



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

“FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA”

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

“POSIBLE COMUNICACIÓN INTEROVÁRICA, VÍA EL PLEXO OVÁRICO,
EN LA PERSISTENCIA DEL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO. LA
RATA COMO MODELO DE ESTUDIO.”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P R E S E N T A

BIOL. JUAN ANTONIO DÍAZ RAMOS

TUTOR PRINCIPAL DE LA TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA
FES. Zaragoza UNAM

COMITÉ TUTORAL: DRA. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
FES. Zaragoza UNAM

DR. PABLO GUSTAVO DAMÍAN MATZUMURA.
UAM-Iztapala

MÉXICO DF

MAYO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 11 de marzo de 2013, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO(A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** del (la) alumno (a) **DÍAZ RAMOS JUAN ANTONIO** con número de cuenta **302132270** con la tesis titulada **"POSIBLE COMUNICACIÓN INTEROVÁRICA, VÍA EL PLEXO OVÁRICO, EN LA PERSISTENCIA DEL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO. LA RATA COMO MODELO DE ESTUDIO"**, realizada bajo la dirección del (la) **DRA. LETICIA MORALES LEDESMA**:

Presidente:	DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ
Vocal:	DR. BENJAMÍN FLORAN GARDUÑO
Secretario:	DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR
Suplente:	DRA. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
Suplente:	DR. PABLO GUSTAVO DAMIÁN MATZUMURA
Emergente	DR. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 9 de abril de 2013.

M. del Coro Arizaga
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco:

Enormemente al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM por permitirme fortalecer mi formación profesional.

Al CONACyT, por el apoyo económico brindado para la realización de este estudio, con número de CVU/Becario 385060/254403, y al apoyo otorgado por DGAPA- PAPIIT IN- 211813.

A la Unidad de investigación en Biología de la Reproducción y al Laboratorio de Fisiología Reproductiva, en la UMIEZ, FES. Zaragoza UNAM. Por formar parte de su equipo de trabajo, donde fue realizado este trabajo de investigación.

Al laboratorio de hormonas esteroides en el instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, por las facilidades para realizar las mediciones hormonales de este estudio.

A los miembros del comité tutorial:

- Dra María Esther Cruz Beltrán de la Unidad de investigación en biología de la reproducción UMIEZ, FES Zaragoza UNAM.
- Dr. Pablo Gustavo Damián Matzumura del Departamento de Biología de la Reproducción en la UAM- Iztapalapa.

Por sus valiosos y muy acertados comentarios que enriquecieron este trabajo.

Agradezco de manera personal:

A mi DIOS, por hacer que mi vida se encuentre llena de bendiciones, luz en mi mente y en mis ojos, amor en mí corazón y salud en mi vida.

A la Dra Leticia Morales Ledesma por su apoyo comentarios y sugerencias en el desarrollo de esta tesis.

A mis madres Lidia y Ma. Cristina, por su apoyo Incondicional, consejos y palabras de apoyo y cariño, que me alienta a no detenerme nunca por más oscuro que este el horizonte.

A mi hermano por su apoyo y cariño, porque eres mi ejemplo y mi más grande orgullo, porque tú me enseñaste a no rendirme nunca por más fuerte que sea la adversidad.

A mi esposa, preciosa flor de mi vida por todo tu apoyo y tu incansable sed de superación, que ha hecho en mi crecer como persona, gracias¡¡ mi cielo por todo lo que haces por mi, he aquí un logro más que debo en gran parte a ti. Con todo mi amor.... Te lo agradezco ¡¡¡¡

A mis grandiosas y fantásticas amigas Andy, Azucena y Meche a quienes les debo tanto y que sin eso no hubiera podido hacer esto, GRACIAS CHICAS¡¡

A mis amiguitos del laboratorio Ely, Dey, Rosa, Gabriela, Azu, Alina, Isa 1 e Isa 2, Aldo Noe y Azael.

A mis amiguitos timosines Gaby Juanito e Iveth, por las risas que me hicieron sentir.

Y a mis amigos del laboratorio de inmunobiología de la UMIEZ FES. Zaragoza Gil, Carlos, Toño, Brenda y Sofie por los momentos felices que pasamos este tiempo.

Dedico esta Tesis a mis Madres (Ma. Cristina y Lidia) y a mi esposa, porque gracias a estas mujeres he logrado un triunfo más en mí vida.

“No tenía miedo a las dificultades: lo que la asustaba era la obligación de tener que escoger un camino. Escoger un camino significaba abandonar otros.”

Paulo Coelho

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	1
ABREVIATURAS	3
RESUMEN	6
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	10
MARCO TEÓRICO	11
EL DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA.....	11
PUBERTAD	13
FISIOLOGÍA DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA	13
OVARIO.....	16
FOLICULOGÉNESIS.....	17
PROCESO OVULATORIO.....	21
ATRESIA FOLICULAR	22
ESTEROIDOGÉNESIS	24
INERVACIÓN OVÁRICA	32
PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN OVÁRICA EN LA MODULACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL OVARIO.....	34
EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO (SOPQ).....	37
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	42
HIPÓTESIS	43
OBJETIVOS	44
MATERIAL Y MÉTODOS	45
RESULTADOS	48
EXPERIMENTO UNO: EFECTO DE LA OPERACIÓN SIMULADA EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS	48

EXPERIMENTO DOS: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR (NOS) O DEL NERVIO DEL PLEXO OVÁRICO (NPO) EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS	51
EXPERIMENTO TRES: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS SEGUIDA DE LA SECCIÓN DEL NPO, EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS	55
EXPERIMENTO CUATRO: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE (VE) EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS	59
EXPERIMENTO CINCO: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS O DEL NPO EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL CON SOPQ.	62
EXPERIMENTO SEIS: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS SEGUIDA DE LA SECCIÓN DEL NPO, EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL CON SOPQ.	65
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	69
PARTICIPACIÓN DE LA INFORMACIÓN NEURAL APORTADA POR EL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR Y EL NERVIO DEL PLEXO OVÁRICO EN LAS FUNCIONES DEL OVARIO, EN EL ANIMAL SIN PATOLOGÍA.....	69
PARTICIPACIÓN DE LA INFORMACIÓN NEURAL APORTADA POR EL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR Y EL PLEXO OVÁRICO EN LAS FUNCIONES DEL OVARIO, EN EL ANIMAL CON SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO.....	73
MODELO 1. SECCIÓN DEL NOS+NPO IZQUIERDOS, EN EL ANIMAL SIN LA PATOLOGÍA.	78
MODELO 2. SECCIÓN DEL NPO, EN EL ANIMAL CON SOPQ.	80
MODELO 3. SECCIÓN DEL NOS+NPO DEL LADO IZQUIERDO, EN EL ANIMAL CON SOPQ.	82
CONCLUSIONES	84
BIBLIOGRAFÍA	85

ABREVIATURAS

3β-HSD	3 β hidroxisteroide deshidrogenasa
5β-DHT	5 β dihidroxitestosterona
17β-HSD	17 β hidroxisteroide deshidrogenasa
α-FP	α feto proteína
A₄	Androstenediona
ACAT	Acetil coenzima A
AMPc	Monofosfato de adenosina cíclico
CG's	Células de la granulosa
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
CT's	Células de la teca
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Sulfato de dehidroepiandrosterona
DHT	Dihidroxitestosterona
E₂	Estradiol
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
FBGF	Factor de crecimiento fibroblástico
FFA	Ácidos grasos libres
FSH	Hormona estimulante del folículo
GCMS	Ganglio celiaco mesentérico superior
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
GTD	Guantidina
HDL	Lipoproteínas de alta densidad

H-H-G	Eje hipotálamo- hipófisis- gónada
IGF-I	Factor de crecimiento similar a insulina
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LH	Hormona luteinizante
NA	Noradrenalina
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
NADPH+H	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato en estado reducido
NArc	Núcleo arcuato
NCEH	Hidrolasa de esteres de colesterol de PH neutro
NDM	Núcleo dorsomedial
NGF	Factor de crecimiento neural
NGF-ab	Anticuerpo específico al factor de crecimiento neural
NHP	Núcleo hipotalámico posterior
NMB	Núcleo medio basal
NPeV	Núcleo periventricular
NPV	Núcleo paraventricular
NPY	Neuropeptido Y
NSO	Núcleo supraóptico
NSQ	Núcleo supraquiasmático
NVM	Núcleo ventromedial
P₄	Progesterona
P450scc	Citocromo P450 que corta la cadena lateral (Desmolasa)
POA-AHA	Área preóptica hipotalámica anterior

PT	Propionato de testosterona
SNC	Sistema nervioso central
SOPQ	Síndrome del ovario poliquístico
SP	Sustancia P
SR-BI	Receptores específicos tipo “scavenger”
Star	Proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda
T	Testosterona
VE	Valerato de estradiol
VIP	Péptido intestinal vasoactivo

RESUMEN

El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) es un desorden neuroendocrino, generalmente asociado a anomalías en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. En los últimos 20 años se ha demostrado que, además de la regulación endocrina del ovario, participa la información nerviosa aportada por las fibras que llegan al ovario, siendo la más estudiada la inervación simpática. La inyección de valerato de estradiol (VE), a ratas hembra prepúberes (14 días de edad) o adultas, produce el bloqueo de la ovulación y altera la secreción de hormonas esteroideas, además, e incrementa en la actividad de las fibras nerviosas de naturaleza catecolaminérgica, las cuales se originan en el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS) y viajan hacia el ovario, principalmente a través del nervio ovárico superior (NOS).

En las hembras con el SOPQ, la sección bilateral del NOS restablece las funciones ováricas, mientras que la sección unilateral del NOS induce la ovulación sólo por la gónada inervada, resultados que nos permiten sugerir la existencia de una comunicación entre los ovarios, la cual participa en la regulación de las funciones del ovario y el desarrollo y persistencia del SOPQ.

Con el fin de analizar el papel del NOS y la información del nervio del plexo ovárico (NPO) en el desarrollo del SOPQ, en el presente estudio se utilizó el modelo de la rata con SOPQ, inducido por la administración de VE. Para ello, ratas de 10 días de edad, sin tratamiento o inyectadas con 2 mg de VE disuelto en 0.1 ml de aceite de maíz fueron sometidas bajo anestesia con éter, a la laparotomía dorsolateral izquierda o derecha, o a la sección unilateral del NOS o del NPO. En otro grupo de animales, en un solo acto quirúrgico se realizó en el mismo ovario la sección unilateral del NOS y del NPO (ipsilateral), o bien, se seccionó el NPO en el ovario contrario (contralateral). Como grupo control animales sin ningún tratamiento fueron incluidos. Todas las hembras fueron sacrificadas por decapitación a los 90-92 días de vida al presentarse un estro vaginal, precedido de un proestro. Se evaluó el ciclo estral, la tasa ovulatoria, la concentración sérica de progesterona y estradiol.

En las hembras sin la patología la sección del NPO, no modificó la cuota ovulatoria, mientras que la sección del NOS + NPO del mismo lado, resultó en la ovulación compensadora por el ovario inervado, mientras que la sección contralateral de los nervios no modificó la ovulación.

La sección del NPO no modificó las concentraciones de progesterona y disminuyó la de estradiol. Cuando la información del NOS y NPO izquierdo fue retirada, la concentración de progesterona incrementó y disminuyó la de estradiol.

En las hembras inyectadas con VE con sección unilateral del NOS, la ovulación fue recuperada por la gónada inervada, mientras que, con la sección del NPO se restablece la ovulación por ambos ovarios, en un bajo porcentaje. Con la sección del NOS y NPO del mismo lado, ambos ovarios ovularon, donde el ovario inervado presentó una ovulación compensadora.

En el presente trabajo, en las hembras con SOPQ, la sección del NOS no modificó la concentración de progesterona y estradiol. La sección del NPO disminuye las concentraciones de estradiol, la sección del NOS+NPO izquierdo incrementa la concentración de estradiol. Con la sección del NOS+ NPO derecho disminuye progesterona. En el grupo NOS derecho + NPO izquierdo disminuyó la concentración de estradiol.

Los resultados del presente estudio nos permiten sugerir que en la rata con SOPQ participa tanto la información neural aportada por el NOS como la de NPO. Donde el plexo podría estar comunicando a ambos ovarios y esta información va del ovario izquierdo al derecho.

ABSTRACT

The polycystic ovarian syndrome (PCOS), is a neuroendocrine disorder, usually associated to hipotalamic-pituitary alterations. In the last 20 years, it has been demonstrated a neural regulation in ovarian functions, including the sympathetic innervation. In adult or 14 days old rats, estradiol valerate (EV) injection produces anovulation and steroid hormone secretion abnormalities, increasing neural catecholaminergic activity at the celiac-mesenteric superior ganglia (CMMSG) level, and in the superior ovarian nerve (SON) activity. Bilateral section of the SON restores ovulation in both ovaries, while after unilateral section ovulation occurs mainly in the innervated ovary, suggesting an ovarian neural mechanism associated with PCOS persistence. The aim of present study was to analyze the participation of SON and ovarian plexus nerve (OPN) in PCOS development. As a model of PCOS, 10 day-old female rats of the CII-ZV strain were injected with 2 mg of EV in oil. As control rats without treatment or injected with the vehicle, were used. When the animals were 24 days-old, groups of EV-injected, oil injected and rats without treatment, under ether anesthesia, were submitted to dorso-lateral laparotomy followed or not by the unilateral section of the SON (SONS) or the OPN (OPNS). In other groups the unilateral section of the SON was immediately followed by an ipsilateral or contralateral section of the OPN. All animals were sacrificed by decapitation at 90-92 days old when they presented a vaginal estrus preceded by a proestrus one. Ovulation rate, progesterone and estradiol serum levels were evaluated.

The unilateral section of the OPN rats did not modify the ovulation rate in comparison with laparotomy group. The number of ova shed by the innervated ovary of rats with unilateral section of the SON followed by the ipsilateral section of the OPN was higher than in control groups. Such effect was not observed in rats with unilateral section of the SON followed by the section of the contralateral OPN. Progesterone levels in rats with left section of the SON and OPN were higher than in control groups. Unilateral section of the left OPN resulted in lower estradiol serum levels, than in laparotomy group.

In EV injected rats, the unilateral section of the SON restored ovulation by the innervated ovary, while the unilateral section of the OPN, preceded or not by the unilateral section of the SON, restored ovulation by both ovaries. In rats with unilateral section of SON and OPN the number of ova shed by the innervated ovary was higher than the denervated one. The estradiol serum levels in EV injected rats with unilateral section of the OPN were lower than EV group, while when the left SON was sectioned before the OPN, estradiol levels were higher than EV control group. The section of the right SON and OPN resulted in lower progesterone levels than control groups. The section of the right SON followed by the section of the left-OPN resulted in lower estradiol levels than control.

Present results support the hypothesis on the existence of a neural communication between the ovaries, and suggest that both catecholaminergic nerves innervating the ovaries play a role in the maintenance of the PCOS.

INTRODUCCIÓN

Entre 1925 y 1935, Stein y Leventhal, fueron los primeros en reconocer en la mujer, una asociación entre ovarios poliquísticos y signos de amenorrea, hirsutismo y obesidad. El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ), (McCarthy y Brawer 1990a,b), es la causa más común de infertilidad, con una incidencia del 3 al 10% tanto en mujeres adolescentes como en adultas (Mira 2005; Arizaga 2007) Constituye un desorden heterogéneo, endócrino-metabólico; asociado a alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Schulster y col., 1984; Brawer y col., 1986; Stener-victorin y col., 2005).

Se ha comprobado que la inervación periférica de naturaleza simpática participa en la regulación de la función ovárica. Regula la ovulación, mediante la liberación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), modulando la respuesta del ovario a las gonadotropinas de origen hipofisiario (Flores y Domínguez. 1992). Y también a través la información catecolaminérgica que arriba al ovario por medio del nervio ovárico superior (NOS) y el nervio del plexo ovárico (NPO) (Chávez y col., 1994; Klein y Burden 1988; Lawrence y Burden 1980).

Por estudios de Barria y col. (1993); Lara y col. (1993), se ha asociado al desarrollo del síndrome con el incremento de la actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario mediante el NOS, prueba de ello es el modelo de la rata con SOPQ, la cual presenta incremento en la síntesis del factor de crecimiento neural (NGF), desencadenando una mayor síntesis de noradrenalina (NA), reflejada como incapacidad de ovular, aciclicidad estral y alteración en los patrones de secreción de hormonas esteroides (Lara y col., 1993; 2000; Rosa-E-Silva y col., 2003), características que son revertidas mediante la sección bilateral del NOS. A diferencia de esto, cuando la sección bilateral del NOS es realizada, la gónada que mantiene su inervación intacta, recupera las funciones ováricas, no así la denervada (Morales-Ledesma y col., 2010). Resultados que nos llevan a sugerir la existencia de otras vías nerviosas, que puedan estar participando en el desarrollo y persistencia del SOPQ, vía que pudiera ser dada por NPO, ya que este nervio ha mostrado tener un sitio en común donde las fibras del NOS y el NPO se comunican, el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS), (Klein y Burden 1988). Por lo que en el presente estudio se analizó la participación de la información simpática aportada por el NOS y el NPO en la regulación del desarrollo del SOPQ.

MARCO TEÓRICO

EL DESARROLLO POSTNATAL DE LA RATA

La rata posee gran similitud fisiológica con el humano, es utilizada debido a su fácil manipulación, rápido desarrollo y alto índice reproductivo. En estudios de neuroendocrinología, la rata representa un buen modelo de estudio que permite extrapolar los resultados a otras especies (Becu-Villalobos y Lacau-Meningido 1990).

La rata nace en un estado de inmadurez neural equivalente a los 150 días de gestación en el humano, la diferenciación sexual del encéfalo, es determinado por multiplicidad de factores, originados inmediatamente después del nacimiento, que inician con la diferenciación del encéfalo resultado de la presencia o ausencia de testosterona (T), que culminan cuando el ovario es maduro, capaz de producir estradiol (E_2) en concentraciones suficientes que estimulen la primera ovulación, punto cúspide del inicio de la edad reproductiva (Dorner 1980; Ojeda 1980).

Desde el nacimiento a la pubertad transcurren entre 30 y 40 días y el único signo exterior que señala el inicio de la función reproductiva es la canalización vaginal, que generalmente ocurre el día posterior a la liberación brusca de gonadotropinas, denominado “pico preovulatorio” marcando desde este momento el tiempo en el cual la hembra puede ser preñada (Ojeda 1980; Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990). Con base a parámetros morfo-fisiológicos relacionados con los componentes del eje reproductivo, se han descrito 4 estadios de desarrollo postnatal, previos a la pubertad:

ETAPA NEONATAL (del día cero al día siete). Los receptores a gonadotropinas, se sintetizan a partir del 6to día de vida, con lo que la foliculogénesis en esta etapa es independientemente del estímulo gonadotrópico (Domínguez y col., 1991; Malamed y col., 1992). La unión de la hormona estimulante del folículo (FSH) a sus receptores resulta en la producción de E_2 a partir de T. Las altas concentraciones de la α -Feto Proteína (α -FP) hacen que la concentración de E_2 libre sea baja, lo que impide el establecimiento de la retroalimentación inhibitoria sobre la secreción de gonadotropinas. De manera que la α -FP protege al cerebro de una exposición a altas concentraciones de estrógenos, que

podiera modificar la diferenciación del cerebro. Por otra parte, también regula la disponibilidad del estradiol por los sistemas neuronales sensibles a la hormona. A finales de esta etapa las gonadotropinas son incapaces de generar una respuesta esteroideogénica por el ovario. Las concentraciones plasmáticas de FSH de ser bajas comienzan a incrementarse, mientras que las de la hormona luteinizante (LH) se mantienen bajas (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

ETAPA INFANTIL (8-21 días). Esta etapa se caracteriza por concentraciones muy altas de FSH, fundamentales en el reclutamiento y el crecimiento de los folículos que llegarán a ovular en la pubertad, así como la presencia de picos esporádicos de LH. A partir del día 15 de vida disminuyen las concentraciones de FSH y desaparecen los picos de LH. Se empieza a detectar inhibina en el suero y disminuye la concentración de la α -FP, lo que permite el establecimiento de los mecanismos de retroalimentación negativa del E_2 sobre las gonadotropinas (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

ETAPA JUVENIL (22-32 días). En esta etapa disminuyen las concentraciones plasmáticas de FSH y de la α -FP, mientras que las concentraciones de LH son bajas y constantes. Al inicio de esta etapa, la LH comienza a secretarse en forma pulsátil y hacia el final se incrementan los valores basales y la amplitud de sus pulsos. Las concentraciones más altas se registran en la tarde y presentan un ciclo circadiano. En el ovario se incrementa el número de receptores a LH, lo que se refleja en una mayor capacidad esteroideogénica (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

ETAPA PERIPUBERAL (35- días antes de la primera ovulación). Alrededor de los 35 días de edad, el ritmo circadiano de LH se vuelve estable. Independientemente del control esteroideo, estos picos de LH son los responsables de la estimulación de los ovarios, y como consecuencia una mayor producción de E_2 , que a su vez genera una retroalimentación positiva. En el ovario se observa una mayor cantidad de receptores a las gonadotropinas, lo que a su vez incrementa la concentración de progesterona (P_4), estrógenos y T, las dos últimas hormonas responsables de la canalización vaginal (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990; Ojeda y Urbanski 1994).

PUBERTAD

La pubertad es la fase biológica del individuo en la que se generan una serie de eventos neuroendocrinos y fenotípicos que conducen a la madurez sexual. Es el periodo en donde se alcanza el estado de desarrollo psicosexual y la capacidad de reproducción (Goldman 1981; Gorski 1990; Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990; Odell 1990).

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

La concentración plasmática de la FSH es regulada por los esteroides sexuales y la inhibina. Se produce la disminución de la secreción de FSH como resultado del efecto combinado del aumento en la concentración de E_2 y de la producción de inhibina por los folículos en desarrollo (Becu-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

FISIOLOGÍA DEL EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA

El proceso de maduración sexual y el consiguiente control de la función ovárica, se encuentra regulado por el eje hipotálamo hipófisis gónada (Ojeda 1980; Larrea y col., 1991; Foster y Ebling 1999).

El hipotálamo es parte del sistema nervioso central (SNC), localizado anatómicamente en el diencefalo, en la zona ventromedial, dividido por el tercer ventrículo y ubicado por detrás del quiasma óptico, encima de la eminencia media, delante del mesencéfalo, y limitado lateralmente por la cápsula interna, estructuras rostrales subtalámicas talámicas y el tracto de los cuerpos mamilares (Tamraz 2000) (Figura 1). El hipotálamo recibe información nerviosa a través de conexiones con regiones

cerebrales capaces procesar los estímulos ambientales y producir una respuesta autónoma del organismo con lo cual produce la actividad de muchos otros órganos (Squires 2003).

El hipotálamo produce la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), es vertida hacia el sistema porta hipotalámico hipofisiario, sistema de comunicación de doble capilarización, y viaja hacia la pars distalis de la adenohipófisis, donde se produce la segunda capilarización. Al llegar la GnRH a los gonadotropos estimula la secreción de la FSH y LH (Figura 1). (Norris 2007).

Las neuronas GnRHérgicas del hipotálamo se encuentran reguladas por neuronas de naturaleza opioidérgicas y catecolaminérgicas, entre otras, las cuales convergen en el hipotálamo y regulan la secreción de GnRH (Moenter y col., 1991; Levine y col., 1991; 1995; 1997; Freeman 1994; Hotchkiss y Knobil 1994; Suter y col., 2000; Terasawa 2001; Nunemaker y col., 2002).

Las neuronas hipotalámicas están agrupadas en cúmulos con capacidades similares, es decir la secreción de un determinado tipo de mensaje o señal química. En el estudio del hipotálamo éste ha sido dividido en las siguientes áreas o núcleos; El Área preóptica hipotalámica anterior (POA-AHA), los núcleos supraquiasmáticos (NSQ), ventromedial (NVM), dorsomedial (NDM), hipotalámico posterior (NHP), supraóptico (NSO), paraventricular (NPV), periventricular (NPeV) y el núcleo arcuato (NArc). Estos núcleos y áreas están relacionados con la eminencia media y la adenohipófisis, y las neurohormonas que liberan se denominan factores de liberación o inhibición, estos producen la estimulación de las funciones hipofisarias vinculadas con la reproducción, de las cuales la GnRH es la hormona encargada de la regulación del eje hipotálamo hipófisis gónada (Squires 2003; Norris D. 2007).

La glándula hipófisis, está localizada ventralmente en la parte inferior del cerebro debajo del tercer ventrículo, localizada por debajo del hipotálamo, detrás del quiasma óptico, está asociada anatómicamente y funcionalmente al hipotálamo por el infundíbulo y la eminencia media. Se divide en dos regiones que difieren en origen y función, la hipófisis posterior (neurohipófisis) y la anterior (adenohipófisis) (Figura 1) (Norris 2007).

primordiales, cuando se forman las ovogonias, y se convierten en ovocitos primarios, los cuales se identifican fácilmente en el embrión desarrollado, estos detienen su desarrollo, en la fase de diploteno en la profase de la meiosis I hasta que el desarrollo sexual se complete, es decir un poco antes de que ocurra la primera ovulación y la pubertad (Yao y Bahr 1999).

El folículo es la unidad funcional del ovario, y su apariencia histológica depende de la etapa del desarrollo en la que se encuentre, aunque la organización celular es fundamentalmente la misma (Yao y Bahr 1999). Los folículos se caracterizan por estar rodeados de tejido estromal, tejido compuesto al menos por tres tipos diferentes de células, fibroblastos, que dan soporte a los folículos, células musculares lisas que regulan la contracción de las paredes capilares y células intersticiales, derivadas de células indiferenciadas de la teca, y algunas células derivadas de los folículos atrésicos y cuerpos lúteos involucionados (Figura 2) (Fawcett 1990; Tresguerres 1999; Berne y Levy 2001).

El folículo ovárico se caracteriza por presentar un ovocito rodeado de una “pared folicular” entre éste y la pared hay un espacio interno membranoso, la zona pelúcida. La pared folicular permite el desarrollo del folículo como un “sincitio” y está formada por dos capas, una interna, formada por las células de la granulosa y una externa formada por las células de la teca. Entre las dos capas se encuentra la membrana basal (Tresguerres 1999). En el folículo maduro la teca se divide en dos subtipos, la teca interna y la teca externa, diferenciables por su estructura y la función metabólica que realizan durante el desarrollo del folículo (Figura 3). La teca interna está rodeada por tejido conjuntivo, capilares y terminaciones nerviosas (Yao y Bahr 1999; Berne y Levy 2001). De acuerdo a su estado de desarrollo los folículos se clasifican histológicamente en:

FOLÍCULOS PRIMORDIALES: Consisten de un ovocito primario cuyo diámetro es <20 μm , rodeado de una capa de células aplanadas, que darán origen a las células de la granulosa (Figura 3). Estos folículos se localizan en la corteza por debajo de la cápsula fibrosa del ovario (Goldfien y Monroe 1998; Ross y col., 2005). Durante el desarrollo del folículo primordial, las células foliculares aplanadas se vuelven cuboidales, creando una capa bien empaquetada.

FOLÍCULOS PRIMARIOS: En estos folículos incrementa el tamaño del ovocito (20-60 μm), seguido por la formación de la zona pelúcida, entre el ovocito y la pared celular que lo rodea (Goldfien y Monroe 1998; Van Voorhis 1999; Yao y Bahr 1999). El ovocito primario es rodeado por una capa de células de la granulosa, en la rata comienza a haber folículos en esta etapa de desarrollo alrededor de los 21 días de edad (Figura 3) (Becú-Villalobos y Lacau Meningido 1990; Yen 2001). Mientras el folículo prosigue su desarrollo, las células de la granulosa continúan dividiéndose por mitosis.

FOLÍCULOS SECUNDARIOS: Cuando se han formado de dos a seis estratos de células de la granulosa, el folículo es clasificado como un folículo secundario; en él, la capa sencilla de células de la teca permanece y el folículo incrementa su tamaño (Yao y Bahr 1999; Ross y col., 2005).

Presentan un ovocito primario (70 μm) rodeado por algunas capas de células de la granulosa, el ovocito se sitúa de forma excéntrica y todo el folículo toma una forma ovalada; cuando en la rata el folículo alcanza un tamaño de 200 μm comienzan a formarse algunos espacios entre las células de la granulosa lo que da lugar a la formación de los cuerpos de call-exner, esta característica permite clasificar a este tipo de folículos como preantrale (Figura 3) (Yen 2001). Durante la transición hacia el folículo terciario, las células de la teca se diferencian en dos capas, la externa, cuya función es de sostén, y la interna que posee actividad esteroidogénica (Richards 1978).

Las células de la granulosa proliferan y comienza a producirse la extravasación de los productos celulares, formando el antro folicular, el cual contiene hormonas esteroides y proteicas, anticoagulantes, enzimas y electrolitos, similar a la sangre en apariencia y contenido (Geneser 2000).

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

En la rata los folículos terciarios, poseen un tamaño superior a los 500 μm , tienen abundante número de células de la granulosa y de las tecas totalmente diferenciadas. Los ovocitos ($>70 \mu\text{m}$) de estos folículos están suspendidos en el líquido folicular, por un grupo de células de la granulosa denominado *cumulus ooforus* y rodeados por una capa de células de la granulosa, llamada corona radiada, es en este punto que se vuelve un folículo preovulatorio y posee la apariencia de una vesícula que sobresale de la superficie del ovario (Figura 3).

La primer división meiótica es reiniciada después de la ovulación, cuando se genera el primer cuerpo polar, en este punto el ovocito I, detiene su desarrollo durante la metafase hasta la penetración del espermatozoide en la membrana del ovocito, la cual ocurre en el oviducto, entonces se transforma en un ovocito secundario, cuando ocurre la segunda división meiótica, resultando en la formación del segundo cuerpo polar (Yao y Bahr 1999; Guyton y Hall 2001).

PROCESO OVULATORIO

La ovulación es el proceso de ruptura del folículo y expulsión del ovocito. Este proceso depende de una serie de eventos endocrinos llevados a cabo en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada; el día anterior a la ovulación, las concentraciones de estradiol aumentan, y facilitan a la hipófisis incrementar abruptamente la secreción de gonadotropinas, que en el ovario producen cambios hormonales y enzimáticos, la superficie del ovario es presionada por el folículo contra la túnica albugínea, se produce lo que se conoce como el estigma, se rompe la pared folicular y el epitelio superficial ovárico y, del antro del folículo se libera el ovocito (Figura 4) (Bergman y col., 1998; Yen 2001; Gartner y Hiatt 2008).

aromatización de los andrógenos y su acumulación en el folículo, favoreciendo la atresia (Domínguez y col., 1991; Fortune 1994). Por estudios *in vitro* se ha mostrado que las células de la granulosa son reguladas por diversos factores de crecimiento, así como por la FSH y los esteroides sexuales. La integridad estructural y funcional del complejo folicular depende del estado del ovocito. La muerte y degeneración del ovocito son consecuencias inevitables de la atresia, la continuidad de la meiosis y la expulsión de al menos el primer cuerpo polar, pueden ser manifestaciones tempranas de atresia en algunos folículos, y en cualquier caso el folículo desarrolla picnosis seguida de necrosis y reabsorción completa. La secuencia de eventos de la atresia folicular se observa por una serie de características morfológicas y moleculares: (Byskov 1978; Ojeda y Urbanski, 1994; Fortune 1994).

- **Rompimiento de la vesícula germinal y apoptosis**
- **Picnosis nuclear en células de la granulosa y de la teca**
- **Insensibilidad a Gonadotropinas y ausencia de FSH en el fluido folicular**
- **Disminución de la producción de E2 y P4**
- **Incremento en el número de gránulos (lípidos y proteínas) en el ovocito**
- **Incremento en la expresión de IGF, angiotensina II.**
- **Disminución de proteínas conformantes de uniones gap en células de la granulosa e inestabilidad estructural**
- **Hipertrofia de las células de la teca y aumento en la formación de células intersticiales**
- **Producción de inhibidores de tripsina**
- **Disminución de la colagenasa intersticial en la teca.**

En cada ciclo ovárico se produce la selección de los folículos que van a crecer y se establece la dominancia de aquellos que van a culminar con la ovulación, lo que estimula que los demás folículos en desarrollo experimenten la atresia, ya que las células de la teca producen más andrógenos y disminuye la capacidad de las células de la granulosa para aromatizarlos (Fortune 1994). Del mismo modo, existen factores que rescatan a los folículos de la atresia, entre los más conocidos se encuentran las gonadotropinas, los estrógenos, el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento neural (NGF), el factor de crecimiento semejante a la insulina (IGF-I) y el factor de crecimiento fibroblástico (FBGF) (Braw y Tsafirri 1980; Gougeon 1986; Billig y col. 1996; Markstorm E. y col. 2002).

Con base en algunos criterios morfológicos la atresia ha sido clasificada en tres etapas:

PRIMARIA (menos severa): El folículo presenta alrededor del 10% o menos de células de la granulosa con picnosis nuclear y disminución de la tasa de proliferación celular.

SÍNTESIS DE PREGNENOLONA

El primer paso en la esteroidogénesis es el ingreso de la molécula de colesterol a la membrana interna de la mitocondria, con ayuda de la proteína reguladora de la esteroidogénesis aguda (StAR), una vez dentro de la célula, en la molécula se reduce el número de carbonos, pasando de una molécula de 27 a otra de 21 (Berg y col., 2008; Yen y Jaffe 2009), estas reacciones se producen por las oxidaciones catalizadas por enzimas de la familia del citocromo. La enzima que actúa en primer lugar es la citocromo P450 de anclaje de la cadena lateral (P450_{scc}) con actividad desmolasa (Figura 7), que corta la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol, dejando como resultado la formación de un residuo de ácido isocapróico y pregnenolona sin liberación de productos intermediarios (Berne y col., 1999; Yen 2001; Squires 2003).

La síntesis de pregnenolona por la célula de la teca requiere de tres enzimas, el citocromo P450_{scc}, la adrenoxina y una flavoproteína (la nicotinamida adenina difosfato (NADPH) con actividad adrenoxin-reductasa), además de los fosfolípidos para crear la interacción entre el colesterol y las enzimas. El proceso consume NADPH reducido (NADPH+H) y oxígeno molecular. En este punto, la síntesis de pregnenolona va a depender de la cantidad de colesterol presente en la célula, del acceso de éste al interior de la mitocondria y de la cantidad disponible de enzima activa (Díaz 2004).

SÍNTESIS DE PROGESTERONA

La progesterona es el más importante de los progestágenos, posee 21 carbonos. Su función es estimular el crecimiento del endometrio del útero en preparación para la implantación del óvulo fecundado, y su mantenimiento durante la preñez. Su síntesis se lleva a cabo predominantemente durante la última parte del ciclo reproductivo en los folículos periovulatorios y en el cuerpo lúteo. Después de la fecundación, la placenta secreta cantidades suficientes de progesterona, de modo que se auto abastece y permite llevar a término al producto (Squires 2003).

Una vez que la pregnenolona sale de la mitocondria y pasa hacia el retículo endoplásmico, puede ser transformada a otras moléculas por dos rutas biosintéticas:

1) La vía de las cetonas o ($\Delta 4$) es la ruta de las moléculas que poseen un enlace de insaturación entre la posición del C4 y C5 y presentan un radical ceto en C3, esta vía

predomina en las células del cuerpo lúteo, donde a partir de pregnenolona se sintetiza 17α -hidroxiprogesterona (Berg y col., 2008).

2) En la vía ($\Delta 5$) la molécula esteroide posee un enlace de insaturación entre el C5 y C6, un radical hidroxilo en C3, esta vía predomina en el folículo ovárico y como producto final se produce dehidroepiandrosterona (DHEA) (Berg y col., 2008).

En la ruta $\Delta 4$ es necesaria la acción de dos complejos de enzimas, ambos, se encuentran en el retículo endoplásmico, el primer complejo, es la 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β -HSD) y una enzima isomerasa (4-5 isomerasa), que forma un doble enlace entre la posición del C4 y C5, juntas convierten la pregnenolona en P_4 . El segundo complejo, por acción de la 17α -hidroxilasa (CYP17a1) convierte la progesterona en 17α -hidroxi-progesterona (Figura 8), ésta experimenta posteriormente el efecto de la $17, 20$ liasa para formar DHEA y acetaldehído, y posteriormente es oxidada en el C3 por la 3β -HSD en presencia de NADPH+H; como consecuencia de la oxidación se produce la isomerización del doble enlace en posición C5-C6, por la enzima isomerasa (Leung 2004; Díaz 2004).

SÍNTESIS DE ANDRÓGENOS

En el ovario, la síntesis de andrógenos ocurre en las células de la teca, en respuesta a la acción de la LH, y el producto de su actividad, provee de sustrato a las células de la granulosa (Figura 9) (Yen 2001; Leung 2004; Díaz 2004). Los andrógenos más activos son la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT), ambos de 19 carbonos. La síntesis se lleva a cabo en el testículo y en el ovario, en éste último también se produce androstendiona y DHEA (Yao y Bahr 1999).

Tanto la pregnenolona como la P_4 son sustratos de la citocromo específico CYP17a1, enzima del retículo endoplásmico que cataliza la formación de andrógenos. Esta enzima y la flavoproteína (NADPH-citocromo P450 reductasa), forman un complejo multienzimático que cataliza dos reacciones bioquímicas. En el caso de que el sustrato de la CYP17a1 fuera la pregnenolona, el primer producto que aparece es la 17α -OH-pregnenolona, y el segundo la DHEA, un andrógeno débil. La DHEA requiere una ulterior transformación por la 3β HSD para dar lugar a la androstendiona (Figura 8). La actividad enzimática de la 3β HSD es siempre la misma, cualquiera que sea el sustrato sobre el que

actúa, que además de los mencionados (pregnenolona y DHEA), puede ser también la 17 α -OH pregnenolona (Figura 8).

Si el sustrato fuera la P4, experimenta un primer ataque que lo convierte en su forma 17 α -hidroxilada y luego desprende la cadena lateral (actividad 17,20 liasa) dejando un grupo ceto en C17, el producto intermedio, la 17 α OH-progesterona (Figura 8) (Leung 2004).

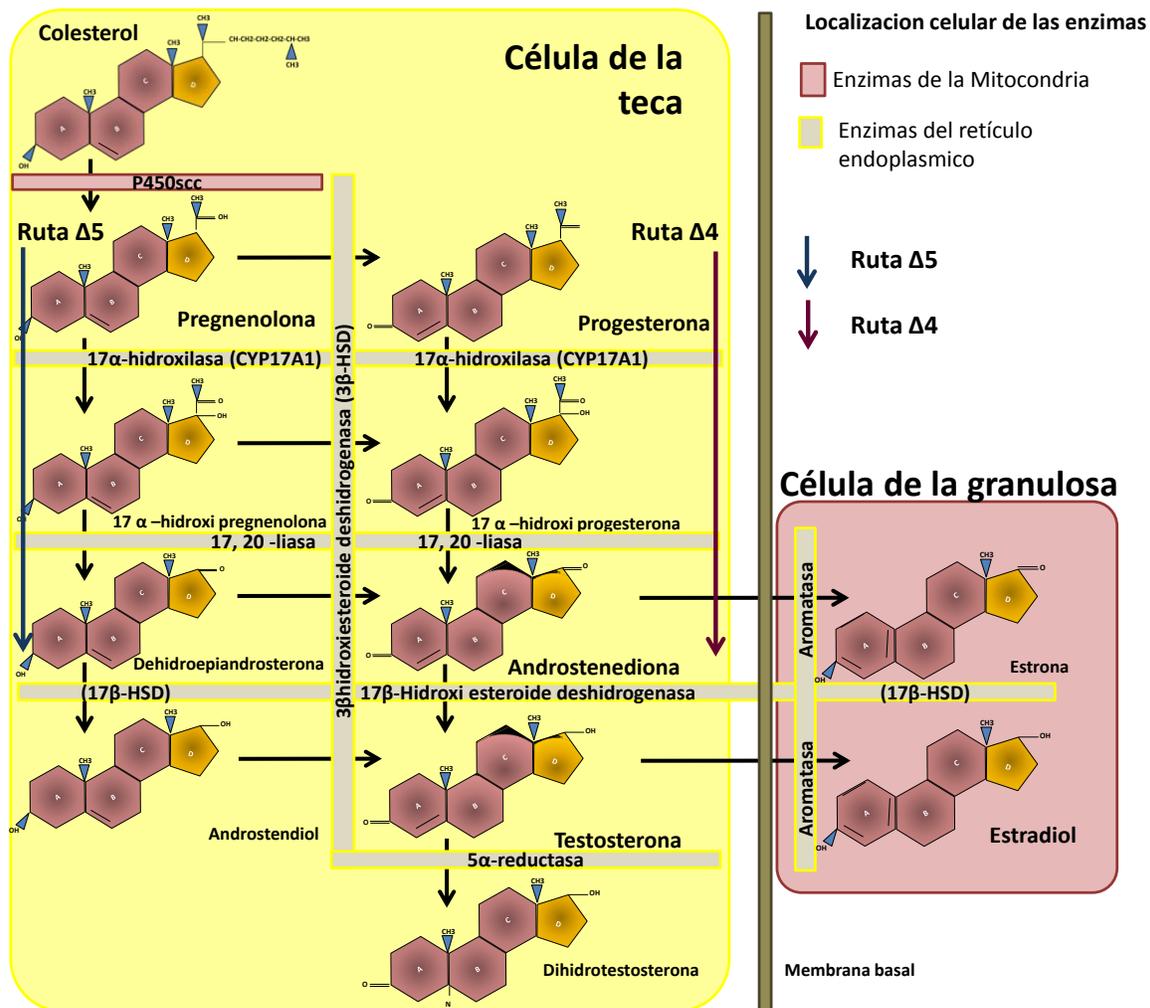


Figura 8. Ruta biosintética de hormonas esteroideas (Tomado y modificado de Yen y Jaffe 2009). La figura muestra la ruta metabólica de la síntesis de esteroideos, partiendo de una molécula de colesterol convertida a pregnenolona y progesterona, sustratos para la formación de andrógenos en la célula de la teca y transportados a la célula de la granulosa para la transformación a estrógenos, señalando cada uno de las enzimas involucradas.

Durante el embarazo, la 17 α OH-progesterona no es producida por la placenta, ya que carece de actividad de la CYP17a1, por lo que es utilizada como marcador de esteroidogénesis ovárica (Figura 8) (Díaz 2004). La 17 α OH-progesterona es finalmente convertida en A_4 , precursor de los andrógenos y estrógenos.

La A_4 es convertida en testosterona por la 17 β -hidroxi-esteroide-deshidrogenasa (17 β -HSD), enzima que también convierte la estrona a E_2 . La reducción del grupo ceto en C17 es un paso obligatorio en la síntesis de testosterona y E_2 , pero no en la síntesis de estrona. (Figura 8). La 17 β -HSD, está en el retículo endoplásmico, y cataliza la reacción en ambos sentidos: hidroxilo C19 a ceto, o viceversa. En el ovario, la androstenediona, precursor de la estrona, es principalmente convertida a T en las células de la teca, y escasamente pasa a la granulosa. La estrona que encontramos en el plasma procede de la conversión de estradiol a estrona en el hígado y tejido adiposo, mediante la 17 β -HSD hepática (Leung 2004).

SÍNTESIS DE ESTRÓGENOS

La síntesis de estrógenos requiere la participación de las células de la teca y de la granulosa, en respuesta al estímulo de las gonadotropinas, éstas incrementan la concentración de AMPc. En las células de la teca al unirse la LH a su receptor, se produce el incremento de la concentración de AMPc, lo cual resulta en el aumento de la actividad de las enzimas involucradas en el proceso de transformación del colesterol en los distintos pasos hasta andrógenos, y en las células de la granulosa la FSH unida a su receptor mediante la señalización del AMPc, activa el complejo aromatasa necesario para la formación de estrógenos (Norman A. 1997) por lo que este proceso de síntesis en conjunto se denomina la teoría de la doble célula-doble hormona.

Parte de la testosterona sintetizada por las tecas es vertida al torrente sanguíneo y parte transportada hacia el compartimento de las células de la granulosa, donde se aromatiza (Figura 8 y 9) (Yoshinaga 1999; Leung 2004).

Las células de la granulosa se encuentran reguladas por la FSH, la cual estimula la producción de estrógenos durante la fase folicular, y de progesterona por parte de las células del folículo maduro antes de ser ovulado (Yao y Bahr 1999; Squires J. 2003; Leung 2004; Diaz y Hicks 1995; Diaz 2004). En las células de la granulosa de los folículos

primero una hidroxilación del C2, el segundo la epoxidación entre el C4 y C5, seguido de la formación de un enlace de insaturación entre C1 y C2 y la ruptura del enlace entre C9 y C10 así como la descarboxilación del C10, lo que resulta en el reordenamiento del anillo A, es decir un anillo con tres dobles enlaces en posición C1-C2, C3-C4, C5-C10; el tercero una peroxidación del C19 y formación de un doble enlace entre C1 y C10 (Gore-Langton y Armstrong 1994; Díaz 2004).

Cuando en la mujer el ovario deja de responder al estímulo de la FSH, la aromatasa deja de sintetizarse en cantidades relevantes. En consecuencia, toda la síntesis de estradiol tiene lugar prácticamente en tejidos extraováricos, la grasa subcutánea es responsable de la síntesis de la mayor parte del estrógeno circulante (Díaz 2004).

INERVACIÓN OVÁRICA

Además de las hormonas, el ovario está regulado por el sistema nervioso periférico (SNP) que, a su vez, se divide en simpático, parasimpático y sensorial (Tresguerres 1999; Yen y Jaffe 2009; Burden, 1985; Gerendai y col., 1999; Doganay y col., 2009; Dissen y col., 1999; Sosa y col., 2000; 2004; Casais y col., 2006). Estas vías arriban al ovario por el hilio (Lawrence y Burden 1980; Gerendai y col., 1999).

La inervación ovárica, de naturaleza simpática (Figura 10), se origina desde la onceava vértebra torácica a la cuarta vértebra lumbar (T11-L4) de la cadena de ganglios simpáticos que forman el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS) (Dissen y Ojeda 1999). La inervación simpática llega al ovario por dos rutas:

1) El nervio ovárico superior (NOS) corre junto con el ligamento suspensorio e inerva, vasos sanguíneos, células de la glándula intersticial y células de la teca; las células de la granulosa y el cuerpo lúteo no se encuentran inervados pero presentan receptores β -adrenérgicos, capaces de responder a los estímulos noradrenérgicos (Burden 1985; Dissen y Ojeda 1999). El NOS transporta noradrenalina (NA), Neuropéptido Y (NPY) y el péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Lawrence y Burden 1980; Klein y Burden 1988; Hsueh y col., 1984; Aguado y Ojeda 1984a).

2) El nervio del plexo ovárico (NPO) acompaña a la arteria ovárica, se origina en su mayoría del GCMS (Figura 10), (Baljet y Drukker 1979; Klein y Burden 1988; 1989; Vega

Orozco y col., 2012), aunque también parte de sus fibras sensoriales se originan en el ganglio nodoso y células ganglionares de la raíz dorsal las cuales descienden junto al nervio vago y hacen sinapsis en el GCMS, para después arribar al ovario (Burden 1977; 1978; 1985). Inerva principalmente la vasculatura (Klein y Burden 1988; Dees y col., 1995). Este nervio está formado por fibras de naturaleza simpática (transportan NA y NPY) y fibras sensoriales que llevan sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)] (Burden 1978; 1985; Calka y col 1988; Klein y Burden 1988; 1989).

La SP y el CGRP actúan directamente sobre la regulación del flujo sanguíneo del ovario, más que sobre la esteroidogénesis o el desarrollo folicular (Leung y Adashi 2004; Stener Victorin y col. 2004; Dees y col 1995; Klein y Burden 1988).

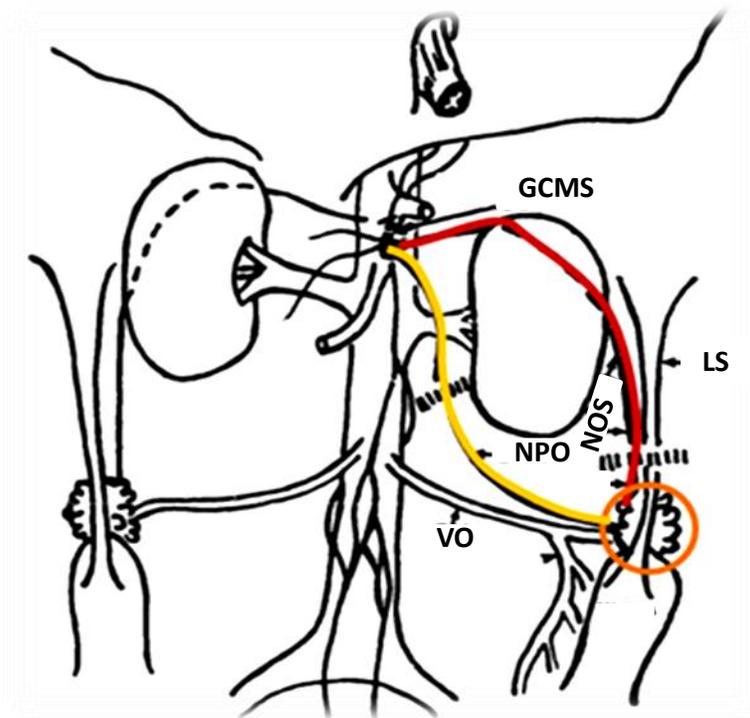


Figura 10. Esquema que muestra la trayectoria de la inervación ovárica de la rata, VO: vena ovárica, NPO: nervio del Plexo ovárico, NOS: nervio ovárico superior, LS: ligamento suspensorio, GCMS: ganglio celiaco (tomado y modificado de Klein y Burden 1988).

PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN OVÁRICA EN LA MODULACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL OVARIO

El crecimiento folicular, la ovulación y la esteroidogénesis ovárica son reguladas por la inervación que llega al ovario. En el análisis de la participación de la inervación ovárica se han utilizado modelos en los que se estimulan las fibras nerviosas o bien se eliminan éstas por medios quirúrgicos o farmacológicos (Ojeda y col., 1980; Aguado y Ojeda, 1984a,b; Selstam y col., 1985; Morales-Ledesma y col., 1993, Chávez y col., 1991; Morán y col., 2000; 2003; 2005; Vieyra, 2007; 2011; Zhang y col., 2010; Sosa y col., 2004; Delgado y col., 2010; Vega Orozco y col., 2012).

En hembras pre-púberes, la sección bilateral del NOS no afecta la ovulación espontánea (Aguado y Ojeda 1984 a; Selstam y col., 1985;), mientras que la sección unilateral resulta en la disminución de la cuota ovulatoria por el ovario denervado y aumenta por el ovario inervado (Morales-Ledesma y col., 1993). En el animal adulto, la sección bilateral disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario derecho, 20 días después de la denervación (Chávez y col., 1991), mientras que la sección del NOS-derecho, realizada a las 17:00 hrs del proestro, disminuye la cuota ovulatoria por parte del ovario denervado 24 horas post-denervación (Ramírez 2011).

La sección bilateral del NOS realizada a las 11:00 h o 16:00 h del proestro, resulta en la disminución de la concentración de P_4 y E_2 , desde los primeros 4 min hasta los 24 min después de la sección (Aguado y Ojeda, 1984b), Mientras que la denervación realizada entre las 11:00 y 12:30 no modifica la concentración de estradiol, pero la de progesterona disminuye a los 30 min y se normaliza 4.5 h después de la denervación (Erskine y Weaver 1988). En la rata de 16 días de edad, la sección del NOS-derecho, incrementa la concentración de P_4 a los cuatro días post-cirugía, mientras que la sección del NOS-izquierdo lo hace a los 12 días. Este efecto estimulante del NOS en la secreción de P_4 se invierte cuando se evalúan los efectos 16 días post-denervación. De igual manera, la regulación del NOS en la secreción de E_2 depende del tiempo post cirugía, donde inicialmente es estimulante y al final de su estudio es inhibitorio (Morán y col., 2000).

A principios de la década de los 80's, se mostró que en la rata adulta la información neural que transcurre por el NOS participa en la secreción de progesterona, debido a que la estimulación eléctrica del nervio en el día del diestro, incrementa la concentración de la hormona (Weiss y col., 1982; Zieher 1981). Estudios recientes de nuestro laboratorio han permitido mostrar que en la rata adulta el NOS izquierdo y derecho regulan de manera diferencial la secreción de las hormonas ováricas. Así, la sección del NOS-izquierdo, a las 11:00 hrs del D1, incrementa la concentración de P_4 a las 24 hrs, y disminuye cuando la cirugía se realiza a las 17:00 hrs del mismo día del ciclo. En las mismas condiciones experimentales la sección del NOS-derecho no modificó la concentración de la hormona (Ramírez 2011).

La secreción de E_2 es regulada de manera asimétrica por el NOS, y depende del día del ciclo estral y del tiempo post-denervación. Esto se apoya en el hecho que el NOS-izquierdo estimula la secreción de estradiol en el día del D1, mientras que el NOS-derecho la inhibe en el día del P (Ramírez 2011).

En la rata la sección del NOS resulta en la disminución de la concentración de NA ovárica (Chávez y col., 1991; 1994), que se acompaña por la disminución del número de folículos grandes y aumento en el número de los folículos atrésicos (Morán y col., 2000). Estas alteraciones en la dinámica del crecimiento folicular podrían explicar la disminución de la respuesta ovulatoria por parte del ovario denervado (Morales-Ledesma y col., 1993). Estos resultados tomados en conjunto sugieren que el NOS, participa en la regulación de las funciones ováricas por medio de la actividad de sus fibras noradrenérgicas (Chávez y col., 1991; 1994; Morán y col., 2000).

La mayor parte de las evidencias experimentales han postulado que la secreción de hormonas esteroides ováricas es regulada por la NA aportada por el NOS, aunque no podemos olvidar que por este paquete neural la gónada recibe información peptidérgica, entre ella se encuentra el VIP. Este péptido induce el incremento de P_4 y E_2 en respuesta a la mayor expresión del complejo P450scc y de las aromatasas (Davoren y Hsueh 1985; George y Ojeda 1987; D'abora y col., 2002).

Se ha planteado la existencia de una comunicación entre los ovarios por medio de las fibras originadas en el ganglio celiaco, de donde se proyectan el NOS y el NPO (Aguado y Ojeda 1984a). Es posible que la regulación de las funciones ováricas no dependa sólo de la participación de un solo tipo de información nerviosa, sino más bien sea el resultado de la coordinación de distintas vías nerviosas que llegan al ovario.

En apoyo a esto, se ha mostrado que cuando se realiza una simpatectomía por la administración del anticuerpo a NGF (NGF-ab), se produce retraso en la pubertad y aumenta el número de folículos totales, dado principalmente por los folículos preantrales (Lara y col., 1990b). Los autores sugieren que la alteración en el crecimiento folicular se produce en respuesta no sólo a la destrucción de las fibras simpáticas sino también de las sensoriales. Esto se confirma por el hecho de que la eliminación selectiva de la información noradrenérgica por la inyección de guanetidina (GTD), produce una respuesta contraria a la del NGF-ab, donde disminuye el número total de folículos, dado principalmente por una caída en el número de folículos preantrales (Lara y col., 1990a).

Otras evidencias que apoyan la participación de la inervación sensorial en los procesos reproductivos es la reportada por Morán (2003), quien mostró que en el animal recién nacido la destrucción de la información sensorial del ovario por la inyección de capsaicina, retrasa la edad del primer estro vaginal, disminuye el número de ovocitos liberados y el porcentaje de animales preñados.

La electro-estimulación del NOS incrementa la actividad eléctrica del NPO, de igual manera, la estimulación del NPO resulta en mayor actividad del NOS (Klein y Burden 1988; Kagitani y col 2008). Lo cual plantea el posible intercambio de la información entre el NOS y el NPO, y que de esta manera podría establecerse una vía de comunicación entre los ovarios. Si bien, tanto por el NPO como del NOS llega NA al ovario, al NOS se le ha asociado con la regulación de la esteroidogénesis, mientras que al NPO con la regulación del flujo sanguíneo. El grupo de Kagitani (2008) mostró que la estimulación eléctrica del NOS o del NPO disminuye el flujo sanguíneo y sólo la estimulación del NOS induce disminución en la concentración de estradiol.

Con base en las evidencias que tenemos al momento, surge la idea de que las funciones del ovario se realizan en respuesta a una coordinación entre las diferentes fibras nerviosas que recibe la gónada.

EL SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO (SOPQ)

El síndrome del ovario poliquístico (SOPQ) es considerado la causa más frecuente de esterilidad femenina relacionada con anomalías en el funcionamiento del eje reproductivo (Yen 2001; Matalliotakis y col., 2006). El SOPQ, es un desorden endocrino que afecta del 3 al 10% de las mujeres en edad reproductiva, las cuales presentan alteraciones heterogéneas que incluyen anovulación crónica, amenorrea e infertilidad, hiperandrogenismo clínico o bioquímico y desarrollo de quistes ováricos (Arizaga 2007; Goodarzi y col., 2011). Estas características pueden ser modificadas por factores ambientales como la dieta, el ejercicio y el estrés (Rosa-E-Silva y col. 2003; Krishna B. y col. 2005; Mira 2005).

Las primeras evidencias obtenidas sobre el SOPQ son los provenientes de estudios de Stein y Leventhal entre 1920 y 1925, quienes documentaron y relacionaron este síndrome con un cuadro de amenorrea e hirsutismo acompañado de obesidad. Stein, en 1935, documentó que tras una recesión ovárica bilateral en forma de cuña, se restablecía la fertilidad de la paciente y se observaba normalización de los ciclos ováricos, con lo cual se postuló que estos padecimientos se debían a una alteración propia del ovario, llamándolo en principio como la enfermedad ovárica poliquística (Yen 2001; Arizaga 2007; Goodarzi y col. 2011).

En las últimas dos décadas el Instituto Nacional de Salud de EU ha tratado de buscar una definición para el SOPQ; en 1990 se llegó al acuerdo de diagnosticarlo como SOPQ cuando se presenten los siguientes síntomas, evidencias clínicas o bioquímicas (Mira 2005):

1. Hiperandrogenismo
2. Oligoamenorrea o amenorrea
3. Morfología poliquística
4. Exclusión de otras enfermedades como Cushing, hiperplasia adrenal congénita, hiperprolactinemia u enfermedades tiroideas o virilizantes

Entre el 75 y 80% de las pacientes que presentan ovario poliquístico, realmente tienen el síndrome, en muchos casos se debe descartar hipogonadismo hipogonadotrópico u ovarios multifoliculares. En la mujer, el desarrollo de quistes ováricos se caracteriza por presentar folículos quísticos periféricos y redondos con hipertrofia del estroma y de las células tecales (Yen 2001; Mira 2005). Actualmente se sabe que en el SOPQ, existen alteraciones bioquímicas en la fisiología de la paciente, 35-90% de las pacientes presentan hiperandrogenismo y en la gran mayoría de ellas se acompaña del incremento de las concentraciones de LH y de la relación LH/FSH, por arriba de 2/1 (Franks y col., 1998; 2005; Abbott y col., 2005; 2008; Xita y Tsatsoulis, 2006; Stener-Victorin y col. 2004; 2005). Sólo del 1-5% de la población reúne las características clínicas para ser diagnosticada con SOPQ, excluyendo a las pacientes con formas leves de la patología (Mira 2005; Arizaga 2007; Manni y col., 2006). Alrededor del 25% de las pacientes con SOPQ presentan irregularidades menstruales y 50% presenta hirsutismo y síndrome metabólico. Todo esto en conjunto revela que el SOPQ posee un fenotipo heterogéneo, en el que es más difícil delimitar grupos clínicos y acordar un diagnóstico en común (Manni y col., 2006).

Las pacientes pueden ser identificadas por presentar problemas reproductivos, en el hipotálamo se presentan alteración en la amplitud y frecuencia de la secreción de GnRH, lo cual en la hipófisis genera isoformas básicas de LH con mayor bioactividad, disminución de la secreción de FSH y en el folículo ovárico hiperactividad de las células de la teca e inactividad de las células de la granulosa, lo que genera la formación de quistes ováricos, anovulación y concentraciones altas de andrógenos, bajas de progesterona y concentraciones tónicas de estrógenos que generan un circuito difícil de poder discernir en donde se inicia. Además de esto, muchas de las pacientes suelen presentar problemas metabólicos, como obesidad, insulino-resistencia y diabetes tipo 2, e incluso problemas de salud en general (Barria y col., 1993; Yen 2001; Mira 2005).

La complejidad del síndrome lleva a la necesidad de buscar alternativas para el estudio de la disfunción, con el fin de contribuir a la explicación de los factores que desencadenan su desarrollo. Varias de las características del SOPQ observadas en mujeres, han sido reproducidas experimentalmente. El uso de distintas metodologías y modelos animales han servido para entender el desarrollo y fisiopatología del SOPQ (Abbot y col., 2005). Un método no farmacológico para inducir el SOPQ es, mediante la exposición a luz constante, que resulta en la formación de quistes ováricos e

irregularidades en el ciclo reproductivo. Otro es el bloqueo del sistema límbico, mediante lesiones electrolíticas, que produce la desregulación en el control de la secreción de GnRH, involucrada en el control de las funciones ováricas (Singh KB. y col. 1967; 1969 a y b; Krishna y col., 2005).

Poco se sabe sobre los mecanismos neurales involucrados en la inducción del SOPQ; la inyección de hormonas esteroides, logran además de reproducir la morfología ovárica del síndrome, las características endocrinas observadas en otros modelos animales y en el humano. Una de las características más evidentes en el SOPQ en humanos es la presencia de hiperandrogenismo. En la rata, puede ser reproducido por la administración de andrógenos, 5β dihidroxi-testosterona (5β -DHT), sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS) o propionato de testosterona (PT), los cuales son utilizados por ser andrógenos capaces de desarrollar quistes ováricos y producir la condición anovulatoria; sin embargo, las concentraciones de gonadotropinas y estradiol son similares a aquellas hembras que no fueron administradas con ningún fármaco, razón por la cual no desarrollan todas las características observadas en la mujer (Krishna y col., 2005).

El modelo animal más utilizado para inducir el síndrome es generado mediante la inyección de valerato de estradiol (VE), éste produce el desarrollo de quistes foliculares caracterizados por un engrosamiento de la capa de las células de la teca y disminución en el número de células de la granulosa, lo que conlleva a la disminución de la concentración de estradiol en el organismo y que, como mecanismo de retroalimentación genera en la hipófisis aumento en la secreción de LH y disminución en la de FSH, al mismo tiempo, en el hipotálamo se produce aumento en la frecuencia y amplitud del patrón de secreción de GnRH (Franks 2005). El SOPQ no sólo resulta de alteraciones endócrinas, actualmente se acepta que puede estar asociado a la alteración en la actividad del sistema nervioso periférico (Lara y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). En apoyo a esta idea, el grupo de Lara (1993) mostró que previo al desarrollo del SOPQ, se produce hiperactividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario y que la estimulación por electro-acupuntura en la zona en donde se originan los nervios ováricos, resulta en la desaparición de los quistes foliculares (Stener-Victorin y col., 2005).

El análisis por histofluorescencia de los ovarios con SOPQ inducido por VE, demostró una mayor densidad de fibras catecolaminérgicas, que ha sido atribuido al incremento en el NGF ovárico y disminución de su receptor de baja afinidad p75 (Lara y col., 1993). El

NGF es una citosina que al adherirse a su receptor específico, produce una cadena de señalización que viaja de manera retrógrada en la neurona intraovárica y actúa sobre el ganglio celiaco facilitando la producción de una mayor cantidad de TH, enzima encargada de la síntesis de catecolaminas. Estas evidencias han permitido sugerir que el síndrome se origina en respuesta a la hiperactividad del sistema simpático (Hemmings y col., 1983; Schulster y col., 1984; Brawer y col. 1978; 1986; Lara y col., 2000; Dissen y col., 2000; Rosa-E-Silva 2003).

En estudios clínicos se ha demostrado que el corte en cuña del ovario, especialmente de aquella región que incluye el hilio (el punto donde los nervios entran al ovario), es efectivo en pacientes que no presentan respuesta al tratamiento convencional con citrato de clomifeno, lo cual sugiere que la información que llega al ovario por el hilio, puede ser crucial en la regulación de las funciones ováricas. Para demostrar que el SOPQ es el resultado de una mayor actividad simpática del ovario, el grupo de Barria (1993) realizó la sección bilateral del NOS, principal fuente catecolaminérgica del ovario y observaron el restablecimiento del ciclo estral y de las funciones ováricas. Esto se produce acompañado por la normalización de la concentración ovárica de noradrenalina y del NGF intraovárico (Lara y col. 1993; 2000; 2002).

En el 2010 sugerimos que el SOPQ no solamente se debe a la mayor actividad de las fibras simpáticas, dada por el incremento en la concentración de noradrenalina, ya que la sección unilateral del NOS restablece la función ovárica del ovario inervado, no así en el denervado (Morales-Ledesma 2010).

Por los resultados que se han generado por nuestro grupo de trabajo, planteamos que el desarrollo del SOPQ no sólo depende de la noradrenalina que llega al ovario por el NOS, sino que también participa el VIP y la información neural que llega por el NPO y por el nervio vago. En la rata con SOPQ a la cual se le realiza la sección del NOS, la estimulación con VIP aumenta la secreción de testosterona solamente cuando el ovario estimulado es el izquierdo, resultados que sugieren un aporte diferencial de VIP por el NOS (Parra y col., 2007; Rosas 2006; 2011). Por otra parte, hemos observado que la vagotomía uni o bilateral resulta en el restablecimiento de la función ovulatoria por ambas gónadas y la normalización de la concentración de las hormonas esteroideas (Linares 2011). El hecho de que ambos ovarios respondan, nos lleva a pensar que existe un mecanismo por el cual se comunican los ovarios y que podría estar dado en el ganglio

celíaco, donde se localizan los somas del NOS, del NPO y fibras provenientes del vago (Sosa y col. 2000; Casais y col. 2006).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SOPQ se ha asociado con una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario por el NOS, de manera que si se realiza la sección bilateral del nervio se restablecen las funciones ováricas. Sin embargo, la sección unilateral del NOS resulta en el restablecimiento de la ovulación por la gónada inervada aún cuando la concentración de NA es alta, en tanto que, en el ovario denervado disminuye significativamente la concentración de la amina pero no ovula. Estos resultados nos hacen pensar que el SOPQ no sólo es originado por la hiperactividad de las fibras simpáticas que llegan por el NOS, sino que podrían estar participando otras vías como el nervio del plexo ovárico. El hecho de que responda el ovario inervado podría ser el resultado de una comunicación neural entre los ovarios, que podría estar dada por el NPO.

Algunas de las evidencias que apuntan a una comunicación entre los ovarios a través del NOS y el NPO son:

- 1) Estudios inmunohistoquímicos muestran que a nivel del GCMS se encuentran las somas de las neuronas que van a originar al NOS y NPO.
- 2) Ante la estimulación eléctrica del NOS, se registra un incremento de la actividad eléctrica del NPO, de igual forma la estimulación del NPO, resulta en la activación del NOS.

Por lo que en el presente estudio, se decidió analizar la participación conjunta de la información neural aportada por el NOS y el PO sobre el desarrollo y mantenimiento del SOPQ.

HIPÓTESIS

Si en el animal con SOPQ, inducido por la inyección de VE, la denervación unilateral del NOS restablece las funciones de la gónada inervada, por una posible comunicación interovárica a través del NPO. Entonces, la sección unilateral del NPO resultará en el restablecimiento de las funciones ováricas en ambas gónadas.

OBJETIVOS

GENERAL:

Analizar en la rata hembra adulta y en el modelo del animal con SOPQ, inducido con VE, la posible comunicación interovárica a través del NOS y del NPO, en la regulación de las funciones ováricas.

PARTICULARES:

1. Analizar en el animal sin patología la participación de la información neural aportada por el nervio ovárico superior y el plexo ovárico en las funciones del ovario.
2. Analizar en el modelo del animal con SOPQ, el efecto de la sección unilateral del NOS o del NPO realizada en la etapa juvenil sobre la ovulación espontánea y la secreción de progesterona y estradiol en la etapa adulta.
3. Analizar en el modelo del animal con SOPQ, el efecto de la sección del NOS más la sección ipsilateral (del mismo lado) o contralateral (del lado contrario) del NPO realizada en la etapa juvenil, sobre la ovulación espontánea y la secreción de progesterona y estradiol en la etapa adulta.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembras recién nacidas de la cepa CII-ZV, mantenidas en condiciones de bioterio, con luces encendidas de 5:00 a 19:00 hrs, a temperatura de 22 ± 2 °C, con libre acceso a agua y alimento, en todos los casos se siguió lo establecido por la ley mexicana de protección animal para el uso de animales de experimentación (NOM-062-ZOO-1999), especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Al nacimiento, los animales se colocaron en grupos de seis crías por camada (cinco hembras y un macho). Los animales se asignaron al azar en alguno de los siguientes grupos experimentales, cada uno de ellos formado de 8 animales.

- **Grupo Testigo:** Se utilizaron animales sin tratamiento sacrificados a los 90 ± 2 días de edad, cuando presentaron un estro vaginal.
- **Tratamiento con valerato de estradiol:** A los diez días de edad por vía intraperitoneal se administraron 2 mg de VE (Sigma-Aldrich St.Louis Mo USA), disuelto en 0.1 ml de aceite de maíz. Al llegar a los 24 días de edad, los animales fueron sometidos a alguna de las siguientes cirugías:
 - **Operación simulada:** Hembras de 24 días de edad, sin tratamiento o con VE, fueron anestesiadas con éter, se les realizó una incisión dorso lateral en la piel y el músculo de aproximadamente 1cm y sin tocar ningún órgano, se suturó la herida (Figura 11).
 - **Sección unilateral del NOS:** Hembras de 24 días de edad, sin tratamiento o con VE, al igual que el grupo anterior, se anestesiaron y se realizó una incisión dorso lateral de piel y músculo, se exteriorizó el ovario unido al útero, se identificó el ligamento suspensorio y al NOS y se procedió a realizar la sección unilateral del nervio. El ovario se regresó a la cavidad peritoneal y se procedió a suturar la herida (Figura 11).
 - **Sección unilateral del NPO:** Hembras de 24 días de edad, sin tratamiento o con VE, una vez anestesiadas se realizó una incisión dorso lateral de piel y músculo se exteriorizó el ovario unido al útero, se identificó la arteria ovárica por la cual transcurre el NPO, se ligó la arteria, se identificó y separó el paquete nervioso y se procedió a realizar la sección unilateral del nervio. El ovario se regresó a la cavidad peritoneal y se procedió a suturar la herida (Figura 11).
 - **Sección del NOS mas la sección del NPO:** Hembras de 24 días de edad, sin tratamiento o con VE, una vez anestesiadas se les realizó la sección

unilateral del NOS izquierdo o derecho y, en el mismo acto quirúrgico se seccionó el NPO izquierdo o derecho (Figura 11).

En los grupos de animales inyectados con VE, se procedió a revisar diariamente la vagina a partir del día 15 de edad. En los grupos sin VE, se inició la revisión alrededor de los 30 días de edad. En todos los grupos, se realizó la toma de frotis por un lapso de 2 semanas, antes de que los animales fueran sacrificados (Figura 11).

Los animales fueron sacrificados por decapitación a los 90 ± 2 días de edad en el día del estro vaginal, para ello al momento de presentar un estro vaginal típico se registró el peso corporal y se llevó el sacrificio por decapitación, se colectó la sangre del tronco, se dejó coagular a temperatura ambiente, se centrifugó a 3500 r.p.m. y el suero se dividió en alícuotas, las que inmediatamente se congelaron a -20°C . En el suero se cuantificaron las concentraciones de estradiol y progesterona por radioinmunoanálisis (RIA). En el momento de la autopsia, se disecaron los oviductos siguiendo la metodología habitual del laboratorio y, con la ayuda de un microscopio estereoscópico se buscó y contó los ovocitos presentes tal como ha sido realizado en estudios previos (Morales y col.,1998).

Cuantificación de hormonas esteroideas: la concentración plasmática de progesterona y estradiol fue determinada por RIA de fase sólida, mediante reactivos comerciales Coat-A- Count (Diagnostic products, Los Angeles, CA, USA).

Para ello, en tubos de polipropileno que ya contienen el anticuerpo específico antiprogesterona o antiestradiol, se adicionaron 100 μl de la muestra problema, además de 1ml de la hormona marcada I^{125} . Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó durante 3 horas a temperatura ambiente, se decantó la muestra y se removió el exceso de líquido, se determinó la concentración de hormona en la muestra con la ayuda de un contador de rayos gamma modelo Cobra 5005 Packard TM, en función de las cuentas por minuto y una curva de calibración (0.1- 40 ng/ml) para progesterona y (20-500 pg/ml) para estradiol.

Análisis Estadístico: Los resultados del número de ovocitos liberados y la edad de apertura vaginal fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de U de Mann-Whitney. Los resultados del peso de los ovarios, del útero y la concentración sérica de hormonas esteroideas fueron analizados por la prueba de Análisis de Varianza Multifactorial, seguida por la prueba de Tukey. Cuando se compararon dos

grupos experimentales, se utilizaron la prueba de “t” de Student. Se consideraron como estadísticamente significativas aquellas diferencias cuya probabilidad fue igual o menor a 0.05.

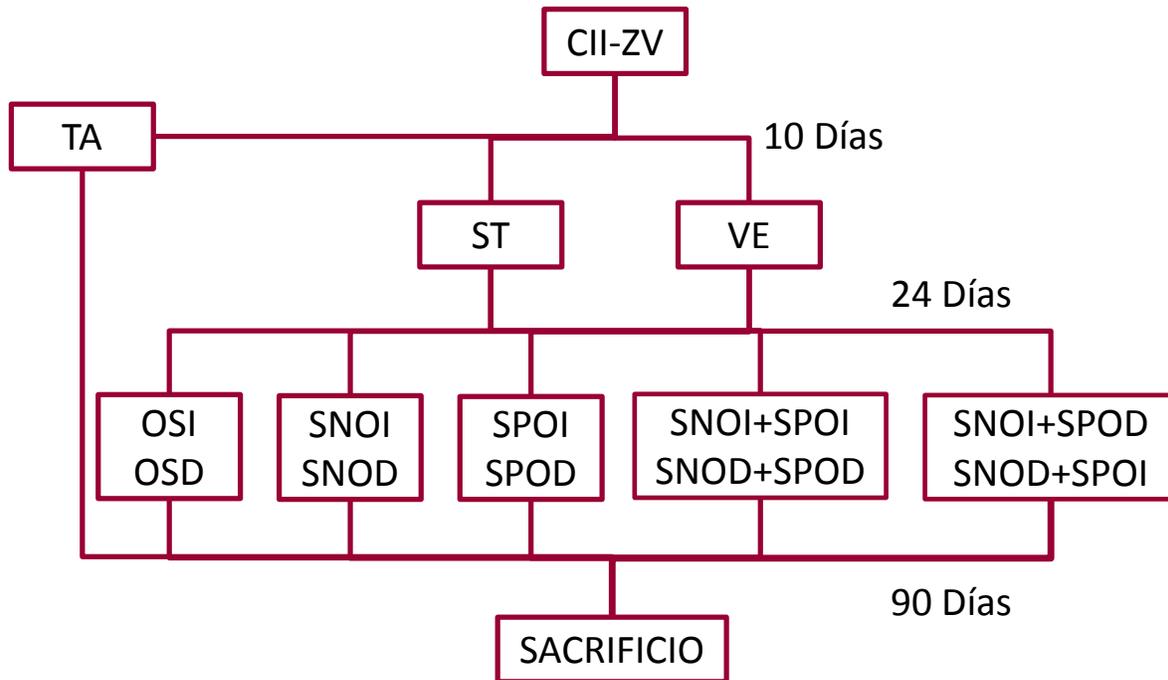


Figura 11. Diagrama de flujo de los grupos experimentales. Donde (CII-ZV), es la cepa de ratas utilizadas, (VE) se refiere a la inyección de Valerato de estradiol, (ST) son las hembras sin inyección, OSI operación simulada izquierda, OSD operación simulada derecha, SNOI sección del nervio ovárico superior izquierdo, SNOD sección del nervio ovárico derecho, SPOI sección del plexo ovárico izquierdo, SPOD sección del plexo ovárico derecho. En el caso donde se realizaron ambas cirugías esto es indicado con el signo de +.

RESULTADOS

EXPERIMENTO UNO: EFECTO DE LA OPERACIÓN SIMULADA EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

INICIO DE LA PUBERTAD

Las hembras sometidas a la laparotomía izquierda presentaron retraso en la edad en la cual se presenta la canalización de la vagina, mientras que en las hembras con laparotomía derecha se adelantó, respecto al grupo control (Tabla 1).

TRATAMIENTO	EDAD DE APERTURA VAGINAL
TA	38.6±0.79
OSI	41.5±0.78+
OSD	36.8±0.76+

+ P < 0.05 vs. TA (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey).

Tabla 1. Media ± e.e.m. de la edad de apertura vaginal (días) de hembras sin tratamiento (TA), o sometidas a la laparotomía izquierda (OSI); o derecha (OSD), sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

RESPUESTA OVULATORIA

En las hembras sometidas a la laparotomía izquierda o derecha, no se modificó la respuesta ovulatoria (Tabla 2).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
TA	15/17	16/17	4.7±0.69	5.7±0.67
OSI	12/13	12/13	4.6±0.43	6.41±0.66
OSD	10/13	10/13	5.1±0.5	5.5±0.68

Tabla 2. Proporción de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD) de hembras sin tratamiento (TA), o sometidas a la laparotomía izquierda (OSI); o derecha (OSD) sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

La operación simulada no modificó el peso corporal, de los ovarios ni del útero (Tabla 3).

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL	PESO DE OVARIOS		PESO ÚTERO
		OI	OD	
TA	233.0±5.06	20.3±1.07	19.5±1.11	162.0±11.0
OSI	226.0±6.47	17.9±1.17	18.0±1.48	153.3±9.3
OSD	241.4±3.69	19.4±1.37	19.7±1.31	163.4±6.3

Tabla 3. Media \pm e.e.m. del peso corporal (g), y peso relativo (mg/100g P.C.) del ovario izquierdo (OI), derecho (OD) y del útero de hembras sin tratamiento (TA), o sometidas a la laparotomía izquierda (OSI); o derecha (OSD), sacrificadas al estro vaginal (90 ± 2 días de edad).

ESTEROIDOGÉNESIS

En las hembras con laparotomía izquierda o derecha no se modificó la concentración sérica de progesterona (Figura 12).

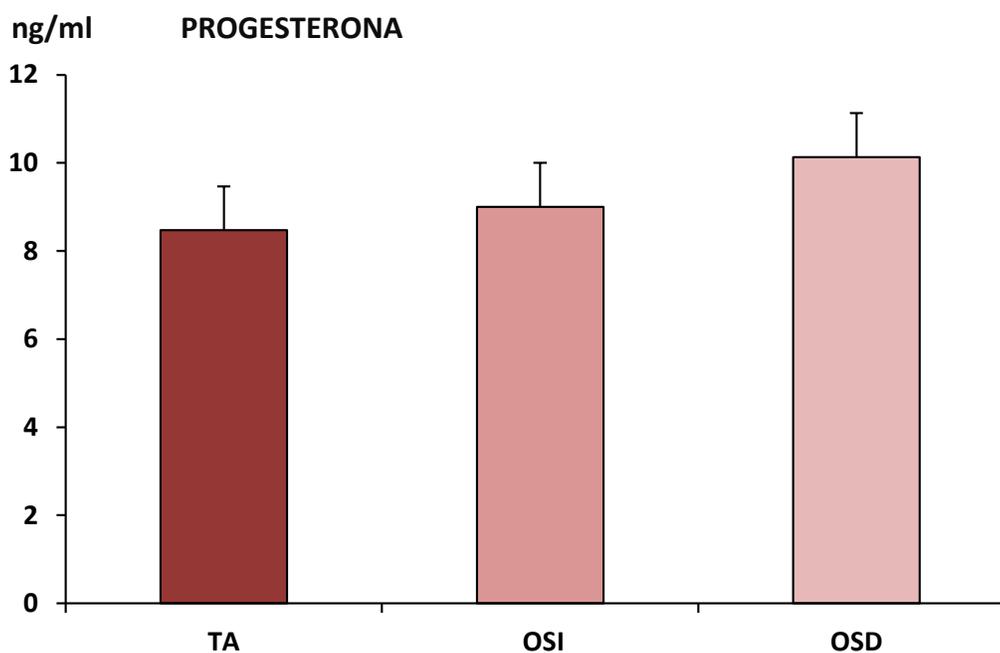


Figura 12. Media \pm e.e.m. de la concentración de progesterona (ng/ml) de hembras sin tratamiento (TA), o sometidas a la laparotomía izquierda (OSI); o derecha (OSD), sacrificadas al estro vaginal (90 ± 2 días de edad).

En hembras con la laparotomía derecha se observó disminución en la concentración de estradiol, en comparación con las hembras del grupo control y con aquellas hembras sometidas a la laparotomía izquierda (Figura 13).

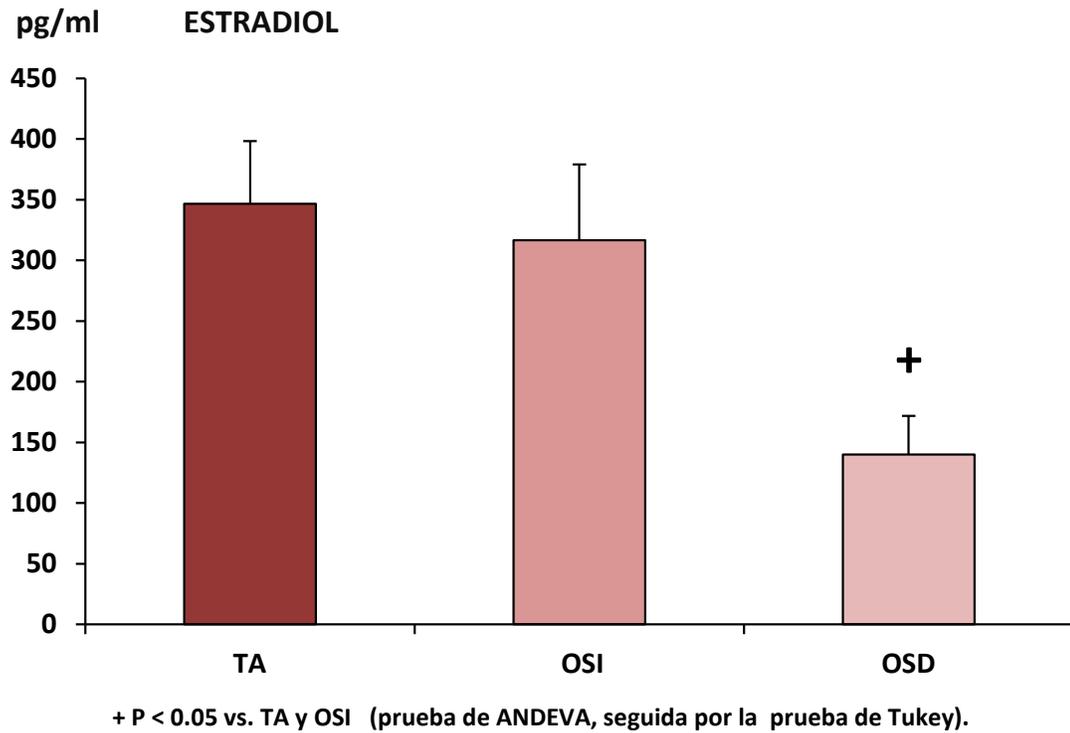


Figura 13. Media \pm e.e.m. de la concentración de estradiol (pg/ml) de hembras sin tratamiento (TA), o sometidas a la laparotomía izquierda (OSI); o derecha (OSD), sacrificadas al estro vaginal (90 ± 2 días de edad).

EXPERIMENTO DOS: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR (NOS) O DEL NERVIO DEL PLEXO OVÁRICO (NPO) EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

INICIO DE LA PUBERTAD

La sección del nervio del plexo ovárico izquierdo adelantó la edad de apertura vaginal, en comparación con su grupo con operación simulada (Tabla 4).

TRATAMIENTO	EDAD DE APERTURA VAGINAL
OSI	41.5±0.78
SNOI	38.5±1.05
SPOI	36.1±0.98 +
OSD	36.8±0.76
SNOD	39.5±0.72
SPOD	37.1±1.12

+ P < 0.05 vs. su respectiva operación simulada; (prueba de ANDEVA, seguida de una prueba de Tukey).

Tabla 4. Media ± e.e.m. de la edad de apertura vaginal (días) de hembras sometidas a la laparotomía izquierda (OSI), derecha (OSD), o a la sección del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), plexo ovárico izquierdo (SPOI), derecho (SPOD), sacrificados al estro vaginal (90±2 días de edad).

RESPUESTA OVULATORIA

La SNOI o SPOI no modificó la respuesta ovulatoria, cuando se comparó con los animales control (Tabla 5).

La sección del NOS derecho, resultó en el incremento del número de ovocitos liberados por la gónada intacta, cuando se compara con aquellos animales con laparotomía del mismo lado (Tabla 5).

En las hembras sometidas a la SPOD disminuyó la cuota ovulatoria de ambos ovarios, en comparación con el grupo con SNO del mismo lado (Tabla 5).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
OSI	12/13	12/13	4.6 ±0.43	6.4 ±0.66
SNOI	9/15	11/15	4.2±0.64	7.1±1.0.3
SPOI	10/19	19/19	4.0 ±0.5	7.7±1.04
OSD	10/13	10/13	5.1 ±0.5	5.5 ± 0.66
SNOD	12/13	11/13	8.3±1.01+	6.6±1.00
SPOD	11/17	9/17	5.6 ±0.45&	3.7 ±0.78&

+ P < 0.05 vs. su respectiva operación simulada; & P < 0.05 vs. su respectivo SNO (prueba de ji² para la tasa de animales ovulantes), (prueba de Kruskal Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney para el número de ovocitos liberados).

Tabla 5 Proporción de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD), de hembras sometidas a la laparotomía izquierda (OSI), derecha (OSD), o a la denervación del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) derecho (SNOD), plexo ovárico izquierdo (SPOI), derecho (SPOD), sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

Las hembras sometidas a la SPOI o a la SNOI presentaron mayor peso corporal en relación con aquellos animales sometidos a la laparotomía del mismo lado. En los animales con SNOD fue menor el peso corporal en relación con su grupo con laparotomía. Con la SPOD no modificó el peso corporal, respecto a su grupo con operación simulada, pero es mayor sí se compara con el grupo con SNOD (Tabla 6).

La sección del NPO-izquierdo incrementó el peso del ovario inervado y del útero, respecto a su grupo control (Tabla 6).

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL	PESO DE OVARIOS		PESO ÚTERO
		OI	OD	
OSI	226.0±6.47	17.89±1.17	18.01±1.48	153.27±9.32
SNOI	248.3±12.06+	18.2±1.17	19.18±1.29	144.3±16.15
SPOI	242.6±4.34+	15.69±1.47	22.3±1.14+	175.14±7.9+&
OSD	241.4±3.69	19.37±1.37	19.74±1.37	163.42±6.29
SNOD	227.0±6.66+	18.21±1.89	16.19±0.96	184±7.57
SPOD	243.2±5.71&	19.06±1.35	17.13±1.47	172.17±10.8

+ P < 0.05 vs. su respectiva operación simulada; & P < 0.05 vs. su grupo con sección del NOS; (prueba de ANDEVA, seguida de una prueba de Tukey).

Tabla 6. Media ± e.e.m. del peso corporal (g) y del peso relativo (mg/100g P.C.) del ovario izquierdo (OI), derecho (OD) y del útero de hembras sometidas a la laparotomía izquierda (OSI), derecha (OSD), o a la denervación del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), plexo ovárico izquierdo (SPOI), derecho (SPOD). Todos los animales fueron sacrificados al estro vaginal (90±2 días de edad).

ESTEROIDOGÉNESIS

Las hembras con SNOI, presentaron disminución de la concentración de progesterona respecto al grupo con laparotomía (Figura 14).

Los animales sometidos a la SPOI, presentaron mayor concentración de progesterona respecto a hembras que fueron denervadas del NOS izquierdo (Figura 14).

La sección del NOS derecho incrementó la concentración de progesterona, en relación con aquellas hembras laparotomizadas o de aquellas hembras que fueron seccionadas del NOS izquierdo (Figura 14).

La concentración de estradiol en hembras con SNOI o SPOI fue menor a la presentada por las hembras con operación simulada. La operación simulada derecha produjo una menor concentración de estradiol, la cual disminuyó más cuando se practicó la sección del NOS o del plexo derecho. Cuando se comparó la concentración de estradiol entre los animales con sección del NPO derecho y los del plexo izquierdo se observó que en éstos últimos la concentración fue mayor (Figura 14).

EXPERIMENTO TRES: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS SEGUIDA DE LA SECCIÓN DEL NPO, EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

INICIO DE LA PUBERTAD

Las hembras con sección del NOS + NPO izquierdos, presentaron atraso en la edad de apertura vaginal en comparación con las hembras con sección del NPO izquierdo (Tabla 7).

La sección del NOS + NPO derecha, resultó en un adelanto de la edad de apertura vaginal en comparación con las hembras con sección del NOS derecho (Tabla 7).

TRATAMIENTO	EDAD DE APERTURA VAGINAL
SNOI	38.5±1.05
SPOI	36.1±0.98
SNOI + SPOI	39.7 ± 0.33#
SNOI + SPOD	39.00 ± 0.32
SNOD	39.5±0.72
SPOD	37.1±1.12
SNOD + SPOD	37.37 ± 0.37+*
SNOD + SPOI	38.58 ± 0.35

+P < 0.05 vs. su respectiva SNO; # P < 0.05 vs. su respectiva SPO; *P < 0.05 vs. SNOI + SPOI (prueba de ANDEVA, seguida de una prueba de Tukey).

Tabla 7. Media ± e.e.m. de la edad de apertura vaginal (días) de hembras con sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), del plexo izquierdo (SPOI), derecho (SPOD) o la combinación de la sección del NOS más la sección del NPO (SNOI +SPOI, SNOI + SPOD, SNOD + SPOD, SNOD + SPOI). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

RESPUESTA OVULATORIA

La sección del NOS izquierdo seguida de la sección del NPO del mismo lado, bloqueó la ovulación por el ovario denervado; en el ovario intacto se observó ovulación compensadora (Tabla 8).

Con la sección del NOS y del NPO del lado derecho disminuyó la tasa de animales ovulantes por el ovario denervado, sin cambios en el ovario intacto; la cuota ovulatoria por ambos ovarios fue normal (Tabla 8).

Las hembras con SNOI + SPOD ó SNOD + SPOI no se observaron diferencias significativas entre sí respecto al número de animales ovulantes o del número de ovocitos liberados (Tabla 8).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
SNOI	9/15	11/15	2.5±0.664	5.2±1.12
SPOI	10/16	16/16	4.0 ±0.5	6.8±0.95
SNOI + SPOI	0/10+#	8/10	0+#	13.5 ± 1.67+#
SNOI + SPOD	9/13	6/13	5.77 ± 0.68	8.00 ± 2.22
SNOD	12/13	11/13	7.6±1.12	5.6±1.08
SPOD	9/14	7/14	5.5 ±0.5	4.1 ±0.9
SNOD + SPOD	11/11*	3/11+#*	7.27 ±1.49*	5.0 ± 1.5*
SNOD + SPOI	8/12	7/12	5.25 ± 1.42	6.42 ± 1.21

+P < 0.05 vs. su respectiva SNO; # P < 0.05 vs. su respectiva SPO; *P < 0.05 vs. SNOI + SPOI (prueba de ji2 para la tasa de animales ovulantes), (prueba de Kruskal Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney para el número de ovocitos liberados).

Tabla 8 Proporción de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD) de hembras con sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD), del plexo izquierdo (SPOI), derecho (SPOD) o la combinación de la sección del NOS más la sección del NPO (SNOI +SPOI, SNOI + SPOD, SNOD + SPOD, SNOD + SPOI). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

En las hembras con sección del NOS + NPO izquierdo disminuyó el peso del ovario denervado respecto al grupo con sección del NOS-izquierdo (Tabla9).

La sección del NOS izquierdo seguida de la sección contralateral del NPO incrementó el peso del ovario izquierdo y disminuyó el ovario derecho, respecto al grupo con sección del NOS seguida de la del NPO del lado izquierdo (Tabla 9).

La denervación del NOS izquierdo +NPO izquierdo o derecho resultó en el aumento del peso del útero, cuando se comparó con las hembras con sección del NOS del mismo lado (Tabla 9).

EXPERIMENTO CUATRO: EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE (VE) EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS

INICIO DE LA PUBERTAD

En las hembras inyectadas con VE se adelantó la edad en la cual se presenta la canalización de la vagina (Tabla 10).

TRATAMIENTO	EDAD DE APERTURA VAGINAL
TA	38.6±0.79
Vh	37.7±1.10
VE	19.5±0.25*+

*P < 0.05 vs. Vh; + P < 0.05 vs. TA (prueba de ANDEVA, seguida por la prueba de Tukey).

Tabla 10. Media ± e.e.m. de la edad de apertura vaginal (días) de hembras sin tratamiento (TA), sometidas a la inyección de vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE), Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

RESPUESTA OVULATORIA

En las hembras sometidas a la inyección de VE, la proporción de animales ovulantes fue menor, respecto a su grupo sin tratamiento o inyectado con Vh (Tabla 11).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
TA	15/17	16/17	5.4±0.62	6.1±0.61
Vh	10/14	10/14	6.5±0.56	6.4±0.76
VE	1/14*+	2/14*+	(3)	(2,5)

*P < 0.05 vs. Vh; + P < 0.05 vs. TA, (prueba de ji² para la tasa de animales ovulantes), (prueba de Kruskal Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney para el número de ovocitos liberados), en el paréntesis se expresa la cantidad de ovocitos liberados, por cada uno de los dos animales del grupo que ovularon.

Tabla 11. Proporción de animales ovulantes y media ± e.e.m. del número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD), de hembras sin tratamiento (TA), sometidas a la inyección de vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE), Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

El peso corporal de los animales tratados con VE fue menor, respecto al testigo absoluto. Los animales que fueron inyectados con Vh o VE, presentaron menor peso de los ovarios, cuando se compara con el grupo testigo absoluto. El peso del útero disminuyó de manera significativa en los grupos VE y Vh en comparación con las hembras sin tratamiento (Tabla 12).

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL	PESO DE OVARIOS		PESO DEL ÚTERO
		OI	OD	
TA	233.0±5.06	20.3 ± 1.07	19.4± 1.11	161.9± 10.98
Vh	254.5±6.29	15.3± 1.21+	16.5± 1.13+	144.7± 8.52+
VE	248.9±4.46+	15.7± 1.39+	16.1± 1.38+	141.9± 10.92+

+ P < 0.05 vs. TA (prueba de ANDEVA, seguida de una prueba de tukey).

Tabla 12. Media± e.e.m. del peso corporal(g), y peso relativo (mg/100 p.c) del ovario izquierdo (OI), derecho (OD) y del útero (mg), de hembras sin tratamiento (TA), sometidas a la inyección de vehículo (Vh) o Valerato de estradiol (VE), Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

ESTEROIDOGÉNESIS

En hembras con VE no se modificó la concentración de progesterona, mientras que la concentración de estradiol fue menor a la presentada por las hembras inyectadas con Vh o sin tratamiento (Figura 16).

EXPERIMENTO CINCO: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS O DEL NPO EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL CON SOPQ.

RESPUESTA OVULATORIA

Las hembras con inyección de VE y denervación del NOS izquierdo o derecho presentaron una cuota ovulatoria estadísticamente menor por el ovario denervado en comparación del ovario inervado (Tabla 13).

En las hembras con inyección de VE, la sección del PO izquierdo indujo la ovulación por ambos ovarios en el 56% de los animales, mientras que cuando se secciono el plexo derecho ovuló el 63% (Tabla 13).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NUMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
VE	1/14	2/14	(3)	(2,5)
VE SNOI	2/10	8/10+	(1,1)	5.0±0.59
VE SPOI	3/9	5/9	4.3 ±2.8	6.0±1.5
VE SNOD	8/10+&	2/10&	6.2±0.68	(5,3)
VE SPOD	4/16	6/16	5.0± 1.2	5.8 ±1.7

+P < 0.05 vs. VE; & P < 0.05 vs. SNOI (prueba de ji² para la tasa de animales ovulantes). En el paréntesis se expresa la cantidad de ovocitos liberados, por cada uno de los dos animales del grupo que ovularon.

Tabla 13. Proporción de animales ovulantes y Media ± e.e.m. de la del número de ovocitos por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD), de hembras inyectadas con Valerato de estradiol (VE) y sometidas a la denervación del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) derecho (SNOD), plexo ovárico izquierdo (SPOI), derecho (SPOD). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

En las hembras con SOPQ denervadas del PO izquierdo, el peso corporal fue mayor en comparación con los animales con sección del NOS del mismo lado (Tabla 14).

El grupo VE SPOI o VE SNOD presentaron incremento en el peso del útero, en comparación del grupo inyectado solo con VE (Tabla 14).

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL	PESO DE OVARIOS		PESO ÚTERO
		OI	OD	
VE	248.8± 4.46	15.7±1.39	16.1±1.38	141.9±10.92
VE SNOI	242.1±5.57	18.12±1.39	17.7±1.26	171.73±8.88
VE SPOI	257.1±5.09&	14.31±2.15	16.25±2.01	203.86±21.11*
VE SNOD	235.8±8.35	19.39±1.34	16.71±1	193.89±17.49*
VE SPOD	246.3±5.25	19.74±1.16	19.55±2.7	175.56±11.83

*P < 0.05 vs. VE; & P < 0.05 vs. SNO; (prueba de ANDEVA, seguida de Tukey).

Tabla 14. Media ± e.e.m. del peso corporal (g), peso relativo (mg/100g p.c) del ovario izquierdo (OI), derecho (OD) y útero de hembras inyectadas con Valerato de estradiol (VE) y sometidas a la denervación del nervio ovárico superior izquierdo (SNOI) derecho (SNOD), plexo ovárico izquierdo (SPOI), derecho (SPOD). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

ESTEROIDOGÉNESIS

La sección del NOS o del NPO en animales tratados con VE no modificó la concentración de progesterona (Figura 17).

El grupo de animales con SOPQ y denervados del NOS izquierdo, presentaron disminución de la concentración de estradiol, que no llegó a ser significativa (Figura 17).

La denervación del NPO izquierdo o derecho, disminuyó la concentración de estradiol respecto al grupo de animales con VE (Figura 17).

EXPERIMENTO SEIS: EFECTO DE LA SECCIÓN UNILATERAL DEL NOS SEGUIDA DE LA SECCIÓN DEL NPO, EN LA REGULACIÓN DE LAS FUNCIONES OVÁRICAS EN EL ANIMAL CON SOPQ.

RESPUESTA OVULATORIA

Sólo 2 de las hembras con SOPQ ovularon. Cuando las hembras con SOPQ son sometidas a la sección del NOS y NPO del mismo lado, el porcentaje de animales ovulantes es similar al de aquellas hembras denervadas sólo del NOS del mismo lado (Tabla 15).

Cuando las hembras son sometidas a la sección combinada del NOS y del NPO izquierdo ovula el 20% por parte del ovario denervado y el 50% por el innervado, y cuando se realiza la sección del NOS y NPO derecho el 10% de las hembras ovula por el ovario denervado y 70% por el innervado (Tabla 15).

El grupo de hembras inyectadas con VE y sección del NOS+NPO izquierdos, o NOS + NPO derechos, presentaron disminución en el número de ovocitos liberados por el ovario denervado y una respuesta compensadora por el ovario innervado (Tabla 15).

Con la sección del NOS izquierdo y NPO derecho, la proporción de animales ovulantes fue igual en ambos ovarios. El número de ovocitos liberados por el ovario derecho fue mayor en comparación con hembras denervadas del NOS izquierdo (Tabla 15).

Al retirar el NPO derecho, posterior a la denervación del NOS derecho, la proporción de animales ovulantes fue similar al grupo con sección del NOS derecho.

El 75% de las hembras con VE SNOI+ SPOD ovuló por ambos ovarios, en comparación con las hembras con VE, que ovularon el 14%, con una cuota ovulatoria también mayor. En el grupo de animales VE SNOD + SPOI, el porcentaje de animales ovulantes fue similar entre ambos ovarios. (Tabla 15).

TRATAMIENTO	PROPORCIÓN DE ANIMALES OVULANTES		NÚMERO DE OVOCITOS LIBERADOS	
	OI	OD	OI	OD
VE	1/14	2/14	(3)	(2,5)
VE SNOI	2/10	8/10	(1,1)	5.0±0.59
VE SPOI	3/9	5/9	4.3 ±2.8	6.0±1.5
VE SNOI+ SPOI	2/10	5/10	(7,4)	12.6 ± 1.4*#
VE SNOI + SPOD	3/4+	3/4+	6 ± 1.15#	9 ± 1.52#
VE SNOD	8/10	2/10	6.2±0.68	(5,3)
VE SPOD	4/16	6/16	5.5± 1.2	5.8 ±1.7
VE SNOD + SPOD	7/10*	1/10	9.42 ± 1.79	(10)
VE SNOD + SPOI	3/7	2/7	7.0 ± 0.57	(5,8)

+P < 0.05 vs. VE; * P < 0.05 vs. su respectiva SPO; # P < 0.05 vs. su respectiva SNO (prueba de ji2 para la tasa de animales ovulantes), (prueba de Kruskal Wallis seguida por la prueba de U de Mann-Whitney para el número de ovocitos liberados).

Tabla 15. Proporción de animales ovulantes y Media ± e.e.m. del número de ovocitos por el ovario izquierdo (OI), derecho (OD), de hembras inyectadas valerato de estradiol (VE) y sometidas a la sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o la combinación de la sección ipsilateral de los nervios (SNOI +SPOI), (SNOD + SPOD); o sección contralateral de los nervios (SNOI + SPOD), (SNOD + SPOI). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

PESO CORPORAL, MASA OVÁRICA Y PESO DEL ÚTERO

El peso del ovario izquierdo de animales con SOPQ y denervados del NOS y NPO izquierdos fue menor en comparación con el de aquellas hembras con el SOPQ y denervadas del NOS o NPO del mismo lado (Tabla 16).

TRATAMIENTO	PESO CORPORAL	PESO DE OVARIOS		PESO ÚTERO
		OI	OD	
VE	248.8± 17.6	15.7±1.39	16.1±1.38	141.9±10.92
VE SNOI	242.1±5.57	18.12±1.39	17.7±1.26	171.73±8.88
VE SPOI	257.1±5.09	14.31±2.15	16.25±2.01	203.86±21.11
VE SNOI+ SPOI	236.7±7.18	8.79±1.74+#\$	18.44±1.37*	165.83±13.36
VE SNOI + SPOD	239±3.02	12.85±3.05	16.51±5.68	179.4±14.01
VE SNOD	235.8±8.35	19.38±1.34	16.71±1	193.99±17.49
VE SPOD	246.3±5.25	19.74±1.16	19.55±2.7	175.56±11.83
VE SNOD + SPOD	239.3±4.34	15.78±2.38	14.29±2.85	184.57±22.07
VE SNOD + SPOI	238.5±10.4	15.78±2.22	17.31±1.16	223.21±18.03

+P < 0.05 vs. VE; #P < 0.05 vs. su respectiva SNO; \$ P < 0.05 vs. su respectiva SPO *P < 0.05 vs. su ovario izquierdo (prueba de ANDEVA, seguida de una prueba de Tukey).

Tabla 16. Media ± e.e.m. del peso corporal y el peso relativo (mg/100 g P.C) del ovario izquierdo (OI), derecho (OD) y útero de hembras inyectadas valerato de estradiol (VE) y sometidas a la sección del NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o la combinación de la sección ipsilateral de los nervios (SNOI +SPOI), (SNOD + SPOD); o sección contralateral de los nervios (SNOI + SPOD), (SNOD + SPOI). Sacrificadas al estro vaginal (90±2 días de edad).

ESTEROIDOGÉNESIS

En el animal con SOPQ solo la sección del NOS+NPO derechos disminuyó la concentración de progesterona (Figura 18).

En las hembras con SOPQ, más sección del NOS y NPO izquierdo, la concentración de estradiol fue mayor respecto a las hembras que fueron inyectadas con VE y su inervación intacta, o bien con sección individual del NOS o del NPO (Figura 18).

En las hembras con VE SNOD+ SPOI disminuye la concentración de la hormona en comparación con los animales con SOPQ e inervación intacta (Figura 18).

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La administración de VE produce el bloqueo de la ovulación y desencadena el desarrollo de quistes foliculares, tal y como lo hemos reportado previamente (Morales y col., 2010). La sección del NOS, restablece la ovulación sólo por el ovario inervado, mientras que, aproximadamente en el 35% de los animales con sección del nervio del plexo ovárico, se restablece la ovulación por ambos ovarios. En el animal con SOPQ y sección del NOS, el NPO-izquierdo actúa como una vía de comunicación con el ovario derecho.

PARTICIPACIÓN DE LA INFORMACIÓN NEURAL APORTADA POR EL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR Y EL NERVIO DEL PLEXO OVÁRICO EN LAS FUNCIONES DEL OVARIO, EN EL ANIMAL SIN PATOLOGÍA.

La información neural que transporta el NOS modula de manera estimulante la ovulación, tal como ya ha sido reportado (Chávez y col., 1991; Morales y col., 1993), donde la información aportada por el NOS facilita la acción de las Gns, ya que al administrar PMSG + hCG no es posible restablecer la ovulación en el ovario denervado (Morales y col. 1998). Cuando está intacto el NOS la falta del plexo ovárico no modifica la respuesta ovulatoria.

La eliminación del aporte neural por la sección del NPO no modificó la respuesta ovulatoria. Lo que nos podría indicar que esta información no está participando en los procesos que culminan con la ovulación. Al momento, se ha descrito que el NPO al estar asociado con la vasculatura de los folículos ováricos regula el flujo sanguíneo (Klein y Burden y col. 1989; Kagitani y col. 2008).

En la rata de 16 días de edad, la sección unilateral del NOS resulta en ovulación compensadora por parte de la gónada inervada, resultados que llevaron a sugerir la existencia de la comunicación entre los ovarios (Morales y col., 1993). Los resultados del presente estudio, hacen pensar que esta comunicación neural podría ser a través del NPO y que va del ovario izquierdo al derecho. Así, cuando se secciona el NOS y NPO izquierdo el ovario derecho presenta ovulación compensadora, equivalente a la sumatoria del número de ovocitos liberados por el ovario derecho de animales con sección del NOS-izquierdo y de aquellos sometidos a la sección del PO-izquierdo (ver modelo 1). Otro

hecho que apoya la idea de que la comunicación va del ovario izquierdo al derecho, es que si eliminamos en el ovario derecho ambos nervios, no se produce la respuesta compensadora por parte del ovario intacto.

La diferencia en la respuesta fisiológica que observamos entre el ovario izquierdo y derecho, puede ser explicada a partir de las evidencias anatómicas que señalan la existencia de un mayor número de fibras nerviosas, que se originan en diferentes partes del sistema nervioso central y que arriban al ovario izquierdo (Toth y col. 2007). Esta asimetría también se presenta en otros órganos como la glándula adrenal (Toth y col. 2008). Con estas evidencias sugerimos que a la falta de los nervios izquierdos, NOS y NPO, el ovario derecho responde de una manera más eficiente a las gonadotropinas circulantes, lo que permite que responda de una manera compensadora.

En el presente estudio la sección unilateral del NOS no modificó el inicio de la pubertad. La participación de la inervación simpática en el proceso de canalización vaginal es controversial, hay quienes dicen que la sección bilateral del NOS no la modifica (Aguado y col., 1984; Morales y col., 1993) y otros que plantean que la retrasa (Forneris y col., 2002).

En ratas neonatas de 3 días de edad, la destrucción de las fibras sensoriales por la administración de capsaicina, retrasa la edad de apertura vaginal, asociado a la disminución de la concentración de estradiol (Móran y col. 2003). En el presente estudio, la eliminación neural aportada por el NPO izquierdo, adelanta la edad de canalización vaginal aún cuando la concentración de estradiol es menor. Las discrepancias en la participación de la inervación extrínseca del ovario en la canalización de la vagina podrían ser explicados por: a) la edad en la cual se realiza la denervación b) la denervación de manera farmacológica produce la denervación no sólo del ovario c) la denervación quirúrgica elimina una vía específica que llegue al ovario.

No hay reportes que indiquen que la sección uni o bilateral del NOS resulte en cambios en el peso corporal (Aguado y Ojeda 1984; Forneris y col., 2002). En el presente estudio se practicó la denervación en la etapa juvenil y se evaluó sus efectos en la etapa adulta y, se observó que la sección del NOS-izquierdo incrementa el peso corporal, mientras que con la sección del NOS-derecho disminuye. En la literatura se ha explicado el incremento en la masa corporal en respuesta a la mayor concentración de andrógenos

circulantes (Manneras y col. 2007), si bien, no medimos andrógenos, observamos que con la sección del NOS-izquierdo disminuye la concentración de estradiol lo que podría implicar una menor aromatización de la testosterona y por ende su acumulación.

No se ha planteado el mecanismo por el cual la falta de información simpática o sensorial modifique el peso corporal. Sin embargo, es evidente que ambos tipos de nervios están involucrados en la regulación de la masa corporal ya que, la sección conjunta del NOS y del NPO normaliza el peso corporal.

En ratas infantiles o juveniles la sección unilateral o bilateral del NOS incrementa el peso de los ovarios antes de la apertura vaginal (Morán y col., 2000; Vieyra., 2007). La sección derecha del nervio disminuye el peso del ovario denervado al primer estro vaginal (Morales y col. 1993). En el presente estudio se observó que la sección unilateral del NOS o del plexo no modifica el peso de los ovarios al llegar a la etapa adulta. Cuando en un ovario se cortan ambos nervios, el ovario denervado es de menor peso. En este caso donde se eliminan ambos nervios es posible que la disminución sea el resultado de la falta de la información neural aportada por el NOS.

La sección uni o bilateral del NOS incrementa el peso del útero antes de la apertura vaginal (Morán y col., 2000; Vieyra 2007). En el presente estudio, no observamos éste incremento, posiblemente porque los animales fueron sacrificados en la etapa adulta. La eliminación del plexo ovárico izquierdo, incrementó significativamente el peso del útero, en comparación a su grupo control. Del mismo modo cuando se seccionaron simultáneamente el NOS-izquierdo y el plexo izquierdo o derecho, resultó en el incremento del peso del útero. En este caso es posible que el incremento en el peso esté dado por la falta de la información neural del NPO, ya que la sección del NOS no lo modifica.

En la rata juvenil la sección del NOS-izquierdo disminuye la concentración de progesterona a los 30 min post-denervación y de estradiol después de la primer hora y hasta las cinco horas, mientras que la sección del nervio derecho no modifica la concentración de progesterona, pero incrementa la de estradiol a los treinta minutos, cinco horas post-denervación y al primer estro vaginal (Morales y col., 2012). Este comportamiento se observa aún cuando las cirugías se practican en la etapa juvenil y se evalúa el efecto en la etapa adulta (Linares 2006). Resultados similares fueron observados

en el presente estudio. Tomando en conjunto estas evidencias sugerimos que el NOS-izquierdo modula de manera estimulante la secreción de progesterona y estradiol, mientras que la información del NOS-derecho parece no participar en la secreción de progesterona, pero sí en la de estradiol, inhibiendo su secreción. Con todas estas evidencias apoyamos la idea de que la información aportada por el NOS participa de manera diferencial en la secreción de estradiol (Ramírez 2011), y que la participación del nervio depende del estado endocrino del animal (Morán y col., 2000).

El estudio del papel de la inervación sensorial en la regulación de la secreción de hormonas esteroides ha sido abordado a partir del modelo del animal denervado farmacológicamente. La administración de capsaicina al nacimiento, no modifica la concentración de progesterona ni la de estradiol pero sí la denervación se realiza en el día tres de vida se produce disminución en ambas hormonas (Morán y col. 2003). No contamos con evidencias sobre el papel del NPO en la secreción de progesterona. Cuando se encuentra intacto el NOS y quitamos alguno de los plexos ováricos no se modifica la concentración de progesterona, resultados que nos llevan a sugerir que ni el plexo izquierdo ni el derecho regulan directamente la secreción de esta hormona.

Es posible que la información que viaja por el plexo participe en la activación de algunas enzimas involucradas en el paso de progesterona hasta estradiol. Esta idea se sustenta en el hecho de que la sección del plexo izquierdo resulta en la disminución de la concentración de estradiol.

Por estudios electrofisiológicos se ha planteado un efecto de arco reflejo entre el NOS y NPO (Klein y Burden 1988; Kagitani y col., 2008); sin embargo, no existen evidencias que sustenten la participación conjunta de la información simpática y sensorial sobre la regulación de la secreción de hormonas ováricas. En el presente estudio, la sección del NOS+NPO izquierdo induce aumento de la concentración de progesterona, resultado opuesto a cuando se realiza sólo la sección del NOS izquierdo. Para explicar estos resultados tenemos dos posibilidades: 1) la participación del NOS, en principio estimulante, se vuelve inhibitoria cuando la inervación de tipo sensorial es retirada en el mismo acto quirúrgico que la del NOS. 2) la participación de ambos nervios izquierdos, es relevada por el NOS derecho, puesto que la concentración de la hormona es similar a las del grupo con la sección del NOS derecho. Lo cual nos lleva a postular que la información del plexo se encuentra bajo el control de la información del NOS.

PARTICIPACIÓN DE LA INFORMACIÓN NEURAL APORTADA POR EL NERVIIO OVÁRICO SUPERIOR Y EL PLEXO OVÁRICO EN LAS FUNCIONES DEL OVARIO, EN EL ANIMAL CON SÍNDROME DEL OVARIO POLIQUÍSTICO.

Se ha postulado varias hipótesis para explicar la etiología del SOPQ, hay quienes dicen que se inicia como resultado del cambio en el patrón de secreción de la GnRH, o por una alteración a nivel ovárico que se traduce en una mayor secreción de andrógenos, conocido como hiperandrogenismo (Stener-Victorin y col., 2005; Legro y col. 2005; Manneras y col., 2007; Shirwalkar y col., 2007; Xita y Tsatoulis, 2006 y Wu y col. 2010) y otros que sugieren sea el resultado de la hiperactividad de las fibras simpáticas del ovario, que se refleja en el incremento en la concentración de NA ovárica (Barria y col., 1993; Lara y col. 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003).

En la rata cuando se induce el SOPQ por la administración de VE, se produce el adelanto del inicio de la pubertad y se modifica el patrón del ciclo estral (datos no mostrados), estos resultados coinciden con los ya reportados (Brawer y col. 1986; Lara y col. 1993; Rosa-E- Silva y col., 2003; Morales-Ledesma y col. 2010). El epitelio de la vagina presenta receptores a estrógenos y andrógenos (Traish y col., 2007), hormonas responsables de la canalización de la vagina (Ojeda y Urbanski 1994). Dado que el VE induce incremento en la concentración de andrógenos (Sotomayor-Zarate y col., 2008) y estradiol (Barria y col., 1993; Morales-Ledesma y col., 2010) es posible que el adelanto en la pubertad se pueda atribuir a la acción del fármaco en el ovario, donde induce el desarrollo de quistes (Shirwalkar y col., 2007), caracterizados por presentar incremento de la actividad de las células de la teca y por ende mayor síntesis de andrógenos, los cuales podrían ser responsables del adelanto en la canalización vaginal.

En el presente estudio, aproximadamente el 86% de las hembras con SOPQ presentó bloqueo de la ovulación. La falta de ovulación se ha asociado con el incremento en la concentración sérica de LH, que induce en el ovario la presencia de quistes y el incremento del estroma ovárico (Schulster y col., 1984). Es posible que la anovulación no se deba exclusivamente al cambio en la concentración de LH, ya que previamente otros grupos de investigación, incluido el nuestro, hemos mostrado que la inducción del SOPQ por la administración de VE no modifica la concentración de LH en la etapa adulta (Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales-Ledesma y col., 2010).

Algunos autores sugieren que la falta de ovulación podría deberse a la disminución en la respuesta del ovario a las gonadotropinas (Faroohki y col 1985). Ya que en los animales tratados con VE parece no producirse el pico preovulatorio de LH (Hemmings y col., 1983), no se estimula el desarrollo de nuevos folículos, desencadenando además el incremento de folículos atrésico y el desarrollo de quistes foliculares (Brawer y col., 1986).

En el estudio del SOPQ se ha observado que además de la regulación endocrina, participan las señales neurales aportadas por las fibras nerviosas periféricas (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). En aquellas hembras con el SOPQ, incapaces de ovular, la sección bilateral del NOS restablece las concentraciones de noradrenalina en el ovario y es capaz de inducir la ovulación (Barria y col., 1993; Morales y col., 2010), de igual forma que cuando se realiza la estimulación de los nervios ováricos por electro-acupuntura (Stener-Victorin y col., 2000), estos resultados ha llevado a los autores a sugerir a la NA como principal responsable del desarrollo del síndrome (Rosa-E-Silva y col., 2003).

En el análisis de los factores involucrados en la persistencia del síndrome ha sido posible observar que no solamente el incremento de la concentración de NA es responsable del desarrollo del síndrome. En el presente estudio mostramos que la denervación unilateral del NOS, restablece la ovulación sólo por el ovario inervado y apoyamos la idea de que la falta de ovulación por el ovario denervado sea el resultado de la modificación de otras vías neurales que regulan el funcionamiento del ovario (Morales y col., 2010). Dado que el soma de las neuronas que forman el NOS y el NPO se encuentra en el GCMS (Morán y col., 2000; 2003) es posible que en el animal con el SOPQ en el que se ha seccionado el NOS la respuesta ovulatoria sea regulada por la información neural que transporta el NPO.

En el modelo del animal con SOPQ inducido por la inyección de DHEA, se produce incremento del número de fibras inmunoreactivas a CGRP, que se acompaña por la formación de quistes foliculares, lo que llevó a los autores a sugerir que la información sensorial participa en el desarrollo de los quistes foliculares (Krishna y col., 2001). En el presente estudio, en las hembras con SOPQ y sección del NPO izquierdo o derecho resultó en una tasa ovulatoria por el ovario denervado semejante a cuando se quita el NOS, sin embargo, la respuesta del ovario intacto es menor a la observada por la sección del NOS. Estos resultados nos permiten postular que el plexo podría estar actuando como una vía de comunicación entre los ovarios y que ésta va del ovario izquierdo al derecho

(ver modelo 2) y que la señal sea de menor magnitud del ovario derecho al izquierdo. Es posible que ante la falta de uno de los nervios del plexo ovárico, la respuesta asimétrica por parte de los ovarios se deba a la diferencia de fibras que llegan a cada ovario por este nervio, tal y como se ha reportado que ocurre para el nervio vago, donde hay más fibras en el ovario izquierdo (Toth y col., 2007).

En las hembras con SOPQ y sometidas a la sección del NOS y del NPO izquierdos se observó que en el ovario derecho, el cual mantiene la inervación intacta, (ver modelo 3), la respuesta ovulatoria es similar a la que presenta un animal con ovariectomía del lado izquierdo (Morales y col., 2007, 2011; 2012). El hecho de que en las hembras con sección del NOS y del NPO derechos no se observa la ovulación compensadora, se puede considerar como una evidencia más que apoya la idea de que el plexo-izquierdo es el que comunica a los ovarios.

Previamente se ha demostrado que la administración de VE en la rata prepúber o adulta no altera la concentración de progesterona en plasma (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales-Ledesma y col., 2010). Estos resultados concuerdan con los del presente estudio. Sin embargo, la sensibilidad del ovario a la administración del VE parece ser mayor en el animal neonato, ya que si se administra en las primeras 12 horas de vida, la concentración de progesterona disminuye cuando el animal alcanza la etapa adulta (Sotomayor-Zarate y col., 2008).

El grupo de Rosa-E-Silva (2003) y de Sotomayor-Zarate (2008) mostraron que después de la administración del VE disminuye la concentración plasmática de androstenediona. En nuestro caso, en las hembras con SOPQ, la concentración de estradiol fue menor, respecto a su testigo. Estos resultados nos llevan a pensar que probablemente haya disminuido la concentración de andrógenos y por lo tanto hubo menos sustrato para formar los estrógenos. Aunque también hay reportes que señalan que la concentración de andrógenos no se modifica (Barria y col., 1993; Hemmings y col., 1983) o bien que incrementa (Morales-Ledesma y col., 2010), probablemente por una mayor actividad de la 3β -HSD (Rosa-E-Silva y col., 2003), enzima implicada en el paso de progesterona hasta testosterona. Independientemente de si hay o no cambios en la concentración de andrógenos, todos los reportes señalan que, en respuesta al VE en el ovario se forman los quistes foliculares, caracterizados por la hipertrofia de las células de la teca (Brawer y col., 1986), donde se sintetizan los andrógenos. Otra posibilidad que no podemos descartar

para explicar la disminución en la concentración de estradiol es que haya disminuido la actividad de las aromatasas, tal y como se ha reportado que ocurre en la mujer con el síndrome (Magoffin, 2006).

Si bien la inyección con VE no modifica la concentración plasmática de progesterona (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010), sin embargo, en estos animales la eliminación del principal aporte catecolaminérgico al ovario, por la sección bilateral del NOS, puede resultar en el aumento (Barria y col., 2003) o disminución de la concentración de esta hormona (Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010). La discrepancia podría ser explicada por la edad en la que se induce el SOPQ.

En la hembra con el síndrome la regulación de la secreción de progesterona por el NOS izquierdo es diferente a la que ejerce el NOS derecho, ya que con la sección del NOS-izquierdo incrementa la concentración de progesterona, mientras que si quitamos el NOS-derecho disminuye, respecto al animal tratado con VE (Morales y col., 2010). Estos resultados difieren a los observados en el presente estudio, donde no se modificó la concentración de progesterona. Al momento no contamos con una explicación a esta discrepancia.

Del presente estudio se desprende que en el animal con SOPQ, la concentración de estradiol después de realizar la sección izquierda o derecha del NOS, fue semejante a la del animal con el síndrome pero con la inervación intacta. Estos resultados nos hacen pensar que cuando queda uno de los nervios, el ovario inervado, el cual sigue manteniendo altas concentraciones de NA (Morales-Ledesma y col., 2010), no permite que las concentraciones hormonales se restablezcan a valores reportados para un animal sin la patología.

El grupo de Calka (1988) mostró que la sección del NPO elimina las fibras que transportan CGRP y SP. Los autores mencionan que estos péptidos no participan en la secreción de progesterona y estradiol, ya que cuando se cultivan ovarios de ratas juveniles tratadas con PMSG y estimuladas con CGRP, no se producen cambios en las concentraciones de estas hormonas ováricas. Sin embargo, los resultados del presente estudio llevan a sugerir que en el modelo del animal con SOPQ, el NPO modula de manera estimulante la secreción de estradiol. Este efecto podría ser el resultado de un cambio en

el flujo sanguíneo que reciben los folículos ováricos tal y como ha sido sugerido (Kagitani y col 2008).

Por los resultados generados en el presente estudio, sugerimos que en el animal con SOPQ, la respuesta del ovario va a depender de la integridad no sólo del NOS sino también del NPO, lo que establece un circuito neural entre ambos paquetes de nervios. Por otra parte, postulamos que existe una comunicación entre los ovarios vía el NPO, cuya dirección va del ovario izquierdo al derecho.

En el modelo 1 se muestra el aporte de inervación simpática y sensorial del ovario, dada por el NOS y el nervio del plexo ovárico (NPO), el soma de ambos paquetes nerviosos se originan en el ganglio celiaco mesentérico superior (GCMS). En la rata hembra, la sección del NOS+NPO izquierdos, bloquea la respuesta ovulatoria por la gónada denervada e induce ovulación compensadora en la que conserva ambos nervios. Ante la falta de la inervación en el ovario izquierdo, la respuesta ovulatoria por la gónada inervada es semejante a la que se presenta en un animal hemicastrado del ovario izquierdo.

El aumento en la concentración de progesterona, podría ser dada por el mayor número de cuerpo lúteos, mientras que la caída en el estradiol, se podría deber a la disminución en el número de folículos en crecimiento.

En el modelo 2 se muestra el aporte de inervación simpática y sensorial del ovario, dada por el NOS y el NPO, nervios que convergen en el GCMS. La inyección de VE, resulta en el incremento de la actividad de la tirosina hidroxilasa (TH), que se traduce en un incremento de la síntesis de noradrenalina (NA) ovárica, lo cual genera en el ovario el desarrollo de quistes foliculares (Lara y col., 1993; 2000; Morales-Ledesma y col.,2010).

Las hembras con SOPQ, y sección del NOS, recuperan la respuesta ovulatoria, por el ovario inervado, mientras que la sección del NPO, lo hace por ambos ovarios. Nuestros resultados nos permiten proponer al NPO, como una vía de comunicación entre los ovarios**(A)**, que facilita la ovulación por ambos ovarios.

En el presente estudio, la disminución de la concentración de estradiol, puede estar generando una señal estimulante para la producción de GnRH en el hipotálamo y Gns en la hipófisis. Estas gonadotropinas estimulan la ovulación en el ovario inervado **(B)**, ya que previamente se ha mostrado que la inervación modula la acción de las gonadotropinas (Morales y col., 1998).

En modelo 3 se muestra el aporte de inervación simpática y sensorial del ovario, dada por el NOS y el NPO, ambos nervios convergen en el GCMS, en el animal con VE, se desarrolla el SOPQ. Cuando en estas hembras se realiza la sección unilateral del NPO, ambos ovarios ovulan, cuando el NOS y NPO izquierdos son retirados en el ovario izquierdo, éste no ovula y sí lo hace el ovario inervado, compensando la cuota ovulatoria. Al parecer, ante la falta de los dos nervios la rata se comporta como un animal hemicastrado, donde el ovario inervado no recibe señales neurales por el ovario denervado.

A diferencia del modelo del animal sin la patología, en el animal con síndrome el estímulo inicial de bloqueo en la ovulación por el VE, puede ser revertido, cuando ambos nervios son retirados en el ovario, estos resultados nos sugieren que el NOS y NPO participan en la persistencia del SOPQ.

CONCLUSIONES

Por los resultados generados en el presente estudio, se desprenden las siguientes conclusiones:

En la hembra sin patología

- El plexo ovárico no participa en la regulación del proceso ovulatorio, y sólo el NPO-izquierdo modula de manera estimulante la secreción de estradiol.
- A la falta de la información del NOS y del NPO izquierdo el ovario inervado presenta una ovulación compensadora.

En el animal con SOPQ

- En la rata hembra el SOPQ no solo resulta del incremento de la actividad simpática de las fibras nerviosas del ovario, sino de la comunicación de los ovarios a través de sus fibras nerviosas.
- La información aportada por el NPO regula de manera estimulante la persistencia de la patología.
- La sección unilateral del NOS restablece la ovulación por la gónada inervada. La sección del NPO resulta en la ovulación de ambos ovarios.
- En la hembra con el síndrome la información neural que llega a los ovarios por cada uno de los plexos ováricos, regula de manera estimulante la secreción de estradiol. Esta modulación se torna inhibitoria si previamente quitamos al NOS-izquierdo.
- La sección del NOS y del NPO izquierdo apoya la idea de que la comunicación interovárica en el animal con o sin la patología, depende de la integridad de ambos nervios.
- La comunicación interovárica va del ovario izquierdo al derecho y en menor magnitud en sentido opuesto.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott D.H., Barnett D.K., Bruns C.M. y Dumesic D.A., 2005. "Androgen excess fetal programming of female reproduction: a developmental etiology for polycystic ovary syndrome?" *Human Reproduction* Vol.11, No. 4 357–374.
- Abbott D.H., Zhou R., Bird I.M., Dumesic D.A. y Conley A.J., 2008. "Fetal programming of adrenal androgen excess: lessons from a nonhuman primate model of polycystic ovary syndrome" *Endocrinology Dev.* 13: 145–158.
- Traish A. M. Kim S. W. Stankovic M., Goldstein I., y Kim N.N. 2007, "Testosterone Increases Blood Flow and Expression of Androgen and Estrogen Receptors in the Rat Vagina" *J Sex Med* 2007;4:609–619.
- Aguado L.I. y Ojeda S.R. 1984 (a). "Prepubertal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation", *Endocrinology* 114; 1845.
- Aguado L.I. y Ojeda S.R. 1984 (b). "Ovarian Adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion". *Endocrinology.* 114 (5): 1944-1946.
- Krishna A., Rifai A. A., Paul Rother B.H. y Spanel-Borowski K. 2001, "Increase in calcitonin gene related peptide (CGRP) and decrease in mast cells in dihydroepiandrosterone (DHEA) induced polycystic rat ovaries", *Anat Embryol* 203:375–382.
- Arizaga H.C., 2007. "Monografía: Síndrome del Ovario Poliquístico" 1ra Cátedra de Clínica Médica y Terapéutica Facultad de Ciencias Médicas Universidad Nacional de Rosario Argentina.
- Baljet B. y Drukker J. 1979. "The extrinsic innervation of the abdominal organs in the female rat". *Acta Anat (Basel).* 104(3):243-67.
- Barria A., Leyton V., Ojeda S.R. y Lara H.E. 1993. "Ovarian Steroidal Response to Gonadotropins and, & Adrenergic Stimulation Is Enhanced in Polycystic" *Endocrinology.* 133: 2696-2703.
- Baynes J.W. y Dominczak M.H. 2006. "Bioquímica" Medica 2da edición Elsevier España pp. 213-224.
- Becu-Villalobos D. y Lacau-Mengido I. 1990. "Control Hormonal del Desarrollo Puberal de la Rata Hembra" *Act. Physiol. Pharmacol. Latinoam.* Vol 40, 1-17.
- Berg J.M., Stryer I., Tymoczko J., Macarulla J.M., 2008. "Bioquímica" 8ta Ed. Edit Reverté España pp. 750-755.

- Bergman R.A., Afifi A.K. y Heidger P.M., 1998. "Sistema reproductor femenino histología". Edit McGraw Hill-Interamericana, México 16 pp. 307-320.
- Berne R.M., Levy M. y Hartcut B., 1999. "Fisiología" 2da Ed. Elsevier España pp. 697-701.
- Berne R.M. y Levy M.N., 2001. "Fisiología" 4ta edición, Editorial Elsevier Science Madrid.
- Billig H., Chun S.Y., Eisenhauer K., y Hsueh A.J., 1996. "Gonadal cell apoptosis: hormone-regulated cell demise" Hum. Rep. Update 2 103–117.
- Botella-Llusia J., 1995. "El ovario Fisiología y Patología" Primera Ed., Edit. Díaz do Santos Madrid España.
- Braw R.H., y Tsafri A., 1980. "Follicles explanted from pentobarbitone treated rats provide a model for atresia" J. of Rep. and Fert. 59; 259–265.
- Brawer J.R., Muñoz M. y Farookhi R., 1986 "Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat". Biol Reprod35:647–55.
- Brawer J.R., Naftolin F., Martin J., y Sonnenschein C., 1978. "Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat". Endoc.103: 501–12.
- Burden H.W., 1978. "The Vertebrate Ovary". Jones R. Ed. Plenum Press. New York USA pp. 615-638.
- Burden H.W., 1985. "The adrenergic innervation of mammalian ovaries" en: Ben Jhonathan N., Barh J.M., y Weiner R.I., "Chatecolamines as hormone regulator" Raven Press Univ.
- Burden H.W. y Lawrence I.E., 1977. "The effect of denervation on compensatory ovarian hiperthrophy" Neuroendocrinology, 23: 368 – 378.
- Byskov A.G.S., 1978. "Follicular atresia" en: Jones R. E., "The vertebrate ovary". Plenum press New York, 1ra edicion USA. pp. 234.
- Calka J., Mcdonald J.K., Ojeda S.R., 1988. "The Innervation of the Immature Rat Ovary by Calcitonin Gene-Related Peptide" Biol. of Rep. 39: 1215-1223.
- Casais M., Delgado S.M., Sosa Z.Y., Telleria C.M., y Rastrilla A.M., 2006. "The celiac ganglion modulates LH-induced inhibition of androstenediona release in late pregnant rat ovaries". Rep. Biol. and Endoc. 4:66–72.
- Chávez R., Morales L., González Ma. E. y Domínguez R., 1994. "Ovarian norepinephrine content in prepubertal rats with superior ovarian nerve section: temporal studies". Medic. Sci. Res. 22:789-790.

- Chávez R., Carrizosa L. Domínguez R., 1991. "Effects of superior ovarian nerve section on spontaneous and induced ovulation in adult rats". *Med. Sci. Res.* 19: 41-42.
- Clarke J. J., 1988. "GnRH secretion". 11th. International Congress on Animal Reproduction and A.I. Dublin, Ireland. 5: 1-9.
- Cruz Ma. E., Flores A., Palafox Ma. T., Meléndez G., Rodríguez J. O., Chavira R. y Domínguez R., 2006, "The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model". *Rep. Biol. & Endoc* 2006, 4:43.
- D'albora H., Anesetti G., Lombide P., Les D. W., y Ojeda S.R., 2002. "Intrinsic Neurons in the Mammalian Ovary" *Micro.Res. & Tech.* 59:484-489.
- Davoren J.B., y Hsueh A. J. W., 1985 "Vasoactive Intestinal Peptide: A Novel Stimulator of Steroidogenesis by Cultured Rat Granulosa Cells". *Biol of Rep.* 33: 37-52.
- Dees W.L., Hiney C.E., Schultea T.D., Mayerhofer A., Danilchick M., Dissen G.A., y Ojeda S. R., 1995. "The primate ovary contains a population of chatecolaminergic neuron like cells expressing nerve growth factor receptors" *Endoc* 136: 5760-5768.
- Delgado S. M., Escudero C. G., Casais M., Gordillo M., Anzulovich A. C., Sosa Z., y Rastrilla A. M., 2010, "Ovary physiology in the first oestral cycle: Influence of noradrenergic and cholinergic neural stimuli from coeliac ganglion" *Steroids* 75: 685-694.
- Díaz-Chico B. N. 2004. "Bioquímica básica delas hormonas esteroides: biología clínica del cáncer" Departamento de Bioquímica y Fisiología Universidad de las palmas de la Gran Canaria 1-17.
- Diaz J.C. y Hicks J.J., 1995. "Bioquímica" 2da edición, ed. Interamericana mex. México DF. Pp. 606-640.
- Dissen G. A., Lara H.E., Leyton V., Paredes A., Hill D.F., Costa M.E., Martínez-Serrano A. y Ojeda S.R., 2000. "Intraovarian Excess of Nerve Growth Factor Increases Androgen Secretion and Disrupts Estrous Cyclicity in the Rat". *Endocrinology* 141: 1073-1082.
- Dissen G.A., y Ojeda S.R., 1999. "Ovarian innervation" En Knobill E., Neil J. *encyclopedia of reproduction* Academyc Press. USA. 3:583-589.
- Doganay M., Simsek A., Tapisiz O.L., Mulazimoglu B.S., Yumusak N., y Gungor T., 2009. "Superior ovarian nerve (SON) transaction leads to a stunted follicular

maturation: a histomorphological and morphometric analysis in the rat model fértil steril. 1-4.

- Domínguez R., Chávez R., y Cruz M. E., 1991. Capítulo VII “La regulación y el crecimiento del desarrollo del folículo ovárico.”) En “Tópicos selectos de biología de la reproducción”, Domínguez R., 1991. Primera edición, Grupo Editorial Porrúa, Méx. DF. Pp. 161-188.
- Dorner G., 1980. “Sexual differentiation of the brain” vitamins and hormones. 38:325-335.
- Erskine M.S., y Weaver Ch.E. Jr., 1988 “The role of ovarian sympathetic innervation in the control of estrous responsiveness in the rat”. Horm Behav. 22:1-11.
- Fawcett D.W., 1990. “Tratado de Histología” Décima Primera Edición, editorial interamericana, México. pp 865-888.
- Findlay, J.K., Clarke, I.J., 1987. “Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants”. J. Reprod. Fert. Suppl., 34: 27-37.
- Fink G., 1988 “Gonadotropin secretion and its control”. In: Knobil E. Neill J. eds. “The physiology of reproduction”. Raven, New York, pp. 1349–1377.
- Fink G., 2000 “Neuroendocrine regulation of pituitary function”: General principles. en: Conn P.M., Freeman M.E., eds. Neuroendocrinology in physiology and medicine. H. Totowa, N.J. pp. 107–134.
- Fortune J.E., 1994. “Ovarian Follicular Growth and Development in Mammals”. Biol. of Rep. 50, 225-232.
- Foster D.L., y Ebling F. J. P., 1999. “Puberty in non primate mammals”, en Knobil E. Neil J., Encyclopedia of reproduction Academic Press USA. 3.583-589.
- Franks S., 2005 “Polycystic Ovary Syndrome”. Medical Progress. 333(13): 853-861.
- Franks S., Gharani N., Waterworth D., Batty S. y White D., 1998. “The molecular genetics of polycystic ovarian syndrome. Trends Endocrine Metab 9: pp. 51-56.
- Freeman M.E., 1994 “The neuroendocrine control of the circadian cycle of the rat”. En: Knobil E., Neill J.D., eds. “The physiology of reproduction”, 2do edición. Raven, New York, vol. 2, pp. 613–658.
- Garther L.P., y Hiatt J.L., 2008. “Texto y Atlas de Histología 3ra edición McGrawhill China pp.466-471.

- Geneser F., 2000. "Órganos de la reproducción" en: "Histología sobre bases moleculares" 3ra. edición Editorial Medica panamericana BsAs. Argentina cap. 22 pp. 613-638.
- George F. W., y 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 " proceedings of the national academy of sciences 84: 5803-5807.
- Gerendai I., Tóth I. E., Boldogkői Z., Medveczky I. y Halász B., 1999 "CNS Structures Presumably Involved in Vagal Control of Ovarian Function". Journal Autonomic Nervous System. 80:40-45.
- Goldfien A. y Monroe S.E., 1998. En: Greenspan F.S., Streweler G.J., Endocrinología básica y clínica. 4ta edicion. Editorial El manual moderno México DF. Cap.13 pp. 497-554.
- Goldman B.D., 1981, Capítulo 8 "Puberty" en: "Neuroendocrinology of reproduction" Adler N.T., Plenum press. Nueva York y Londres. Pp. 229-238.
- Goodarzi M.O., Dumesic D.A., Chazenbalk G. y Azziz R., 2011. "Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis". Nat. Rev. Endocrinol. 2011 Apr; 7(4):219-31.
- Goodman R.L., Karsch F.J., 1980. "Pulsatile secretion of luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids". Endoc. 107: 1286-1290.
- Gore-Langton R.E., y Amstronng D.T., 1994. "Follicular Steroidogenesis and its control". En: The physiology of reproduction 2da ed. Knobil E. y Neil J.D., Eds. Raven Press Nueva York pp. 571- 580.
- Gorski R.A., 1990. "Sexual differentiation of the brain: comparative aspects en Control of the onset puberty", Autor Melvin M. G., Pierre C., S. y Michel L. A., Editorial Williams and Wilkins USA. Pp. 229-238.
- Gougeon A., 1986. "Dynamics of follicular growth in the human: a model from preliminary results" Hum. Reprod. 1: 81-87.
- Guyton A.C., y Hall J.E., 2001. "Fisiología femenina antes de la gestacion y hormonas femeninas" en: "Tratado de fisiología medica" 10ª edición. Editorial McGrawhill interamericana Mexico Cap. 81 pp. 1117-1133.
- Hemmings R., Farookhi R., Brawer J.R., 1983. "Pituitary and ovarian responses to luteinizing hormone realising hormone in a rat with policystic ovaries" Biol. of Rep. 29: 239-248.

- Hotchkiss J., Knobil E., 1994. "The menstrual cycle and its neuroendocrine control". In: Knobil E., Neill J.D., eds. "The physiology of reproduction", 2da ed. Raven Press, New York, vol. 2, pp. 711–749.
- Hsu S.Y., y Hsueh A.J., 2000. "Tissue-specific Bcl-2 protein partners in apoptosis: an ovarian paradigm" *Phys. Revs.* 80: 593–614.
- Hsueh A. J. W., Billing H. y Tsafirri A., 1994. "Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process" *Endoc. Revs.* 15: pp. 707-724.
- Hułas-Stasiak M. y Gawron A. 2011. "Follicular atresia in the prepubertal spiny mouse (*Acomys cahirinus*) ovary", *Apoptosis* (2011) 16:967–975.
- Kagitani F., Uchida S. y Hotta H., 2008. "Effects of electrical stimulation of the superior ovarian nerve and the ovarian plexus nerve on the ovarian estradiol secretion rate in rats". *The J. of Phys. Sci.* Vol. 58, No. 2, 2008.
- Kaipia A. y Hsueh A.J., 1997 "Regulation of ovarian follicle atresia" *Annual Review of Physiology* 59: 349–363.
- Klein C. M., y Burden H. W., 1988 "Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary" *Neurosci. Letters*, 85 (1988) 217 222.
- Klein C.M., Ray R.H., Burden H.W., 1989. "Direct electrical stimulation of the superior ovarian nerve in rats causes an increase in neuronal activity in the ipsilateral ovarian plexus nerve" *Brain Res.* 479: 194-200.
- Krishna B. y Singh M.D., 2005. "Persistent estrus models of polycystic ovary disease: an update". *fertility and sterility* vol 84: 2:1228-34.
- Lara H. E., Hill D. F., Katz K. H., y Ojeda S. R., 1990(a) "The Gene Encoding Nerve Growth Factor is Expressed in the Immature Rat Ovary: Effect of Denervation and Hormonal Treatment". *Endoc.* 126: 357-363.
- Lara H. E., McDonald J. K., Ahmed C. E., y Ojeda S. R., 1990 (b) "Guanethidine-Mediated Destruction of Ovarian Sympathetic Nerves Disrupts Ovarian Development and Function in Rats". *Endocrinology.* 127: 2199-2209.
- Lara H.E., Dissen G. A., Leyton V., Paredes A., Fuenzalida H., Fiedler J. L., y Ojeda S. R., 2000. "An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and Its Low Affinity Receptor Is a Principal Component of Steroid-Induced Polycystic Ovary in the Rat" *Endoc.* 141: 1059–1072.
- Lara H. E., Dorfman M., Venegas M., Luza S. M., Luna S. L., Mayerhofer A. Guimaraes M. A., Rosa-E-Silva A. A. M., y Ramirez V. D., 2002. "Changes in

Sympathetic Nerve Activity of the Mammalian Ovary During a Normal Estrous Cycle and in Polycystic Ovary Syndrome: Studies on Norepinephrine Release” *Mic. Res. and Tech.* 59: 495–502.

- Lara H.E., Ferruz J.L., Luza S., Bustamante D.A., Borges Y., y Ojeda S.R., 1993. “Activation of Ovarian Sympathetic Nerves in Polycystic Ovary Syndrome”. *Endoc.* 133: 2690-2695.
- Larrea H., Foliart R. M., Escorza A., Ulloa-Aguirre A. y Valencia X., 1991. Capítulo V “Fisiología y mecanismos de acción de las gonadotropinas hipofisarias” en “Tópicos selectos de Biología de la Reproducción” Domínguez R. Grupo Editorial Porrúa, primera edición. México DF. Pp. 107-131.
- Lawrence I. E., y Burden H. W., 1980. “The origin of extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary” *the Anatomical Record* 196; 1: 51-59.
- Leung C. K., Peter y Adashi Y., 2004 Capítulo 1 “Neural and neurotrophic control of the ovarian development” en “the Ovary” USA, Elsevier academic press.
- Levine J. E., Bauer-Dantoin A. C., Besecke L. M., Conaghan L. A., Legan S.J., Meredith J. M., Strobl F. J., Urban J. H., Vogelsong K. M., Wolfe A. M., 1991 “Neuroendocrine regulation of luteinizing hormone pulse generator in the rat”. *Recent. Prog. Horm. Res.* 47:97–153.
- Levine J. E., Chappel P., Besecke L. M., Bauer-Dantoin A. C., Wolfe A. M., Porkka-Heiskanen T. y Urban J. H., 1995. “Amplitude and frequency modulation of pulsatile luteinizing hormone-releasing hormone release”. *Cell. Mol. Neurobiol.* 15:117–139.
- Levine N. E., 1997 “New concepts of neuroendocrine regulation of gonadotropin surges in rats”. *Biol. Of Reprod.* 56:293–302
- Linares R., 2006. Tesis de licenciatura “Participación del nervio ovárico superior en el desarrollo del síndrome del ovario poliquístico, la rata como modelo de estudio” UNAM FES Zaragoza México DF.
- Linares R., 2011 Tesis de Maestría “Interacción entre los nervios ovárico superior y vago en la regulación de la ovulación y la secreción hormonal. la rata con síndrome del ovario poliquístico como modelo de estudio” UNAM FES Zaragoza México DF.
- Magoffin D.A. 2006 “Ovarian enzyme activities in women with polycystic ovary syndrome, *Fert. & Steril.* 86; 1, s9-s11.
- Malamed S., Gibney J. A. y Ojeda S.R., 1992. “Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the rat”. *Cell. and Tissue Research* 270:87-93.

- Mannerås L., Cajander S., Holmang A., Seleskovic Z., Malin-Lonn T. L. y Stener-Victorin E., 2007, "A New Rat Model Exhibiting Both Ovarian and Metabolic Characteristics of Polycystic Ovary Syndrome", *Endocrinology* 148(8):3781–3791.
- Manni L., Holmang A., Cajander S., Lundeberg T., Lu A. y Stener-Victorin E., 2006 "Effect of anti-NGF on ovarian expression of 1- and 2-adrenoceptors, TrkA, p75NTR, and tyrosine hydroxylase in rats with steroid-induced polycystic ovaries" *Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 290: R826–R835, 2006.
- Markström E., Svensson E. Ch., Shao R., Svanberg B. y Billig H. 2002 "Survival factors regulating ovarian apoptosis, dependence on follicle differentiation" *Rep.* 2002; 123, 23–30.
- Matalliotakis I., Kourtis A., Ourania K., y Panidis D., 2006. "Polycystic ovary syndrome: Etiology and pathogenesis". *Arch. Gynecol. Obstet.* 274:187-197.
- McCarthy G. F., Brawer J. R., 1990(a). "Induction of Stein-Leventhal, like polycystic ovaries (PCO) in the rat: a new model for cystic ovarian disease". *Anat. Rec.* 1990; 228:137– 44 (A).
- McCarthy G. F., Farookhi R., Brawer J. R., 1990(b). "Plasma gonadotropin patterns characterizing the development of polycystic ovaries in the estradiol valerate treated rat". *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 1990; 68:28 –33.
- Mira R. A., 2005. "Síndrome del ovario poliquistico, teorías de su fisiopatología" en: "bioquímica y patología clínica", año/vol. 69 núm. 002, asociación bioquímica argentina buenos aires argentina pp.12-33.
- Moenter S. M., Caraty A., Locatelli A., Karsch F. J., 1991. "Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge". *Endoc.* 129:1175–1182.
- Morales L., Chávez R. y Domínguez R., 1993. "Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of the ovulation in the prepubertal rat, differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve" *Med. Sci. Res.* 21: 15-17.
- Morales-Ledesma L., Linares R., Rosas G., Morán C., Chavira R., Cardenas M., Domínguez R., 2010. "Unilateral sectioning of the superior ovarian nerve of rats with polycystic ovarian syndrome restores ovulation in the innervated ovary". *Reprod Biol. and Endoc.* 2010, 8:99.
- Morales-Ledesma L., Ramírez D. A., Vieyra E., Trujillo A., Chavira R., Cárdenas M. y Domínguez R., 2011 "Effects of acute unilateral ovariectomy to pre-pubertal rats on steroid hormones secretion and compensatory ovarian responses" *Reprod. Biol. and Endoc.* 2011, 9:41.

- Morán C., Morales L., Quiroz U. y Domínguez R., 2000. "Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth". *J. of Endoc.* 166: 205-211.
- Morán C., Franco A., Morán J. L., Handal A., Morales L. y Domínguez R., 2005. "Neural activity between ovaries and the prevertebral celiac superior mesenteric ganglia varies during the estrous cycle of the rat", *Endocrine* (6):147- 152.
- Morán C., Morales L., Razo R. S., Apolonio J., Quiroz U., Chavira R. y Domínguez R., 2003. "Effects of sensorial denervation induced by capsaicin injection at birth or on day three of life, on puberty, induced ovulation and pregnancy" *Life Sciences* 73: 2113–2125.
- Norman A. y Litwack G. 1997. "Hormones" 2da edicion Editorial USA Press Academic USA. 558 Ppt.
- Norris D., 2007. "Vertebrate Endocrinology" Cuarta edición, Editorial Elsevier, Burlington USA, 552 ppt.
- Nunemaker C.S., De Fazio R. A. y Moenter S. M., 2002. "Estradiol-sensitive afferents modulate long-term episodic firing patterns of GnRH neurons". *Endocrinology* 143:2284–2292.
- Odell W. D., 1990. "Sexual maturation in the rat" en: "Control of the onset puberty", Autor: Melvin M., Grumbach P. C., Sizonenko R. y Michel L. A., Editorial Williams and Wilkins USA. pp 211.
- Ojeda S. R., Andrews W. W., Advis J. P., White S. S., 1980. "Recent advances in the endocrinology of puberty" En: *Endocrine Reviews*. 1:228-257.
- Ojeda S. R., y Urbanski H. F., 1994. "Puberty in rat" en Knobil, E., Neill J. D., eds. *Encyclopedia of reproduction*. Editorial Raven Press, New York pp. 1699-1738.
- Ojeda S. R., y Lara H. E., 1989. "Role of simpathetic nervous system in the regulation of ovarian function" en: Pirke K. M., Wuttke W., Schweiger U., "The menstrual cycle and its disorders" Springer verlag Berlin pp. 26-34.
- Parra C., Fieldler J. L., Luna S. L., Greiner M., Padmanabahn V., Lara H. E., 2007. "Participation of vasoactive peptide in ovarian steroids production during the rat estrous cycle and in the development of estradiol valerate-induced polycystic ovary". *Reproduction*. 133: 147-154.
- Price C. A. y Webb R., 1988. "Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers". *Endoc.* 122: 2222-2231.

- Richard S., Legro P., Chiu A. R., Kunselman Bentley Ch. M., Dodson W. C. y Dunaif A., 2005 “Polycystic ovaries are common in women with hyperandrogenic chronic anovulation but don’t predict metabolic or reproductive phenotype” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(5):2571–2579.
- Richards J.S., 1978 “Hormonal control of follicular growth and maturation in mammals” en: “*The Vertebrates Ovary. Comparative Biology*”. R. E., Jones editors. Plenum press NY. pp.330-360.
- Rodríguez M., 1971. “Anatomía, Fisiología e Higiene” 3ra edición, editorial progreso México pp. 289.
- Rosa-E-Silva A., Guimaraes M. A., Padmanabhan V., Lara H. E., 2003. “Prepubertal Administration of Estradiol Valerate Disrupts Cyclicity and Leads to Cystic Ovarian Morphology during Adult Life in the Rat: Role of Sympathetic Innervation” *Endoc.* 144: 4289–4297.
- Rosas G., 2006. Tesis de licenciatura “Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción de hormonas esteroideas” Facultad de Estudios Superiores Zaragoza UNAM México.
- Rosas G., 2011. Tesis de maestría “Participación del péptido intestinal vasoactivo en la regulación de la ovulación y la secreción hormonal. La rata con síndrome del ovario poliquístico como modelo de estudio.” UNAM, FES Zaragoza México DF. Mayo 2011.
- Ross M., Kaye G. y Paulina W., 2005. “Histología texto y atlas a color de biología celular y molecular” 4ta edición. Editorial medica panamericana. BsAs Argentina pp. 535-737.
- Schulster A., Farookhi R., Brawer J. R., 1984. “Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: spontaneous changes in characteristic endocrine features”. *Biol. of Reprod.* 1984;31:587–93.
- Selstam G., Norjavaara E., Tegenfelt T., Lundberd S., Sandström C. y Persson S., 1985 “Partial denervation of the ovaries by transaction of the suspensory ligament does not inhibit ovulation in rats treated with pregnant mare serum gonadotropin”. *Anat. Record.* 213:392-395.
- Shirwalkar H., Deepak N.M., y Anurupa M., 2007. “Exposure of adult rats to estradiol valerate induces ovarian cyst with early senescence of follicles” *Molecular and Cellular Endocrinology* 272:22–37.

- Singh K. B., Greenwald G. S., 1967 “Effects of continuous light on the reproductive cycle of the female rat: induction of ovulation and pituitary gonadotrophins during persistent oestrus”. *J. Endocrinol.* 38:389–94.
- Singh K. B., 1969 (a) “Induction of polycystic ovarian disease in rats by continuous light. II. Observations on mating, pregnancy, and the postpartum period”. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 104:1004–7.
- Singh KB. 1969 (b) “Induction of polycystic ovarian disease in rats by continuous light. I. The reproductive cycle, organ weights, and histology of the ovaries”. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 103:1078–83.
- Sosa Z., Delgado S. M., Casais M., Aguado L. y 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 and Molecular Biology* 91 179–184.
- Sosa Z. Y., Casais M., Rastrilla A. M. y Aguado L. I., 2000. “Adrenergic influences on coeliac ganglion affect the release of progesterone from cycling ovaries. Characterisation of an in vitro system”. *J. of Endocrinology* 166 307–318.
- Sotomayor-Zarate R., Dorfman M., Paredes A. y Lara H. E., 2008. “Neonatal exposure to estradiol valerate programs ovarian sympathetic innervation and follicular development in the adult rat”. *Biol. of Rep.* 78: 673-680.
- Squires E. J., 2003. “Applied Animal Endocrinology” 4ta edición, Editorial CABI Publishing, Massachusetts USA, 234 ppt.
- Stener-Victorin E., Kobayashi R., Watanabe O., Lundeberg T., Kurosawa M., 2004. “Effect of electro-acupuncture stimulation of different frequencies and intensities on ovarian blood flow in anaesthetized rats with steroid-induced polycystic ovaries”. *Reprod. Biol. Endocrinol.* Mar 26; 2:16.
- Stener-Victorin E., Lundeberg T., Cajander S., Aloe L., Manni L., Waldenström U., Olof J. P., 2005. “Steroid-induced polycystic ovaries in rats: effect of electro-acupuncture on concentrations of endothelin-1 and nerve growth factor (NGF), and expression of NGF mRNA in the ovaries, the adrenal glands, and the central nervous system” *Reprod. Biol. and Endoc.* 3: 44.
- Stener-Victorin E., Lundenberg T., Waldenström U., Manni L., Aloe L., Gunarsson S., y Janson P.O. 2000. “Effects o electroacupunture on nerve grow factor and ovarian morphology in rats with experimentally induced polycistyc ovaries”. *Biol. of Rep.* 63:1497-1503.

- Suter K.J., Wuarin J.P., Smith B.N., Dudek F.E., Moenter S.M., 2000 “Whole-cell recordings from preoptic/hypothalamic slices reveal burst firing in gonadotropin-releasing hormone neurons identified with green fluorescent protein in transgenic mice”. *Endocrinology* 141:3731–3736.
- Tamraz J. C., Comair Y. G., 2000, “Atlas of Regional Anatomy of the Brain Using MRI With Functional Correlations”, Springer ed., New York USA. Pp 201- 221.
- Terasawa E., 2001 “Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) neurons: mechanism of pulsatile LHRH release”. *Vitam Horm* 63:91–129.
- Toth I. E., Wiesel O., Boldogkoi Z., Balint K., Tapaszti Z., y Gerendai I., 2007, “Predominance of Supraspinal Innervation of the Left Ovary” *Microscopy Res. and Tech.* 70:710–718.
- Toth I. E., Wiesel O., Toth, E. D., Boldogko Z., Halasz B., y Gerendai I., 2008 “Transneuronal Retrograde Viral Labeling in the Brain Stem and Hypothalamus Is More Intense From the Left Than From the Right Adrenal Gland” *Micro. Res. And Tech.* 71:503–509.
- Tresguerres J. A. F., 1999. “Fisiología Humana” 2da Edición, Editorial Mac Graw Hill Madrid España.pp. 488-490; 1036- 1048.
- Van Voohris B. J., 1999. “Follicular steroidogenesis. Encyclopedia of reproduction 2 en Knobil E. Nelly (Eds) USA, Academic Press. Pp. 389-395.
- Vega-Orozco A., Daneri C., Anesetti G., Cabrera R., Sosa Z. y Rastrilla A. M., 2012 “Involvement of the oestrogenic receptors in superior mesenteric ganglion on the ovarian steroidogenesis in rat” *Reproduction* 143 183–193.
- Vieyra Valdez Elizabeth 2007 Tesis de licenciatura “Efecto agudo de la sección uni o bilateral del nervio ovárico superior sobre la concentración de hormonas esteroides. La rata prepúber como modelo de estudio” UNAM, México DF. 2007.
- Vieyra Valdez Elizabeth 2007 Tesis de maestría “Un estudio de los efectos agudos y subagudos de la sección del nervio ovárico superior en ratas prepúberas con ovariectomía unilateral sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario” UNAM, México DF. 2011.
- Weis G. K., Dail W. G., Ratner A., 1982. “Evidence of direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats” *J. Rep. Fert.* 65: 507-511.
- Xiao-Yan W., Zhi-Ling L., Cheng-Yong W., Yan-Mei L., Hong L., Shao-Hong W. y Wan-Fen X. 2010, “Androgenized Female Sprague-Dawley Rats” *Endocrine Journal* 57 (3), 201-209.

- Xita N., y Tsatsoulis A., 2006. "Review: Fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies". *J. of Clin. Endoc. and Metabol.*, 91(5):1660-1666.
- Yao H. C. H., y Barh J. M., 1999 "Ovary Overview", en: Knobil E. Neil J., "Encyclopedia of reproduction" Academic Press USA. 3:590-597.
- Yen S. S. C., 2001. "Chronic anovulation Caused By Peripheral Endocrine Disorders en: Yen S. S. C., Jaffe R. B., Editores, Reproductive Endocrinology Physiology Pathology and Clinical Management. Saunders Philadelphia vol. 3:576-630.
- Yen S. S. C. y Jaffe R. B. "Reproductive endocrinology" Sexta Edición Saunders Elsevier press. USA 2009, 928 ppt.
- Yoshinaga K., 1999 "Estrogen secretion Regulation of" en: "Encyclopedia of reproduction Knobil E. y Neil J. D. eds. Vol 2. Academic Press USA pp. 108-118.
- Young J. M., y McNeilly A. S., 2010. "Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle" *Reproduction* (2010) 140 489–504.
- Zhang X., Zhang L., Huo S., Wang J. y Cuis 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.
- Zieher L. M., 1981. "Los transmisores catecolaminicos (noradrenalina, adrenalina, dopamina)". *Investigación Médica Internacional*. 8 (2), 119-35.