteínas no tienen efecto alguno sobre la LH (Brown, 1994; Patiño, 2008). Las hormonas secretadas por el ovario actúan como una señal inhibitoria reajustando así la liberación de GnRH y de las gonadotropinas (Figura 13) (Yao y Bahr, 1999).

El sistema nervioso central (SNC) modula las funciones del hipotálamo de manera diferente dependiendo del lado (izquierdo o derecho) en donde se origine una señal. En el caso del hipotálamo también envía señales a la hipófisis de forma lateralizada; estas variaciones dependen de la pulsatilidad de la GnRH. Por su parte la hipófisis libera a las gonadotropinas y otras señales endocrinas que actúan sobre el ovario, en el que a su vez la respuesta es diferente (Domínguez et al., 2003).

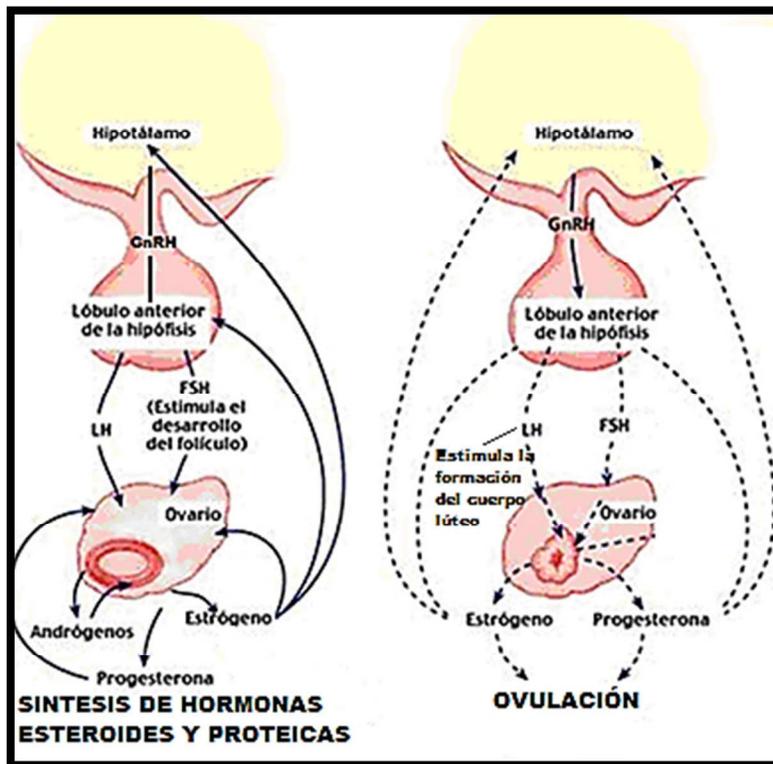


Figura 13. Ovulación y síntesis de hormonas esteroides, ambas funciones del ovario reguladas mediante el eje hipotálamo-hipofisis (Tomada de Fox, 2003)

X. Asimetría ovárica

La asimetría se define como las diferentes respuestas que presentan el órgano derecho y el izquierdo ante un estímulo (Domínguez *et al.*, 2003).

El control neuroendocrino de las funciones reproductivas es asimétrico y está presente en todos los niveles de organización. Se ha propuesto que el control endócrino de las funciones reproductivas en el lado derecho de las estructuras neuronales juegan un papel predominante (esta tendencia es más evidente en el hipotálamo), al mismo tiempo que el hemisferio derecho juega un papel preponderante en el control del eje hipotálamo-hipofisis-adrenal (Gerendai y Halász, 2001).

Estas asimetrías se pueden observar en diferentes especies; por ejemplo, en las aves es conocido que sólo el ovario izquierdo es funcional, sin embargo, si les es extirpado éste, el ovario derecho ejercerá su función (Domínguez *et al.*, 2003).

En la rata, aspectos emocionales y de orientación espacial son controlados por el hemisferio derecho. Esta asimetría funcional parece estar relacionada con diferencias neuroquímicas y endocrinas. Es posible que las hormonas sexuales durante la etapa perinatal (en la cual se establece la diferenciación sexual en el cerebro de roedores) no sean igual en los lados izquierdo y derecho. En la rata de 4 días de vida, el contenido de receptores a estrógenos en la corteza cerebral es asimétrico: en el macho hay más receptores del lado izquierdo, mientras que en la hembra sucede lo contrario. La diferente concentración de receptores y los efectos de las hormonas gonadales en esta etapa de la vida del animal pueden generar un efecto asimétrico en el establecimiento de patrones fisiológicos y de conducta en la etapa adulta (Cruz *et al.*, 2001).

En la rata, el ovario derecho ovula más ovocitos que el ovario izquierdo, en promedio el ovario derecho ovula 6 ovocitos y el izquierdo 4 ovocitos aproximadamente (Domínguez *et al.*, 2003). Cuando se extirpa el ovario izquierdo, la proporción de animales que ovula en el día del Estro es el doble que cuando queda el ovario derecho *in situ* (Cruz *et al.*, 2001).

Gerendai y su grupo de trabajo mostraron que en la rata hembra adulta, la concentración de la GnRH es el doble en el hipotálamo medio basal (HMB) del lado derecho respecto al izquierdo. El contenido asimétrico de GnRH en el HMB parecería ser el resultado de una diferencia en la síntesis de esta proteína, ya que la expresión del gen cambia en el ciclo estral (Cruz *et al.*, 2001).

Hay pruebas de que la respuesta de las células secretoras de hormonas está modulada por señales hormonales y neurales y que esta información que llega a los ovarios y las glándulas adrenales presenta asimetría. Al respecto, los mecanismos neuronales que regulan la secreción de testosterona en los ovarios o la síntesis de testosterona por órganos no gonadales es asimétrica (Flores *et al.*, 2008).

Al inyectar el ovario de ratas adultas con lidocaína y epinefrina se afecta el proceso ovulatorio y estos efectos dependen del ovario: en animales con ovario derecho *in situ* y tratado con lidocaína y epinefrina se observa que la ovulación no ocurre, mientras que en animales con ovario izquierdo *in situ* con el mismo tratamiento resulta en ovulación. Al inyectar gonadotropina coriónica humana la ovulación no se restableció (Domínguez *et al.*, 1998).

Existen evidencias que muestran que el riego sanguíneo que reciben los ovarios es diferente entre uno y otro; las venas sanguíneas del ovario derecho drenan directamente dentro de la vena cava inferior, mientras que las venas del ovario izquierdo usualmente lo hacen dentro de la vena renal izquierda. Asimismo, el ovario derecho se desarrolla antes que el ovario izquierdo (Gerendai y Halász, 1997).

Un estudio en el que se utilizó la técnica de marcadores retrógrados inyectados directamente en los ovarios demostraron una posible asimetría en las conexiones neuronales entre los ovarios y el ganglio mesentérico, además sugieren que el número de conexiones activas varían a lo largo del ciclo estral. En estudios previos se demostró una diferencia en la tasa de ovulación en ratas con sección unilateral del Nervio Ovárico Superior en el día del Diestro-2. Estas diferencias se han interpretado como asimetrías entre los sistemas de regulación de los ovarios o bien como diferencias en la producción de estrógenos por parte de los ovarios (Morán *et al.*, 2005).

Por lo tanto, si existen diferencias en las respuestas de los órganos ante un estímulo, también los órganos reproductivos de la rata responden en forma distinta cuando se estimulan por medio de los nervios que inervan de manera sensorial o aferente el tracto reproductivo (Lawrence *et al.*, 1978).

XI. Inervación del tracto reproductivo

De la conexión que existe entre el cerebro y las gónadas se derivan fibras de la inervación sensorial que llegan al sistema reproductor de la rata hembra transportando acetilcolina, norepinefrina, epinefrina, serotonina, VIP, galanina, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, neuropéptido Y, para llevar a cabo múltiples reflejos neuroendocrinos y diversos comportamientos sexuales (Nance, 1988, Gerendai *et al.*, 2005).

La información sensorial que inerva a la parte anterior del tracto reproductivo proviene de los niveles T13 a L1 del ganglio de la raíz dorsal y se da por medio del nervio hipogástrico que inerva 3/5 partes del útero, mientras que los niveles L6 a S1 inervan a la parte posterior; estas fibras sensoriales llegan al tracto reproductivo por el nervio pélvico que inerva a la vagina, el cuello uterino y parte del perineo. Así mismo, estas fibras también llegan a la parte posterior por el nervio pudendo que inerva a la vagina, la vejiga urinaria, la uretra, el recto, el clítoris, el perineo, la parte interna del muslo y la base de la cola. Estas fibras también llegan a la bursa del ovario y el peritoneo que lo rodea (Figura 14) (Lawrence *et al.*, 1987; Nance, 1988).

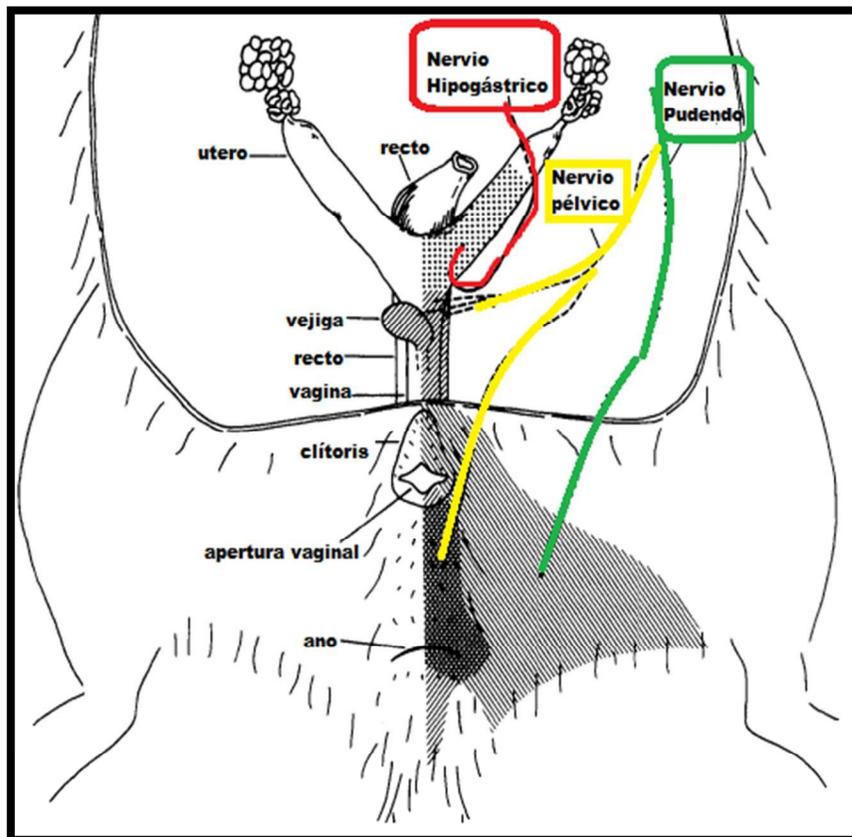


Figura 14. Inervación sensorial de los genitales de la rata (Tomada de Lawrence et al., 1987)

Se tienen evidencias de que las funciones de los ovarios son reguladas por señales hormonales, pero también por la inervación intrínseca y extrínseca de las gónadas; ya que tiene un papel modulador sobre la acción de las gonadotropinas (D'Albora et al., 2002).

XII. Inervación del Ovario

La inervación intrínseca tiene su origen en las neuronas que se encuentran en el ovario y están organizadas en ganglios hiliares y medulares que originan a su vez de fibras nerviosas intraováricas formando plexos ganglionares y cuya proyección va hacia los vasos sanguíneos e inerva al estroma ovárico, el tejido intersticial y la teca folicular (Figura 15) (D'Albora et al., 2002).

La importancia de esta inervación se encuentra en que en la vasodilatación local en el ovario puede mediar el aumento del flujo sanguíneo que se produce durante el desarrollo folicular preovulatorio y en la formación del cuerpo lúteo, así mismo, las fibras intrínsecas juegan un papel importante en la regulación de la homeostasis del ovario (Figura 15) (D'Albora et al., 2002).

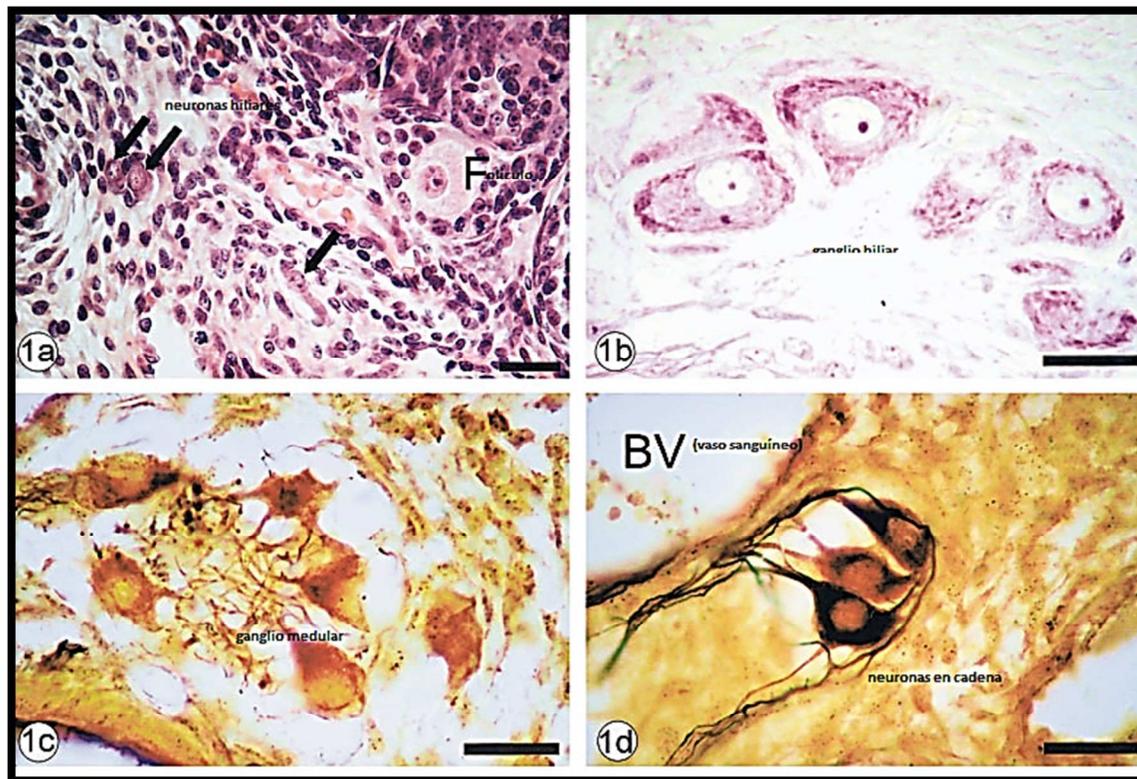


Figura 15. Caracterización morfológica de la inervación intrínseca en el ovario de rata wistar: 1a) neuronas hiliares en el ovario de rata de 5 días (Hematoxilina y Eosina), 1b) ganglio hiliar en el ovario de rata de 30 días de edad, 1c) ganglio medular en el ovario de rata de 44 días de edad, 1d) neuronas en cadena en el ovario de rata de 44 días de edad (Tomada de D'Albora et al., 2002)

Por su parte, la inervación extrínseca del ovario de rata ha sido implicada en el control del desarrollo ovárico tanto en las funciones ováricas como en la maduración folicular (D'albora *et al.*, 2002). Esta inervación está compuesta por fibras sensoriales, simpáticas y colinérgicas (Dominguez *et al.*, 2003; Gerendai y Halász, 1997), que derivan de neuronas del sistema nervioso periférico que a su vez, se conectan al SNC (D'Albora *et al.*, 2002). Se ha postulado que las fibras extrínsecas facilitan la síntesis de hormonas esteroides en el ovario; además, se sabe también que una función adicional de la inervación extrínseca es la capacidad de adquirir receptores a gonadotropinas en el inicio de la maduración folicular (D'Albora *et al.*, 2002; Mayerhofer *et al.*, 1997).

Una evidencia existente acerca de la inervación extrínseca que presentan los ovarios y de su conexión con el SNC, fue dada por Gerendai y su grupo de trabajo en el 2009. Estos autores inyectaron el virus de la pseudorabia en los ovarios como trazador retrógrado y mostraron la presencia de neuronas en la médula ventrolateral, en el núcleo magnocelular, en el área postrema, en el núcleo del

tracto solitario y dorsal del vago, en los grupos celulares noradrenérgicos A1 y A5, en el núcleo caudal del rafe, en el núcleo paraventricular hipotalámico y en el hipotálamo lateral.

A su vez, la conexión entre los ovarios y el SNC está dada a través del ganglio celíaco y de las fibras nerviosas provenientes de nervios que hacen sinapsis en este ganglio (Ahmed *et al.*, 1986; Baljet y Drukkler, 1980). Así mismo, las fibras simpáticas que forman parte de la inervación extrínseca se derivan de los plexos aórtico, renal y ovárico (Burden, 1978).

XIII. Inervación simpática del ovario

Las catecolaminas que actúan sobre el ovario tienen cuatro orígenes: las circulantes, producidas en la médula adrenal (adrenalina); las liberadas en las terminaciones nerviosas adrenérgicas NA; las sintetizadas por las células de la granulosa NA y las secretadas por las células cromoargentafines (Domínguez *et al.*, 1991).

Mediante el uso de técnicas histoquímicas de fluorescencia y estudios de microscopía electrónica se demostró que la inervación simpática se deriva de dos fuentes principales: el nervio del Plexo ovárico (PO) que viaja a lo largo de la arteria ovárica y por el Nervio Ovárico Superior (NOS) que está asociado con el ligamento suspensor (Figura 16) (Baljet y Drukkler, 1979; Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Gerendai *et al.*, 1998; Klein y Burden, 1988; Lawrence y Burden, 1980). Respecto a las fibras de la inervación se ha evidenciado que se derivan del área torácica, en los segmentos T-10 y T-11 (Figura 17) (Burden, 1978; Ahmed *et al.*, 1986; Dissen y Ojeda, 1999).

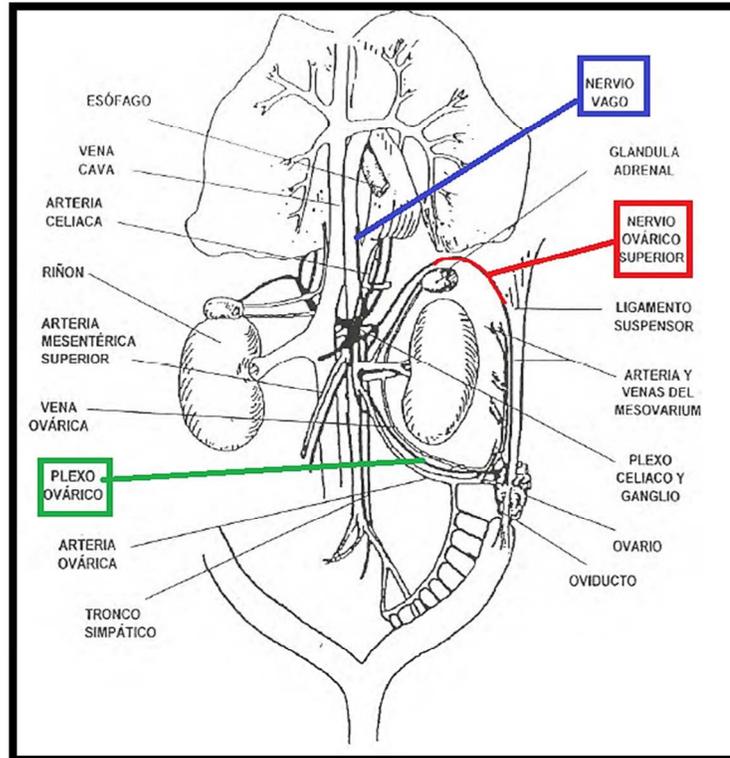


Figura 16. Inervación ovárica (Tomada de Lawrence y Burden, 1980)

La inervación simpática llega a los ovarios a través del NOS, cuyos somas están localizados en el ganglio celiaco y el ganglio de la cadena simpática paravertebral. Ellos reciben proyecciones de neuronas localizadas en las células columnares intermediolaterales de la médula espinal de los segmentos T-11 a L-4, los cuales en turno están conectados a neuronas que contienen Oxitocina localizadas en el núcleo paraventricular del hipotálamo (Figura 17) (Dissen y Ojeda, 1999).

Se tienen evidencias de que el control neural simpático del ovario está mediado en mayor porcentaje por el NOS, mientras que el PO, está asociado con el sistema vascular del ovario (Risvanli *et al.*, 2004). La asociación al sistema vascular se puede explicar mediante los ganglios existentes en el origen de la arteria ovárica y renal de donde emerge también la inervación simpática (Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda; 1999; Klein y Burden, 1988).

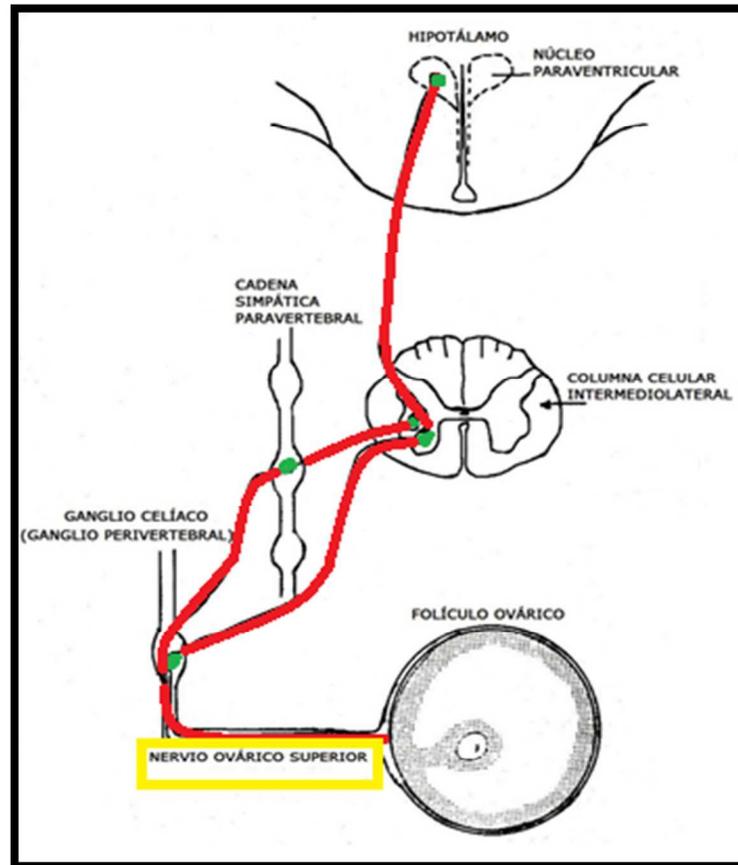


Figura 17. Inervación simpática del ovario (Tomada de Dissen y Ojeda, 1999)

La inervación simpática que llega al ovario vía NOS aporta a la gónada NA y VIP. Por otro lado, el PO contiene neuronas con NA y neuropéptido Y (Figura 18) (Ayala *et al.*, 2005; Dees *et al.*, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Klein y Burden, 1988; Kagitani *et al.*, 2008).

XIV. Nervio Ovárico Superior

Las fibras del NOS penetran al ovario por el hilio y se asocian con los vasos sanguíneos, el estroma ovárico, folículos primordiales y en desarrollo; específicamente folículos antrales terminando en las células de la teca; sin tener contacto con las células de la granulosa o del cuerpo lúteo, aunque estas células no tienen contacto directo responden a estímulos simpáticos (Ahmed *et al.*, 1986; Ayala *et al.*, 2005; Burden, 1978; Casais *et al.*, 2006; Kagitani *et al.*, 2008; Klein y Burden, 1988; Klein *et al.*, 1989; Lawrence y Burden, 1980; Parra *et al.*, 2007; Risvanli *et al.*, 2004; Ricu *et al.*, 2008; Sosa *et al.*, 2004).

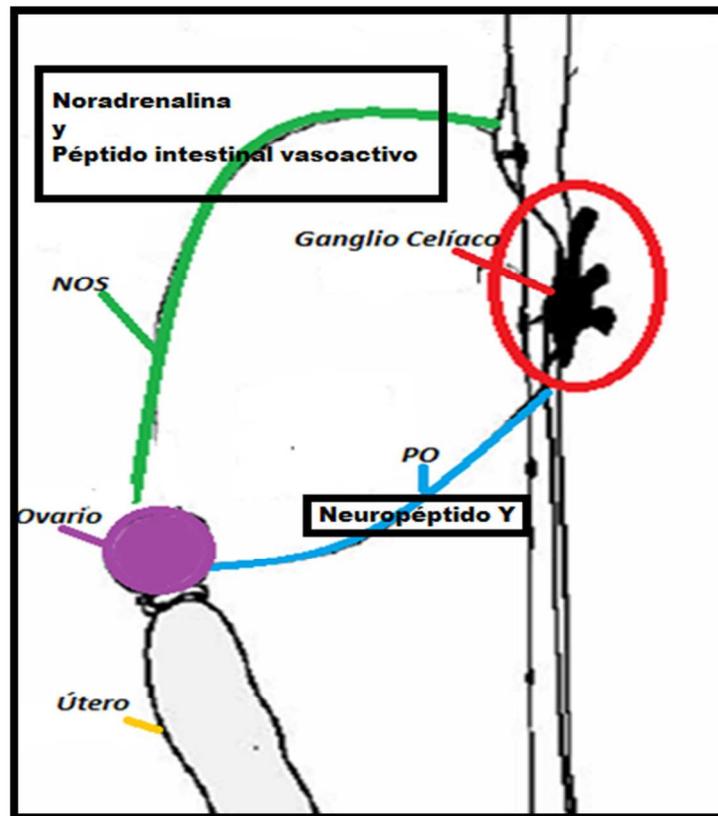


Figura 18. Neurotransmisores que llegan al ovario vía Nervio ovárico superior (NOS) y Plexo Ovárico (PO)
(Tomada y modificada de Kagitani et al., 2008)

Se ha demostrado que los nervios o fibras noradrenérgicos llegan al ovario momentos antes del nacimiento, por lo que, el inicio de la foliculogénesis es dependiente de la inervación que llega a los ovarios (Ricu *et al.*, 2008; Moran *et al.*, 2009) y no de la capacidad de respuesta a las gonadotropinas. Esto se puede explicar por medio del estudio realizado por Moran *et al.* (2009) en donde se demostró la capacidad de respuesta del ovario, específicamente de los receptores β -adrenérgicos para producir AMPc y sintetizar receptores a FSH.

La maduración de las fibras noradrenérgicas durante la pubertad de la rata modifica la sensibilidad a las catecolaminas sobre la esteroidogénesis ovárica (Aguado y Ojeda, 1984).

Para conocer el papel de la inervación simpática vía NOS sobre la regulación de las funciones de la gónada se han realizado métodos tales como la denervación química o bien sección de los nervios (Figura 19).

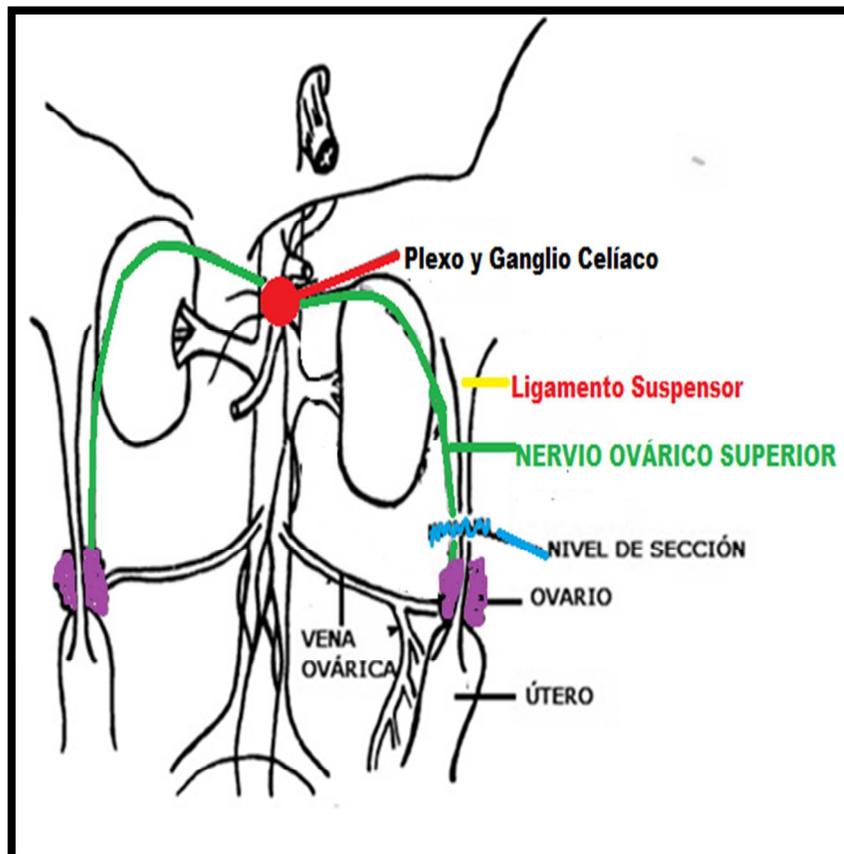


Figura 19. Trayectoria del nervio ovárico superior (NOS) desde el ganglio celíaco hasta el ovario, mostrando también el nivel de la sección del NOS (Modificada de Klein et al., 1989)

XV. Rol del Nervio Ovárico Superior sobre la regulación de las funciones ováricas

La sección unilateral o bilateral del NOS a las 11:00 h en el día del Proestro resulta en cambios en la capacidad ovulatoria del ovario denervado y de su capacidad de secreción hormonal. La sección bilateral del NOS a las 11:00 h resulta en una menor secreción de progesterona, mientras que el mismo tratamiento en el Proestro realizado a las 16:00 h resulta en disminución transitoria en la concentración de la hormona, seguida de un aumento significativo de la misma. Al realizar la sección del NOS durante el Estro no se alteró la concentración de la hormona, ni el flujo sanguíneo (Aguado y Ojeda, 1984).

Erskine *et al.* (1988), mostraron que la sección bilateral del NOS a las 11:00 h en el Proestro interviene en la regulación de la reproducción y que tiene cierta influencia sobre la regulación de las concentraciones de progesterona (ya que disminuyó con la sección del NOS bilateral). Con base en ello, sugieren que el NOS influye en el proceso de desarrollo folicular que interviene directamente en la

ovulación, disminuye la lordosis en los animales, además de que es importante para la regulación del ciclo estral de la rata.

La estimulación eléctrica del NOS realizada en los días del Diestro-1 y Diestro-2 a las 10:00 h causa la liberación de progesterona desde el ovario. Inversamente, cuando se realiza la sección del NOS en el día del Proestro a las 16:00 h disminuyen repentinamente las concentraciones de progesterona y estradiol en la vena ovárica (Aguado, 2002).

Risvanli *et al.*, 2004, realizaron la eliminación de la inervación simpática en la edad adulta y observaron que tiende a reducir el desarrollo folicular, a bloquear los efectos de las gonadotropinas en la esteroidogénesis y a reducir el número de crías en caso de preñez. Para este estudio, se utilizaron 34 ratas hembras albinas de 3 meses de edad que fueron divididas al azar en 3 grupos: denervación bilateral del NOS (n=14), operación simulada (n=10) y controles (n=10). Después de la cirugía y durante un mes se les realizó frotis vaginal para cuando presentaron el Estro se colocaron ratas macho durante 12 horas. Se concluyó que el NOS es una de las vías de comunicación neural esencial para los ovarios.

Mendoza en el 2007, en el día del Diestro-2 a las 13:00 h, realizó la sección del NOS izquierdo y observó que la concentración de 17β -estradiol aumentó, mientras que la sección derecha aumentó la de progesterona. Cuando se realizó la sección de ambos nervios ninguna de las hormonas tuvo cambios significativos cuando los resultados fueron evaluados 1 hora después de realizados.

Velasco en el 2007, realizó la sección del NOS derecho y la sección de ambos nervios en el Proestro a las 13:00 h y evaluó los efectos 24 horas después. Observó que el número de ovocitos liberados disminuyó en el ovario derecho, por lo que concluyó que el NOS está involucrado en los mecanismos neuroendocrinos que regulan el proceso ovulatorio.

Serrano en el 2009, realizó la sección de uno o ambos nervios a las 13:00 h en ambas etapas del diestro y observó que no hubo cambios sobre la concentración de progesterona cuando los tratamientos fueron evaluados 24 horas después de la cirugía.

Guzmán, en el 2009, realizó la sección unilateral del NOS en Diestro-1 a las 13:00 h y observó que no se modificó la concentración de 17β -estradiol, sin embargo, en el día del Diestro-2 la sección del NOS izquierdo disminuyó la concentración de este esteroide. Estos tratamientos fueron evaluados 24 horas post-cirugía.

Santiago en el 2011, realizó la sección uni o bilateral del NOS a las 07:00 h y evaluó las concentraciones de progesterona y 17β -estradiol; una hora después de los tratamientos. Observó que el NOS no participa en la regulación de la secreción de progesterona a esta hora; sin embargo, la concentración sérica de 17β -estradiol aumentó con la sección uni o bilateral en el día del Estro, por lo

que mencionó que el NOS modula de forma inhibitoria la acción de gonadotropinas sobre la secreción de este esteroide.

Javier, en 2012, realizó sección unilateral del NOS a las 15:00 y 19:00 h en cada etapa del ciclo estral y evaluó la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por los animales ovulantes. Los resultados observados apoya la hipótesis de que la actividad de las neuronas no sólo varía con base en la etapa del ciclo estral, sino que dicha actividad tiene períodos de quiescencia y de actividad que depende de la hora en estudio, del Nervio analizado y de la función analizada: tasa de animales ovulantes o el número de ovocitos liberados.

El análisis de la participación del NOS sobre las funciones de los ovarios, también ha sido analizada en animales con ovariectomía unilateral. Al realizar la sección derecha del NOS en el día del Diestro-2 o Proestro se observa disminución de la capacidad ovulatoria del ovario denervado. Cuando se realizó la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda en estos días del ciclo, la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados resultaron en disminución por el ovario *in situ*; además de que los efectos dependen del día del ciclo estral en el que se realiza la denervación (Chávez y Domínguez, 1994).

Montiel, en 2005, analizó los efectos de la sección unilateral del NOS a las 13:00 h en el Diestro-1 en animales con ovariectomía sobre la concentración sérica de hormonas esteroides registradas una hora después de las cirugías. Observó que el NOS izquierdo modula de forma inhibitoria la concentración de progesterona y estradiol, mientras que el NOS derecho modula en forma estimulante la concentración sérica de progesterona.

Gallegos *et.al.*, (2005), analizaron los efectos de la sección del NOS previo a la ovariectomía contralateral en el día del Proestro a las 13:00 h sobre la concentración sérica de 17 β -estradiol. La sección izquierda del NOS seguida de la ovariectomía derecha no modificó la concentración de la hormona. Por el contrario, la concentración del esteroide aumentó al realizar la sección derecha acompañada por la ovariectomía izquierda.

Mendoza en el 2007, observó que a las 13:00 h en Diestro-1 la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda disminuye la concentración de progesterona, pero, aumenta la de 17 β -estradiol. Al realizar la sección del NOS izquierdo seguido de la ovariectomía derecha no se presentaron alteraciones en la secreción de los esteroides.

Velasco en el 2007, observó que en el día del Proestro a las 13:00 h, la sección del NOS derecho en animales con ovariectomía izquierda y la sección del NOS izquierdo en animales con ovariectomía derecha no modificó significativamente las concentraciones de progesterona y 17 β -estradiol cuando los resultados fueron evaluados 24 horas después de realizar los tratamientos.

Serrano en el 2009, al realizar la ovariectomía izquierda en animales con sección del NOS derecho y la ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS izquierdo, observó disminución de la concentración sérica de progesterona evaluada 24 horas después.

Guzmán en el 2009, evaluó los efectos de la sección del NOS seguida de la ovariectomía unilateral o viceversa realizados a las 13:00 h en Diestro-1 y Diestro-2 evaluados 24 horas después, y observó que la sección del NOS izquierdo seguida de la ovariectomía derecha incrementó la concentración de 17 β -estradiol en la etapa de Diestro-2 y la disminuyó en Diestro-1. En animales con sección del NOS derecho la ovariectomía unilateral disminuyó la concentración de 17 β -estradiol en la etapa de Diestro-1. La ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS izquierdo aumentó la concentración de 17 β -estradiol en Diestro-2. Finalmente, la ovariectomía derecha y la sección del NOS disminuyeron la concentración de 17 β -estradiol en Diestro-1.

Santiago, en el 2012, realizó la sección unilateral del NOS seguida o no de la ovariectomía unilateral a las 07:00 h de cada día del ciclo estral y evaluó la concentración de las hormonas esteroides ováricas 1 hora después del tratamiento. Con base en los resultados, la autora concluye que la información neural que llega a los ovarios vía el NOS participa sobre los mecanismos que regulan la concentración de progesterona y 17 β -estradiol lo que depende de la etapa del ciclo estral, del nervio y del ovario en estudio.

Con base en estos y otros resultados, se ha propuesto que la inervación del ovario a través del NOS modula la respuesta de los diferentes compartimientos endócrinos del ovario a las gonadotropinas de una manera asimétrica, lo que depende de la etapa del ciclo estral en estudio (Domínguez *et al.*, 1998, 2003).

XVI. Rol del VIP y la NA

Se sabe que el VIP está presente en el estroma del ovario, la vena ovárica, la arteria ovárica y las células teca intersticiales de los folículos, por lo que se ha sugerido que interviene en la regulación de las funciones ováricas (Davoren y Hsueh., 1985; Dees *et al.*, 1986).

Se encuentra presente en los folículos primordiales y preantrales y juega un papel importante en la formación del antro, en la proliferación de las células de la granulosa y en la producción de estradiol, por lo que los autores han concluido que este péptido regula localmente el crecimiento del folículo preantral (Cecconi *et al.*, 2004).

Induce la actividad de la aromatasa que está implicada en la formación de estrógenos a partir de andrógenos en los ovarios de ratas fetales, antes de la formación del primer folículo y antes de que

se tenga la capacidad de respuesta a FSH, por lo que se ha sugerido que este péptido juega un papel crítico en la diferenciación del ovario (George y Ojeda, 1987).

Interviene en la maduración de las células de la granulosa para que estas células puedan responder a la NA y posteriormente puedan adquirir receptores a FSH y LH. Así mismo, este neurotransmisor está implicado en la regulación de la estereoidogénesis activando la síntesis del colesterol para la producción de estradiol en el día del Proestro. De igual forma, está implicado en la regulación de la actividad androgénica en donde, en el día del Diestro-2, Proestro o Estro incrementa la actividad enzimática de P450scc para la secreción de andrógenos (Dissen y Ojeda, 1999; Mayerhofer *et al.*, 1997; Parra *et al.*, 2007).

Se ha detectado VIP-mRNA en los ovarios de ratas, por lo que se sugiere la síntesis local de VIP en los ovarios (Gozes y Tsafirri, 1986).

Por otro lado, las células de la granulosa y de la teca tienen receptores β -adrenérgicos a la NA. Estos receptores en las células teco intersticiales estimulan la liberación de progesterona y andrógenos (Aguado y Ojeda, 1984, 1986; Dissen y Ojeda, 1999; Sosa *et al.*, 2000).

Además, el receptor adrenérgico de las células de la granulosa está funcionalmente acoplado en efectos estimulantes de la FSH sobre la producción de progesterona (Adashi y Hsueh, 1981).

Sosa y su grupo de colaboradores, en el 2000, observaron que en el ganglio celíaco existen receptores α y β -adrenérgicos. Respecto a los receptores β -adrenérgicos, a los que responde la NA, observaron que en el día del Proestro, Estro y Diestro-1 aumentan las concentraciones de este neurotransmisor y se libera progesterona. Además, también la NA juega un papel de retroalimentación negativa de los esteroides ováricos sobre la secreción de LH *in vivo* (Helena *et al.*, 2004).

En el momento de la ovulación, la NA es muy importante ya que al llegar a los receptores α -adrenérgicos en las células de la teca externa y el estroma ovárico estimula las contracciones del músculo liso de la pared de los folículos para que sea liberado el ovocito junto con líquido folicular donde también está presente la NA (Itóth, 2005).

Entonces, se puede concluir que la NA y el VIP intervienen en la producción de hormonas esteroides dentro del ovario, en la adquisición de la capacidad de respuesta a gonadotropinas y en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario durante el ciclo estral (Adashi y Hsueh, 1981; Ahmed *et al.*, 1986; Davoren y Hsueh, 1985; Mayerhofer *et al.*, 1997). Ambos estimulan la secreción de progesterona y andrógenos y sólo el VIP estimula la de estradiol. Ambos estimulan la síntesis de receptores a FSH, lo cual depende del día del ciclo estral (Dissen y Ojeda, 1999).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La secreción de las hormonas ováricas es regulada por la GnRH proveniente del hipotálamo y por señales endocrinas provenientes de la hipófisis (ACTH, FSH, LH, Prolactina). Además, se tienen evidencias de que los ovarios reciben inervación a través del Nervio Ovárico Superior, el cual lleva NA y VIP, y que es una vía de comunicación entre los ovarios y el SNC y que modula la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación.

La participación del Nervio Ovárico Superior en las funciones del ovario ha sido analizada por medio de la sección unilateral del nervio a las 13:00 h en el día del proestro (Velasco, 2007) y a las 15:00 y 19:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta sobre la ciclicidad y la ovulación (Javier, 2012). Los resultados observados apoyan la hipótesis de que la actividad de las neuronas no sólo varía con base en la etapa del ciclo estral, sino que dicha actividad tiene períodos de quiescencia y de actividad que depende de la hora en estudio, del Nervio analizado y de la función analizada: tasa de animales ovulantes o el número de ovocitos liberados.

También se ha mostrado que la extirpación de un ovario modifica los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del ovario remanente y esta modificación depende del ovario remanente, de la inervación vagal y del día y hora en que se realiza el tratamiento (Santiago *et al.*, 2011).

Con base en ello, el objetivo de este estudio fue analizar si el Nervio Ovárico Superior, forma parte de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación espontánea a las 7:00 h de cada etapa del ciclo estral, en ratas con o sin ovariectomía unilateral.

HIPÓTESIS

Dado que la inervación que llega a los ovarios modulan la acción de las gonadotropinas sobre las funciones de estos y que la extirpación de un ovario modifica los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del ovario remanente, entonces, la sección unilateral del NOS seguida o no de la ovariectomía unilateral resultará en alteraciones del proceso ovulatorio que dependerá de la etapa del ciclo estral en que se seccione el nervio, del nervio y la gónada *in situ* y del tiempo que transcurra entre el tratamiento y su evaluación.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados.

Objetivos específicos

- ✿ Analizar si la laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral altera los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.
- ✿ Analizar la participación del Nervio Ovárico Superior a las 7:00 h en cada una de las etapas del ciclo estral en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.
- ✿ Evaluar si la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por cada ovario presenta una respuesta asimétrica y depende de la etapa del ciclo estral.
- ✿ Analizar si el Nervio Ovárico Superior es parte de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en cada ovario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra adultas, vírgenes de tres meses de edad, de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-obscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y al alimento (Purina rat chow). Se les realizó frotis vaginal diariamente, con el fin de monitorear su ciclo estral y solo se utilizaron aquellas que presentaron, al menos dos ciclos consecutivos de cuatro días: Diestro-1, Diestro-2, Proestro y Estro.

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron bajo anestesia con éter, a las 07:00 h en cada etapa del ciclo. Los animales se destinaron a los siguientes grupos experimentales (n=7):

- ✿ Testigo absoluto: Ratas cíclicas intactas fueron sacrificadas en el día del estro vaginal a las 7:00 h para conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por cada ovario.
- ✿ Laparotomía ventral: Para estudiar el efecto de la anestesia seguida de la laparotomía sobre la respuesta ovulatoria, las ratas fueron anestesiadas con éter y enseguida se les realizó una incisión ventral en el centro de la cavidad peritoneal (aproximadamente 1 cm. por debajo de la última costilla) atravesando la piel, el músculo y el peritoneo, sin tocar los órganos internos. Una vez terminada la laparotomía se procedió a suturar la herida por planos (Figura 20).



Figura 20. Se muestra una rata a la que se le realizó la laparotomía ventral

- ✿ Sección del Nervio Ovárico Superior (NOS): Con el fin de analizar los efectos que tiene la sección del NOS unilateral a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral sobre la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados, una vez realizada la laparotomía ventral, se levantó con unas pinzas el ligamento suspensorio que incluye al NOS y se seccionó el Nervio Ovárico Superior izquierdo (NOS-I) o derecho (NOS-D) aproximadamente a 1 cm craneal a la gónada. Al finalizar se saturó la herida (Figura 21).

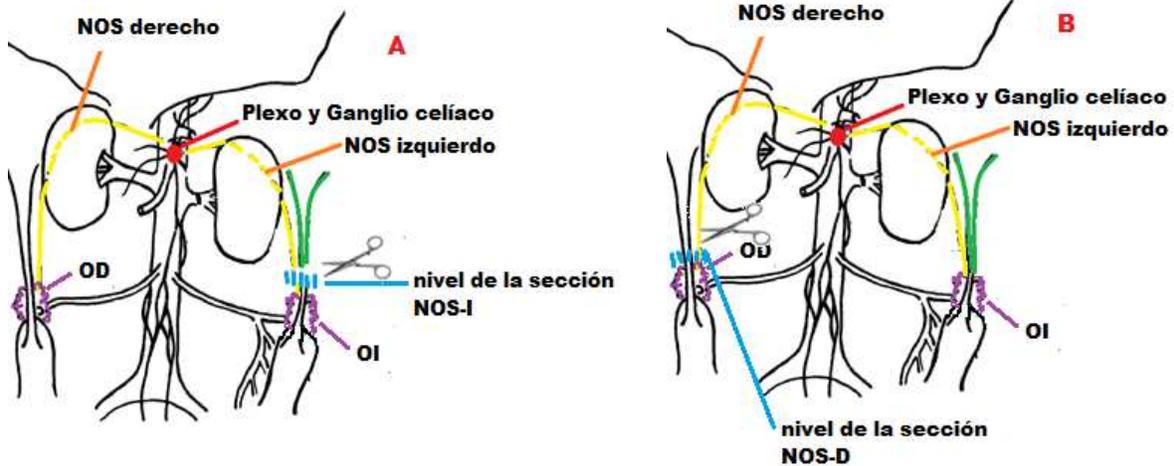


Figura 21. En el esquema A se muestra la sección del NOS izquierdo (NOS-I) y queda el NOS derecho in situ, en el esquema B se muestra la sección del NOS derecho (NOS-D) y queda el NOS izquierdo in situ, en el esquema C se muestra la sección de ambos NOS (NOS-B). (OI: ovario izquierdo), (OD: ovario derecho) (Tomada y modificada de Klein et al., 1989)

✧ Ovariectomía unilateral (Ovx-I u Ovx-D). Para analizar la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y el derecho, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con laparotomía ventral, se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I, ovario derecho *in situ*) o el ovario derecho (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*) (Figura 22).

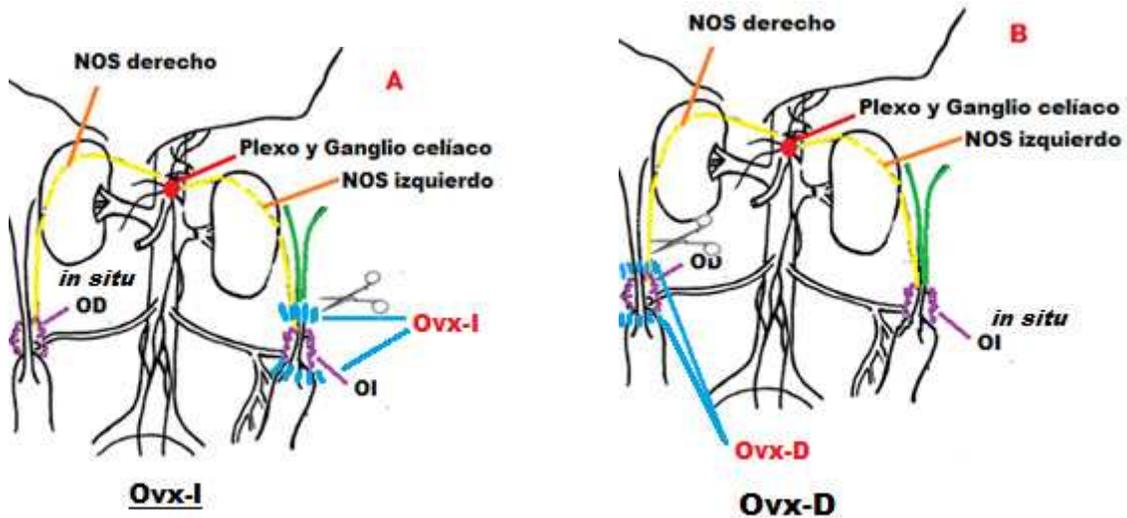


Figura 22. En el esquema A se muestra la ovariectomía izquierda (Ovx-I) quedando el ovario derecho in situ. En el esquema B se observa la ovariectomía derecha (Ovx-D) quedando el ovario izquierdo in situ. (OI: ovario izquierdo), (OD: ovario derecho) (Tomada y modificada de Klein et al., 1989)

✧ Sección unilateral del Nervio Ovárico Superior y Ovariectomía contralateral: Con el fin de analizar la respuesta ovulatoria en animales denervación noradrenérgica y vipérgica que es

llevada al ovario por el NOS, después de realizar la perforación del peritoneo se procedió a seccionar el NOS izquierdo y extirpar el ovario derecho (NOS-I+Ovx-D; ovario izquierdo denervado) o a seccionar el NOS derecho y extirpar el ovario izquierdo (NOS-D+Ovx-I; ovario derecho denervado) (Figura 23).

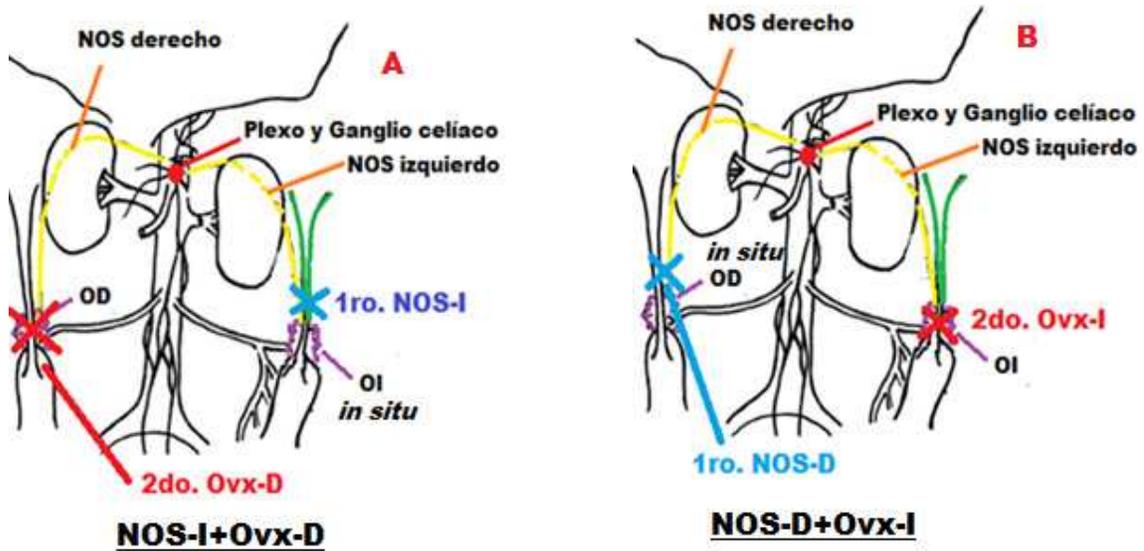


Figura 23. En el esquema A se muestra la sección del NOS izquierdo seguida de la ovariectomía derecha (NOS-I+Ovx-D) donde queda el ovario izquierdo in situ o denervado. En el esquema B se muestra la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda (NOS-D+Ovx-I) y queda el ovario derecho in situ o denervado. (OI: ovario izquierdo), (OD: ovario derecho) (Tomada y modificada de Klein et al., 1989)

✿ Ovariectomía unilateral y Sección del Nervio Ovárico Superior (NOS) contralateral: Con el fin de analizar la respuesta ovulatoria en animales con ovariectomía unilateral y denervación noradrenérgica y vipérgica que es llevada al ovario por el NOS, después de realizar la perforación del peritoneo se procedió a extirpar el ovario derecho y enseguida se seccionó el NOS-I (Ovx-D+NOS-I; ovario izquierdo denervado) o a extirpar el ovario izquierdo y seccionar el NOS derecho y (Ovx-I+NOS-D; ovario derecho denervado) (Figura 24).

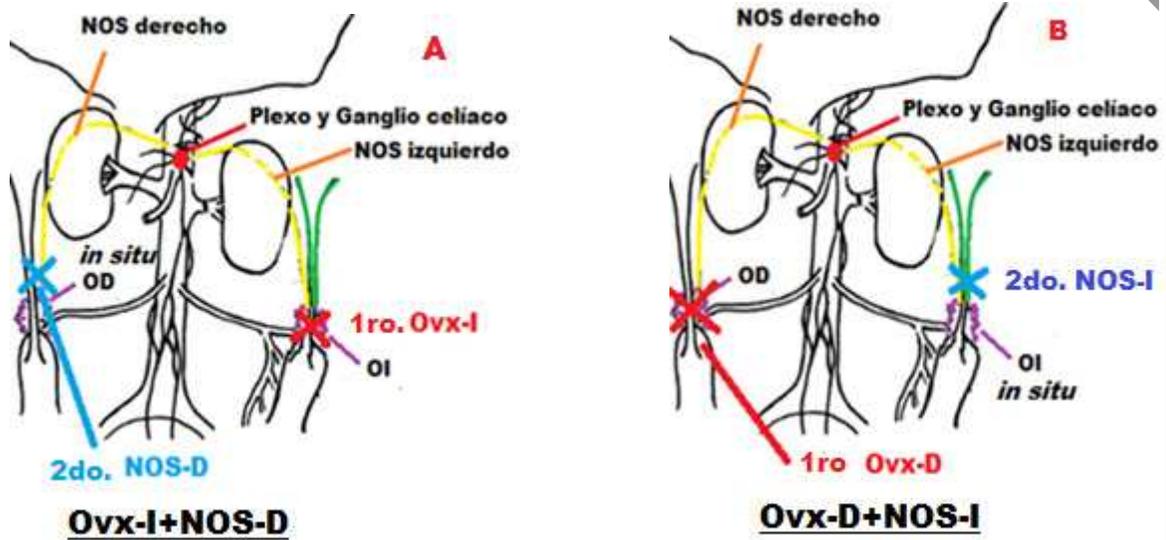


Figura 24. En el esquema A se muestra la ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho (Ovx-I+NOS-D) quedando el ovario derecho in situ, en el esquema B se muestra la ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS izquierdo (Ovx-D+NOS-I) quedando el ovario izquierdo in situ. OI: ovario izquierdo, OD: ovario derecho (Tomada y modificada de Klein et al., 1989)

Procedimiento de Autopsia

Después de haber realizado las cirugías, la toma de frotis vaginales se reinició un día después de la cirugía. Cuando los animales presentaron el estro vaginal fueron pesados y sacrificados por decapitación a las 07:00 h.

En los oviductos (izquierdo y derecho) se verificó la presencia de ovocitos y se les contó con la ayuda de un microscopio estereoscópico. Los resultados del número de ovocitos se expresaron como los correspondientes a cada ovario o como totales (los liberados por el ovario izquierdo (OI) más los del derecho (OD)). Con base en ello, se cuantificó la tasa de animales ovulantes, definida como el número de animales que ovularon/número total de animales tratados.

Se disecaron los ovarios, el útero y las adrenales y se pesaron en balanza de precisión (1 mg). La masa de los órganos se expresó en miligramos por 100 gramos de masa corporal de los animales (mg/100 g M.C.) y los resultados se expresaron como la media más menos error estándar de la media (Media \pm e.e.m.).

Análisis estadístico

El número de ovocitos liberados fue analizado por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney. La tasa de animales ovulantes fue analizada por la prueba de probabilidad exacta de Fisher. Los resultados de la masa corporal y de los órganos se analizaron por la prueba de análisis de varianza múltiple (ANDEVA), seguida de la prueba de Tukey. Cuando fue necesario comparar los resultados de dos grupos se utilizó la prueba "t" de Student. En todos los casos, se consideraron significativas aquellas diferencias en las cuales la probabilidad fue menor o igual al 0.05.

RESULTADOS

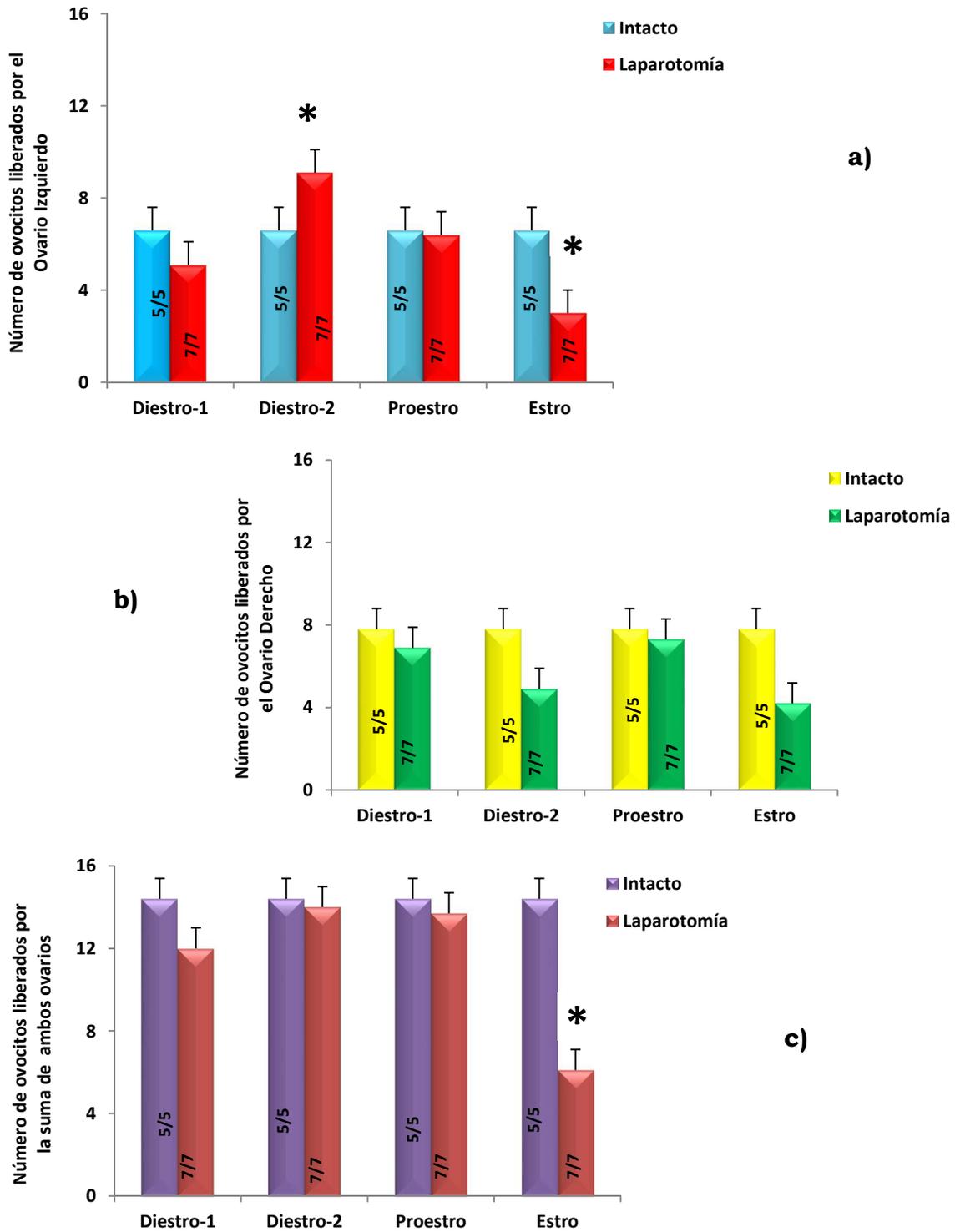
Grupo de Animales Intactos

El 100% de los animales intactos presentó ovulación en el día del estro vaginal y liberó 6.6 ± 0.5 ovocitos por parte del ovario izquierdo, 7.8 ± 1.2 por el ovario derecho, lo que hizo un total de 14.4 ± 1.2 ovocitos liberados por ambos ovarios.

Animales sometidos a la laparotomía ventral

La respuesta ovulatoria de los animales que fueron sometidos a la laparotomía ventral en las diferentes etapas del ciclo estral no alteró la tasa de animales ovulantes respecto a lo observado en los animales intactos. En contraste, en la etapa de Diestro-2 resultó en aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo respecto a lo registrado en animales intactos (Gráfica 1a); mientras que, en el Estro se observó disminución en el número de ovocitos liberados por parte del ovario izquierdo (Gráfica 1a) lo que se reflejó en la disminución del número de ovocitos liberados por ambos ovarios (Gráfica 1c).

En relación a los órganos, se observó que la laparotomía ventral en el Diestro-1 resultó en disminución de la masa corporal y aumento de la masa de los órganos cuantificados (Cuadro 1), mientras que en el Diestro-2 se observó disminución en la masa ovárica respecto a lo registrado en animales intactos (Cuadro 1), reflejo de la disminución de la masa del ovario izquierdo (Cuadro 1).



Gráfica 1: Tasa de animales ovulantes (dentro de cada columna) y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados por parte del ovario izquierdo (a), ovario derecho (b) y por la suma de ambos ovarios (c), en animales intactos o con laparotomía a las 07:00 h en las diferentes etapas del ciclo estral. **a)** * $p < 0.05$ vs. Intacto (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). **c)** * $p < 0.05$ vs. Intacto (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney).

Cuadro 1: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de las gónadas de animales intactos o sometidos a laparotomía ventral a las 07:00 h en las diferentes etapas del ciclo estral y sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario Izquierdo (mg/100 g M.C.)	Ovario Derecho (mg/100 g M.C.)	Masa ovárica (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Intacto	5	233.0 \pm 11.8	12.4 \pm 0.4	10.9 \pm 0.8	23.4 \pm 0.9
	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0*	26.2 \pm 2.3*	25.6 \pm 1.5*	51.8 \pm 3.1*
Diestro-2	Intacto	5	233.0 \pm 11.8	12.4 \pm 0.4	10.9 \pm 0.8	23.4 \pm 0.9
	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	8.6 \pm 0.6*	9.9 \pm 0.6	18.5 \pm 1.1*
Proestro	Intacto	5	233.0 \pm 11.8	12.4 \pm 0.4	10.9 \pm 0.8	23.4 \pm 0.9
	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	11.4 \pm 0.6	12.6 \pm 0.8	24.0 \pm 1.1
Estro	Intacto	5	233.0 \pm 11.8	12.4 \pm 0.4	10.9 \pm 0.8	23.4 \pm 0.9
	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	15.3 \pm 1.4	14.3 \pm 1.4	29.7 \pm 2.7

*p<0.05 vs intacto (Prueba de "t" de Student). M.C. = Masa corporal.

Cuadro 2: Media \pm e.e.m. de la masa de los órganos de animales intactos o sometidos a la laparotomía ventral a las 07:00 horas de cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados en el día del estro vaginal.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Intacto	5	10.7 \pm 1.1	10.6 \pm 1.5	21.3 \pm 2.6	163.0 \pm 15.0
	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4*	24.2 \pm 1.0*	49.6 \pm 2.2*	271.6 \pm 12.1*
Diestro-2	Intacto	5	10.7 \pm 1.1	10.6 \pm 1.5	21.3 \pm 2.6	163.0 \pm 15.0
	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4	159.0 \pm 8.8
Proestro	Intacto	5	10.7 \pm 1.1	10.6 \pm 1.5	21.3 \pm 2.6	163.0 \pm 15.0
	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8	164.4 \pm 15.2
Estro	Intacto	5	10.7 \pm 1.1	10.6 \pm 1.5	21.3 \pm 2.6	163.0 \pm 15.0
	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6	165.0 \pm 11.1

*p<0.05 vs. Intacto (prueba de "t" de Student). M.C. = Masa corporal.

Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con sección unilateral del Nervio Ovárico Superior

En los animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1, Proestro y Estro se observó ovulación solo en el 42.9% de ellos; cuando se considera el ovario izquierdo, mientras que la sección del NOS derecho en el Diestro-1 se tradujo en 28.6% de animales ovulantes y en el Proestro 42.9%; cuando se considera el ovario derecho, respecto a su grupo control respectivo (Gráfica 2).

La sección del NOS izquierdo en Diestro-1 resulta en menor número de ovocitos liberados por el ovario derecho, lo que refleja el menor número de ovocitos cuando se considera la suma de los liberados por el ovario izquierdo y derecho respecto a su grupo control respectivo (Gráfica 3). La sección del NOS derecho causa la liberación de solo 1 y 4 ovocitos por cada uno de los dos animales que liberaron su ovocito por el ovario derecho, lo que se refleja en el menor número de ovocitos liberados cuando se consideran a ambos ovarios (Gráfica 3).

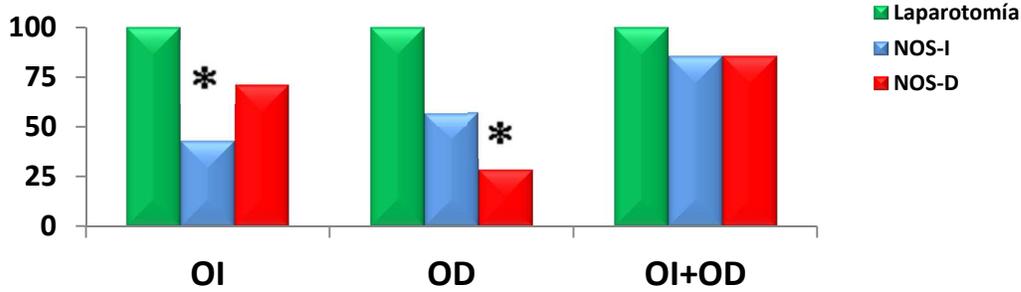
Los animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1 presentaron menor masa de los órganos cuantificados en relación a la registrada en los animales con laparotomía (Cuadros 3 y 4). En aquellos con sección del NOS derecho aumentó la masa de los ovarios en relación a la de los animales con sección del NOS izquierdo (Cuadro 3), pero presentaron menor masa de las adrenales y del útero respecto a la observada en animales control. Las masas de las adrenales y del útero son mayores cuando se comparan con lo observado en animales con sección del NOS izquierdo (Cuadro 4).

En el Diestro-2, la sección unilateral del NOS resultó en menor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo, lo que contrasta con el aumento en el número de ovocitos liberados por el ovario derecho (Gráfica 3). En estos animales se presentó mayor masa de los ovarios (Cuadros 3 y 4).

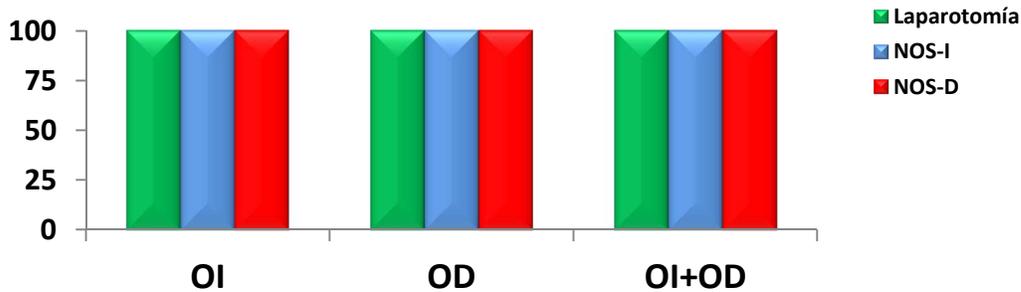
En el Proestro, ambas secciones del NOS se tradujeron en menor número de ovocitos liberados por los ovarios respecto a la de sus grupos control respectivos (Gráfica 3). En los animales que tenían sección del NOS izquierdo se observó aumento de la masa del ovario izquierdo, que se reflejó en la masa de la suma de ambos ovarios, y disminución de la masa del útero. En aquellos con sección del NOS derecho se registró menor masa corporal, y aumento de la masa del ovario derecho y la adrenal derecha, con aumento consecutivo de la masa adrenal (Cuadros 3 y 4).

Solo los animales con sección del NOS-I en el Estro liberaron mayor número de ovocitos por el ovario izquierdo respecto a la de su grupo control (Gráfica 3). Los tratamientos resultaron en disminución de la masa corporal y aumento de la masa de los ovarios (Cuadro 3). La sección del NOS izquierdo se tradujo en aumento de la masa de la adrenal izquierda, lo que se refleja en la masa de ambas adrenales (Cuadro 4).

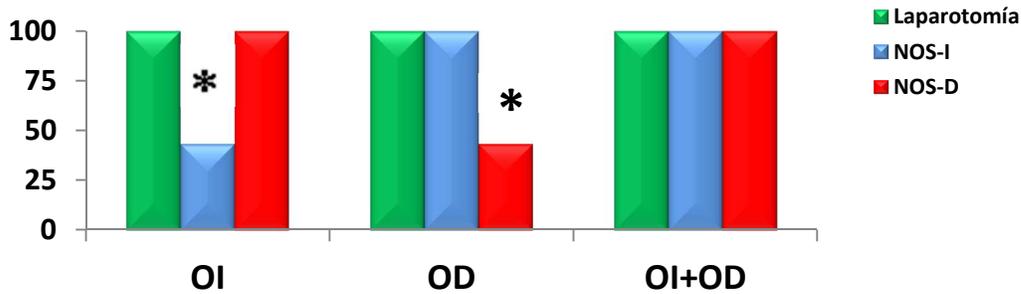
Diestro-1



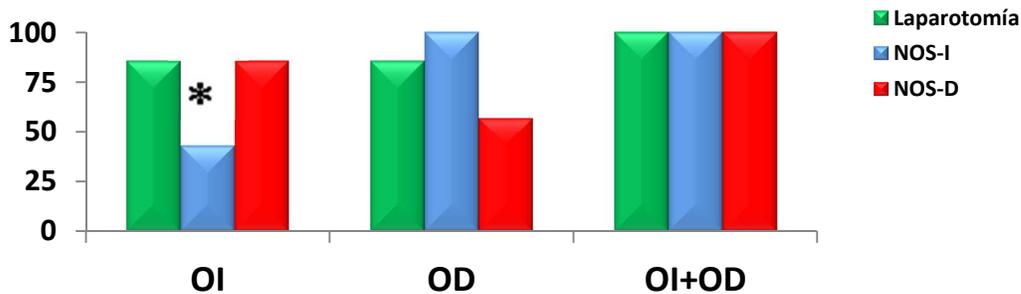
Diestro-2



Proestro

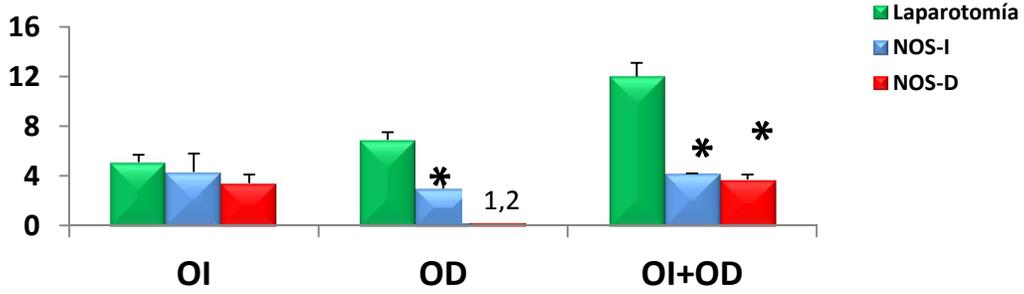


Estro

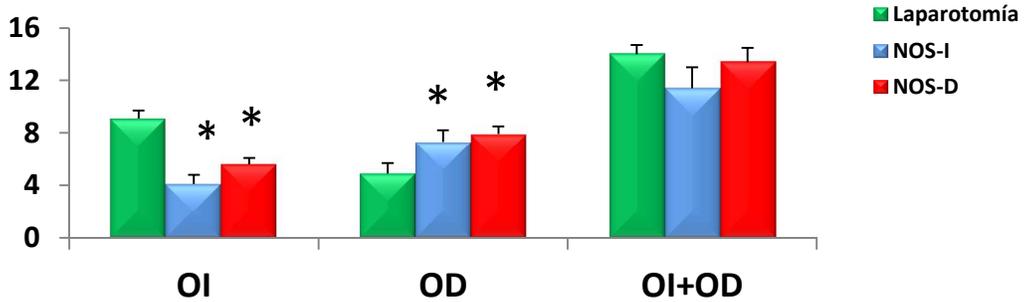


Gráfica 2: Porcentaje de animales ovulantes en animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal. *p<0.05 vs. Laparotomía (prueba de probabilidad exacta de Fisher). OI=ovario izquierdo, OD=ovario derecho, OI+OD=suma de ambos ovarios, NOS-I=Nervio Ovárico Superior Izquierdo, NOS-D=Nervio Ovárico Superior Derecho.

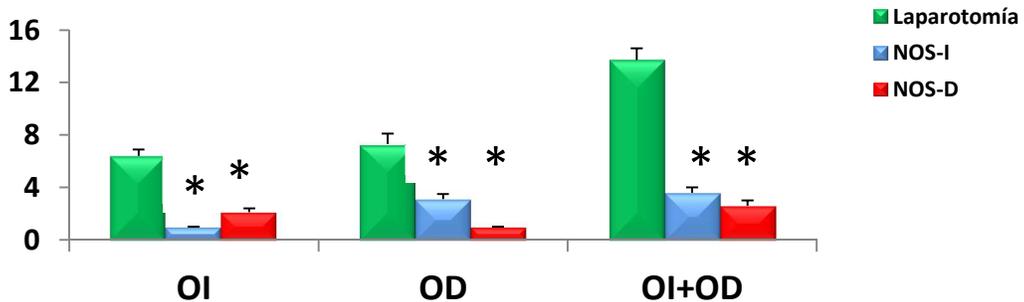
Diestro-1



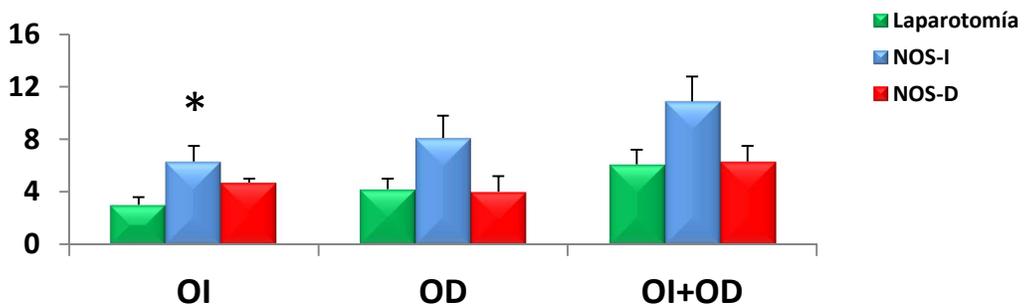
Diestro-2



Proestro



Estro



Gráfica 3: Media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral.*p<0.05 vs. Laparotomía (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). OI=ovario izquierdo, OD=ovario derecho, OI+OD=suma de ambos ovarios, NOS-I=Nervio Ovárico Superior Izquierdo, NOS-D=Nervio Ovárico Superior Derecho.

Cuadro 3: Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y de los órganos (mg/100 g M.C.) de los animales con laparotomía o sección unilateral del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal	Ovario izquierdo	Ovario Derecho	Masa ovárica
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0	26.2 \pm 2.3	25.6 \pm 1.5	51.8 \pm 3.1
	NOS-I	7	202.4 \pm 9.7*	15.0 \pm 1.2*	14.1 \pm 0.9*	29.2 \pm 1.7*
	NOS-D	7	132.6 \pm 8.0▲	23.1 \pm 2.4▲	23.7 \pm 1.4▲	47.6 \pm 3.1▲
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	8.6 \pm 0.6	9.9 \pm 0.6	18.5 \pm 1.1
	NOS-I	7	209.3 \pm 4.8*	15.0 \pm 0.8*	15.3 \pm 1.3*	30.3 \pm 2.1*
	NOS-D	7	216.4 \pm 1.7	14.2 \pm 0.9*	13.9 \pm 0.9	28.1 \pm 1.3*
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	11.4 \pm 0.6	12.6 \pm 0.8	24.0 \pm 1.1
	NOS-I	7	214.7 \pm 10.0	17.7 \pm 1.7*	15.1 \pm 1.3	32.8 \pm 2.8*
	NOS-D	7	198.7 \pm 8.6*	14.7 \pm 1.2	17.7 \pm 1.7*	32.3 \pm 2.7
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	15.3 \pm 1.4	14.3 \pm 1.4	29.7 \pm 2.7
	NOS-I	7	160.6 \pm 13.9*	22.5 \pm 2.2*	20.2 \pm 1.9	42.7 \pm 3.9*
	NOS-D	7	152.4 \pm 13.7*	22.0 \pm 1.6*	21.9 \pm 2.3*	44.0 \pm 3.9*

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs NOS-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-D = Nervio Ovárico Superior derecho.

Cuadro 4: Media \pm e.e.m. de la masa de los órganos (mg/100 g M.C.) de animales con laparotomía ventral o sección unilateral del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 horas en cada etapa del ciclo estral que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda	Adrenal Derecha	Masa adrenal	Útero
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2	271.6 \pm 12.1
	NOS-I	7	12.5 \pm 1.0*	12.8 \pm 0.9*	25.3 \pm 1.8*	122.1 \pm 11.0*
	NOS-D	7	20.6 \pm 1.3*▲	18.4 \pm 1.2*▲	39.0 \pm 2.3*▲	196.4 \pm 11.3*▲
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4	159.0 \pm 8.8
	NOS-I	7	11.9 \pm 0.8	10.6 \pm 0.7	22.5 \pm 1.2	139.5 \pm 10.7
	NOS-D	7	11.9 \pm 0.8	13.6 \pm 0.9▲	25.5 \pm 1.1	122.7 \pm 13.1
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8	164.4 \pm 15.2
	NOS-I	7	12.4 \pm 0.8	10.6 \pm 1.1	23.0 \pm 1.9	126.6 \pm 8.2*
	NOS-D	7	14.9 \pm 1.4	16.0 \pm 1.4*▲	30.9 \pm 2.6*▲	165.7 \pm 13.7▲
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6	165.0 \pm 11.1
	NOS-I	7	16.4 \pm 1.6	16.1 \pm 1.3	32.5 \pm 2.6	141.4 \pm 14.3
	NOS-D	7	18.1 \pm 1.3*	16.7 \pm 1.4	34.8 \pm 2.5*	192.4 \pm 12.8▲

*p<0.05 vs. Laparotomía; ▲ p>0.05 vs. grupo con NOS-I. M.C. = Masa corporal. NOS-I= Sección del Nervio Ovárico Superior Izquierdo, NOS-D= Sección del Nervio Ovárico Superior Derecho.

Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovariectomía unilateral

La ovariectomía izquierda en el Diestro-1 resultó en bloqueo de la ovulación en el 85.7% de los animales (Gráfica 4) y disminución en la masa corporal y de los órganos evaluados respecto a lo observado en los animales sometidos a la laparotomía ventral (Cuadros 5 y 6). A diferencia de ello, en los animales con ovariectomía derecha se observó menor masa corporal, del útero y las adrenales (Cuadros 5 y 6).

En la etapa del Diestro-2, se observó aumento en el número de ovocitos liberados cuando se realizó la ovariectomía izquierda; sin alteraciones en el porcentaje de animales ovulantes (Gráfica 4) o la masa corporal y de los órganos evaluados respecto a la de los animales con laparotomía (Cuadros 3-4). La ovariectomía derecha solo resultó en aumento de la masa del ovario *in situ* (Cuadros 3-4).

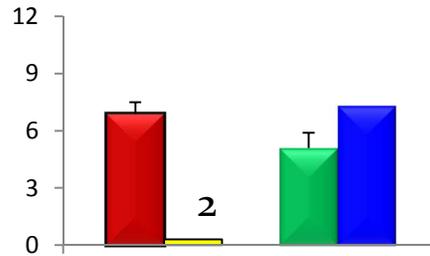
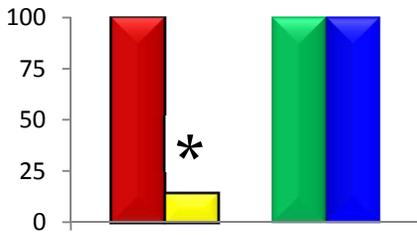
La respuesta ovulatoria o la masa corporal de los órganos evaluados no se observó alterada al realizar la ovariectomía unilateral en el día del Proestro en comparación con la de los animales sometidos a la laparotomía (Gráfica 4 y Cuadros 5 y 6).

Cuando se extirpó el ovario izquierdo o derecho en el día del Estro, se observó aumento en el número de ovocitos liberados sin alteraciones en la tasa de animales ovulantes, respecto a lo registrado en animales con laparotomía (Gráfica 4). Este resultado se acompañó de menor masa del útero en animales con el ovario izquierdo *in situ* y menor masa de las adrenales en aquellos con el ovario derecho *in situ* en relación a los datos de sus animales control (Cuadros 5 y 6).

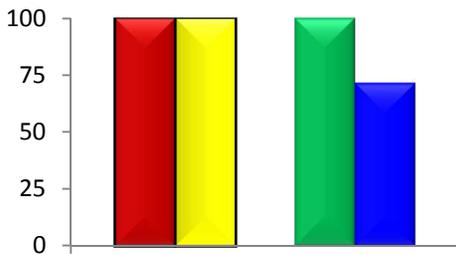
% de Animales Ovulantes

Número de ovocitos liberados

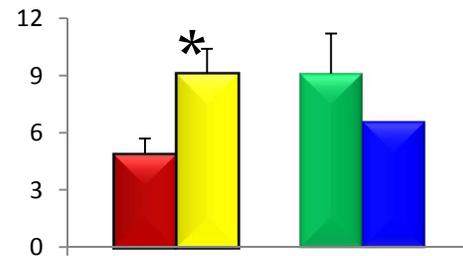
Diestro-1



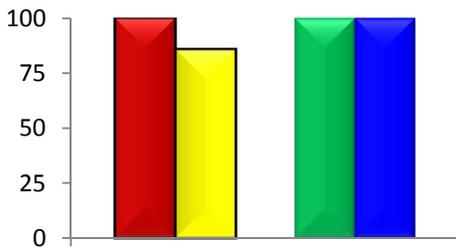
Diestro-2



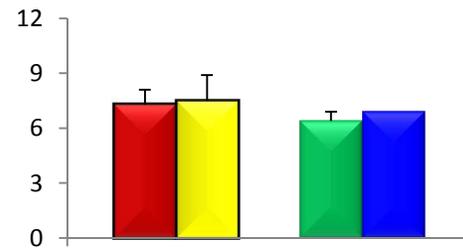
Diestro-2



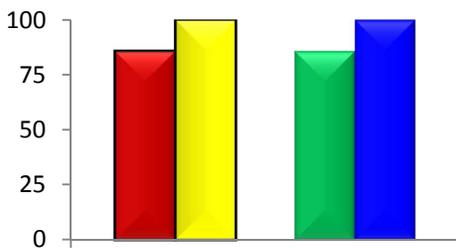
Proestro



Proestro



Estro



Estro



Gráfica 4: Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía u ovariectomía unilateral a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral. * $p < 0.005$ vs Laparotomía (prueba de probabilidad exacta de Fisher); * $p < 0.05$ vs laparotomía (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). OD= ovario derecho, OI=ovario izquierdo, Ovx-I = ovariectomía izquierda, Ovx-D = ovariectomía derecha. Laparotomía (ovario derecho) ■ Ovx-I (ovario derecho *in situ*) ■ Laparotomía (ovario izquierdo) ■ Ovx-D (ovario izquierdo *in situ*) ■

Cuadro 5: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía o con ovariectomía unilateral a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario Izquierdo (mg/100 g M.C.)	Ovario Derecho (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0*	26.2 \pm 2.3	25.6 \pm 1.5	271.6 \pm 12.1
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	219.4 \pm 7.5*		12.5 \pm 1.3*	120.0 \pm 7.2*
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	217.6 \pm 6.9*	31.0 \pm 2.3		151.9 \pm 6.2*
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	8.6 \pm 0.6	9.9 \pm 0.6	159.0 \pm 8.8
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	250.1 \pm 8.7		18.5 \pm 4.8	156.9 \pm 6.2
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	223.6 \pm 6.7▲	16.5 \pm 1.8*		198.6 \pm 31.7
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	11.4 \pm 0.6	12.6 \pm 0.8	164.4 \pm 15.2
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	231.3 \pm 2.5		15.1 \pm 1.4	144.1 \pm 7.6
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	217.0 \pm 5.1	16.6 \pm 2.7		143.5 \pm 9.0
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	15.3 \pm 1.4	14.3 \pm 1.4	165.0 \pm 11.1
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	230.3 \pm 4.6		13.8 \pm 0.6	134.1 \pm 8.8
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	225.0 \pm 3.4	16.0 \pm 0.9		132.4 \pm 6.5*

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs grupo con Ovx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-I= ovariectomía izquierda, Ovx-D = ovariectomía derecha.

Cuadro 6: Media \pm e.e.m. de la masa de las adrenales de los animales con laparotomía o con ovariectomía unilateral a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	12.6 \pm 0.3*	10.6 \pm 0.5*	23.2 \pm 0.5*
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	11.9 \pm 0.6*	11.8 \pm 0.6*	23.7 \pm 1.1*
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	12.2 \pm 0.6	11.0 \pm 0.7	23.2 \pm 1.2
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	10.8 \pm 0.6	10.5 \pm 0.4	21.3 \pm 0.9
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	11.4 \pm 0.4	11.3 \pm 0.8	22.7 \pm 0.8
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	11.7 \pm 1.1	11.4 \pm 0.7	23.1 \pm 1.7
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6
	Ovx-I (OD <i>in situ</i>)	7	11.1 \pm 0.4*	10.4 \pm 0.6*	21.6 \pm 0.8*
	Ovx-D (OI <i>in situ</i>)	7	11.8 \pm 0.6	11.3 \pm 0.3	23.2 \pm 0.9

* $p < 0.05$ vs laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-I = ovariectomía izquierda, Ovx-D = ovariectomía derecha.

Respuesta ovulatoria y masa de los órganos de los animales con ovario izquierdo *in situ* denervado

En los animales con sección del NOS izquierdo y ovariectomía derecha (NOS-I+Ovx-D, ovario izquierdo *in situ* denervado) en el Diestro-1 no se alteró la ovulación (Gráfica 5), pero en aquellos sometidos a la operación inversa (Ovx-D+NOS-I) presentaron bloqueo del 100% de la ovulación respecto a sus grupos control (Gráfica 6).

En la etapa del Diestro-2 no se observaron cambios, independientemente del orden en que se realizaron las cirugías respecto a los grupos control. La NOS-I+Ovx-D en el día del Proestro resultó en la misma respuesta que el grupo con NOS-I (Gráfica 5), pero la operación inversa (Ovx-D+NOS-I) resultó en la misma respuesta que se observó en Diestro-1; bloqueo de la ovulación (Gráfica 6). Todas las ratas con NOS-I+Ovx-D en el día del Estro ovularon, pero cuando fueron sometidas a la operación inversa (Ovx-D+NOS-I), solo 2/7 animales ovularon (Gráfica 6).

Los animales con NOS-I+Ovx-D o con Ovx-D+NOS-I en Diestro-1 presentaron los mismos cambios en la masa de los órganos respecto a la registrada en los animales con solo la NOS-I o la Ovx-D, respectivamente, aun cuando aumentó la masa corporal en animales con NOS-I+Ovx-D (Cuadros 7-10).

En la etapa del Diestro-2, la NOS-I+Ovx-D resultó en aumento de la masa corporal, respecto a sus grupos control (Cuadros 7). La masa del ovario izquierdo *in situ* denervado fue semejante a la del ovario izquierdo *in situ* inervado, pero la masa del útero presentó disminución respecto a la de sus grupos control (Cuadro 7); sin cambios en la masa adrenal (Cuadro 8). En contraste, la Ovx-D+NOS-I se tradujo en menor masa corporal respecto a la de sus grupos control (Cuadro 9), pero aumentó la masa del ovario izquierdo *in situ* y de las adrenales respecto a sus grupos control (Cuadros 9 y 10).

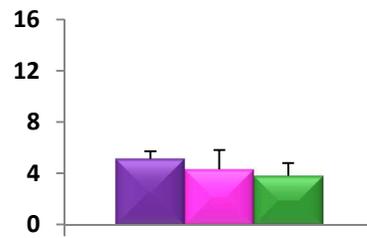
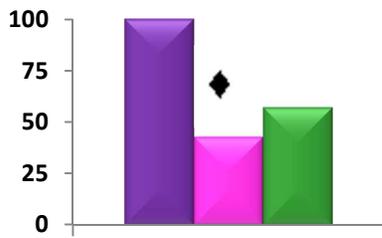
En el Proestro, la masa del ovario izquierdo *in situ* denervado (NOS-I+Ovx-D) fue menor que la del ovario izquierdo inervado (NOS-I) (Cuadro 7), mientras que la masa del útero y de las adrenales fue similar a la de los animales con el ovario izquierdo *in situ* inervado (Cuadros 7 y 8). A diferencia de ello, en los animales sometidos a la operación inversa, Ovx-D+NOS-I, no presentaron alteraciones en la masa de sus órganos respecto a la de sus grupos control (Cuadros 9 y 10).

En el Estro, la NOS-I+Ovx-D resultó en aumento de la masa corporal y disminución de la masa del ovario *in situ* y de las adrenales respecto a la registrada en animales con NOS-I (Cuadros 7 y 8). Por el contrario, en aquellos sometidos a la operación inversa, Ovx-D+NOS-I, no se observaron alteraciones de los parámetros evaluados (Cuadros 9 y 10).

% de animales ovulantes

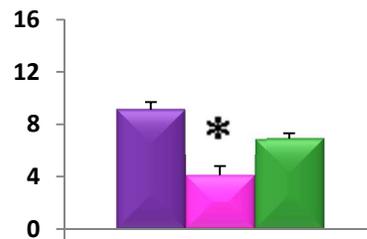
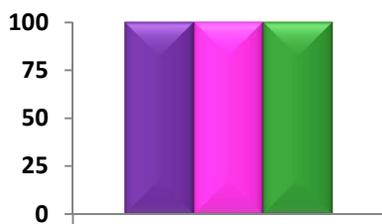
Número de ovocitos liberados

Diestro-1



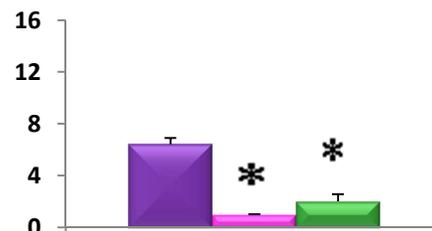
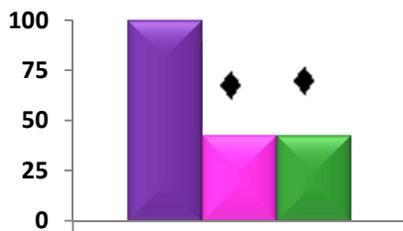
■ Laparotomía
■ NOS-I
■ NOS-I+Ovx-D

Diestro-2



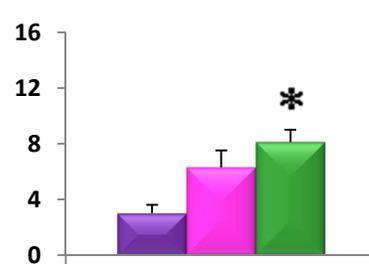
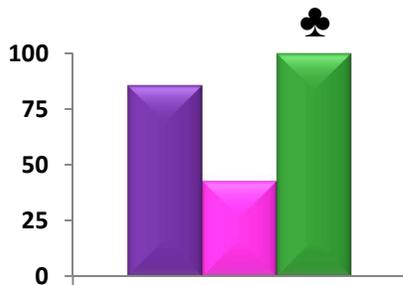
■ Laparotomía
■ NOS-I
■ NOS-I+Ovx-D

Proestro



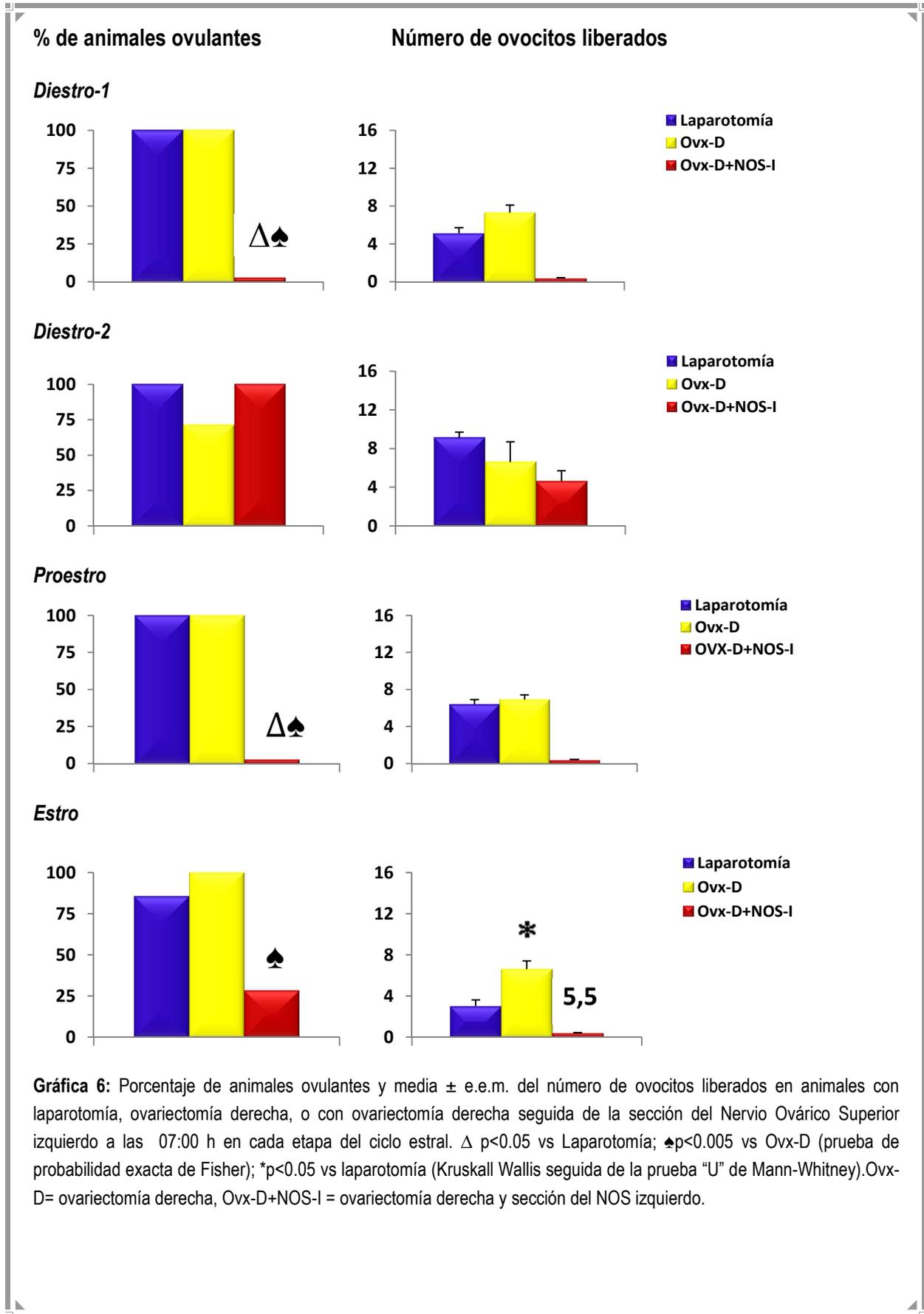
■ Laparotomía
■ NOS-I
■ NOS-I+Ovx-D

Estro



■ Laparotomía
■ NOS-I
■ NOS-I+Ovx-D

Gráfica 5: Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía, sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo con o sin ovariectomía derecha a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral. ♦ $p < 0.005$ vs Laparotomía; ♣ $p < 0.05$ vs NOS-I (prueba de probabilidad exacta de Fisher); * $p < 0.05$ vs laparotomía (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). NOS-I= sección del NOS izquierdo, NOS-I+Ovx-D = sección del NOS izquierdo y ovariectomía derecha.



Gráfica 6: Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía, ovariectomía derecha, o con ovariectomía derecha seguida de la sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral. Δ $p < 0.05$ vs Laparotomía; \spadesuit $p < 0.005$ vs Ovx-D (prueba de probabilidad exacta de Fisher); * $p < 0.05$ vs laparotomía (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). Ovx-D= ovariectomía derecha, Ovx-D+NOS-I = ovariectomía derecha y sección del NOS izquierdo.

Cuadro 7: Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y de los órganos (mg/100 g M.C.) de los animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo seguida o no de la ovariectomía derecha a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapas del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario Izquierdo (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0	26.2 \pm 2.3	271.6 \pm 12.1
	NOS-I	7	203.7 \pm 9.3*	15.0 \pm 1.2*	122.1 \pm 11.0*
	NOS-I+Ovx-D	7	233.3 \pm 4.3*▲	14.0 \pm 0.5*	106.3 \pm 7.7*
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	8.6 \pm 0.6	159.0 \pm 8.8
	NOS-I	7	209.3 \pm 4.8	15.0 \pm 0.8*	139.5 \pm 10.7
	NOS-I+Ovx-D	7	252.1 \pm 7.9*▲	13.1 \pm 0.8*	101.2 \pm 3.9*▲
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	11.4 \pm 0.6	164.4 \pm 15.2
	NOS-I	7	214.7 \pm 10.0	17.7 \pm 1.7*	126.6 \pm 8.2*
	NOS-I+Ovx-D	7	222.1 \pm 4.0	10.7 \pm 1.4▲	96.5 \pm 1.5*
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	15.3 \pm 1.4	165.0 \pm 11.1
	NOS-I	7	160.6 \pm 13.9*	22.5 \pm 2.2*	141.4 \pm 14.3
	NOS-I+Ovx-D	7	229.3 \pm 5.1▲	14.5 \pm 1.0▲	143.5 \pm 5.5

* $p < 0.05$ vs laparotomía; ▲ $p < 0.05$ vs grupo con NOS-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-I+Ovx-D = sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo y ovariectomía derecha.

Cuadro 8: Media \pm e.e.m. de la masa de las adrenales de los animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo seguida o no de la ovariectomía derecha a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificadas a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2
	NOS-I	7	11.9 \pm 0.6*	11.8 \pm 0.6*	23.7 \pm 1.1*
	NOS-I+Ovx-D	7	12.8 \pm 1.0*	11.5 \pm 0.6*	24.3 \pm 1.5*
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4
	NOS-I	7	11.9 \pm 0.8	10.6 \pm 0.7	22.5 \pm 1.2
	NOS-I+Ovx-D	7	9.9 \pm 0.7	9.2 \pm 0.6	19.1 \pm 1.1
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8
	NOS-I	7	12.4 \pm 0.8	10.6 \pm 1.1	23.0 \pm 1.9
	NOS-I+Ovx-D	7	12.0 \pm 1.1	11.5 \pm 1.5	23.5 \pm 2.3
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6
	NOS-I	7	16.4 \pm 1.6	16.1 \pm 1.3	32.5 \pm 2.6
	NOS-I+Ovx-D	7	10.8 \pm 0.6▲	11.4 \pm 0.8▲	22.2 \pm 1.2▲

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs NOS-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, NOS-I = Nervio Ovárico Superior izquierdo, NOS-I+Ovx-D = sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo y ovariectomía derecha.

Cuadro 9: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía o con ovariectomía derecha seguida o no de la sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapas del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario Izquierdo (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0	26.2 \pm 2.3	271.6 \pm 12.1
	Ovx-D	7	217.6 \pm 6.9*	14.3 \pm 1.0*	151.9 \pm 6.2*
	Ovx-D+NOS-I	7	224.1 \pm 4.7*	15.4 \pm 0.6*	124.5 \pm 16.3*
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	8.6 \pm 0.6	159.0 \pm 8.8
	Ovx-D	7	223.6 \pm 6.7	16.5 \pm 1.8*	159.0 \pm 8.8
	Ovx-D+NOS-I	7	135.9 \pm 16.8*▲	32.0 \pm 2.8*▲	198.6 \pm 31.7
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	11.4 \pm 0.6	164.4 \pm 15.2
	Ovx-D	7	217.0 \pm 5.1	16.6 \pm 2.7	143.5 \pm 9.0
	Ovx-D+NOS-I	7	218.0 \pm 3.6	15.6 \pm 1.6	160.5 \pm 17.7
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	15.3 \pm 1.4	165.0 \pm 11.1
	Ovx-D	7	225.0 \pm 3.4	16.0 \pm 0.9	132.4 \pm 6.5
	Ovx-D+NOS-I	7	226.9 \pm 7.4	12.6 \pm 0.4	118.4 \pm 9.5*

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs grupo con Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-D = Ovariectomía derecha, Ovx-D+NOS-I = ovariectomía derecha y sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo.

Cuadro 10: Media \pm e.e.m. de la masa de las adrenales de los animales con laparotomía o con ovariectomía derecha seguida o no de la sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2
	Ovx-D	7	11.9 \pm 0.6*	11.8 \pm 0.6*	23.7 \pm 1.1*
	Ovx-D+NOS-I	7	12.8 \pm 1.0*	11.5 \pm 0.6*	24.3 \pm 1.5*
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4
	Ovx-D	7	10.8 \pm 0.6	10.5 \pm 0.4	21.3 \pm 0.9
	Ovx-D+NOS-I	7	18.0 \pm 1.6*▲	16.8 \pm 0.8*▲	34.8 \pm 2.0*▲
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8
	Ovx-D	7	11.7 \pm 1.1	11.4 \pm 0.7	23.1 \pm 1.7
	Ovx-D+NOS-I	7	12.3 \pm 0.8	12.0 \pm 0.9	24.3 \pm 1.7
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6
	Ovx-D	7	11.8 \pm 0.6	11.3 \pm 0.3	23.2 \pm 0.9
	Ovx-D+NOS-I	7	11.6 \pm 0.7	10.7 \pm 0.9	22.3 \pm 1.4

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs grupo con Ovx-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-D = Ovariectomía derecha, Ovx-D+NOS-I = ovariectomía derecha y sección del Nervio Ovárico Superior izquierdo.

Respuesta ovulatoria y peso de los órganos de los animales con ovario derecho in situ denervado

Como se observa en las Gráficas 7 y 8, en el día del Diestro-1, la función ovulatoria se bloqueó al 100% ya que al someter a los animales a la sección del NOS derecho seguida o no de la ovariectomía izquierda (Ovx-I) o la Ovx-I seguida o no de la NOS-D se observó disminución drástica en los dos parámetros evaluados en relación a los animales con laparotomía. En el Diestro-2, la NOS-D+Ovx-I resultó en aumento del número de ovocitos liberados respecto al grupo con laparotomía (Gráfica 7).

En el Proestro, la denervación del ovario izquierdo resultó en la misma respuesta ovulatoria que en el ovario izquierdo inervado (Gráfica 7), mientras que la Ovx-I+NOS-D se tradujo en disminución del porcentaje de animales que ovulan y en el número de ovocitos liberados por ellos respecto al grupo con laparotomía (Gráfica 8). En el Estro, la NOS-D+Ovx-I resultó en aumento del número de ovocitos liberados respecto a sus grupos control (Gráfica 7), mientras que en los sometidos a la operación inversa, Ovx-I+NOS-D, se presentó el mismo resultado que los animales con el ovario derecho inervado (Gráfica 8).

La masa corporal de los animales con NOS-D+Ovx-I o con Ovx-I+NOS-D en el Diestro-1 presentó aumento respecto a la de los grupos control (Cuadros 11-14). En los animales con NOS-D+Ovx-I se presentó menor masa de los órganos cuantificados en relación a la observada en sus grupos control (Cuadros 11 y 12), mientras que en el grupo con Ovx-I+NOS-D se presentó aumento de la masa del ovario denervado en relación a la del ovario inervado (Cuadro 13).

En el Diestro-2, la NOS-D+Ovx-I resultó en aumento de la masa corporal y de la masa del ovario derecho respecto a sus grupos control (Cuadro 11), pero disminución en la masa adrenal derecha (Cuadro 12). La operación inversa se tradujo en aumento de la masa corporal respecto a la del grupo con Ovx-I y aumento de la masa del ovario respecto a la registrada por el ovario derecho inervado (Cuadro 13).

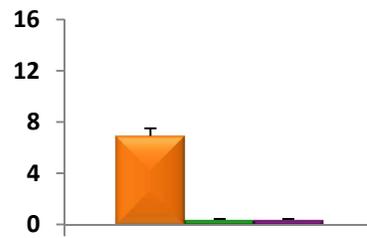
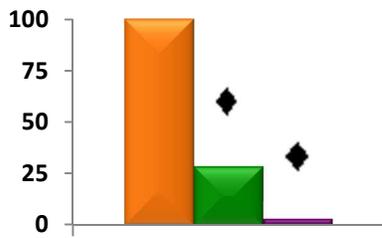
En el Proestro, la eliminación del aporte neural seguido del hormonal se tradujo en aumento de la masa corporal, pero disminución de la masa de los órganos evaluados, respecto a la observada en los animales con NOS-D (Cuadros 11 y 12). La operación inversa dio como resultado menor masa del útero respecto a sus controles (Cuadros 13 y 14).

En el Estro, en los animales con NOS-D+Ovx-I se presentó aumento de la masa corporal, pero disminución de la masa de los órganos evaluados respecto a la observada en el grupo con NOS-D (Cuadros 11 y 12). A diferencia de ello, la operación inversa resultó en menor masa de la adrenal izquierda y de la masa adrenal total respecto al grupo con laparotomía (Cuadros 13 y 14).

% de animales ovulantes

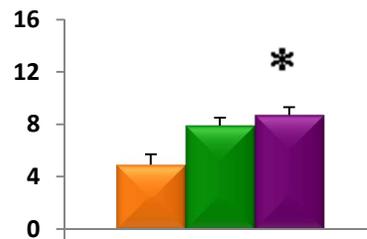
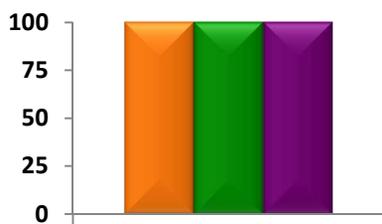
Número de ovocitos liberados

Diestro-1



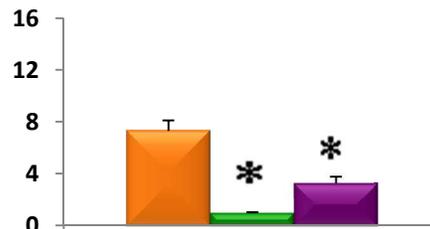
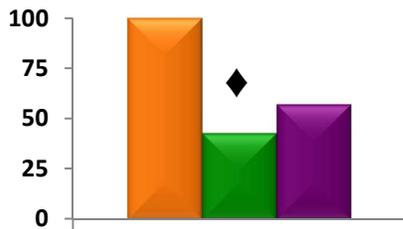
■ Laparotomía
■ NOS-D
■ NOS-D+Ovx-I

Diestro-2



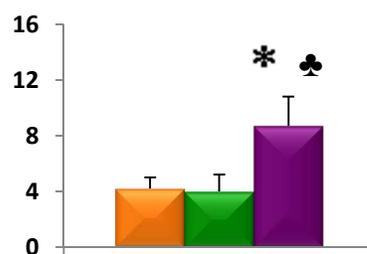
■ Laparotomía
■ NOS-D
■ NOS-D+Ovx-I

Proestro



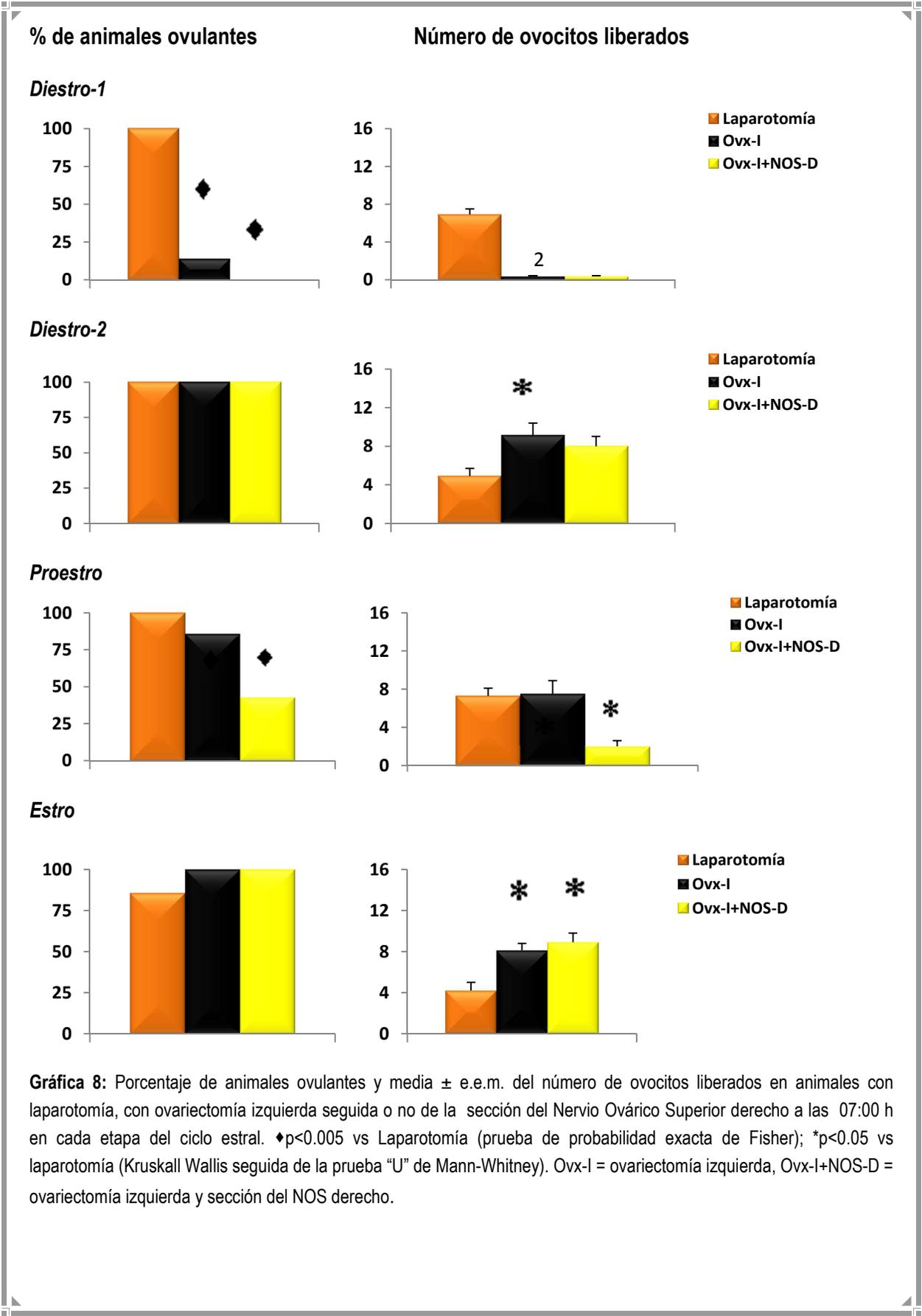
■ Laparotomía
■ NOS-D
■ NOS-D+Ovx-I

Estro



■ Laparotomía
■ NOS-D
■ NOS-D+Ovx-I

Gráfica 7: Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior derecho con o sin ovariectomía izquierda a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral. ♦ $p < 0.005$ vs Laparotomía (prueba de probabilidad exacta de Fisher); * $p < 0.05$ vs laparotomía, ♣ $p < 0.05$ vs NOS-D (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). NOS-D = sección del NOS derecho, NOS-D+Ovx-I = sección del NOS izquierdo y ovariectomía izquierda.



Gráfica 8: Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía, con ovariectomía izquierda seguida o no de la sección del Nervio Ovárico Superior derecho a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral. \blacklozenge $p < 0.005$ vs Laparotomía (prueba de probabilidad exacta de Fisher); * $p < 0.05$ vs laparotomía (Kruskall Wallis seguida de la prueba "U" de Mann-Whitney). Ovx-I = ovariectomía izquierda, Ovx-I+NOS-D = ovariectomía izquierda y sección del NOS derecho.

Cuadro 11: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior derecho seguida o no de la ovariectomía izquierda a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapas del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario derecho (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0	25.6 \pm 1.5	271.6 \pm 12.1
	NOS-D	7	132.6 \pm 8.0	23.7 \pm 1.4	196.4 \pm 11.3*
	NOS-D+Ovx-I	7	239.7 \pm 3.8*▲	13.9 \pm 0.9*▲	127.9 \pm 6.1*▲
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	9.9 \pm 0.6	159.0 \pm 8.8
	NOS-D	7	216.4 \pm 1.7	13.9 \pm 0.9*	122.7 \pm 13.1*
	NOS-D+Ovx-I	7	254.0 \pm 10.1*▲	19.0 \pm 0.8*▲	132.0 \pm 5.1
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	12.6 \pm 0.8	164.4 \pm 15.2
	NOS-D	7	198.7 \pm 8.6*	17.7 \pm 1.7*	165.7 \pm 13.7*
	NOS-D+Ovx-I	7	227.4 \pm 3.9▲	12.6 \pm 0.7▲	94.6 \pm 1.5▲
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	14.3 \pm 1.4	165.0 \pm 11.1
	NOS-D	7	152.4 \pm 13.7*	21.9 \pm 2.3*	192.4 \pm 12.8
	NOS-D+Ovx-I	7	236.4 \pm 7.8▲	16.8 \pm 1.0	139.5 \pm 8.0▲

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs grupo con NOS-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, NOS-D = sección del Nervio Ovárico Superior derecho, NOS-D+Ovx-I = sección del Nervio Ovárico Superior derecho y ovariectomía izquierda.

Cuadro 12: Media \pm e.e.m. de la masa de las adrenales de los animales con laparotomía o sección del Nervio Ovárico Superior derecho seguida o no de la ovariectomía izquierda a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 07:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapa del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2
	NOS-D	7	20.6 \pm 1.3*	18.4 \pm 1.2*	39.0 \pm 2.3*
	NOS-D+Ovx-I	7	10.7 \pm 0.8*▲	10.4 \pm 1.0*▲	21.1 \pm 1.7*▲
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4
	NOS-D	7	11.9 \pm 0.8	13.6 \pm 0.9	25.5 \pm 1.1
	NOS-D+Ovx-I	7	11.0 \pm 0.6	10.4 \pm 0.6▲	21.4 \pm 1.2
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8
	NOS-D	7	14.9 \pm 1.4	16.0 \pm 1.4*	30.9 \pm 2.6*
	NOS-D+Ovx-I	7	11.2 \pm 0.8▲	10.7 \pm 0.7▲	21.9 \pm 1.4▲
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6
	NOS-D	7	18.1 \pm 1.3*	16.7 \pm 1.4*	34.8 \pm 2.5*
	NOS-D+Ovx-I	7	10.2 \pm 0.5▲	8.3 \pm 0.5*▲	18.6 \pm 0.8*▲

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs NOS-D (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, NOS-I = sección del Nervio Ovárico Superior derecho, NOS-D+Ovx-I = sección del Nervio Ovárico Superior derecho y ovariectomía izquierda.

Cuadro 13: Media \pm e.e.m. de la masa corporal y de los órganos de los animales con laparotomía o con ovariectomía izquierda seguida o no de la sección del Nervio Ovárico Superior derecho a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 7:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapas del ciclo estral	Tratamiento	n	Masa Corporal (g)	Ovario Derecho (mg/100 g M.C.)	Útero (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	129.0 \pm 7.0	25.6 \pm 1.5	271.6 \pm 12.1
	Ovx-I	7	219.4 \pm 7.5*	12.5 \pm 1.3*	120.0 \pm 7.2*
	Ovx-I+NOS-D	7	231.4 \pm 2.9*	20.4 \pm 0.8*▲	119.8 \pm 10.5*
Diestro-2	Laparotomía	7	230.1 \pm 3.9	9.9 \pm 0.6	159.0 \pm 8.8
	Ovx-I	7	250.1 \pm 8.7	18.5 \pm 4.8	156.9 \pm 6.2
	Ovx-I+NOS-D	7	225.3 \pm 3.4▲	21.1 \pm 1.4*	160.3 \pm 2.6
Proestro	Laparotomía	7	232.7 \pm 7.5	12.6 \pm 0.8	164.4 \pm 15.2
	Ovx-I	7	231.3 \pm 2.5	15.1 \pm 1.4	144.1 \pm 7.6
	Ovx-I+NOS-D	7	226.1 \pm 3.6	12.6 \pm 1.0*▲	104.2 \pm 6.2*▲
Estro	Laparotomía	7	212.0 \pm 12.4	14.3 \pm 1.4	165.0 \pm 11.1
	Ovx-I	7	230.3 \pm 4.6	13.8 \pm 0.6	134.1 \pm 8.8
	Ovx-I+NOS-D	7	231.4 \pm 6.3	16.7 \pm 0.4	129.2 \pm 12.1

*p<0.05 vs laparotomía; ▲ p<0.05 vs grupo con Ovx-I (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-I= ovariectomía izquierda, Ovx-I+NOS-D = ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS derecho.

Cuadro 14: Media \pm e.e.m. de la masa de las adrenales de los animales con laparotomía o con ovariectomía izquierda seguida o no de la sección del Nervio Ovárico Superior derecho a las 7:00 h en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 7:00 h en el día del estro vaginal después de la cirugía.

Etapas del ciclo estral	Tratamiento	n	Adrenal Izquierda (mg/100 g M.C.)	Adrenal Derecha (mg/100 g M.C.)	Masa adrenal (mg/100 g M.C.)
Diestro-1	Laparotomía	7	25.3 \pm 1.4	24.2 \pm 1.0	49.6 \pm 2.2
	Ovx-l	7	12.6 \pm 0.3*	10.6 \pm 0.5*	23.2 \pm 0.5*
	Ovx-l+NOS-D	7	11.0 \pm 0.4*	10.5 \pm 0.7*	21.5 \pm 0.7*
Diestro-2	Laparotomía	7	11.7 \pm 0.7	11.5 \pm 0.8	23.2 \pm 1.4
	Ovx-l	7	12.2 \pm 0.6	11.0 \pm 0.7	23.2 \pm 1.2
	Ovx-l+NOS-D	7	11.1 \pm 0.6	10.4 \pm 0.8	21.4 \pm 1.3
Proestro	Laparotomía	7	11.4 \pm 0.6	10.4 \pm 0.4	21.8 \pm 0.8
	Ovx-l	7	11.4 \pm 0.4	11.3 \pm 0.8	22.7 \pm 0.8
	Ovx-l+NOS-D	7	12.3 \pm 0.5	10.6 \pm 0.5	22.9 \pm 0.9
Estro	Laparotomía	7	13.4 \pm 0.7	13.0 \pm 1.0	26.4 \pm 1.6
	Ovx-l	7	11.1 \pm 0.4*	10.4 \pm 0.6	21.6 \pm 0.8*
	Ovx-l+NOS-D	7	10.4 \pm 0.8*	10.8 \pm 0.7	21.2 \pm 1.2*

*p<0.05 vs laparotomía (ANDEVA seguida de la prueba de Tukey). M.C. = Masa corporal, Ovx-l= ovariectomía izquierda, Ovx-l+NOS-D = ovariectomía derecha seguida de la sección del NOS derecho.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este estudio se presentan resultados que evidencian la conexión que existe entre los ovarios y el SNC, a través de la inervación simpática dada por el Nervio ovárico Superior (NOS), y que la información neural que llega a las gónadas por medio de este nervio modula en forma estimulante o inhibitoria los mecanismos neuroendocrinos que regulan el proceso ovulatorio, lo que depende del día del ciclo estral en que se realice el estudio, del nervio y la gónada que se esté analizando y del tiempo que transcurre entre la cirugía y el momento de la evaluación de los resultados.

En el presente estudio, los animales que fueron sometidos a la perforación ventral del peritoneo en cada etapa del ciclo estral indican que este tratamiento representa un factor estresante para el ovario izquierdo en las etapas del Diestro-2 y Estro, que interviene en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación, y que los efectos de este tratamiento regulan en forma diferente la liberación de ovocitos dependiendo del día del ciclo estral.

Una posible explicación sobre el aumento en el número de ovocitos en el Diestro-2 y la disminución en el Estro, es que la perforación ventral del peritoneo actúa como factor estresante que activa el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal. Se ha observado que el estrés estimula la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) que al ser liberada en la eminencia media hacia la pars distalis de la adenohipófisis estimula en sus células corticotropas la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) hacia el torrente sanguíneo. Cuando la secreción de la ACTH incrementa y llega a sus receptores en la zona fascicular de la corteza adrenal estimula la secreción de progesterona y corticosterona. De aquí el hecho de la importancia de las glándulas adrenales en la secreción de progesterona ya que se ha observado que la adrenalectomía resulta en disminución de la concentración de esta hormona (Ferin, 2006; Pepler y Jacobs, 1980).

La progesterona actúa sobre el hipotálamo, donde inhibe la secreción de GnRH, disminuyendo las concentraciones de gonadotropinas y por consiguiente se altera el sistema de retroalimentación que se ejerce entre el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios, lo que conduce a la alteración del proceso ovulatorio. Los glucocorticoides bloquean la liberación de la LH lo que se traduce en la menor secreción de 17 β -estradiol, que es reflejo del menor desarrollo folicular y por consiguiente de la disminución en la respuesta ovulatoria (Macfarland y Mann, 1977). Por lo tanto, se puede decir que el estrés induce cambios a nivel del SNC y periférico los cuales pueden afectar las funciones reproductivas (Calogero *et al.*, 1996; Chrousos *et al.*, 1998; Kalantaridou *et al.*, 2004; Tóth *et al.*, 2008).

El hecho de que este tratamiento altere el proceso ovulatorio en forma diferente durante el ciclo estral de la rata, puede también atribuirse a que la laparotomía ventral activa procesos neurales al cortar la piel, el músculo y peritoneo. El estudio realizado por Tanaka *et al.*, (2002), evidenció que existen fibras nerviosas sensoriales que pasan por el peritoneo parietal y visceral, y que estas llegan

al ganglio de la raíz dorsal y los ganglios nodosos, además que estas pasan por el tronco simpático; atravesando los ganglios prevertebrales como el ganglio celiaco, ganglio mesentérico inferior y superior, en donde se origina la inervación extrínseca que llega a las gónadas, estableciendo la conexión entre el SNC y los ovarios en la rata (Bortoli *et al.*, 1998; Dissen y Ojeda, 1999; Klein y Burden, 1988). Así mismo, que el Nervio vago aporta fibras de tipo sensorial que pasan por el ganglio nodoso y llegan hacia el peritoneo visceral.

En un estudio realizado por Santiago *et al.*, (2011), se observó alteraciones en animales sometidos a laparotomía ventral a las 07:00 h en el Diestro-1 o Estro ya que la concentración sérica de 17 β -estradiol, resultó en disminución cuando se evaluó una hora después del tratamiento. Esta disminución en la concentración sérica del esteroide puede estar relacionada con la disminución en el número de ovocitos liberados por ambos ovarios en el día del Estro en el presente estudio.

Con base en los resultados obtenidos en los animales con sección unilateral del NOS se sugiere que la participación del NOS a las 07:00 h en cada uno de los días del ciclo estral, modula la respuesta de los diferentes compartimientos endócrinos del ovario a las gonadotropinas y que regula de manera diferencial y asimétrica el porcentaje de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados, lo que depende de la información de uno u otro nervio, de la gónada *in situ* y del día del ciclo estral de la rata.

Proponemos que en cada día del ciclo estral, el neurotransmisor y los neuropéptidos contenidos en el nervio (NA, el VIP y el NPY, respectivamente; Garraza *et al.*, 2004; Dissen y Ojeda, 1999) estimulan los mecanismos neuroendocrinos que regulan estas funciones en el ovario. El NOS izquierdo modula en forma estimulante la función de las gonadotropinas sobre el porcentaje de animales ovulantes por parte del ovario izquierdo en las etapas del Diestro-1, Proestro y Estro, mientras que el NOS derecho lo hace en las etapas del Diestro-1 y Proestro en el ovario derecho.

A diferencia de lo anterior, el NOS-I tiene una participación dual sobre la liberación de ovocitos por parte del ovario izquierdo (que está denervado): modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en las etapas del Diestro-2 y Proestro, pero lo hace de manera inhibitoria en la etapa del Estro.

Algo fascinante que ocurre, es que los animales con sección del NOS izquierdo, en los que el ovario derecho está inervado, y todos los animales ovulan, también tiene alteraciones en la cantidad de ovocitos que libera, por lo que se podría decir que el NOS izquierdo modula en forma estimulante el papel de las gonadotropinas en las etapas de Diestro-1 y Proestro (ya que liberan una menor cantidad de ovocitos), mientras que en el Diestro-2 lo hace de manera inhibitoria (ya que se libera mayor cantidad de ovocitos). Este hecho pone de manifiesto que el NOS izquierdo regula la función de ambas gónadas y funge como la vía neural que comunica a ambos ovarios. Asimismo, se

piensa que la información que viaja a través del NOS izquierdo llega al ganglio celíaco y de ahí viajaría por el NOS derecho al ovario derecho. Se ha evidenciado que la información al llegar al ganglio celíaco es lleva al SNC donde se dan los ajustes en la síntesis y secreción de las sustancias del hipotálamo y la hipófisis comprometidas con la función reproductora (Burden, 1978; Lawrence y Burden, 1980; Ahmed *et al.*, 1986; Klein y Burden, 1988; Klein *et al.*, 1989; Risvanli *et al.*, 2004; Sosa *et al.*, 2004; Ayala *et al.*, 2005; Casais *et al.*, 2006).

Con el NOS derecho sucedió algo semejante. La información que transcurre por él modula de manera estimulante la acción de la FSH y la LH sobre el porcentaje de animales ovulantes en las etapas del Diestro-1 y Estro, y el número de ovocitos liberados ya que su ausencia se tradujo prácticamente en el bloqueo de la ovulación. A diferencia de ello, su participación es inhibitoria en la etapa del Diestro-2 sobre el número de ovocitos liberados. Aunado a ello, y al igual que el NOS izquierdo, el NOS derecho también regula la liberación de los ovocito por parte del del ovario izquierdo (inervado), cuyo papel es de tipo inhibitorio en el Diestro-1 y Proestro y de tipo estimulante en el Diestro-2.

Velasco, (2007) observó que en el día del Proestro a las 13:00 h la sección derecha del NOS resultó en disminución del número de ovocitos liberados por el ovario derecho. Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio cuando se analizaron los efectos del NOS en el día de Proestro.

La respuesta que se observó en el día del Diestro-2 en nuestro estudio, podría ser explicada por el estudio realizado por Guzmán en el 2009, en donde mostró que la sección del NOS izquierdo disminuyó la concentración de E₂, cuando los efectos fueron evaluados 24 horas post-cirugía; y esto estaría explicando la disminución que se observó en el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo al ser denervado por el NOS izquierdo, ya que si las concentraciones de estradiol disminuyen nos estaría indicando que muchos folículos no tuvieron un desarrollo folicular adecuado y por lo tanto no fueron ovocitos viables para ser liberados.

Respecto a nuestros resultados, Santiago *et al.*, (2011), observaron que la presencia del NOS en el día del Estro a las 07:00 h tiene un papel inhibitorio sobre la secreción de 17 β -estradiol, evaluado una hora después. Por tanto, se podría considerar que en nuestro estudio, el aumento en el número de ovocitos liberados en animales con sección unilateral del NOS puede deberse a que hubo un mayor crecimiento folicular, que condujo a una mayor secreción del esteroide y del número de ovocitos que fueron liberados. Asimismo, este aumento puede ser atribuido a las concentraciones de NA presente en el ovario (Aguado y Ojeda, 1984), ya que, según Chávez y Domínguez en 1994, observaron que la sección del NOS resulta en disminución de la concentración de NA ovárica.

Se conoce que si se realiza la sección izquierda o derecha del NOS se observan disminución en el número de ovocitos en el ovario denervado, así como de progesterona y estradiol, lo que depende del día del ciclo estral en que se realice la sección (Ayala *et al.*, 2005; Luna *et al.*, 2003; Morales *et al.*, 1998).

El momento de la ovulación es críticamente importante para el éxito de la reproducción. Actualmente se trabaja en demostrar que la regulación de la ovulación por el hipotálamo y la hipófisis, es un proceso fisiológico que está cronometrado. El descubrimiento de un temporizador interno circadiano en el ovario plantea la posibilidad de que ovulación en realidad es el resultado de una interacción entre relojes en el hipotálamo/hipófisis y el ovario (Yoshikawa *et al.*, 2009).

Las evidencias de este y otros estudios, apoyan la idea de que la actividad de los nervios también puede estar relacionada con la hora del día del ciclo estral.

En el día del Proestro, se sabe que la sección uni o bilateral del NOS a las 11:00 h en el día del Proestro resulta en cambios en la capacidad ovulatoria del ovario denervado y de su capacidad de secreción hormonal, mientras que a las 16:00 h la sección del NOS resulta en una disminución transitoria de progesterona, seguida de un aumento significativo de la misma (Aguado y Ojeda, 1984).

Zarate en el 2011, mostró que en los animales a los que se les realizó la sección del Nervio vago izquierdo se observó alteración de la cuota ovulatoria total sólo cuando la cirugía se realizó a las 09:00 h, y no en otros horarios de la misma etapa, ya que resultó en menor tasa de animales ovulantes, los que liberaron un menor número de ovocitos.

En el Diestro-1, a las 07:00 h el NOS izquierdo estimula el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y a las 19:00 h inhibe este parámetro; en el Diestro-2 a las 07:00 h el NOS izquierdo estimula el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo y a las 19:00 h estimula el número de animales ovulantes considerando el ovario derecho; en el Proestro el NOS a las 07:00 h estimula el número de ovocitos liberados por cada ovario, mientras que a las 19:00 h no se alteraron los parámetros; en el día del Estro a las 07:00 h el NOS inhibe la respuesta ovulatoria por el ovario izquierdo y el NOS izquierdo a las 19:00 h estimula la respuesta ovulatoria del ovario denervado (González *et al.*, 2012).

Con base en ello, podríamos sugerir que a las 07:00 h, el NOS izquierdo participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación en cada etapa del ciclo estral, mientras que el NOS derecho lo hace en las etapas del diestro y Proestro y permanece en quietud en la etapa del Estro.

Con base en los resultados observados en animales con ovariectomía unilateral, se sugiere que el ovario derecho *in situ*, no tienen la capacidad de mantener el porcentaje de animales ovulantes cuando el ovario izquierdo está ausente, mientras que el ovario izquierdo *in situ* si tiene dicha habilidad aún en ausencia del ovario derecho. Respecto a la cuota de ovocitos liberados, se observa que el ovario derecho en los días del Diestro-2 y Estro responde con una mayor cantidad de ovocitos liberados, mientras que el ovario izquierdo lo hace en las etapas del Diestro-1 y Estro.

Dado que la ovulación es el resultado de la acción coordinada entre la GnRH hipotalámica, las gonadotropinas hipofisarias y la secreción de las hormonas liberadas por los ovarios, los resultados observados nos hacen sugerir que la falta de un ovario altera la retroalimentación que se establece entre SNC y los ovarios, lo que da como resultado la alteración de la ovulación, donde cada ovario *in situ* responde compensando la función del ovario ausente, pero que es incapaz de hacerlo el ovario derecho *in situ* en la etapa del Diestro-1.

Los resultados presentes en este estudio en los animales con sección unilateral del NOS, como los reportados en la bibliografía, apoyan la idea de que la respuesta asimétrica de los ovarios se debe a que la inervación que llega a ellos modula la acción de las gonadotropinas sobre sus funciones (Aguado, 2002; Alburquerque-Araujo *et al.*, 1995; Barco *et al.*, 2003; Burden 1978; Burden *et al.*, 1983; Chávez y Domínguez, 1994; Cruz *et al.*, 2006; Dissen y Ojeda, 1999; Domínguez *et al.*, 1991; 2003; Flores *et al.*, 2005, 2006 Gerendai y Halász, 1997; Gerendai *et al.*, 2009)

En particular, se ha evidenciado por medio de técnicas de trazado viral e inmunohistoquímica, que los ovarios reciben cantidades diferentes de fibras simpáticas, que a su vez se conectan con el SNC por medio del ganglio celíaco; en especial, se ha mostrado que el ovario derecho recibe mayor cantidad de fibras simpáticas que el izquierdo y que el ovario izquierdo es inervado en forma supraespinal, en su mayoría por fibras sensoriales aferentes, además de que en esta gónada izquierda existen poblaciones neuronales que coexisten en su mayoría en diferentes áreas del cerebro como en el núcleo del tracto solitario, el grupo A5 noradrenérgico, el núcleo dorsal del nervio vago, los núcleos caudales del rafe, el núcleo paraventricular del hipotálamo y el hipotálamo lateral que están conectadas trans sinápticamente con órganos pares endócrinos y no endócrinos (Gerendai *et al.*, 2009; Klein y Burden, 1988; Morán *et al.*, 2005; Tóth *et al.*, 2007; 2008).

Así mismo, se sabe que en la rata, el control endocrino de las funciones reproductivas es controlado en su mayoría por el ovario derecho (Cruz *et al.*, 2001; Gerendai y Halász, 2001), ya que las hormonas sexuales durante la etapa perinatal (en la cual se establece la diferenciación sexual en el cerebro de roedores) no son iguales en los lados izquierdo y derecho. En la rata de 4 días de vida, el contenido de receptores a estrógenos en la corteza cerebral es asimétrico: en el macho hay más receptores del lado izquierdo, mientras que en la hembra sucede lo contrario. La diferente concentración de receptores y los efectos de las hormonas gonadales en esta etapa de la vida del

animal pueden generar un efecto asimétrico en el establecimiento de patrones fisiológicos y de conducta en la etapa adulta (Cruz *et al.*, 2001).

Por otro lado, se tienen evidencias de que la información neural que se transporta a través del NOS y que llega al ovario regula el desarrollo folicular, la estereidogénesis y la ovulación (Aguado y Forneris, 2002; Bortoli *et al.*, 1998; Mayerhofer *et al.*, 1997).

Los resultados observados en los animales con sección del Nervio Ovárico Superior seguida de ovariectomía unilateral, muestran claramente que la función de cada ovario apoyan lo mencionado anteriormente y se puede sugerir que el proceso de la ovulación es modulada por este nervio y que depende del nervio y ovario *in situ* en estudio y de la etapa del ciclo estral.

Los resultados observados en animales con ovariectomía seguida de la sección unilateral del nervio son parcialmente diferentes a lo observado en animales con sección del nervio seguida de la ovariectomía unilateral, sobre todo cuando se eliminó el ovario derecho y luego se realizó la sección del NOS izquierdo. El ovario izquierdo entonces es más sensible a los efectos de la denervación y por ende disminuye sustancialmente su función, lo que no sucede con el ovario derecho denervado.

La ovariectomía derecha en animales con sección del NOS izquierdo en el Diestro-1 resultó en aumento en el porcentaje de animales ovulantes, por tanto, el NOS izquierdo modula en forma inhibitoria el número de animales que ovulan por parte del ovario izquierdo *in situ*.

La sección del NOS izquierdo en animales con ovariectomía derecha resulta en el bloqueo de la ovulación en Diestro-1, Proestro y Estro, por ende dicho nervio modula en forma estimulante la ovulación en el ovario izquierdo *in situ* en esas etapas.

En los animales con sección del NOS derecho y ovariectomía izquierda, el NOS derecho modula de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en Diestro-2 y Estro.

En aquellos con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho, el NOS derecho modula de manera estimulante la función de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en la etapa del Proestro.

Esto pone de relieve la importancia de la inervación en cada ovario y que esta vía forma parte de las vías que comunican a los ovarios con el SNC y entre los ovarios, y que al eliminar primero el aporte hormonal y luego el neural se presenta asimetría en la respuesta de los ovarios.

Para poder fundamentar nuestros resultados, observamos que Santiago en el 2012, trabajó a las 07:00 h de cada uno de los días del ciclo estral y evaluó los efectos 1 h después del

tratamiento, observó en el día del Diestro-1 que la concentración de 17β -estradiol aumentó con la sección izquierda del NOS seguida de la ovariectomía derecha. Este resultado se correlaciona con el nuestro en donde en el mismo día la respuesta ovulatoria es estimulada por la información neural que transcurre por el NOS izquierdo y el ovario izquierdo es dejado *in situ*, este efecto estaría explicado por que el E_2 estaría estimulando el desarrollo folicular y por lo tanto que se ovulen más folículos (Domínguez *et al.*, 1991; Yao y Bahr, 1999).

También se sabe que en Diestro-1 los receptores de la NA que se encuentran en las células de la teca externa y en el estroma ovárico se activan para estimular las contracciones del músculo liso de la pared de los folículos para que los ovocitos sean liberados en su mayoría (Itoth, 2005).

Santiago (2012), mostró que en el día del Diestro-2 aumentó la secreción de E_2 con la sección izquierda del NOS seguida de la ovariectomía izquierda, por lo que mencionó que la información que llega vía NOS izquierdo participa en los mecanismos que regulan la capacidad de secreción de 17β -estradiol en ambos ovarios. Por su parte, en nuestro estudio, en este mismo día del ciclo ocurre exactamente lo mismo en la ovulación, ya que esta siendo estimulada por la información del NOS izquierdo en el ovario izquierdo.

Se sabe además, que el VIP que está llegando al ovario en este caso por el NOS izquierdo, activa en el día del Diestro-2 la actividad enzimática de P450scc para que se de la secreción de andrógenos (Mayerhofer *et al.*, 1997; Dissen y Ojeda, 1999; Parra *et al.*, 2007); entonces si se tiene una mayor secreción de andrógenos nos estaría indicando que están siendo aromatizados para la producción de estrógenos y por esto podría explicarse el aumento de estradiol y la estimulación de la cuota ovulatoria que se esta observando en este día en el presente estudio.

En el estudio de Santiago (2012), se reportó que cuando se realizó la ovariectomía derecha seguida de la sección izquierda del NOS la concentración de estradiol disminuyó en el día del Proestro, este resultado explica lo que ocurrió en nuestro estudio ya que con el mismo tratamiento la respuesta ovulatoria resulta disminuida en el mismo día del ciclo, ya que la información que llega vía NOS izquierdo modula en forma estimulante la capacidad de secreción del ovario izquierdo y por lo tanto su respuesta ovulatoria.

Se sabe que el VIP que es uno de los neurotransmisores que transcurre por el NOS y que tiene un papel fundamental en la producción de E_2 (Davoren y Hsueh., 1985; Dees *et al.*, 1986; Cecconi *et al.*, 2004); con base en esto podemos sugerir que los receptores que tiene en las células teco intersticiales se activan y hace que la secreción de E_2 aumente, entonces si se está eliminando el NOS izquierdo en el caso de nuestro estudio se esta cortando la vía por la que llega el VIP al ovario *in situ*.

Chávez y Domínguez, (1994) observaron que al realizar la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda en Diestro-2 o Proestro, la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados resultaron en una disminución por el ovario derecho *in situ*. Por lo que podemos sugerir que sus resultados se correlacionan con los expuestos en el presente estudio, en donde la respuesta ovulatoria es inhibida.

Esto podríamos explicarlo debido a que la LH es la encargada de la maduración de E₂ y de dar paso a la ovulación (Freeman, 2006), y si esta hormona no se encuentra en las condiciones adecuadas, la cuota ovulatoria disminuye, además de que el NOS está directamente innervando al ovario que es más densamente innervado por fibras simpáticas.

Gallegos *et al.*, (2005), observaron en el día del Proestro a las 13:00 h los efectos de la sección derecha del NOS acompañada por la ovariectomía izquierda en donde la concentración sérica de 17 β-estradiol aumentó, por lo que estaría inhibiendo la secreción de esta hormona. Este resultado es contrario a lo reportado en nuestro estudio ya que en el mismo día del ciclo estral la información que provee el NOS derecho al ovario *in situ* es fundamental para que se observe la respuesta ovulatoria, ya que cuando este nervio falta la cuota ovulatoria disminuye; entonces estaría ejerciendo un papel estimulante.

Cabe mencionarse también que la vasopresina y la arginina-vasopresina (secretadas por el cuerpo lúteo), también inhiben la secreción de estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991; Yen *et al.*, 2001a); entonces podría explicar porque a las 13:00 h está disminuyendo la secreción de estradiol.

Mendoza en el 2007, observó que en el Diestro-1 la sección del NOS derecho seguida de la ovariectomía izquierda disminuyen la concentración de P₄, pero, aumentan la de 17 β-estradiol; este resultado explica lo observado en nuestro estudio ya que la respuesta ovulatoria también estaría siendo inhibida. Ya que aumentó cuando se realizó el tratamiento. Así mismo, al realizar la sección del NOS derecho en animales con ovariectomía izquierda y la sección izquierda en animales con ovariectomía derecha, la concentración de 17 β-estradiol también aumentó. Por lo que en este día en el presente estudio también aumento la ovulación, debido a que tal vez se formaron más folículos sanos y viables capaces de ser ovulados.

Guzmán en el 2009, observó que la sección del NOS izquierdo seguida de la ovariectomía derecha incrementó la concentración de 17 β-estradiol en la etapa de Diestro-2, por lo que en nuestro estudio la capacidad ovulatoria del ovario izquierdo *in situ* esta a cargo de la información del NOS izquierdo. La ovariectomía derecha y la sección del NOS disminuyeron la concentración de 17

β -estradiol en Diestro-1, por lo que también la cuota ovulatoria del ovario derecho es estimulada en nuestro estudio en el mismo día del ciclo.

En síntesis, podemos decir que la participación del NOS en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados son diferentes para cada una de las etapas del ciclo estral de la rata adulta y que el hecho de que la respuesta ovulatoria resulte alterada y que sus efectos sean asimétricos depende no sólo del día del ciclo estral en que se realice el estudio, del nervio seccionado o de la gónada, si no que también depende de la conexión que establezcan las gónadas con el SNC vía NOS, en el ganglio celíaco, en donde hace sinapsis, además también la hora en que se realice el tratamiento y el tiempo que transcurra entre este y su cuantificación son factores determinantes para la respuesta ovulatoria.

CONCLUSIONES

- ✿ La perforación ventral del peritoneo (laparotomía) realizada a las 07:00 h en el Diestro-2 es un factor estresante que modula en forma inhibitoria la respuesta ovulatoria del ovario izquierdo; mientras que, en el Estro modula en forma estimulante la ovulación de ambos ovarios.
- ✿ En los animales con ambas gónadas, el NOS izquierdo modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el porcentaje de animales ovulantes en las etapas del Diestro-1, Proestro y Estro, y la cantidad de ovocitos liberados por el ovario izquierdo en las etapas del Diestro-2 y Proestro. Su participación es de tipo inhibitorio en la etapa del Estro sobre el número de ovocitos liberados.
- ✿ En los animales con ambas gónadas, el NOS derecho modula en forma estimulante la acción de las gonadotropinas sobre el porcentaje de animales ovulantes y la cantidad de ovocitos liberados por el ovario derecho en las etapas del Diestro-1 y Estro. Su participación es de tipo inhibitorio en la etapa del Diestro-2 sobre el número de ovocitos liberados.
- ✿ En los animales con ambos ovarios, el NOS izquierdo modula la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados por el ovario derecho: de manera estimulante en Diestro-1 y Proestro e inhibitoria en el Diestro-2.
- ✿ En los animales con ambos ovarios, el NOS derecho modula la acción de las gonadotropinas sobre el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo: de manera estimulante en el Proestro e inhibitoria en el Diestro-2.
- ✿ En animales con ovariectomía unilateral, el ovario derecho *in situ* en el Diestro-1 no presenta ovulación, pero en el Diestro-2 y Estro libera una cuota ovulatoria mayor que los animales control.
- ✿ En animales con ovariectomía unilateral, el ovario izquierdo *in situ* libera una cuota ovulatoria mayor que los animales control en el Diestro-1 y Estro.
- ✿ En los animales con ovariectomía derecha y sección del NOS izquierdo, el NOS izquierdo modula en forma inhibitoria el número de animales que ovulan por parte del ovario izquierdo *in situ* en el día del Diestro-1.
- ✿ En los animales con sección del NOS izquierdo seguida de ovariectomía derecha, el NOS izquierdo modula en forma estimulante la ovulación en el ovario izquierdo *in situ* en las etapas del Diestro-1, Proestro y Estro.

Conclusiones

- ✿ En los animales con sección del NOS derecho y ovariectomía izquierda, el NOS derecho modula de manera inhibitoria la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en Diestro-2 y Estro.
- ✿ En aquellos con ovariectomía izquierda seguida de la sección del NOS derecho, el NOS derecho modula de manera estimulante la función de las gonadotropinas sobre la ovulación del ovario derecho *in situ* en la etapa del Proestro.

REFERENCIAS

- ✿ **Adashi, E. Y., Hsueh A. J. W.** 1981. Stimulation of β_2 -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 6:2170-2178.
- ✿ **Advis, J. P., Ahmed C. E., Ojeda S. R.** 1989. Direct hypothalamic control of vasoactive intestinal peptide (VIP) levels in the developing rat ovary. *Brain Research Bulletin*, 22:605-610.
- ✿ **Aguado, L. I., Ojeda S. R.** 1984. Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology*, 114 (5): 1944-1946.
- ✿ **Aguado, L. I., Ojeda S. R.** 1986. Prepubertal rat ovary: hormonal modulation of β -adrenergic receptors and of progesterone response to adrenergic stimulation. *Biology of Reproduction*, 34:45-50.
- ✿ **Aguado, L. I.** 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microsc Res Tech*, 59 (6):462-73.
- ✿ **Aguado, L. I., Forneris M.** 2002. Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 82:75-82.
- ✿ **Ahmed, C. E., Dees W. L., Ojeda S. R.** 1986. The immature rat ovary is innervated by vasoactive intestinal peptide (VIP) containing fibers and responds to VIP with steroid secretion. *Endocrinology*, 118 (4):1682-1689.
- ✿ **Albuquerque-Araujo, W. I., Rosa-E-Silva A. A., Antunes-Rodriguez J., Favaretto A. L.** 1995. Is ovarian adrenergic innervation essential to gonadal function in adult rats? *Arch Physiol Biochem*, 103 (1):109-13.
- ✿ **Austin, C. R., Short R. V.** 1972. Células germinales y fertilización. pp: 89-99. Ediciones científicas la prensa medica mexicana, México DF.
- ✿ **Ayala, Y. R., Foyo N. E., Alvarado C. I., García H. J.** 2005. Denervación y poliquistosis ováricas. *Ginecol Obstet Mex*:91-93.
- ✿ **Arimura, A.** 2000. Hypothalamic Hormones. In: *Neuroendocrinology in Physiology and Medicine*. Totowa, N.J: Humana Press Inc. pp.41-58.
- ✿ **Baljet, B., Drukkler J.** 1979. The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat. *Acta Anat*, 104 (3):243-67.
- ✿ **Baljet, B., Drukkler J.** 1980. The extrinsic innervation of pelvic organ in the female rat. *Acta Anat*. 107:241–267.

- ✿ **Barco**, A. I., Flores A., Chavira R., Damián-Matsumara P., Domínguez R., Cruz M. E. 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the in situ ovary. *Endocrine*, 21 (3):209–215.
- ✿ **Barria**, A., Leyton V., Ojeda S., Lara H. E. 1993. Ovarian steroidal response to gonadotropins and β -adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation. *Endocrinology*, 133:2696-2703.
- ✿ **Ben-Jonathan**, N., Arbogast L. A., Rhoades T. A., Bahr J. M. 1984. Norepinephrine in the rat ovary: ontogeny and de novo synthesis. *Endocrinology*, 115 (4):1426-31.
- ✿ **Berne**, R. 2002. *Fisiología*. 3ª ed pp: 558-581, 599-601. Editorial: Elsevier Science, Madrid, España.
- ✿ **Bortoli**, M. A., Garraza M. H., Aguado L. I. 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.
- ✿ **Botella**, L. J. 1995. Las gonadotropinas y otras hormonas que actúan sobre el ovario. pp: 93-94. *In: El ovario fisiología y patología*. Ediciones Díaz de Santos, España.
- ✿ **Burden**, H. W. 1978. Neural modulation of ovarian function. *In: Neuroviews*. Biomedical Press, Holland. pp: 85-86.
- ✿ **Burden**, H. W., Leonard M., Smith C. P., Lawrence I. E. 1983. The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. *Anat. Rec*, 207:623–627.
- ✿ **Brown**, R. E. 1994. *Introduction to Neuroendocrinology*. Cambridge University Press, Great Britain. pp: 30-41.
- ✿ **Calogero**, A. E., Burrello N., Negri-Cesi P., Palumbo M. A. Cianci A., Sanfilippo S., D'Agata R. 1996. Effects of corticotropin-releasing hormone on ovarian estrogen production in vitro. *Endocrinology*, 137 (10): 4161-4166.
- ✿ **Callejas**, S. S. 2001. *Fisiología Del Ciclo Estral*. pp: 37-60 *In: Biotecnología De La Reproducción*. Palma G. A. (ed.). Instituto Nacional De Tecnología Agropecuaria. Argentina.
- ✿ **Caravaca**, R. F. P., Castel G. J. M., Guzmán G. J. L., Delgado P. M. 2003. *Bases de la producción animal*. pp: 65-66. Publicaciones Universidad de Córdoba España.
- ✿ **Casais**, M., Delgado S. M., Sosa Z., Telleria C. M., Rastrilla A. M. 2006. The celiac ganglion modulates LH-induced inhibition of androstenedione release in late pregnant rat ovaries. *Reproductive Biology and Endocrinology*, pp: 1-2.
- ✿ **Cecconi**, S., Rossi G., Barberi M., Scaldaferrri L., Canipari R. 2004. Effect of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide and vasoactive intestinal polypeptide on mouse preantral follicle development in vitro. *Endocrinology*, 145(4):2071–2079.

- ✿ **Chavez, R., Domínguez R.** 1994. Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology*, 140 (2):197-201.
- ✿ **Chrousos, G. P., Torpy D. J., Gold P. W.** 1998. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *An. Intern. Med*, 129: 229-240.
- ✿ **Cruz, M. E., Sánchez M. A., Domínguez R.** 2001. Asimetrías funcionales del sistema reproductor. *In: Velázquez, M. J. pp: 75-92. UNAM Fes Zaragoza, México D. F.*
- ✿ **Cruz, M. E., Flores A., Palafox M. T., Meléndez G., Rodríguez J. O., Chavira R., 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.
- ✿ **D´Albora, H., Anesetti G., Lombide P., Dess W. L., Ojeda S. R.** 2002. Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microsc Res Tech*, 59:484-489.
- ✿ **Davoren, B. J., Hsueh A. J. W.** 1985. Vasoactive Intestinal Peptide: a novel stimulator of steroidogenesis by cultured rat granulosa cells. *Biology of Reproduction*, 33:37-52.
- ✿ **Dees, W. L., Ahmed C. E., Ojeda S. R.** 1986. Substance P-and vasoactive intestinal peptide-containing fibers reach the ovary by independent routes. *Endocrinology*, 119 (2):638 – 641.
- ✿ **Domínguez, R., Chávez R., Cruz M. E.** 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. pp: 163-172, 179-182. *In: Tópicos selectos de biología de la reproducción. UNAM. Grupo Editorial Miguel Angel Porrúa, México.*
- ✿ **Domínguez, R., Cruz M. E., Morán C.** 1998. Differential effects of ovarian local anesthesia during pro-oestrus on ovulation by the right or left ovary in normal and hemi-ovariectomized adult rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113:185-190.
- ✿ **Domínguez, R., Morales L., Cruz M. E.** 2003. Ovarian Asymmetry. *Annu Rev Biomed Sci*, 5: 95-104.
- ✿ **Domínguez, R., Morales L., Cruz M. E.** 2003. Ovarian Asymmetry. *Annu Rev Biomed Sci*, 5:95-104.
- ✿ **Donagay, M., Gungor T., Mulazimoglu B. S., Simsek A., Tapisiz O. L., Yumusak N.** 2010. Superior Ovarian Nerve (SON) transection leads to stunted follicular maturation: a histomorphologic and morphometric analysis in the rat model. *American Society for Reproductive Medicine*, 93:1711-1714.
- ✿ **Dissen, G. A., Ojeda S. R.** 1999. Ovarian innervation. pp: 583-588. *In: Encyclopedia of reproduction. Knobil E., Neill J. D (ed.). 3ª edith. Academic press, USA.*

- ✿ **Dissen**, G. A., Romero C., Hirshfield A. N., Ojeda S. R. 2001. Nerve growth factor is required for early follicular development in the mammalian ovary. *Endocrinology*, 142 (5):2078-2086.
- ✿ **Espey**, L.L. 1999. Ovulation. In: *Encyclopedia of Reproduction*. E Knobil, JD Neill (Eds). USA. Academic Press. pp. 605-614.
- ✿ **Everardo**, P.M., A. Flores, C. García, M.E. Cruz., R. Domínguez. 2011. La participación del Nervio vago en la regulación neuroendocrina de la ovulación varía en función de la hora del día y del ciclo estral. Estudio comparativo en animales con y sin ovariectomía bilateral. XXXVI Reunion AIBIR.
- ✿ **Erskine**, M. S. Weaver Jr., Charles E. 1988. The Role of Ovarian Sympathetic Innervation in the Control of Estrous Responsive in the Rat. *Hormones and Behavior* 22. pp: 1-2.
- ✿ **Fawcett**, D. W. 1995. *Tratado de Histología*. 12ª Edición. McGraw-Hill interamericana, Madrid, pp: 723-727, 740,74, 885-893.
- ✿ **Ferin**, M. 2006. Stress and reproductive system. pp: 2627-2647. In: *Physiology of reproduction*. Knobil E., Neill J. D (ed.). 3a edith. Academic Press, USA.
- ✿ **Flores**, A., Cruz M. E., Domínguez R., Everardo P., Gallegos A., Mendoza F., Montiel C., Velazco J. 2008. The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6:48.
- ✿ **Flores**, A., Velasco J., Gallegos A. I., Mendoza F. D., Everardo P. M., Cruz M. E., Domínguez R. 2011. Acute effects of unilateral sectioning the superior ovarian nerve of rats with unilateral ovariectomy on ovarian hormones (progesterone, testosterone and estradiol) levels vary during the estrous cycle. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9 (34):1-11.
- ✿ **Flores**, R. A., Rodríguez J. O., Palafox M. T., Meléndez G., Barco A. I., Chavira R., Cruz M. E., Domínguez R. 2006. The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system. *Reprod Biol Endocrinol*, 1: 4-11.
- ✿ **Forneris**, M. L., Aguado L. I. 2002. Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 82(1):75-82.
- ✿ **Fox**, S. I. 2003. *Fisiología humana*. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, España. pp: 307-311.
- ✿ **Freeman**, M. E. 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle in the rat. pp: 2347-2388. In: *Physiology of reproduction*. Knobil E, Neill J.D (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.

- ✿ **Funkenstein, B., Nimrod A., Lindner H.R.** 1980. The development of steroidogenic capability and responsiveness to gonadotropins in cultured neonatal ovaries. *Endocrinology*, 106:98-106.
- ✿ **Gallegos, A. I.** 2005. Efectos agudos de la sección del Nervio Ovárico Superior en el día del proestro de la rata sobre la concentración sérica de testosterona la rata adrenalectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Gallegos, A. I., Montiel C., Chavira R., Cruz M. E., Flores A., Domínguez R.** 2005. Efectos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) en el día del proestro (P), previo a la ovariectomía unilateral (ULOL) sobre la concentración de Estradiol (E2), Progesterona (P). *Memorias de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas*.
- ✿ **Ganong, W. F.** 1986. *Fisiología médica*. 10ª ed. Edit. El manual moderno, México, pp:427-429.
- ✿ **Gaytán, F., Tarradas E., Morales C., Bellido C., Sánchez C.** 2002. Morphological evidence for uncontrolled proteolytic activity during the ovulatory process in indomethacin-treated rats. *Reproduction* 123:639-649.
- ✿ **Garraza, M. H., Aguado L. I., De Bortoli M. A.** 2004. In vitro effect of neuropeptides on ovary or celiac ganglion affects the release of progesterone from ovaries in the rat. *Med Sci Monit.* 10(12):BR440-6.
- ✿ **George, F. W., Ojeda S. R.** 1987. Vasoactive intestinal peptide enhances aromatase activity in the neonatal rat ovary before development of primary follicles or responsiveness to follicle-stimulating hormone. *Proc. Natl.* 84:5803-5807.
- ✿ **Gerendai, I., Hálász B.** 1997. Neuroendocrine Asymmetry. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 18:354-381.
- ✿ **Gerendai, I., Tóth I. E., Boldogkoi Z., Medveckzy I., Halász B.** 1998. Neuronal labeling in the rat brain and spinal cord from the ovary using viral transneuronal tracing technique. *Neuroendocrinology*, 68:244-256.
- ✿ **Gerendai, I., Hálász B.** 2001. Asymmetry of the Neuroendocrine System. *News Physiol. Sci*, 16:92-95.
- ✿ **Gerendai, I., Banczerowski P., Halász B.** 2005. Functional significance of the innervation of the gonads. *Endocrine*, 28(3):309-18.
- ✿ **Gerendai, I., Tóth I. E., Boldogkoi H. B.** 2009. Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervations of endocrine glands and other organs; observations obtained by the transneuronal viral double-labeling technique. *Endocrinology*, 36:179-188.

- ✿ **Gómez-Prieto** B., Velázquez-Paniagua M. 2002. Monografía Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotropinas. Rev. Fac. Med. UNAM. 252-257
- ✿ **González**, E. L. E., Javier D. C. Y., Santiago C. M. L., Zarate P. A., Flores R. A., Cruz B. M., Domínguez C. R. 2012. Los efectos de la sección unilateral del Nervio Ovárico Superior sobre la ovulación espontánea dependen del día del ciclo estral y de la hora del tratamiento. Congreso de AIBIR. Pachuca, Hidalgo.
- ✿ **Gozes**, I., Tsafri A. 1986. Detection of vasoactive intestinal peptide-encoding messenger ribonucleic acid in the rat ovaries. *Endocrinology* 119 (6):2606-2610.
- ✿ **Guzmán**, B. T. 2009. Efectos de la sección del nervio ovárico superior en los días del diestro sobre la secreción de 17 β -estradiol en la rata adulta. Tesis Licenciatura. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Guyton**, C.A., Hall J.E. 2006. Tratado de Fisiología Médica. 11ª ed. Ed. Elsevier (Ed). pp. 944-951.
- ✿ **Hadley**, M. E. 2000. Estereidogénesis. pp: 456-463. *In: Endocrinology*. 5ª ed. Prentice Hall, Minnesota.
- ✿ **Helena**, C. V., Szawka R. E., Anselmo-Franci J. A. 2004. Noradrenaline involvement in the negative-feedback effects of ovarian steroids on luteinising hormone secretion. *J Neuroendocrinol*, 16(10):819-24.
- ✿ **Hicks**, G. J. J. 2007. Hormonas esteroides: Metabolismo. pp: 580–611. *In: Bioquímica de Harper*. A. Elena L., G. Pérez P (ed.). 2ª ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México.
- ✿ **Hirshfield**, A. N., Midgley Jr. R. A. 1978. Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology of Reproduction*, 19: 597-605.
- ✿ **Hirshfield**, A. N. 1991. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* 101:124-43.
- ✿ **Hirshfield**, A. N. 1992. Heterogeneity of cell populations that contribute to the formation of primordial follicles in rats. *Biology of Reproduction*, 47:466-472.
- ✿ **Hu**, J., Zhang Z., Shen W. J., Azhar S. 2010. Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition & Metabolism*, 7:47.
- ✿ **Itoh**, M. T., Ishizuka B. 2005. α -1 Adrenergic receptor in rat ovary: presence and localization. *Molecular and Cellular Endocrinology*, (240):58–63.
- ✿ **Javier**, D. C. Y. 2012. El Nervio Ovárico Superior presenta actividad neuronal rítmica en la regulación de la respuesta ovulatoria en la tarde y noche del ciclo estral de la rata adulta. No. de clave: 2011-12/48-327. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

- ✿ **Kagitani, F., Sae U., Harumi H.** 2008. Effects of Electrical Stimulation of the Superior Ovarian Nerve and the Ovarian Plexus Nerve on the Ovarian Estradiol Secretion Rate in Rats. *J. Physiol. Sci*, 58 (2):133–138.
- ✿ **Kalantaridou, S. N., Makrigiannakis A., Zoumakis E., Chrousos G. P.** 2004. Stress and the female reproductive system. *Journal of Reproductive Immunology*, 62: 61-68.
- ✿ **Kyeong-Hoon J., Kaiser U. B.** 2006. Gonadotropin-Releasing Hormone Regulation of Gonadotropin Biosynthesis and Secretion . 1635-1700 In: *Physiology of Reproduction*. Knobil E. y J. D. Neil. (ed.). 3° ed. Academic Press. United States of America.
- ✿ **Kierszenbaum, A.** 2008. *Histología y Biología Celular: Introducción a la Anatomía Patológica*. Elsevier. España pp: 633.
- ✿ **Klein, C. M., Burden H. W.** 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neurosci Lett*, 85 (2):217-22.
- ✿ **Klein, C. M., Ray R. H., Burden H. W.** 1989. Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats cause an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve. *Brain Research*, 479:194-200.
- ✿ **Knecht, M., Ranta T., Catt K. J.** 1983. Granulosa cell differentiation in vitro: induction and maintenance of follicle-stimulating hormone receptors by adenosine 3'5'-monophosphate. *Endocrinology*, 113 (3):949-956.
- ✿ **Knobil, E., Neill J. D.** 2006a. Follicular development: Mouse, Sheep, and Human Models. pp: 383-425. *In: Physiology of Reproduction*. Rajkovic A, Pangas S A, Matzuk M (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
- ✿ **Knobil, E., Neill J. D.** 2006b. Ovulation. pp: 425-475. *In: Physiology of Reproduction*. Espey L L, Richards J S (ed.). 3ª edith. Academic Press, USA.
- ✿ **Kolena, J.** 1976. Ontogenic development of the responsiveness in cAMP synthesis to LH and PGE1 and gonadotropin receptors in the rat ovary. *Biol Neonate*, 29 (1-2):96-103.
- ✿ **Lance, J., Kriegsfeld R. S.** 2006. Review: The regulation of neuroendocrine function; timing is everything. *Hormones and Behavior*, 49: 557–574.
- ✿ **Lara, H. E., McDonald J. K., Ahmed C. E., Ojeda S. R.** 1990. Guanethidine-mediated destruction of ovarian sympathetic nerves disrupts ovarian development and function in rats. *Endocrinology*, 127(5):2199-209.
- ✿ **Lawrence, I. E. Jr., Burden H. W., Louis T.M.** 1978. Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. *J Reprod. Fert.* 53:131-136.
- ✿ **Lawrence, I. E. Jr., Burden H. W.** 1980. The origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. *Anat Rec*, 196 (1): 51-9.

- ✿ **Lawrence, C. P., Mark B. K., Barry R. K.** 1987. Sensory innervation of the external and internal genitalia of the female rat. *Brain Research*, 408:199- 204.
- ✿ **Levy, M. N., Stanton B. A., Koeppen B. M.** 2006. *Fisiología*. 4ª ed. Editorial Elsevier, Barcelona, España. pp: 151-152,589-593,647-650, 676-685,725.
- ✿ **Luna, F., Cortés M., Flores M., Hernández B., Trujillo A., Domínguez R.** 2003. The effects of superior ovarian nerve sectioning on ovulation in the guinea pig. In: *Reproductive Biology and Endocrinology*. pp: 1-2.
- ✿ **Macfarland, L., Mann D.** 1977. The inhibitory effects of ACTH and Adrenalectomy on Reproductive Maturation in Female Rats. *Biology of Reproduction* 16:306-314.
- ✿ **Malamed, S., Gibney J. A., Ojeda S. R.** 1992. Ovarian innervation develops before initiation folliculogenesis in the rat. *Cell and Tissue Research*, 270:87-93.
- ✿ **Mandl, A.M.** 1954. The sensitivity of adrenalectomized rats to gonadotrophins. *Journal of Endocrinology* 11: 359.
- ✿ **Martín, V.** 2011. Estructura general del ovario de rata. [en línea]. Disponible en <http://wesapiens.org> (revisado el 26 de Junio de 2011).
- ✿ **Mayerhofer, A., Dissen A., Costa M. E., Ojeda S. R.** 1997. A role for neurotransmitters in early follicular development: Induction of functional follicle-stimulating hormone receptors in newly formed follicles of the rat ovary. *Endocrinology*, 138:3320-3329.
- ✿ **McGee, E. A., Perlas E., Lapolt P. S., Tsafriiri A., Hsueh A. J. W.** 1997. Follicle-stimulating hormone enhances the development of preantral follicles in juvenile rats. *Biology of Reproduction*, 57:990-998.
- ✿ **Mendoza, F. D.** 2007. Estudio de la participación de la inervación del ovario por el nervio ovárico superior en la regulación de la secreción de progesterona y estradiol. Interacciones entre los ovarios y las adrenales en el día del Diestro-2 de la rata. Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Montiel, C.** 2005. Efectos agudos de la sección del Nervio Ovárico Superior en el día del Diestro-1 sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata ovariectomizada como modelo de estudio. Servicio Social. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Morales, L., Chávez R., Ayala M. E., Domínguez R.** 1998. Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertal rats on the ovulatory response to gonadotrophin administration. *Journal of Endocrinology*, 158:213-219.
- ✿ **Morán, C., Morales L., Quiróz U., Domínguez R.** 2000. Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth. *Journal of Endocrinology*, 166:205–211.

- ✿ **Morán, C., Franco A., Morán J. L., Handal A., Morales L., Domínguez R.** 2005. Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac-superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat. *Endocrine*,26:147-152.
- ✿ **Morán, C., Zárate F., Morán J. L., Handal A., Domínguez R.** 2009. Lateralization of the connections of the ovary to the celiac ganglia in juvenile rats. *Reprod Biol Endocrinol*, 7:50.
- ✿ **Nakamura, M., Nakamura K., Igarashi S., Tano M., Miyamoto K., Ibuki Y., Minegishi T.** 1995. Interaction between activin A and cAMP in the induction of FSH receptor in cultured rat granulosa cells. *J. Endocrinol*, 147(1):103-10.
- ✿ **Nance, D. M., Burns J., Kline C. M., Burden H. W.** 1988. Afferent fibers in the reproductive system and pelvic viscera of female rats: anterograde tracing and immunocytochemical studies. *Brain Res. Bull.* 21:701-709.
- ✿ **Nalbandov, A. V.** 1969. Fisiología de la reproducción comparada de los animales domésticos, animales de laboratorio y el hombre. pp: 63, 65, 98,124-140,156-175. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- ✿ **Ojeda, R. S, Romero C., Tapia V., Dissen G.** 2000. Neurotrophic and cell-cell dependent control of early follicular development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 163: 67-71.
- ✿ **Orisaka, M., Orisaka S., Jiang J.Y., Craig J., Wang Y., Kotsuji F., Tsang B.** 2006. Growth differentiation Factor 9 Is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. *Molecular Endocrinology* 20(10):2456-2468.
- ✿ **Orisaka, M., Tajima K., Tsang B., Kotsuji F.** 2009. Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. *Journal of Ovarian Research* 2:9.
- ✿ **Pedersen, T., Peters H.** 1968. Proposal for a classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *Journals of Reproduction & Fertility*, 17:555-557.
- ✿ **Pedersen, T.** 1970. Follicle kinetics in the ovary of the cyclic mouse. *Endocrinology*, 64:304-323.
- ✿ **Peppler, R.D., Jacobs J.J.** 1976. The effect of adrenalectomy on ovulation and follicular development in the rat. *Biology of Reproduction* 15:173-178.
- ✿ **Parra, C., Fiedler J. L., Luna L. S., Greiner M., Padmanabhan V., Lara H. E.** 2007. Participation of vasoactive intestinal polypeptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary. *Reproduction*, 133:147-154.
- ✿ **Parr, E.L.** 1974. Histological examination of the rat ovarian follicle wall prior to ovulation. *Biology of Reproduction*, 11:483-503.
- ✿ **Patiño, N. M.** 2008. Farmacología médica. Médica Panamericana. México. pp: 395

- ✿ **Peters**, H. Byskov A. G., Lintern-moore S., Faber M., Andersen M. 1973. Journals of Reproduction & Fertility, 35:139-141.
- ✿ **Ranta**, T., Knecht M., Darbon J. M., Baukal A. J., Catt K. J. 1984. Induction of granulosa cell differentiation by forskolin: stimulation of adenosine 3',5'-monophosphate production, progesterone synthesis, and luteinizing hormone receptor expression. *Endocrinology*, 114 (3):845-50.
- ✿ **Rajah**, R., Hirshfield A. N. 1991. The changing architecture of the rat ovary during the immediate postpartum period: a three dimensional (3D) reconstruction. *Biology Reproduction*:44-152.
- ✿ **Rajah**, R., Glaser E. M., Hirshfield A. N. 1992. The changing architecture of the neonatal rat ovary during histogenesis. *Developmental dynamics* 194:177-192.
- ✿ **Ricu**, M., Greiner M., Lara H. E., Ojeda S. R., Paredes A. 2008. Functional Development of the Ovarian Noradrenergic Innervation. *Endocrinology*, 149 (1):50-56.
- ✿ **Risvanli**, A., Timurkan H., Ozveren M. F., Kalkan C. 2004. A new ovarian denervation technique and it's effect on sexual cycle, conception rates and offspring numbers in rats. *In: Neuroendocrinology*. pp: 284.
- ✿ **Rodgers**, R. J., Lavranos T. C., Wezel I. L. 1999. Development of the ovarian follicular epithelium. *Molecular and cellular. Endocrinology*, 151:171-179.
- ✿ **Ross**, M. H. 2004. *Histología: texto y atlas color con Biología Celular y Molecular*. Médica Panamericana. 4ª Edición. Argentina. pp: 668-674.
- ✿ **Ross**, M., Kaye G., Paulina w. 2005. *Histología texto y atlas a color de biología celular y molecular*. 4ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, pp: 735-736.
- ✿ **Ross**, M. H., Woljciech P. 2007. *Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular*. 5ª ed. Editorial Médica panamericana, Argentina. pp: 830-831.
- ✿ **Santiago**, C. M. L., Zárate P. A., González E. L., Everardo P., Flores R. A., Cruz B. M., Domínguez C. R. 2011. Los efectos agudos de la sección uni o bilateral del Nervio Ovárico Superior realizados a las 07:00 o 13:00 h de cada día del ciclo estral dependen del día del ciclo estral y hora en que se realice el estudio. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. León, Gto.
- ✿ **Santiago**, C. M. L. 2012. Efectos de la sección del Nervio Ovárico Superior a las 07:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral en la regulación de la secreción de progesterona y 17 β -estradiol. Tesis Licenciatura. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.

- ✿ **Serrano, C. A.** 2009. Efectos de la sección del nervio ovárico superior sobre la concentración sérica de progesterona en animales con ovariectomía en los días del diestro. Tesis Licenciatura. Carrera de Biología. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Sosa, Z. Y., Casais M., Rastrilla A. M., 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*, (164):307-318.
- ✿ **Sosa, Z., Delgado M., Casais M., Aguado L., Rastrilla A. M.** 2004. Release of ovarian progesterone during the rat oestrous cycle by ganglionic cholinergic influence: the role of norepinephrine. *J of Steroid Biochemistry y Molecular Biology*, 91:179-184.
- ✿ **Stouffer, L.R.** 2006. Structure, function, and regulation of the corpus luteum. In: Knobil and Neills *Physiology of Reproduction*. 3 ed. USA. Academic Press. pp. 475-496.
- ✿ **Tanaka, K., Matsugami T.** (2002). The origin of sensory innervations of the peritoneum in the rat. *Anat Embryol*, 205: 307-313.
- ✿ **Tortora, J. G., Derrickson B.** 2006. *Principios de Anatomía y Fisiología*. 11ª ed. Medica Panamericana (Ed). México. pp: 1078-1096.
- ✿ **Tóth, I. E., Wiesel O., Boldogkői Z., Bálint K., Tapaszi Z., Gerendai I.** 2007. Predominance of supraspinal innervation of the left ovary. *Microscopy Research and Technique*, 70: 710-718.
- ✿ **Tóth, I. E., Banczerowski P., Tóth J. S., Szabó A., Halász B., Gerendai I.** 2008. Cerebral neurons involved in the innervations of both the adrenal gland and the ovary: a double viral tracing study. *Brain Res Bull*, 77 (5): 306-311.
- ✿ **Tresguerres, J. A.** 2003. *Fisiología Humana*. 2ª ed. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana, España. pp: 1036-1048.
- ✿ **Trujillo, A., Riboni L.** 2002. Effects of functional peripheral sympathetic denervation induced by guanetidina on follicular development and ovulation of the adult female guinea pig. *Gen Comp. Endocrin*, 127:273-278.
- ✿ **Tsafiriri, A., Kraicer P.** 1972. The time sequence of ovum maturation in the rat. *J Reprod Fert*, 29:387-393.
- ✿ **Velasco, M. J.** 2007. Efectos agudos de la sección del nervio ovárico superior en el día del proestro de ratas con ovariectomía, adrenalectomía o ambas, sobre la ovulación y secreción de progesterona y 17 beta-estradiol. TESIS para obtener el título de Biólogo. FES Zaragoza, UNAM.
- ✿ **Xiaoxin, Z., Zhang L., Huo S., Wang J., 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.

- ✿ **Yao, H. H. C., Bahr J. M.** 1999. Ovary, overview. pp: 590-597. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Knobil E, Neil J D (ed). Academia Press, USA.
- ✿ **Yen, S. C., Jaffe R. B., Barbieri R. L.** 2001a. Ciclo ovárico. pp: 164-184. *In: Endocrinología de la reproducción.* John y Adashi (ed.). 4ª edith. Editorial Médica panamericana, Argentina.
- ✿ **Yen, S. C., Jaffe R. B., Barbieri R. L.** 2001b. Hormonas gonadotróficas: biosíntesis, secreción, receptores y acción. pp: 86-111. *In: Endocrinología de la reproducción.* Halvorson y Chin (ed.). 4ª edith. Editorial Médica panamericana, Argentina.
- ✿ **Yen, S. C., Jaffe R. B., Barbieri R. L.** 2001c. Hipotálamo e Hipófisis. pp: 32-40. *In: Endocrinología de la reproducción; fisiología, fisiopatología y manejo clínico* 4ª edith. Editorial Médica Panamericana, Madrid, España.
- ✿ **Ying, S-H., Zhang Z.** 1999. Ovarian Hormones, Overview. *In: Encyclopedia of Reproduction.* Knobil E and Neill JD Eds. USA. Academic Press. pp. 578-582.
- ✿ **Yoshikawa, T., Sellix M., Pezuk P., Menaker M.** 2009. Timing of the ovarian circadian clock is regulated by gonadotropins. *Endocrinology.* 150(9):4338-47.
- ✿ **Zárate, P. A.** 2011. La participación del nervio vago en la regulación de la ovulación es asimétrica y varía durante el día del proestro. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, León, Guanajuato, México.

Participación en foros y congresos de investigación



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

LA DIVISIÓN DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS
y la
CARRERA DE BIOLOGÍA



Otorgan la presente
Constancia a:

LEYDI ESTEFANI GONZÁLEZ ESPINOSA

Por su participación con el trabajo "*Componentes de la fracción mineral de los suelos de Molango, Estado de Hidalgo (México)*" en el FORO DEL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FORMATIVA I del semestre académico 2007-1, celebrado el 9 y 10 de enero de 2007.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, D. F. a 16 de abril de 2007


Q. F. B. Roberto González Meléndez,
Jefe de la División de Ciencias
Químico-Biológicas


M. en C. Carlos Pérez Malvárez
Jefe de la Carrera



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE BIOLOGÍA



III FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA
16 a 20 de junio de 2008

IV Foro de Investigación Formativa XXVI Foro de Salidas Terminales XXXII Foro de Investigación Escolar

SE OTORGA UN RECONOCIMIENTO A:

Leydi Estefani González Espinoza

Por su excelente ponencia :
Evaluación del efecto de extractos acuosos orgánicos de *Argemone ochroleuca* sobre la efectividad de la catalasa en hígado de rata.

Que obtuvo el : **PRIMER LUGAR**
en la categoría: **Cuarto semestre de la Carrera de Biología**

ATENTAMENTE
"Por mi raza hablará el espíritu"
México, D. F., a 23 de junio de 2008


Q.F.B. Roberto Cruz González Meléndez
Jefe de la División de Ciencias Químico Biológicas


M. en C. Carlos Pérez Malvárez
Jefe de la Carrera de Biología

Leydi Estefani González Espinosa

Participación en foros y congresos de investigación



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

CONSTANCIA

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través del Departamento
de Educación Continua

a *Leydi Estefani González Espinosa*

Por haber asistido al VII Congreso de Investigación y I de Posgrado en la FES Zaragoza, organizado por la División de Estudios de Posgrado e Investigación de esta Facultad, impartido del 25 al 28 de octubre del año en curso, con 50 horas de duración.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

México, D.F., a 28 de octubre de 2011.

 UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE BIOLOGÍA
IX FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA
Del 1 al 3 de febrero de 2012 

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: González-Espinosa L. E.¹, Santiago-Chiñas M. L.¹, Zárate-Pérez A.¹,
Dominguez-Casalá R.², Flores-Ramírez A.².

Por la presentación del trabajo:

EL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR DERECHO A LAS 07:00 H EN CADA ETAPA DEL CICLO ESTRAL MODULA LA RESPUESTA OVULATORIA

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
México D.F., a 3 de febrero de 2012



Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez
Director

Leydi Estefani González Espinosa