



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

**EFFECTO DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR
EN RATAS PERIPUBERALES, TRATADAS CON VALERATO DE
ESTRADIOL EN LA BURSA OVÁRICA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G O

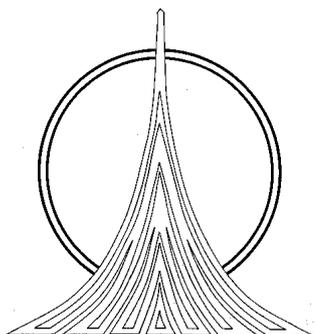
P R E S E N T A:

CHRISTIAN IVÁN DÍAZ ZAVALA

DIRECTORA DE LA TESIS: DRA. LETICIA MORALES LEDESMA

MÉXICO, D. F.

ABRIL 2012





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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“EFECTO DE LA SECCIÓN DEL NERVIO OVÁRICO SUPERIOR EN RATAS
PERIPUBERALES, TRATADAS CON VALERATO DE ESTRADIOL EN LA
BURSA OVÁRICA”**

Tesis presentada por:
Christian Iván Díaz Zavala

Directora de Tesis:
Dra. Leticia Morales Ledesma

**Realizada en el Laboratorio de Fisiología Reproductiva de la Unidad de
Investigación en Biología de la Reproducción.
UMIEZ. FES Zaragoza. UNAM.**

**Durante la realización de esta tesis se contó con el apoyo financiero de PAPIIT
convenio IN-203110-2**

Agradecimientos

A la UNAM

Agradezco a cada uno de los miembros del jurado:

M. en C. Raúl Zavala Chavero

Dra. Leticia Morales Ledesma

Dra. Ma. Elena Ayala Escobar

M en IBSH. Angélica Flores Ramírez

Dra. Juana Monroy Moreno

Por el tiempo brindado a la revisión de la tesis, a si como por sus comentarios y sugerencia.

A la Dra. Lety por trabajar conmigo en la escritura y redacción del presente estudio, por su comprensión, apoyo, paciencia y su infinita dedicación hacia mí y mis compañeros.

A todos mis compañeros y amigos del laboratorio que colaboraron en la realización de esta tesis: Azucena, Gaby, Rosa, Ely, Deyra, y Juan.

A la Dra. Adriana, al Dr. Roman y a todo el personal del bioterio de la FES Zaragoza, por el cuidado a los animales utilizados en este estudio.

Al Biólogo Roberto Chavira por su colaboración en la medición hormonal del presente estudio.

Dedicatoria

A mis padres *Reynaldo y Keriberta*, por apoyarme en todo momento de mi vida y estar siempre presente cuando yo más lo necesitaba, "Les dedico es te gran paso que he dado en mi vida"

A *mi Padre*, por estar siempre presente en mi vida, y por los consejos que siempre tratas de darme.

A *mi madre*, que te debo todo lo que soy y por tu amor incondicional "Te quiero"

A mis hermanos *Martin, Juan, Marisol y Angélica*, que siempre me han apoyado y porque nuestra amistad crezca.

A la *Dra. Lety*, por su infinita paciencia, y el apoyo que siempre me brindó "Gracias"

A mis amigos:

Israel, Enrique, Erick, Luis, Oscar, Uriostegui, Irán, Anayelli, Diana, Jessica, Sandra, Víctor, Geodanny, Mauricio, Gustavo, José, David y Richi por ser mis amigos durante la carrera y por los grandes momentos que compartimos juntos.

Fernando, por que nuestra amistad siga y porque no acabemos como siempre lo hemos planeado.

Sósif, por tu apoyo, amistad y sobre todo por tus consejos en el laboratorio, “Que tu familia fortalezca cada paso que des”

Izayaka, por tu ayuda, amistad y porque siempre me alegrabas mi día cuando cantabas, “Que nadie apague tu canto y tu sonrisa”.

Rocio, por ser una gran persona el la cual encontré una amiga, y que nuestra amistad perdure, “Que tus sueños te mantengan en pie”.

Samuel, Luis y Arturo, Brindemos por nuestra amistad que apareció de la nada y que siga aunque pase el tiempo. . . .

Gabriela Arvizu por apoyarme en el momento en que yo más lo necesitaba y porque a pesar del tiempo nuestra amistad sigue presente "Te quiero amiga".

Sofía por haberte encontrado después de mucho tiempo y brindarme tu apoyo a pesar de todo. "Eres alguien especial en mi vida".

Ligia, una de mis más grandes amigas de la prepa, gracias por tantos recuerdos. "Siempre aprendo de ti una cosa nueva".

Y a las ratitas que sacrifique para realizar este estudio "Gracias"

ÍNDICE

	Páginas
RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO	3
-Ovario	3
-Desarrollo folicular	5
-Atresia folicular	8
-Ovulación	9
-Esteroidogénesis	10
-Teoría de la doble célula.....	13
-Pubertad en rata.....	15
-Etapas del desarrollo postnatal	15
-Ciclo estral	18
-Inervación ovárica.....	20
-Nervio ovárico superior	20
-Plexo ovárico	21
-Efecto de la denervación simpática sobre la funciones ováricas	22
-Síndrome de ovario poliquístico	24

-Biosíntesis de NA	26
-Bursa ovárica	28
-Características del valerato de estradiol.....	29
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
HIPÓTESIS	31
OBJETIVO GENERAL	32
OBJETIVOS PARTICULARES	32
METODOLOGÍA.....	33
-Administración de valerato de estradiol (VE) o vehículo (Vh) en la bursa ovárica	33
-Sección unilateral de nervio ovárico superior	34
-Operación simulada	34
-Monitoreo del ciclo estral	34
-Autopsia	35
-Cuantificación de hormonas esteroides	35
-Observación de la histología ovárica.....	36
-Análisis estadístico	36
RESULTADOS	37
-Experimento 1. Efecto de la administración de VE en la bursa ovárica, sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario	37

Índice

-Experimento 2. Efecto de la sección ipsilateral del nervio ovárico superior en animales tratados con Vh o VE en la bursa ovárica.....	44
-Experimento 3. Efecto de la sección contralateral del nervio ovárico superior en animales tratados con Vh o VE en la bursa ovárica.....	51
-Histología del ovario.....	58
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	63
MODELO	73
CONCLUSIONES.....	79
REFERENCIAS	80

RESUMEN

La ovulación y la secreción de hormonas esteroides está regulada por las hormonas hipotalámicas, hipofisarias y por la información que llega al ovario por el nervio ovárico superior (NOS). En la rata, la administración de valerato de estradiol (VE) desencadena un cuadro similar al que se presenta en la mujer con síndrome de ovario poliquístico (SOPQ): anovulación crónica, hiperandrogenismo y ovarios poliquísticos. Se postula que el SOPQ es resultado de una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el NOS, que se traduce por un incremento en la concentración de noradrenalina ovárica.

Recientemente nuestro grupo mostró que la sección unilateral del NOS restablece la ovulación sólo en el ovario inervado, aún cuando la concentración de noradrenalina es alta. Con estos resultados no podemos descartar que el VE haya actuado en el sistema nervioso central y en el propio ovario. Para asegurar que el fármaco actúe sólo en el ovario, en el presente estudio se realizó la administración en la bursa ovárica y se analizó su efecto en la ovulación y secreción de progesterona y estradiol. Para ello, se utilizaron ratas hembras de 30 días de edad las cuales fueron inyectadas con VE y sacrificadas aproximadamente a los 60 días de edad. Con el fin de analizar la participación del NOS en la rata con SOPQ, la denervación se realizó de manera ipsi o contralateral al ovario inyectado con el VE, quince días después del tratamiento farmacológico.

El tratamiento con VE en la bursa ovárica no modificó la concentración de progesterona y aumentó la de estradiol que se acompañó del adelanto del inicio de la pubertad. En respuesta a la administración del VE en la bursa se observó en el ovario la presencia de quistes foliculares, que son más abundantes en el ovario izquierdo.

La sección ipsilateral y contralateral del NOS en ratas tratadas con VE en la bursa ovárica evitó la formación de quistes foliculares.

La sección del NOS izquierdo disminuyó la concentración de estradiol cuando el ovario tratado con VE es el izquierdo, efecto que desapareció si el ovario tratado fue el derecho. Por otro lado, la sección NOS derecho parece no participar en la secreción de estradiol cuando el ovario tratado con VE es derecho, mientras que si el fármaco se administra en el ovario izquierdo aumenta la secreción.

Estos resultados nos permiten sugerir que en ratas tratadas con VE el NOS participa de manera estimulante en la formación de quistes foliculares, regula de manera asimétrica la secreción de estradiol, y no participa en la secreción de progesterona ni la ovulación.

INTRODUCCIÓN

El SOPQ afecta del 3 al 7% de las mujeres en edad reproductiva (Morán, 2006) y es la causa más frecuente de esterilidad anovulatoria hiperandrogénica.

Este trastorno se encuentra ligado a enfermedades crónicas como la diabetes tipo II, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa o hipertensión arterial que frecuentemente derivan en obesidad, alteraciones hepáticas y cáncer de endometrio (Yen, 2001). Aunque esta patología ha sido ampliamente estudiada aún no se han descubierto las causas por las cuales se desarrolla.

En la mujer, el SOPQ se ha asociado con alteraciones en el hipotálamo que repercuten en la secreción de gonadotropinas (Abdel y col., 1991), ya que presentan una secreción de la hormona luteinizante (LH) elevada con una concentración reducida de la hormona estimulante del folículo (FSH) (Vidal y col., 1991). El estímulo adecuado del eje hipotálamo-hipófisis puede restablecer la ovulación (Yen, 2001).

Se han desarrollado varios tratamientos para contrarrestar la anovulación asociada con el SOPQ. La administración de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) puede restablecer la respuesta ovulatoria (Yen, 2001). El citrato de clomifeno, que actúa predominantemente como un antiestrógeno uniéndose al receptor nuclear de los estrógenos en el hipotálamo, disminuye el efecto de retroalimentación negativa que ejercen los estrógenos, lo que favorece la secreción de la GnRH, la que a su vez estimula la producción de LH y FSH. Todos estos eventos hormonales culminan con la ovulación (Taylor, 1998).

En la rata, la inyección intraperitoneal de 2.0 mg de VE disueltos en 0.1 ml aceite de maíz desencadena un cuadro similar al que se presenta en la mujer con SOPQ (Hemmings y col., 1983; Schulster y col., 1984; Brawer y col., 1986; Lara y col., 1993; Luza y col., 1995). Son varias las hipótesis que se han planteado para explicar el origen del SOPQ, una de ellas postula que se debe a una mayor actividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario por el NOS, que se traduce en el incremento en la concentración de noradrenalina ovárica (Tsilchorozidou y col., 2004, Greiner y col., 2005) lo que conduce a un cuadro de anovulación crónica, hiperandrogenismo y ovarios poliquísticos.

Con la inyección intraperitoneal de VE no se pudo determinar a que nivel del eje hipotálamo-hipófisis-gónada está actuando el fármaco. Para analizar si el SOPQ se origina en el ovario por la hiperactividad de las fibras simpáticas que llegan a la gónada por el NOS, en este estudio se inyectó el VE en la bursa ovárica.

MARCO TEÓRICO

Ovario

El ovario lleva a cabo dos funciones: El desarrollo y maduración de los gametos femeninos, y la producción de hormonas esteroides y peptídicas (Burden y col., 1983; Ruiz, 1988; Geneser, 2000). En la gónada se distinguen tres zonas: la médula, la corteza y el hilio (Figura 1).

☞ **Médula:** En ésta se encuentra una abundante red vascular (fibras elásticas, algunas células musculares lisas, arterias espirales y venas extensas) y tejido conectivo laxo (Ham, 1985; Sánchez, 1999).

☞ **Corteza:** En ésta zona se encuentran folículos en diferentes etapas de maduración. Rodeando a los folículos se encuentra el estroma que está formado por tejido conectivo de sostén y células intersticiales (Sánchez, 1999; Geneser, 2000; Levy y col., 2006a).

☞ **Hilio:** En éste se encuentran la arteria y vena ovárica, vasos linfáticos, terminales nerviosas y células intersticiales (Fawcett, 1990; Sánchez, 1999; Ross y col., 2005).

El ovario está constituido por tres unidades funcionales: el tejido intersticial, los folículos y el cuerpo lúteo. La principal función del tejido intersticial es secretar andrógenos (androstenediona y testosterona); la del folículo es producir hormonas esteroides (andrógenos y estrógenos), proteger y nutrir al ovocito y el cuerpo lúteo secreta principalmente progesterona que propicia las condiciones para la implantación del óvulo fecundado (Sánchez, 1999; Levy y col., 2006a).

En la mujer los ovarios están fijados a la superficie posterior del ligamento ancho del útero a través de un pliegue peritoneal llamado mesoovario (Fawcett, 1990; Ross y col., 2005). En la rata los ovarios se encuentran situados cerca de los riñones a lo largo del músculo lateral rodeados de grasa (Peluffo, 2002). Se sitúan en relación con la pared lateral de la pelvis, a cada lado del útero, y están suspendidos por el ligamento suspensorio (Bergman y col., 1998).

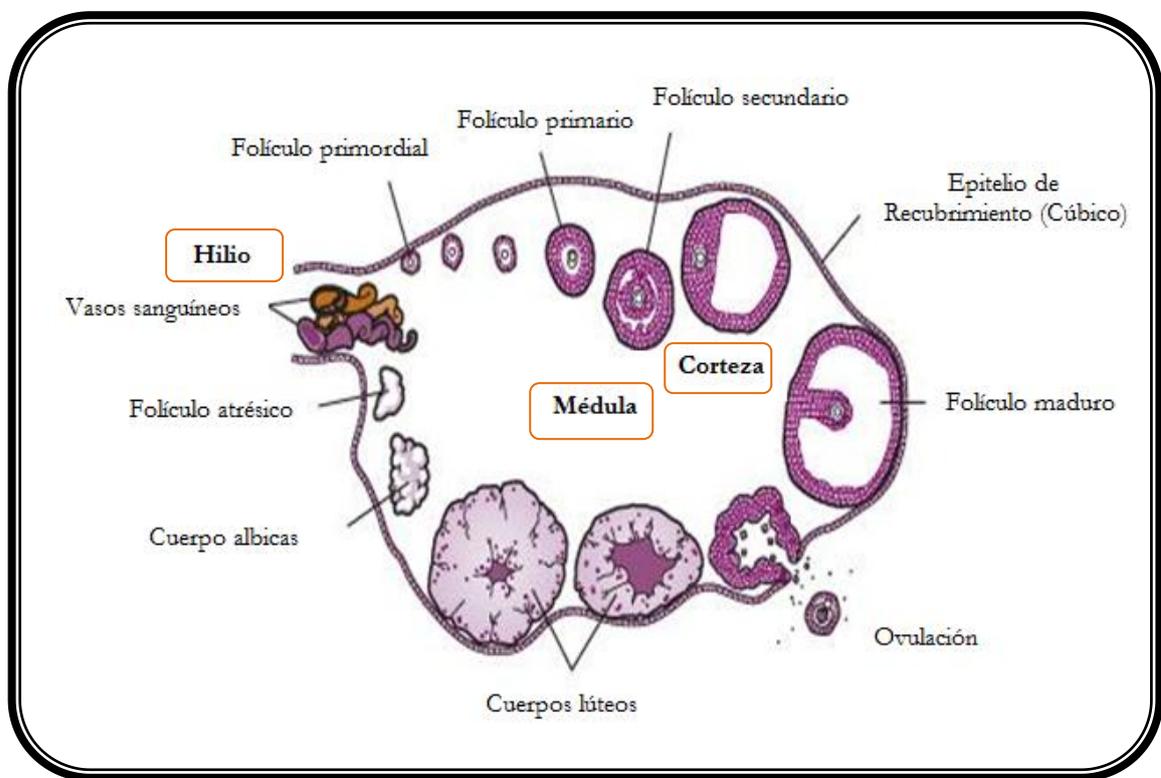


Figura 1. Representación esquemática de la estructura del ovario de mujer donde se distinguen tres zonas principales: médula, corteza e hilio. (Tomado de Levy y col., 2006a).

Desarrollo Folicular

El desarrollo folicular está regulado por el eje hipotálamo-hipófisis-ovario. El hipotálamo al ser estimulado por señales neuroendocrinas sintetiza GnRH, que en la adenohipófisis, estimula la liberación de FSH y LH. La FSH estimula el crecimiento y la maduración de los folículos ováricos y la LH favorece la maduración final del folículo y expulsión del ovocito del folículo (Sánchez, 1999; Guyton, 2001). En el proceso de foliculogénesis están además involucrados diversos factores de crecimiento, como por ejemplo, el factor semejante a la insulina (IGF) I y II y el factor de crecimiento neural (NGF) (Hernández, 2001).

El folículo, considerado como la unidad funcional del ovario (Yeh y Adashi, 2001), se desarrolla y pasa por distintas fases: folículo primordial, primario, secundario y terciario o folículo De Graaf (Figura 2).

Folículo Primordial: Mide de 30 a 60 μm de diámetro, presentan un ovocito diploide primario (9 a 25 μm de diámetro) rodeado por una capa de células aplanadas, precursoras de las células de la granulosa. Los folículos primordiales se encuentran en la corteza externa por debajo de la túnica albugínea (Cormack y David, 1988; Geneser, 2000). En la mujer, este folículo aparece alrededor de la semana 16 de gestación (Yeh y Adashi, 2001), mientras que en la rata se presentan a las 24 horas después del nacimiento (Rajah y Hirshfield, 1991; Malamed y col., 1992).

Las células foliculares que rodean al ovocito se transforman en células cúbicas dando lugar al **folículo primario** (> a 60 μm de diámetro) (Yeh y Adashi, 2001; Dissen y col., 2004; Levy y col., 2006a). Las células de la granulosa se encuentran rodeadas por la membrana basal, en esta fase las células de la granulosa

secretan un mucopolisacárido que va a formar la zona pelúcida, la cual rodea al ovocito (Sánchez, 1999).

Las células de la granulosa siguen proliferando y forman varias capas que rodean al ovocito, al mismo tiempo se incorpora una nueva capa de célula del estroma por fuera de la membrana basal, y da origen a las células de la teca que se diferencia en teca interna y externa (Hoar, 1978), en esta fase las células de la granulosa comienzan a expulsar pequeñas cantidades de líquido, formando pequeñas cavidades (Domínguez y col., 1991; Freeman, 1994; Gore-Langton y Armstrong, 1994). El **folículo secundario** crece hasta alcanzar un diámetro de aproximadamente 150 μm y el ovocito tendrá un diámetro máximo de 80 μm (Sánchez, 1999; Yeh y Adashi, 2001; Levy y col., 2006a). En la mujer, en cada ciclo menstrual de 6 a 12 folículos primarios comienzan esta fase de desarrollo (Guyton, 2001).

El folículo terciario de Graaf o preovulatorio: Hay un crecimiento rápido debido a la acumulación de líquido folicular, que dará origen al antro folicular el ovocito se desplaza al hacia una posición excéntrica el tallo (cúmulo oóforo) y las células de la granulosa se estiran y adelgazan. Durante esta etapa el folículo alcanza un diámetro de 2-5 mm y se encuentra listo para la ovulación. En las especies monoovulantes, como en la mujer, antes de la ovulación uno sólo de estos folículos adquiere dominancia, mientras que los demás entran en proceso de atresia (Sánchez, 1999; Levy y col., 2006a).

Cuando el folículo alcanza su desarrollo final, se produce la ovulación. En este momento se rompe el folículo y el ovocito es liberado, éste es recogido por las fimbrias de las trompas de Falopio mediante un movimiento peristáltico, el ovocito se desplaza por las trompas de Falopio hacia el útero. Si es fecundado por un espermatozoide luego de 6 a 13 días podrá implantarse allí (Ganong, 1996).

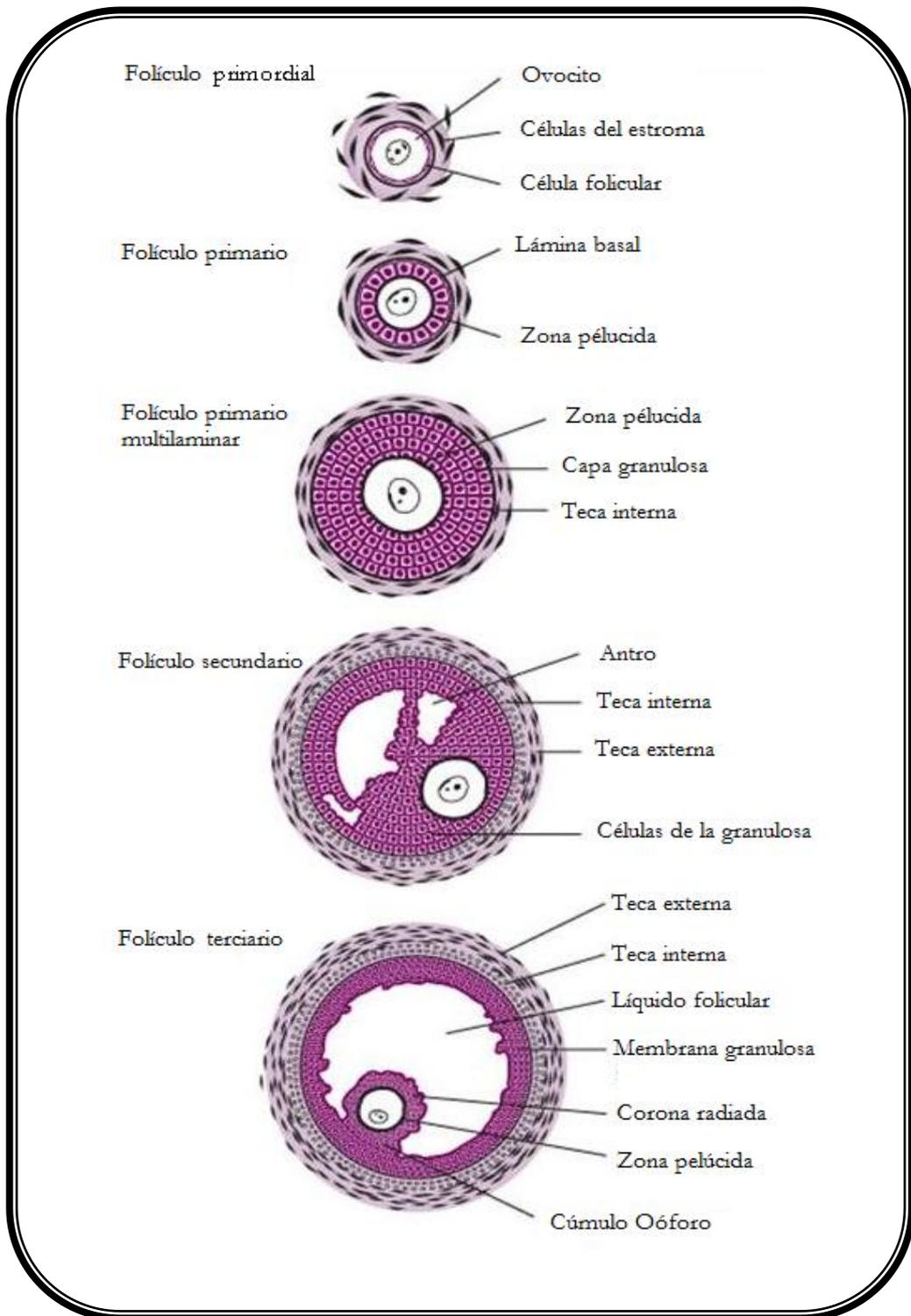


Figura 2. Representación esquemática de las fases de desarrollo de un folículo ovárico.
(Tomado de Levy y col., 2006a).

El folículo que se rompe al momento de la ovulación, se llena de sangre y forma lo que se conoce como cuerpo hemorrágico. Las células de la granulosa y de la teca comienzan a proliferar rápidamente y la sangre coagulada se sustituye por células luteínicas. Así da inicio a la fase luteínica del ciclo ovárico donde las células luteínicas secretarán estrógenos y progesterona. Si el óvulo no es fecundado disminuirán las concentraciones de hormonas secretadas por el cuerpo lúteo y en la mujer se producirá la menstruación (Ganong, 1996).

En la rata se presenta un periodo masivo de diferenciación folicular durante los 2 primeros días de vida posnatal (Malamed y col., 2002). Cuando se da la ovulación se pueden liberar varios ovocitos que pueden o no ser fecundados. Si se da la fecundación el cuerpo lúteo secretará estrógenos y progesterona y si no se degradan (luteólisis) (Freeman, 1994).

Atresia folicular

Durante la vida fértil media de la mujer, sólo entre 400 ó 500 ovocitos (generalmente uno por mes) llevarán a cabo el proceso que culminará con la ovulación. Los millones restantes desaparecen mediante un proceso llamado atresia, que comienza con la aparición de los primeros folículos primordiales (Levy y col., 2006a). Aproximadamente el 99 % de los folículos degeneran y en el ratón el 80 % de los folículos van a la atresia (Oliver y col., 1999).

La atresia se debe a la apoptosis (muerte celular programada), un modelo de muerte celular no tóxica, que elimina células de los tejidos sin desencadenar una respuesta inflamatoria (Yeh y Adashi, 2001).

En los folículos primordiales y primarios, el ovocito se necrosa y las células de la granulosa degeneran. En folículos secundarios, las células de la granulosa y el ovocito degeneran reduciéndose a una cicatriz y las células de la teca se reintegran al estroma ovárico (Levy y col., 2006a). La atresia ocurre en cualquier etapa del desarrollo folicular, aunque es más frecuente en los folículos antrales (Rosales y Guzmán, 2008).

Las causas de esta atresia aún no han sido identificadas pero se considera que la secreción de estrógenos en altas cantidades por el folículo que crece rápidamente, actúa sobre el hipotálamo disminuyendo la secreción de FSH, lo que resulta en el bloqueo del crecimiento de los folículos menos desarrollados (Devine y col., 2000; Guyton, 2001).

Ovulación

La ovulación es la liberación del ovocito del folículo de Graaf a la cavidad abdominal (Bergman y col., 1998). Después el óvulo es captado por las fimbrias de las trompas de Falopio (oviductos), si hay fecundación el cigoto será transportado al útero donde continuará con su desarrollo (Ganong, 1996).

La ovulación se produce después de 36 a 38 horas de que se presenta la liberación preovulatoria de LH, que corresponde a la parte media del ciclo ovárico (Ganong 1996; Geneser, 2000). Esto es en respuesta a la retroalimentación positiva ejercida por la elevada concentración de estrógenos (Geneser, 2000).

El óvulo vive aproximadamente 72 horas después de que ha sido expulsado del folículo pero sólo es fecundable durante menos de la mitad de este tiempo. Por lo tanto, el periodo fértil de un ciclo de 28 días, es de aproximadamente 120 horas (Ganong, 1996).

Esteroidogénesis

En el ovario se producen varias hormonas esteroideas que incluye a la progesterona, los andrógenos y estrógenos (Sánchez, 1999).

La síntesis de esteroideas tanto por las células de la corteza adrenal así como las de la teca y granulosa del folículo inicia con el colesterol. El colesterol es captado a partir de lipoproteínas de baja densidad (por sus siglas en inglés Low-density lipoproteins LDL) presentes en la sangre o ser sintetizado *in situ* a partir de acetil-coenzima A (acetato) (Sánchez, 1999; Geneser, 2000; Díaz, 2004; Levy y col., 2006b).

El colesterol se convierte en pregnenolona por acción de la enzima P-450_{scc} (20,22-desmolasa) que hidroxila los carbonos 20 y 22 y desdobla la cadena lateral del colesterol (Gore-Langton y Armstrong, 1994). Este es el paso limitante para la síntesis de progesterona, andrógenos y estrógenos (Levi y col., 2006b) (Figura 3).

A partir de la pregnenolona la síntesis de esteroideas puede tomar dos vías diferentes: la vía Δ -4 (que se desarrolla principalmente en el ovario) y Δ -5 (en adrenales) (Van Voorhis, 1999) (Figura 3).

Por la vía Δ -4 la pregnenolona se convertirá en progesterona por acción de la enzima 3β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (3β -HSD). La progesterona es hidroxilada por la enzima 17-hidroxilasa para formar 17-hidroxiprogesterona, que se transformará a androstenediona por acción de la desmolasa. Sobre la androstenediona actúa la 17β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa para dar lugar a la testosterona (Van Voorhis, 1999).

Por la vía Δ -5 la pregnenolona se convertirá en 17- hidroxipregnenolona por acción de la enzima 17-hidroxilasa. La desmolasa la transformará a dehidroepiandrosterona, la cual se transformará a androstenediona por acción de la 3β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa. Y por último la androstenediona se transformará en testosterona por acción de la 17β -hidroxiesteroide-deshidrogenasa (Van Voorhis, 1999).

Los andrógenos, androstenediona y testosterona, se aromatizarán por medio de las aromatasas y darán origen a la estrona y estradiol respectivamente (Van Voorhis, 1999).

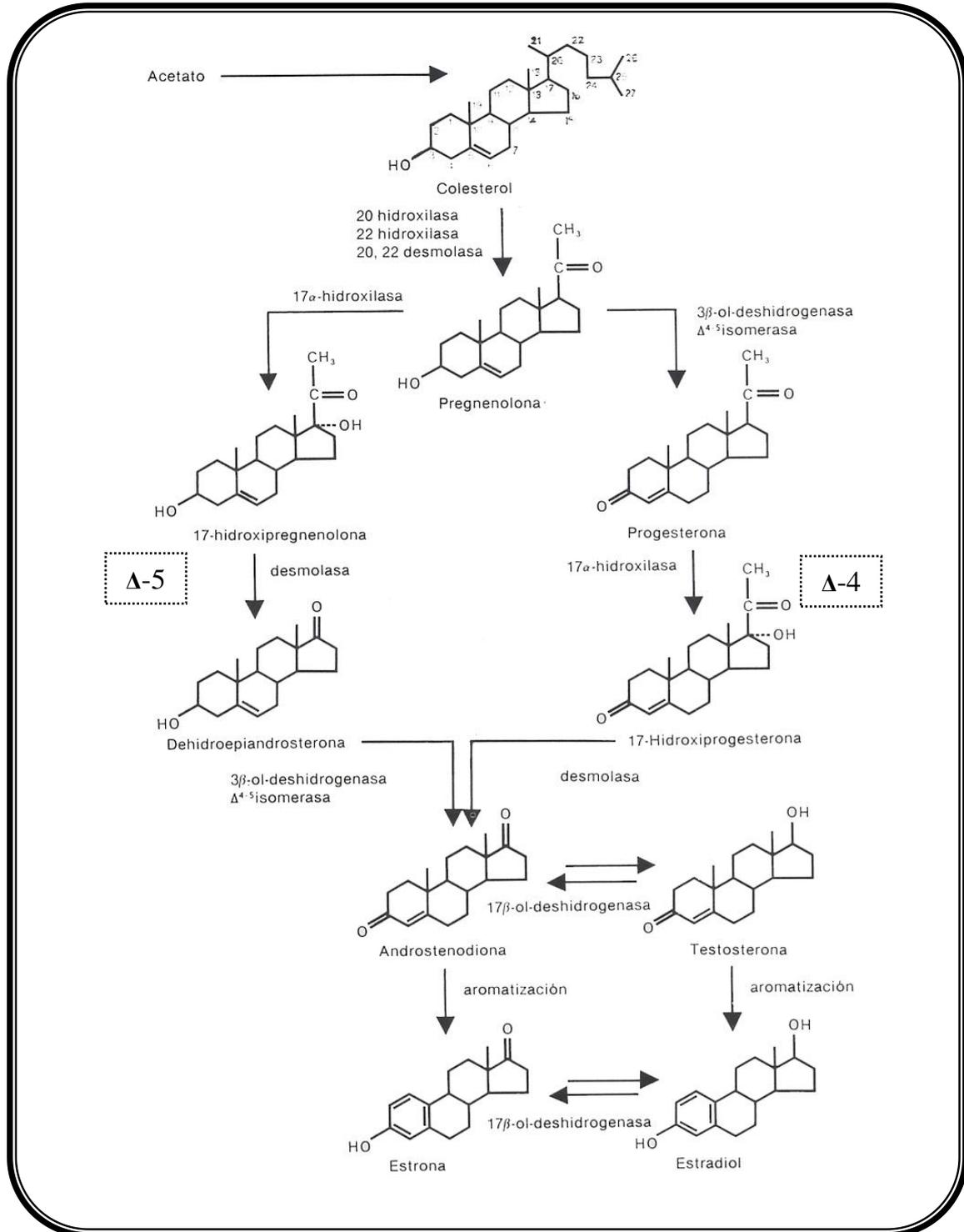


Figura 3. Ruta biosintética de la progesterona, testosterona y estradiol (Tomado de Van Voorhis, 1999).

Teoría de la doble célula

En el ovario la síntesis de hormonas esteroideas se lleva a cabo con la colaboración de las células de la teca interna y de la granulosa de los folículos ováricos (Figura 4).

El primer paso para la síntesis de hormonas esteroideas ocurre cuando la LH se une a su receptor que se encuentra en la célula de la teca interna, lo que resulta en la producción de adenosín monofosfato cíclico (AMP_C) como segundo mensajero, el cual facilita la síntesis de andrógenos (Ganong, 1996; Hadley, 2000; Geneser, 2001) (Figura 4).

Los andrógenos que son sintetizados en la teca interna, atraviesan la membrana basal y llegan a la célula de la granulosa que contiene receptores para FSH. La unión de la FSH a su receptor estimula por una parte, la síntesis de enzimas que convierten androstenediona a testosterona y por otra, la síntesis de aromatasas, enzimas que convierten la testosterona a estrógenos (estradiol y estrona) (Ganong, 1996; Hadley 2000; Geneser, 2001) (Figura 4)

Al igual que las células de la teca interna, las células de la granulosa pueden comenzar la síntesis de esteroideas a partir del colesterol que se origina del acetato, dado que las células de la granulosa no están vascularizadas y en consecuencia no reciben lipoproteínas provenientes de la sangre.

En las células de la granulosa, la síntesis de progesterona es estimulada por la unión de la LH a su receptor, dado que las células de la granulosa carecen de la enzima para transformar la progesteirona en androstenediona, la progesterona va hacia las células de la teca en donde se transforma en androstenediona, ésta última, es incorporada a las células de la granulosa donde se transforma a estradiol (Geneser, 2001) (Figura 4).

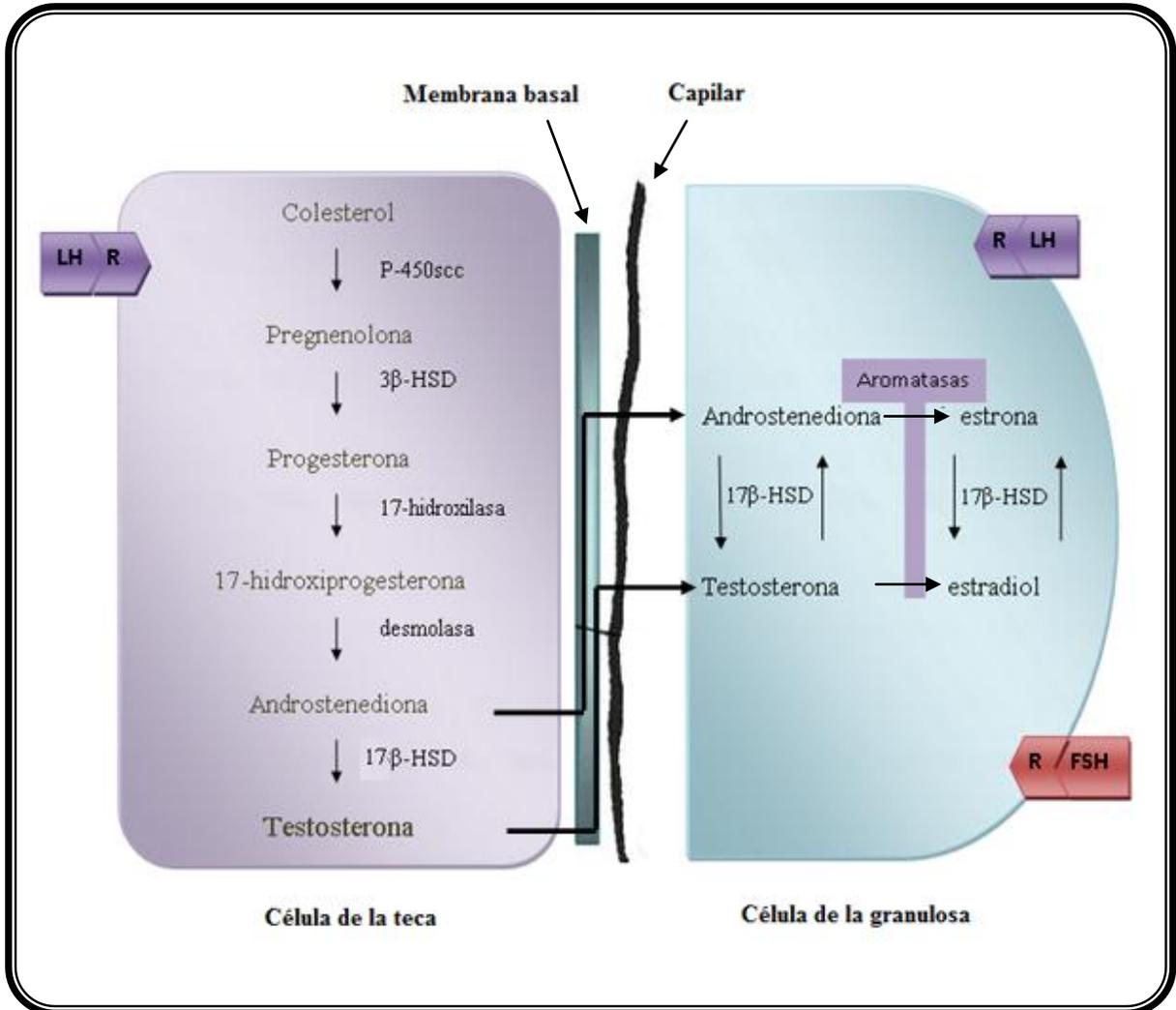


Figura 4. Esquema de la síntesis de hormonas esteroides en un folículo ovárico. Hormona luteinizante (LH), hormona estimulante de folículo (FSH), 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD) (Modificado de Geneser, 2001).

Pubertad en la rata

La pubertad es un período de transición entre la madurez e inmadurez sexual en el que aparecen los caracteres sexuales secundarios. Durante esta etapa aumenta la velocidad de crecimiento hasta obtener la talla final y se inicia la actividad reproductiva (Castro y Pombo, 2006).

En la rata hembra el periodo entre su nacimiento y el inicio de la pubertad transcurre entre los 35 y 40 días. El único signo exterior que marca el comienzo de la función reproductora es la canalización de la vagina (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido, 1990), la cual puede ir acompañada o no, por la primera ovulación (Ojeda y Urbanski 1994; Foster y Ebling, 1999).

La rata nace en un estado de inmadurez que equivale a 150 días de gestación en el humano (Ojeda y col., 1980). En este momento, se produce la diferenciación sexual del encéfalo por la presencia o ausencia de la testosterona secretada por los testículos (Dorner, 1980).

Etapas de desarrollo postnatal

En la rata el desarrollo de los mecanismos involucrados en la reproducción se dan en un lapso de cinco semanas. Las etapas por las que atraviesa la rata antes de llegar a la pubertad son cortas pero en cada una de ellas ocurren cambios muy importantes (Advis y col., 1979).

Se ha propuesto una clasificación de estas etapas con base a parámetros morfológicos y fisiológicos relacionados al eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal. De

acuerdo con esta clasificación se divide en cuatro fases: neonatal, infantil, juvenil y peripuberal (Ojeda y col., 1980).

Neonatal (desde el nacimiento hasta el día 7)

En los primeros cinco días de vida los folículos ováricos carecen de receptores a FSH y LH, por lo que se dice que es insensible a las gonadotropinas (Peter, 1970; Lunenfeld y col., 1975). Hay una alta concentración sérica de la α -fetoproteína, la cual se une a los estrógenos haciéndolos inactivos (Raynaud, 1973). Y es hasta finales de esta etapa, que se hace evidente la respuesta esteroidogénica del ovario a las gonadotropinas (Lamprecht y col., 1976; Uilenbroek y Van der Linder, 1983; Becú-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

Infantil (del día 8 al 21)

Esta etapa se caracteriza porque la concentración de FSH es alta y por la presencia de picos esporádicos de LH (Döhler y Whuttke, 1974), mientras que el hipotálamo secreta GnRH de manera pulsátil como resultado de una propiedad intrínseca de las neuronas GnRHérgicas (Melrose, 1987).

A partir del día 15 la α -fetoproteína se torna no detectable, lo que favorece la retroalimentación negativa del estradiol sobre la secreción de gonadotropinas por lo que la FSH y LH disminuyen (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

Juvenil (del día 21 al 30)

La concentración de FSH disminuye y la de LH es baja. La LH comienza a secretarse en forma pulsátil (Andrews y Ojeda, 1977) y hacia el final de esta etapa, incrementa sus valores basales y la amplitud de sus pulsos durante la tarde (Meijs – Roelofs y col., 1983) estableciéndose un ritmo de secreción circadiano (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido 1990). En el hipotálamo el contenido de GnRH incrementa marcadamente entre el nacimiento y el final del desarrollo juvenil (Aubert y col., 1985). En el ovario se observa aumento en el número de receptores a LH, esto aunado al patrón de secreción de la LH se traduce en aumento en la esteroidogénesis. El aumento gradual de la prolactina y la de la hormona del crecimiento facilita la acción estimuladora de las gonadotropinas (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido 1990).

Peripuberal (culmina con la primera ovulación)

Inicia alrededor del día 30 de vida y termina antes del inicio de la pubertad. En el ovario el número de receptores a FSH y LH es máximo, lo que se traduce en mayor respuesta esteroidogénica, por lo que aumenta las concentraciones plasmáticas de progesterona, estradiol y testosterona; esta última, responsable de la canalización vaginal. Las altas concentraciones de estrógenos estimulan la secreción de la GnRH por el hipotálamo lo que induce el incremento en la liberación de gonadotropinas y la primera ovulación (Becú-Villalobos y Lacau-Mengido 1990). Durante esta etapa aumenta la concentración de estradiol, progesterona y testosterona (Mathews y col., 1987).

Ciclo estral

El ciclo estral es una cascada de eventos hormonales y conductuales que son progresivos, sincronizados y repetitivos (Kilen y Schwartz, 1999). En la rata tiene una duración de 4-5 días, se encuentra influenciado por factores como luz, temperatura y las sustancias químicas percibidas por el olfato (Sánchez, 1999), y se divide en cuatro fases: proestro, estro, diestro 1 y diestro 2.

El **proestro** tiene una duración de 12 a 14 horas. En esta fase los folículos preovulatorios secretan grandes cantidades de estradiol que ejerce un efecto estimulante sobre la secreción de gonadotropinas. El útero, por acción del estradiol, se hace extremadamente contráctil y en la vagina aparecen células epiteliales nucleadas (Figura 5). La cópula es permitida en el proestro tardío en el comienzo de la fase de oscuridad (Freeman, 1994; Sánchez, 1999).

El **estro** tiene una duración de 25 a 27 horas. En esta fase se da la conducta de celo en la hembra. El acercamiento, la monta por el macho y la cópula son permitidas. En la mucosa vaginal las células dominantes son escamosas y cornificadas, dichas células carecen de núcleo (Figura 5). Como la ovulación ha sucedido pocas horas antes, los óvulos se encuentran en el oviducto (Freeman, 1994; Sánchez, 1999).

El **diestro 1** tiene una duración de 6 a 8 horas, es la fase que sucede a la ovulación, en los frotis vaginales se observan leucocitos pequeños con citoplasma granular. La monta y la cópula ya no son permitidas. La secreción de progesterona por el cuerpo lúteo y la de estradiol por los folículos inhibe la secreción de gonadotropinas (Freeman, 1994; Sánchez, 1999) (Figura 5).

El **diestro 2** dura aproximadamente de 55 a 57 horas, durante esta fase tiene lugar la regresión del cuerpo lúteo (luteólisis). En el frotis vaginal se observan leucocitos y algunas células nucleadas. La secreción de estradiol de los folículos aumenta y los esteroides ováricos inhiben la secreción de gonadotropinas (Figura 5). El útero es pequeño y no contráctil (Feder, 1981; Freeman, 1994; Sánchez, 1999).

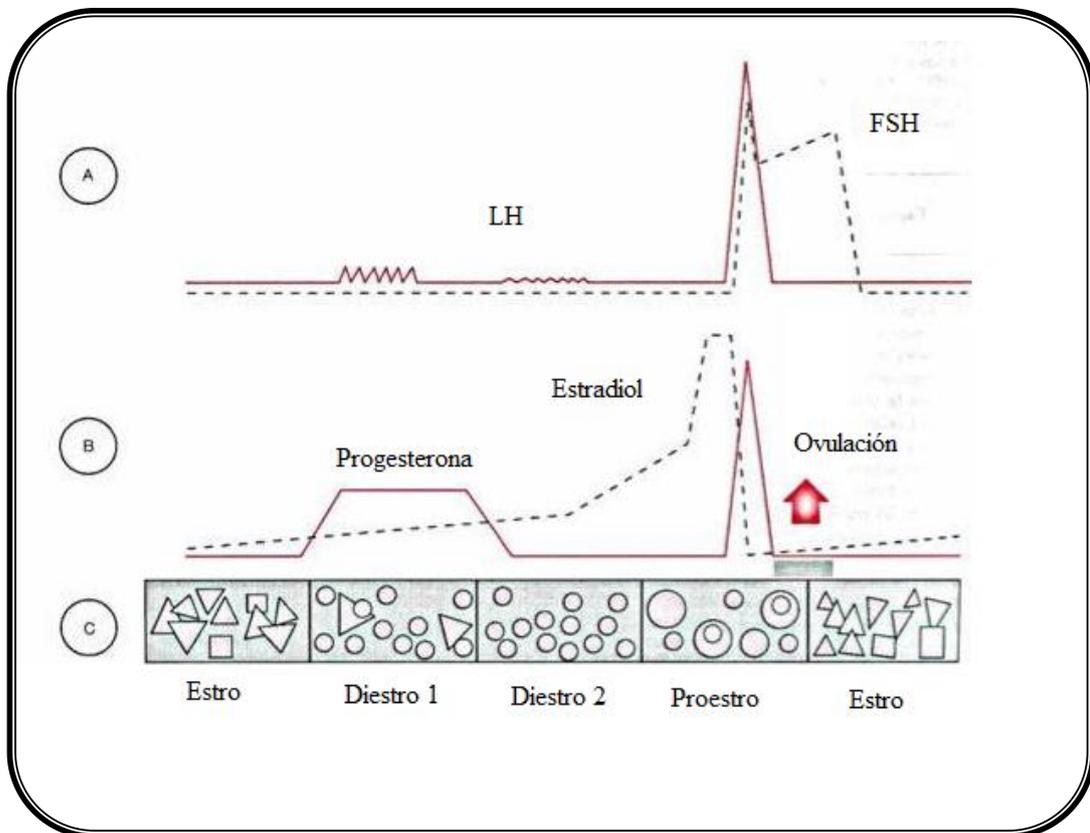


Figura 5. Esquema del ciclo estral de la rata, donde se aprecian A) Concentraciones plasmáticas de gonadotropinas; B) esteroides; C) citología del frotis vaginal durante el ciclo estral de la rata (Tomado de Sánchez, 1999).

Inervación ovárica

El desarrollo folicular, la ovulación y la esteroidogénesis es modulada por la inervación que llega a los ovarios. Existen una serie de evidencias funcionales y anatómicas que permiten sugerir que hay una conexión directa entre el sistema nervioso central y el ovario (Gerendai y col., 1995; Morales y col., 1998).

La inervación extrínseca del ovario es de tipo simpática, sensorial y en menor grado parasimpática. La inervación simpática está compuesta por fibras que transportan catecolaminas y péptidos. La inervación sensorial esta compuesta por fibras que transportan el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sustancia P (SP) y péptido intestinal vasoactivo (VIP) (Dissen, 1999).

En la rata los nervios ováricos se originan del ganglio celíaco, el ganglio mesentérico y del nervio esplácnico lumbar (Baljet y Drukker, 1980; Isomura y col., 1985). El ovario de rata está inervado por dos vía simpáticas: plexo ovárico (PO), que viaja a lo largo de la arteria ovárica, y el nervio ovárico superior (NOS) que viaja junto con el ligamento suspensorio (Lawrence y Burden, 1980) (Figura 6).

Nervio Ovárico Superior

Esta inervación esta acompañada del ligamento suspensorio y entra al ovario por el hilio (Figura 6). Las fibras del NOS inerva a las células del tejido intersticial y la teca interna de los folículos y aunque las células de la granulosa y del cuerpo lúteo no están inervadas tienen receptores β - adrenérgicos (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999).

La porción simpática de la innervación ovárica se origina en el segmento torácico T-11 al lumbar L-4. Los neurotransmisores que viajan por NOS son noradrenalina (NA) y VIP (Lawrence y Burden, 1980; Dissen y Ojeda, 1999).

Plexo ovárico

En la rata el PO corre a lo largo de la arteria ovárica (Figura 6). En este nervio existen fibras de naturaleza sensorial principalmente por las que viajan SP y CGRP y además posee fibras simpáticas que llevan NA y neuropéptido Y (NPY). Las fibras sensoriales derivan del ganglio nodoso y del ganglio de la raíz dorsal; entran al cordón espinal en el segmento torácico T -10 y el segmento lumbar L2-L4 (Dissen y Ojeda, 1999).

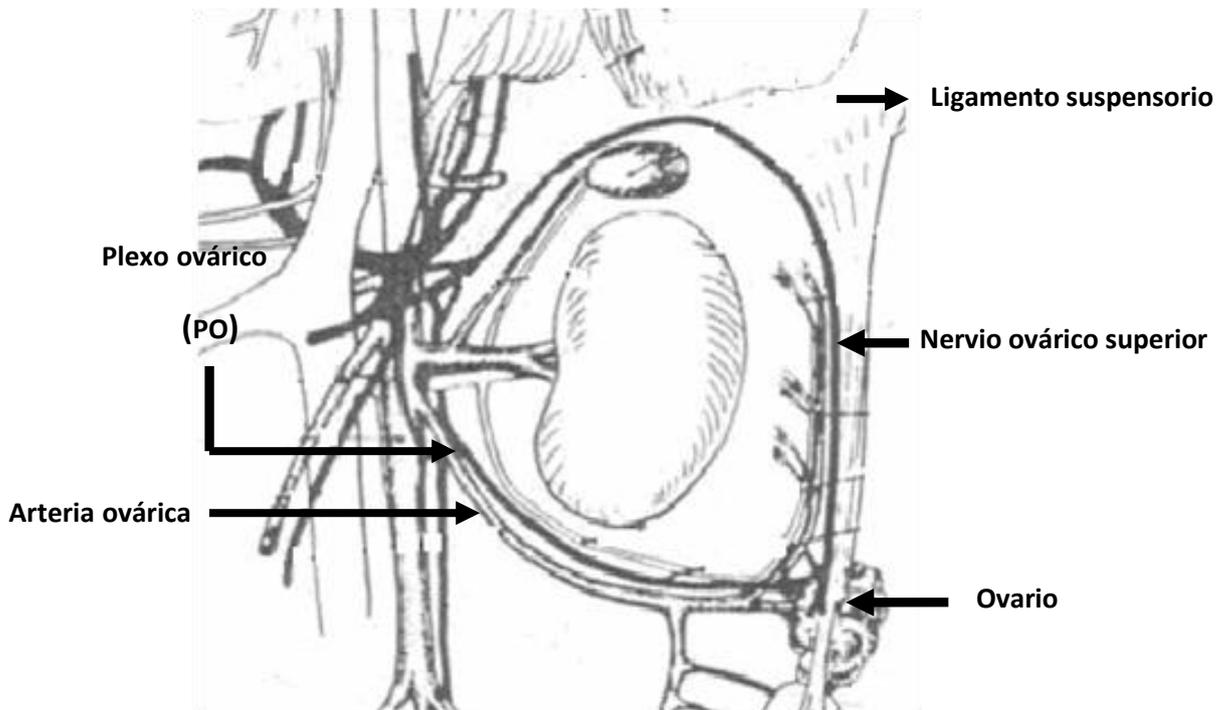


Figura 6. Esquema que muestra la innervación extrínseca del ovario que llega vía el nervio ovárico superior (NOS) y el plexo ovárico (PO) (Modificado de Lawrence y Burden, 1980).

Efecto de la denervación simpática sobre las funciones ováricas

Se ha mostrado que la inervación simpática que llega al ovario participa en la regulación de la esteriodogénesis (Weiss y col., 1982; Forneris y Aguado, 2002). La ovulación (Wylie col., 1985; Morales y col., 1993) y el crecimiento folicular (Morán y col., 2000).

El grupo de Weiss (1982) reportó que en ratas adultas la estimulación eléctrica del NOS provoca disminución en la concentración de progesterona ovárica. Este efecto se revertir por la administración de la fentolamina, antagonista del receptor alfa adrenérgico. Estas evidencias permiten sugerir que la información que transcurre por el NOS modula de manera inhibitoria la secreción de progesterona.

Wylie (1985) mostró que en la rata adulta la denervación del NOS por congelación no modifica la respuesta ovulatoria. Esta respuesta también se observa cuando se realiza la sección bilateral del NOS en la rata juvenil (Aguado y Ojeda 1984b; Selstam y col., 1985). Resultados que llevaron a pensar que la información simpática que transcurre por el NOS no estaba comprometida en la regulación de la ovulación. Sin embargo, Forneris y col., (2002) mostraron que la sección bilateral en la rata neonata incrementa la respuesta ovulatoria, evaluada por un mayor número de cuerpos lúteos observados en el ovario de la rata adulta.

En ratas juveniles de 24 días la sección bilateral del NOS disminuye en un 60% la concentración de noradrenalina en el ovario, lo que resulta en una menor concentración sérica de progesterona y estradiol, sin que se modifique la edad de apertura vaginal y la ovulación (Aguado y Ojeda, 1984a).

Por otro lado, la sección unilateral del NOS en ratas prepúberes disminuye el número de ovocitos liberados por el ovario denervado con un incremento en el ovario inervado (Morales y col., 1993). Esto muestra que los nervios catecolaminérgicos que llegan al ovario están involucrados en la secreción de esteroides y la ovulación, y por lo tanto, podemos considerar que el ovario está bajo un control neuronal directo, complementario a la regulación hormonal.

Además se ha planteado, que la información neural que llega al ovario por el NOS participa en la regulación del eje hipotálamo- hipófisis. Esto se apoya en el hecho de que la sección bilateral del NOS en ratas de cuatro días de edad, retrasa el inicio de la pubertad, acompañado por una mayor concentración plasmática de estradiol y una menor de FSH, sin cambios en la concentración de LH (Forneris y Aguado, 2002).

Síndrome de Ovario Poliquístico

El síndrome de ovario poliquístico (SOPQ) es un trastorno endocrino metabólico (Merino y col., 2009) que afecta del 3 al 7% de las mujeres en edad reproductiva (Morán, 2006). Si bien esta patología se describió hace más de medio siglo, la etiología del síndrome aún no se conoce (Yen, 2001).

Entre 1925 y 1935, Stein y Levanthal describieron un cuadro característico en varias pacientes que presentaban amenorrea u oligomenorrea, hirsutismo, obesidad y ovarios con degeneración quística. En los últimos años, se han descrito una serie de alteraciones funcionales interrelacionadas en los componentes del eje hipotálamo- hipófisis- ovario (Yen, 2001).

Los principales criterios en el diagnóstico del SOPQ son: anovulación crónica, hiperandrogenismo y ovarios poliquísticos. El hiperandrogenismo en mujeres se presenta como hirsutismo, acné y alopecia. La anovulación se manifiesta con ciclos irregulares (oligomenorrea o amenorrea) (Yen, 2001; Morán, 2006; Merino y col, 2009).

El diagnóstico del SOPQ requiere que la paciente presente por lo menos, dos de los tres principales criterios mencionados (Morán 2006).

En el laboratorio se ha podido reproducir el SOPQ, al inyectar a la rata con una dosis de valerato de estradiol (VE), un estrógeno de larga duración que tiene una vida media de 15 días. Estos animales al llegar a la pubertad o a la etapa adulta no ovulan, la histología del ovario revela la presencia de quistes foliculares, se presenta hiperandrogenismo y aciclicidad (Brawer y col., 1978; Lara y col., 1993).

La administración de VE provoca en el ovario incremento de la concentración del factor de crecimiento neural (NGF) y su receptor de baja afinidad el p75. Este factor en las fibras nerviosas desencadena una serie de reacciones que conllevan a nivel del ganglio celíaco en el aumento de la actividad de la enzima tirosina hidroxilasa (TH), enzima limitante en la síntesis de catecolaminas, y como consecuencia aumenta la concentración de NA en el ovario (Lara y col., 2000).

Existen evidencias que muestran la participación de la inervación simpática en el desarrollo del SOPQ. La administración de VE incrementa la capacidad de las terminales nerviosas para liberar NA, aumenta la concentración de NA en el ovario (Lara y col., 1993) y disminuye el número de receptores β -adrenérgicos (Barria y col., 1993; Rosas-E-Silva y col., 2003), estas alteraciones desarrollan las características principales de SOPQ. La eliminación de las fibras simpáticas que llegan al ovario por la sección bilateral del NOS restablece las funciones del ovario y el ciclo estral. Resultados que permite sugerir que el SOPQ es el resultado de una mayor actividad de las fibras que transcurren por el NOS (Barria y col., 1993; Rosas-E-Silva y col., 2003).

En la rata adulta o prepúber con SOPQ la sección bilateral del NOS restablece la ovulación y la secreción de estradiol y progesterona (Lara y col., 1990; Barria y col., 1993). Sin embargo, la sección unilateral del NOS, restablece la ovulación en el ovario intacto, aun cuando la concentración de NA es alta, y en el ovario denervado se mantiene la presencia de quistes foliculares aún después de la disminución de NA (Morales y col., 2010). Estos resultados nos permitieron postular que el desarrollo del SOPQ es más que el resultado del aumento en la actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario.

Biosíntesis de NA

La dopamina (DA), la NA y la adrenalina pertenecen al grupo de las catecolaminas; este nombre se deriva porque su estructura química incluye un grupo catecol y un grupo amino (Goridis y Rohrer, 2002)

El aminoácido tirosina es el precursor de las catecolaminas, siendo la primera reacción catalizada por la enzima tirosina hidroxilasa, para convertirla en L-DOPA, que por medio de la L-amino ácido aromático descarboxilasa y el fosfato de pirodoxal, la L-DOPA es convertida en dopamina, siendo este el paso final en aquellas neuronas que utilizan esta molécula como neurotransmisor. En cambio, en las neuronas que liberan NA como neurotransmisor, contienen la enzima dopamina β -hidroxilasa que junto con el ácido ascórbico como cofactor, convierten la DA en NA (esta reacción ocurre dentro de la vesícula sináptica) (Goridis y Rohrer, 2002) (Figura, 7).

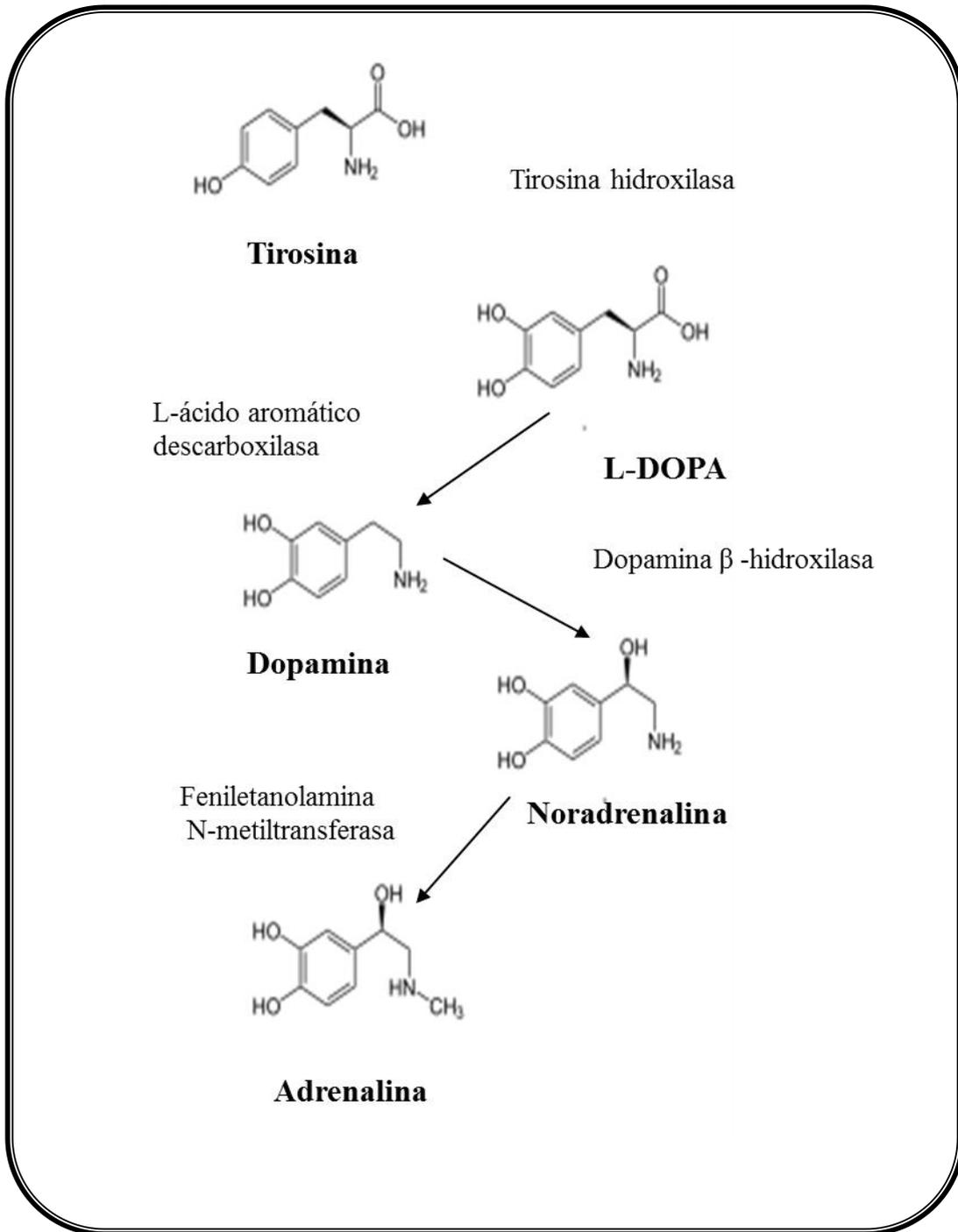


Figura 7. Biosíntesis de las catecolaminas (Modificado de Goridis y Rohrer, 2002)

Bursa ovárica

En muchos mamíferos, el ovario se encuentra dentro de un saco membranoso llamado bursa ovárica que se compone de tres capas (Martin y col., 1981) (Figura 8).

- La capa interna. Formada por epitelio discontinuo que da hacia el ovario.
- La capa intermedia. Formada por tejido conjuntivo que contiene fibroblastos, bloques de células de músculo liso y vasos sanguíneos.
- La capa externa. Formada por epitelio continuo que se encuentra en contacto con la cavidad peritoneal.

La bursa ovárica juega un papel clave en el paso de los ovocitos al oviducto. Se ha observado que al remover la bursa de ovario, llega un menor número de ovocitos al oviducto (Vanderhyden y col., 1986)



Figura 8. Corte de ovario donde se observa la cavidad bursal (CB) y la bursa ovárica (→).
(Modificado de Li y col., 2007)

Características del valerato de estradiol

El valerato es una hormona esteroide cuya fórmula es (17 β)-estra-1, 3,5(10)-estratrieno-3,17 β -diol, 17-pentanoato (C₂₃H₃₂O₃) (Williams y Stancel, 2006) con un peso molecular de 356.50 g/mol. Es un polvo cristalino, blanco, generalmente inodoro. Es soluble en aceite de ricino, maíz, ajonjolí, cacahuate, metanol, benzoato de benzilo y dioxano; prácticamente insoluble en agua. Se absorbe lentamente en suspensión oleosa inyectada por vía intramuscular y la duración de la acción de la suspensión es de aproximadamente 3 semanas (Gennaro, 1998) (Figura 9).

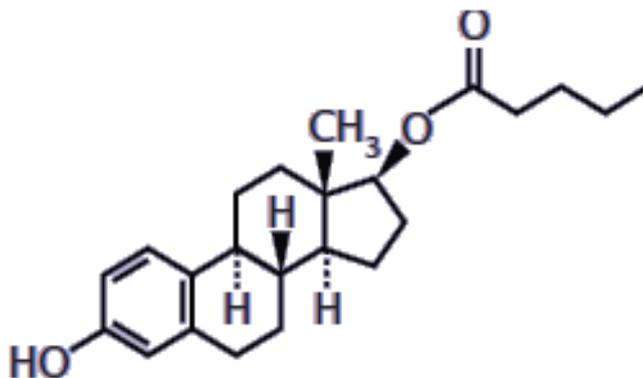


Figura 9. Estructura química del valerato de estradiol (Tomado de Carretero, 2004).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SOPQ es la principal causa de infertilidad en mujeres en edad reproductiva, por lo que este desorden ha sido ampliamente estudiado, pero su etiología aún no es conocida.

Son varias las hipótesis que se plantean para explicar el origen del SOPQ, entre las principales se le atribuye a: un defecto neuroendocrino que conduce a un aumento en la amplitud y frecuencia de los pulsos de LH; a la acción de la insulina que conduce a una hiperinsulinemia; alteración en la síntesis de esteroides, teniendo como resultado final hiperandrogenismo, anovulación y quistes ováricos y por último, se postula que se debe a una mayor actividad de las fibras simpáticas.

En la rata, la inducción del SOPQ con una inyección intraperitoneal de VE, da como resultado un cuadro similar al que se presenta en la mujer SOPQ. La administración de VE incrementa en el ovario la secreción del NGF y su receptor de baja afinidad p75, el cual a nivel del ganglio celíaco aumenta la actividad de la enzima TH (enzima limitante de la síntesis de NA) y como consecuencia aumenta la concentración de NA ovárica.

Tomando en consideración el marco teórico, es posible que el SOPQ se puede originar en cualquiera de los componentes del eje hipotálamo- hipófisis- gónada. El presente estudio se diseñó con la finalidad de analizar si el SOPQ inicia por una alteración en el ovario. Para ello, el VE se administró directamente en la bursa ovárica de ratas peripuberales de 30 días de edad, y 15 días después de inducido el síndrome se eliminó la principal vía simpática del ovario, por la sección unilateral del NOS.

HIPÓTESIS

Si el SOPQ se inicia por una mayor actividad de las fibras simpáticas del ovario, entonces cuando se administre el VE en la bursa ovárica y se seccione el nervio ovárico superior, se restablecerá la ovulación en el ovario denervado.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la participación del NOS en el desarrollo del síndrome de ovario poliquístico inducido por la administración de VE en la bursa ovárica.

OBJETIVOS PARTICULARES

Analizar si la inyección de una dosis de VE en la bursa ovárica, puede desencadenar el síndrome de ovario poliquístico en ratas hembras peripuberales de 30 días de edad.

Estudiar los efectos de la sección unilateral del NOS, en el ovario tratado con VE en la bursa ovárica sobre:

- La respuesta ovulatoria espontánea
- La concentración en suero de progesterona y estradiol
- La estructura del ovario

METODOLOGÍA

Se utilizaron ratas hembras peripuberales de 30 días de edad de la cepa CII-ZV. Los animales tuvieron libre acceso a agua y alimento, y fueron mantenidas bajo condiciones controladas de iluminación, 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h) y temperatura de 20 ± 2 °C.

A los 30 días de edad las ratas fueron asignadas a uno de los siguientes grupos experimentales.

- Administración de valerato de estradiol (VE) o vehículo (Vh) en la bursa ovárica

Hembras de 30 días de edad fueron anestesiadas con éter etílico, se registró el peso corporal y se les realizó una incisión dorso-lateral de piel y músculo de aproximadamente 1 cm, por donde se exteriorizó el ovario (izquierdo o derecho) y se identificó la bursa en la que se administró una dosis 0.18 µg de VE (Sigma Chemical Co., St. Louis Mo. USA) en 10 µl de Vh o de aceite de maíz que fungió como el vehículo. Se regresó el ovario a la cavidad abdominal y se suturó la incisión.

La inyección de VE en la bursa ovárica se realizó al final de la etapa juvenil, y por ser una etapa cercana a los eventos que conllevan a la canalización de la vagina y la primera ovulación. La sección del NOS se realizó 15 días después de la administración del VE, ya que es tiempo mínimo que se requiere para que el VE pueda inducir las características del SOPQ.

➤ Sección unilateral de nervio ovárico superior

Las hembras tratadas con el VE o Vh al cumplir los 45 días de edad, se les realizó la sección del NOS del lado ipsilateral o contralateral a la inyección en la bursa ovárica. Para ello, los animales fueron anestesiados con éter etílico, se les realizó una incisión lateral de piel y músculo (lado izquierdo o derecho) por donde se exteriorizó el ovario, se localizó el ligamento suspensorio y se seccionó el nervio ovárico superior aproximadamente a una distancia de 1 cm del ovario. Realizada la sección del nervio se regresó el ovario a la cavidad abdominal y se suturó la herida.

➤ Operación simulada

Se procedió como en el caso anterior, una vez anestesiados se realizó la incisión lateral de piel y músculo y sin tocar ningún órgano se suturó la herida.

Monitoreo del ciclo estral

Después de la administración del Vh o el VE los animales fueron revisados diariamente y en el momento en que se observó la canalización de la vagina, se inició la toma de frotis vaginales durante 10 días. A los 50 días de edad, se reinició la toma de frotis y cuando presentaron el segundo estro vaginal los animales fueron sacrificados.

Autopsia

Los animales fueron pesados y autopsiados por decapitación entre las 10:00 y las 12:00 h. Se colectó la sangre del tronco y se dejó coagular a temperatura ambiente por 30 minutos, se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos y el suero se dividió en alícuotas de 150 µl, que fueron almacenados a -20 °C, hasta el momento de la cuantificación de hormonas esteroides (estradiol y progesterona) por radioinmunoanálisis (RIA).

En los oviductos se buscó la presencia de ovocitos, los cuales fueron contados con la ayuda de un microscopio estereoscópico, siguiendo la metodología habitual del laboratorio (Morales y col, 1993). Se disecaron y pesaron los ovarios, el útero y las glándulas adrenales. Para observar la histología ovárica, los ovarios de tres animales por grupo experimental fueron fijados en Bouin.

Cuantificación de hormonas esteroides

Las concentraciones de progesterona y estradiol fueron cuantificadas por radioinmunoanálisis (RIA) de fase sólida, mediante reactivos comerciales (Coat-A-Count). En tubos de polipropileno (que ya contienen el anticuerpo específico: anti-progesterona o anti-estradiol), se adicionaron 100 µl de suero y un ml de hormona radioactiva (I^{125}). Para facilitar la reacción, la mezcla se agitó en un vortex durante un minuto y se incubó tres horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la muestra fue decantada, se removió el exceso de líquido y se determinó la concentración de hormona en la muestra problema con la ayuda de un contador de rayos gama modelo Cobra 5005, PackardTM, en función de las cuentas por minuto y de una curva de calibración. La concentración de progesterona se expresó en ng/ml, mientras que la de estradiol en pg/ml de suero.

Los coeficientes de variación intra e interespecíficos fueron 8.35 % y 9.45 % para progesterona y 8.12 % y 9.82 % para estradiol. La sensibilidad del análisis fue de 0.02 ng/ml para progesterona y de 8 pg/ml para estradiol.

La cuantificación de hormonas se realizó en el Laboratorio de Hormonas Esteroides del Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición “Salvador Zuribán”.

Observación de la histología ovárica

Los ovarios fijados en solución de Bouin por 24 horas fueron deshidratados en alcohol (al 70 y 96 %) y cloroformo e incluidos en parafina. Posteriormente se realizaron los cortes histológicos de manera seriada a 10 μ m de grosor y teñidos con la técnica de hematoxilina-eosina. En los cortes se buscó la presencia de quiste foliculares y de cuerpos lúteos.

Los quistes foliculares se definieron como aquellos folículos con una cavidad antral amplia, ausencia de ovocito, hipertrofia de las células de la teca y disminución de las capas de las células de la granulosa (Brawer y col., 1986; Lara y col., 2000).

Análisis estadístico

Los resultados de la edad de apertura vaginal, del primer estro y el número de ovocitos liberados, fueron analizados por la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de U de Mann-Whitney.

El peso de los ovarios, el útero, las adrenales, y las concentraciones séricas de hormonas esteroides se analizaron por la prueba de “t” de Student.

La tasa de animales ovulantes se analizó con la prueba de Fisher.

En todos los casos se consideraron como diferencias estadísticamente significativas aquellas cuya probabilidad fue menor o igual a 0.05.

RESULTADOS

Experimento 1

Efecto de la administración de VE en la bursa ovárica sobre el inicio de la pubertad y las funciones del ovario

Inicio de la pubertad

La edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal en el grupo con Vh fue similar al testigo absoluto (34.4 ± 0.4 vs 35.5 ± 0.5 ; vs 36.4 ± 0.9 36.1 ± 0.5) respectivamente. Por lo que los efectos de la administración de VE en la bursa ovárica se compararon con los animales tratados con Vh.

En respuesta a la administración de VE en la bursa ovárica izquierda, aumentó el peso corporal y se adelantó la edad de apertura vaginal y del primer estro vaginal, con respecto a los animales tratados con Vh. Mientras que la administración de VE en la bursa ovárica derecha no produce cambios en los parámetros evaluados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Media \pm e.e.m del **peso corporal, edad de apertura vaginal y primer estro vaginal** de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

GRUPO	n	Peso corporal	Edad de apertura vaginal	Primer estro vaginal
Vh _{BI}	10	159.9 \pm 5.0	39.5 \pm 1.5	40.3 \pm 1.7
VE _{BI}	10	204.8 \pm 5.5*	34.6 \pm 0.4°	35.4 \pm 0.8°
Vh _{BD}	10	172.3 \pm 7.9	37.6 \pm 1.3	38.4 \pm 1.3
VE _{BD}	10	166.6 \pm 7.3	37.1 \pm 0.7	40.0 \pm 1.3

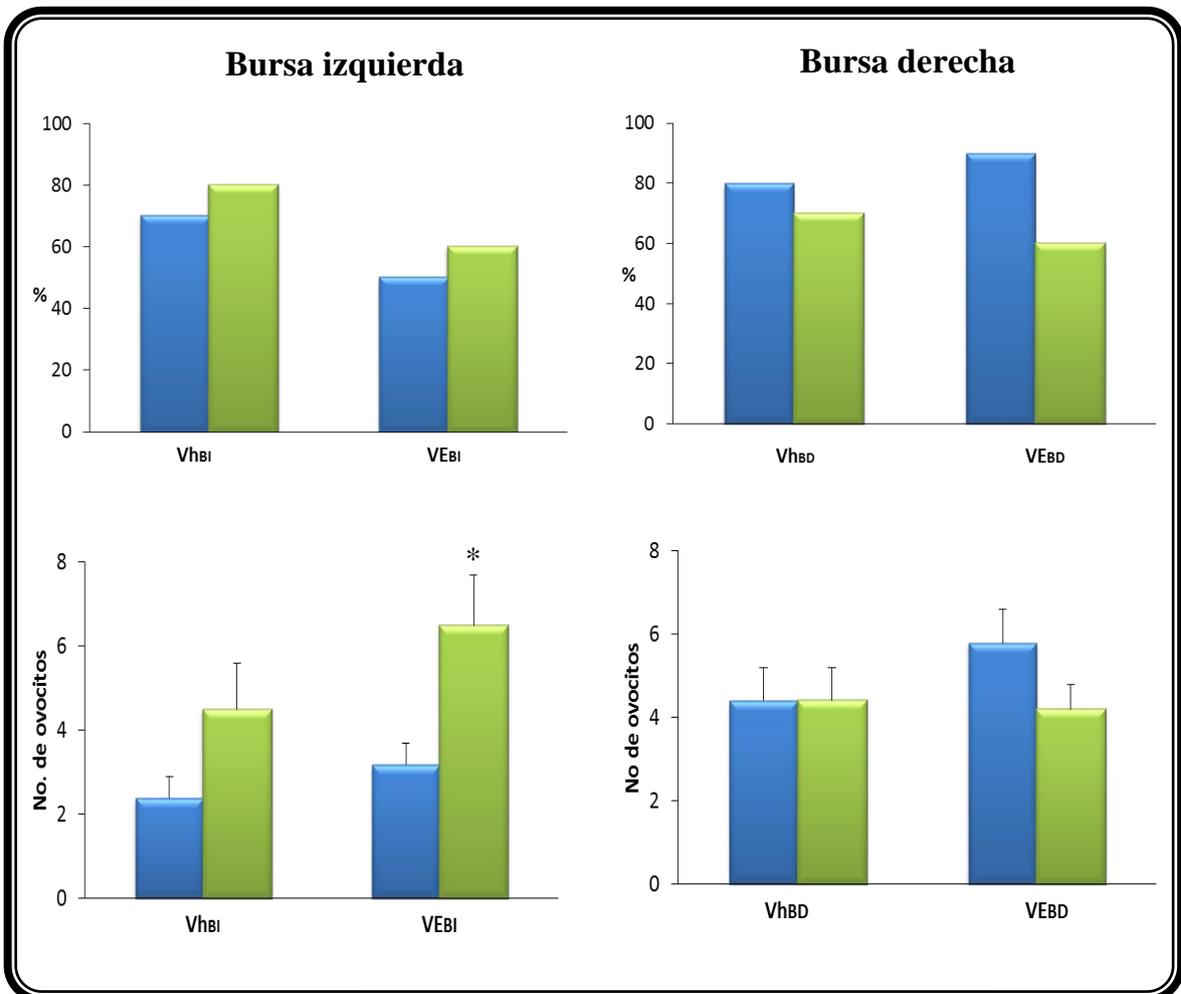
*p < 0.05 vs. Vh_{BI} (Prueba "t" Student)

°p < 0.05 vs. Vh_{BI} (Prueba U de Mann Whitney)

Respuesta ovulatoria

La administración de VE no modificó el porcentaje de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados respecto a los animales tratados con Vh. Sin embargo, cuando se administro VE en la bursa ovárica izquierda disminuyó el número de ovocitos liberados comparado con el ovario sin tratamiento (Figura 10).

Figura 10. Porcentaje de animales ovulantes y media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados, de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



*p < 0.05 vs. Su ovario izquierdo (Prueba U de Mann Whitney)

Peso relativo de los ovarios, las adrenales y el útero

La administración de VE en la bursa ovárica izquierda resultó en un menor peso del ovario derecho con respecto a su grupo tratado con Vh. Asimismo, disminuyó la masa adrenal y el peso del útero (Cuadro 2).

La administración de VE en la bursa ovárica derecha no modificó los parámetros evaluados (Cuadro 2).

Cuadro 2. Media \pm e.e.m del **peso relativo (mg/100 g de peso corporal)**, del ovario izquierdo, derecho, masa adrenal y útero, de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días en el estro vaginal.

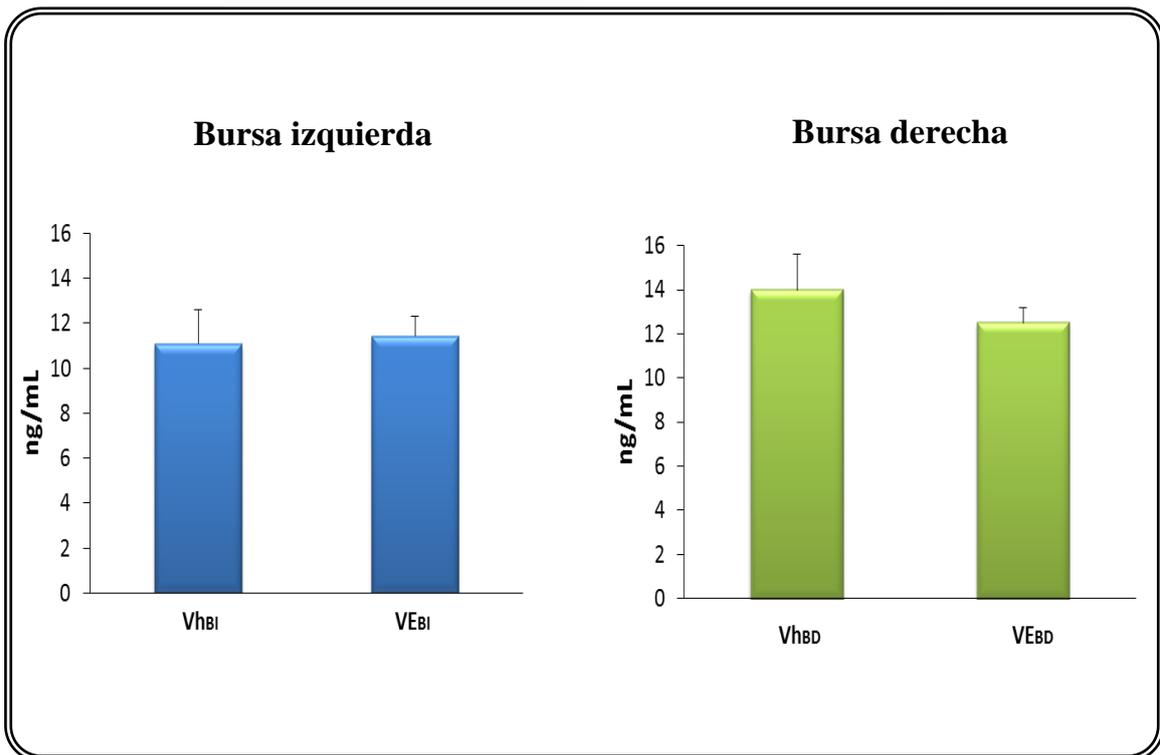
GRUPO	n	Ovarios		Masa adrenal	Útero
		izquierdo	Derecho		
Vh _{BI}	10	13.0 \pm 0.7	15.7 \pm 0.5	27.7 \pm 1.2	149.6 \pm 9.1
VE _{BI}	10	13.3 \pm 1.0	12.4 \pm 0.6*	21.7 \pm 1.3*	106.2 \pm 6.3*
Vh _{BD}	10	14.8 \pm 0.6	15.0 \pm 0.9	29.2 \pm 1.9	136.5 \pm 4.3
VE _{BD}	10	13.2 \pm 0.8	13.1 \pm 0.8	27.9 \pm 1.3	153.3 \pm 11.9

*p < 0.05 vs. Vh_{BI} (Prueba "t" Student)

Hormonas esteroideas

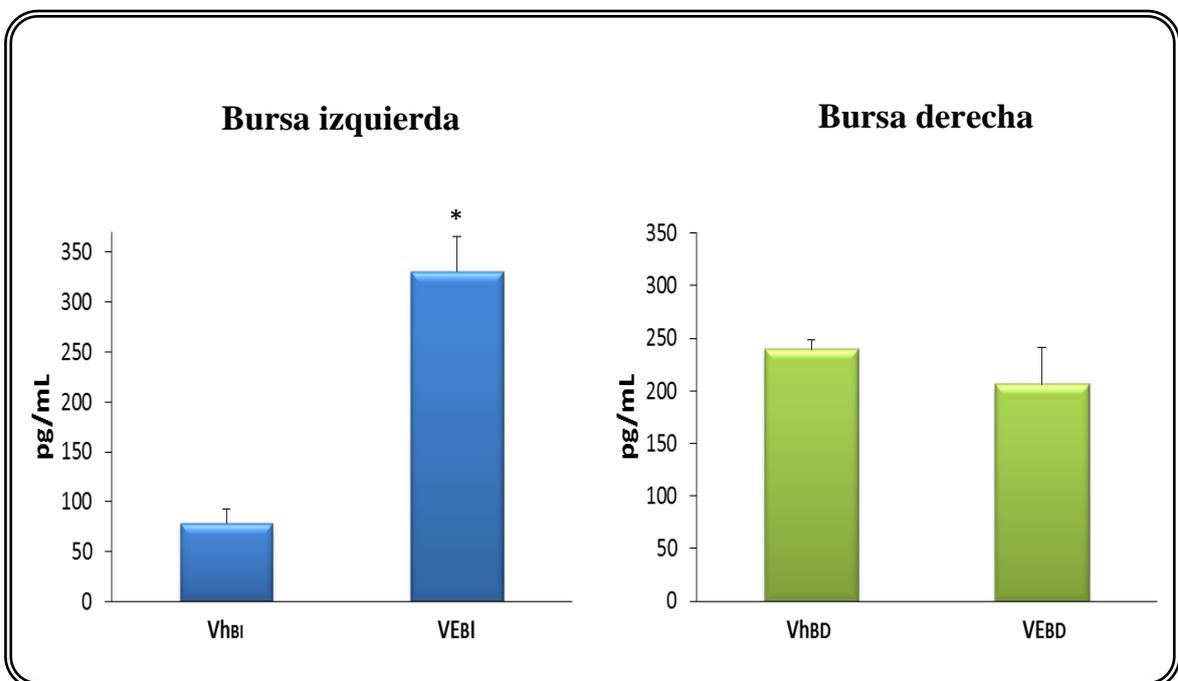
En los animales a los que se les administró VE en la bursa ovárica, no se modificó la concentración sérica de progesterona (Figura 11).

Figura 11. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **progesterona** en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente 60 días de edad en el estro vaginal.



La administración de VE aumentó la concentración sérica de estradiol cuando el ovario inyectado fue el izquierdo, comparado con su grupo con Vh (Figura 12).

Figura 12. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **estradiol** en animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente 60 días de edad en el estro vaginal.

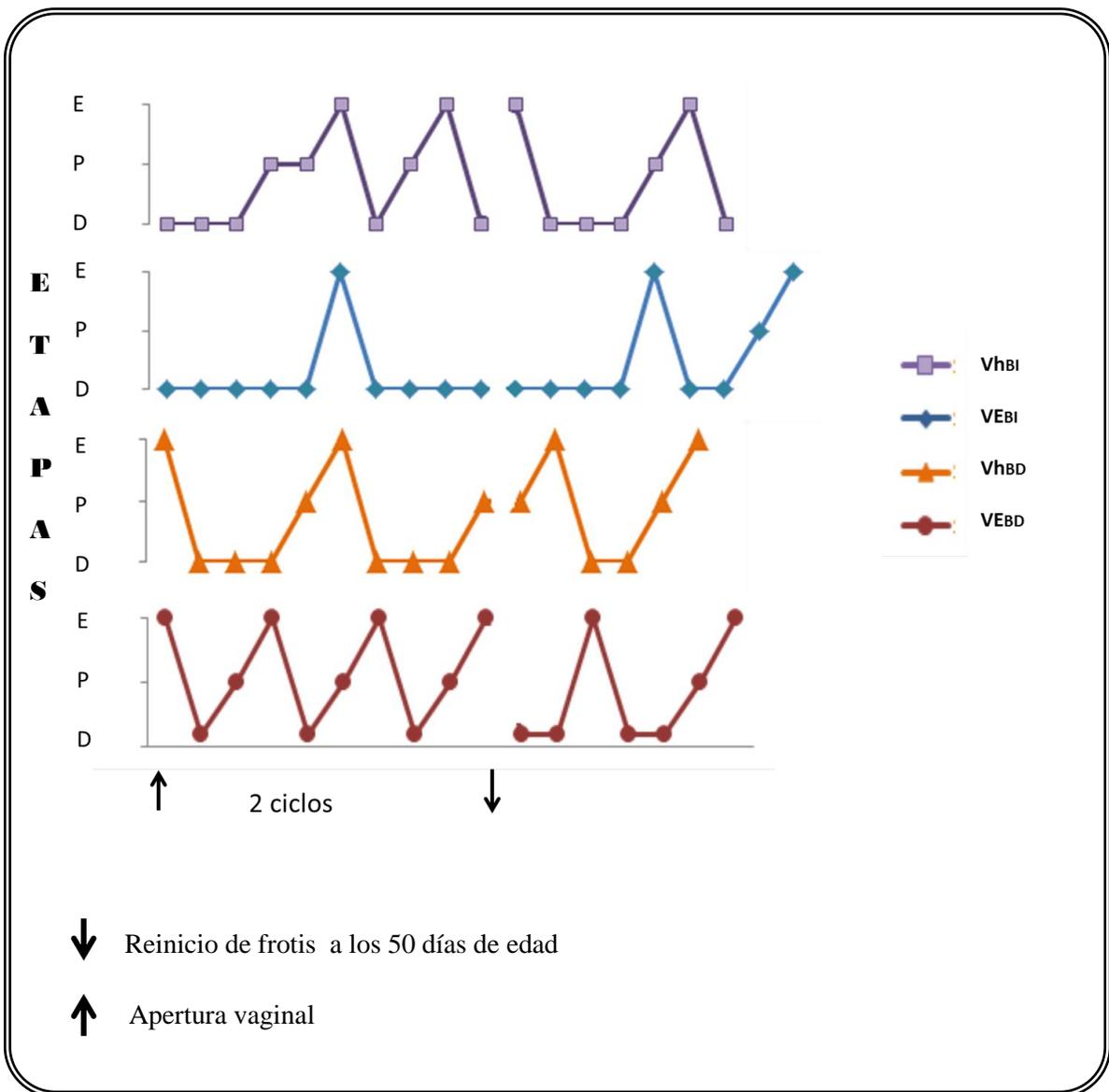


* $p < 0.05$ vs. Vh_{BI} (Prueba "t" Student)

Patrón del ciclo estral

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda el ciclo estral se mantiene en diestro constante mientras que no se modifica cuando se inyecta VE en la bursa ovárica derecha (Figura 13).

Figura 13. Patrón representativo del ciclo estral de animales tratados con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica izquierda (BI) o derecha (BD) a los 30 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



Resumen de resultados

PARAMETROS		EFECTO DEL VE DE ESTRADIOL INYECTADO EN:	
		Bursa izquierda	Bursa derecha
PC		↑	=
EAV		A	=
PEV		A	=
TAO		=	=
Ovocitos liberados		=	=
P E S O S	ovarios	=	=
	Masa adrenal	↓	=
	útero	=	=
P ₄		=	=
E ₂		↑	=

Resumen de los efectos de la inyección de VE en la bursa ovárica izquierda o derecha a ratas de 30 días de edad y autopsiadas aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal sobre el peso corporal (PC), edad de apertura vaginal (EAV), primer estro vaginal (PEV), tasa de animales ovulantes (TAO), ovocitos liberados, peso de ovarios, masa adrenal, peso de útero, concentración sérica de progesterona (P₄) y estradiol (E₂). Donde los símbolos de igual (=) indican no diferencias, la flecha hacia abajo (↓) disminución, la flecha hacia arriba (↑) incremento y la letra A representa adelanto en los parámetros evaluados.

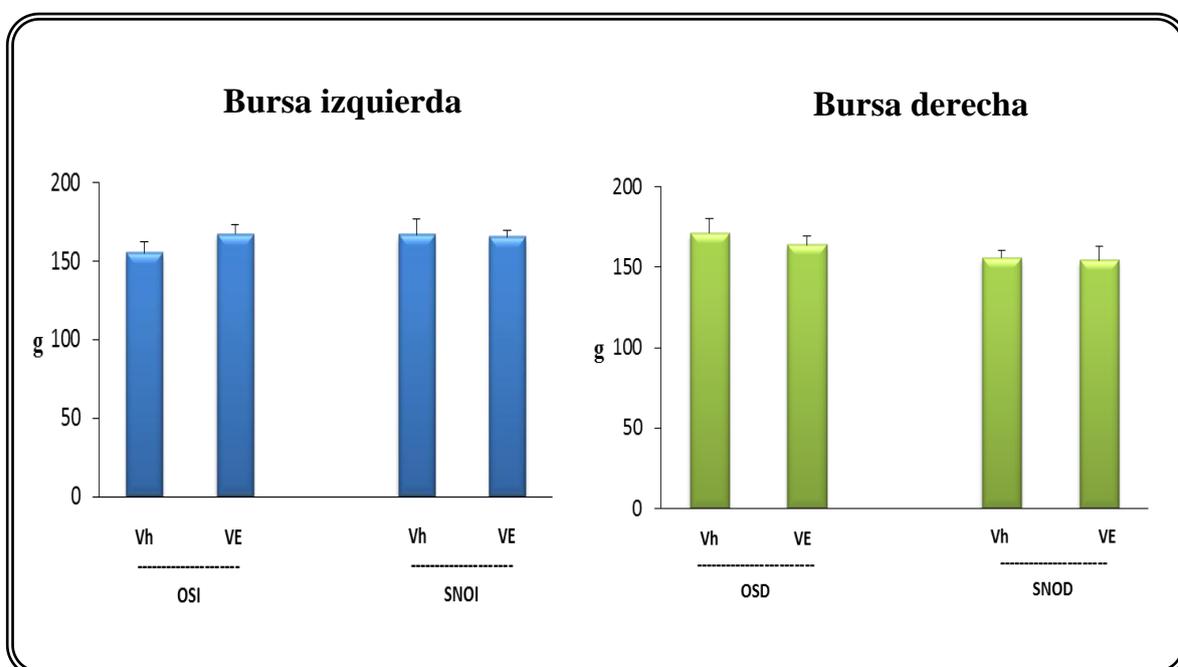
Experimento 2

Efecto de la sección ipsilateral del nervio ovárico superior en animales tratados con Vh o VE en la bursa ovárica

Peso corporal

La sección del NOS no modificó el peso corporal en los animales tratados con VE o Vh (Figura 14).

Figura 14. Media \pm e.e.m del **peso corporal**, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

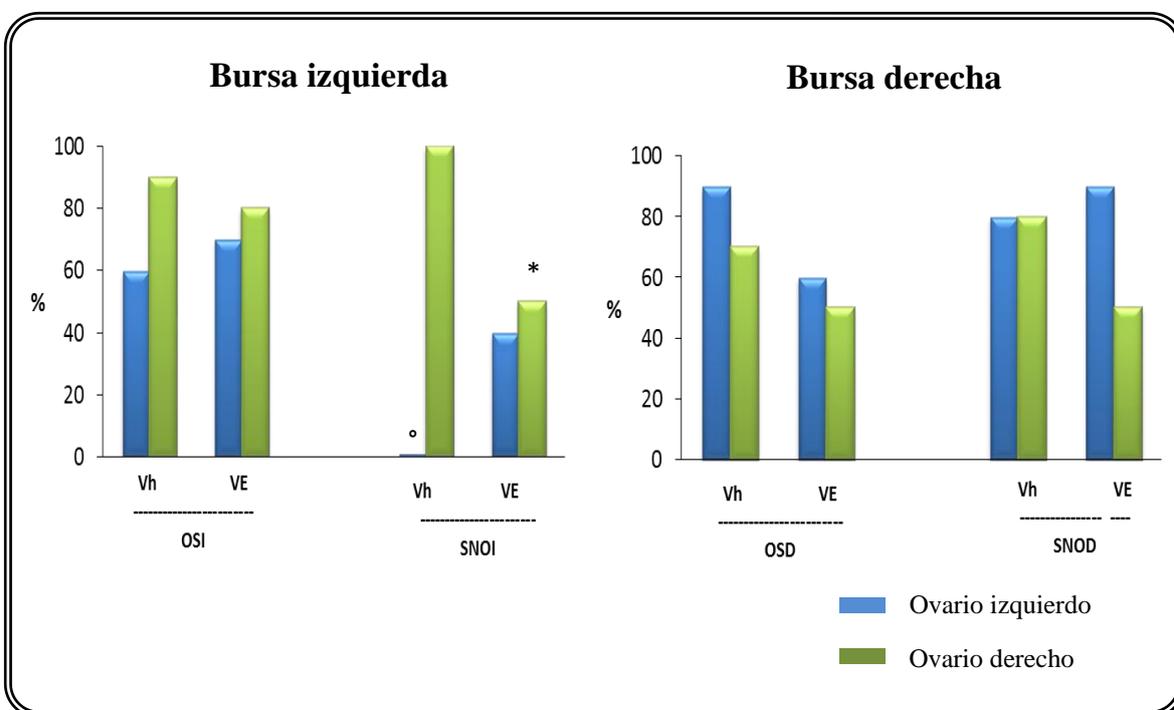


Respuesta ovulatoria

En los animales tratados con Vh en la bursa ovárica izquierda, la sección del NOS izquierdo disminuyó la tasa de animales ovulantes en el ovario denervado comparado con su grupo con operación simulada. En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda la sección del NOS izquierdo disminuyó la tasa de animales ovulantes en el ovario derecho comparado con su grupo con Vh (Figura 15).

La operación simulada o la sección del NOS derecho no modificó la tasa ovulatoria en las hembras tratadas con VE o Vh en la bursa ovárica derecha (Figura 15).

Figura 15. Porcentaje de animales ovulantes, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



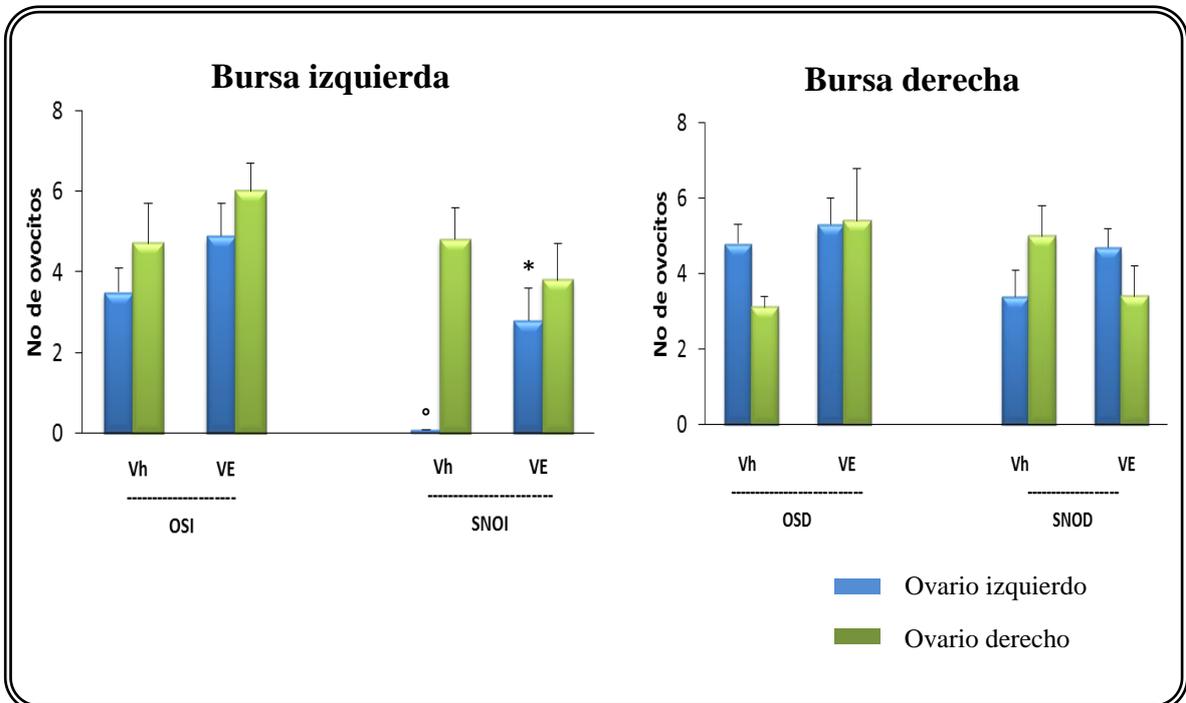
*p < 0.05 vs. Vh + SNOI (Prueba de Fisher) °p < 0.05 vs. Vh + OSI (Prueba de Fisher)

En los animales tratados con Vh en la bursa ovárica izquierda, la sección del NOS izquierdo disminuyó el número de ovocitos liberados en el ovario denervado comparado con su grupo con operación simulada (Figura 16).

La sección del NOS izquierdo aumentó el número de ovocitos liberados en el ovario izquierdo en animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda comparado con su grupo con Vh (Figura 16).

La operación simulada o la sección del NOS derecho no modificó la ovulación en las hembras tratadas con Vh o VE en la bursa ovárica derecha (Figura 16).

Figura 16. Media \pm eem del **número de ovocitos liberados**, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente los 60 días de edad en el estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. Vh + SNOI (Prueba U de Mann Whitney)

° $p < 0.05$ vs. Vh + OSI (Prueba U de Mann Whitney)

Peso relativo de los ovarios, las adrenales y el útero

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda, la operación simulada izquierda o derecha disminuyó el peso del ovario izquierdo comparado con su grupo con Vh (Cuadro 3).

La sección del NOS izquierdo disminuyó el peso del ovario izquierdo en animales tratados con vehículo en la bursa ovárica izquierda comparado con su grupo con operación simulada (Cuadro 3).

En las hembras tratadas con VE en la bursa ovárica derecha, la sección del NOS derecho aumentó el peso de los ovarios y la masa adrenal comparado con su grupo con operación simulada (Cuadro 3).

Cuadro 3. Media \pm e.e.m del **peso relativo (mg/100 g de peso corporal)**, de animales tratados a los 30 días con Vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

GRUPO	n	Ovarios		Masa adrenal	Útero
		izquierdo	derecho		
Vh _{BI} +OSI	10	17.9 \pm 1.4	16.9 \pm 0.9	29.2 \pm 3.4	160.8 \pm 8.1
VE _{BI} +OSI	10	14.3 \pm 0.9*	17.2 \pm 1.3	23.8 \pm 1.1	141.8 \pm 10.0
Vh _{BI} +SNOI	10	10.7 \pm 0.9 ^o	17.5 \pm 1.1	25.0 \pm 2.0	141.0 \pm 11.4
VE _{BI} +SNOI	10	13.4 \pm 1.3	19.9 \pm 1.0	23.1 \pm 1.3	136.5 \pm 4.8
Vh _{BD} +OSD	10	16.2 \pm 0.9	14.0 \pm 0.8	24.5 \pm 1.5	161.0 \pm 10.8
VE _{BD} +OSD	10	13.7 \pm 0.5*	13.0 \pm 1.0	23.5 \pm 0.8	137.0 \pm 7.4
Vh _{BD} +SNOD	10	15.8 \pm 1.0	15.9 \pm 0.9	23.0 \pm 0.7	144.8 \pm 5.7
VE _{BD} +SNOD	10	17.9 \pm 1.2 [∞]	18.0 \pm 1.7 [∞]	29.1 \pm 1.5 [∞]	143.7 \pm 12.2

*p < 0.05 vs. su grupo con operación simulada (Prueba "t" Student)

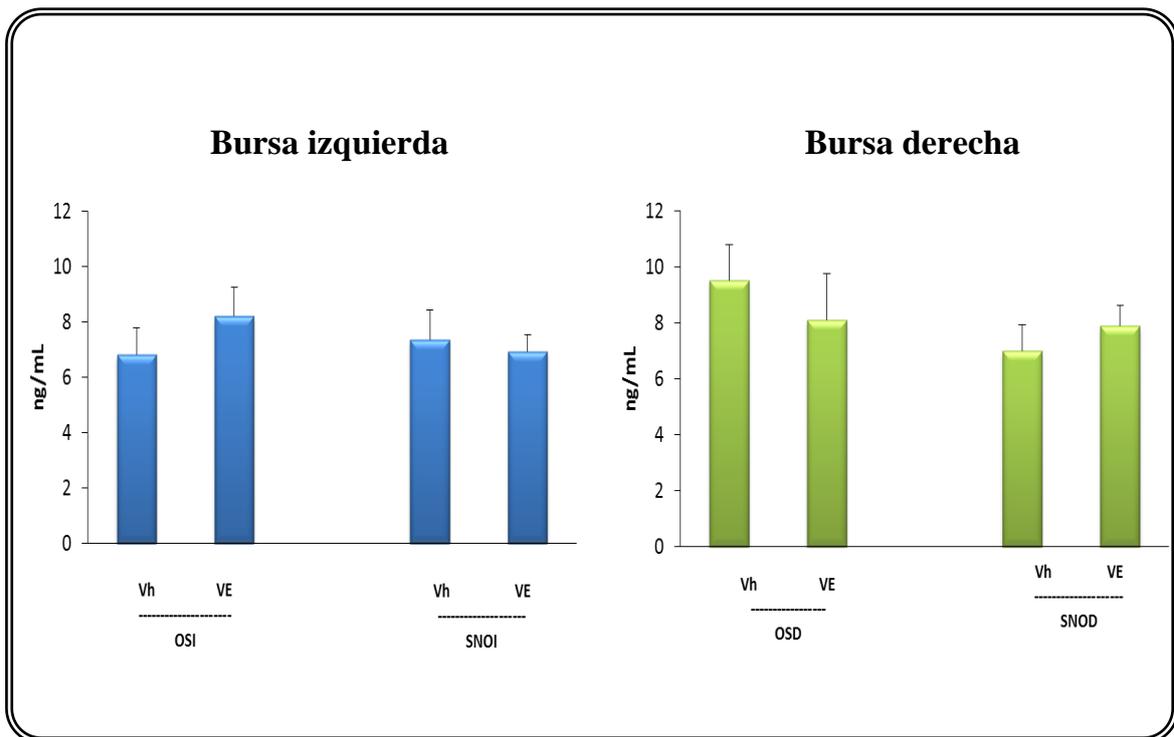
^op < 0.05 vs. Vh_{BI}+OSI (Prueba "t" Student)

[∞] p < 0.05 vs. VE_{BD}+OSD (Prueba "t" Student)

Hormonas esteroideas

En el grupo de animales tratado con VE o Vh en la bursa ovárica (izquierda o derecha), la sección unilateral del nervio ovárico superior no modificó la concentración sérica de progesterona (Figura 17).

Figura 17. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **progesterona** de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



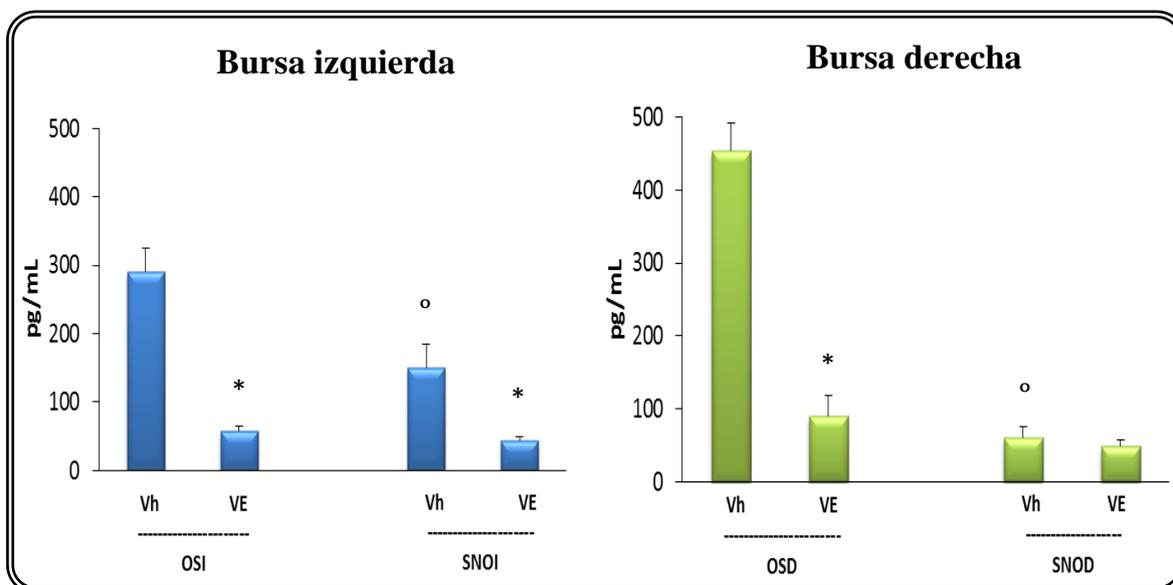
En los animales tratados con VE en la bursa ovárica (izquierda o derecha), la operación simulada resultó en una menor concentración de estradiol sérico, comparado contra su grupo con Vh (Figura 18).

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda, la sección del NOS izquierdo resultó en una menor concentración sérica de estradiol, comparado contra su grupo con Vh (Figura 18).

En las hembras tratadas con Vh en la bursa ovárica (izquierda o derecha), la sección del NOS izquierdo o derecho respectivamente, disminuyó la concentración sérica de estradiol comparado contra su grupo con operación simulada (Figura 18).

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda, la sección del NOS derecho no modificó la concentración sérica de progesterona (Figura 18).

Figura 18. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **estradiol** de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



*p < 0.05 vs. su grupo con Vh (Prueba "t" Student)

^op < 0.05 vs su grupo con operación simulada (Prueba "t" Student)

Resumen de resultados

	PC	TAO		OVOCITOS		PESO		MA	PU	P	E
		OI	OD	OI	OD	OI	OD				
VE_{BI}+OSI vs Vh_{BI}+OSI	=	=	=	=	=	↓	=	=	=	=	↓
VE_{BI}+SNOI vs Vh_{BI}+SNOI	=	=	↓	↑	=	=	=	=	=	=	↓
VE_{BD}+OSD vs Vh_{BD}+OSD	=	=	=	=	=	↓	=	=	=	=	↓
VE_{BD}+SNOD vs Vh_{BD}+SNOD	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=

Resumen de los efectos de la sección ipsilateral del NOS a ratas tratadas con Vh o VE en la bursa ovárica sobre el peso corporal (PC), tasa de animales ovulantes (TAO), ovocitos liberados, peso de ovarios, masa adrenal (MA), peso de útero (PU), concentración sérica de progesterona (P₄) y estradiol (E₂). Donde los símbolos de igual (=) indican no diferencias, la flecha hacia abajo (↓) señala disminución, la flecha hacia arriba (↑) incremento en los parámetros evaluados.

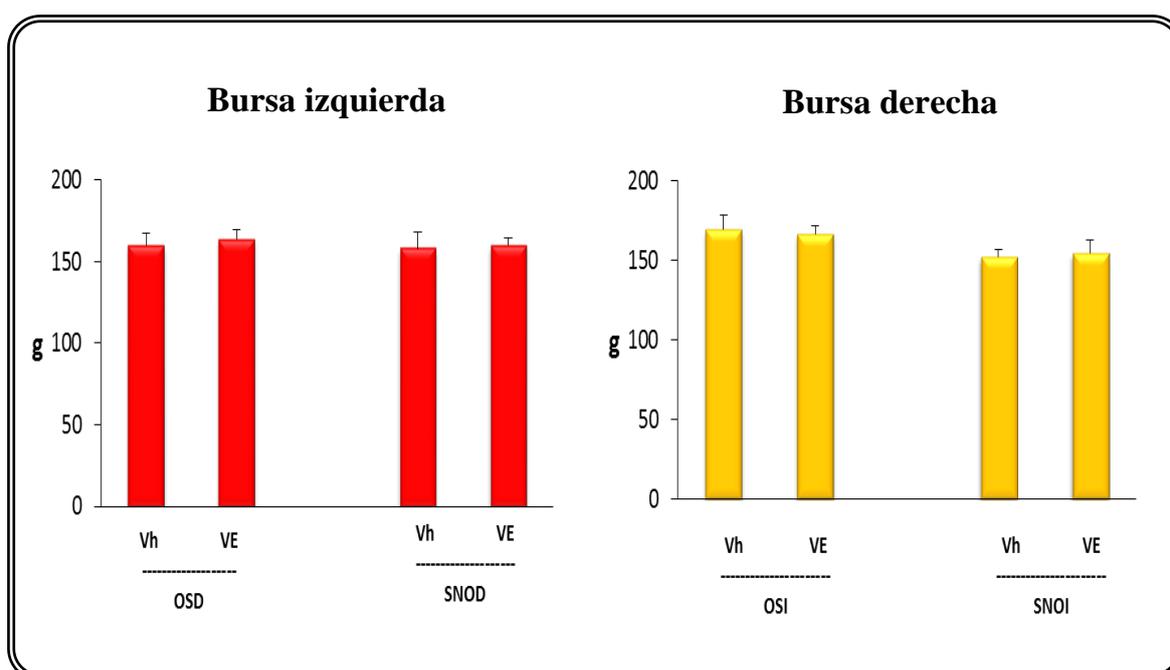
Experimento 3

Efecto de la sección contralateral del nervio ovárico superior en animales tratados con Vh o VE en la bursa ovárica

Peso corporal

La sección del NOS no modifica el peso corporal en animales tratados con VE o Vh (Figura 19).

Figura 19. Media \pm e.e.m del **peso corporal**, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



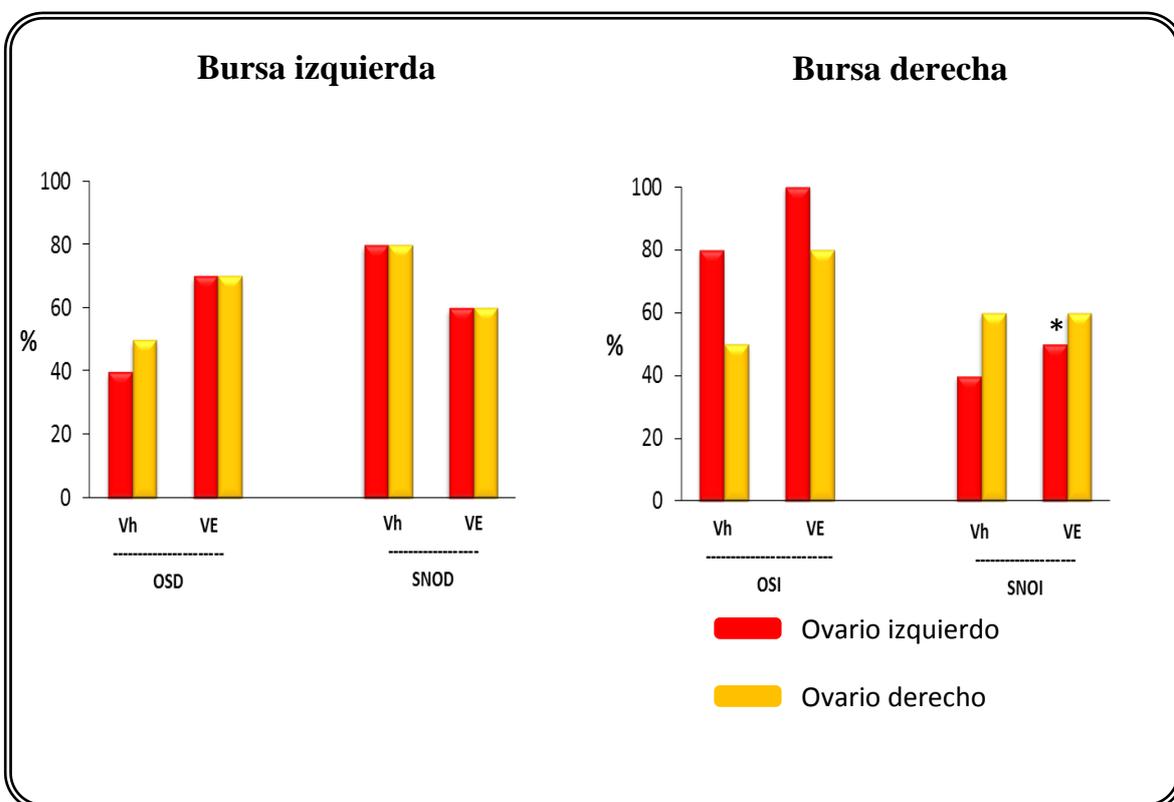
Respuesta ovulatoria

En el grupo tratado con VE en la bursa ovárica derecha, la sección del NOS izquierdo disminuyó la tasa ovulatoria en el ovario izquierdo comparado con su grupo con operación simulada (Figura 20).

La sección del NOS derecho no modificó la tasa ovulatoria en los grupos tratados con Vh o VE en la bursa ovárica izquierda (Figura 20).

La operación simulada no modificó la respuesta ovulatoria en grupos tratados con VE comparado contra su grupo con Vh. (Figura 20).

Figura 20. Porcentaje de animales ovulantes, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

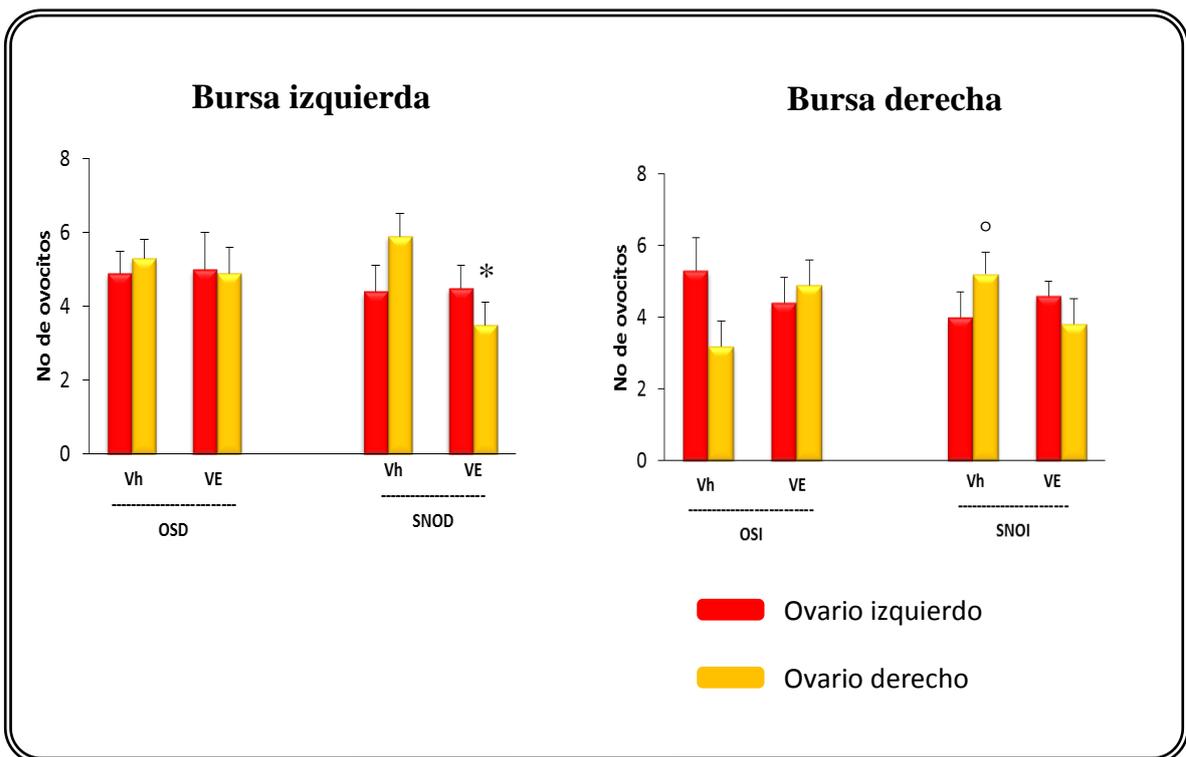


* $p < 0.05$ vs. $VE_{BI} + OSI$ (Prueba de Fisher)

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda, la sección del NOS derecho disminuyó el número de ovocitos liberado por el ovario derecho comparado con respecto a su grupo con Vh (Figura 21).

En el grupo tratado con Vh en la bursa ovárica derecha, la sección del NOS izquierdo aumentó el número de ovocitos liberado por el ovario derecho comparado con su grupo con OSI (Figura 21).

Figura 21. Media \pm eem. del **número de ovocitos liberados**, de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. Vh + SNOD (Prueba U de Mann Whitney)

° $p < 0.05$ vs. Vh + OSI (Prueba U de Mann Whitney)

Peso relativo de los ovarios, las adrenales y el útero

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda más la OSD, fue mayor el peso del ovario derecho comparado con su respectivo grupo con Vh (Cuadro 4).

En el grupo tratados con Vh en la bursa ovárica izquierda la sección del NOS derecho resultó en menor peso del ovario izquierdo, comparado con su grupo con operación simulada (Cuadro 4).

La sección del NOS izquierdo aumentó la masa adrenal en animales tratados con VE en la bursa ovárica derecha comparado con su grupo con Vh (Cuadro 4).

Cuadro 4. Media \pm e.e.m del **peso relativo (mg/100 g de peso corporal)**, del ovario izquierdo, derecho, masa adrenal y útero de animales tratados a los 30 días con Vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

GRUPO	n	Ovarios		Masa adrenal	Útero
		OI	OD		
Vh _{BI} +OSD	10	15.4 \pm 0.8	14.3 \pm 0.7	24.4 \pm 1.1	141.3 \pm 3.7
VE _{BI} +OSD	10	15.5 \pm 1.0	18.1 \pm 1.3*	25.1 \pm 2.1	152.9 \pm 7.8
Vh _{BI} +SNOD	10	12.5 \pm 1.1 °	15.0 \pm 0.5	24.6 \pm 0.9	126.3 \pm 6.6
VE _{BI} +SNOD	10	12.9 \pm 0.9	15.1 \pm 1.0	23.4 \pm 0.9	128.2 \pm 5.7
Vh _{BD} +OSI	10	15.2 \pm 0.8	15.0 \pm 0.8	23.3 \pm 1.2	145.9 \pm 6.8
VE _{BD} +OSI	10	15.5 \pm 0.5	14.2 \pm 0.8	24.0 \pm 1.4	144.0 \pm 5.7
Vh _{BD} +SNOI	10	14.9 \pm 1.5	15.7 \pm 1.3	23.4 \pm 0.5	126.9 \pm 9.3
VE _{BD} +SNOI	10	14.7 \pm 1.3	17.4 \pm 1.4	28.8 \pm 1.8*	155.5 \pm 11.9

*p < 0.05 vs. su grupo con Vh (Prueba "t" Student)

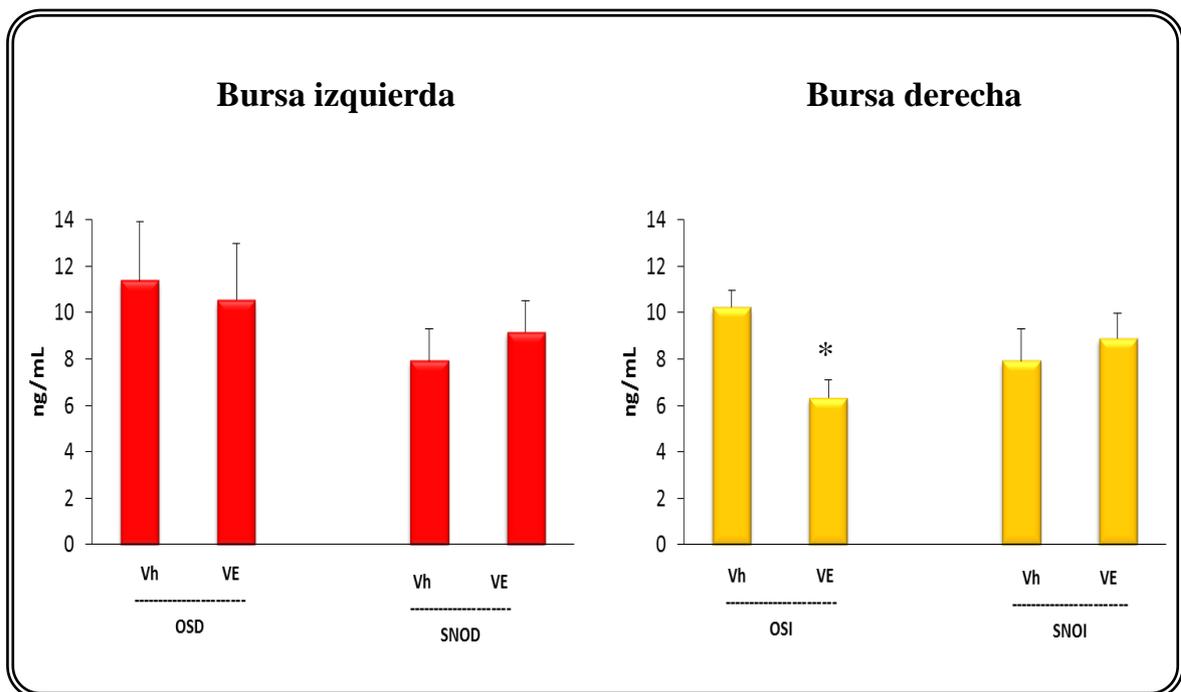
° p < 0.05 vs. su grupo con operación simulada (Prueba "t" Student)

Hormonas esteroideas

En los grupos tratados con VE en la bursa ovárica la OSI disminuyó la concentración sérica de progesterona comparado con su grupo con Vh, mientras que la OSD no modificó la concentración de la hormona (Figura 22).

La sección del NOS derecho o izquierdo no modificó la concentración de progesterona en animales tratados con Vh o VE (Figura 22).

Figura 22. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **progesterona** de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.

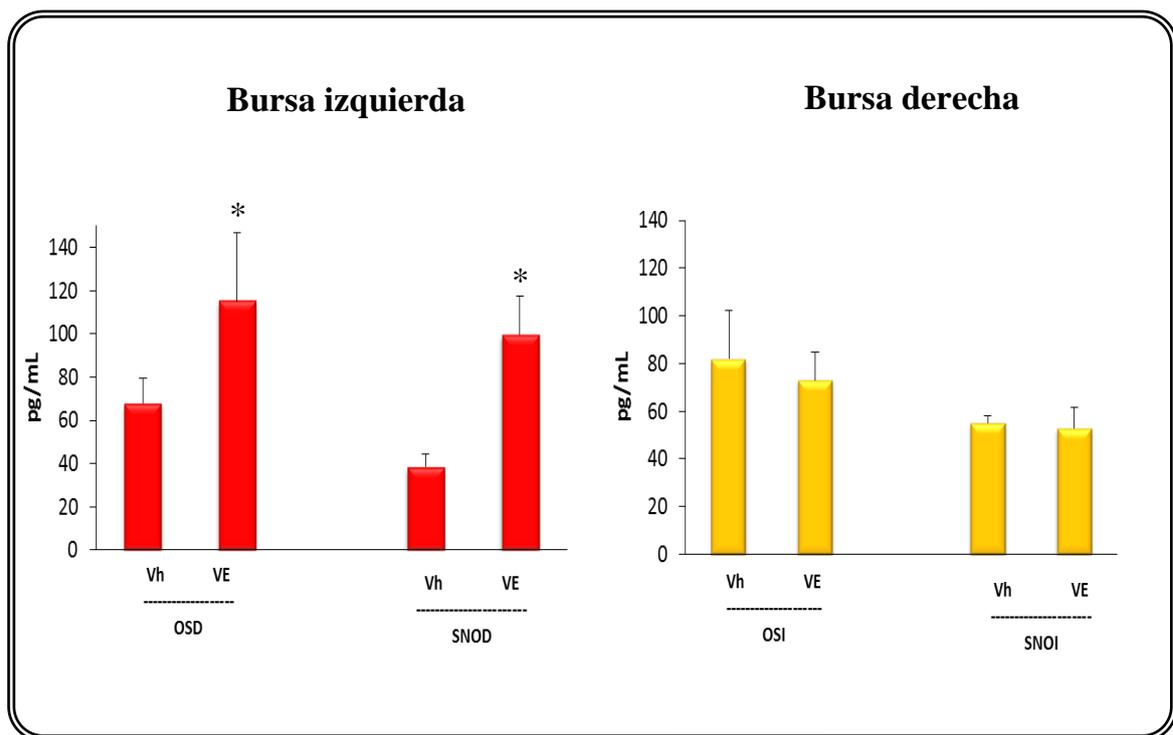


*p < 0.05 vs. grupo con Vh (Prueba "t" Student)

En el grupo tratado con VE en la bursa ovárica izquierda, tanto con la OSD como con la sección del NOS derecho aumentó la concentración sérica de estradiol comparado con su grupo con Vh (Figura 23).

La operación simulada izquierda y la sección del NOS izquierdo no modificó la concentración sérica de estradiol, en los grupos tratados con Vh o VE (Figura 23).

Figura 23. Media \pm e.e.m de la concentración sérica de **estradiol** de animales tratados a los 30 días con vehículo (Vh) o valerato de estradiol (VE) en la bursa ovárica, con operación simulada izquierda o derecha (OSI, OSD) o sección del nervio ovárico superior izquierdo o derecho (SNOI, SNOD) realizada a los 45 días de edad y sacrificados aproximadamente a los 60 días de edad en el estro vaginal.



* $p < 0.05$ vs. su grupo con Vh (Prueba "t" Student)

Resumen de resultados

	PC	TAO		OVOCITOS		PESO		MA	PU	P	E
		OI	OD	OI	OD	OI	OD				
VE_{BI}+OSD vs Vh_{BI}+OSD	=	=	=	=	=	=	↑	=	=	=	↑
VE_{BI}+SNOD vs Vh_{BI}+SNOD	=	=	=	=	↓	=	=	=	=	=	↑
VE_{BD}+OSI vs Vh_{BD}+OSI	=	=	=	=	=	=	=	=	=	↓	=
VE_{BD}+SNOI vs Vh_{BD}+SNOI	=	=	=	=	=	=	=	↑	=	=	=

Resumen de los efectos de la sección contralateral del NOS a ratas tratadas con Vh o VE en la bursa ovárica sobre el peso corporal (PC), tasa de animales ovulantes (TAO), ovocitos liberados, peso de ovarios, masa adrenal (MA), peso de útero (PU), concentración sérica de progesterona (P₄) y estradiol (E₂). Donde los símbolos de igual (=) indican no diferencias, la flecha hacia abajo (↓) disminución, la flecha hacia arriba (↑) incremento en los parámetros evaluados.

Histología del ovario

Los ovarios de los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda presentan quistes foliculares, sin cambios en la morfología del ovario derecho, comparado con el ovario de un animal tratado con Vh (Figura 24).

Los animales tratados con VE en la bursa ovárica izquierda y con sección del NOS izquierdo (ipsilateral) no presentan quistes, y tiene una morfología similar a los ovarios de los animales tratados con Vh. No hay cambios en la morfología del ovario derecho de estos animales. La sección del NOS derecho (contralateral) no alteró la morfología del ovario derecho, mientras que en el ovario izquierdo se observan cambios en el desarrollo folicular si se compara con la morfología de los ovarios de los animales tratados con Vh (Figura 25).

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica derecha el ovario presenta folículos atrésicos, sin cambios en el ovario izquierdo de estos animales (Figura 26).

Los animales tratados con VE en la bursa ovárica derecha y con sección del NOS derecho (ipsilateral) no presentan quistes, y tiene una morfología similar a los ovarios de los animales tratados con Vh. No se presentan cambios en la morfología del ovario izquierdo de estos animales. La sección del NOS izquierdo (contralateral) no alteró la morfología del ovario derecho, ni el izquierdo si se compara con un grupo con Vh (Figura 27).

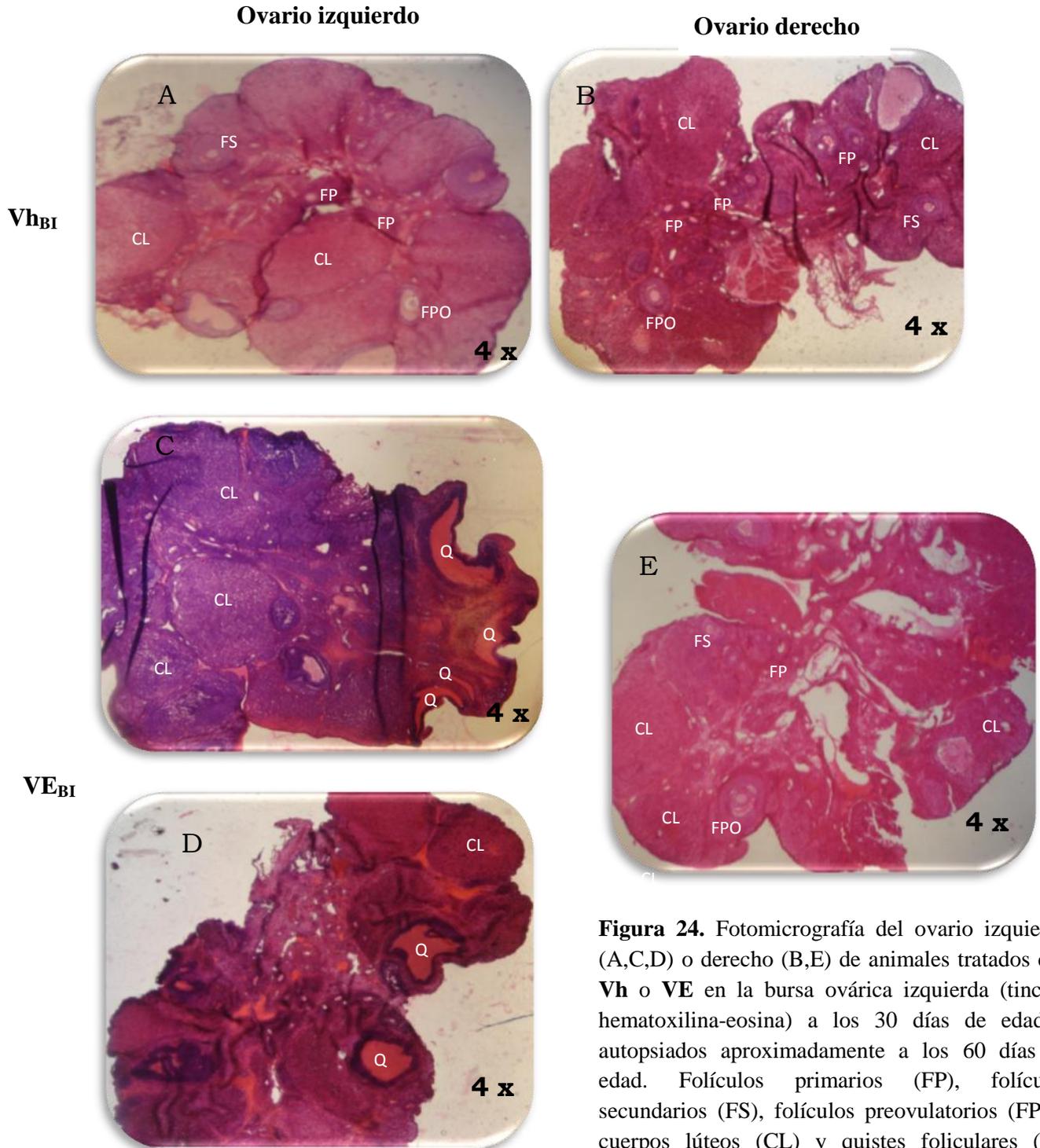


Figura 24. Fotomicrografía del ovario izquierdo (A,C,D) o derecho (B,E) de animales tratados con **Vh** o **VE** en la bursa ovárica izquierda (tinción hematoxilina-eosina) a los 30 días de edad y autopsiados aproximadamente a los 60 días de edad. Folículos primarios (FP), folículos secundarios (FS), folículos preovulatorios (FPO), cuerpos lúteos (CL) y quistes foliculares (Q). Aumento 4X

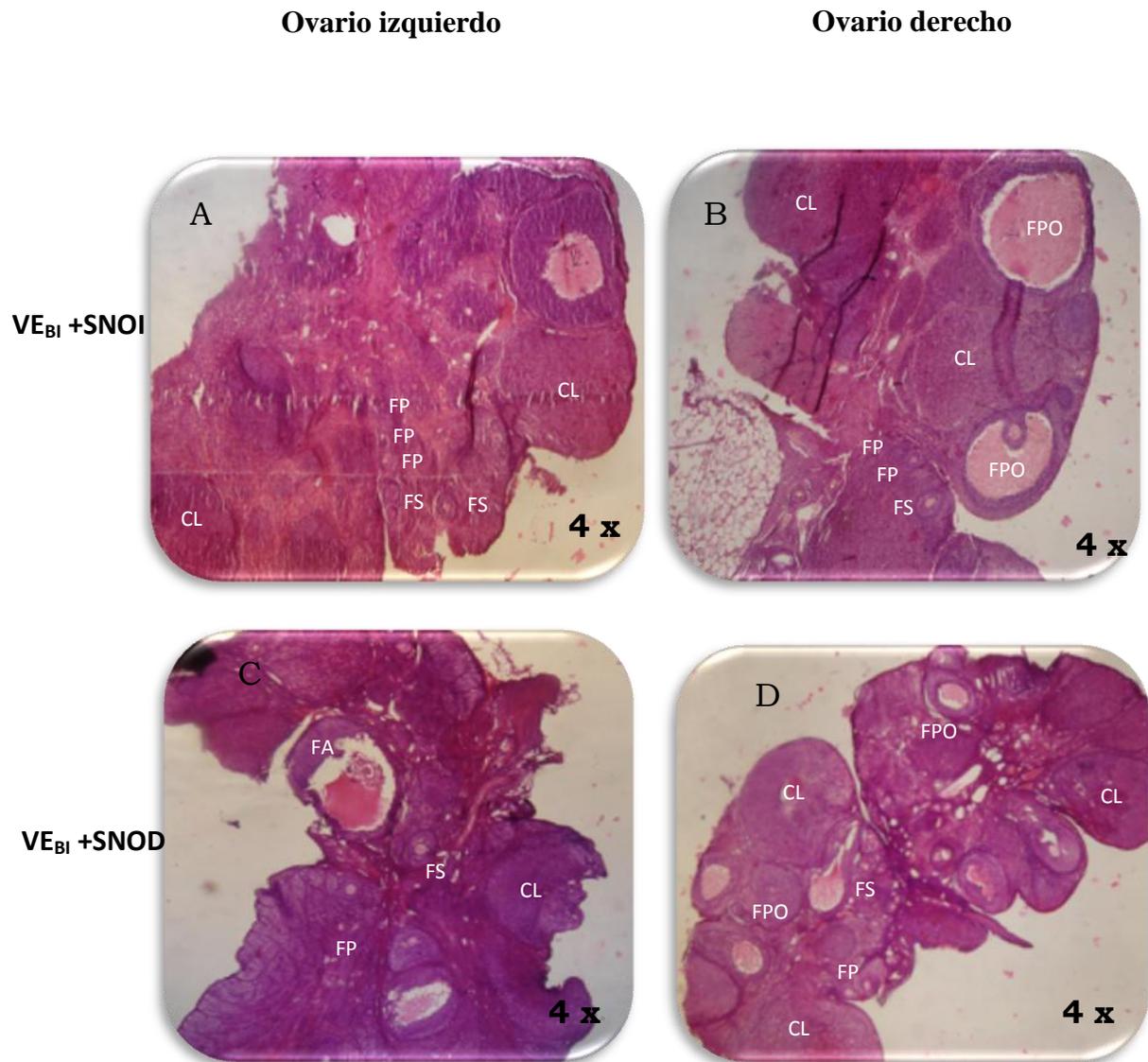


Figura 25. Fotomicrografía del ovario izquierdo (A,C,) o derecho (C,D) de animales tratados **VE** en la bursa izquierda (tinción hematoxilina-eosina) a los 30 días de edad y con **SNOI** o **SNOD** a los 45 días, sacrificados en el estro vaginal. Folículos primarios (FP), folículos secundarios (FS), folículos preovulatorios (FPO) y cuerpos lúteos (CL). Aumento 4X

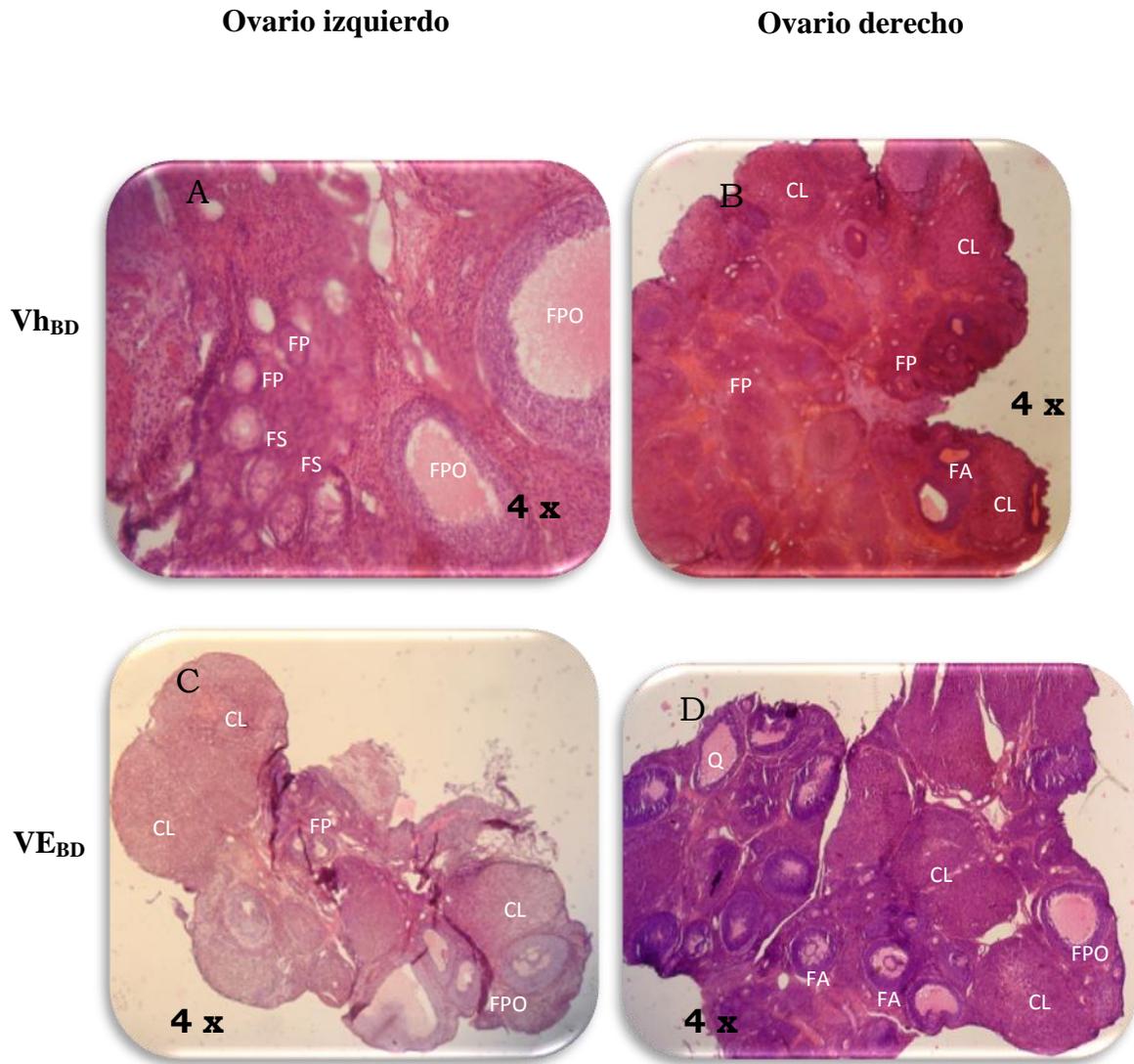


Figura 26. Fotomicrografía del ovario izquierdo (A,C,) o derecho (C,D) de animales tratados **VE** en la bursa del ovario derecho (tinción hematoxilina-eosina) a los 30 días de edad autopsiados a los 60 días de edad. Folículos primarios (FP), folículos secundarios (FS), folículos preovulatorios (FPO), cuerpos lúteos (CL), folículos atrésicos (FA) y un quistes foliculares (Q). Aumento 4X

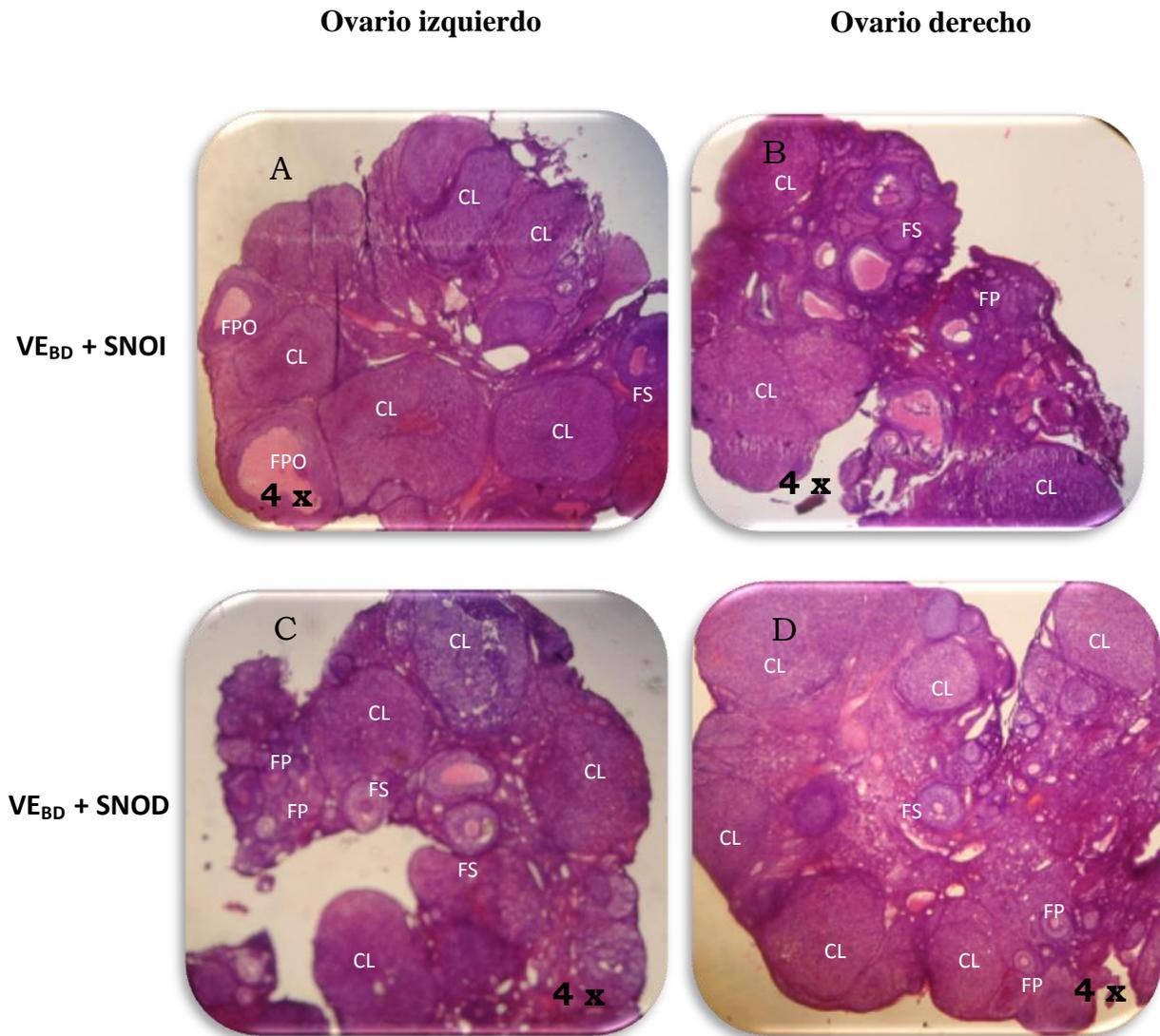


Figura 27. Fotomicrografía del ovario izquierdo (A,C,) o derecho (C,D) de animales tratados **VE** en la bursa ovarica derecha (tinción hematoxilina-eosina) a los 30 días de edad, con SNOI o SNOD y autopsiados en el estro vaginal. Folículos primarios (FP), folículos secundarios (FS), folículos preovulatorios (FPO) y cuerpos lúteos (CL). Aumento 4X

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la rata la administración de VE por vía intraperitoneal es capaz de inducir el SOPQ. El mecanismo que se ha planteado para describir el desarrollo de esta patología es que el VE al actuar en el ovario, incrementa la concentración del factor de crecimiento neural, lo que se traduce en una mayor actividad de la tiroxina hidroxilasa a nivel del ganglio celíaco y como consecuencia se incrementa la concentración de NA en el ovario (Barria y col., 1993; Lara y col., 1993; 2000; Rosa-E-Silva y col., 2003). Cuando se administró el fármaco en la bursa ovárica no se bloqueó la ovulación, sin embargo, se observó que la sensibilidad de los ovarios al VE es diferente, ya que en el ovario izquierdo se formó un mayor número de quistes foliculares que cuando se inyecta en el ovario derecho.

Análisis de los efectos de la administración de valerato de estradiol en la Bursa ovárica.

En la mujer se ha definido que los criterios para establecer la existencia del SOPQ, es la presencia de quistes foliculares y la falta de ovulación. En la rata, la administración intraperitoneal de VE induce estas características (Brawer y col., 1978; Hemmings y col., 1983; Rosas-E-Silva y col., 2003; Linares, 2006) por lo que se dice que este fármaco es capaz de inducir el síndrome de manera similar a la que presenta la mujer (Lara y col., 2000; Yen, 2001; Hoyt y Schmidt, 2004). Los quistes foliculares se caracterizan por la ausencia de ovocito, hipertrofia de las células de la teca y disminución de las capas de las células de la granulosa (Lara y col., 2000). La administración de VE en la bursa ovárica induce la aparición de quistes foliculares, que son más abundantes si se administra en el ovario izquierdo,

Discusión de resultados

sin embargo la ovulación se produce de manera semejante al grupo tratado con el vehículo. Resultados que nos permiten sugerir que la sensibilidad de los ovarios al VE es diferente y apoyan la idea de que la formación de los quistes obedece a un incremento en la concentración de NGF (Dissen y col., 2000; Lara y col., 2000), y de la actividad de la fibras simpáticas que llegan a los ovarios, sin embargo, se requiere que en nuestro modelo experimental se determine si produce el incremento en la concentración de noradrenalina ovárica.

En la rata adulta el VE induce cambios en la dinámica del crecimiento folicular desde los primeros 5 días, a los 15 días hay un incremento en la atresia folicular y a los 30 días una disminución en el número de cuerpos lúteos, es hasta los 60 días después de la inyección de VE que se observa en los ovario la presencia de quistes ováricos y ausencia de cuerpos lúteos (Brawer y col., 1986; Lara y col, 2000).

La formación de quistes foliculares, alteraciones en la foliculogénesis y el incremento de la apoptosis, están relacionadas con el aumento en la esteroidogénesis, disminución en la expresión de receptores a estrógenos (ER- β) y aumento de la concentración de noradrenalina ovárica (Acuña, 2009). En nuestro estudio se pudo observar que después de 30 días de haber administrado el fármaco ya hay formación de quistes, posiblemente como respuesta del aumento de noradrenalina inducido por el VE.

En la rata prepúber, la administración intraperitoneal de una dosis de VE bloquea la ovulación que he incrementa la concentración de estradiol (Rosa-E-Silva y col., 2003; Shulster y col., 1984). Cuando administramos el fármaco en la bursa ovárica no se modifica la respuesta ovulatoria con respecto a lo observado en los animales inyectados con el Vh.

Discusión de resultados

Nuestro grupo de trabajo mostró que la administración intraperitoneal de VE en ratas prepuberales es capaz de bloquear la ovulación aun cuando no se modifica la concentración plasmática de FSH y LH (Morales y col., 2010). Por otro lado, se ha demostrado que en ratas adultas se empieza a restablecer las concentraciones de gonadotropinas a las 8 (Brawer y col., 1986) ó 22 semanas (Schulster y col., 1984) posteriores a la inyección del fármaco. Esto nos indica que la falta de ovulación en un animal con SOPQ no está relacionada directamente con las concentraciones de gonadotropinas. En la histología de los ovarios de animales tratados con VE en la bursa ovárica, se puede observar desarrollo folicular y cuerpos lúteos, lo que confirma que se produjo la ovulación, a pesar de que se da la formación de quistes foliculares. Estos resultados nos llevan a pensar que la formación de quistes y el bloqueo de la ovulación se llevan en diferentes tiempos. Dado que en el presente estudio, el período entre la administración del VE y la autopsia fue de 30 días, es posible que se requiera de mayor tiempo para observar el bloqueo de la ovulación. A este respecto, Rosas (2006) mostró que la eficacia del VE para bloquear la ovulación depende de la edad en la que se administra el fármaco y del período post-tratamiento.

Al analizar la respuesta ovulatoria entre el ovario tratado en la bursa izquierda y el intacto observamos que es mayor la respuesta por la gónada intacta, esta asimetría no se presenta cuando el fármaco se administra en la bursa derecha. Al momento no contamos con una explicación a este hecho, sin embargo, ya se ha reportado que en la rata adulta intacta la ovulación es asimétrica, dado que el ovario izquierdo ovula más ovocitos que el derecho (Domínguez y col., 2003).

En la rata hembra, la canalización de la vagina es el resultado de la acción de los estrógenos sobre el tejido vaginal (Ojeda y col., 1994). La administración intraperitoneal de VE resulta en el adelanto de la pubertad (Shulster y col., 1984;

Discusión de resultados

Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003; Morales y col., 2010). Cuando administramos el VE en la bursa ovárica izquierda de igual manera se presenta adelanto en la pubertad, acompañado de un incremento en la concentración sérica de estradiol, posiblemente responsable del adelanto de la pubertad en estos animales. Esta interpretación nos ayuda a explicar el hecho de que si la administración del fármaco en la bursa derecha no modificó la concentración sérica de estradiol entonces el inicio de la pubertad fue normal.

En el presente estudio se observó que la administración de VE en la bursa ovárica izquierda o derecha a ratas prepúberes no modifica la concentración plasmática de progesterona. En la rata la administración intraperitoneal de VE puede aumentar la concentración de progesterona (Stener-Victorin y col., 2005) o no modificarla (Rosa-E-Silva y col., 2003; Barria y col., 2003; Morales, 2010), aún cuando en la pared folicular incrementa la actividad de la 3β -HSD, enzima encargada de transformar la pregnenolona a progesterona (Rosa-E-Silva y col., 2003). El hecho de que el VE en la bursa de ovario no modifica la concentración de progesterona posiblemente nos indique que los cuerpos lúteos del ovario tratado como del intacto son funcionales.

La inervación simpática que llega al ovario regula la esteroidogénesis (Weiss y col., 1982., Forneris y Aguado, 2002). En nuestro modelo el VE inyectado en la Bursa ovárica aumenta la concentración sérica de estradiol cuando el ovario tratado es el izquierdo y no cambia cuando se administra en el derecho. Esta respuesta asimétrica por parte de los ovarios podría ser explicada a partir de un número diferente de fibras que recibe cada ovario (Klein y Burden, 1988) o bien, que el número de fibras que conectan al SNC con los ovarios es diferente. En apoyo a esta última interpretación, se ha mostrado que al administrar trazadores virales retrógrados en el ovario izquierdo hay un mayor número de conexiones sinápticas entre el cerebro y la gónada, que con el ovario derecho (Toth y col., 2007).

Discusión de resultados

En el modelo del animal con SOPQ se ha observado que hay modificaciones del ciclo estral, teniendo como resultado periodos prolongados de una misma etapa del ciclo ya sea en estro constante (Brawer y col., 1986; Barria y col., 1993) proestro (Sotomayor- Zárate y col., 2008) o diestro (Mannerás y col., 2007). En el presente estudio, la administración de VE en la Bursa ovárica izquierda resultó en una modificación del patrón del ciclo estral, caracterizado por una mayor número de días en diestro. Algunos autores han explicado la aciclicidad vaginal como resultado de la alteración en la secreción de gonadotropinas (Hemmings y col., 1986; Rosa-E-Silva y col., 2003) o en la relación LH: FSH (Rosa-E-Silva y col., 2003). Aunque nuestro grupo de investigación mostró que la alteración del ciclo estral no está en función de la concentración de gonadotropinas (Morales y col., 2010).

La administración de VE en la bursa ovárica izquierda resultó en aumento del peso corporal, posiblemente en respuesta al aumento en la concentración sérica de estradiol. Esta idea se ve apoyada por el hecho de que en mujeres que toman anticonceptivos, hechos a base de estrógenos, incrementan su peso corporal por la acumulación de líquido (Higashida, 1996).

En la rata adulta la administración de VE de forma intraperitoneal disminuye el peso de los ovarios (Brawer y col., 1986; Farookhi y col., 1985). En nuestro modelo se observó que la administración de VE en la bursa izquierda disminuye el peso del ovario sin tratamiento (derecho), al momento no tenemos una explicación a este hecho, ya que la histología del ovario intacto mostró la presencia de folículos y cuerpos lúteos, semejante a lo que observamos cuando el ovario intacto fue el izquierdo.

Discusión de resultados

La inyección en bursa de VE disminuye la masa adrenal cuando el ovario tratado es el izquierdo, efecto que no se observa cuando se administra en el ovario derecho. Estos resultados nuevamente ponen de manifiesto que la sensibilidad de los ovarios al VE es diferente, donde al parecer es la gónada izquierda la que presenta mayor sensibilidad al fármaco. El hecho de que se observen cambios en las adrenales podría ser explicado por el circuito neural que se establece entre los ovarios y las adrenales a través del ganglio celíaco (Gerendai y col., 2009). Así, las fibras que van a llegar al ovario tienen su soma en el ganglio celíaco y de éste surgen fibras vagales que van hacia las adrenales (Berthoud y Powley, 1993). No podemos descartar la posibilidad de un efecto a nivel central, a este respecto se ha observado que en ratas adultas la administración de trazadores virales retrógrados en el ovario y la adrenal izquierda producen un doble marcaje en ciertas áreas del SNC, lo que hablaría de una regulación neural de la función de ambas glándulas (Toth y col., 2008).

En el útero se encuentran receptores a estrógenos que varían a lo largo de la vida de animal (Chávez y col., 2002) y en la fase peripuberal de la rata el útero es más sensible a los estrógenos (Ojeda y Urbansky, 1994). Por lo que la variación de la actividad de los estrógenos sobre el útero puede provocar cambios en el peso del órgano. De los resultados del presente estudio se desprende la idea de que el peso del útero no depende únicamente de la concentración de estradiol, ya que cuando administramos el VE en la bursa izquierda incrementó la concentración de la hormona, sin embargo, el peso del tejido fue menor. Esto podría indicar que, disminuyó el número de receptores a estradiol, o bien, la sensibilidad de los mismos fue menor.

Discusión de resultados

Análisis de los efectos de la sección unilateral del NOS en la hembra con SOPQ.

En nuestro modelo de animal con SOPQ los efectos de la sección unilateral del NOS dependen del ovario tratado y del nervio seccionado.

En el modelo del animal con SOPQ la falta de ovulación se ha atribuido a una mayor actividad de las fibras simpáticas que llegan al ovario por medio del NOS. Por lo que al quitar esta información simpática que llega a los ovarios, por la sección bilateral del NOS, se restablece la ovulación (Barria y col., 1993; Rosa-E-Silva y col., 2003). Sin embargo, la sección unilateral del NOS restablece la ovulación del ovario inervado y no lo hace en el denervado aun cuando presenta una menor concentración de NA (Morales y col., 2010). Resultados que nos llevan a pensar que la respuesta del ovario inervado, se debe a una activación de otras fibras nerviosas independientes del NOS. En el presente estudio, cuando el VE fue administrado en la bursa ovárica, izquierda o derecha, y además se realizó la sección ipsilateral o contralateral del NOS los ovarios ovularon de manera semejante a lo observado en los grupos con VE pero con el NOS intacto, y ya no se observan los quistes foliculares. Dado que en nuestro modelo experimental transcurrieron 30 días entre la administración del VE y la autopsia pensamos que se necesita más tiempo para determinar que papel juega el NOS en la ovulación, ya que el VE no fue capaz de bloquear totalmente la ovulación.

En nuestro estudio la sección ipsilateral o contralateral del NOS evitó la formación de quistes foliculares, en los animales tratados con VE en la bursa ovárica, el hecho de que con la sección ipsilateral del NOS se evita la formación de quistes nos indica que la inervación juega un papel estimulante en el desarrollo del

Discusión de resultados

SOPQ. Por otra parte, ya que cuando se realiza la denervación contralateral al ovario tratado con el VE y no hay formación de quistes sugerimos que existe una comunicación entre ambos ovarios. A ese respecto ya se ha planteado que el NOS puede ser una vía de comunicación neuronal entre los ovarios (Chávez y Domínguez 1994; Morales y col., 1993).

Se ha planteado que la esteroidogénesis ovárica se encuentra bajo un control neural. Así la estimulación de los receptores beta adrenérgicos resulta en un incremento en la concentración de progesterona, mientras que disminuye si se estimula los receptores alfa adrenérgicos (Weiss y col., 1982).

En la rata la perforación dorsal o ventral del peritoneo resulta en la alteración de la secreción de hormonas esteroides (Cruz y col., 2006; Flores y col., 2006; 2008), lo que ha sido explicado por una vía de comunicación entre el peritoneo y el ovario (Barco y col., 2003). Al igual a lo ya reportado, en el presente estudio la operación simulada en animales tratados con VE alteró la secreción de hormonas esteroides, lo que apoyaría la idea de la existencia de señales neurales que llegan del peritoneo al ovario.

En estudios realizados en nuestro laboratorio se ha mostrado que en el modelo del animal con SOPQ el efecto del NOS en la secreción de progesterona juega un papel asimétrico, ya que el NOS izquierdo inhibe la secreción, mientras que en NOS derecho la estimula (Morales y col., 2010). La sección ipsilateral o contralateral al ovario tratado con VE en la bursa ovárica no modifica la concentración de progesterona. Estas diferencias podría deberse a que en el animal tratado con VE en la bursa ovárica, la secreción de progesterona puede ser de origen adrenal. En apoyo a esta idea se ha mostrado que en ratas adultas la principal fuente de progesterona durante las etapas de diestro 2, proestro y estro proviene de las adrenales (Barco y col., 2003; Flores y col., 2005).

Discusión de resultados

En ratas con SOPQ, inducido por la inyección intraperitoneal de VE, la sección bilateral del NOS normaliza los niveles de hormonas esteroides ováricas (Rosa-E-Silva y col., 2003; Lara y col., 1993). Estudios previos de nuestro laboratorio muestran que en la rata con SOPQ, la sección unilateral o bilateral del NOS resulta en una menor concentración de estradiol (Morales y col., 2010). Por lo que se sugiere que la información que llega por el NOS juega un papel estimulante en la regulación de la secreción de estradiol. Estos resultados difieren parcialmente a los obtenidos en este estudio ya que en animales tratados con VE en la Bursa ovárica izquierda, la sección del NOS izquierdo (ipsilateral) disminuye la concentración de estradiol, mientras que la sección del NOS derecho (contralateral) la aumenta. Por lo que el NOS izquierdo actúa de manera estimulante en la regulación de la secreción de estradiol, mientras que el NOS derecho la inhibe.

En los animales tratados con VE en la bursa ovárica la sección del NOS izquierdo o derecho pueden disminuir el peso de los ovarios. En la rata sin síndrome, la sección uni o bilateral del NOS incrementa el peso de los ovarios lo que es explicado por la hiperemia que sufre la gónada (Chávez y col., 1994). Eso nos indica que el NOS juega un papel diferente en un animal normal y el que tiene SOPQ.

En la rata tratada con VE en la bursa ovárica, la sección del NOS izquierdo o derecho incremento la masa adrenal. Como ya se ha mencionado anteriormente, existe una conexión entre la inervación que llega al ovario y a las adrenales a través del ganglio celíaco (Gerendai y col., 2009). Por lo tanto, es posible que la alteración en la masa adrenal se deba a la sección del NOS.

Discusión de resultados

Con estos resultados podemos sugerir que en la rata peripuberal tratada con VE en la bursa ovárica, el NOS regula de manera estimulante la formación de quistes foliculares, tiene un papel asimétrico en la secreción de estradiol, y no modificó la secreción de progesterona ni la ovulación.

MODELO

En la figura 28 se puede observar que el ovario izquierdo es mas sensible al VE ya que se forman un mayor número de quiste que cuando se inyecta el VE en la bursa derecha. En los grupos tratados con VE en la bursa ovárica izquierda hay un retraso en la pubertad que se acompaña de aumento en la concetracion de estradiol. El fármaco no parece tener efecto sobre la ovulación ni la concentración de progesterona. Al igual que cuando de inyecta VE de estradiol intraperitonealmente, el mecanismo que se plantea para desarrollar el síndrome es que hay un incremento en la concentración de NGF en el ovario lo que provoca al nivel del ganglio celíaco el aumento de la actividad de la tirosina hidroxilasa y como consecuencia se da el aumento de NA en el ovario.

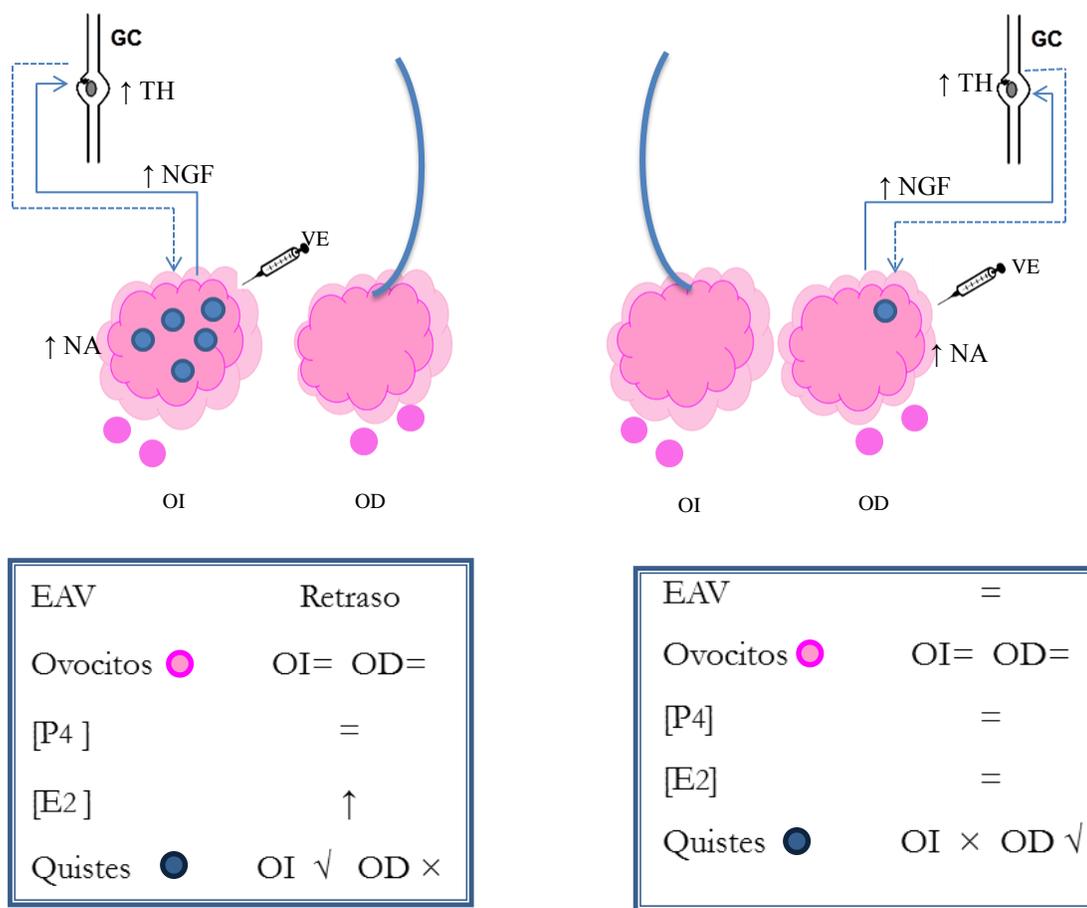


Figura 28. En este modelo se resumen los efectos del VE inyectado en la bursa ovárica izquierda o derecha en ratas peripuberales de 30 días de edad sobre la edad de apertura vagina (EAV); número de ovocitos liberados; concentración de progesterona (P₄) y estradiol (E₂) y la formación de quistes. La flecha (↑) indica aumento en los parámetros evaluados y el signo (=) indica que no se presentaron cambios significativos. Ganglio celíaco (GC); noradrenalina (NA); tiroxina hidroxilasa (TH); factor de crecimiento neural (NGF); ovario izquierdo (OI); ovario derecho(OD) y valerato de estradiol (VE)

En la figura 29 se puede observar que con la sección ipsilateral del NOS en ratas tratadas con VE en la bursa ovárica se evita la formación de quistes foliculares. La administración en el ovario izquierdo se acompaña por una disminución en la concentración de E_2 . La sección del NOS no parece tener efecto sobre la ovulación ni la concentración de P_4 . Con estos resultados se puede plantear que el NOS tiene un efecto estimulante en la formación de los quistes.

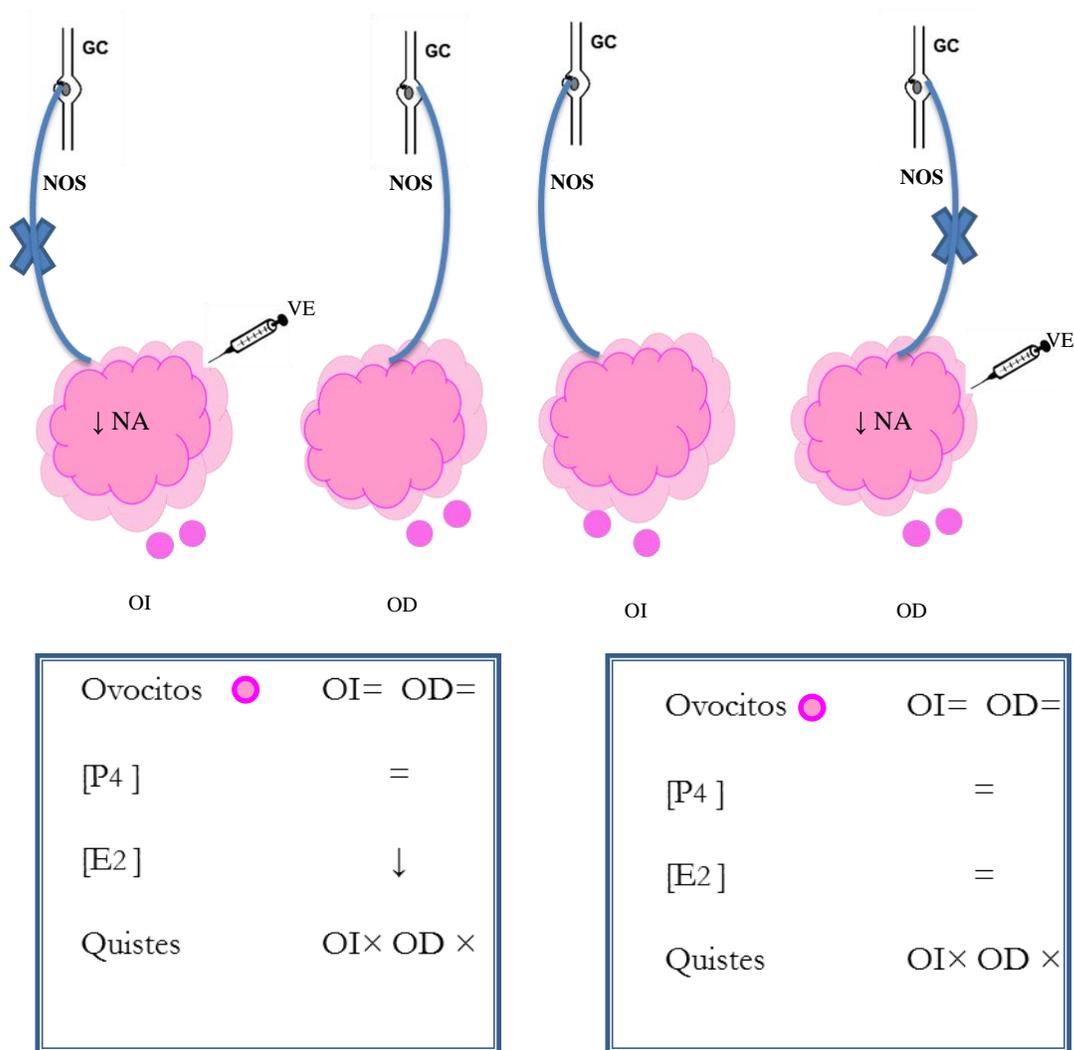


Figura 29. En este modelo se resumen los efectos de la sección ipsilateral del NOS en ratas peripuberales tratadas con VE sobre el número de ovocitos liberados, concentración de progesterona (P₄) y estradiol (E₂) y la formación de quistes. La flecha (↑) indica aumento en los parámetros evaluados y el signo (=) indica que no se presentaron cambios significativos. Ovario izquierdo (OI); ovario derecho (OD); valerato de estradiol (VE); noradrenalina (NA) y nervio ovárico superior (NOS).

En la figura 30 se puede observar que la sección contralateral del NOS evitó la formación de quistes en las ratas tratadas con VE en la bursa ovárica derecha e izquierda, aunque se mantiene alta la concentración de E_2 en esta última. Con estos resultados se puede plantear que hay una vía de comunicación entre ambos ovarios.

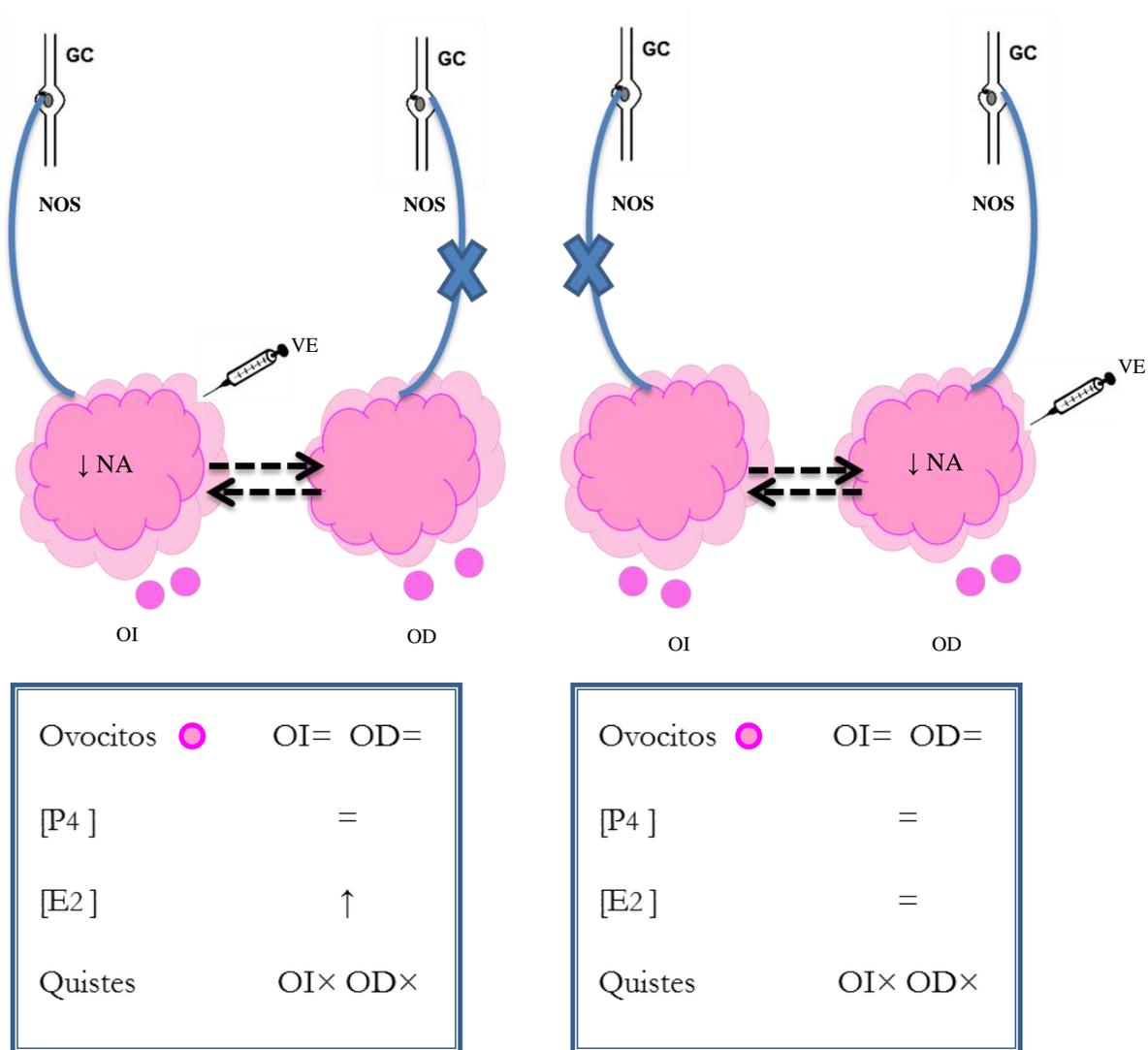


Figura 30. En este modelo se resumen los efectos de la sección contralateral del NOS en ratas peripuberales tratadas con VE sobre el número de ovocitos liberados, concentración de progesterona (P₄) y estradiol (E₂) y la formación de quistes. La flecha (↑) indica aumento en los parámetros evaluados y el signo (=) indica que no se presentaron cambios significativos. Ovario izquierdo (OI); ovario derecho (OD); valerato de estradiol (VE); noradrenalina (NA) y nervio ovárico superior (NOS).

CONCLUSIONES

- El VE administrado en la bursa ovárica induce la formación de quistes foliculares, pero no bloquea la ovulación.
- La administración de valerato de estradiol en la bursa ovárica resultó en, una respuesta asimétrica por parte de los ovarios, donde el ovario izquierdo es más sensible al fármaco.
- El VE administrado en la bursa ovárica izquierda, aumenta la secreción de estradiol y no modifica la secreción de progesterona.
- En la rata inyectada con VE en la bursa ovárica izquierda, el NOS izquierdo modula de manera estimulante la secreción de estradiol. Efecto que desaparece si el ovario tratado es el derecho.
- En la rata inyectada con VE en la bursa ovárica derecha, el NOS derecho parece no participar en la secreción de estradiol, mientras que si el fármaco se administra en el ovario izquierdo el NOS derecho la inhibe.
- En la rata con SOPQ, la información que transcurre por el NOS no participa en la secreción de progesterona.
- La sección ipsilateral y contralateral del NOS evita la formación de quistes foliculares en el ovario tratado con VE en la bursa ovárica y no tiene efecto sobre la ovulación.

REFERENCIAS

- ☞ Abdel G.A, Khatim M.S, Mowafi R.S, Alzaid H.G.N, Sham R.W. (1991) “Polycystic ovaries: do these represent a specific endocrinopathy”. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 98: 300-305.
- ☞ Acuña E, Fornes R, Fernandois D, Maritza P.G, Greiner M, Lara E.H, Paredes H.A. (2009) “Increases in norepinephina release and ovarian cyst formation during ageinh in the rat”. *Biomedical Central*. 7:64.
- ☞ Advis J.P, Andrew W.W, Ojeda S.R. (1979) “Changes in ovarian steroidal and prostaglandin e responsiveness to gonadotropins during the onset of puberty in the female rat”. *Endocrinology*. 104: 653-658.
- ☞ Aguado L.I, Ojeda S.R. (1984a) “Ovarian adrenergic nerves play a role maintaining preovulatory steroid secretion”. *Endocrinology*. 114: 1944-1946.
- ☞ Aguado L.I, Ojeda S.R. (1984b) “Prepuberal ovarian function is finely regulated by direct adrenergic influences. Role of noradrenergic innervation”. *Endocrinology*. 114: 1845-1853.
- ☞ Andrews W.W, Ojeda S.R. (1977). “On the feedback actions of estrogen on gonadotropins and prolactin release in infantile female rats”. *Endocrinology*. 109: 1404-1413.

Referencias

- ∞ Aubert M.L, Begeot M, Winiger B.P, Morel G, Sizonenko P.C, Dubois P.M. (1985) “Ontogeny of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone (GnRH) and pituitary GnRH receptors in fetal and neonatal rats”. *Endocrinology*. 116: 1565-1576.
- ∞ Baljet B, Drukker J. (1980) “The Extrinsic Innervation of the Pelvic Organs in the Female Rat”. *Acta Anatomica*. 107: 241-267.
- ∞ Barco A, Flores A, Chavira R, Matsumura P.D, Domínguez R, Cruz M.E. (2003) “Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormonal secretion by the *in situ* ovary”. *Endocrinology*. 21:(3) 209-215.
- ∞ Barria A, Leyton V, Ojeda S.R, Lara H.E. (1993) “Ovarian steroidal response to gonadotropins and β -adrenergic stimulation is enhanced in polycystic ovary syndrome: role of sympathetic innervation”. *Endocrinology*. 133: 2696-2703.
- ∞ Becú-Villalobos D, Lacau-Mengido M. (1990) “Control hormonal del desarrollo puberal en la rata hembra”. *Acta Physiology Pharmacology Latinoamerican*. 40: 1-17.
- ∞ Bergman R.A, Afifi A.K, Heidger P.M. (1998) “Sistema reproductor femenino”. *Histología*. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 16: 307-320.
- ∞ Berthoud H.R, Powley T.L, (1993) “Characterization of vagal innervation to the rat celiac, Suprarenal and mesenteric ganglia” *Journal of the Autonomic Nervous System*. 42:153-170.

Referencias

- ☞ Brawer J.R, Munoz M, Farookhi R. (1986) “Development of the polycystic ovarian condition (PCO) in the estradiol valerate-treated rat”. *Biology Reproduction*. 35: 647-655.
- ☞ Brawer J.R, Naftolin F, Martin J, Sonnenschein C. (1978) “Effects of a single injection of estradiol valerate on the hypothalamic arcuate nucleus and on reproductive function in the female rat”. *Endocrinology*. 107: 274-279.
- ☞ Burden H.W, Leonard M.J, Smith C, Lawrence J. (1983) “The sensory innervation of the ovary: A horseradish peroxidase study in the rat”. *The Anatomical Record*. 207: 623-627.
- ☞ Castro F.L, Pombo M. (2006) “Pubertad precoz”. Unidad de endocrinología pediátrica, crecimiento y adolescencia. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario. *Endocrinología*. 4(2):79-87.
- ☞ Carretero C.M. (2004) “Valerato de estradiol + dienogest”. **OFFARM**. Vol. 23: 154-156
- ☞ Chávez R, Crutcher K, Viettro L, Richeri A, Coirilo N, Burnstock G, Cowen T, y Brauer M. (2002) “Differential effects of oestrogen on developing and mature uterine sympathetic nerves”. *Cell and Tissue Research*. 308:61-73.
- ☞ Chávez R, Domínguez R. (1994) “Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of compensatory ovarian hypertrophy: the effects of its section performed on each day of the oestrous cycle”. *Journal of Endocrinology*. 140: 197-201.

Referencias

- ☞ Cormack P, David H. (1988) *Histología de HAM*. Ed. Harla. 9º edición México DF: pp. 762 – 775.
- ☞ Cruz E, Flores A, Palafox M.T, Domínguez R. (2006) “The role of the muscarinic system in regulating estradiol secretion varies during the estrous cycle: the hemiovariectomized rat model”. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 4:43.
- ☞ Devine P.J, Payne C.M, McCuskey M.K, Hoyer P.B. (2000) “Ultrastructural evaluation of oocytes during atresia in rat ovarian follicles”. *Biology of Reproduction*. 63, 1245-1252.
- ☞ Díaz C.B.N. (2004) “Bioquímica básica de las hormonas esteroideas: Biología y clínica del cáncer”. *Biocáncer*. 2: 1-22.
- ☞ Dissen G, Ojeda S.R, (1999) “Ovarian innervation”. En: Knobil E, Neill J (Eds.) *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. USA. 3: 583-589.
- ☞ Dissen G.A, Paredes A, Romero C, Dess W.L, Ojeda S. (2004) “Neural and neurotrophic control of ovarian development. in: the ovary” *Encyclopedia of Reproduction*. Academic Press. USA. pp. 3-23
- ☞ Dissen G.A, Lara H.E, Leyton V, Paredes A, Hill D.F, Costa M.E, Martínez S.A, Ojeda S.R. (2000) “Intraovarian excess of nerve growth factor increases androgen secretion and disrupts estrous cyclicity in the rat”. *Endocrinology*. 141: 1073 - 1082.

Referencias

- ☞ Döhler K.D, Whuttke W. (1974) “Serum LH, FSH, prolactin and progesterone from birth to puberty in female and male rats”. *Endocrinology*. 94: 1003-1008.
- ☞ Domínguez R, Chávez R, Cruz M. E. (1991) “La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico”. En: Domínguez, R., (Coordinador). *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Universidad Nacional Autónoma de México. Coordinación de la Investigación científica. Programa Universitario de investigación en salud. pp. 163-188.
- ☞ Domínguez R, Morales L, Cruz M.E. (2003) “Ovarian asymmetry”. *Annual Review of Biomedical Sciences*. 5:95-104.
- ☞ Dorner G. (1980). Sexual differentiation of the brain. *Vitamins and Hormones*. 38:325-334.
- ☞ Farookhi R, Hemmings R, Brawer J.R. (1985) “Unilateral ovariectomy restores ovulatory cyclicality in rats with a polycystic ovarian condition”. *Biology of Reproduction*. 32: 530-540.
- ☞ Fawcett B. (1990). *Tratado de Histología*. Interamericana. España. (Eds.) **The Physiology of Reproduction**. Raven Press. Nueva York. pp. 1699-1737.
- ☞ Feder H.H. (1981) “Estrous cyclicality in mammals” En: Adler N.T. *Neuroendocrinology of Reproduction. Physiology and Behavior*. Editorial Plenum Press. New York. pp.279-293

Referencias

- ☞ Flores A, Gallegos A.I, Velasco J, Domínguez R. (2008) “The acute effects of bilateral ovariectomy or adrenalectomy on progesterone, testosterone and estradiol serum levels depend on the surgical approach and the day of the estrous cycle when they are performed”. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 6:48.
- ☞ Flores A, Méendez G, Palafox M.T, Rodríguez O.J, Barco A.I, Chavira R, Domínguez R, Cruz M.E, (2005) “The participation of the cholinergic system in regulating progesterone secretion through the ovarian-adrenal crosstalk varies along the estrous cycle”. *Endocrine* 28:145-151.
- ☞ Flores A, Rodríguez J, Domínguez R. (2006) “The acute asymmetric effects of hemiovariectomy on testosterone secretion vary along the estrous cycle. The participation of the cholinergic system”. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 4:11.
- ☞ Forneris M.L, Aguado L.I. (2002) “Neonatal superior ovarian nerve transection disturbs the cyclic activity of the female rats”. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*. 82: 75-82.
- ☞ Foster, L.D, Ebling F.J. (1999) “Puberty, in nonprimate mammals”. En: *The Physiology of Reproduction*. Second. Edition. Knobil, E., Neill, J. (Eds). New York: Raven Press. Vol. 5. pp. 142-151.
- ☞ Freeman M.E. (1994) “The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat”. En: Knobil E, Neill J. D. (Eds.). *The Physiology of Reproduction*. Vol. 2. Eds. Raven Press. New York. pp. 615-620.

Referencias

- ∞ Ganong M.W. (1996) “Gónadas: Desarrollo y funciones del aparato reproductor”. En: *Fisiología médica*. 15ª edición. Editorial El manual moderno S.A. de C.V. México. Cap.23. pp.482- 493.
- ∞ Geneser F. (2000) “Órganos de la Reproducción”. En: *Histología sobre Bases Moleculares*. 3a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Cap. 22. pp. 613-638.
- ∞ Gennaro A.R. (1998) **Remington. Farmacia**. 19ª. Edición Tomo 2. Editorial Médica Panamericana. Argentina. pp. 1647.
- ∞ Gerendai I, Csaba Z.S, Voko Z, Csernus V. (1995) “Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions”. *The Journal Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 53:299–305.
- ∞ Gerendai I, Tóth I.E, Boldogkoi. (2009) “Recent findings on the organization of central nervous system structures involved in the innervation of endocrine glands and other organs: observations obtained by transneuronal viral double-labeling technique”. *Endocrinology*. 36:179-188.
- ∞ Gore-Langton R, Armstrong D.T. (1994) “Follicular steroidogenesis and its control”. En: *The Physiology of Reproduction*. Second Edition. Knobil E. Neill J.D. (Eds) New York: Raven Press. vol. 1. pp. 571-627
- ∞ Goridis C, Rohrer H. (2002). Specification of catecholaminergic and serotonergic neurons. *Nature Reviews. Neuroscience*. 3: 531–541.

Referencias

- ☞ Greiner M, Paredes A, Araya V, Lara H.E. (2005) “Role of Stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovarian syndrome”. *Endocrine*. 28 (3): 319-324.
- ☞ Guyton A.C., Hall J.E. (2001) “Fisiología femenina antes de la gestación y hormonas femeninas”. En: *Tratado de Fisiología Médica*. 10ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. Cap. 81. pp. 1117 - 1133.
- ☞ Hadley M.E. (2000) “*Endocrinology*”. 5a. Edición. Editorial Prentice Hall. pp. 342-346.
- ☞ Ham W.A. (1985) “Aparato reproductor femenino”. En: *Tratado de Histología*. 8ª edición. Editorial interamericana. México D.F. Cap. 26. pp. 939-953.
- ☞ Hemmings R, Farookhi R, Brawer J.R. (1983) “Pituitary and ovarian responses to luteinizing hormone releasing hormone in a rat with polycystic ovaries”. *Biology of Reproduction* 29: 239-248.
- ☞ Hernández E.R. (2001) “Foliculogénesis. maduración in vivo e in vitro de ovocitos”. *Revista Iberoamericana de Fertilidad*. Vol. 18 - nº 4.
- ☞ Higashida B. (1996) “Educación sexual” En. *Ciencias de la Salud* 3ra ed. McGraw-Hill. 367-392.
- ☞ Hoar W.S. (1978) *Fisiología General y Comparada*. Edit. Omega. Barcelona.

Referencias

- ☞ Hoyt K.L, Schmidt M.C. (2004) “Polycystic ovary (Stein-Leventhal) syndrome: etiology, complications, and treatment”. *Clinical Laboratory Science*. 17 (3): 155-163.
- ☞ Isomura G, Iwata S, Chiba M, Shimizu N. (1985) “Constitution of the Greater Splanchnic Nerve in the Rat”. *Anatomischer Anzeiger*. 159: 159-171.
- ☞ Kilen S.M, Schwartz N.B. (1999) “Estrous cycle”. En: *Encyclopedia of Reproduction*. Knobil E. y Neill J.D. (Eds.). Academic Press. USA. Vol. 2 pp.127-135.
- ☞ Klein C.M, Burden H.W. (1988) “Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary”. *Neuroscience Letters*. 85:217-222
- ☞ Lamprecht S.A, Kohen F, Ausher J, Zor U, Lindner H.R. (1976) “Hormonal stimulation of oestradiol-17 β release from the rat ovary during early postnatal development”. *Journal Endocrinology*. 68: 343-344.
- ☞ Lara H.E, Dissen G.A, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler J.L, Ojeda S.R. (2000) “An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat”. *Endocrinology*. 141: 1059-1072.
- ☞ Lara H.E, Ferruz J.I, Luza S, Bustamante D.A, Borges Y, Ojeda S.R. (1993) “Activation of ovarian sympathetic nerves in polycystic ovary syndrome”. *Endocrinology*. 133: 2690-2695.

Referencias

- ☞ Lara H.E, Hill D.F, Katz K.H, Ojeda S.R. (1990) “The gene encoding nerve growth factor is expressed in the immature rat ovary: effect of denervation and hormonal treatment”. *Endocrinology*. 126: 357-363.
- ☞ Lawrence I.E, Burden H.W. (1980) “The origin of extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary”. *The Anatomical Record* 196: 51.
- ☞ Levy N.M, Staton A.B, Koeppen M.B. (2006a) “Reproducción femenina”. En: *Fisiología*. 4ª edición. Editorial Elsevier Mosley. México D.F. Cap. 51. pp.724-746.
- ☞ Levy N.M, Staton A.B, Koeppen M.B. (2006b) “Visión general de la función reproductora”. En: *Fisiología*. 4ª edición. Editorial Elsevier Mosley. México D.F. Cap. 49. pp. 699-711.
- ☞ Li M, Zhou T, Gao Y, Zang N, Li J. (2007) “Ultrastructure and estrogen Regulation of the Lymphatic Stomata of Ovarian Bursa in Mice” *The Anatomical Record*. 290: 1195-1202.
- ☞ Linares R. (2006) “Participación del nervio ovárico superior en el desarrollo del síndrome de ovario poliquístico. La rata como modelo de estudio”. Tesis de licenciatura. UNAM. FES Zaragoza.
- ☞ Lunenfeld B, Kraiem Z, Eshkol A. (1975) “The function of the growing follicle”. *Journal Reproduction Fertility*. 45: 567-574.

Referencias

- ∞ Luza S.M, Burgos R.A, Lara H.E. (1995) “Hypothalamic changes in norepinephrine release in rats with estradiol valerate- induced polycystic ovaries”. *Biology of Reproduction*. 52: 398-404.
- ∞ Malamed S, Gibney J.A, Ojeda S.R. (1992) “Ovarian innervation develops before initiation of folliculogenesis in the Rat”. *Cell and Tissue Research*. 270: 87-93.
- ∞ Manneras L, Cajarder S, Holmang A, Seleskovic Z, Lysting T, Lonn M, Stener-Victorin E. (2007) “ A new rat exhibiting both ovarian and metabolic characteristics of polycystic ovary syndrome”. *Endocrinology* 148(8):3781-3791.
- ∞ Martin G.G, Sack M, Talbot, (1981) “Structure of bursae ovaricae surrounding the ovaries of golden hamster”, *The Anatomical Record*, 201(3):485-498.
- ∞ Mathews D, Andrews, W.W, Parker R. Jr, Ojeda S.R. (1987) “A role for aromatizable androgens in female puberty”. *Biology of Reproduction*. 36: 836-843.
- ∞ Meijs - Roelofs, H.M.A, Kramer P, Sander H.J. (1983). “Changes in serum concentrations of luteinizing hormone in the female rat approaching puberty”. *Journal Endocrinology*. 98: 241-249.
- ∞ Melrose P. (1987) “Steroid effects on the secretory modalities of gonadotropin-releasing hormone”. *Endocrinology*. 121: 190-199.

Referencias

- ☞ Merino P, Schulin C, Codner E, (2009) “Diagnóstico del síndrome de ovario poliquístico: nuevos fenotipos, nuevas incógnitas.” *Revista Médica de Chile*.137: 1071-1080.
- ☞ Morales L, Chávez R, Ayala M.E, Domínguez R. (1998) “Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in prepubertad rats on the ovulatory response to gonadotropin administration”. *Journal of Endocrinology*. 158, 213-219.
- ☞ Morales L, Chávez R, Domínguez R. (1993) “Participation of the superior ovarian nerve in the regulation of ovulation in the prepubertal rat: differential effects of unilateral and bilateral section of the nerve”. *Medical Science Research*. 21: 15-17.
- ☞ Morales L, Linares R, Rosas G, Morán C, Chavira R, Cárdenas M, Domínguez R. (2010) “Unilateral sectioning of superior ovarian nerve of rats whit Polycystic ovarian syndrome restores ovulation in the innervated ovary”. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 8:99.
- ☞ Morán C, Morales L, Quiróz U, Domínguez R. (2000) “Effects of unilateral or bilateral superior ovarian nerve section in infantile rats on follicular growth”. *Journal of Endocrinology*. 166: 205-211.
- ☞ Morán V.C. (2006) “Síndrome de ovario poliquístico”. En: Delgado V.J., Fenández C.C. *Ginecología y Reproducción Humana* la edición colegio de mexicano de especialistas en ginecología y obstetricia A.C. México. Artículo 35 pp. 313-318.

Referencias

- ∞ Ojeda S.R, Urbanski H.F. (1994) “Puberty in the rat”. En: Knobil E, Neill J.M. The Physiology of Reproduction. 2a edición. (Eds.) **Raven Press. New York.** vol. 2 pp. 363-382.
- ∞ Ojeda S.R, Andrews W.W, Advis J.P, White S.S. (1980) “Recent advances in the endocrinology of puberty”. **Endocrine Reviews**, 1:228-257.
- ∞ Oliver R.H, Chen G.D, Yeh J. (1999) “Follicular atresia”. En: **The Physiology of Reproduction**. Second. Edition. Knobil, E., Nelly, J. (Eds). New York: Raven Press. Vol. 2. pp. 373-375.
- ∞ Peluffo M. (2002) “Efectos de gonadotrofinas y un análogo de la hormona liberadora”. Tesina de licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad de Belgrano, Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- ∞ Peter H. (1970) “Some aspects of early follicular development en: ovarian follicular development and function”. Midgley, A.R., Sadler, W.A., Eds. (**Raven Prees, Nueva York**), pp. 1-3.
- ∞ Rajah R, Hirshfield A.N. (1991) “The changing architecture of the rat ovary during the immediate postpartum period: a three dimensional (3D) reconstruction”. **Biology Reproduction**. 44-152.
- ∞ Raynaud J.P. (1973) “Influence of rat estradiol binding plasma protein (EBP) on uterotrophic activity”. **Steroids**, 21: 249-258.

Referencias

- ∞ 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”. *Endocrinology*. 144: 4289-4297.
- ∞ Rosales T.A.M, Guzmán S.G. (2008) Apoptosis en la atresia folicular y la regresión del cuerpo lúteo. *Revisión. Téc. Pecu. Méx.* 46: 159-182.
- ∞ Rosas G. (2006) “Efecto de la inducción del síndrome del ovario poliquístico en la rata infantil, sobre la dinámica del crecimiento folicular y la secreción de hormonas esteroides”. *Tesis de Licenciatura*. UNAM. FES Zaragoza.
- ∞ Ross M.H, Gordon I.K, Wojciech P. (2005). Histología: texto y atlas a color con biología celular y molecular. 4ª ed. 1ª reimp. *Médica Panamericana*. Buenos Aires, Argentina.
- ∞ Ruiz D.F. (1988). Fundamentos de embriología y fisiología de la *Reproducción*. Ed. Universidad Autónoma de México. México DF. pp. 81-103.
- ∞ Sánchez Criado J.E. (1999) “Fisiología del ovario”. En: Tresguerres J.A. (Ed.) *Fisiología Humana*. 2ª edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. Cap. 75. pp. 1020-1032.
- ∞ Schulster A, Farookhi R, Brawer J.R. (1984) “Polycystic ovarian condition in estradiol valerate-treated rats: spontaneous changes in characteristics endocrine features”. *Biology of Reproduction*. 31: 587-593.

Referencias

- ☞ Selstam G, Norjavaara E, Tegenfelt T, Lundberg S, Sandstrom C, Persson S. (1985) “Partial denervation of the ovaries by transection of the suspensory ligament does not inhibit ovulation in rats treated with pregnant mare serum gonadotropin”. *Anatomical Record*. 213: 392-395.
- ☞ Sotomayor-Zárate 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”. *Biology of Reproduction*. 78:673-680.
- ☞ Stener-Victorin E, Ploj K, Larsson B.M, Holmäng A. (2005) “Rats with steroid-induced polycystic ovaries develop hypertension and Increased sympathetic nervous system activity”. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 3: 44.
- ☞ Taylor A.E. (1998) “Polycystic ovary syndrome”. *Endocrinology Metabolism Clinics of North America*; 27: 877-902.
- ☞ Tóth I.E, Wiesel O, Boldogkoi Z, Bálint K, Tapaszi Z. Gerendai I. (2007) “Predominance of supraspinal innervation of the left ovary”. *Microscopy Research and Technique*. 70:710-718.
- ☞ Tóth I.E, Wiesel O, Boldogkoi Z, Halász B, Gerendai I. (2008) “Transneuronal retrograde viral labeling in the brain stem and hypothalamus is more intense from the left than right adrenal gland”. *Microscopy Research and Technique*. 71:503-509.
- ☞ Tsilchorozidou T, Overton C, Conway G.S. (2004) “The pathophysiology of polycystic ovary syndrome”. *Clinical Endocrinology*. 60:1-17.

Referencias

- ☞ Uilenbroek J.T, Van der Linder R. (1983) “Changes in gonadotrophin binding to rat ovaries during sexual maturation”. *Act Endocrinology*. 103: 413-419.
- ☞ Vanderhyden B.C, Rouleau A, Armstrong D.T. (1986) “Effect of removal of the ovarian bursa of the rat on infundibular retrieval and subsequent development of ovulated oocytes”, *Journal of Reproduction and Fertility*, 77:393-399.
- ☞ Van Voorhis B.J. (1999). “Follicular development”. En: *The Physiology of Reproduction*. Second. Edition. Knobil E., Neill J. (Eds). New York: Raven Press. Vol. 2. pp. 376-389.
- ☞ Vidal P.A, Tuñoz T.M, Escobar F.J. (1991) “Nuevas tendencias en la definición y criterios diagnóstico del síndrome de ovario poliquístico”. *Medicina Clínica*. 1993; 100:389-393.
- ☞ Weiss G.K, Dail W.G, Ratner A. (1982) “Evidence for direct neural control of ovarian steroidogenesis in rats”. *Journal of Reproduction and Fertility*. 65: 507-511.
- ☞ Williams L.C, Stancel M. G. (2006) “Estrógenos y progestágenos” En: *Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Bruton L.L, Lazo S. J, Parker L.K., d. 11^a. Eds. Mc Graw-Hill. pp. 1497-1517.
- ☞ Wylie S.N, Roche P.J, Gibson W.R. (1985) “Ovulation after sympathetic denervation of the rat ovary produced by freezing its nerve supply”. *Journal of Reproduction and Fertility* 213: 369-372.

Referencias

- ∞ Yeh J, Adashi Y.E. (2001) “El ciclo ovárico”. En: Yen S.S.C, Jaffe R.B. (Eds.) *Endocrinología de la Reproducción: fisiología, fisiopatología y manejo clínico*. 4ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. Cap. 6. pp. 164-193.
- ∞ Yen S.S.C. (2001) “Síndrome de ovario poliquístico” (Anovulación crónica hiperandrogénica). En: Yen S.S.C, Jaffe R.B. (Eds.) *Endocrinología de la Reproducción: Fisiología, fisiopatología y manejo clínico*. 4ª edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina. Cap. 17. pp. 465-501.