



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE BIOLOGÍA**

**RESPUESTA OVULATORIA A LA DENERVACIÓN VAGAL Y
OVARIECTOMÍA UNILATERAL A LAS 17:00 H EN CADA
ETAPA DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA ADULTA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

B I Ó L O G A

P R E S E N T A:

DIANA PAMELA BENÍTEZ JIMÉNEZ



**DIRECTORA DE TESIS
M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez**

Investigación realizada gracias al programa
UNAM-DGAPA-PAPIIT IN215513

México, D.F. Mayo 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES “ZARAGOZA”

CARRERA DE BIOLOGÍA

**RESPUESTA OVULATORIA A LA DENERVACIÓN VAGAL Y
OVARIECTOMÍA UNILATERAL A LAS 17:00 H EN CADA
ETAPA DEL CICLO ESTRAL DE LA RATA ADULTA**

Tesis presentada por: Diana Pamela Benítez Jiménez

Directora de tesis: M. en IBSH. Angélica Flores Ramírez

**Realizada en el Laboratorio de Biología del Desarrollo de la Unidad de
Investigación en Biología de la Reproducción**

**Investigación realizada gracias al programa
UNAM-DGAPA-PAPIIT IN215513**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
 “ZARAGOZA”
 DIRECCIÓN

**JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 PRESENTE.**

Comunico a usted que la alumna **BENÍTEZ JIMÉNEZ DIANA PAMELA**, con número de cuenta **305796174**, de la carrera de Biología se le ha fijado el día **29** del mes de **mayo** de 2013 a las **10:00 hrs.** para presentar examen profesional, el cual tendrá lugar en esta Facultad con el siguiente jurado:

- PRESIDENTE DR. ROBERTO DOMÍNGUEZ CASALÁ
- VOCAL M. en IBSH. ANGÉLICA FLORES RAMÍREZ
- SECRETARIO DRA. MARÍA ESTHER CRUZ BELTRÁN
- SUPLENTE DRA. MARÍA ELENA AYALA ESCOBAR
- SUPLENTE DR. JOSÉ LUIS MORÁN PERALES



El título de la tesis que presenta es: **Respuesta ovulatoria a la denervación vagal y ovariectomía unilateral a las 17:00 h en cada etapa del ciclo estral de la rata adulta.**


Opción de titulación: tesis.

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

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 México, D. F., a 7 de mayo de 2013.

DR. VÍCTOR MANUEL MENDOZA NÚÑEZ
 DIRECTOR
 ZARAGOZA
 DIRECCIÓN

RECIBÍ
 OFICINA DE EXÁMENES
 PROFESIONALES Y DE GRADO


 VO. BO.
 M. en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL
 JEFE DE CARRERA



A mis padres

Por eternamente creer en mí, apoyarme en todo lo necesario para concluir mis estudios y más. Son el pilar principal en mi vida.

A mis hermanas

Aun estando a kilómetros de distancia siempre han estado y estarán más cerca que nadie.

A mi abuelo

Por siempre estar presente y preocuparse todo el tiempo. Por ser la persona más fuerte en mi mundo, por simplemente ser quien es y querer ser como él en un futuro. Lo amo.

A mi Oddie

Por acompañarme en las largas jornadas nocturnas para lograr éste objetivo y ser una luz en mi vida en los momentos más oscuros de estos 16 años.



AGRADECIMIENTOS

A la M. en IBSH Angélica Flores Ramírez por su apoyo brindado en la realización de este trabajo, por la confianza que se construyó día tras día y por las enseñanzas de vida compartidas que serán fundamentales en mi futuro.

Al Dr. Roberto Domínguez Casalá, Dra. María Esther Cruz Beltrán y Dra. María Elena Ayala Escobar por haber enriquecido este estudio con su experiencia y sabiduría; gracias por el tiempo invertido y su atención en esta tesis. Por motivarme a continuar mis estudios y ser ejemplos a seguir. Y a los sinodales asignados para la revisión de esta tesis.

A mi equipo de trabajo

A Liliana por apoyarme en la parte experimental de este estudio y por haber estado presente en uno de los momentos más difíciles. Gracias.

A Camilo por apoyarme en la parte experimental de éste estudio, gracias. Y principalmente por la constancia de los últimos seis años de nuestras vidas; *algo, más allá de lo que la mente puede comprender.*

Al personal del bioterio

Por su apoyo, cuidado y mantenimiento del modelo biológico utilizado en este estudio. A la Dra. Adriana Altamirano y al Dr. Román Hernández por su atención y cordialidad en todo momento.



“Son nuestras elecciones las que muestran lo que somos, mucho más que nuestras habilidades”

Albus Dumbledore



ÍNDICE

Resumen	1
Introducción.....	2
Marco Teórico.....	3
I. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario	3
II. Ovario	7
Anatomía	7
Desarrollo folicular	8
Atresia folicular	12
Ovulación.....	13
Luteinización.....	15
Luteólisis.....	17
III. Ciclo Estral	18
IV. Asimetría ovárica	21
V. Inervación ovárica	24
Influencia de la inervación vagal sobre las funciones ováricas.....	28
Justificación	33
Hipótesis.	34
Objetivo general y específico	35
Materiales y método	36
Resultados	42
Análisis de resultados	54
Conclusiones.....	57
Anexo	58
Bibliografía.....	62
Participación en foros y congresos.....	78



RESUMEN

La regulación de las funciones de los ovarios depende de las señales nerviosas y hormonales del hipotálamo, la hipófisis, y de la inervación que reciben por medio del nervio del Plexo ovárico, el Nervio ovárico superior y el Nervio vago. Éste último está compuesto por fibras parasimpáticas y sensoriales que contienen gastrina, péptido intestinal vasoactivo, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, somatostatina y sustancia P.

Se tienen evidencias de que el Nervio vago en la mañana y noche del ciclo estral modula de manera estimulante la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación de animales intactos o con ovariectomía unilateral, lo que depende de la hora y etapa en que se realiza el estudio.

Dado que en la regulación de la secreción hormonal y neural existen diferencias vinculadas con la hora del día, en el presente estudio se analizó la participación del Nervio vago en la tarde de cada etapa del ciclo estral sobre la ovulación de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral. Para ello, ratas cíclicas adultas, mantenidas en condiciones controladas de fotoperiodo y con libre acceso al agua y al alimento, a las 17:00 h de cada etapa del ciclo estral fueron sometidas a la sección unilateral del Nervio vago, a la ovariectomía unilateral o a ambas cirugías bajo anestesia con éter. Como grupos de comparación se utilizaron animales intactos o con laparotomía ventral. Todos fueron sacrificados en el día del estro vaginal y se calculó la tasa de animales ovulantes y se cuantificó el número de ovocitos liberados.

Ninguna de las cirugías realizadas resultó en diferencias significativas en la tasa de animales ovulantes o el número de ovocitos liberados respecto a sus grupos de comparación. En los animales con ovariectomía unilateral seguida de la sección del Nervio vago en los días del Diestro-1 y Estro se presentó ovulación compensadora. Con base en los resultados, se sugiere que el Nervio vago en la tarde de cada etapa del ciclo estral no participa en los mecanismos neuroendocrinos que modulan la ovulación.



INTRODUCCIÓN

En la regulación neuroendocrina de las funciones de los ovarios, producción de óvulos capaces de ser fertilizados y secreción de hormonas, participa el hipotálamo, la hipófisis y la innervación de las gónadas (Molina, 2006; Yen *et al.*, 2001). La hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), un decapeptido hipotalámico liberado en el sistema portal hipotalámico-hipofisiario de la eminencia media en la hipófisis, actúa sobre los gonadotropos donde estimula la secreción de las gonadotropinas (hormona estimulante del folículo [FSH] y la hormona luteinizante [LH]), que al llegar a las gónadas estimularán sus funciones (Randall *et al.*, 2002).

La innervación modula la acción de las gonadotropinas sobre sus compartimientos funcionales. Los ovarios reciben fibras parasimpáticas y sensoriales que provienen del Nervio vago (Burden y Lawrence, 1977; Burden *et al.*, 1983; Mitchell, 1988) las cuales contienen gastrina, péptido intestinal vasoactivo (VIP), péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), sustancia P (SP) y somatostatina (ST) (Gilbert *et al.*, 1980; Dissen y Ojeda 1999; D'Albora y Barcia, 1996).

El Nervio vago participa en los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones de las gónadas (Burden y Lawrence, 1977; Chávez *et al.*, 1987; Cruz *et al.*, 1986); lo que depende de la etapa del ciclo estral de la rata adulta y de la hora en que se lleve a cabo su análisis (Bonilla *et al.*, 2011; Chávez *et al.*, 1989; Everardo *et al.*, 2011; Pérez *et al.*, 2010; Zárate *et al.*, 2011). Dado que en la regulación de la secreción hormonal y neural existen diferencias vinculadas con la hora del día (ritmo circádico), en el presente estudio se analizó la participación del Nervio vago a las 17:00 h de cada día del ciclo estral sobre la regulación de la ovulación en ratas adultas con o sin ovariectomía unilateral.



MARCO TEÓRICO

I. EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADA

La coordinación neuroendocrina del sistema reproductor la realizan el hipotálamo, la hipófisis y los ovarios. La participación conjunta de esos tres órganos componen un eje de regulación de las funciones reproductivas, como son la secreción de hormonas, la producción de óvulos capaces de ser fertilizados, la receptividad sexual, la provisión de las condiciones adecuadas para la implantación del embrión, el desarrollo fetal y el nacimiento sean ejecutadas exitosamente (Yen, 2001; Molina, 2006).

El hipotálamo se encuentra en el diencefalo delimitado por el quiasma óptico, los cuerpos mamilares, el tálamo y los tractos ópticos (Jácome, 2005). Para su estudio se describen tres zonas: periventricular, medial y lateral. La zona periventricular contiene la mayoría de las neuronas que se proyectan a la hipófisis y es la zona más involucrada en la regulación de la secreción de hormonas de la reproducción y la ovulación; la zona medial consiste en una serie organizada rostrocaudalmente de distintos grupos celulares que reciben información de la región límbica del telencéfalo; y las neuronas localizadas en la zona lateral están dispersas entre diversas fibras de la zona medial (Figura 1) (Simerly, 2004). A su vez, también se divide transversalmente en 3 regiones: anterior, tuberal y posterior. La zona tuberal y el núcleo paraventricular se considera la *zona hipofisotrófica* por su vínculo con la hipófisis (Yen, 2001).

Las células neurosecretoras que forman el hipotálamo son células nerviosas especializadas en sintetizar neurohormonas, a las que se les denomina hormonas *liberadoras* o *inhibidoras*. Se transportan por los axones de las neuronas hasta sus terminales en la eminencia media, donde son liberadas y transportadas por vasos portales hasta la adenohipófisis (Figura 2) (Hill *et al.*, 2006; Hickman, 2009). Una de las neurohormonas liberadas por el hipotálamo es la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) que se secreta en pequeños aumentos transitorios de



frecuencia y amplitud constante, llamados “pulsos” en respuesta a señales hormonales y neurales. Este decapeptido (piroGlu1-His2-Trp3-Ser4-Tyr5-Gly6-Leu7-Arg8-Pro9-Gly-amida10) (Conn *et al.*, 1999) es sintetizado en el área preóptica (donde existen aproximadamente 1000 neuronas secretoras en el hipotálamo), y en el área hipotalámica anterior (AHA) (Charli *et al.*, 1991; Brown, 1994).

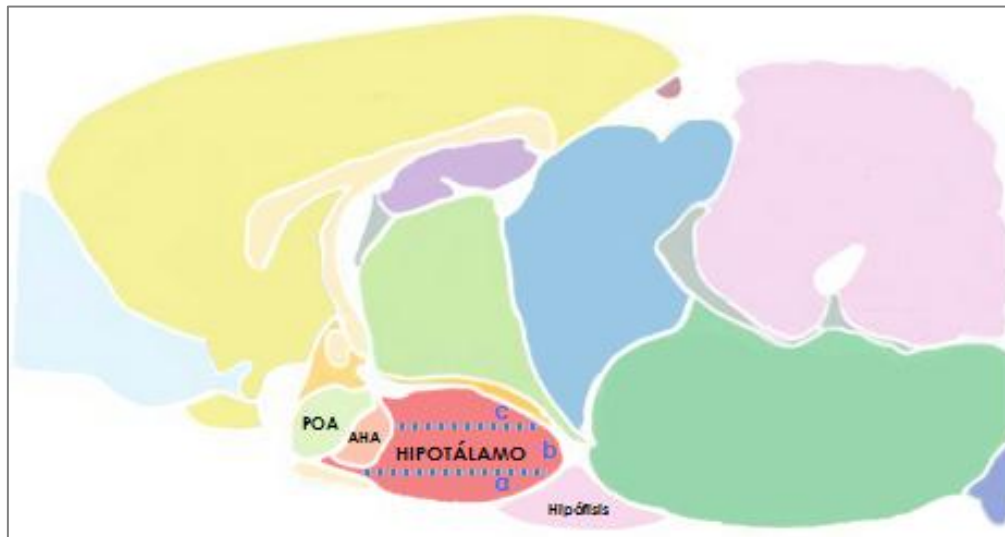


Figura 1. Sección sagital del cerebro de rata. Se muestran las tres zonas del hipotálamo: a) periventricular, b) medial, c) lateral. POA: Área Preóptica Hipotalámica, AHA: Área Hipotalámica Anterior (Tomada y modificada de Watson *et al.*, 2010).

La hipófisis, el segundo componente del eje, se encuentra debajo del hipotálamo y está unida a éste por un tallo denominado *infundíbulo*. Se divide estructural y funcionalmente en un lóbulo anterior o adenohipófisis, y un lóbulo posterior o neurohipófisis. Se le llama la glándula maestra ya que secreta hormonas que regulan la secreción de otras glándulas endocrinas (Fox, 2008).

Cuando la GnRH llega a la adenohipófisis se une a sus receptores en sus células blanco, los *gonadotropos* (Levine, 1999), y estimula la secreción de las gonadotropinas (hormona estimulante del folículo [FSH] y hormona luteinizante [LH]) (Conn *et al.*, 1999) hacia el torrente sanguíneo. En la rata la unión hormona-receptor varía lo largo del ciclo estral: en los días del Diestro la cantidad de receptores es alta y continúa así hasta el día del Proestro cuando se observa su disminución (Frager *et*



al., 1981). En la tarde de este día aumenta la secreción de FSH y LH (conocido como *pico preovulatorio*) y estimulan la ovulación que se produce en la mañana del Estro (Conn et al., 1999).

En la rata los pulsos de liberación de GnRH son dos por hora (Yen, 2001); si estos pulsos aceleran su frecuencia se agotan los receptores, no hay una pronta reposición de las señales neurales y por tanto puede haber intervalos demasiado altos de secreción de gonadotropinas e intervalos muy bajos de secreción (Levine, 1999).

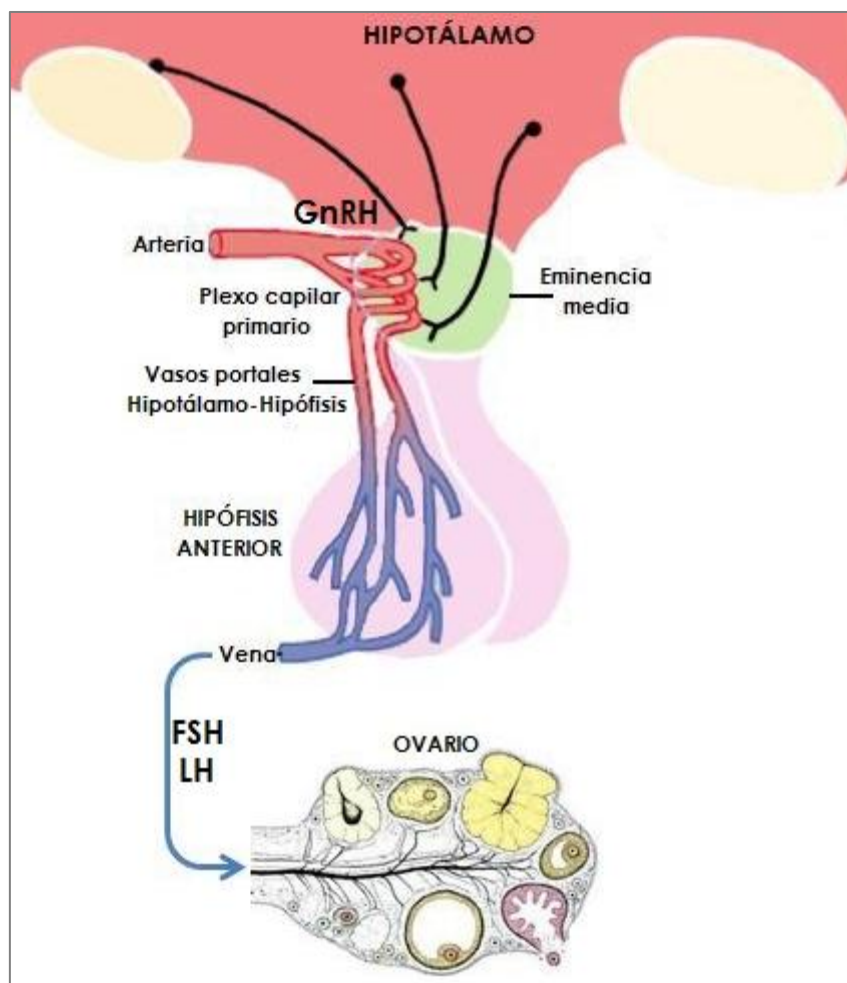


Figura 2. Eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario (Tomada y modificada de Sherwood et al., 2013)

Las gonadotropinas estimulan las funciones de los ovarios: la FSH estimula el crecimiento y desarrollo del folículo hasta la fase preovulatoria y la LH favorece la maduración final del folículo, la ovulación y la formación del cuerpo lúteo (Sairam,



1999; Huhtaniemi, 2004). La secreción de las gonadotropinas no solo depende de la adecuada secreción pulsátil de GnRH sino también de la secreción de las hormonas gonadales (esteroides, activina, inhibina y folistatina) (Counis, 1999).

En la rata, la FSH estimula la producción de IGF-I (Factor de Crecimiento parecido a la Insulina-I) por las células de la granulosa, el cual participa en la regulación de la síntesis de hormonas esteroides (Hillier, 2001) ya que estimula la aromatización de los andrógenos a estrógenos (Hillier *et al.*, 1980; Blake, 1999; Reichert, 1999), y junto con la activina la maduración del ovocito (Thomas y Vanderhyden, 2006).

La FSH estimula la síntesis de los receptores a LH en las células de la teca y de la granulosa de los folículos antrales (Schwartz, 1974). Los ovocitos de los folículos que alcanzan el estado preovulatorio temprano reanudan su división meiótica (formación del huso mitótico y separación de los cromosomas) gracias al aporte de dichas hormonas (Ayalon *et al.*, 1972; Crisp, 1992).

La LH estimula la síntesis de andrógenos por las células de la teca interna y el aumento brusco de su concentración ("pico"preovulatorio) inicia una cascada de expresión de genes que estimula cambios en la vasculatura ovárica y aumenta el flujo sanguíneo al folículo (Espey, 1980), lo que favorece la ruptura del folículo y liberación del ovocito (Hillier, 2001). Una vez que el ovocito ha sido expulsado, estimula la secreción de progesterona (P_4) e induce la luteinización del folículo. Las funciones luteales permanecen hasta el comienzo de un nuevo proceso de ovulación (Bousfield, 1999).



II. OVARIO

Anatomía

Los ovarios son órganos pares, dispuestos a uno y otro lado de la columna vertebral. Yacen contra la pared pélvica en ambos lados en la parte superior de la misma. Cada ovario está fijado a la superficie posterior del ligamento ancho del útero por un pliegue peritoneal llamado mesovario y a la pared pélvica por el ligamento suspensorio, lugar por donde transitan los vasos y nervios ováricos (Ross y Pawlina, 2008).

La capa más externa del ovario es el epitelio germinal con la túnica albugínea por debajo. En el ovario se describen tres zonas: la corteza, la médula y el hilio. La corteza, ubicada en la periferia del ovario, está recubierta por epitelio germinal y tejido conjuntivo, en ella se localizan los folículos en distintas etapas de desarrollo, los folículos atrésicos y los cuerpos lúteos. La médula consiste en una red vascular con tejido conjuntivo laxo, vasos linfáticos y nervios (Yao y Bahr, 1999).

Las gónadas son de los órganos más vascularizados gracias a la arteria ovárica y a la arteria uterina; las ramas de la arteria ovárica entran al ovario a través del hilio, del mismo modo que los nervios adrenérgicos y colinérgicos (Yao y Bahr, 1999).

El folículo ovárico constituye la unidad anatómica y funcional del ovario, y su población se encuentra en estado constante de crecimiento y maduración (Ciria, 1995). El ovario del mamífero adulto es considerado como un ensamblaje de tres unidades o compartimientos funcionales separados; el estroma (tejido conectivo), los folículos, y el cuerpo lúteo (Figura 3).

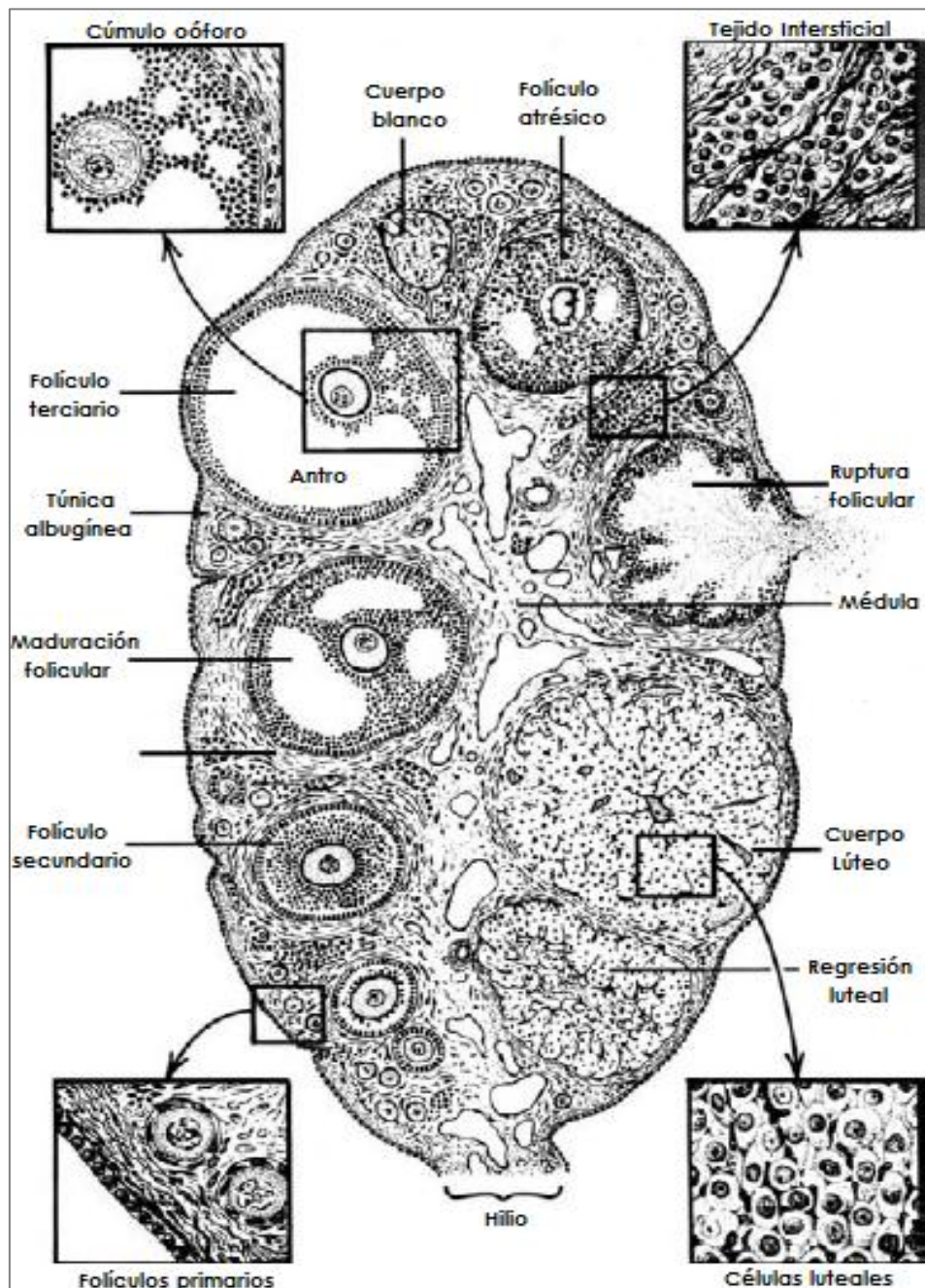


Figura 3. Esquema del ovario en mamíferos. Se muestran las fases del desarrollo folicular hasta la ovulación, formación del cuerpo lúteo y regresión del mismo (Tomada y modificada de Freeman, 2006).

Desarrollo folicular en la rata

Al culminar el crecimiento, la multiplicación y diferenciación de las células germinales primordiales éstas se transforman en ovogonias, las cuales ya no se dividen, por lo



que su número queda determinado a partir de ese momento. en los últimos días de la preñez y primeros postnatales, las ovogonias entran en la primera división meiótica, la cual se detiene en la etapa de dictioteno en la profase I, a este estado se le llama *ovocito tipo I* u *ovocito primario* (Fox, 2008).

El desarrollo folicular inicia aproximadamente 24 horas después del nacimiento. Antes de este periodo hay de 1 a 2 folículos formados, a las 48 horas de vida postnatal hay 1300 folículos por ovario (Malamed *et al.*, 1992); y en la pubertad existen cerca de 5000 folículos primarios (Crisp, 1992).

Los ovocitos primarios reanudan su división hasta poco antes de que ocurra la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991; Yao y Bahr, 1999). Cuando el ovocito (haploide) es liberado contiene solo la mitad del número de cromosomas totales de una especie, que en la rata son 21 cromosomas (Ruckebush *et al.*, 1991).

Durante el desarrollo temprano de la gónada femenina, las células germinales primordiales, situadas en el endodermo del saco vitelino, ingresan al embrión y migran por la superficie del intestino hasta situarse en la cresta gonadal, donde se diferencian en células mesenquimales que a su vez se organizan alrededor de los ovocitos, sufren de otra diferenciación y se transforman en *células foliculares*. Éstas células tienen una gran capacidad proliferativa, participan en la esteroidogénesis ovárica y crean las condiciones necesarias para el momento de la ovulación (Domínguez *et al.*, 1991; Wong y Adashi, 1999). Cuando el ovocito queda rodeado por una capa de células foliculares aplanadas rodeadas por una lámina basal se le llama *folículo primordial* (Van Voorhis, 1999a).

Los primeros folículos que inician su maduración son los que están situados más cerca del hilio en la zona medular del ovario, debido a que es la primera región en ser invadida durante la etapa feto-neonatal (Merchant, 1991; Hirshfield, 1991a; Mayerhofer *et al.*, 1997; Dissen y Ojeda, 1999); los folículos tardan alrededor de 18 días en madurar completamente (McGee, 2000).

Desde que los ovarios se forman reciben fibras nerviosas que contienen noradrenalina (NA) y péptido intestinal vasoactivo (VIP). Ambos estimulan la



formación de AMPc (Adenosin Monofosfato cíclico) en las células ováricas y receptores a FSH (Mayerhofer *et al.*, 1997). Aunque los receptores a esta gonadotropina son completamente necesarios hasta los últimos estadios del desarrollo del folículo, ellos deben de estar presentes desde que el folículo comienza su desarrollo (Campbell, 2009), ya que durante la tarde del Proestro, el “pico” de FSH” actúa también en dichos folículos. Si las células foliculares no reciben ese temprano aporte hormonal se estimula la apoptosis y los folículos entran en atresia (Schwartz, 1974; Findlay, 1996; Hussein, 2005).

En el momento en que la capa de células foliculares aplanadas se transforman en cúbicas y el ovocito comienza su crecimiento, el folículo recibe el nombre del *folículo primario*. Cuando las células foliculares forman varias capas poliédricas (las células de la granulosa), el folículo recibe el nombre de *folículo secundario* (Eppig, 2001). Mientras el folículo continúa creciendo, las células de la granulosa secretan mucopolisacáridos y proteínas que forman una capa alrededor del ovocito, la zona pelúcida, y las células del estroma se organizan alrededor de la lámina basal y la formación de la teca interna y la externa comienza (Dailey, 1999).

El ovocito y las células de la granulosa no reciben suministro sanguíneo ni inervación en forma directa (Domínguez *et al.*, 1991), por tanto aunque el folículo primario y secundario presenten receptores a gonadotropinas, su maduración es independiente de dichas hormonas (Crisp, 1992; Eppig, 2001), el inicio del desarrollo folicular depende de los neurotransmisores, y diversas moléculas, contenidos en los ovarios de la rata neonata más no del aporte hormonal (Malamed *et al.*, 1992; Dissen y Ojeda, 1999; Ojeda *et al.*, 2000; Choi y Rajkovic, 2006).

La inhibina y activina son secretadas por los folículos en maduración (Yao y Bahr, 1999). En el día 8 de vida hay un aumento en la cantidad de receptores a FSH (rFSH) que coincide con el aumento de inhibina (Findlay, 1996). La activina predomina en los folículos inmaduros y estimula la síntesis de rFSH en las células de la granulosa (Hillier, 2001) y en conjunto con AMPc inducen la diferenciación de dichas células (Mayerhofer *et al.*, 1997).



Los *folículos preantrales* se caracterizan por el crecimiento del ovocito, la proliferación de las células de la granulosa y la aparición del cuerpo de Balbiani (organización de varios organelos alrededor del núcleo en forma de media luna) (Botella, 1995; Zucker *et al.*, 2000). En la transición de folículo preantral a *antral temprano* se adquiere la respuesta a gonadotropinas (Findlay *et al.*, 1996; Orisaka *et al.*, 2006; Orisaka *et al.*, 2009; Campbell, 2009).

Durante dicha transición las células mioides indiferenciadas y fibroblastos forman la teca externa, mientras que en la teca interna se diferencian aquellas células capaces de sintetizar progesterona y testosterona (Merchant, 1991; Yao y Bahr, 1999; Roby y Terranova, 1999).

La proliferación y diferenciación de las células de la teca interna son estimuladas por factores secretados de células de la granulosa y del ovocito (Hirshfield, 1991b; Fortune, 2003; Orisaka *et al.*, 2009). Cuando el folículo desarrolla la segunda capa de células de la granulosa, dichas células interactúan con otras adyacentes (Magarelli *et al.*, 1996; Gelety y Magoffin, 1997; Roby y Terranova, 1999; Orisaka *et al.*, 2009) y comienzan a secretar sustancias peptídicas tales como el IGF-I y el SCF (Factor de Células Madre o Factor Estimulante de las Células Troncales) que en conjunto son necesarios para la diferenciación celular y la producción de andrógenos (Magoffin y Weistman, 1993; Huang *et al.*, 2001). Después de este proceso se adquiere simultáneamente la respuesta a LH y la capacidad esteroidogénica del folículo (Gelety y Magoffin, 1997).

El ovocito también actúa como regulador del desarrollo del folículo por medio de factores como el GDF-9 (Factor de Diferenciación y Crecimiento-9) y la BMP-15 (Proteína Morfogénica Ósea-15) que estimulan la diferenciación y proliferación de las células de la granulosa y la teca, el crecimiento del folículo (Eppig, 2001; Eppig *et al.*, 2002; Fortune, 2003) y la regulación de la sensibilidad de las células foliculares a las gonadotropinas (Campbell, 2009).

El líquido folicular contenido en el *folículo antral* está compuesto de agua, hormonas esteroideas y proteicas, mucopolisacáridos (Wong Adashi, 1999),



anticoagulantes, gonadotropinas, factores de crecimiento, enzimas y electrolitos (Yao y Bahr, 1999).

Con la formación del antro, las células foliculares proliferan rápidamente y junto con el aumento del líquido folicular desplazan al ovocito de la parte central a la periferia de la pared (Zucker *et al.*, 2000). En esta etapa el ovocito reanuda su división meiótica y se le llama *folículo preovulatorio* (Mandl, 1963; Eppig, 2001; Matzuk *et al.*, 2002). A su vez se da la división de la población de las células de la granulosa en células asociadas con el ovocito, o células del *cúmulo*, y células de la granulosa murales que revisten la pared folicular (Oliver *et al.*, 1999). Cuando el ovocito está rodeado por varias capas de células del cúmulo se forma el conjunto llamado *cúmulus oophorus* (Dekel *et al.*, 1978, Dekel y Phillips, 1979; Oliver *et al.*, 1999).

En la última fase de desarrollo, el folículo aumenta su tamaño y se seleccionan los folículos que van a ovular (Figura 4) (Orisaka *et al.*, 2006; Campbell, 2009).

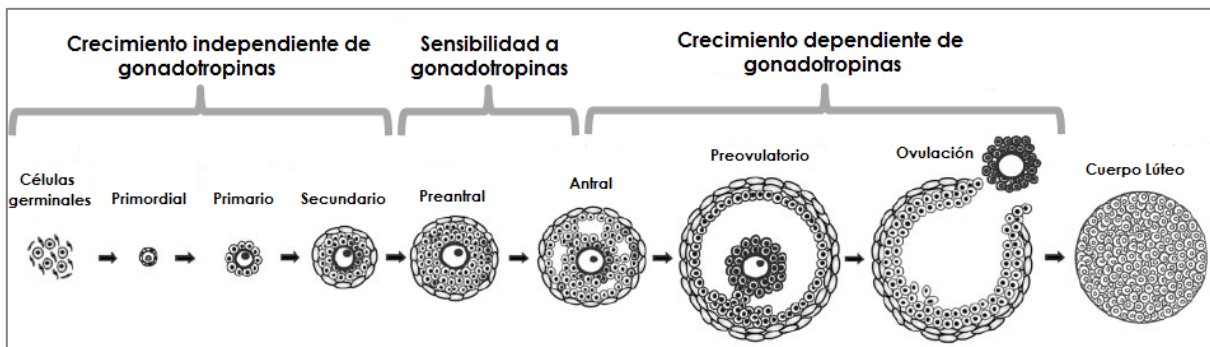


Figura 4. Etapas del desarrollo folicular de mamíferos. Las primeras etapas se desarrollan gracias a complejos proteicos y factores de crecimiento; a partir del comienzo de la etapa antral son totalmente dependientes a gonadotropinas (Tomada y modificada de Edson, 2009).

Atresia folicular

La atresia folicular es el proceso apoptótico presente en las células de la granulosa y en consecuencia el folículo en desarrollo pierde su integridad, degenera y el ovocito, que ya ha iniciado su crecimiento y diferenciación, pierde su viabilidad (Hirshfield y Midgley, 1978, Domínguez *et al.*, 1991; Oliver *et al.*, 1999). Este acontecimiento se puede presentar en cualquier etapa de la foliculogénesis, aunque la mayor pérdida



se da en la etapa fetal y prepuberal (Crisp, 1992), cuando el diámetro folicular antral es de 200-400 μm (Hirshfield y Midgley, 1978; Orisaka *et al.*, 2006; Orisaka *et al.*, 2009).

Si la atresia afecta al ovocito, éste pierde la capacidad de mantener el control metabólico del folículo y se pierden receptores a FSH y LH, decae la aromatización pues no hay síntesis de andrógenos lo cual se refleja en la carencia de estradiol (Domínguez *et al.*, 1991). El folículo al no presentar sincronía con los eventos hormonales no sintetiza receptores a gonadotropinas y queda expuesto a los factores atresícos (Hirshfield, 1988). Las células de la granulosa muestran picnosis, adelgazamiento y disrupción mientras que las células de la teca muestran hipertrofia; claras características de atresia folicular (Palumbo y Yeh, 1994).

Algunos factores que colaboran en la supervivencia de los folículos, como IGF-I e interleucinas, pueden suprimir la apoptosis y ayudan al folículo a responder a gonadotropinas. El EGF (Factor de Crecimiento Epidermal) puede inhibir la fragmentación espontánea del Ácido Desoxirribonucleico (ADN) (Kaipia y Hsueh, 1997). Las gonadotropinas y el estradiol estimulan la proliferación celular y el progreso de la maduración folicular ya que son inhibidores de la atresia. El TGF (Factor de Crecimiento Transformante) controla la diferenciación e interacción celular (Hussein, 2005), y el GDF-9 estimula el crecimiento de los folículos ováricos (Orisaka *et al.*, 2009). La falta de alguno de estos factores desencadena la activación de las vías que conducen la apoptosis y en consecuencia la atresia del folículo.

Ovulación

El folículo completa su maduración cuando en las células de la granulosa aumenta el número de receptores a LH (Hillier *et al.*, 1980). El folículo preovulatorio está expuesto a un pequeño aumento de la concentración de FSH que induce la activación de las enzimas de la esteroidogénesis (Hillier *et al.*, 1980). El folículo alcanza su maduración final cuando la población de receptores a gonadotropinas es



la necesaria para que el “pico preovulatorio” de LH estimule la liberación del ovocito (Espey, 1999; Domínguez *et al.*, 1991).

La ovulación es el único acontecimiento que requiere del rompimiento físico de un tejido sano (Espey, 1999) y comprende tres etapas: 1) la culminación de la división meiótica del ovocito, 2) cambios morfológicos de la pared folicular previos a su ruptura, y 3) cambios en el contacto entre células de la granulosa y de la teca que dan origen a las células luteales (Tsafrii *et al.*, 1972).

Al inicio del proceso ovulatorio el folículo se enrojece debido a la dilatación de los vasos capilares y sobresale a la superficie del ovario la que gradualmente adelgaza (Espey, 1999). El “pico preovulatorio” de gonadotropinas induce una reacción inflamatoria que genera distintas actividades en las células de la teca y de la granulosa que estimulan la síntesis de enzimas que participan en la degradación del tejido conectivo del ovario, necesario para la ovulación (Espey, 1980; Espey y Richards, 2006). El aumento de la concentración de LH induce la descomposición del tejido conectivo por las enzimas proteolíticas y que la presión intrafolicular aumente hasta 20 mm Hg. Del mismo modo, los fibroblastos comienzan a moverse junto con la secreción de enzimas que también ayudan a degradar el tejido (Espey, 1999).

Como cualquier reacción inflamatoria, las moléculas más características de este proceso son los leucocitos y las prostaglandinas, entre otros. Las prostaglandinas están relacionadas con el aumento de AMPc, que además de ser necesario en la esteroidogénesis también activa las enzimas degradadoras (Espey, 1980; Espey y Richards, 2006). En el caso del ovario de la rata estas moléculas ayudan a la degradación del tejido hasta la descomposición total de la pared folicular (Espey, 1980), este estado de degradación se da 5 horas previo a la ovulación (Löfman *et al.*, 1989) y el proceso ovulatorio tarda de 12 a 14 horas en completarse totalmente (Espey y Richards, 2006).

La porción más apical del folículo se torna translúcida y se forma un *estigma* (Espey, 1999), que es el área más delgada y débil de folículo, el cual se infla por fuera de la superficie justo antes de la ruptura (Espey y Richards, 2006). El último



evento previo a la ovulación es la presencia de una gran cantidad de eritrocitos y la separación de las células de la granulosa, se pierde la túnica albugínea y las células de la teca van desapareciendo hasta que mueren y degeneran (Parr, 1974).

Pocos minutos después de la formación del estigma, la degradación del tejido permite la liberación del ovocito el cual es expulsado junto con el *cúmulus oophorus* alrededor de las 2:00 y 4:00 h en el día del Estro de la rata (Tsafirri y Kraicer, 1972). Desde que comienzan los movimientos en la pared folicular hasta la liberación total de los ovocitos, toma aproximadamente entre 2.25 y 5 min para concluir la ovulación (Figura 5) (Löfman *et al.*, 1989).

Mientras el folículo sufre numerosos cambios, el ovocito reanuda su división meiótica en la tarde del Proestro cuando la vesícula germinal ya no es visible (Tsafirri y Kraicer, 1972). En el momento en que dicha división culmine se le llama *ovocito II* y está listo para ser expulsado (Domínguez *et al.*, 1991).

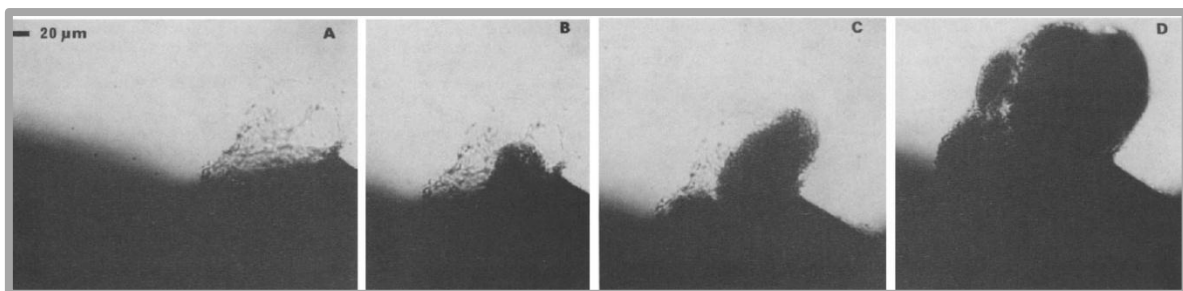


Figura 5. Ruptura folicular. A) Movimiento de masa celular del estigma, B) formación de ampolla en la superficie ovárica, C) apertura del estigma, D) expulsión de ovocitos con células de granulosa y *cúmulus oophorus* (Löfman, 1989).

Luteinización

Después del “pico preovulatorio” de LH se inicia el programa de diferenciación terminal del folículo ovulado a la formación cuerpo lúteo (Stocco *et al.*, 2007). Este proceso está caracterizado por dos eventos; a) la proliferación y diferenciación celular junto con la hipotrofia de las células esteroideogénicas del folículo que se transforman en células luteales; y b) el crecimiento rápido de vasos sanguíneos o angiogénesis (Stouffer, 2006).



Diferenciación a células luteales: en la rata cuando comienza la diferenciación de las células de la granulosa y de la teca, la proliferación se detiene por falta de actividad mitótica (Stouffer, 2006).

Las células luteales tienen una vía específica de convertir el colesterol en P_4 ; conforme el cuerpo lúteo se desarrolla y sus células terminan su diferenciación, las enzimas encargadas de la transformación a andrógenos y estrógenos se reducen o desaparecen (Murphy, 2004). Cada célula luteal aumenta de tamaño, ayuda a la proliferación de células endoteliales, aporta nutrientes y promueve la capacidad de obtener colesterol de lipoproteínas (Stocco *et al.*, 2007).

Angiogénesis: el folículo preovulatorio no tiene acceso al aporte sanguíneo gracias a la barrera que presenta la lámina basal, sin embargo después de la ruptura folicular se da una invasión de células microvasculares al centro del folículo (Murphy, 2004; Stouffer, 2006). el crecimiento y proliferación de los vasos sanguíneos son estimulados por el VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular), EG-VEGF (Factor de Crecimiento Endotelial Vascular de la Glándula Endocrina), bFGF (Factor básico de Crecimiento de Fibroblastos) y angiopoyetinas. En la rata, al cabo de 16 horas post-ovulación, ya está completa la vascularización necesaria (Stocco *et al.*, 2007).

Los factores u hormonas *luteotróficas* son la prolactina (PRL), la cual es necesaria para la conservación de receptores a estradiol (E_2) y a LH, estimula directamente la síntesis y secreción de P_4 , regula las enzimas esteroidogénicas y también promueve la estructura y función luteal (Hilliard, 1973; Juengel *et al.*, 1999; Stouffer, 2006).

En el ovario de la rata se pueden observar hasta tres generaciones de cuerpos lúteos (Hilliard, 1973) pues persisten de 12 a 14 días (Freeman, 2006).



Luteólisis

Si la fecundación no se llevó a cabo, el cuerpo lúteo pierde su función e involuciona al finalizar el ciclo ovárico. Este proceso comprende dos acontecimientos: a) la detención de producción de P_4 y, b) la regresión estructural. Para culminar con la vida del cuerpo lúteo se necesitan los llamados factores *luteolíticos* que son los causantes de la luteólisis (Hilliard, 1973).

Las prostaglandinas reducen el flujo sanguíneo, rompen los mecanismos para la producción de P_4 , reducen la acción de las enzimas, promueven la destrucción celular y disolución del tejido (Stouffer, 2006), favorecen la muerte celular por apoptosis (Juengel *et al.*, 1999), que junto con otros factores como la Endotelina-1, el TNF- α (Factor de Necrosis Tumoral alfa) y la MCP-I (Proteína Quimiotáctica de Monocitos-I) hacen a éste el evento principal de la regresión luteal (Stouffer, 2006; Stocco *et al.*, 2007).

Por otro lado, los ovarios además de liberar óvulos para ser fertilizados tienen la capacidad de secretar hormonas esteroideas y proteicas (Yin y Zhang, 1999), las cuales actúan de forma autocrina en el desarrollo folicular y además, al actuar en el hipotálamo e hipófisis modulan la secreción de las gonadotropinas (Anexo) (Van Voorhis, 1999b; Chedrese, 2003).



III. CICLO ESTRAL

Las funciones del ovario están reguladas por la secreción de las hormonas hipofisarias y esteroides; que están secuencialmente ordenadas en eventos que ocurren de manera sincronizada y cíclica y modifican el comportamiento de las hembras y su actividad sexual. A este proceso repetitivo en los mamíferos no primates se le llama *ciclo estral* (Ulloa-Aguirre *et al.*, 1988).

Este ciclo está regulado por la interacción del eje Hipotálamo-Hipófisis-Ovario e involucra a los eventos de maduración folicular, ovulación y luteinización, así como los cambios conductuales que culminan con el apareamiento. Al igual que el ciclo menstrual de los primates, si no hay fecundación el ciclo se repetirá (Klein y Schwartz, 1999).

La rata es una especie poliéstrica con ovulación espontánea y con ciclos de 4 o 5 días. La ciclicidad puede presentar cambios debido a la luz, temperatura, estrés o exposición a sustancias químicas (Klein y Schwartz, 1999). El progreso del ciclo está relacionado con cambios en el contenido citológico del epitelio de la vagina, por tanto la toma de muestras continuas se utiliza como indicador biológico de las oscilaciones en la liberación de hormonas ováricas y a su vez de las gonadotropinas (Hartman, 1944; Goldman *et al.*, 2007).

Para su estudio, el ciclo de cuatro días de duración de la rata adulta se divide en cuatro etapas:

El día del *Diestro-1* (también llamado *Metaestro*) se caracteriza por ser la etapa de recuperación post-ovulación, el epitelio endometrial involuciona y el frotis vaginal se caracteriza por la presencia de células epiteliales en forma de escamas y de leucocitos (Goldman *et al.*, 2007; Westwood, 2008). Las concentraciones de FSH y LH son basales, aumenta la concentración de P₄ secretada por el cuerpo lúteo recién formado, y la concentración de E₂ comienza a elevarse (Klein y Schwartz, 1999; Freeman, 2006). La hembra se comporta defensiva y evita al macho (Hardy, 1972).



La presencia de leucocitos en las muestras del epitelio vaginal persisten durante la etapa del *Diestro-2* (también llamado *Diestro*), además de la presencia ocasional de células basófilas nucleadas, mientras que el cuerpo lúteo llega a su tamaño máximo y comienza su regresión (Mandl, 1951; Klein y Schwartz, 1999; Goldman *et al.*, 2007; Westwood, 2008). Mientras tanto, los próximos folículos a ovular ya presentan la etapa antral lo cual da como resultado el aumento continuo en la secreción de estrógenos, pero no así de FSH y LH que siguen el mismo patrón de secreción que en *Diestro-1*. La escasa secreción de P_4 ayuda a la preparación del útero para la implantación en caso de fecundación (Freeman, 2006).

En la mañana del *Proestro* se presenta un repentino aumento en la concentración de E_2 , que al disminuir en la tarde de ese día, desencadena la secreción de GnRH, y ésta a su vez estimula la secreción preovulatoria de FSH y LH que inicia a las 14:00 h y decrece hasta las 18:00 h (Kilen y Schwartz, 1999; Freeman, 2006; Goldman *et al.*, 2007). El aumento de E_2 estimula la queratinización de las células epiteliales vaginales y todas ellas se muestran nucleadas, asimismo aumenta la actividad mitótica uterina que resulta en un inflamamiento y dilatación del órgano (Mandl, 1951; Goldman *et al.*, 2007; Westwood, 2008). La actividad nocturna de la hembra posterior a estos cambios hormonales se modifica a un estado receptivo hacia el macho estimulada por la elevación de P_4 y E_2 después del pico preovulatorio de LH (Hardy, 1972).

Desde las últimas horas del *Proestro* inicia el cortejo, la interacción y el comportamiento receptivo de la hembra para copular. En el día del *Estro* hay un largo periodo de montas y rechazo que culmina hasta que la hembra presenta lordosis y permite la cópula, aproximadamente 5 horas después de la disminución en la concentración de E_2 (Hardy, 1972; Thorton y Finn, 1999). Dicha concentración disminuye a niveles basales y la ovulación ocurre de 10 a 12 horas después del pico preovulatorio de LH (3:00 h-5:00 h) (Klein y Schwartz, 1999; Freeman, 2006). En la mañana de este día se presenta un segundo incremento en la secreción de FSH,



que estimula el reclutamiento de los folículos del siguiente ciclo para iniciar su crecimiento (Klein y Schwartz, 1999).

El aumento de la secreción de E_2 por el folículo preovulatorio estimula la proliferación y cornificación del epitelio vaginal dando lugar a las células escamadas o queratinizadas (Mandl, 1951; Hardy, 1972; Thorton y Finn, 1999; Westwood, 2008).

Los procesos involucrados en el ciclo estral están controlados por la interacción de sincronizadores endógenos en el hipotálamo, hipófisis y ovario que regulan, de acuerdo a los periodos de luz-oscuridad, el momento de secreción de hormonas y las señales necesarias para la reproducción (Figura 6) (Yoshikawa, 2009).

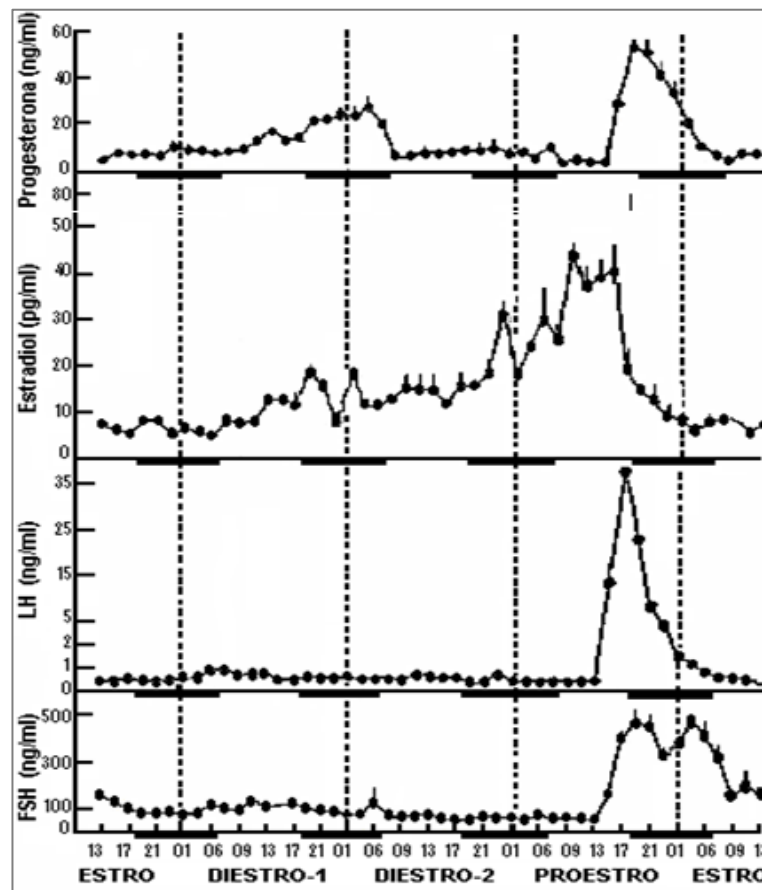


Figura 6. Concentraciones de progesterona, prolactina, estradiol, FSH y LH obtenido del plasma en intervalos de 2 horas en cada día del ciclo estral de la rata. Las barras negras representan el fotoperiodo luz-oscuridad (18:00-06:00 h) (Tomada y modificada de Freeman, 2006).



IV. ASIMETRÍA OVÁRICA

Un tema que ha causado controversia entre los científicos de los últimos años es la existencia de diferencias morfo-funcionales en los órganos pares de diversos mamíferos. El término *asimetría funcional* hace referencia a la sensibilidad diferencial que presenta el órgano derecho del izquierdo ante el mismo estímulo (Gerendai y Halász, 2001; Domínguez *et al.*, 2003).

Existen evidencias de que después de realizar la ovariectomía unilateral, el contenido de GnRH en el hipotálamo medio basal derecho es mayor que en el lado izquierdo. Estos resultados persisten aún sin la extirpación de un ovario, lo cual permite deducir que el desequilibrio fisiológico está presente no solo en los órganos del sistema reproductivo sino igualmente en el SNC, lo que conlleva a que los ovarios respondan de forma diferente. Se puede considerar que la asimetría funcional del hipotálamo es el resultado de diferencias bioquímicas y anatómicas relacionadas con las señales neuroendocrinas que regulan las funciones ováricas (Gerendai *et al.*, 1978).

Al realizar un tratamiento similar al de Gerendai (Gerendai *et al.*, 1978), Chávez y colaboradores (1986) mostraron la presencia de diferencias en la tasa de ovulación, concluyendo que el ovario derecho tiene mayor capacidad de reaccionar a los sistemas de regulación compensadora que el ovario izquierdo.

En la rata prépuber la lesión unilateral del hipotálamo y ovariectomía ipsi o contralateral refleja que la Hipertrofia Compensatoria Ovárica (HCO) es diferente y depende del lado lesionado del hipotálamo y del ovario remanente, ya que cuando se lesiona el lado izquierdo y se realiza ovariectomía ipsilateral la HCO es bloqueada, lo que no sucede cuando es contralateral o se lesiona el lado derecho del hipotálamo. Se Concluyó que la asimetría también depende de la edad del individuo puesto que en el animal prépuber el lado izquierdo es el que participa en la regulación de la HCO, y en la rata adulta el lado contrario (Nance *et al.*, 1983).



Se estableció que la inervación ovárica modula diferencialmente la secreción de esteroides por parte del ovario y que cada ovario recibe un aporte diferente de fibras simpáticas. Dicho aporte neural regula la esteroidogénesis pues al inyectar sulfato de atropina para bloquear el aporte colinérgico en animales con extirpación del ovario izquierdo en el día del Estro las concentraciones séricas de LH decrecen; además la simple extirpación del ovario izquierdo provoca un aumento considerable en la secreción de testosterona (Barco *et al.*, 2003).

Flores y colaboradores en el 2005 tomaron como antecedentes los resultados de Barco y realizaron tratamientos similares en el resto de los días del ciclo estral de la rata. Obtuvieron que el día del Proestro contrasta con el día del Estro, pues al extirpar el ovario izquierdo la secreción de testosterona disminuye y al bloquear el sistema colinérgico las concentraciones de la misma hormona aumentan en los días del Diestro, no importando cuál ovario permanece *in situ*. Éste experimento permitió sugerir que los mecanismos que modulan la liberación de hormonas varía dependiendo del día del ciclo estral en que se realizan los tratamientos y que la inervación juega un papel clave en dicha modulación.

Aunado a las asimetrías funcionales ya mencionadas, se sugiere que las diferencias entre lados del SNC que intervienen en los procesos reproductivos se deben a la cantidad de conexiones neurales que llegan a los ovarios. Al inyectar marcadores anterógrados en ambos ovarios, se evidenció que la tinción de algunas estructuras cerebrales (Núcleo del tracto solitario, Hipotálamo paraventricular y lateral, Núcleo caudal del rafe, etc.) es mayor cuando se administra en el ovario izquierdo que en el derecho (Toth *et al.*, 2007). Este experimento coincide con el hecho de que el ovario izquierdo ovula más ovocitos (Domínguez *et al.*, 2003) o que hay mayor cantidad de GnRH en el hipotálamo del mismo lado (Gerendai *et al.*, 1978). Por tanto, cualquier alteración en el lado izquierdo del hipotálamo es más afectado y presenta más cambios que en el contrario.

Morán y colaboradores también inyectaron trazadores en los ovarios y realizaron sección del Nervio ovárico superior (NOS). Al comparar con los grupos



control, hallaron que la tinción de las neuronas se reducía considerablemente si la conexión del NOS había sido interrumpida (Morán *et al.*, 2009).

Con base en los hallazgos sobre las asimetrías neuroendocrinas, se vincula a las respuestas ováricas con la integridad de la información neural que reciben y la respuesta que darán ante un estímulo o alteración será diferente (Domínguez *et al.*, 2003; Gerendai y Halász, 2001).



V. INERVACIÓN OVÁRICA

Sumado al eje Hipotálamo-Hipófisis y a la acción de hormonas esteroides, las funciones ováricas también están bajo influencia neural directa que llega a dichas gónadas (Gerendai *et al.*, 1995; Dissen y Ojeda, 1999). Al ovario llegan fibras nerviosas intrínsecas y extrínsecas que portan neurotransmisores vitales para los ovarios que se originan de neuronas localizadas en el cerebro o en la médula espinal (Burden, 1978; Dissen *et al.*, 2004).

La inervación intrínseca se compone de ganglios localizados en el mesovario e hilio distribuidos con los vasos sanguíneos a lo largo del tejido conectivo del ovario. Estas fibras se presentan antes de que el desarrollo folicular comience, contribuyen a la activación de la secreción esteroidogénica en la pubertad y al mantenimiento de la misma durante la adultez (D'Albora *et al.*, 2002). Diversos autores reportan que este grupo de neuronas se limita a algunas especies de mamíferos como el mono y la rata Wistar (D'Albora y Barcia, 1996; Les Dees *et al.*, 2006).

El ovario está inervado extrínsecamente por las proyecciones simpáticas, parasimpáticas y sensoriales (Dissen y Ojeda, 1999). Las vías nerviosas simpáticas están compuestas por neuronas que contienen NA y neuropéptido Y, en cambio las parasimpáticas y sensoriales por fibras que contienen sustancia P (SP), somatostatina (ST), acetilcolina (Ach) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP); todos los tipos de vías contienen además VIP (Gilbert *et al.*, 1980; Lawrence y Burden, 1980; Klein y Burden 1988; Dissen y Ojeda, 1999; Dissen *et al.*, 2004). La inervación simpática que llega a la gónada es por medio del nervio del Plexo ovárico y del Nervio ovárico superior, a diferencia del Nervio vago que lleva las fibras parasimpáticas y sensoriales (Burden y Lawrence, 1977; D'Albora *et al.*, 2002).

La demostración de las conexiones neurales entre el SNC y los ovarios se realizó por la inyección de trazadores retrógrados en el ovario, su búsqueda en



diversas regiones del SNC y el análisis de los efectos de la sección uni o bilateral de los nervios que llegan a los ovarios. Con esta técnica Burden y colaboradores (1983) observaron que el soma de las neuronas de las fibras vagales se localizan en el ganglio nodoso, lo cual coincide con lo reportado años después por el equipo de Collins (1999) (Figura 7). El origen de esta inervación se localiza en: el núcleo del tracto solitario, el núcleo dorsal del vago y en el núcleo ambiguo (Karim y Leong, 1980; Gerendai *et al.*, 2000; Gerendai *et al.*, 2002). Aproximadamente el 90% de las fibras de este nervio son sensoriales (Burden *et al.*, 1983), y toda la inervación extrínseca que llega al ovario alcanza la vasculatura y las células de la teca pero no atraviesa la lámina basal (Gerendai y Halász, 1997; Aguado, 2002).

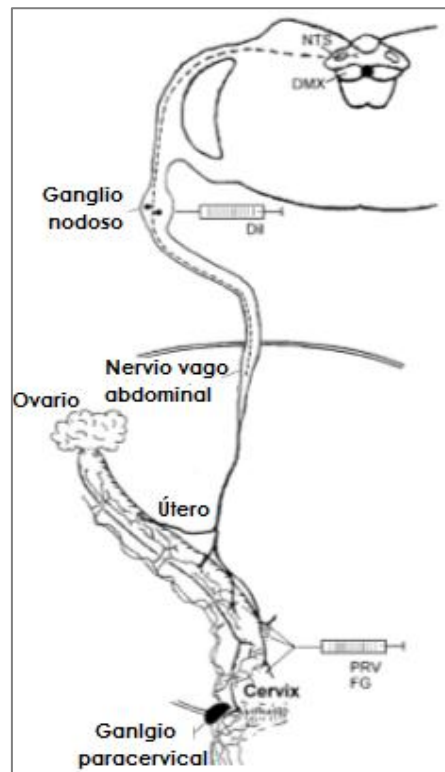


Figura 7. Ilustración esquemática del tronco cerebral caudal y el curso postulado del Nervio vago a los cuernos uterinos y cérvix (Tomada y modificada de Collins, 1999).

El *Nervio vago* es el décimo par craneal (X) que emerge ventrolateralmente de la médula oblongata, entre el nervio glossofaríngeo y el nervio accesorio (Snell, 2007; Ratcliffe *et al.*, 2011).



Aparte del ganglio nodoso, los somas de sus neuronas también se encuentran en el ganglio yugular donde el nervio accesorio se une al Nervio vago y se distribuye principalmente en las ramas faríngeas y laríngeas. Posteriormente sigue su recorrido verticalmente en el cuello junto con la vena yugular interna y las arterias carótidas hasta el final del cuello donde se bifurca en derecho e izquierdo (Snell, 2007; Ratcliffe *et al.*, 2011).

El Nervio vago *derecho* entra en el tórax, pasa por detrás de la raíz del pulmón derecho, formando parte del plexo pulmonar para dirigirse hacia la superficie posterior del esófago y fusionarse con el plexo esofágico. Este tronco vagal se distribuye en la superficie posterior del estómago, duodeno, hígado, riñones y ambos intestinos hasta el colon (Snell, 2007).

El Nervio vago *izquierdo* entra en el tórax, cruza el lado izquierdo del arco aórtico, desciende por detrás de la raíz del pulmón izquierdo para formar parte del plexo pulmonar; luego desciende sobre la superficie anterior del esófago y se une al plexo esofágico para finalmente ingresar al abdomen y dividirse en varias ramas, al igual que el derecho, distribuidas en el estómago, duodeno y parte del páncreas (Figura 8) (Snell, 2007).

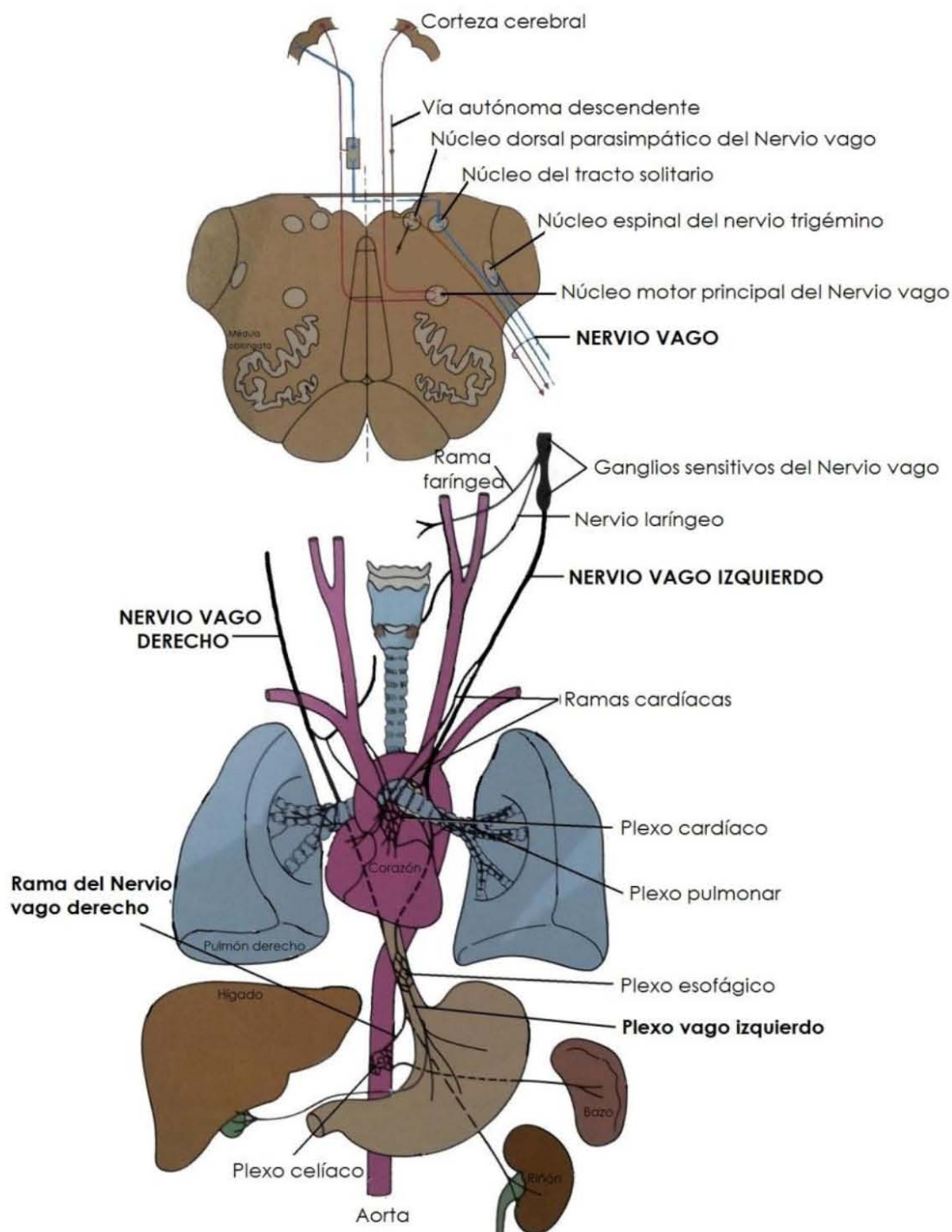


Figura 8. Núcleos del Nervio vago, sus conexiones centrales y distribución (Tomada y modificada de [Snell, 2007](#)).



Influencia de la inervación vagal en las funciones ováricas

La inervación parasimpática modula la acción de las gonadotropinas sobre las funciones ováricas, pues al interrumpir ésta vía de comunicación neural entre SNC y las gónadas se efectúan cambios en distintos niveles funcionales (Burden, 1978).

En la rata, la vagotomía abdominal interrumpe el ciclo estral y en ratas con ovariectomía unilateral además de alterar el ciclo estral también disminuye la HCO y las concentraciones séricas de FSH y LH a las 5 o 24 horas después de la cirugía, lo que depende de la gonadotropina en estudio (Burden y Lawrence, 1977).

En la rata preñada la sección subdiafragmática de las fibras parasimpáticas resulta en una disminución de hasta un 50% del número de fetos debido a la disminución en la secreción de LH y P₄, hormonas responsables de mantener ese estado hasta el parto (Lawrence *et al.*, 1978).

Burden y colaboradores (1981), mostraron que la vagotomía abdominal en Proestro o Estro altera la duración del ciclo estral con períodos prolongados de Diestro (10-12 días de duración).

Al interrumpir la inervación vagal, la concentración de LH en ratas adultas cambia drásticamente y resulta en un bloqueo de la secreción preovulatoria de esta hormona, por tanto hay pérdida de ciclicidad estral, disminución en la respuesta ovárica y en la producción de esteroides ováricos (Allen *et al.*, 1985).

En la rata adulta, la sección de la vía vagal abdominal resultó en la disminución de la HCO, del peso de ambos ovarios e inhibió la activación folicular en el ovario derecho 15 días después de la intervención. Los autores sugieren que el ovario derecho es más dependiente de la información que viaja por el Nervio vago y



que la actividad folicular es modulada por dicha inervación ante la ausencia de un ovario (Burden *et al.*, 1986).

En la rata adulta, la denervación vagal izquierda con ovariectomía derecha (ovario izquierdo *in situ*) resulta en un incremento en la tasa de ovulación, del número de ovocitos liberados e HCO; en cambio, disminuyen dichos parámetros cuando el ovario derecho permanece *in situ*. La sección del Nervio vago derecho produjo disminución solamente de la HCO en animales con ovariectomía izquierda o derecha. Con base en estos resultados se sugiere que los parámetros evaluados dependen del ovario y la vía vagal remanente, del mismo modo que el carácter de la información que lleva el Nervio vago izquierdo es distinta a la del derecho (Chávez *et al.*, 1986).

La vagotomía unilateral en la mañana de cada etapa del ciclo estral de la rata adulta modifica el ciclo estral cuando la cirugía se realiza en el día del Diestro-1 y Estro; la tasa de ovulación fue menor en ratas con sección del Nervio vago izquierdo respecto a su grupo control y el número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo fue menor en los animales con sección del Nervio vago izquierdo o derecho. Los autores concluyen que la manipulación vagal realizada en esos días del ciclo estral induce más alteraciones que las observadas en Diestro-2 o Proestro, y que el ovario izquierdo es más sensible a la manipulación vagal que el derecho. Asimismo, que la existencia de ambos nervios lleva la información necesaria para mantener la función ovárica normal y un solo nervio no es suficiente para compensar los cambios en la ovulación (Chávez *et al.*, 1989).

En el hámster adulto la vagotomía abdominal en la mañana del día del Estro resulta en disminución en la concentración de P_4 y en la liberación de ovocitos, sin embargo la concentración de E_2 y el contenido de VIP en los ovarios no se ven afectados; lo cual evidencia que el Nervio vago participa en la regulación de la ovulación, más no en la maduración folicular (Nakamura *et al.*, 1992).



La sección bilateral del Nervio vago realizada inmediatamente después de la ovariectomía unilateral resulta en inhibición de la HCO del ovario remanente. Quince minutos después de la ovariectomía unilateral aumenta la concentración tisular de AMPc en la gónada *in situ*, pero esta respuesta es inhibida por la vagotomía cuando precede a la ovariectomía unilateral y parcialmente cuando la vagotomía se realiza 10 min después de la ovariectomía unilateral. Por tanto, la influencia vagal en el crecimiento compensador es importante durante un corto periodo de tiempo después de la pérdida del aporte hormonal (menos de 4.5 horas) (Trkulja y Lackovic, 2001).

Morales y colaboradores (2004) comprobaron que el Nervio vago actúa de manera estimuladora desde la etapa prepuberal, pues al realizar vagotomías unilaterales y bilaterales en ratas de 24 ó 28 días la concentración sérica de E₂ disminuye tanto que se reflejó en el retraso de la apertura vaginal y en la disminución de la masa del útero.

La tasa ovulatoria del ovario izquierdo de los animales con sección del Nervio vago derecho realizada a las 13:00 h en el día del Diestro-1, fue menor que en los animales con laparotomía. En el día del Diestro-2 o Proestro, la sección unilateral del Nervio vago no modificó el número de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados. El número total de ovocitos liberados por los animales con sección del Nervio vago izquierdo realizada en el día del Estro, fue mayor que en el grupo con laparotomía. La diferencia se explica por el mayor número de ovocitos liberados por el ovario izquierdo (Guzmán *et al.*, 2010).

La reproducción de los mamíferos además de estar controlada por los mecanismos ya mencionados, también está coordinada con el tiempo. Con el fin de lograr el éxito biológico, es decir producir descendencia, hay acontecimientos individuales que deben ocurrir en la hembra, los cuales a su vez están acoplados a múltiples procesos (Barbacka-Surowiak *et al.*, 2003). El tiempo está ajustado a ritmos biológicos que todos los organismos vivientes poseen en su interior. El reloj interno depende de los estímulos externos como luz o la disponibilidad de alimento lo que



permite al organismo sincronizar su fisiología con el medio ambiente (Okamura *et al.*, 2010).

La duración del ciclo estral está bajo control del SNC y por un fotoperiodo preciso que es aproximadamente el tiempo que le toma al conjunto de folículos seleccionados para madurar y concluir con su desarrollo; además en este periodo el útero es preparado para la implantación de ovocitos fertilizados y sustentar la preñez (Barbacka-Surowiak *et al.*, 2003; Kenaway, 2005). Antes de la ovulación, un mecanismo nervioso estimula la receptividad sexual que solo se da durante la fase nocturna, que a su vez está controlado por el fotoperiodo, de tal manera que la cópula sea posible en la fase de actividad de los roedores (Goldman, 1999).

El cuestionamiento de la existencia de una señal nerviosa que se da aproximadamente cada 24 horas indispensable inducir el pico preovulatorio de LH comenzó con los estudios realizados por Everett y Sawyer en 1950. En el núcleo Supraquiasmático (SCN) se encuentra el *reloj maestro* que controla los ritmos circadianos endocrinos y conductuales (van der Beek, 1996; Klein y Schwartz, 1999; Barbacka-Surowiak *et al.*, 2003). La lesión completa del núcleo, resulta en la eliminación de la actividad locomotora, del “pico de LH” y la ausencia de ciclicidad estral (Barbacka-Surowiak *et al.*, 2003; Kenaway, 2004).

La conexión directa del SCN con la regulación de las funciones reproductivas se logra por fibras VIPérgicas que llegan hasta las neuronas GnRHérgicas en POA (van der Beek, 1996).

La mayoría de las señales de sincronización que vienen desde SCN y llegan hasta otros órganos y tejidos se da por medio de la transmisión directa o indirecta de señales simpáticas y parasimpáticas. Estas últimas provienen del núcleo motor dorsal del vago y sus inervaciones son responsables de cambios y sincronizaciones en los ritmos fisiológicos. La información parasimática que llega a los ovarios vía Nervio vago es la posible ruta de comunicación con el SCN (Okamura *et al.*, 2010). Debido a estas sincronizaciones y ritmos consecutivos se ha evidenciado que la



secreción hormonal y las concentraciones, no solo varían de día a día, sino también en diferentes horas de un solo día (Kauffman y Rissman, 2006).

Estudios previos realizados en nuestro laboratorio muestran que la participación del Nervio vago en los mecanismos neuroendocrinos que regulan las funciones del ovario depende de la hora en que se analiza la cirugía.

Everardo y colaboradores (2011), mostraron que la sección del Nervio vago izquierdo a las 7:00 h del Diestro-2 resulta en menor número de ovocitos liberados por el ovario denervado; un resultado similar se observa en los animales con sección del vago derecho realizada a las 19:00 h. La sección del Nervio vago derecho a las 07:00 h, resulta en un mayor número de ovocitos liberados solo por el ovario derecho, pero no se observan diferencias cuando la cirugía se realiza a las 19:00 h.

La sección unilateral del Nervio vago en animales con ovariectomía unilateral a las 7:00 h del Diestro-2 resulta en disminución de la tasa de animales ovulantes respecto a la de los animales que solo fueron sometidos a ovariectomía unilateral. A las 19:00 h del Diestro-2, la ovariectomía unilateral seguida de la sección unilateral del Nervio vago no altera la tasa de animales ovulantes respecto a la observada en los animales con ovariectomía unilateral (Everardo *et al.*, 2011).

Zárate y colaboradores (2011), observaron que la sección del Nervio vago izquierdo realizada a las 09:00 h del Proestro, se bloquea la ovulación por el ovario izquierdo y parcialmente en el derecho, sin cambios en la ovulación cuando se analiza en otros horarios del mismo día del ciclo estral.

Con base a estos resultados es posible pensar que algún tipo de información nerviosa transita por esta vía, coordinando el proceso ovulatorio y determinando en gran medida las funciones ováricas.



JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La regulación neuroendócrina de la ovulación y secreción de hormonas muestra asimetrías funcionales que dependen de la información neural que recibe la gónada. La información parasimpática y sensorial que llega al ovario es aportada por el Nervio vago, el cual contiene diversos péptidos como gastrina, péptido intestinal vasoactivo, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, somatostatina y sustancia P y existen evidencias experimentales que muestran su participación en la modulación de la acción de las gonadotropinas sobre las funciones de la gónada.

El análisis de la participación del Nervio vago en la regulación de las funciones de los ovarios de la rata se han llevado a cabo en la mañana y la noche del ciclo estral de la rata. Dado que en la regulación de la secreción hormonal y neural existen diferencias vinculadas con la hora del día (ritmo circádico), como resultado de las funciones de un "reloj maestro" localizado en neuronas del núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo, en el presente estudio se analizó la participación del Nervio vago en la tarde de cada etapa del ciclo estral (17:00 h) sobre la ovulación de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral.



HIPÓTESIS

Si el Nervio vago es una vía de comunicación parasimpática y sensorial que inerva al ovario y modula la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación, entonces al interrumpir esta vía neural en animales con ambos ovarios o con uno, se verá afectada la comunicación con el Sistema Nervioso Central y por tanto la respuesta ovulatoria (tasa de animales ovulantes y número de ovocitos liberados), lo que no solo dependerá de la etapa del ciclo estral sino también del ovario *in situ* y del Nervio vago seccionado.



OBJETIVO GENERAL

Analizar la participación del Nervio vago a las 17:00 h de cada etapa del ciclo estral de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral sobre la ovulación.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar los efectos de la laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral de la rata sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios y el útero.
- Estudiar los efectos de la sección unilateral del Nervio vago en cada etapa del ciclo estral de la rata sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios y el útero.
- Comparar la respuesta del ovario remanente en animales con ovariectomía unilateral sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios y el útero.
- Analizar los efectos de la sección unilateral del Nervio vago y la extirpación del ovario contralateral a la sección del nervio, en las cuatro etapas del ciclo estral sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios y el útero.
- Investigar los efectos de la sección de un Nervio vago seguida de la ovariectomía contralateral a la sección en las cuatro etapas del ciclo estral sobre la tasa de animales ovulantes, el número de ovocitos liberados y la masa de los ovarios y el útero.



MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron ratas hembra adultas, vírgenes, de tres meses de edad (200-270 g de masa corporal), de la cepa CIIZ-V, mantenidas en condiciones controladas de luz-oscuridad (luces encendidas de 05:00 a 19:00 h), con libre acceso al agua y al alimento (Purina S.A. de México). El ciclo estral de los animales fue monitoreado por la toma diaria de frotis vaginales y las muestras fueron teñidas con la técnica de hematoxilina-eosina. Sólo se utilizaron aquellos animales que presenten al menos dos ciclos consecutivos de 4 días de duración (Diestro-1, Diestro-2, Proestro y Estro).

DISEÑO EXPERIMENTAL

Animales sin tratamiento

Para conocer la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos liberados en ratas cíclicas sin ninguna manipulación, los animales fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

Grupos experimentales:

Las intervenciones quirúrgicas se realizaron a las 17:00 h de cada etapa del ciclo estral bajo anestesia con éter. Los grupos experimentales fueron:

Laparotomía ventral

Con el fin de estudiar el efecto de la anestesia seguida por la laparotomía ventral (PP), un grupo de ratas fueron anestesiadas con éter, se les realizó la incisión ventral



(aproximadamente 1 cm por debajo de la última costilla) que abarcó piel, músculo y peritoneo (sin tocar órganos internos). Una vez terminada la PP se suturó la herida.

Sección unilateral del Nervio Vago

Con el fin de analizar si el Nervio vago en la tarde del ciclo estral es una de las vías neurales que modulan la respuesta de los ovarios a la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación, a ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP, se les exteriorizó el estómago, se desplazó el hígado y se expuso el esófago. Por debajo del diafragma se localizaron los troncos vagales y se procedió a seccionar el Nervio vago izquierdo (Nv-I) o el derecho (Nv-D). Los órganos expuestos fueron colocados en su posición original y se suturó la herida (Figura 9).

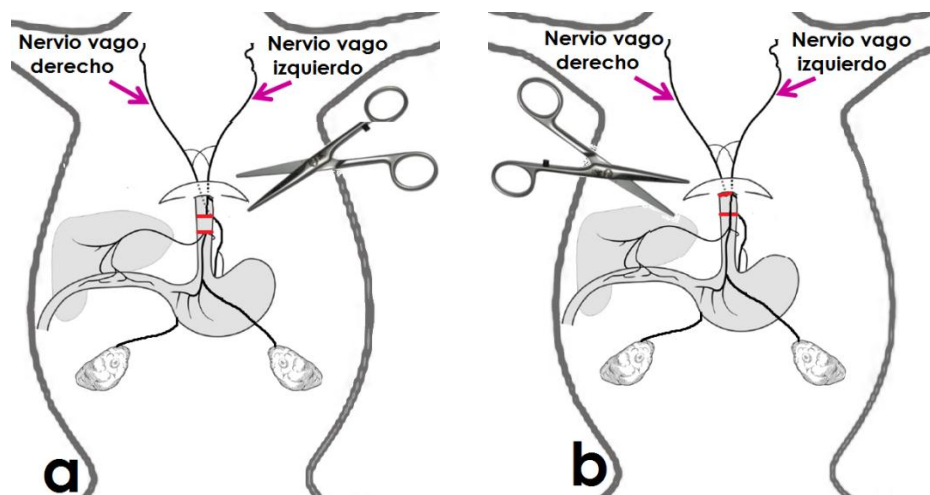


Figura 9. En el esquema **a** se muestra la sección del Nervio vago izquierdo (Nv-I) y permanece el Nervio vago derecho *in situ*. El esquema **b** muestra la sección del Nervio vago derecho (Nv.D) y permanece el Nervio vago izquierdo *in situ*.

Ovariectomía unilateral

Con el objetivo de cuantificar la tasa de animales ovulantes y el número de ovocitos que libera cada ovario en ausencia del otro, ratas en las mismas condiciones experimentales que el grupo con PP se les extirpó el ovario izquierdo (Ovx-I, permaneció el ovario derecho *in situ*) o el derecho (Ovx-D permaneció el ovario izquierdo *in situ*) (Figura 10).

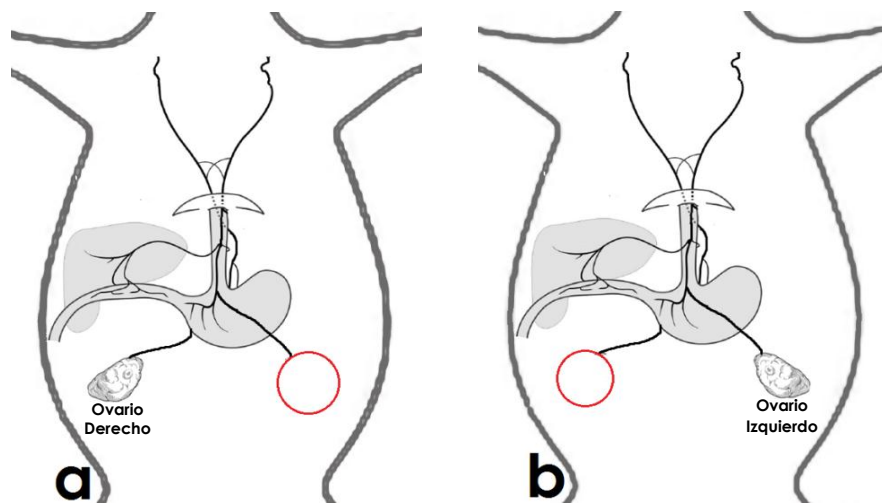


Figura 10. La ilustración **a** muestra un animal con el ovario derecho *in situ* (ovariectomía izquierda, Ovx-I), mientras que en la **b** un animal con el ovario izquierdo *in situ* (ovariectomía derecha, Ovx-D).

Vagotomía unilateral y Ovariectomía unilateral (contralateral)

Con el objetivo de analizar los efectos que tiene la presencia de un Nervio vago y el ovario contralateral al nervio seccionado sobre la ovulación, a los animales se les realizó la laparotomía ventral, se seccionó el Nervio vago izquierdo e inmediatamente se les extirpó el ovario derecho (Nv-I+Ovx-D). En otro grupo de ratas se seccionó el Nervio vago derecho y se extirpó el ovario izquierdo (Nv-D+Ovx-I) (Figura 11).

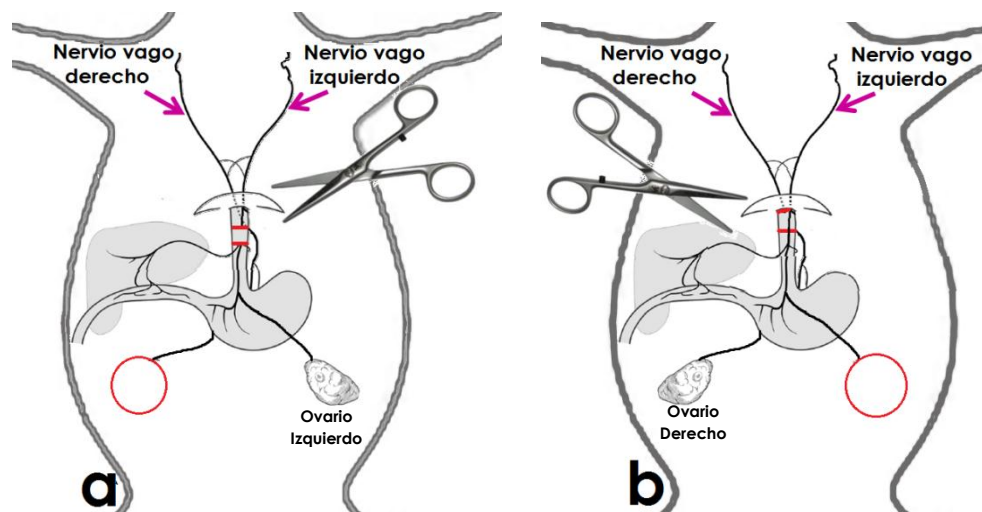


Figura 11. La ilustración **a** muestra la sección del Nervio vago izquierdo y después la extirpación del ovario derecho (Nv-I+Ovx-D) y por tanto el ovario izquierdo y Nervio vago derecho permanecen *in situ*. En la **b** se muestra la sección del Nervio vago derecho y posteriormente la ovariectomía izquierda (Nv-D+Ovx-I); así el ovario derecho y Nervio vago izquierdo permanecen *in situ*.

Ovariectomía unilateral y Vagotomía unilateral (contralateral)

El propósito de este grupo fue analizar el efecto de la falta del aporte hormonal del ovario seguido de la falta del Nervio vago contralateral a la extirpación del ovario sobre la ovulación. Por tanto, una vez realizada la laparotomía ventral se les extirpó el ovario izquierdo y después se les seccionó el Nervio vago derecho (Ovx-I+Nv-D) o se les extirpó el ovario derecho y se seccionó el Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I) (Figura 12).

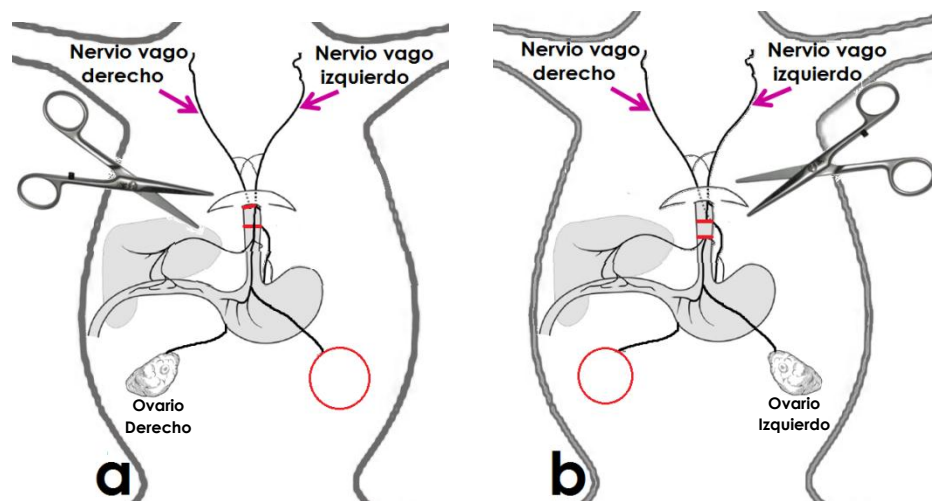


Figura 12. En la ilustración **a** se muestra un animal con ovariectomía izquierda y sección del Nervio vago derecho (Ovx-I+Nv-D); el ovario derecho y Nervio vago izquierdo permanecen *in situ*. En la ilustración **b** la ovariectomía derecha y la sección del Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I); el ovario izquierdo y Nervio vago derecho permanecen *in situ*.



PROCEDIMIENTO DE AUTOPSIA

Después de las intervenciones quirúrgicas se monitoreó el ciclo estral de los animales por medio de la toma de frotis vaginales diarios. Cuando presentaron el estro vaginal, ellos fueron sacrificados a las 17:00 h.

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

Se disecaron los ovarios y el útero, y se pesaron en una balanza de precisión. La masa de los órganos se expresó en miligramos por cada 100 gramos de masa corporal (mg/100 g M.C.).

Los resultados del número de ovocitos liberados, de la masa corporal y de la masa de los órganos fueron expresados como la media más menos el error estándar de la media (Media \pm e.e.m.).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

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



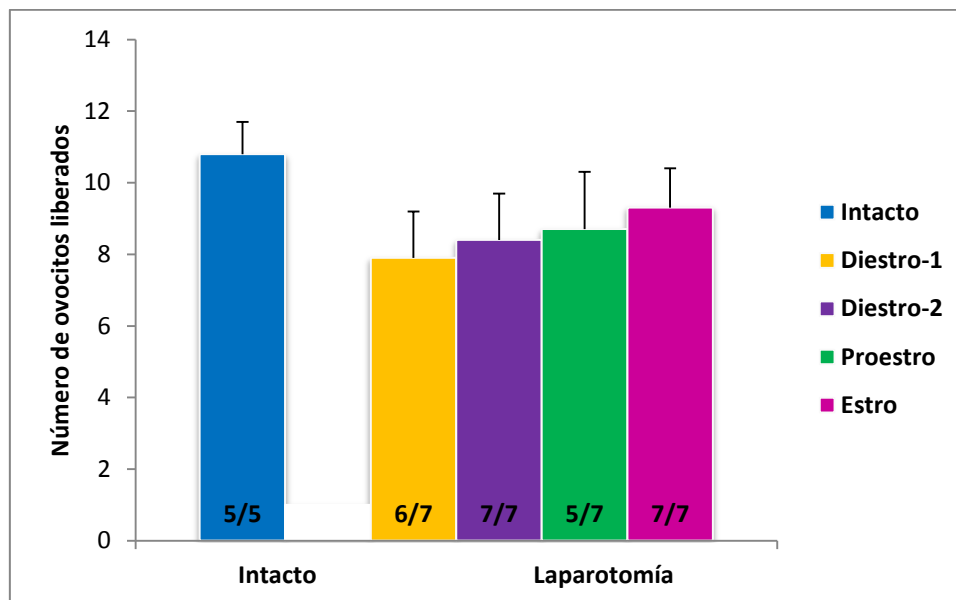
RESULTADOS

Animales intactos

El 100% de los animales intactos a las 17:00 h del estro vaginal liberó un número de ovocitos semejante por cada ovario (OI: 5.8 ± 1.0 vs. OD: 5.0 ± 0.5 , ns).

Efectos de la laparotomía ventral

La laparotomía ventral en la tarde de cada etapa del ciclo estral no resultó en cambios en la TAO o en el número de ovocitos liberados respecto a lo registrado en el grupo de animales intactos (Gráfica 1). En contraste, la cirugía en Diestro-1 o Estro aumentó la masa del útero (Cuadro 1).



Gráfica 1. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con laparotomía ventral a las 17:00 h en cada etapa del ciclo estral comparada con la de los animales intactos.



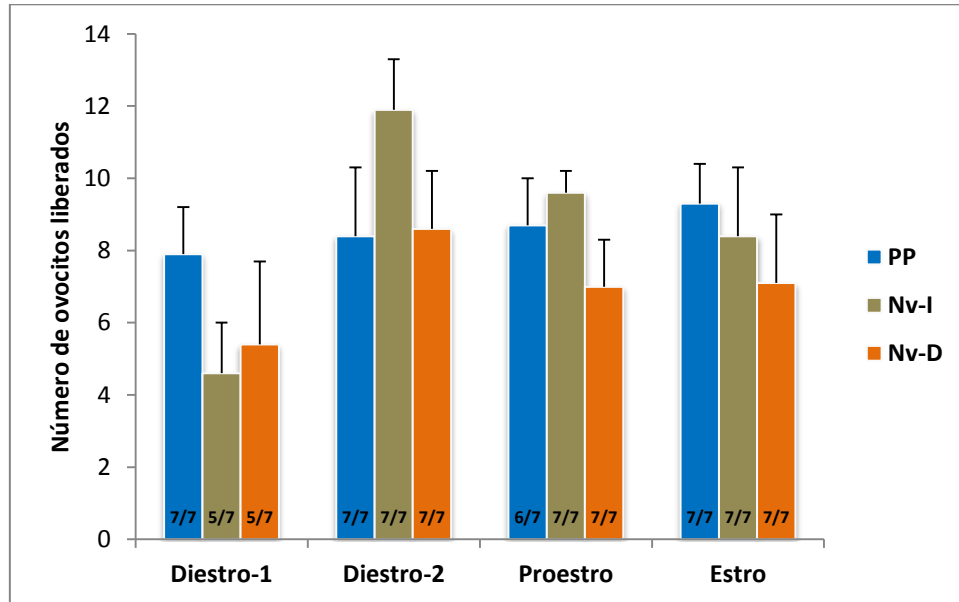
Cuadro 1. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y de órganos (mg/100 g M.C.) de animales intactos o con laparotomía ventral en cada etapa del ciclo estral de la rata.

<i>Etapas del ciclo estral</i>	<i>Grupo</i>	<i>n</i>	<i>Masa Corporal</i>	<i>Ovario izquierdo</i>	<i>Ovario derecho</i>	<i>Útero</i>
Diestro-1	Intacto	5	233.4 \pm 6.8	13.6 \pm 1.6	14.8 \pm 3.3	116.3 \pm 3.0
	Laparotomía	7	237.9 \pm 5.0	13.8 \pm 0.8	14.1 \pm 0.4	142.5 \pm 7.2*
Diestro-2	Intacto	5	233.4 \pm 6.8	13.6 \pm 1.6	14.8 \pm 3.3	116.3 \pm 3.0
	Laparotomía	7	243.0 \pm 5.9	14.6 \pm 0.6	14.0 \pm 0.5	139.8 \pm 14.2
Proestro	Intacto	5	233.4 \pm 6.8	13.6 \pm 1.6	14.8 \pm 3.3	116.3 \pm 3.0
	Laparotomía	7	248.4 \pm 5.6	14.6 \pm 1.1	14.7 \pm 0.7	109.2 \pm 5.4
Estro	Intacto	5	233.4 \pm 6.8	13.6 \pm 1.6	14.8 \pm 3.3	116.3 \pm 3.0
	Laparotomía	7	229.9 \pm 6.2	10.9 \pm 1.9	14.8 \pm 2.4	141.6 \pm 7.6*

* $p < 0.05$ vs Intacto respectivo (Prueba "t" de Student).

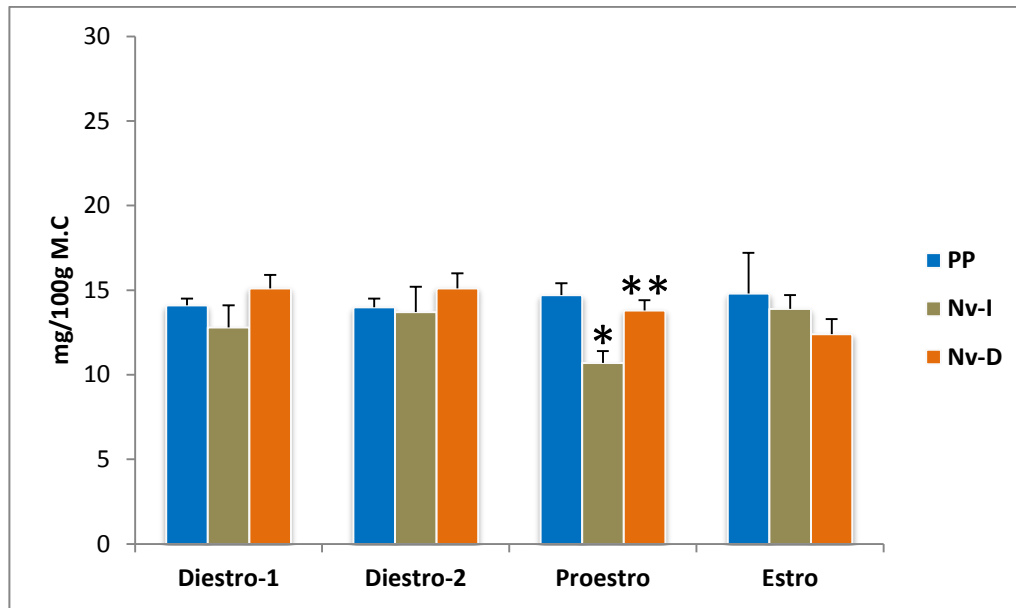
Efectos de la sección unilateral del Nervio vago

La sección del Nervio vago izquierdo (Nv-I) o derecho (Nv-D) no resultó en alteraciones significativas de la respuesta ovulatoria (Gráfica 2).



Gráfica 2. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales con vagotomía unilateral en cada etapa del ciclo estral comparada con la de los animales con laparotomía ventral (PP) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

La sección del Nv-I en el Proestro resultó en menor masa corporal y del ovario derecho, así como de aumento de la masa del útero respecto a la del grupo con laparotomía (Gráfica 3 y Cuadro 2).



Gráfica 3. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho de animales con sección del Nervio vago Izquierdo (Nv-I) o del nervio vago derecho (Nv-D) durante el ciclo estral comparada con la de los animales con laparotomía ventral (PP) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. M.C.=Masa Corporal * $p < 0.05$ vs PP; ** $p < 0.05$ vs Nv-I (Prueba ANDEVA seguida por prueba de Tukey).

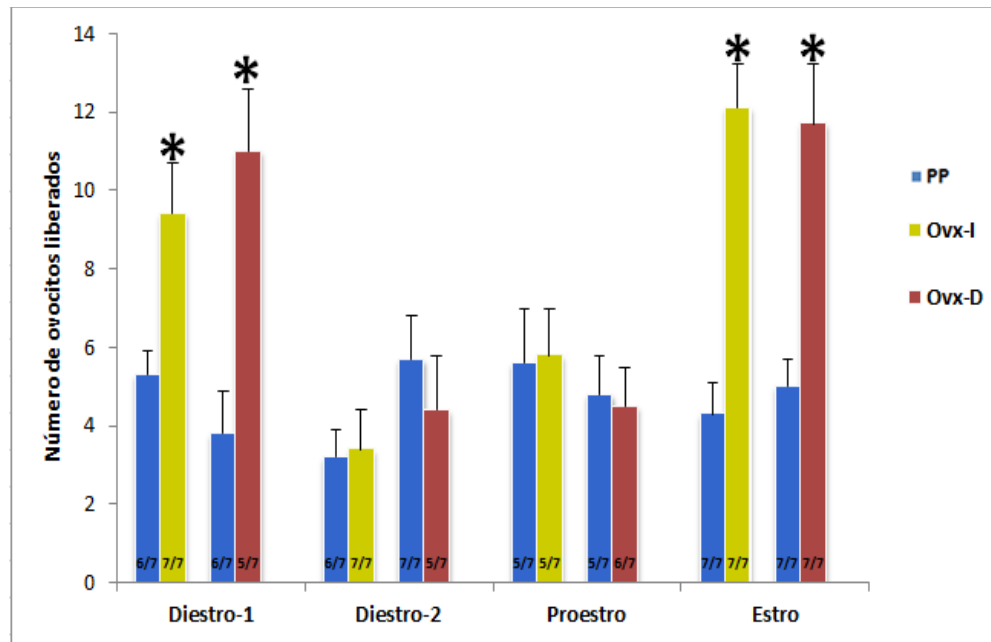
Cuadro 2. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y de los órganos (mg/100 g M.C.) de animales con laparotomía ventral o con denervación vagal unilateral en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal	Ovario izquierdo	Útero
Diestro-1	Laparotomía	7	237.9 \pm 5.0	13.8 \pm 0.8	142.5 \pm 7.2
	Nv-I	7	233.3 \pm 9.4	12.5 \pm 1.1	180.4 \pm 21.1
	Nv-D	7	229.3 \pm 5.1	13.7 \pm 0.6	191.0 \pm 32.5
Diestro-2	Laparotomía	7	243.0 \pm 5.9	14.6 \pm 0.6	139.8 \pm 14.2
	Nv-I	7	232.0 \pm 6.2	13.6 \pm 1.1	134.3 \pm 5.1
	Nv-D	7	232.0 \pm 7.0	13.3 \pm 1.0	125.5 \pm 4.0
Proestro	Laparotomía	7	248.4 \pm 5.6	14.6 \pm 1.1	109.6 \pm 3.0
	Nv-I	7	221.9 \pm 5.4*	15.3 \pm 0.9	149.2 \pm 4.1*
	Nv-D	7	237.9 \pm 5.6	14.6 \pm 0.4	127.2 \pm 9.0
Estro	Laparotomía	7	229.9 \pm 6.2	10.9 \pm 1.9	141.6 \pm 7.6
	Nv-I	7	225.4 \pm 5.9	14.5 \pm 0.7	142.3 \pm 8.3
	Nv-D	7	222.0 \pm 3.6	12.0 \pm 0.9	163.9 \pm 15.4

* $p < 0.05$ vs Laparotomía (Prueba de ANDEVA seguida por prueba de Tukey).

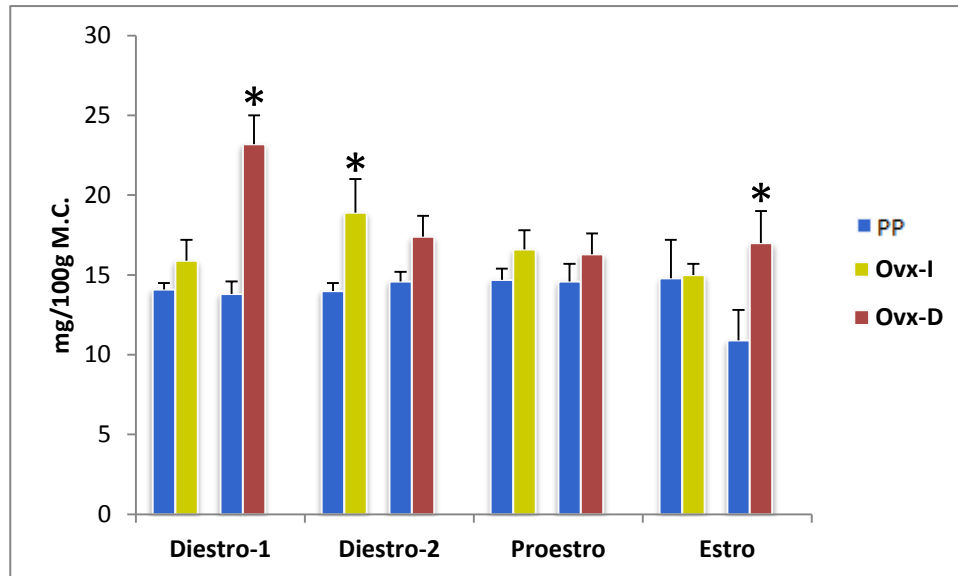
Efectos de la ovariectomía unilateral

La ovariectomía unilateral realizada en las etapas de Diestro-1 y Estro resultó en aumento del número de ovocitos liberados por el ovario remanente respecto a los del grupo sometido a laparotomía (Gráfica 4).



Gráfica 4. Tasa de animales ovulantes y media \pm e.e.m. del número de ovocitos liberados en animales sometidos a ovariectomía izquierda (Ovx-I, ovario derecho *in situ*) o a ovariectomía derecha (Ovx-D, ovario izquierdo *in situ*) en cada etapa del ciclo estral comparada con la de los animales con laparotomía ventral (PP) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. * $p < 0.05$ vs PP (Prueba "U" de Mann Withney).

La ovariectomía izquierda (Ovx-I) en Diestro-1 resultó en aumento de la masa del ovario remanente, lo mismo que la ovariectomía derecha Ovx-D realizada en Diestro-1 o Estro, respecto a la del grupo de intactos (Gráfica 5). Además, en los animales con Ovx-D en Diestro-2 se observó disminución de la masa corporal (Cuadro 3).



Gráfica 5. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho de animales sometidos a la extirpación del ovario izquierdo (Ovx-I) o del ovario izquierdo de animales sometidos a la extirpación del ovario derecho (Ovx-D) en cada etapa del ciclo estral comparada con la de los animales con laparotomía ventral (PP) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. M.C.=Masa Corporal. * $p < 0.05$ vs PP (Prueba "t" de Student).

Cuadro 3. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y del útero (mg/100 g M.C.) de animales con laparotomía u ovariectomía unilateral en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal	Útero
Diestro-1	Laparotomía	7	237.95 \pm 5.0	142.5 \pm 4.2
	Ovx-I	7	230.4 \pm 6.0	126.6 \pm 2.1
	Ovx-D	7	232.3 \pm 6.7	128.7 \pm 7.7
Diestro-2	Laparotomía	7	243.0 \pm 5.9	139.8 \pm 14.2
	Ovx-I	7	233.3 \pm 1.5	117.9 \pm 5.0
	Ovx-D	7	217.0 \pm 4.6*	138.8 \pm 9.1
Proestro	Laparotomía	7	248.4 \pm 5.6	109.2 \pm 5.4
	Ovx-I	7	238.6 \pm 5.9	148.2 \pm 6.9
	Ovx-D	7	231.9 \pm 7.4	145.9 \pm 8.6
Estro	Laparotomía	7	229.9 \pm 6.2	141.6 \pm 7.6
	Ovx-I	7	241.9 \pm 9.5	140.8 \pm 7.6
	Ovx-D	7	233.6 \pm 5.7	151.2 \pm 12.3

* $p < 0.05$ vs Laparotomía (Prueba "t" de Student).



Efectos de la sección unilateral del Nervio vago seguida de la ovariectomía contralateral

La sección del Nervio vago izquierdo seguida de la ovariectomía derecha (Nv-I+Ovx-D) no modificó la TAO ni el número de ovocitos liberados respecto a lo observado en los animales con sección unilateral del nervio (Cuadro 4). En contraste, la sección del Nv-D seguida de la ovariectomía izquierda (Nv-D+Ovx-I) en el Diestro-1 resultó en aumento de la TAO respecto a la de los animales con Nv-D (Cuadro 5).

Cuadro 4. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados en animales con sección del nervio vago izquierdo (Nv-I) o sección del Nervio vago izquierdo y ovariectomía derecha (Nv-I+Ovx-D) durante el ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

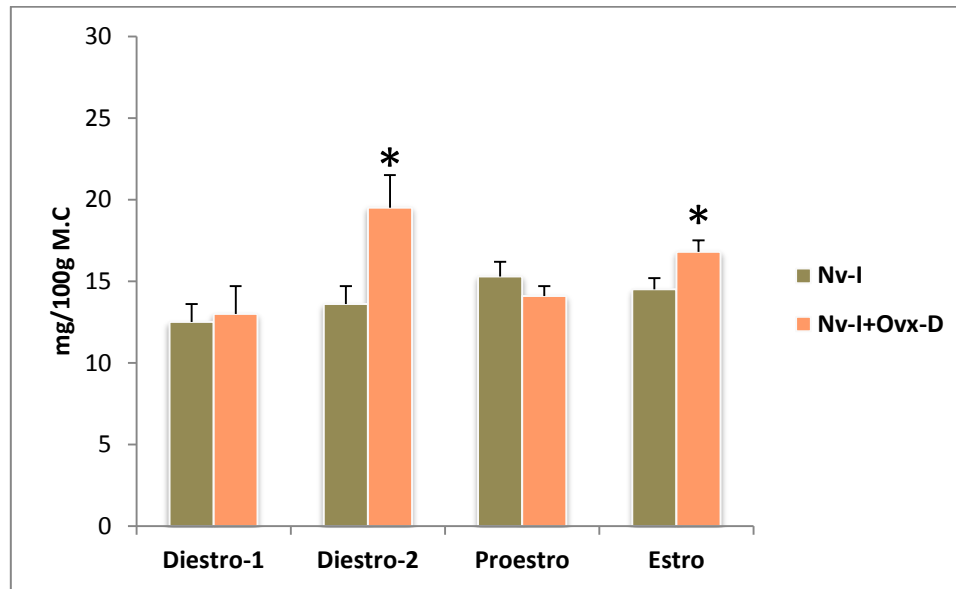
GRUPOS	Diestro-1		Diestro-2		Proestro		Estro	
	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Nv-I	4/7	3.3 \pm 1.3	7/7	6.4 \pm 0.8	6/7	4.2 \pm 0.6	6/7	4.7 \pm 1.1
Nv-I+Ovx-D	6/7	9.3 \pm 2.2	6/7	3.5 \pm 1.1	7/7	4.7 \pm 0.6	6/7	10.7 \pm 2.1

Cuadro 5. Tasa de animales ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados en animales con denervación vagal derecha (Nv-D) o denervación vagal derecha y extirpación del ovario contralateral (Nv-D+Ovx-I) en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados el día del estro vaginal posterior a la cirugía.

GRUPOS	Diestro-1		Diestro-2		Proestro		Estro	
	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Nv-D	3/7	6.0 \pm 2.6	6/7	4.2 \pm 0.7	6/7	3.8 \pm 1.6	6/7	5.2 \pm 1.5
Nv-D+Ovx-I	7/7*	7.6 \pm 1.9	6/7	6.8 \pm 1.1	7/7	3.1 \pm 0.6	5/7	8.6 \pm 2.2

*p<0.05 vs Nv-D (Prueba exacta de Fisher)

La Nv-I+Ovx-D en Diestro-2 y Estro resultó en aumento de la masa del ovario *in situ* (Gráfica 6), mientras que en el Proestro en el aumento de la masa corporal respecto a la del grupo con Nv-I (Cuadro 6).



Gráfica 6. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo en animales con sección del Nervio vago izquierdo y ovariectomía derecha (Nv-I+Ovx-D) en cada etapa del ciclo estral comparado con la masa del ovario izquierdo de animales con sección del Nervio vago izquierdo (Nv-I) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. M.C.=Masa Corporal. * $p < 0.05$ vs Nv-I (Prueba "t" de Student).

Cuadro 6. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y del útero (mg/100 g M.C.) de animales con denervación vagal izquierda o denervación vagal izquierda y ovariectomía derecha en cada etapa del ciclo estral.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal(g)	Útero
Diestro-1	Nv-I	7	233.3 \pm 9.4	180.4 \pm 21.2
	Nv-I+Ovx-D	7	234.0 \pm 9.3	141.9 \pm 9.6
Diestro-2	Nv-I	7	232.0 \pm 6.2	134.3 \pm 5.1
	Nv-I+Ovx-D	7	221.4 \pm 5.0	138.7 \pm 9.8
Proestro	Nv-I	7	221.9 \pm 5.4	149.2 \pm 4.1
	Nv-I+Ovx-D	7	242.3 \pm 7.2*	142.8 \pm 5.3
Estro	Nv-I	7	225.4 \pm 5.9	142.3 \pm 8.3
	Nv-I+Ovx-D	7	219.4 \pm 5.6	148.1 \pm 13.6

* $p < 0.05$ vs Nv-I (Prueba "t" de Student).



Por otro lado, la ovariectomía izquierda en los animales seguida de la sección del nervio vago derecho (Nv-D+Ovx-I) no resultó en alteraciones significativas de la masa corporal o de los órganos evaluados respecto a la del grupo con Nv-D (Cuadro 7).

Cuadro 7. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y de los órganos (mg/100 g M.C.) de animales con denervación vagal derecha o denervación vagal derecha y ovariectomía izquierda en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

Etapas del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal	Ovario derecho	Útero
Diestro-1	Nv-D	7	229.3 \pm 5.1	15.1 \pm 0.8	191.0 \pm 32.5
	Nv-D+Ovx-I	7	239 \pm 7.5	16.5 \pm 0.9	156.8 \pm 12.3
Diestro-2	Nv-D	7	232.0 \pm 7.0	15.1 \pm 0.9	125.5 \pm 4.0
	Nv-D+Ovx-I	7	235.4 \pm 7.8	14.6 \pm 1.1	118.2 \pm 19.2
Proestro	Nv-D	7	237.9 \pm 5.6	13.8 \pm 0.6	127.2 \pm 9.0
	Nv-D+Ovx-I	7	231.1 \pm 7.7	12.1 \pm 0.8	131.8 \pm 5.3
Estro	Nv-D	7	222.0 \pm 3.6	12.4 \pm 0.9	163.9 \pm 15.4
	Nv-D+Ovx-I	7	214.7 \pm 7.0	23.1 \pm 7.7	163.2 \pm 14.8

Efectos de la ovariectomía unilateral seguida de la sección unilateral del Nervio vago

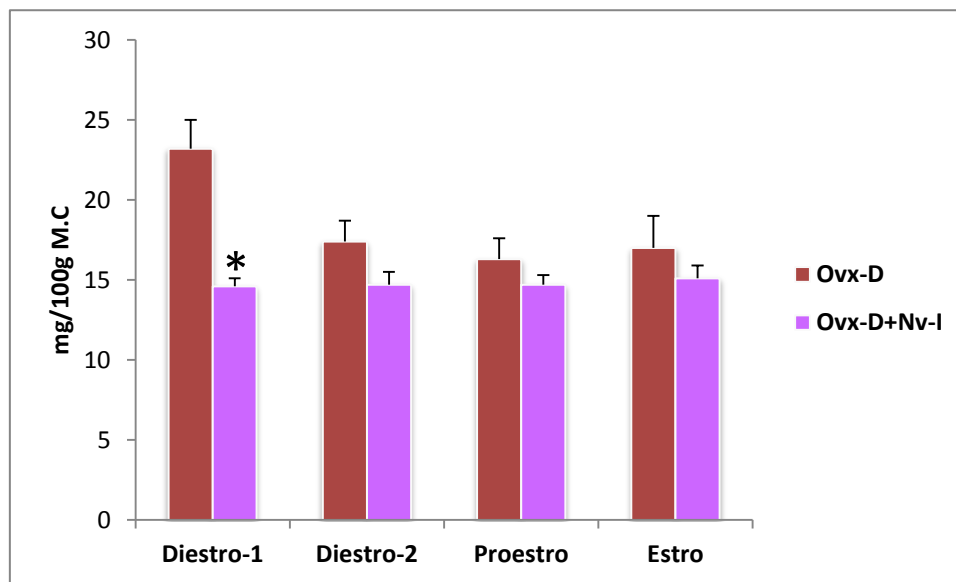
La respuesta del ovario *in situ* ante la sección del Nervio vago contralateral al ovario en cada etapa del ciclo estral no resultó en alteraciones de la TAO o número de ovocitos liberados, respecto a lo registrado en animales con ovariectomía unilateral (Cuadro 8 y 10).

La sección del Nv-I en animales con Ovx-D en Diestro-1 resultó en menor masa del ovario remanente respecto a la del grupo con Ovx-D, sin cambios significativos en la masa corporal o la de los otros órganos evaluados (Gráfica 7 y Cuadro 9).



Cuadro 8. Tasa de Animales Ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados en animales con ovariectomía derecha (Ovx-D) u ovariectomía derecha y sección del Nervio vago izquierdo (Ovx-D+Nv-I) en el ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

GRUPOS	Diestro-1		Diestro-2		Proestro		Estro	
	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos	TAO	No. de ovocitos
Ovx-D	5/7	11.0 \pm 1.6	5/7	4.4 \pm 1.4	6/7	4.5 \pm 1.0	7/7	11.7 \pm 1.5
Ovx-D+Nv-I	7/7	5.6 \pm 2.1	6/7	5.3 \pm 0.9	7/7	6.3 \pm 0.4	7/7	11.3 \pm 1.4



Gráfica 7. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario izquierdo en animales con ovariectomía derecha y denervación vagal izquierda (Ovx-D+Nv-I) o con ovariectomía derecha (Ovx-D) y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. M.C.=Masa Corporal. * p <0.05 vs Ovx-D (Prueba "t" de Student).



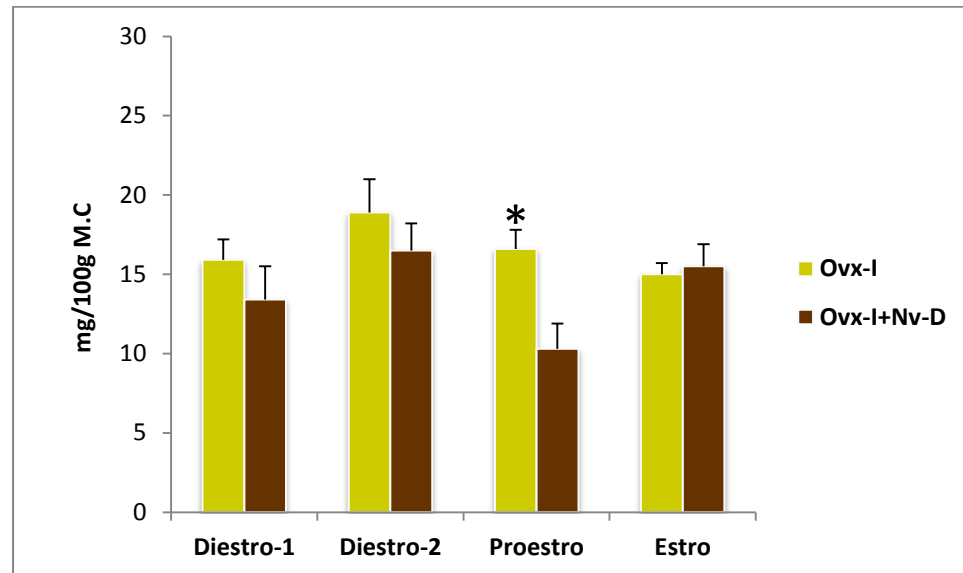
Cuadro 9. Media \pm e.e.m. de la masa corporal (g) y del útero (mg/100 g M.C.) de animales con ovariectomía derecha u ovariectomía derecha y vagotomía izquierda (Ovx-D+Nv-I) en cada etapa del ciclo estral y sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

<i>Etapa del ciclo estral</i>	<i>Grupo</i>	<i>n</i>	<i>Masa Corporal</i>	<i>Útero</i>
Diestro-1	Ovx-D	7	232.3 \pm 6.7	128.7 \pm 7.7
	Ovx-D+Nv-I	7	223.7 \pm 4.9	148.0 \pm 16.1
Diestro-2	Ovx-D	7	217 \pm 4.6	138.8 \pm 9.1
	Ovx-D+Nv-I	7	230.9 \pm 5.4	131.6 \pm 5.2
Proestro	Ovx-D	7	231.9 \pm 7.4	145.9 \pm 8.6
	Ovx-D+Nv-I	7	217.9 \pm 6.0	140.6 \pm 8.3
Estro	Ovx-D	7	233.6 \pm 5.7	151.2 \pm 12.3
	Ovx-D+Nv-I	7	231.0 \pm 4.5	124.1 \pm 6.1

Cuadro 10. Tasa de Animales Ovulantes (TAO) y media \pm e.e.m del número de ovocitos liberados en animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I) u ovariectomía izquierda y denervación vagal contralateral (Ovx-I+Nv-D) en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

GRUPOS	Diestro-1		Diestro-2		Proestro		Estro	
	<i>TAO</i>	<i>No. de ovocitos</i>	<i>TAO</i>	<i>No. de ovocitos</i>	<i>TAO</i>	<i>No. de ovocitos</i>	<i>TAO</i>	<i>No. de ovocitos</i>
Ovx-I	7/7	9.4 \pm 1.3	7/7	3.4 \pm 1.0	5/7	5.8 \pm 1.2	7/7	12.1 \pm 1.1
Ovx-I+Nv-D	6/7	7.8 \pm 1.9	6/7	6.0 \pm 1.5	6/7	5.5 \pm 0.5	7/7	11.9 \pm 0.6

Los resultados obtenidos al realizar la extirpación del ovario izquierdo e inmediatamente después seccionar el Nervio vago derecho (Ovx-I+Nv-D) variaron dependiendo de la etapa del ciclo estral en la que se realizaron los tratamientos. Cuando se realizó en el Diestro-1 se observó aumento de la masa del útero y en el Proestro, la masa del ovario *in situ* se redujo de manera importante (Gráfica 8), al igual que la masa corporal respecto a la de los animales con Ovx-I (Cuadro 11).



Gráfica 8. Media \pm e.e.m. de la masa del ovario derecho en animales con ovariectomía izquierda y denervación vagal derecha (Ovx-I+Nv-D) en cada etapa del ciclo estral comparado con la media \pm e.e.m de la masa del ovario derecho de animales con ovariectomía izquierda (Ovx-I), sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal. M.C.=Masa Corporal. * $p < 0.05$ vs Ovx-I (Prueba "t" de Student).

Cuadro 11. Media \pm e.e.m. de la masa de los órganos (mg/100g M.C.) de animales con ovariectomía izquierda u ovariectomía izquierda y vagotomía derecha (Ovx-I+Nv-D) en cada etapa del ciclo estral y que fueron sacrificados a las 17:00 h del estro vaginal.

Etapa del ciclo estral	Grupo	n	Masa Corporal(g)	Útero
Diestro-1	Ovx-I	7	230.4 \pm 6.0	126.6 \pm 2.1
	Ovx-I+Nv-D	7	222.3 \pm 5.2	163.1 \pm 13.9*
Diestro-2	Ovx-I	7	233.3 \pm 1.5	117.9 \pm 5.0
	Ovx-I+Nv-D	7	230.7 \pm 3.9	133.1 \pm 7.7
Proestro	Ovx-I	7	238.6 \pm 5.9	148.2 \pm 6.9
	Ovx-I+Nv-D	7	219.3 \pm 6.5*	135.7 \pm 5.4
Estro	Ovx-I	7	241.9 \pm 9.5	140.8 \pm 7.6
	Ovx-I+Nv-D	7	239.9 \pm 4.4	130.1 \pm 7.3

* $p < 0.05$ vs Ovx-I (Prueba "t" de Student).



ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este estudio son evidencia de que la información parasimpática y sensorial que llega a los ovarios vía Nervio vago a las 17:00 h forma parte de los mecanismos neuroendocrinos que modulan la acción de las gonadotropinas sobre la ovulación pero ésta no es crucial, lo cual depende de la etapa del ciclo estral en que se realice el estudio.

Los resultados indican la ausencia de asimetrías en la participación de la inervación vagal que arriba a cada ovario, pues la respuesta ovulatoria de los ovarios denervados es semejante. La carencia de un ovario es compensada anatómica y funcionalmente de manera diferente por el ovario remanente, lo que nos sugiere que la respuesta de las señales hormonales de los ovarios es asimétrica.

El estrés provocado por la anestesia y la laparotomía no modificó la ovulación, lo que nos sugiere que a las 17:00 h este tipo de estrés no modifica los mecanismos de regulación en las funciones de los ovarios. Estos resultados son similares a los de Guzmán (2010), Bonilla (2011) y Zárate (2011). El incremento de la masa del útero en los animales con laparotomía realizada en los días de Diestro-1 y Estro podrían explicarse por el aumento en la secreción de glucocorticoides y P₄, provocados por el estrés (Kalantaridou *et al.*, 2004).

Aunque el ovario izquierdo tiene una mayor representación en el SNC que el derecho (Toth *et al.*, 2007), la sección unilateral del Nervio vago no alteró los mecanismos neuroendocrinos involucrados con la ovulación. Este resultado es diferente a lo observado por Chávez y colaboradores (1989), quienes mostraron que la sección del Nervio vago izquierdo en la mañana de los diferentes días del ciclo estral, resulta en una menor ovulación por el ovario. Esta diferencia podría explicarse por la hora del día en que se realizaron ambos estudios, lo que apoya la idea de que



la participación del Nervio vago en los mecanismos de regulación de las funciones de los ovarios varía durante las horas del día.

En nuestro estudio los folículos en maduración culminaron su desarrollo hasta ovular sin requerir de los neurotransmisores aportados por el Nervio vago tal y como proponen Nakamura y colaboradores (1992). Dichos resultados coinciden con Burden (1986) quienes realizaron vagotomías abdominales en el día del Estro y observaron que el desarrollo folicular se mantuvo similar en los animales con laparotomía 15 días después de la cirugía. En contraste, la pérdida de la información vagal en la rata prepúber resultó en el retraso de la apertura vaginal (pubertad) debido a la disminución de E_2 y P_4 pero no de hormonas gonadotrópicas. Estos resultados son interpretados como una muestra de que la información que lleva el Nervio vago modula la acción de las gonadotropinas en forma estimulante sobre la esteroidogénesis (Mayerhoffer *et al.*, 1997; Morales *et al.*, 2004; Morales *et al.*, 2007).

Aunque el pico preovulatorio sucede aproximadamente a las 17:00 h en el día del Proestro, con los resultados obtenidos en este estudio se propone que los mecanismos que inducen dicha elevación de la concentración sérica de LH son estimulados desde varias horas antes, por lo que la pérdida de la información vagal no afecta el proceso ovulatorio por la tarde.

En ratas con ovariectomía unilateral la ovulación compensadora se observó sólo en los animales tratados en los días del Estro o Diestro-1, lo que nos sugiere que un mayor número de folículos alcanzaron la etapa preovulatoria y probablemente que la atresia folicular fue menor; además de que la ovulación compensadora en animales tratados a las 17.00 h es independiente del ovario remanente (Burden *et al.*, 1986; Trkuja y Lackovic, 2001). La falta de ovulación compensadora en los animales tratados en los días de Diestro-2 o Proestro es similar a lo observado por Chávez y colaboradores (1986; 1989).

La HCO (masa ovárica) dependió del ovario *in situ* y del día del ciclo estudiado, semejante a lo descrito por Barco (2003) y Domínguez (2003). Para



explicar estas diferencias propongo que el aumento en la masa del ovario izquierdo *in situ* se debe a un mayor número de cuerpos lúteos recién formados en el Diestro-1 y Estro, que son los días en los que se observó la ovulación compensadora (Chávez *et al.*, 1986; D'Albora y Barcia, 1996).

Flores y colaboradores (2011) mostraron diferencias observadas en las concentraciones séricas de hormonas esteroides al realizar sección de NOS seguida de la extirpación del ovario contralateral al nervio seccionado y al realizar sección del NOS en animales previamente ovariectomizados.

En el presente estudio la ovariectomía unilateral en ratas con sección unilateral del nervio vago no modificó la tasa de animales ovulantes ni el número de ovocitos liberados. Los estudios mostrados dan soporte a la idea de que la participación de la inervación vagal en la regulación de las funciones de los ovarios depende de la hora del día en estudio.

En el día del Diestro-1 la información que transcurre por el Nervio vago izquierdo es imprescindible para que ocurra la ovulación compensadora y la hipertrofia compensadora del ovario izquierdo. Esto no ocurrió cuando el ovario denervado fue el derecho, lo nos sugiere que la participación de la inervación vagal en este modelo experimental es asimétrica y varía durante el ciclo estral

Los resultados también apoyan la idea de que la extirpación de un ovario afecta la respuesta del ovario *in situ* de manera diferente a lo que hace la denervación unilateral, por lo que el orden de las cirugías da como resultado dos modelos experimentales distintos. Debido a que la denervación vagal previa a la extirpación de un ovario, permite que la información que corre por el Nervio vago sea suficiente para que el ovario *in situ* compense la pérdida del otro ovario; en cambio si la denervación se realiza posterior a la extirpación ovárica, el ovario remanente ya no compensa el proceso ovulatorio.

En conjunto los resultados obtenidos en el presente estudio nos sugieren que la participación del Nervio vago en la regulación de las funciones del ovario varía durante el ciclo estral y las horas del día.



CONCLUSIONES

- La laparotomía ventral realizada a las 17:00 h en cada etapa del ciclo estral, no representa un factor estresante que modifique los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación.
- En animales con ambos ovarios la información parasimpática y sensorial que llega a través de los Nervio vago no forma parte de los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación por la tarde de cada día del ciclo estral.
- En los animales con un ovario *in situ*, la participación del Nervio vago en los mecanismos neuroendocrinos que regulan la ovulación depende de la etapa del ciclo estral en estudio y es asimétrica.



ANEXO: BIOSÍNTESIS DE HORMONAS ESTEROIDES

Las hormonas de naturaleza proteica como la activina, inhibina y folistatina, son sintetizadas principalmente en las células de la granulosa, sin embargo las dos últimas también se encuentran en las células de la teca y en el cuerpo lúteo (Yin y Zhang, 1999).

Por otro lado, las progestinas, los andrógenos y los estrógenos son las hormonas esteroideas secretadas por el ovario; de naturaleza hidrófoba son derivadas del colesterol y se producen en las células de la teca interna, la granulosa y células luteales (Yin y Zhang, 1999). La relación y función de estos esteroideos varía de acuerdo al ciclo ovárico y estral (Domínguez *et al.*, 1991; Hadley, 2000).

La biosíntesis inicia cuando las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se unen a sus receptores en la membrana plasmática de las células y se forma una vesícula, la cual se une a un lisosoma; cuando este complejo se forma las enzimas proteasas y estererasas actúan en la degradación y desdoblamiento de las moléculas con el fin de obtener el colesterol (Van Voorhis, 1999b; Glew, 2004).

Gracias a las proteínas transportadoras, el colesterol es traslocado a la mitocondria donde ocurre el clivaje de su cadena lateral debido a la acción de la enzima P450_{scc} y a las hidroxilaciones en el C-20 y C-22 (unión C-20,22); en consecuencia se obtiene la formación de pregnenolona de 21 carbonos (Hanukoglu, 1992; Brown, 1999; Hinshelwood, 1999).

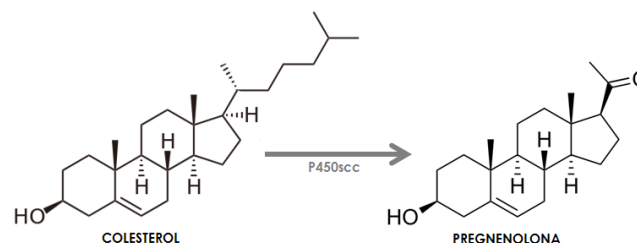


Figura 13. Conversión de colesterol a pregnenolona en la mitocondria celular de la teca (Tomada y modificada de Hinshelwood, 1999; Koolman, 2004).



La recién formada pregnenolona abandona la mitocondria y es en el retículo endoplasmático liso donde sufre de una hidroxilación e hidrogenación por la acción enzimática de la 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3 β -HSD) que realiza la conversión a P₄ (Hanukoglu, 1992; Brown, 1999; Hinshelwood, 1999; Yoshinaga, 1999).

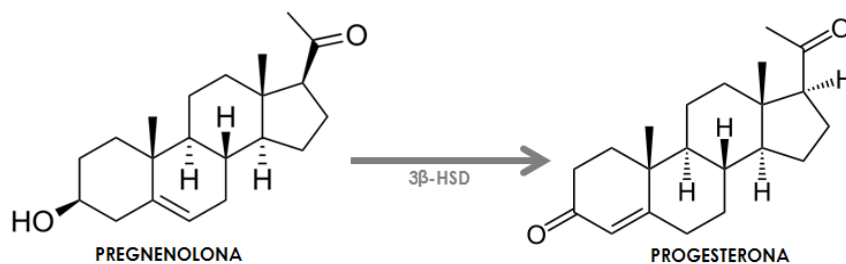


Figura 14. Conversión de pregnenolona a progesterona en las células de la teca interna (Tomada y modificada de Hinshelwood, 1999; Koolman, 2004).

La conversión de P₄ a androstenediona se debe a la enzima P450_{17 α} , la cual cataliza dos acontecimientos; primero la hidroxilación del C-17 que da como resultado la 17-hidroxiprogesterona y posteriormente la unión del C-20 y C-21 (Hanukoglu, 1992; Brown, 1999; Hinshelwood, 1999).

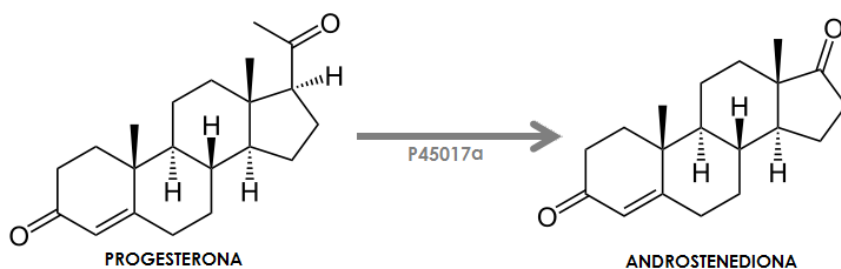


Figura 15. Transformación de progesterona a androstenediona (Tomada y modificada de Hinshelwood, 1999; Koolman, 2004).

La última conversión enzimática que se realiza en las células de la teca es la producción de la testosterona. La enzima que participa es la 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD), la cual rompe el doble enlace del C-17 y lo convierte en un grupo hidroxilo (OH) (Hanukoglu, 1992; Hinshelwood, 1999; Robaire, 1999).

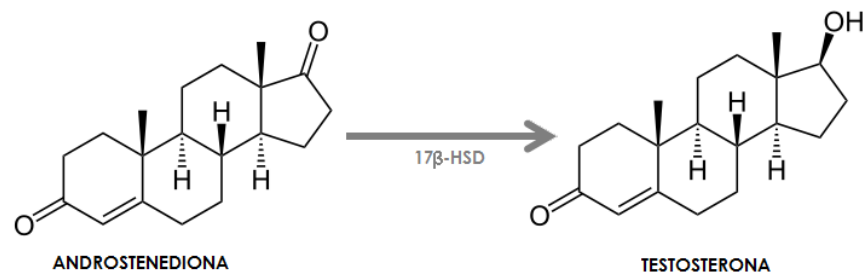


Figura 16. Transformación androstenediona a testosterona (Tomada y modificada de [Hinshelwood, 1999](#); [Koolman, 2004](#)).

El recién convertido andrógeno traspasa la membrana basal del folículo y llega a las células de la granulosa donde ocurre su aromatización gracias a la enzima $P450_{\text{arom}}$, esta conversión implica la eliminación del C-19, la hidroxilación en el C-3 y la adición de dobles enlaces al anillo A, transformándolo en un anillo fenolítico, el cual caracteriza a todos los estrógenos. El producto final de esta reacción enzimática es la formación del 17β -estradiol (E_2), el estrógeno con mayor actividad biológica ([Hanukoglu, 1992](#); [Hinshelwood, 1999](#); [Smith, 1999](#); [Yoshinaga, 1999](#)).

Por otro lado, la androstenediona también puede ser aromatizada y convertirse directamente en estrona. Este esteroide también se puede sintetizar en el hígado, gracias a la actividad enzimática 17β -HSD sobre el precursor 17β -estradiol ([Yoshinaga, 1999](#)).

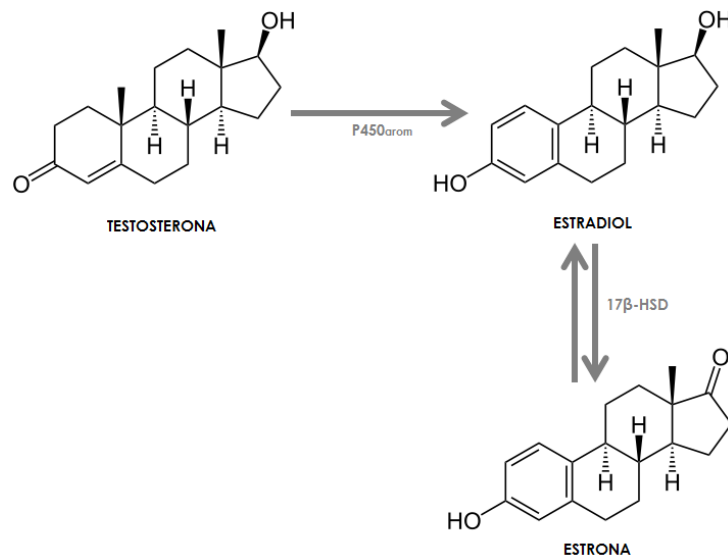


Figura 17. Aromatización de testosterona a estrógenos en células de la granulosa (Tomada y modificada de [Hinshelwood, 1999](#); [Koolman, 2004](#)).



Los estrógenos son el producto más importante secretado por los ovarios debido a las múltiples funciones que realiza en el aparato reproductivo de las hembras al igual que en otros tejidos u órganos (Lindzey y Korach, 1999; Uphouse y Maswood, 1999). El aporte esteroidogénico depende de la coordinación entre células de la teca y de la granulosa, así como de la acción de las gonadotropinas que regulan la actividad de las enzimas involucradas en la síntesis de las hormonas esteroideas (Van Voorhis, 1999).

En el folículo preovulatorio, cuando la LH se une a su receptor en las células de la teca se genera la activación de las enzimas $P450_{\text{SCC}}$, $P450_{17\alpha}$ y $3\beta\text{-HSD}$ vía AMPc, por tanto la producción de pregnenolona y andrógenos se ve estimulada (Hanukoglu, 1992; Van Voorhis, 1999; Yoshinaga, 1999; Orisaka *et al.*, 2006). Debido a la ausencia de las enzimas para sintetizar los estrógenos en las células tecales, los andrógenos atraviesan la membrana basal del folículo hasta alcanzar las células de la granulosa; donde los receptores de FSH al unirse con su hormona forman un complejo que actúa en la proteína Adenilato Ciclasa y ésta a su vez genera un aumento de AMPc en la célula. Gracias a las fosforilaciones desencadenadas por el AMPc se estimula la enzima aromatasa y en consecuencia la síntesis de estrógenos (Domínguez *et al.*, 1991; Yoshinaga, 1999). A dicho proceso se le llama “Teoría de la doble célula-doble hormona” debido a que en este punto del desarrollo folicular, el folículo es dependiente de dos células (teca y granulosa) y de dos gonadotropinas (LH y FSH) para la secreción exitosa de estradiol (Figura 11) (Van Voorhis, 1999).

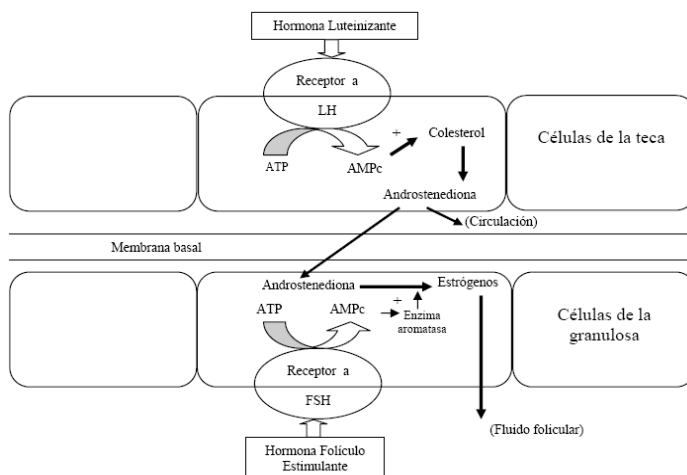


Figura 18. Teoría de la doble célula-doble hormona. La LH estimula la producción de AMPc en las células de la teca interna y la conversión de colesterol a andrógenos. Los andrógenos viajan a la circulación y atraviesan la membrana basal hasta las células de la granulosa. En las células de la granulosa la FSH activa la producción del AMPc, lo que estimula el incremento de la enzima aromatasa y la conversión de andrógenos a estrógenos (Tomada de Yao y Barh, 1999).



BIBLIOGRAFÍA

Aguado LI. 2002. Role of the central and peripheral nervous system in the ovarian function. *Microscopy research and technique*, 59: 462-473.

Allen LG, Lawrence LE, Burden HW, Hodson CA. 1985. Effects of abdominal vagotomy on serum LH concentrations in female rats. *Journal of reproduction and fertility*, 74(1): 87-94.

Ayalon D, Tsafiriri A, Linder H, Cordova T, Harell A. 1972. Serum gonadotrophin levels in pro-oestrous rats in relation to the resumption of meiosis by the oocytes. *Journal of reproduction and fertility*, 31: 51-58.

Barbacka-Surowiak G, Surowiak J, Stklosowa S. 2003. The involvement of the suprachiasmatic nuclei in the regulation of estrous cycles in rodents. *Reproductive biology*, 3(2): 99-129.

Barco AI, Flores A, Chavira, R, Damián-Matsumura P, Domínguez R, Cruz ME. 2003. Asymmetric effects of acute hemiovariectomy on steroid hormone secretion by the *in situ* ovary. *Endocrine*, 21(3): 209-215.

Blake CA. 1999. Gonadotropin secretion, Control of. p. 528-552. *In*: Knobil E. and Neill JD. (eds.). *Encyclopedia of reproduction Vol. 2.* Academic Press, USA.

Bonilla E, Ramírez J, Guzmán MG, Pimentel KA, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. 2011. Efectos de la sección del Nervio vago en los días del diestro a las 09:00 h o a las 13:00 h sobre la ovulación de la rata adulta con o sin ovariectomía unilateral. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas A.C.

Botella LJ. 1995. El Ovario; fisiología y patología. p. 130-134. Diaz de Santos. España.



Bousfield GR. 1999. LH (Luteinizing Hormone). p. 1034-1054. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 2. Academic Press, USA.

Brown TR. 1999. Steroid hormones, Overview. p. 634-644. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 4. Academic Press, USA.

Burden HW. 1978. Neural modulation of ovarian function. Trends in neurosciences, 1(2): 85-86.

Burden HW, Lawrence IE. 1977. The effect of denervation on compensatory ovarian hypertrophy. Neuroendocrinology, 23(6): 368-378.

Burden HW, Lawrence IE Jr, Louis TM, Hodson CA. 1981. Effects of abdominal vagotomy on the estrous cycle of the rat and the induction of pseudopregnancy. Neuroendocrinology, 33(4): 218-222.

Burden HW, Leonard M, Smith CP, Lawrence IE Jr. 1983. The sensory innervation of the ovary: a horseradish peroxidase study in the rat. The anatomical record, 207(4): 623-627.

Burden HW, Lawrence IE Jr, Smith CP, Hoffman J, Leonard M, Fletcher DJ, Hodson CA. 1986. The effects of vagotomy on compensatory ovarian hypertrophy and follicular activation after unilateral ovariectomy. The anatomical record, 214(1): 61-66.

Campbell BK. 2009. The endocrine and local control of ovarian follicle development in the ewe. Animal reproduction, 6(1): 159-171.

Ciria CJ. 1995. Anatomía del aparato genital femenino. p. 149-160. *En:* Buxadé, C. (ed.) Zootecnia Bases de producción animal. Tomo 1 Estructura, etnología, anatomía y fisiología animal. Mundi-Prensa. Madrid.

Charli J, Ponce G, Joseph-Bravo P. 1991. Los mecanismos de regulación de la actividad de las neuronas LHRH-érgicas hipotalámicas. p. 57-72. *En:* Domínguez R. (ed.) Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción. Miguel Ángel Porrúa. México.



Chávez R, Cruz ME, Domínguez R. 1986. Differences in the ovulation rate of the right or left ovary in unilaterally ovariectomized rats: effect of ipsi- and contralateral vagus nerves on the remaining ovary. *The journal of endocrinology*, 113(3): 397-401.

Chávez R, Sánchez S, Ulloa-Aguirre A, Domínguez R. 1989. Effects on oestrous cyclicity and ovulation of unilateral section of the vagus nerve performed on different days of the oestrous cycle in the rat. *The journal of endocrinology*, 123(3): 441-444.

Chedrese J. 2003. Regulación autocrina y paracrina del desarrollo follicular I: efecto de los esteroides. *Revista Colombiana de Ciencias. Pecuarias*, 16: 2.

Choi Y, Rajkovic A. 2006. Genetics of early mammalian folliculogenesis. *Cellular and molecular life sciences*, 63(5): 579-590.

Collins JJ, Lin CE, Berthoud HR, Papka RE. 1999. Vagal afferents from the uterus and cervix provide direct connections to the brainstem. *Cell & tissue research*, 295(1): 43-54.

Conn PM, Jennes L, Janovick JA. 1999. GnRH (Gonadotropin-Releasing Hormone). p. 464-477. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 2. Academic Press, USA.*

Counis R. 1999. Gonadotropin biosynthesis. p. 507-520. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 2. Academic Press, USA.*

Crisp TM. 1992. Organization of the ovarian follicle and events in its biology: oogenesis, ovulation or atresia. *Mutation research*, 296(1-2): 89-106.

D'Albora H, Anesetti G, Lombide P, Des WL, Ojeda SR. 2002. Intrinsic neurons in the mammalian ovary. *Microscopy research technique*, 59(6): 484-489.

D'Albora H, Barcia JJ. 1996. Intrinsic neuronal cell bodies in the rat ovary. *Neuroscience letters*, 205(1): 65-67.



Dailey RA. 1999. Female reproductive system, nonhuman mammals. p. 229-239. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 2. Academic Press, USA.

Dekel N, Phillips DM. 1979. Maturation of the rat cumulus oophorus. A scanning electron microscopic study. *Biology of reproduction*, 21: 9-18.

Dekel N, Kraicer PF, Phillips DM, Sanchez RS, Segal SJ. 1978. Cellular Associations in the rat oocyte-cumulus cell complex: morphology and ovulatory changes. *Gamete research*, 1: 47-57.

Dissen GA, Ojeda SR. 1999. Ovarian innervation. p. 583-589. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 3. Academic Press, USA.

Dissen GA, Paredes A, Romero C, Lees Dees W, Ojeda SR. 2004. Neural and Neurotrophic Control of Ovarian Development. p. 3-23. *In:* Leung PCK and Adashi EY. (eds.). *The Ovary*. 2nd ED. Elsevier. USA

Domínguez R, Chávez R, Cruz ME. 1991. La regulación del crecimiento y del desarrollo del folículo ovárico. p. 161-192. *En:* Domínguez R. (ed.). *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. Miguel Ángel Porrúa. México.

Domínguez R, Morales L, Cruz ME. 2003. Ovarian Asymmetry. *Annual Review of Biomedical Sciences*, 5: 95-104.

Edson MA, Nagaraja AK, Matzuk MM. 2009. The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocrine reviews*, 30(6): 624-712.

Eppig JJ. 2001. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 122(6): 829-838.

Eppig JJ, Wigglesworth K, Pendola FL. 2002. The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(5): 2890-2894.



Espey LL. 1980. Ovulation as an inflammatory reaction –A hypothesis. *Biology of reproduction*, 22(1): 73-106.

Espey LL. 1999. Ovulation. p. 605-614. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 3. Academic Press, USA.*

Espey LL, Richards JS. 2006. Ovulation. p. 425-474. *In: Neill JD. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Vol. 1. 3rd Edith. Academic Press. USA.*

Everardo P, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. 2011. Efectos de la ovariectomía unilateral realizada en la mañana, tarde y noche del diestro-2 y proestro sobre la ovulación compensadora. La rata adulta como modelo de estudio. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad O56. León, Guanajuato.

Everett JW, Sawyer CH. 1950. A 24-hour periodicity in the “LH-release apparatus” of female rats disclosed by barbiturate sedation. *Endocrinology*, 47(3): 198-218.

Findlay JK, Drummond AE, Fry RC. 1996. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. *Animal reproduction science*, 42(1-4): 321-331.

Flores A, Rodríguez JO, Palafox MT, Meléndez G, Barco AI, Chavira R, Cruz ME, 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.

Fortune JE. 2003. The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Animal reproduction science*, 78(3-4): 135-163.

Frager MS, Pieper DR, Tonetta SA, Duncan JA, Marshall JC. 1981. Pituitary Gonadotropin-releasing hormone receptors. Effects of castration steroid



replacement and the role of gonadotrophin-releasing hormone in modulation in the rat. *The journal of clinical investigation*. 67(63): 615-623.

Freeman ME. 2006. Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. p. 2327-2388. *In: Neill JD. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Vol. 2. 3rd Edith. Academic Press. USA.*

Gelety TJ, Magoffin DA. 1997. Ontogeny of steroidogenic enzyme gene expression in ovarian theca-interstitial cells in the rat: regulation by a paracrine theca-differentiating factor prior to achieving luteinizing hormone responsiveness. *Biology of reproduction*, 56(4): 938-345.

Gerendai I, Csaba Z, Vokó Z, Csernus V. 1995. Involvement of a direct neural mechanism in the control of gonadal functions. *Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 53(1-6): 299-305.

Gerendai I, Halász B. 1997. Neuroendocrine asymmetry. *Frontiers in neuroendocrinology*, 18(3): 354-381.

Gerendai I, Halász B. 2001. Assymetry of the neuroendocrine system. *News in physiological sciences: an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, 16: 92-95.

Gerendai I, Kocsis K, Halász B. 2002. Supraspinal connections of the ovary: structural and functional aspects. *Microscopy research and technique*, 59(6): 474-483.

Gerendai I, Rotsztejn W, Marchetti B, Kordon C, Scapagnini U. 1978. Unilateral ovariectomy-induced luteinizing hormone-releasing hormone content changes in the two halves of mediobasal hypothalamus. *Neuroscience letters*, 9(4): 333-336.



Gerendai I, Tóth IE, Boldogkői Z, Medveczky I, Halász B. 2000. CNS structures presumably involved in vagal control of ovarian function. *Journal of the autonomic nervous system*, 80(1-2): 40-45.

Gilbert RFT, Emson PC, Fahrenkrug J, Lee CM, Penman E, Wass J. 1980. Axonal transport of neuropeptides in the cervical vagus nerve of the rat. *Journal neurochemistry*, 34(1): 108-113.

Glew RH. 2004. Metabolismo lipídico II: rutas metabólicas de lípidos especiales. p. 728-774. *En: Devlin, T.M. (ed.). Bioquímica. 4ª Ed. Reverté. Barcelona.*

Goldman BD. 1999. The circadian timing system and reproduction in mammals. *Steroids*, 64: 679-685.

Goldman JM, Murr AS, Cooper RL. 2007. The rodent estrous cycle: characterization of vaginal cytology and its utility in toxicological studies. *Birth defects research (Part B)*, 80: 84-97.

Guzmán MG, Pimentel KA, Flores A, Cruz ME, Domínguez R. 2010. Participación del Nervio Vago y las glándulas adrenales en la duración del ciclo estral y la ovulación en la rata. LIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas, Publicado en las memorias de la Sociedad C. Villahermosa, Tabasco.

Hanukoglu I. 1992. Steroidogenic enzymes: structure, function, and role in regulation of steroid hormone biosynthesis. *The journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 43(8): 779-804.

Hardy DF. 1972. Sexual behavior in continuously cycling rats. *Behavior*, 41(3): 288-97.

Hartman CG. 1944. Some new observations on the vaginal smear of the rat. *Yale journal of biology and medicine*, 17(1): 99-112.

Hickman CP. 2009. *Principios Integrales de Zoología. McGrawHill. 14ª ED.*



Hill RW, Wyse GA, Anderson M. 2006. Fisiología Animal. p. 457-491. Editorial Médica Panamericana. España.

Hilliard J. 1973. Corpus Luteum function in guinea pigs, hamsters, rats, mice and rabbits. *Biology of reproduction*, 8: 203-221.

Hillier SG. 2001. Gonadotropic control of ovarian follicular growth and development. *Molecular and cellular endocrinology*, 179: 39-46.

Hillier SG, Zeleznik AJ, Knazek RA, Ross GT. 1980. Hormonal regulation of preovulatory follicle maturation in the rat. *Journal of reproduction and fertility*, 60: 219-229.

Hinshelwood MM. 1999. Steroidogenesis, Overview. p. 644-653. *In*: Knobil E. and Neill JD. (eds.). *Encyclopedia of reproduction Vol. 4*. Academic Press, USA.

Hirshfield AN. 1988. Size-frequency analysis of atresia in cycling rats. *Biology of reproduction*, 38: 1181-1188.

Hirshfield AN. 1991a. Development of follicles in the mammalian ovary. *International review of cytology*, 124: 43-101.

Hirshfield AN. 1991b. Theca cells may be present at the outset of follicular growth. *Biology of reproduction*, 44: 1157-1162.

Hirshfield AN, Midgley AR. 1978. Morphometric analysis of follicular development in the rat. *Biology of reproduction*, 19: 597-605.

Horn CC, Friedman MI. 2005. Thoracic cross-over pathways of the rat vagal trunks. *Brain research*, 1060: 153-161.

Huang WY, Pearlman WH. 1963. The Corpus Luteum and steroid hormone formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 238(4): 1308-1315.

Huang CTF, Weistman SR, Dykes BN, Magoffin DA. 2001. Stem Cell Factor and Insuline-like Growth Factor-I stimulate Luteinizing Hormone-independent differentiation of rat ovarian theca cells. *Biology of reproduction*, 64: 451-456.



Huhtaniemi I. 2004. Functional consequences of mutations and polymorphisms in gonadotropin and gonadotropin receptor genes. p. 55-78. *In:* Leung PCK. and Adashi EY. (eds.). *The Ovary*. 2nd Edith. Elsevier. USA.

Hussein MR. 2005. Apoptosis in the ovary: molecular mechanisms. *Human reproduction update*, 11(2): 162-178.

Jácome RA. 2005. *Fisiología Endocrina*. p. 43-56. Academia Nacional de Medicina. 3^a Ed. Colombia.

Juengel JL, McIntush EW, Niswender GD. 1999. Corpus Luteum. p. 703-709. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.) *Encyclopedia of reproduction* Vol. 3. Academic Press, USA.

Kaipia A, Hsueh AJW. 1997. Regulation of ovarian follicle atresia. *Annual review physiology*, 59: 349-63.

Kalantaridou SN, Makrigiannakis A, Zoumakis E, Chrousos GP. 2004. Stress and the female reproductive system. *Journal of reproductive immunology*, 62: 61-68.

Karim MA, Leong SK. 1980. Neurons of origin of cervical vagus nerves in the rat and monkey. *Brain research*, 186: 208-210.

Kauffman AS, Rissman EF. 2003. Neuroendocrine control of mating-induced ovulation. p. 2283-2326. *In:* Neill JD. (ed.) *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*. 3rd Edith. Academic Press, USA.

Kennaway DJ. 2005. The role of circadian rhythmicity in reproduction. *Human reproduction update*, 11(1): 91-101.

Klein CM, Burden HW. 1988. Anatomical localization of afferent and postganglionic sympathetic neurons innervating the rat ovary. *Neuroscience letters*, 85: 217-222.



Klein SM, Schwartz NB. 1999. Estrous cycle. p. 127-136. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

Koolman J, Rôhm KH. 2004. Bioquímica Texto y Atlas. 3a ed. Editorial Médica Panamericana. Alemania.

Lawrence IE, Burden HW, Louis TM. 1978. Effect of abdominal vagotomy of the pregnant rat on LH and progesterone concentrations and fetal resorption. Journal of reproduction and fertility, 53: 131-136.

Lawrence IE, Burden HW. 1980. The Origin of the extrinsic adrenergic innervations to the rat ovary. The anatomical record, 196: 51-59.

Les Dees W, Hiney JK, McArthur NH, Johnson GA, Dissen GA, Ojeda SR. 2006. Origin and ontogeny of mammalian ovarian neurons. Endocrinology, 147(8): 3789-3796.

Levine JE. 1999. GnRH pulse generator. p. 478-482. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of reproduction Vol. 2. Academic Press, USA.

Lindzey L, Korach KS. 1999. Estrogen Action on the Female Reproductive Tract. p. 79-86. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

Löfman CO, Brännström M, Holmes PV, Janson PO. 1989. Ovulation in the isolated perfused rat ovary as documented by intravital microscopy. Steroids, 54(5): 481-90.

McGee EA, Hsueh AJW. 2000. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles. Endocrine Reviews, 21(2): 200-214.

Magarelli PC, Zachow RJ, Magoffin DA. 1996. Developmental and hormonal regulation of rat Theca-cell Differentiation Factor secretion in ovarian follicles. Biology of reproduction, 55: 416-420.



Magoffin DA, Weistman SR. 1993. Insuline-like Growth Factor-I stimulates the expression of 3 β -Hidroxysteroid Dehydrogenase Messenger Ribonucleic Acid in ovarian theca-interstitial cells. *Biology of reproduction*, 48: 1166-1173.

Malamed S, Gibney JA, Ojeda SR. 1992. Ovarian innervations develop before initiation of folliculogenesis in the rat. *Cell & tissue research*, 270: 87-93.

Mandl AM. 1951. The phases of the oestrous cycle in the adult white rat. *Journal of experimental biology*, 28: 576-584.

Mandl AM. 1963. Pre-ovulatory changes in the oocyte of the adult rat. *Royal society publishing*, 158(970): 105-118.

Matzuk MM, Burns KH, Viveiros MM, Eppig JJ. 2002. Intercellular communication in the mammalian ovary: Oocytes carry the conversation. *Science*, 296: 2178-2180.

Mayerhofer A, Dissen GA, Costa ME, Ojeda SR. 1997. A Role for Neurotransmitters in Early Follicular Development: Induction of Functional Follicle-Stimulating Hormone Receptors in Newly Formed Follicles of the Rat Ovary. *Endocrinology*, 138(8): 3320-3329.

Merchant LH. 1991. Gametogénesis. p. 9-39. *En: Domínguez R. (ed.). Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción.* Miguel Ángel Porrúa. México. p: 11-38.

Molina PE. 2006. Fisiología endocrina -Serie Lange de Fisiología. p. 213-218. McGrawHill, 2a Ed. México.

Morales L, Betanzanos R, Domínguez R. 2004. Unilateral or bilateral vagotomy performed on prepubertal rats at puberty onset of female rat deregulates ovarian function. *Archives of medical research*, 35: 279-283.

Morales L, Ricardo B, Bolaños A, Chavira R, Domínguez R. 2007. Ipsilateral vagotomy to unilateral ovariectomized pre-pubertal rats modifies compensatory ovarian responses. *Reproductive biology and endocrinology*, 5: 24.



Morán C, Zarate F, Morán JL, Handal A, Domínguez R. 2009. Reproductive biology and endocrinology, 7: 50.

Murphy BD. 2004. Luteinization. p. 185-200. *In:* Leung PCK. and Adashi EY. (eds.). The Ovary. 2nd Edith. Elsevier. USA.

Nance DM, White JP, Moger WH. 1983. Neural regulation of the ovary: evidence for hypothalamic asymmetry in endocrine control. Brain research bulletin, 10: 353-355.

Nakamura Y, Kato H, Terranova PF. 1992. Abdominal vagotomy decreased the number of ova shed and serum progesterone levels on estrus in the cyclic hamster. Endocrinology japon, 39(1): 141-145.

Ojeda SR, Romero C, Tapia V, Dissen GA. 2000. Neurotropic and cell-cell dependent control of early follicular development. Molecular and cellular endocrinology, 163: 67-71.

Okamura H, Doi M, Fustin JM, Yamaguchi Y, Matsuo M. 2010. Mammalian circadian clock system: molecular mechanisms for pharmaceutical and medical sciences. Advanced drug delivery reviews, 62(9-10): 875-884.

Oliver RH, Chen GD, Yeh J. 1999. Follicular Atresia. p. 2061-2126. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

Oliver RH, Chen GD, Yeh J. 1999. Graafian Follicle. p. 565-568. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

Orisaka M, Orisaka S, Jiang J, Craig J, Wang Y, Kotsuji, F, Tsang, BK. 2006. Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage. Molecular endocrinology, 20(10): 2456-2468.

Orisaka M, Kimihisa T, Tsang BK, Kotsuji F. 2009 Oocyte-granulosa-theca cell interactions during preantral follicular development. Journal of ovarian research, 2: 9.



Ortega-Villalobos M, García-Bazan M, Solano-Flores LP, Ninomiya-Alarcon JG. 1990. Vagus nerve afferent and efferent innervation of the rat uterus: an electrophysiological and HRP Study. *Brain research bulletin*, 25: 365-371.

Palumbo A, Yeh J. 1994. In situ localization of apoptosis in the rat ovary during follicular atresia. *Biology of reproduction*, 51: 888-895.

Parr EL. 1974. Histological Examination of the rat ovarian follicle wall prior to ovulation. *Biology of reproduction*, 11: 483-503.

Rajkovic A, Pangas SA, Matzuk MM. 2006. Follicular Development: Mouse, Sheep and Human Models. p. 383-424. *In: Neill JD. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Vol. 1. 3rd Edith. Academic Press. USA.*

Ratcliffe EM, Farrar NR, Fox EA. 2011. Development of the vagal innervations of the gut: steering the wandering nerve. *Neurogastroenterology & motility*, 23: 898-911.

Reichert LE. 1999. FSH (Follicle-Stimulating Hormone). p. 418-422 *In: Knobil E. and Neill JD. (eds). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*

Robaire B. 1999. Androgens. p. 180-187. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 1. Academic Press. USA.*

Roby KF, Terranova PF. 1999. Theca Cells. p. 791-803. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.) Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*

Ross MH, Pawlina W. 2008. *Histología Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular.* p. 830-839. Editorial Panamericana. 5ª Ed. Buenos Aires.

Ruckebush Y, Phaneof L, Dunlop R. 1991. *Physiology of small and large animals.* p. 563-564. BC Decker. Philadelphia.

Sairam MR. 1999. Gonadotropins, Overview. p. 552-565. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*



- Schwartz NB.** 1974. The role of FSH and LH and of their antibodies on follicle growth and on ovulation. *Biology of reproduction*, 10: 236-272.
- Simerly RB.** 2004. Anatomical substrates of hypothalamic integration. p. 335-368. *In: Paxinos, G. (ed.). The Rat Nervous System. Elsevier. China.*
- Smith CL.** 1999. Estrogens, Overview. p. 119-126. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.) Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*
- Snell RS.** 2007. Neuroanatomía Clínica. p. 381-382. 6a. ED. Panamericana. Buenos Aires.
- Stocco C, Telleria C, Gibori G.** 2007. The molecular control of Corpus Luteum formation, function, and regression. *Endocrine reviews*, 28(1): 117-149.
- Stouffer LR.** 2004. The function and regulation of cell populations comprising the Corpus Luteum during the ovarian cycle. p. 169-184. *In: Leung PCK. and Adashi EY. (eds.). In: The Ovary. 2nd Edith. Elsevier. USA.*
- Stouffer LR.** 2006. Structure, function, and regulation of the Corpus Luteum. p. 475-526. *In: Neill JD. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction Vol. 1. 3rd Edith. Academic Press. USA.*
- Thomas FH, Vanderhyden BC.** 2006. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand- expression and its role in oocyte growth. *Reproductive biology and endocrinology*, 4: 19.
- Thorton JE, Finn PD.** 1999. Estrus. p. 136-141. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*
- Tóth IE, Wiesel O, Boldogkői Z, Bálint K, Tapaszi Z, Gerendai I.** 2007. Predominance of supraspinal innervations of the left ovary. *Microscopy research and technique*, 70: 710-718.



Trkulja V, Lackovic Z. 2001. Vagal influence on compensatory ovarian growth is important only briefly after hemicastration. *Experimental biological medical*, 226(8): 776-781.

Tsafiriri A, Kraicer PF. 1972. The time sequence of ovum maturation in the rat. *Journal of reproduction and fertility*, 29: 387-393.

Tsafiriri A, Linder HR, Zor U, Lamprecht SA. 1972. Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. *Prostaglandins*, 2(1): 1-10.

Ulloa-Aguirre A, Espinoza R, Damian-Matsumura P, Larrea F, Flores A, Morales L, Domínguez R. 1988. Studies on the microheterogeneity of anterior pituitary follicle-stimulating hormone in the female rat. Isoelectric focusing pattern throughout the estrous cycle. *Biology of reproduction*, 38: 70-78.

Uphouse L, Maswood S. 1999. Estrogen Action, Behavior. p. 59-64. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*

van der Beek EM. 1996. Circadian control of reproduction in the female rat. *Progress in brain research*, 111: 295-320.

Van Voorhis BJ. 1999a. Follicular Development. p. 376-389. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.) Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*

Van Voorhis BJ. 1999b. Follicular Steroidogenesis. p. 389-395. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*

Watson C, Kirkcaldie M, Paxinos G. 2010. *The Brain: an introduction to functional neuroanatomy.* Elsevier. China.

Westwood FR. 2008. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicologic pathology*, 36: 375-384.

Wong KHH, Adashi EY. 1999. Granulosa Cells. p. 569-572. *In: Knobil E. and Neill JD. (eds.) Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.*



Yao HH, Bahr JM. 1999. Ovary, Overview. p. 590-605. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 3. Academic Press. USA.

Yen SSC. 2001. Neuroendocrinología de la reproducción. p. 31-85. *En:* Yen, S.S.C., Jaffe, R.B. y Barbier, R.L. (eds.). Endocrinología de la Reproducción - Fisiología, fisiopatología y manejo clínico- Editorial Panamericana. 4ª Ed. Argentina.

Ying S, Zhang Z. 1999. Ovarian Hormones, Overview. p. 578-582. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 3. Academic Press. USA.

Yoshinaga, K. 1999. Estrogen Secretion, Regulation of. p. 108-118. *In:* Knobil E. and Neill JD. (eds.). Encyclopedia of Reproduction Vol. 2. Academic Press. USA.

Yoshinaga T, Sellix M, Pzuk P, Menaker M. 2009. Timing of the ovarian circadian clock is regulated by gonadotropinas. *Endocrinology*, 150(9): 4338-4347.

Zárate A, Santiago ML, González LE, Silva CC, Everardo PM, Cruz ME, Flores A, Domínguez R. 2011. La participación del nervio vago en la regulación de la ovulación es asimétrica y varía durante el día del Proestro. LIV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas de la Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas, A.C. Publicado en las Memorias de la Sociedad C153. León, Guanajuato.

Zucker RM, Keshaviah AP, Price OT, Goldman JM. 2000. Confocal Laser Scanning Microscopy of Rat Follicle Development. *The journal of histochemistry & cytochemistry*, 48(6): 781-791.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

CONSTANCIA

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

*Diana Pamela Benítez Jiménez, Carlos Camilo Silva Méndez,
a Liliana Elizabeth Espinoza Delgado, Mra. Esther Cox, Roberto
Dominguez Casala, Angélica Flores Ramírez*

Por la Presentación en Cartel del Trabajo, ¿La inervación vagal modula la respuesta ovulatoria a las 17:00 h en cada etapa del ciclo estral?, en el VII Congreso de Investigación y I de Posgrado de la FES Zaragoza, el 26 de octubre del año en curso.

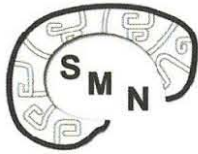
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

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

Dr. Victor Manuel Mendoza Núñez
Director



Sociedad Mexicana
de Ciencias Fisiológicas, A.C.



I Congreso FALAN
Federación de Asociaciones Latinoamericanas y
del Caribe de Neurociencias

LV Congreso
Nacional de Ciencias Fisiológicas.

Certificate

that:

**BENÍTEZ DP , SILVA CC , ESPARZA LE , CRUZ ME , FLORES A,
DOMÍNGUEZ R**

presented *THE POSTER* titled:

**AT 17:00 H THE PARTICIPATION OF THE VAGUS NERVE IN THE REGULATION OF
SPONTANEOUS OVULATION VARIES DURING THE ESTROUS CYCLE**

in Cancún, México (November 4-9, 2012)

Rommy Von Bernhardt
President of FALAN

Gabriela González-Mariscal
President of the Mexican Society of
Physiological Sciences

Rafael Gutiérrez
President of the Scientific
Committee



